

ОБЗОРЫ

УДК 616-001.18:612.014.462:612.55

Д.Е.Наумов

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ TRPM8 (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАН, Благовещенск

РЕЗЮМЕ

Способность к восприятию температурных стимулов обеспечивает основу для формирования адапционных реакций, направленных на активное устранение возникшей угрозы или нарушений температурного гомеостаза. В последние десятилетия в качестве терморецепторов были идентифицированы некоторые представители семейства катионных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP). Исследования последних лет указывают на их возможную вовлеченность в ряд физиологических процессов и патологических состояний. Более того, к настоящему времени было установлено, что термочувствительные TRP каналы способны опосредовать некоторые реакции со стороны респираторного тракта. В настоящем обзоре рассмотрены современные данные по генетике, молекулярной структуре и регуляции TRPM8-ионного канала, активируемого низкими температурами.

Ключевые слова: терморецепция, холод, транзиторный рецепторный потенциал, ионные каналы, TRPM8.

SUMMARY

D.E.Naumov

THERMOSENSITIVE ION CHANNELS TRPM8 (REVIEW)

The ability to perceive temperature provides the basis for adaptive responses aimed at the active elimination of the threat or of the disturbance in temperature homeostasis. During last decades some members

of transient receptor potential (TRP) cation channels family have been identified as thermoreceptors. Recent studies indicate their possible involvement in a number of physiological processes and pathological states. Moreover, it has been confirmed by now that thermosensitive TRP channels are capable to mediate certain respiratory responses. This review contains modern data on genetics, molecular structure and regulation of TRPM8-the ion channel activated by cold temperatures.

Key words: thermoreception, cold, transient receptor potential, ion channels, TRPM8.

Ионные каналы с транзиторным рецепторным потенциалом (*transient receptor potential – TRP*) представляют собой группу гомологичных по структуре, но различных по функциональному назначению белковых рецепторов, обеспечивающих чувствительность к широкому спектру физических и химических стимулов, таких как свет, давление, температура, осмолярность, а также ряду эндогенных и экзогенных химических соединений [13]. Первые данные о семействе TRP каналов встречаются в работе [42], где они впервые описаны как фоторецепторы у мух рода *Drosophila*. В ходе дальнейших исследований было показано, что особенности фенотипа мутантных особей, объяснялись различиями в скорости изменения мембранного потенциала фоторецепторов в ответ на световую стимуляцию. Изменения мембранного потенциала были продолжительными у мух дикого типа, но у мутантов наблюдались преходящие (транзиторные) изменения потенциала, который быстро возвращался к исходному уровню. По этой причине ген рецептора получил свое название (TRP), а вскоре были клонированы и изучены

гомологичные (TRP-подобные) гены, кодирующие другие катионные каналы. Семейство TRP у млекопитающих представлено шестью подсемействами, сгруппированных по структурной гомологии: TRPC (традиционные, канонические), TRPV (ваниллоидные), TRPM (меластатиновые), TRPA (анкириновые), TRPP (полицистиновые), и TRPML (муколиптиновые). Данные наименования были даны по свойствам впервые открытых представителей каждой группы. Так, члены семейства TRPC были первыми TRP каналами, идентифицированными у млекопитающих, и после открытия представителей других семейств были названы каноническими. TRPV1 был прежде открыт как VR1, внеклеточный рецептор к ваниллоидным соединениям. TRPM1 был идентифицирован как белок меластатин в клеточной линии меланомы у мышей. Это название появилось благодаря наличию обратной взаимосвязи между уровнем меластатина и вероятностью метастазирования опухоли. TRPA подсемейство названо благодаря наличию множества анкириновых повторов, характерных для структуры его единственного представителя. TRPP каналы связаны с некоторыми формами поликистоза почек, а TRPML ассоциированы с муколипидозом. У животных (мышей и крыс) идентифицировано 28 генов, кодирующих TRP, у человека – 27 (поскольку TRPC2 является псевдогеном). Все TRP каналы проницаемы для катионов и непроницаемы для анионов. Некоторые представители проницаемы только для моновалентных катионов, другие – только для ионов кальция, ряд каналов не имеет валентной специфичности. Несколько TRP каналов являются термочувствительными и вместе обеспечивают способность чувствовать температуру в диапазоне от низкой до очень высокой [43]. Так, TRPV1 имеют порог активации приблизительно соответствующий болевым ощущениям от воздействия высоких температур, а температурный порог активации TRPV2 находится еще выше (52°C). Каналы TRPV3 и TRPV4 отвечают за восприятие значений температуры немного выше и ниже температуры тела [59]. TRPM8 активируется холодом с пороговой температурой около 25°C [35, 44], а TRPA1 считается ответственным за формирование холодовой ноцицептивной чувствительности. Кроме этого, доказана роль TRPM5 и TRPC2 как обонятельных рецепторов, TRPV1, TRPV3, TRPM5, TRPM8, TRPA1 – в восприятии вкуса, TRPV1-4, TRPM8, TRPA1 – тактильных ощущений [14].

TRP каналы широко представлены в чувствительных нейронах, где они выполняют роль рецепторов, фиксирующих различные изменения в окружающей среде [17], а для некоторых представителей отмечена экспрессия во многих органах и тканях организма, где их функциональная значимость до сих пор остается неясной.

TRPM8 (*Trp-p8*, *CMRI* – *cold and menthol receptor*) – один из восьми представителей меластатинового подсемейства ионных каналов с транзитным рецепторным потенциалом. Первоначально клонированный из клеток простаты [54], затем он был обнаружен в различных органах и тканях, в том числе в нервной (го-

ловой мозг, спинной мозг, ганглии и периферические нервы), в легких, коже, печени, почках, мочевом пузыре и половой системе мужчин, языке, желудке, толстом кишечнике и сосудах, а также опухолевых клетках молочных желез.

Большинство исследований посвящено изучению его роли в чувствительных нейронах, где наряду с другими термочувствительными каналами TRPM8 отвечает за восприятие специфического температурного диапазона. Спектр активирующих температур для TRPM8 несколько разнится по данным разных авторов, но в среднем составляет 8–28°C, с оптимумом активности при 10°C. Канал является неселективным проводником катионов и проницаем для ионов кальция [44].

Ген TRPM8 у человека локализован на длинном плече второй хромосомы (2q37), имеет длину 102124 пар оснований, и состоит из 26 экзонов (из них 24 кодирующих) [54]. Для гена зафиксирован альтернативный сплайсинг с образованием 14 различных вариантов мРНК, только 5 из которых транслируются. В клетках простаты обнаружено 2 транскрипта: 6,2 и 5,2 тысяч оснований соответственно [54]. Кроме того, у человека обнаружен укороченный сплайс-вариант TRPM8 с отсутствующим N-концом и двумя трансмембранными доменами, экспрессируемый в легочном эпителии (на эндоплазматическом ретикулуме и плазматической мембране) [48], а также мозге, печени, почках, семенниках, языке и толстом кишечнике. TRPM8 также был клонирован у нескольких других млекопитающих и немлекопитающих видов, включая собак, куриц и лягушек.

Ген TRPM8 кодирует белок длиной 1104 аминокислоты с предсказанным молекулярным весом около 128 kDa. По своей структуре белок является крайне консервативным и идентичен среди видовых представителей на 93–98% (между млекопитающими и лягушками на 75–80%). На настоящий момент идентифицированы сотни полиморфных сайтов в кодирующей и регуляторной областях гена, однако, частота встречаемости большинства мутаций для европейской популяции крайне невелика. По этой причине исследования полиморфизмов гена представлены единичными работами. В работе [2] авторы исследовали синонимичные полиморфизмы L250L (rs11562975) и P249P (rs28901637). Была показана ассоциация L250L с содержанием общего холестерина, липопротеидов низкой плотности и некоторыми антропометрическими показателями, а для P249P – с уровнем липопротеидов высокой плотности. В другом исследовании удалось установить связь полиморфизма в 5'-регуляторной области (rs10166942) с возникновением мигрени [10]. Синонимичная мутация L250L (rs11562975) в гетерозиготном состоянии также оказалась ассоциирована с повышенной кожной чувствительностью к холоду и сниженной – к ментолу [1].

Несмотря на то, что каждый TRP канал характеризуется уникальной аминокислотной последовательностью, все они демонстрируют одинаковую способность к тетрамеризации, основанную на спон-

танном образовании С-концевыми доменами четырех субъединиц структуры типа скрученной спирали, что является основополагающим в формировании функционально активной четвертичной структуры канала [18, 19, 55]. Каждая субъединица состоит из шести трансмембранных доменов, фланкированных внутриклеточными N и С терминальными доменами различной длины, и ионопроводящей поры, расположенной между 5 и 6 доменами [23, 41]. Аминокислотные группы на N и С концах TRPM8 вероятно ответственны за взаимодействие с клеточными белками и цитоплазматическими факторами регуляции [18, 22], определяющими условия активации канала и внутриклеточную локализацию. Цитоплазматический домен на N-конце содержит ряд гомологичных последовательностей, целостность которых представляется важным условием для полноценного функционирования [37]. Продемонстрировано, что аминокислотные остатки 40-86 на N-конце вовлечены в интеграцию субъединиц канала в плазматическую мембрану [45].

Структурная схожесть между TRP максимальна в области шестого трансмембранного домена и в регионе высоко консервативного TRP домена, расположенного в области внутриклеточного С-конца [13, 23]. Предположение о высокой значимости С-конца TRP каналов в регуляции выдвигалось многими авторами [30, 47, 56]. Показано, что делеции в дистальном участке С-домена оказывают большое влияние на активность канала [56], а делеции в проксимальном участке (рядом с шестым трансмембранным доменом) негативно отражаются на экспрессии рецептора [20]. Таким образом, протяженный С-концевой домен необходим для взаимодействия субъединиц [18], включая сборку функциональных тетрамерных комплексов, а также правильного фолдинга и выполнения рецепторной функции [9, 16, 55].

Как и другие каналы TRP семейства, TRPM8 содержит 6 трансмембранных доменов (S1-S6) и TRP домен на С-конце [54]. Из 4 субъединиц формируется гомотетрамерный канал [51]. Для белка был зафиксирован ряд посттрансляционных модификаций. Было обнаружено два консервативных сайта гликозилирования Asn-821 и Asn-934 [16, 32], и сайты фосфорилирования Thr-95 и Tug-295 для протеинкиназы А и тирозинкиназы соответственно, которые также являются консервативными для всех видов [32].

Хотя молекулярные структуры TRPM8, отвечающие за холодовую рецепцию, остаются до конца не определенными, некоторыми авторами сообщалось о роли участков S4, S4-S5 и С-терминального домена [9, 58]. Примечательно исследование, проведенное Brauchi S. и соавторами по изучению функциональной значимости С-терминального домена [9]. С целью оценки вовлеченности С-домена в температурную активацию были созданы химеры каналов TRPV1 и TRPM8. Химеры, содержащие N-конец и трансмембранные домены TRPV1 и С-домен TRPM8 были чувствительны к капсаицину и холоду, а комбинация TRPM8 с С-доменом TRPV1 была чувствительна к ментолу и теплу. Таким образом, показано, что С-

домен является модульным и определяет фенотип канала в соответствии с его температурной чувствительностью, кинетикой и возможностью модуляции фосфатидилинозитол-4,5-бифосфатом.

Наряду с чувствительностью к низким температурам, хорошо известна способность TRPM8 активироваться при воздействии химических агентов ментола и ицилина [12, 35, 44].

Ментол – органическое соединение, содержащееся в перечной мяте. В ходе мутагенеза были установлены важные для активации ментолом аминокислотные остатки: Y745 внутри S2-домена [38], Y1005 и L1009, расположенные в TRP домене [38, 58], и H845, R851 и R862 в домене S4 и участке, связывающем S4 и S5 [6, 58].

Ицилин – химический агент, обладающий высокой активностью в отношении TRPM8 (активнее ментола приблизительно в 200 раз) [7]. Н.Н.Chuang и соавт. установили, что чувствительность к ицилину, но не ментолу и холоду, определяется аминокислотами N799, D802 и G805, расположенными на цитоплазматической петле, соединяющей домены S2 и S3, и внутри домена S3 (у крыс) [12, 40].

Таким образом, неполный сплайс-вариант TRPM8, экспрессированный в легочном эпителии, не способен к активации ицилином по причине отсутствия второго трансмембранного домена, а активация ментолом требует его более высоких концентраций, по сравнению с полной изоформой рецептора.

Вопрос регуляции TRPM8 представляет собой особый интерес, поскольку позволяет приблизиться к пониманию механизмов активации канала в тканях, не подверженных напрямую действию низких температур или экзогенных химических агентов. Как и большинство каналов TRP семейства, TRPM8 характеризуется сложной многомодальной регуляцией, отдельные компоненты которой способны оказывать аддитивный эффект. К известным факторам, способным модулировать активность TRPM8, можно отнести мембранный потенциал, показатель кислотности pH [8, 24, 57, 58], внутриклеточную концентрацию ионов кальция [3], и некоторые липиды (лизофосфолипиды, полиненасыщенные жирные кислоты, фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат) [3, 5, 30, 47].

Поскольку TRP каналы являются потенциал-зависимыми, они способны активироваться при деполяризации. Фактически, охлаждение либо связывание с химическими агонистами ведет к открытию канала за счет сдвига мембранного потенциала, необходимого для активации, в сторону физиологических величин [57]. Подобно изменению степени деполяризации при взаимодействии с температурными и химическими стимулами, возможен и обратный механизм – изменение порога активации канала в зависимости от степени деполяризации мембраны. Чувствительность к разности потенциалов обеспечивается четвертым трансмембранным доменом и аминокислотными остатками, расположенными в участке S4-S5 [57, 58].

Различная роль кислотности и кальция показана для активации TRPM8 ментолом и ицилином. Актива-

ция ицилином ингибируется при низких значениях pH и низкой концентрации внутриклеточного кальция, а эффект ментола напротив, не зависит от концентрации водородных ионов и подавляется при высоком содержании кальция внутри клетки [4, 12].

Ионы кальция – основные катионы, для которых TRPM8 является проводником, также способны напрямую или опосредованно оказывать влияние на способность канала к активации. Существующие работы указывают на критическую роль дистального S6 домена в катионной селективности TRPM8 [26]. Известно, что TRPM8 может локализоваться не только на плазматической мембране, но и на мембране эндоплазматического ретикулума, где может работать как кальциевый канал [52]. Показано, что индуцированный ток ионов через канал претерпевает резко выраженную кальций-зависимую десенситизацию и тахифилаксию при продолжительном или повторном контакте с агонистами. Роль кальция тесно связана с регуляторной функций липидов, концентрация и качественный состав которых, в свою очередь, напрямую связан с активностью некоторых клеточных ферментов, участвующих в липидном обмене. Истощение депо внутриклеточного кальция (в эндоплазматическом ретикулуме), как известно, ассоциировано со стимуляцией кальций-независимой фосфолипазы A2 (iPLA2), которая катализирует образование лизофосфолипидов [39], важных липидных посредников, участвующих в активации ряда ионных каналов [50]. Точные механизмы активации TRPM8 лизофосфолипидами остаются до конца не изученными. В настоящее время считается, что ряд так называемых не-бислойных липидов (включая лизофосфолипиды) могут воздействовать на мембранные белки, согласно модели бокового давления. Лизофосфатидилхолин, лизофосфатидилинозитол, лизофосфатидилсерин – типичные представители лизофосфолипидов, имеют молекулы конической формы, которые, встраиваясь в липидный бислой мембраны, стабилизируют его выпуклую форму [33]. Было продемонстрировано, что ассиметричная вставка лизофосфолипидов в мембрану способствует образованию поверхностного натяжения. В результате различного содержания липидов в каждом одиночном слое бислойной мембраны возникает ассиметрия, которая также обуславливает большую поверхностную плотность. Вследствие очень медленной флип-флоп трансформации у липидов, ассиметричная плотность поверхности сохраняется стабильной. На основании полученных данных авторы полагают, что такое натяжение мембраны может быть физиологическим механизмом модуляции конформационной структуры мембранных белков, другими словами, возникшие изменения в локальном натяжении вокруг ионного канала могут влиять на его функциональную активность [53].

Однако было замечено, что липиды в разной мере регулируют активацию катионного канала различными стимулами. Так, в эксперименте реакция TRPM8 на холод и ицилин блокировалась ингибиторами iPLA2 (потеря активности iPLA2 влечет снижение концент-

рации лизофосфолипидов, поскольку начинается их ацелирование ацетилтрансферазами), тогда как реакция на ментол была менее подвержена изменению в ответ на ингибирование фермента [21]. Отдельно стоит отметить противоположный эффект двух продуктов активности iPLA2 – лизофосфолипидов и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) на активность TRPM8. Если лизофосфолипиды изменяют температурную чувствительность канала, повышая температурный порог активации, ПНЖК, такие, как арахидоновая, эйкозопентаеновая, докозогексаеновая, подавляют активацию TRPM8 холодом, ицилином и ментолом. Хотя сравнительный эффект продуктов iPLA2 на TRPM8 антагонистический, продемонстрировано, что при эквимоллярных концентрациях эффект ПНЖК на ионный канал нивелируется. Таким образом, можно расценивать суммарный эффект iPLA2 на активность TRPM8 канала как позитивный. Положительная регуляция лизофосфолипидами является потенциальным физиологическим механизмом, активирующим и повышающим чувствительность TRPM8 в отсутствии температурных изменений [5]. Способность лизофосфолипидов выступать в качестве модуляторов активности TRPM8 открывает возможность создания химических соединений, которые, повышая их концентрацию, будут вызывать активацию канала уже при 37°C.

Другой регулятор, фосфолипид фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PIP2), также может контролировать активность и десенситизацию TRPM8 [30, 47]. Отрицательный заряд PIP2 позволяет ему взаимодействовать с положительно заряженными остатками TRP-домена, поддерживая канал в открытом состоянии. В эксперименте было показано, что в условиях достаточно высокой концентрации PIP2 возможна активация TRPM8 в диапазоне температур 32-37°C [47]. Любые сигнальные события, приводящие к истощению PIP2, могут лимитировать активацию TRPM8, снижая пороговую температуру. Повышение концентрации кальция в цитоплазме активирует фосфолипазу C, разрушающую PIP2, и снижает активность TRPM8. Примечательно, что диацилглицерол – продукт гидролиза PIP2 фосфолипазой C – физиологический активатор протеинкиназы C, активация которой также вызывает десенситизацию. Таким образом, PIP2 может как непосредственно, так и опосредованно быть вовлечен в кальций-зависимую десенситизацию канала [3]. В то же время, второй продукт гидролиза PIP2 – инозитолтрифосфат, взаимодействуя с IP3-рецепторами на эндоплазматическом ретикулуме, вызывает выброс ионов кальция, сопровождающийся активацией iPLA2 и синтезом лизофосфолипидов – активаторов TRPM8. Возможно, что такие противоположные эффекты фосфолипазы C могут быть объяснены, принимая во внимание различные роли двух липидных мессенджеров: PIP2 преимущественно контролирует десенситизацию, а лизофосфолипиды – активацию. Важно, что активация TRPM8 лизофосфолипидами происходит после десенситизации (при истощении PIP2), таким образом, преодолевая ее. Более того, возможно, что IP3 рецеп-

торы и TRPM8 располагаются в разных субкомпартаментах эндоплазматического ретикула, благодаря чему выброс кальция регулируется дифференцированно, и активация iPLA2 происходит только при истощении депо через TRPM8 (но не IP3-рецепторы) [3].

Кроме хорошо известной функции TRPM8, экспрессированных в нервной ткани, где они играют роль терморепрецепторов, вероятно, существует множество других физиологических эффектов, опосредуемых этими катионными каналами. Данное предположение основано на информации об обширной экспрессии TRPM8 в тканях, обычно никогда не подвергающихся воздействию низких температур в степени, достаточной для активации. В этом случае проводимость TRPM8 регулируется посредством широкого спектра механизмов, включая липидные активаторы, упомянутые ранее. Не исключено, что ряд эндогенных регуляторов TRPM8 все еще остается не идентифицированным.

Возможная патогенетическая роль установлена для катионных каналов, экспрессированных в респираторном тракте. Эпителий дыхательных путей постоянно взаимодействует с окружающей средой. Несмотря на мощные механизмы кондиционирования вдыхаемого воздуха продемонстрировано, что в у здоровых людей непродолжительная гипервентиляция холодным воздухом (-20°C) вызывает снижение температуры от $20,5^{\circ}\text{C}$ в проксимальных отделах трахеи до $31,6^{\circ}\text{C}$ в дистальных дыхательных путях (субсегментарные бронхи) [34]. При условии предшествующей положительной регуляции TRPM8, даже такое снижение температуры теоретически может приводить к открытию канала. Респираторные симптомы, возникающие при воздействии холодного воздуха, включают спазм гладкой мускулатуры бронхов, гиперсекрецию слизи и воспаление. Необходимо учитывать, что при кратковременном воздействии упомянутые реакции являются адаптивными, однако при повторном или длительном контакте с холодом они начинают представлять клиническую проблему, особенно для людей с патологией респираторного тракта, проживающих в условиях холодного климата [25]. Продолжительный контакт с холодом увеличивает количество воспалительных клеток, концентрацию лейкотриенов, и изменяет цитокиновый профиль в легких у здоровых людей [27]. Гипервентиляция холодным воздухом может служить предрасполагающим фактором к заболеваниям дыхательных путей и вызвать развитие бронхиальной астмы (БА) или астма-подобных реакций, характеризующихся гиперреактивностью дыхательных путей, бронхообструкцией, повреждением слизистой оболочки и хроническим воспалением [15]. Рядом исследователей было продемонстрировано негативное влияние ингаляций холодного воздуха на больных БА, проявляющееся сезонным ухудшением клинического течения заболевания. Не было достоверно установлено, является ли появление холодовых симптомов результатом рефлекторной реакции (например, с рефлексогенных зон гортани), прямого воздействия охлажденного воздуха на дыхательные пути, либо со-

четанным эффектом обоих механизмов. Вероятно, рефлекторный механизм с участием блуждающего нерва будет играть ведущую роль в индуцировании холодовых симптомов [46]. Установлено, что рецепторный компонент рефлекторной дуги в данном случае представлен ионными каналами TRPM8, экспрессия которых зафиксирована в волокнах блуждающего нерва, иннервирующих респираторный тракт [60]. Однако в последние годы появились данные, доказывающие возможность непосредственного влияния температурного фактора на дыхательные пути. Так, A.S.Sabnis и соавт. была впервые идентифицирована неполная изоформа TRPM8, локализованная преимущественно на мембране эндоплазматического ретикула в эпителии дыхательных путей, и сделано предположение о его рецепторной роли в опосредовании адаптивных механизмов при локальном охлаждении. Было показано, что активация неполного варианта TRPM8 в бронхиальном эпителии сопровождается как выбросом кальция из эндоплазматического ретикула, так и поступлением кальция внутрь клетки. Эти события оказались сопряжены с положительной регуляцией транскрипции двух провоспалительных цитокинов – интерлейкинов (ИЛ) 6 и 8 [48]. Позже, при экспериментальной активации TRPM8 холодом (18°C) и ментолом, в эпителии была зафиксирована экспрессия гораздо большего числа цитокинов, включая ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-13, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), и фактор некроза опухоли альфа (ФНО α). В условиях сниженной температуры, максимум мРНК некоторых цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-13) *in vitro* наблюдался спустя всего несколько минут после начала воздействия [49].

Существует и обратная взаимосвязь, которая проявляется влиянием некоторых воспалительных медиаторов на способность TRPM8 к активации. Провоспалительные медиаторы – брадикинин и простагландин E2 (PGE2) – способны ингибировать TRPM8, действуя через каскад с активацией протеинкиназы C и протеинкиназы A соответственно [29]. Кроме того, повышение кислотности, сопровождающей воспаление, также вызывает угнетение активности TRPM8. Возможно, что эти ингибирующие эффекты в некоторой степени ответственны за развитие болевых ощущений, сопровождающих воспаление, поскольку устраняют слабый анальгезирующий эффект TRPM8.

Некоторыми авторами сообщалось о роли TRPM8, как посредника в активации тучных клеток ментолом и холодом *in vitro*, что может лежать в основе формирования реакций типа холодовой крапивницы [11]. Однако позже проведенное исследование не выявило способности тучных клеток активироваться ментолом или холодом, более того, экспрессия TRPM8 в мастоцитах человека не была зафиксирована [36].

Повышенные концентрации мРНК и белка TRPM8 обнаружены в эпителии дыхательных путей у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). В эксперименте *in vitro* обнаружено, что действуя

через сигнальный путь с активацией фосфолипазы Cδ1, ментол и холод способны стимулировать экспрессию гена муцина (MUC5AC) [28]. Активация этого механизма в реальных условиях, по-видимому, является причиной гиперсекреции слизи в ответ на вдыхание холодного воздуха у больных ХОБЛ. Не исключено, что подобный феномен может иметь место и у больных БА, негативное влияние холода при которой было продемонстрировано многими исследователями.

Таким образом, учитывая приведенные факты, изучение термочувствительных TRP-каналов и TRPM8, как холодового сенсора, является перспективным и многообещающим направлением, что подтверждается возрастающим числом работ, опубликованных по данной тематике. Способность регулировать содержание ионов кальция в цитоплазме клетки, который, как известно, является вторичным мессенджером многих сигнальных каскадов, указывает на широкий спектр функциональных связей и плейотропность эффектов TRPM8. Существующие исследования доказывают патогенетическую вовлеченность этих ионных каналов в формирование некоторых реакций респираторного тракта, что, возможно, определяет особенности течения патологии дыхательных путей в условиях воздействия неблагоприятных климатических факторов. Создание эффективных и клинически безопасных антагонистов для использования в качестве лекарственных средств может помочь в профилактике и лечении неинфекционных обострений ХОБЛ и БА, вызванных регулярным или продолжительным вдыханием холодного воздуха. Это дополнительно подчеркивает несомненную актуальность проблемы изучения TRPM8 для практической пульмонологии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №10-04-91160).

ЛИТЕРАТУРА

1. Связь однонуклеотидного полиморфизма rs11562975 гена термочувствительного ионного канала TRPM8 с чувствительностью человека к холоду и ментолу / Т.В.Козырева [и др.] // Физиол. человека. 2011. Т.37, №2. С.71–76.
2. Ассоциация полиморфизма гена холодового рецептора TRPM8 с липидными показателями крови и антропометрическими параметрами у шорцев / Т.А.Потапова [и др.] // Бюл. эксп. биол. и мед. 2011. Т.151, №2. С.186–189.
3. Ca²⁺-independent phospholipase A2-dependent gating of TRPM8 by lysophospholipids / F.Abeele [et al.] // J. Biol. Chem. 2006. Vol.281, №52. P.40174–40182.
4. Andersson D.A., Chase H.W., Bevan S. TRPM8 activation by menthol, icilin, and cold is differentially modulated by intracellular pH // J. Neurosci. 2004. Vol.24, №23. P.5364–5369.
5. Andersson D.A., Nash M., Bevan S. Modulation of the cold-activated channel TRPM8 by lysophospholipids and polyunsaturated fatty acids // J. Neurosci. 2007. Vol.27, №12. P.3347–3355.
6. High-throughput random mutagenesis screen reveals TRPM8 residues specifically required for activation by menthol / M.Bandell [et al.] // Nat. Neurosci. 2006. Vol.9, №4. P.493–500.
7. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (flipr) assay / Behrendt H.J. [et al.] // Br. J. Pharmacol. 2004. Vol.141, №4. P.737–745.
8. Brauchi S., Orio P., Latorre R. Clues to understanding cold sensation: thermodynamics and electrophysiological analysis of the cold receptor TRPM8 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. Vol.101, №43. P.15494–15499.
9. A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels / S.Brauchi [et al.] // J. Neurosci. 2006. Vol.26, №18. P.4835–4840.
10. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population / D.I.Chasman [et al.] // Nature Genetics. 2011. Vol. 43. P.695–698.
11. TRPM8 mediates cold and menthol allergies associated with mast cell activation / Y.Cho [et al.] // Cell Calcium. 2010. Vol.48, №4. P.202–208.
12. Chuang H.H., Neuhauser W.M., Julius D. The super-cooling agent icilin reveals a mechanism of coincidence detection by a temperature-sensitive TRP channel // Neuron. 2004. Vol.43. P.859–869.
13. Clapham D.E. TRP channels as cellular sensors // Nature. 2003. Vol.426, №6966. P.517–524.
14. Damann N., Voets T., Nilius B. TRPs in our senses // Curr. Biol. 2008. Vol.18, №18. P.880–889.
15. Cold weather exercise and airway cytokine expression / M.S.Davis [et al.] // J. Appl. Physiol. 2005. Vol.98. P.2132–2136.
16. Dragoni I., Guida E., McIntyre P. The cold and menthol receptor TRPM8 contains a functionally important double cysteine motif // J. Biol. Chem. 2006. Vol.281, №49. P.37353–37360.
17. Earley S. Vanilloid and melastatin transient receptor potential channels in vascular smooth muscle // Microcirculation. 2010. Vol.17, №4. P.237–249.
18. Trafficking and assembly of the cold-sensitive TRPM8 channel / I.Erler [et al.] // J. Biol. Chem. 2006. Vol.281, №50. P.38396–38404.
19. Fujiwara Y., Minor D.L.Jr. X-ray crystal structure of a TRPM assembly domain reveals an antiparallel four-stranded coiled-coil // J. Mol. Biol. 2008. Vol.383, №4. P.854–870.
20. Identification of a tetramerization domain in the C terminus of the vanilloid receptor / N.García-Sanz [et al.] // J. Neurosci. 2004. Vol.24, №23. P.5307–5314.
21. The roles of iPLA2, TRPM8 and TRPA1 in chemically induced cold hypersensitivity / C.Gentry [et al.] // Mol. Pain. 2010. Vol.6. P.4.
22. Homo- and heterotetrameric architecture of the epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 / J.G.Hoenderop [et al.] // EMBO J. 2003. Vol.22. P.776–785.
23. Huang C.L. The transient receptor potential superfamily of ion channels // J. Am. Soc. Nephrol. 2004. Vol.15. P.1690–1699.

24. Hui K., Guo Y., Feng Z.P. Biophysical properties of menthol-activated cold receptor TRPM8 channels // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol.333, №2. P.374–382.
25. Koskela H.O. Cold air-provoked respiratory symptoms: the mechanisms and management // *Int. J. Circumpolar Health.* 2007. Vol.66. P.91–100.
26. Kühn F.J., Knop G., Lückhoff A. The transmembrane segment S6 determines cation versus anion selectivity of TRPM2 and TRPM8 // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol.282, №38. P.27598–27609.
27. Inhalation of cold air increases the number of inflammatory cells in the lungs in healthy subjects / K.Larsson [et al.] // *Eur. Respir. J.* 1998. Vol.12. P.825–830.
28. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism / M.Li [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011. Vol.128, №3. P.626–634.
29. Desensitization of cold- and menthol-sensitive rat dorsal root ganglion neurones by inflammatory mediators / R.M.Linte [et al.] // *Exp. Brain Res.* 2007. Vol.178, №1. P.89–98.
30. Liu B., Qin F. Functional control of cold- and menthol-sensitive TRPM8 ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate // *J. Neurosci.* 2005. Vol.25, №7. P.1674–1681.
31. Liu D., Liman E.R. Intracellular Ca²⁺ and the phospholipid PIP₂ regulate the taste transduction ion channel TRPM5 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol.100, №25. P.15160–15165.
32. Molecular identification and functional characterization of a temperature-sensitive transient receptor potential channel (TRPM8) from canine / Y.Liu [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* 2006. Vol.530, №1-2. P.23–32.
33. Lundbaek J.A., Andersen O.S. Lysophospholipids modulate channel function by altering the mechanical properties of lipid bilayers // *J. Gen. Physiol.* 1994. Vol.104, №4. P.645–673.
34. Thermal mapping of the airways in humans / E.R.Jr.McFadden [et al.] // *J. Appl. Physiol.* 1985. Vol.58, №2. P.564–570.
35. McKemy D.D., Neuhausser W.M., Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation // *Nature.* 2002. Vol.416, №6876. P.52–58.
36. Examination of the role of TRPM8 in human mast cell activation and its relevance to the etiology of cold-induced urticaria / N.Medic [et al.] // *Cell. Calcium.* 2011. Vol.50, №5. P.473–480.
37. Minke B., Cook B. TRP channel proteins and signal transduction // *Physiol. Rev.* 2002. Vol.82. P.429–472.
38. Montell C. A mint of mutations in TRPM8 leads to cool results // *Nat. Neurosci.* 2006. Vol.9. P.466–468.
39. Murakami M., Kudo I. Phospholipase A₂ // *J. Biochem.* 2002. Vol.131, №3. P.285–292.
40. Myers B.R., Sigal Y.M., Julius D. Evolution of thermal response properties in a cold-activated TRP channel // *PLoS One.* 2009. Vol.4, №5. P.5741.
41. Permeation and selectivity of TRP channels / G.Owsianik [et al.] // *Annu. Rev. Physiol.* 2006. Vol.68. P.685–717.
42. Pak W.L., Grossfield J., Arnold K.S. Mutants of the visual pathway of *Drosophila melanogaster* // *Nature.* 1970. Vol.227, №5257. P.518–520.
43. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation / A.Patapoutian [et al.] // *Nat. Rev. Neurosci.* 2003. Vol.4, №7. P.529–539.
44. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol / A.M.Peier [et al.] // *Cell.* 2002. Vol.108, №5. P.705–715.
45. Phelps C.B., Gaudet R. The role of the N terminus and transmembrane domain of TRPM8 in channel localization and tetramerization // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol.282, №50. P.36474–36480.
46. Pisarri T.E., Giesbrecht G.G. Reflex tracheal smooth muscle contraction and bronchial vasodilation evoked by airway cooling in dogs // *J. Appl. Physiol.* 1997. Vol.82, №5. P.1566–1572.
47. PI(4,5)P₂ regulates the activation and desensitization of TRPM8 channels through the TRP domain / T.Rohács [et al.] // *Nat. Neurosci.* 2005. Vol.8, №5. P.626–634.
48. Human Lung Epithelial Cells Express a Functional Cold-Sensing TRPM8 Variant / A.S.Sabnis [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2008. Vol.9. P.466–474.
49. Increased transcription of cytokine genes in human lung epithelial cells through activation of a TRPM8 variant by cold temperatures / A.S.Sabnis [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008. Vol.295, №1. P.194–200.
50. A novel mechanism for the store-operated calcium influx pathway / T.Smani [et al.] // *Nat. Cell. Biol.* 2004. Vol.6, №2. P.113–120.
51. AFM imaging reveals the tetrameric structure of the TRPM8 channel / A.P.Stewart [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010. Vol.394, №2. P.383–386.
52. Novel role of cold/menthol-sensitive transient receptor potential melastatine family member 8 (TRPM8) in the activation of store-operated channels in LNCaP human prostate cancer epithelial cells / S.Thebault [et al.] // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol.280, №47. P.39423–39435.
53. Asymmetrical membranes and surface tension / M.Traikia [et al.] // *Biophys. J.* 2002. Vol.83, №3. P.1443–1454.
54. Trp-p8, a novel prostate-specific gene, is up-regulated in prostate cancer and other malignancies and shares high homology with transient receptor potential calcium channel proteins / L.Tsavalier [et al.] // *Cancer Res.* 2001. Vol.61, №9. P.3760–3769.
55. Tsuruda P.R., Julius D., Minor D.L.Jr. Coiled coils direct assembly of a cold-activated TRP channel // *Neuron.* 2006. Vol.51, №2. P.201–212.
56. Functional role of C-terminal cytoplasmic tail of rat vanilloid receptor 1 / V.Vlachová [et al.] // *J. Neurosci.* 2003. Vol.23, №4. P.1340–1350.
57. The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels / T.Voets [et al.] // *Nature.* 2004. Vol.430, №7001. P.748–754.
58. TRPM8 voltage sensor mutants reveal a mechanism for integrating thermal and chemical stimuli / T.Voets

[et al.] // Nat. Chem. Biol. 2007. Vol.3, №3. P.174–182.

59. Vriens J., Appendino G., Nilius B. Pharmacology of vanilloid transient receptor potential cation channels // Mol. Pharmacol. 2009. Vol.75, №6. P.1262-1279.

60. TRPM8 mechanism of autonomic nerve response to cold in respiratory airway / H.Xing [et al.] // Mol. Pain. 2008. Vol.4. P.22.

Поступила 27.10.2011

Денис Евгеньевич Наумов, аспирант,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;
Denis E. Naumov,
22 Kalinina Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: denn1985@bk.ru



УДК 618.1:616.831.4-092-02

И.В.Жуковец, Т.С.Быстрицкая, Е.Я.Конеева, О.Г.Путинцева

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ДИСФУНКЦИИ ГИПОТАЛАМУСА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ГБОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ,
Благовещенск

РЕЗЮМЕ

В статье представлен современный взгляд на этиологию и патогенез дисфункции гипоталамуса, начиная с антенатального периода. Отражены варианты нарушений в гипоталамо-гипофизарно-яичниково-надпочечниковой системе. Жировая ткань выделена как отдельный аутокринно-эндокринный орган. Современный механизм патогенеза дисфункции гипоталамуса представлен на фоне формирования метаболических нарушений, инсулинорезистентности, тромбофилии и эндотелиопатии.

Ключевые слова: гипоталамус, антенатальный период, метаболические нарушения, тромбофилии.

SUMMARY

I.V.Zhukovets, T.S.Bystritskaya, E.Ya.Koneeva,
O.G.Putintseva

ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF HYPOTHALAMUS DYSFUNCTION: MODERN VIEW ON THE PROBLEM (REVIEW)

This paper presents a modern view on etiology and pathogenesis of hypothalamus dysfunction from the antenatal period. There are variations of disorders in hypothalamic-pituitary-ovarian-adrenal system given in the paper. Adipose tissue is considered as a separate autocrine-endocrine organ. A modern mechanism of pathogenesis of hypothalamus dysfunction is shown against the background of the formation of metabolic disorders, insulin resistance, thrombophilia and endotheliopathy.

Key words: hypothalamus, prenatal period, metabolic disorders, thrombophilia.

По определению Е.В.Уваровой дисфункция гипоталамуса – нейроэндокринное расстройство с выраженным полиморфизмом клинических проявлений, занимающее существенное место среди причин репродуктивных нарушений, которые часто формируются и впервые проявляются у лиц подросткового возраста [15]. Терминология в отношении дисфункции гипоталамуса неоднократно менялась. В 1970 выделена особая форма послеродового ожирения, сходная по клинико-гормональным проявлениям с болезнью