

Структурно-функциональные особенности холодových рецепторов**Structural and Functional Peculiarities of Cold Receptors**

В представленном обзоре отражены современные представления о холодových рецепторах, приведены данные о структурных и функциональных свойствах температурных TRP (Transient Receptor Potential) – каналов, которые являются первичными детекторами температуры окружающей среды.

Ключевые слова: холодовая терморепцепция, TRP-каналы.

У представленному огляді відображені сучасні уявлення про холодových рецептори, наведені дані про структурні і функціональні властивості температурних TRP (Transient Receptor Potential) – каналів, які є первинними детекторами температури навколишнього середовища.

Ключові слова: холодова терморепцепція, TRP-канали.

In this review there are featured the current notions about cold receptors and presented the data about structural and functional properties of temperature transient receptor potential (TRP) channels, being the primary detectors of environmental temperature.

Key-words: cold thermoreception, TRP channels.

Одним из значимых вопросов изучения воздействия низких температур на биологические системы является исследование механизмов холодového восприятия. Важность исследования данного вопроса обусловлена влиянием температурных факторов внешней среды на живые организмы. Информация о температуре окружающей среды передается через нейроны периферической нервной системы, которые проецируются на кожу [17]. От терморепцепторов по проводящим путям спинного мозга температурная информация поступает в головной мозг и достигает центров терморегуляции, расположенных в гипоталамусе.

Распознавание температуры является одним из элементов сенсорного восприятия, который способствует нормальному функционированию и приспособлению живых организмов к разнообразным и постоянно меняющимся температурным условиям внешней среды. Применение низких температур в медицине свидетельствует об актуальности этого вопроса. Несмотря на значительное количество исследований, тонкие механизмы, лежащие в основе холодовой чувствительности, изучены недостаточно. Первым уровнем холодového восприятия является рецепторный, который образован, как показывают результаты работ [15, 17, 19, 31, 35, 48], каналами TRP семейства. Однако многие вопросы, касающиеся структурно-функциональных особенностей и механизмов функционирования холодových каналов, до настоящего времени не изучены.

One of significant questions in studying low temperature effect on biological systems is the investigation of mechanisms of cold perception. The importance of this question research is stipulated by the effect of environmental temperature factors on living organisms. The information about an environmental temperature propagates through the neurons of peripheral nervous system, which are projected on skin [17]. Temperature information comes into brain from thermoreceptors via pathways of spinal cord and reaches the thermoregulative centers, located in hypothalamus.

Temperature recognition is one of the elements of sensor perception, contributing to a normal functioning and adaptation of living organisms to varied and constantly changing environmental temperature conditions. Low temperature application in medicine confirms this question actuality. In spite of a huge number of researches, the fine mechanisms, being the base for cold perceptibility, have still remained poorly studied. The first level of cold perception is a receptor one, formed as the research results show [15, 17, 19, 31, 35, 48] by the channels of TRP family. However a lot of the questions on respect of structural and functional peculiarities and mechanisms of cold channel functioning have still remained unstudied.

TRP channel general characteristics. TRP channels are principally important element of sensor systems, representing an ancient apparatus of cells, not only of multicellular organisms [15]. They were firstly found out in fruit fly photoreceptors [38].

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38
(057) 373-30-07, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23,
Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373
3007, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Общая характеристика TRP-каналов. TRP-каналы – принципиально важный элемент сенсорных систем, представляющий собой древний аппарат клеток, притом не только многоклеточных организмов [15]. Впервые они были обнаружены в фоторецепторах дрозофилы [38].

В течение последних лет получены данные о роли TRP-каналов в различных тканях. Эти катионные каналы активируются множеством химических и физических сигналов [45, 46]. Они отвечают на температуру, тактильные и болевые воздействия, осмолярность, феромоны и другие стимулы [15]; вовлечены в механическую и вкусовую чувствительность, зрительное восприятие, апоптоз, пролиферацию, Ca^{2+} трансмембранный перенос, вызванный действием гормонов, эпителиальную Ca^{2+} - и Mg^{2+} -реабсорбцию, сосудистый тонус, выступают как Ca^{2+} -транспортеры в кишечнике и почках [6, 10, 32, 42, 57]. Таким образом, TRP-каналы задействованы во многих процессах и демонстрируют разнообразные механизмы активации.

Большинство этих каналов пропускают через клеточную мембрану ионы кальция, а также некоторые другие катионы, главным образом магния [46]. В ответ на временное открытие рецепторного канала, которое назвали “транзистентным” (преходящим), генерируется импульс-потенциал, получивший название TRP.

Семейство TRP, объединяющее 30 каналов, разделяют на семь подсемейств: TRPC (каноническое), TRPV (ваниллоидное), TRPM (меластатиновое), TRPP (полицистиновое), TRPML (муколипиновое), TRPA (анкириновое) и TRPN (NOMPC, *no mechanoreceptor potential C*) [46, 57].

Термочувствительные TRP-рецепторы. Первичные температурные детекторы у млекопитающих образованы TRP-рецепторами [35]. Выявлено шесть термочувствительных TRP-каналов: TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 [25]. Эти каналы имеют определенные пороги активации (таблица). Они обнаружены в мембране сенсорных нервных окончаний, в мембране нейронов ганглиев дорзальных корешков спинного мозга, клеток кожи, эмбриональных клеток почек, эпителиальных клеток легких, простаты и других клеток [8, 52, 55].

Холодовые TRP-рецепторы. Механизмы холодовой чувствительности у млекопитающих до конца не изучены, хотя значительный прогресс в последнее время связан с исследованием двух активируемых холодом ионных каналов – TRPM8 и TRPA1 [4, 35]. Охлаждение воспринимается

Within recent years there were obtained the data about the role of TRP channels in different tissues. These cation channels are activated by many chemical and physical signals [45, 46]. They are responsible for the temperature, tactile and pain effects, osmolarity, pheromones and other stimuli [15]; they are involved into mechanical and taste sensitivity, visual perception, apoptosis, proliferation, Ca^{2+} transmembrane transfer, caused by hormone effect, Ca^{2+} epithelial and Mg^{2+} reabsorption, vascular tonus, act as the Ca^{2+} transporters in intestinal tract and kidneys [6, 10, 32, 42, 57]. Thus, TRP channels are involved in many processes and show different mechanisms of activation.

Most of these channels allow calcium ion passing through a cell membrane, as well as some other cations, especially magnesium ones [46]. In response to a temporary opening of a receptor channel, called as “transient”, there is generated the pulse-potential, named as TRP.

The TRP family, of 30 channels, is divided in 7 subfamilies: TRPC (canonical), TRPV (vanilloid), TRPM (melastatin), TRPP (polycystin), TRPML (mucolipin), TRPA (ankyrin) and TRPN (NOMPC-*no mechanoreceptor potential C*) [46, 57].

Thermosensitive TRP receptors. The primary temperature detectors in mammals are formed by TRP receptors [35]. There were revealed 6 thermosensitive TRP channels: TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 and TRPA1 [25]. These channels have the certain activation thresholds (Table). They were found out in a membrane of sensor nerve endings, membrane of ganglia neurons of spinal cord dorsal roots, skin cells, kidney embryonic cells, epithelial cells of lung, prostate and other cells [8, 52, 55].

Cold TRP receptors. Mechanisms of cold sensitivity in mammalian have still remained unstudied, although a recent significant progress is associated to studying two cold-activated ion channels: TRPM8 and TRPA1 [4, 35]. Cooling is accepted by peripheral thermoreceptors, at the same time the cold- and menthol-sensitive ion channel TRPM8 is activated [6]. Lower temperatures activate other TRP channel – TRPA1, which is suggested to be the base for cold

Пороги активации термочувствительных TRP-каналов.
Activation thresholds of thermosensitive TRP channels

Каналы Channels	TRPV1	TRPV2	TRPV3	TRPV4	TRPM8	TRPA1
Температура активации, °C Activation temperature, °C	43	52	32–39	25–28	<27–35	<17

периферическими терморцепторами, при этом активируется холодо- и ментолочувствительный ионный канал – TRPM8 [6]. Более низкие температуры активируют другой TRP-канал – TRPA1, который, как предполагают, лежит в основе холодовой ноцицепции [48]. Во время охлаждения каналы TRPM8 отвечают быстрее и с большим увеличением внутриклеточной концентрации кальция, чем TRPA1 [4].

В результате открытия TRPM8-каналов, находящихся в составе клеточной мембраны, происходит приток ионов кальция, что приводит к деполаризации и генерации потенциала действия [26].

Холодовые рецепторы могут адаптироваться *in vivo* в условиях продолжительной холодовой стимуляции [28]. Клетки, мембраны которых содержат TRPM8, адаптируются к длительным воздействиям холода и ментола [36]. При этом порог активации TRPM8-каналов может изменяться [48].

В работе [40] авторы оценивали психофизический эффект активации TRPA1- и TRPM8-каналов у человека, апплицируя испытуемым на предплечье циннамальдегид (агонист TRPA1) и ментол (агонист TRPM8). Циннамальдегид вызывал боль, тепловую и механическую гипералгезию и холодовую гипоалгезию, тогда как следствием активации TRPM8 ментолом была холодовая гипералгезия. Авторы сделали вывод, что агонисты TRPA1- и TRPM8-каналов приводят к разным психофизическим результатам.

TRPM8-каналы культивированных ганглиев дорзальных корешков спинного мозга функционально связаны с холодовой чувствительностью [18]. У мышей снижение температуры до 5–18°C и воздействие аллилового изотиоцианата (агониста TRPA1) повышали уровень внутриклеточного Ca²⁺ этих нейронов [53].

Культивированные сенсорные нейроны и интактные сенсорные нервные волокна TRPM8-нокаутированных мышей на снижение температуры от 32 до 2°C реагировали слабее и нормально – на повышение от 30 до 45°C [6]. В то же время мыши с недостатком капсаициновых ванилоидных рецепторов (TRPV1) демонстрировали нормальную чувствительность к умеренно низким температурам, при этом у них, как и ожидалось, существенно уменьшалось количество клеток, отвечающих на воздействие высокой температуры.

Способность различать холодную и теплую поверхности в экспериментальной клетке у TRPM8-нокаутированных мышей значительно слабее, чем у животных дикого типа [6]. Животные дикого типа осторожно приближались к участку клетки с холодной поверхностью и производили только быстрые касания ее, тогда как TRPM8-нокаутированные мыши переходили на холодную сторону и

ноцицепция [48]. During cooling the TRPM8 channels respond more rapidly and with higher augmentation of intracellular calcium concentration, if compared to TRPA1 [4].

As a result of opening of TRPM8 channels, as a part of cell membrane, there is occurred the inflow of calcium ions, resulting in depolarization and action potential generation [26].

Cold receptors may adapt *in vivo* under long-term cold stimulation [28]. The cells, the membranes of which comprise TRPM8 adapt to cold and menthol long-term effects [36]. At the same time the activation threshold for TRPM8 channels may vary [48].

As reported [40] the authors estimated a psychophysical effect of TRPA1 and TRPM8 channel's activation in human being, by applying cinnamaldehyde (TRPA1 agonist) and menthol (TRPM8 agonist) onto test persons' forearm. Cinnamaldehyde caused pain, heat and mechanical hyperalgesia and cold hypoalgesia, meanwhile the TRPM8 activation by menthol resulted in cold hyperalgesia. The authors concluded TRPA1 and TRPM8 agonists as resulted in different psychophysical effects.

The TRPM8 channels of cultured ganglia of spinal cord dorsal roots are functionally related to cold sensitivity [18]. In mice a temperature decrease down to 5–18°C and an allylic isothiocyanate (TRPA1) effect increased the level of intracellular Ca²⁺ of these neurons [53].

The response of cultured sensor neurons and the intact sensor nerve fibers of TRPM8-knockout mice to temperature decrease from 32 down to 2°C and its increase from 30 to 45°C was weaker and within the norm, correspondingly [6]. At the same time mice with lack of capsaicine vanilloid receptors (TRPV1) demonstrated a normal sensitivity to moderately low temperatures, at the same time, as expected, there was a significant decrease in cell number, responding on high temperature effect.

The capability to distinguish cold and heat surfaces in an experimental cell in TRPM8-knockout mice is considerably weaker, than in wild type animals [6]. Animals of wild type approximated carefully to the site of cell with cold surface and made only fast touchings, meanwhile the TRPM8-knockout mice passed to cold side and demonstrated a normal research behaviour, manifesting in a greater number of passages between cold and heat areas. At the same time the animal body temperatures in studied groups were equal. The data presented in this research demonstrate the loss in TRPM8 expression as resulting in a selective deficiency in a cold sensitivity, without touching on other aspects of electric and mechanical excitability [6].

In the paper [19] the authors have also demonstrated the behavior of TRPM8 channel-free mice to cold stimuli as significantly different from wild type

демонстрировали нормальное исследовательское поведение, что выражалось большим числом переходов между холодной и теплой областями. При этом температуры тел животных исследуемых групп были одинаковыми. Представленные в этой работе данные демонстрируют, что потеря экспрессии TRPM8 приводит к селективному дефициту в холодовой чувствительности, не затрагивая другие аспекты электрической и механической возбудимости [6].

В работе [19] авторы также показали, что поведение мышей, у которых отсутствуют TRPM8-каналы, в ответ на холодовые стимулы значительно отличается от поведения животных дикого типа. TRPM8-нокаутированные мыши меньше реагировали на холод, не отвечали на ицилин, который обычно вызывает холодовые ощущения, и слабо отвечали на ацетон, который применяли для проверки реакции на холодовое воздействие. Авторы [6] установили, что такие мыши избегают контакта с поверхностями, имеющими температуру ниже 10°C, хотя в меньшей степени, чем мыши дикого типа. В работе [36] отмечено, что TRPM8-рецепторы активируются в диапазоне температур 8–28°C. Вероятно, что в реакцию на температуру 10°C вовлечены как TRPA1, так и TRPM8-рецепторы. У мышей, клетки которых лишены TRPM8-каналов, выявлены чувствительные к холоду нейроны, которые нечувствительны к горчичному маслу (агонисту TRPA1). Это подтверждает тот факт, что TRPA1-рецепторы не вовлечены в этот ответ [6]. Также следует отметить, что ноцицептивный ответ на температуру менее 0°C у TRPM8-нокаутированных мышей был нормальный.

При нанесении на кожу или слизистую оболочку ментола активируются TRPM8-рецепторы, что ведет к холодовому ощущению. Ментол вызывает болевое и холодовое ощущения, тогда как результаты механосенсорных тестов не изменяются [61]. В условиях блокады А-волокна поверхностной ветви лучевого нерва при воздействии низкой температуры холодовое ощущение отсутствовало, в то время как боль, вызванная холодом, нарастала. По мнению авторов, это объясняется недостаточным ингибированием С-волокон, которое обычно сопутствует активации А-волокон. Холодовое ощущение, обычно вызываемое ментолом, в условиях блокады исчезало, а также наблюдалось снижение чувствительности на механические стимулы. Индуцированная ментолом боль была сильнее, чем без блокады. Более того, гипералгезия к холодовым стимулам, которая уже наблюдалась во время блокирования А-волокон, достоверно усиливалась ментолом. Авторы предположили, что ментол действует на чувствительные к холоду перифе-

animals. TRPM8-knockout mice responded weaker to cold, did not react to icilin, generally caused cold effect and slightly reacted to acetone, applied for checking the reaction to cold effect. The authors [6] established these mice as avoiding the contact with the surfaces, having temperature lower than 10°C, although in a less extent than the wild type mice. As reported [36], the TRPM8 receptors are activated within 8–28°C temperature range. Both TRPA1 and TRPM8 receptors are probably involved in response to 10°C temperature. In mice, which cells are free of TRPM8 channels, there were revealed the cold-sensitive neurons, being insensitive to mustard oil (TRPA1 agonist). This confirms the fact, that TRPA1 receptors are not involved into this response [6]. Of note is the fact, that a nociceptive response to temperature under 0°C in TRPM8-knockout mice was normal.

When applying menthol onto skin or mucous membrane there is the TRPM8 receptor activation, resulting in cold sensation. Menthol causes painful and cold sensations, meanwhile the results of mechanosensor tests remain unchanged [61]. Under conditions of A-fiber blockade of radial nerve surface branch under low temperature effect a cold feeling was absent, meanwhile the pain, caused by cold increased. The authors believe, that it may be explained by an insufficient inhibition of C-fibers, generally accompanying the A-fiber activation. Cold sensation, generally caused by menthol, under blockade conditions disappeared, as well as a decrease in sensitivity to mechanical stimuli was observed. Menthol-induced pain was stronger, if compared to without blockade. Moreover, the hyperalgesia to cold stimuli, already observed during A-fiber blocking, was statistically and significantly strengthened by menthol. The authors suggested menthol to act on cold-sensitive peripheral vasoactive nociceptive C-fibers and cold-specific A δ -fibers [61].

A decrease in skin temperature causes a cold sensation at first, but under further temperature reduction it does the pain. This effect is probably mediated by the activation of both thin myelin cold-specific A δ -fibers and non-myelin pain-conductive C-fibers [61]. Low temperature activates the polymodal C-nociceptors, responding to mechanical stimuli and high temperature as well [29].

The role of TRPM8 channels in nociception has not been studied yet. High doses of menthol may cause painful feelings, testifying to the relationship of TRPM8 with nociception. The question is still open whether menthol activates the only receptor in sensor afferents: TRPM8 or it participates in other nociception-associated mechanisms [21]. Meanwhile in the paper [6] the menthol cooling effect was shown as mediated only through TRPM8 channels.

рические вазоактивные ноцицептивные С-волокна и холодоспецифические Аδ-волокна [61].

Снижение температуры кожи вызывает вначале холодное ощущение, а при дальнейшем снижении температуры – боль. Такой эффект, вероятно, опосредуется активацией как тонких миелиновых, специфических для холода Аδ-волокон, так и немиелиновых С-волокон, проводящих боль [61]. Низкая температура активирует полимодальные С-ноцицепторы, которые также отвечают на механические стимулы и высокую температуру [29].

Роль TRPM8-каналов в ноцицепции еще не исследована. Высокие дозы ментола могут вызывать болевые ощущения, что свидетельствует о связи TRPM8 с ноцицепцией. Остается открытым вопрос: активирует ли ментол единственный рецептор в сенсорных афферентах – TRPM8 или он участвует также в других механизмах, связанных с ноцицепцией [21]. Тогда как в работе [6] показано, что охлаждающее действие ментола опосредуется только через TRPM8-каналы.

Существует предположение, что TRPM8-рецепторы вовлекаются в холодовую ноцицепцию, однако более вероятными кандидатами на участие в этом процессе являются TRPA1-рецепторы, которые активируются более низкими температурами [48]. В работе [54] показано, что TRPA1 экспрессируются в ноцицептивных нейронах. Нейроны, которые экспрессируют TRPA1, очень медленно отвечают на холод, поэтому авторы [48] предположили, что холодовая ноцицепция у людей опосредуется не только TRPA1-рецепторами, но и возможно вовлечение других механизмов, которые предстоит исследовать.

Холод может также активировать сенсорные нервные волокна косвенно, вызывая повреждение ткани или изменения в сосудистом тоне, что приводит к стимуляции ноцицепторов и вызывает болевые ощущения [6].

Известно, что ментол и горчичное масло длительное время использовали для снятия или уменьшения боли. Отмечено вовлечение TRP-каналов в воспалительную реакцию. Так, авторы [5, 60] показали, что брадикинин активировал токи TRPA1. TRP-каналы – относительно новая мишень в терапии [43]. Пока неизвестно, смогут ли служить TRPM8 или TRPA1 значимыми мишенями для болеутоляющих средств.

В работе [9] оценивали реакцию клеток, содержащих TRPM8: эмбриональных почек человека, лимфатических узлов при раке предстательной железы и ганглиев дорзальных корешков спинного мозга на действие соединений различной химической структуры, представляющих собой прототипы соединений, которые вызывают охлаждение. Исследованы эффекты карбоновой кислоты, амидов

The TRPM8 receptors are assumed to be involved in cold nociception, however more probable candidates to participate in this process are TRPA1 receptors, activating by lower temperatures [48]. As reported [54], TRPA1 are expressed in nociceptive neurons. The neurons, expressing TRPA1 respond very slowly to cold, therefore the authors [48] assumed a human cold nociception to be mediated not only by TRPA1 receptors, but a possible involving of other mechanisms to be investigated.

Cold may also activate the sensor nerve fibers indirectly, by causing a tissue damage or changes in vascular tonus, resulting in nociceptor stimulation and causing pain sensation [6]

Menthol and mustard oil are known to be used within many centuries for pain killing or reduction. The involvement of TRP channels in inflammatory response was noted. Thus, the authors [5, 60] demonstrated bradykinin to activate the TRPA1 flows. The TRP channels are a relatively new target in therapeutic usage of preparations [43]. It is still unknown whether TRPM8 or TRPA1 may serve as priority targets for analgetics.

In the paper [9] there was evaluated the response of TRPM8-containing cells: human embryonic kidneys, lymph nodes at prostate cancer and dorsal root ganglia of spinal cord to the effect of compounds of different chemical structure, representing the prototypes of cooling-caused compounds. The effects of carbon acid, its amides and phosphine oxide were investigated. The studied compounds demonstrated a dose-dependent and reversible TRPM8 activation. Carboxamide, as the most efficient in TRPM8 activation among the tested compounds, was especially emphasized [9]. The authors believe the TRPM8 as capable to be the target for prostate cancer diagnostics and treatment.

According to the research results [36] the normal responses either to menthol or icilin application, activating TRPM8, were revealed in approximately 17% cultured neurons of trigeminal ganglia and dorsal roots of spinal cord in wild type animals. In spite of the fact, that the neurons of TRPM8-knockout mice did not respond to these compounds, they manifested a normal sensitivity to capsaicine: TRPV1 agonist and allylic isothiocyanate (mustard oil): TRPA1 agonist [5, 27].

In the paper [36] approximately 50% TRPM8-expressing neurons were shown as containing TRPV1 channels, therefore they were sensitive to low and high temperatures and activated by both menthol and capsaicine.

Of interest is the fact of TRP cold channel participation not only in cold perception, but other functional processes as well. TRPA1 channels in hair follicle cells of vertebrates are involved in mechanosensitivity, testified by the presence of mTRPA1 transcripts and

карбоновых кислот и оксид фосфина. Изучаемые соединения показали дозозависимую и обратимую активацию TRPM8. Особенно выделен карбоксамид, являющийся самым эффективным в активации TRPM8 из испытанных соединений [9]. Авторы считают, что TRPM8 может быть мишенью в диагностике и лечении рака простаты.

Согласно результатам исследования [36] приблизительно у 17% культивированных нейронов ганглиев тройничного нерва и дорзальных корешков спинного мозга животных дикого типа были выявлены нормальные ответы на аппликацию ментола или ицилина, активирующие TRPM8. Несмотря на то, что нейроны TRPM8-нокаутированных мышей не отвечали на эти соединения, они проявили нормальную чувствительность к капсаицину – агонисту TRPV1 и аллиловому изотиоционату (горчичному маслу) – агонисту TRPA1 [5, 27].

В работе [36] показано, что приблизительно 50% нейронов, экспрессирующих TRPM8, также содержат TRPV1-каналы, поэтому они чувствительны к низкой и высокой температуре, и активируются как ментолом, так и капсаицином.

Интересным представляется факт участия холодových TRP-каналов не только в холодовом восприятии, но и в других функциональных процессах. TRPA1-каналы в клетках волосных фолликулов позвоночных вовлечены в механочувствительность, о чем свидетельствует наличие мTRPA1-транскриптов и белков, а также снижение функции этих клеток после ингибирования экспрессии TRPA1-белка [16, 39]. Обнаружены определенные для холода ноцицепторы в роговице глаза кошки, которые возбуждались небольшим снижением температуры в диапазоне 8–30°C [24].

Структурно-функциональная характеристика холодových TRP-рецепторов. TRP-каналы формируют тетрамеры, каждая субъединица которых включает 6 трансмембранных доменов, а также N и C терминальные области, находящиеся внутри клетки (рисунок) [15, 56].

В исследовании [56] идентифицирована область “закрученной спирали” (“coiled coil”), участвующая в сборке холод- и ментол-активируемого TRPM8-канала. Показано, что она содержится на цитоплазматической области C-конца TRPM8 и необходима для формирования тетрамерного канала [22, 56]. Таким образом, область “закрученной спирали” необходима для созревания и функционирования канала.

Сборка канала может быть нарушена единственной точечной мутацией в области “закрученной спирали” [22]. Эта мутация не позволяет функционировать каналам и не дает возможность его субъединицам взаимодействовать или формиро-

proteins, as well as a decrease in the function of these cells after inhibition of TRPA1 protein expression [16, 39]. The cold-special nociceptors in feline eye cornea, excited by slight temperature decrease within 8-30°C range were found out [24].

Structure-functional characteristics of cold TRP receptors. TRP channels form tetramers, where each subunit comprises 6 transmembrane domains, as well as N and C terminal areas, being inside a cell (Figure) [15, 56].

As reported [56], there was identified the area of “coiled coil”, participating in the assembly of cold- and menthol-activated TRPM8 channel. This was shown as located on cytoplasmic area of TRPM8 C-end and necessary for tetrameric channel formation [22, 56]. Thus, the “coiled coil” area is necessary for channel maturation and functioning.

The channel assembly may be disordered by the single point mutation in “coiled coil” area [22]. This mutation does not allow functioning for channels and provides no possibility for its subunits to interact or form protein complexes, i.e. to create multimers, nevertheless it is not a hindrance for transporting to plasmatic membrane.

The authors [12] have revealed a specific area within the limits of intracellular C-terminal area, enabling the temperature perception for TRPV1 and TRPM8. In the paper [31] there was proposed a biophysical model, based on the temperature property to change the potential-sensitivity of channels, contributed to TRPV1 and TRPM8 opening under high and moderately low temperatures, correspondingly.

The role of N-glycosilation was investigated in order to analyse the mechanisms, being the base for channel assembly and transport [22]. The authors consider the Asn-934 as the single acceptor site for N-bound glycans; such a supposition is based on studying the mutation effects of this site. In this research was also analysed the area inside TRPM8, involved on channel assembly, the role of N-glycosilation for subunit transport was determined.

In contrast to C-end the “coiled coil” area on N-end is not the feature for TRPM channels [22]. The N-end “coiled coil” area contains a great number of alanines (9.5%), meanwhile in C-terminal area their number is significantly lower (2.6%) [41]. The N-terminal site probably plays a stabilising role *in vivo* [22].

In TRPM8 channel the N-glycosilation site was revealed between transmembrane domains (TM): TM5 and TM6, where the pore area and a selective filter are hypothetically located [44]. Potential sites of N-glycosilation were also found out inside TM5-TM6 domains in TRPM2 (the nearest relative of TRPM8), TRPM4 and TRPM5. In each case the assumed glycosilation sites have a selective filter, moreover in

вать протеиновые комплексы, то есть создавать мультимеры, тем не менее, она не является препятствием для транспортировки к плазматической мембране.

Авторами [12] обнаружена специфическая область в пределах внутриклеточной С-терминальной области, которая позволяет TRPV1 и TRPM8 воспринимать температуру. В работе [31] была предложена биофизическая модель, которая основана на свойстве температуры изменять потенциал-чувствительность каналов, что способствует открытию TRPV1 при высоких температурах и TRPM8 – при умеренно низких.

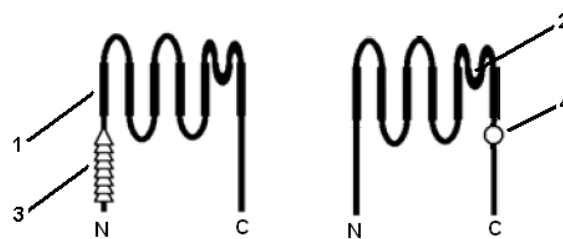
Для анализа механизмов, лежащих в основе сборки и транспорта канала, исследована роль N-гликозилирования [22]. Авторы считают, что Asn-934 – это единственный акцепторный участок для N-связанных гликанов; такое предположение основано на исследовании эффектов мутирования этого участка. Также в этой работе проанализированы области внутри TRPM8, которые вовлечены в сборку каналов, определена роль N-гликозилирования для субъединичного транспорта.

В отличие от С-конца область “закрученной спирали” на N-конце не является характерной особенностью TRPM-каналов [22]. Область “закрученной спирали” N-конца содержит большое количество аланинов (9,5%), тогда как в С-терминальной области их значительно меньше (2,6%) [41]. Вероятно, N-терминальный участок играет стабилизирующую роль *in vivo* [22].

В TRPM8-канале участок N-гликозилирования выявлен между трансмембранными доменами (TM) – TM5 и TM6, где предположительно содержится область поры и селективный фильтр [44]. Потенциальные участки N-гликозилирования также обнаружены внутри TM5- и TM6-доменов у TRPM2 (самого близкого родственника TRPM8), TRPM4 и TRPM5. В каждом случае предполагаемые участки гликозилирования имеют селективный фильтр, при этом у TRPM2 и TRPM8 в состав фильтра входят два цистеина. Правильное сворачивание области поры важно для ее функционирования. Авторы [20] также показали, что участок гликозилирования, который “обрамляется” в поре двумя остатками цистеина, важен для функционирования канала.

Маловероятно, что существует общий механизм сборки ионных каналов TRP-семейства. Хотя TRPM-каналы обычно имеют длинные N- и С-области, им не хватает анкирин-повторяющихся областей, которые вовлечены в сборку TRPV4-, TRPV5- и TRPV6-каналов [2, 23].

Авторы [7, 13, 36] исследовали *in vitro* охлаждающие соединения, которые активировали TRPM8: ицилин, эвкалиптол, амид карбоновой кислоты и др. В работе [7] идентифицированы 10 но-



Схематическое изображение субъединиц TRPA1 и TRPM8 каналов: 1 – трансмембранный домен; 2 – область поры; 3 – анкирин-повторяющаяся область; 4 – локализация “закрученной спирали”.

Scheme of subunits of TRPA1 and TRPM8 channels: 1 is a transmembrane domain; 2 is pore area; 3 is ankyrin-repeated area; 4 is “coiled coil” localisation.

TRPM2 and TRPM8 the filter comprises two cysteines. A correct pore site folding is important for its functioning. The authors [20] have also demonstrated the glycosylation site, “edged” in a pore by two cysteine residues, as important for channel functioning.

It is unlikely, that there is a common assembly mechanism for the TRP family ion channels. Although the TRPM channels generally have the long N- and C-area, they miss the ankyrin-repeating area, involved in TRPV4, TRPV5 and TRPV6 channels assembling [2, 23].

The authors [7, 13, 36] studied *in vitro* the cooling compounds, activating TRPM8: icilin, eucalyptol, carbon acid amide etc. In the paper [7] there were identified 10 new agonists and 3 TRPM8 receptor ones. A critical amino acid residue: glutamine in third transmembrane channel area, necessary for TRPM8 activation by icilin, was revealed [13]. At the same time the site of icilin action on TRPM8 channels coincides with a side of TRPV1 receptor, binding capsaicine, that testifies to the identity of molecular activation mechanisms of these thermoreceptors [13].

The intensity of responses of TRPM8 channels to menthol and icilin effects reduces both under increasing pH from 7.5 to 8 and decreasing pH from 7.5 down to 6.8, the response was completely inhibited at pH 6.3. Meanwhile the TRPV1 channel activation augmented under pH decrease from 7.5 down to 6.3 [7]. At the same time in the paper [1] the pH decrease down to 6 was shown to inhibit the flows though TRPM8 in response to cold or icilin effects, but the response to menthol action remained unchanged under this decrease. The authors suggested the icilin and cold activation to involve different mechanisms, than menthol one.

Cooling component icilin, the known TRPM8 agonist, also activates TRPA1 flows, although with lower efficiency, if compared to TRPM8 [54].

A temperature sensitivity may be modulated either by phosphorylation of intracellular residues of TRP channels by protein kinases or insertion of new channels into cell membrane [25].

вых агонистов и 3 антагониста TRPM8- рецепторов. Выявлен критический аминокислотный остаток – глутамин в третьей трансмембранной области ка-нала, который необходим для активации TRPM8 ицилином [13]. При этом место действия ицилина на TRPM8-каналы совпадает со стороной TRPV1-рецептора, связывающей капсаицин, что свидетельствует об идентичности молекулярных механизмов активации этих терморепрепторов [13].

Интенсивность ответов TRPM8-каналов на действие ментола и ицилина уменьшалась как при повышении pH с 7,5 до 8, так и при снижении pH с 7,5 до 6,8, ответ полностью ингибировался при pH 6,3, тогда как активация TRPV1-каналов увеличивалась при снижении pH с 7,5 до 6,3 [7]. В то же время в работе [1] показано, что снижение pH до 6 тормозит токи через TRPM8 в ответ на действие холода или ицилина, а ответ на действие ментола при таком снижении pH не меняется. Авторы предположили, что активация ицилином и холодом вовлекает иные механизмы, чем активация ментолом.

Охлаждающий компонент ицилин, известный агонист TRPM8, также активирует токи TRPA1, хотя с меньшей эффективностью, чем TRPM8 [54].

Температурная чувствительность может модулироваться фосфорилированием внутриклеточных остатков TRP-каналов протеинкиназами или вставкой новых каналов в клеточную мембрану [25].

Механизмы регуляции TRP-каналов довольно сложны [50]. Недавние исследования показали модуляцию различных TRP каналов фосфоинозитидами, в частности фосфотидилинозитол-4,5-бифосфатом (PIP₂). В большинстве случаев PIP₂ облегчает активацию TRP каналов [59]. Модуляция фосфатидилинозитол-4,5-бифосфатом подробно описана для ванилоидных (TRPV1, TRPV5), меластатиновых (TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8), полицистинового (TRP2) и TRP-подобных каналов (TRPL) дрозофилы [50]. PIP₂ стимулирует TRPM5-, TRPM7-, TRPM8- и TRPV5-каналы [30, 49, 51], но ингибирует TRPV1-каналы [14].

PIP₂ играет центральную роль в активации нескольких TRP-каналов [11]. Авторы выявили домен TRP-канала, который вовлечен в активацию фосфатидилинозитол-4,5-бифосфатом TRPM8-канала. Для установления областей активации каналов фосфатидилинозитол-4,5-бифосфатом и температурой исследовали химеру TRP-канала, у которого проксимальная часть С-конца TRPV1-канала заменена эквивалентным участком С-конца TRPM8-канала. Такой канал активировался PIP₂ и высокой температурой [11]. Полученные в этой работе данные свидетельствуют о существовании различных областей активации для температуры и PIP₂. При этом авторы [49] предположили, что каналы TRP-семейства обладают общим PIP₂-

Regulation mechanisms for TRP channels are quite complicated [50]. The recent studies showed the modulation of different TRP channels by phosphoinositides, particularly, phosphatidyl inositol 4,5 biphosphate (PIP₂). In most cases PIP₂ facilitates the TRP channel activation [59]. The phosphatidyl inositol modulation by 4,5 biphosphate is specified for vanilloid (TRPV1, TRPV5), melastatin (TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8), polycystin (TRP2) and TRP-like fruit fly channels (TRPL) [50]. PIP₂ stimulates the TRPM7, TRPM8 and TRPV5 [30, 49, 51], but inhibits TRPV1 channels.

PIP₂ plays a central role in activating some TRP channels [11]. The authors revealed the TRP channel domain, involved into the TRPM8 channel activation with phosphatidyl inositol 4,5-biphosphate. In order to establish the area of channel activation by phosphatidyl inositol 4,5-biphosphate and temperature there was investigated the TRP channel chimera, which proximal part of C-end of TRPV1 channel was changed for an equivalent site of C-end of TRPM8 channel. This channel was activated by PIP₂ and a high temperature [11]. This research findings testify to the existence of different activation areas for temperature and PIP₂. At the same time the authors [49] assumed the TRP family channels as possessing of a total PIP₂-binding site, located on a proximal site of C-end.

PIP₂ is a secondary mediator and source of three more lipid –derivative messengers: diacylglycerol (DAG), inositol triphosphate (IP₃) and phosphatidyl inositol-3,4,5 triphosphate (PIP₃) [37]. PIP₂ exhausting inhibits flows through TRPM7, TRPM5, TRPM8, TRPV5 and TRPM4 channels [34, 49, 51].

The data [34] enable considering the TRPM8, like many TRPM channels [33, 51], to require the PIP₂ presence for activation. The PIP₂ hydrolysis is important for Ca²⁺-dependent TRPM8 desensibilization [34, 49].

In spite of many proves of TRP channel involvement into cold perception, some authors consider epithelial sodium channels, background potassium ones or ion pumps as making an important contribution into a cold-caused depolarisation and neuron excitation [3, 47, 54, 58].

Conclusions

The data presented in the paper reflect the novel notions about the channel family, quite recently found out, involved into the numerous processes and, possibly, included into the integration mechanisms of different functions.

Current data about the cold TRP receptors extend the knowledge, that may be used in selecting the regimens for cold effect on organism in therapeutic purposes; enable a deeper understanding of occurring

связывающим участком, расположенным на проксимальном участке С-конца.

PIP₂ является вторичным посредником и источником еще трех липид-производных мессенджеров: диацилглицерола (DAG), инозитолтрифосфата (IP₃) и фосфатидинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP₃) [37]. Истощение PIP₂ ингибирует токи через TRPM7-, TRPM5-, TRPM8-, TRPV5- и TRPM4-каналы [34, 49, 51].

Данные [34] позволяют считать, что TRPM8, подобно многим TRPM-каналам [33, 51], требует для активации присутствия PIP₂. Гидролиз PIP₂ важен для Ca²⁺-зависимой десенсибилизации TRPM8 [34, 49].

Несмотря на множество доказательств вовлечения TRP-каналов в холодовое восприятие, некоторые авторы считают, что существенный вклад в вызванную холодом деполяризацию и возбуждение нейронов вносят эпителиальные натриевые каналы, фоновые калиевые каналы или ионные насосы [3, 47, 54, 58].

Выводы

Изложенные в работе данные отражают новейшие представления об относительно недавно открытом семействе каналов, которые вовлечены во множество процессов и, возможно, включены в механизмы интегрирования различных функций.

Современные данные о холодовых TRP-рецепторах расширяют знания, которые могут быть использованы для выбора режимов холодового воздействия на организм в терапевтических целях; позволяют более глубоко понять происходящие изменения при поэтапном охлаждении замораживающих объектов, которые включают как физические процессы охлаждения-замораживания, так и физиологическую реакцию, вовлекающую различные механизмы в каждом диапазоне температур, при снижении температуры от физиологической до 0°C.

Дальнейшее изучение холодовой рецепции, в частности фундаментальное исследование TRP-каналов, является современным актуальным направлением, позволяющим более глубоко понять механизмы сенсорного и, в частности, температурного восприятия.

Литература

1. 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, N23 – P. 5364–5369.
2. Arniges M., Fernández-Fernández J.M., Albrecht N. et al. Human TRPV4 channel splice variants revealed a key role of ankyrin domains in multimerization and trafficking // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281, Issue 3. – P. 1580–1586.
3. Askwith C.C., Benson C.J., Welsh M.J., Snyder P.M. DEG/ENaC ion channels involved in sensory transduction are

changes under a staged cooling down of frozen objects, including both physical processes of cooling-freezing and physiological response, involving different mechanisms in each temperature range, at temperature decrease from physiological one down to 0°C.

Further studying of cold reception, particularly, fundamental investigation of TRP channels, is an actual direction, enabling deeper understanding of mechanisms of sensor and temperature perception, in particular.

References

1. 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, N23 – P. 5364–5369.
2. Arniges M., Fernández-Fernández J.M., Albrecht N. et al. Human TRPV4 channel splice variants revealed a key role of ankyrin domains in multimerization and trafficking // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281, Issue 3. – P. 1580–1586.
3. Askwith C.C., Benson C.J., Welsh M.J., Snyder P.M. DEG/ENaC ion channels involved in sensory transduction are modulated by cold temperature // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98, Issue 11. – P. 6459–6463.
4. Babes A., Zorzon D., Reid G. Two populations of cold-sensitive neurons in rat dorsal root ganglia and their modulation by nerve growth factor // *Eur. J. Neurosci.* – 2004. – Vol. 20, N9. – P. 2276–2282.
5. Bandell M., Story G.M., Hwang S.W. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin // *Neuron.* – 2004. – Vol. 41, N6. – P. 849–857.
6. Bautista D.M., Siemens J., Glazer J.M. et al. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold // *Nature.* – 2007. – Vol. 448, N7150. – P. 204–208.
7. Behrendt H.J., Germann T., Gillen C. et al. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay // *Br. J. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 141, N4. – P. 737–745.
8. Bidaux G., Roudbaraki M., Merle C. et al. Evidence for specific TRPM8 expression in human prostate secretory epithelial cells: functional androgen receptor requirement // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2005. – Vol. 12, N2. – P. 367–382.
9. Bödding M., Wissenbach U., Flockerzi V. Characterisation of TRPM8 as a pharmacophore receptor // *Cell Calcium.* – 2007. – Vol. 42, Issue 6. – P. 618–628.
10. Brayden J.E., Earley S., Nelson M.T., Reading S. Transient receptor potential (TRP) channels, vascular tone and autoregulation of cerebral blood flow // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2008. – Vol. 35, N9. – P. 1116–1120.
11. Brauchi S., Orta G., Mascayano C. et al. Dissection of the components for PIP₂ activation and thermosensation in TRP channels // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – Vol. 104, N24. – P. 10246–10251.
12. Brauchi S., Orta G., Salazar M. et al. A Hot-Sensing Cold Receptor: C-Terminal Domain Determines Thermosensation in Transient Receptor Potential Channels // *J. Neurosci.* – 2006. – Vol. 26, N18. – P. 4835–4840.
13. Chuang H.H., Neuhausser 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, N6. – P. 859–869.
14. Chuang H.H., Prescott E.D., Kong H. et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated inhibition // *Nature.* – 2001. – Vol. 411, N6840. – P. 957–962.

- modulated by cold temperature // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 2001.– Vol. 98, Issue 11.– P. 6459–6463.
4. Babes A., Zorzon D., Reid G. Two populations of cold-sensitive neurons in rat dorsal root ganglia and their modulation by nerve growth factor // Eur. J. Neurosci.– 2004.– Vol. 20, N9.– P. 2276–2282.
 5. Bandell M., Story G.M., Hwang S.W. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin // Neuron.– 2004.– Vol. 41, N6.– P. 849–857.
 6. Bautista D.M., Siemens J., Glazer J.M. et al. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold // Nature.– 2007.– Vol. 448, N7150.– P. 204–208.
 7. Behrendt H.J., Germann T., Gillen C. et al. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay // Br. J. Pharmacol.– 2004.– Vol. 141, N4.– P. 737–745.
 8. Bidaux G., Roudbaraki M., Merle C. et al. Evidence for specific TRPM8 expression in human prostate secretory epithelial cells: functional androgen receptor requirement // Endocr. Relat. Cancer.– 2005.– Vol. 12, N2.– P. 367–382.
 9. Bödding M., Wissenbach U., Flockerzi V. Characterisation of TRPM8 as a pharmacophore receptor // Cell Calcium.– 2007.– Vol. 42, Issue 6.– P. 618–628.
 10. Brayden J.E., Earley S., Nelson M.T., Reading S. Transient receptor potential (TRP) channels, vascular tone and autoregulation of cerebral blood flow // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.– 2008.– Vol. 35, N9.– P. 1116–1120.
 11. Brauchi S., Orta G., Mascayano C. et al. Dissection of the components for PIP₂ activation and thermosensation in TRP channels // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 2007.– Vol. 104, N24.– P. 10246–10251.
 12. Brauchi S., Orta G., Salazar M. et al. A Hot-Sensing Cold Receptor: C-Terminal Domain Determines Thermosensation in Transient Receptor Potential Channels // J. Neurosci.– 2006.– Vol. 26, N18.– P. 4835–4840.
 13. Chuang H.H., Neuhausser 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, N6.– P. 859–869.
 14. Chuang H.H., Prescott E.D., Kong H. et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated inhibition // Nature.– 2001.– Vol. 411, N6840.– P. 957–962.
 15. Clapham D.E. TRP channels as cellular sensors // Nature.– 2003.– Vol. 426, N6966.– P. 517–524.
 16. Corey D.P., Garcia-Anoveros J., Holt J.R. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells // Nature.– 2004.– Vol. 432, N7018.– P. 723–730.
 17. Dhaka A., Viswanath V., Patapoutian A. TRP ion channels and temperature sensation // Annu. Rev. Neurosci.– 2006.– Vol. 29.– P. 135–161.
 18. Dhaka A., Earley T.J., Watson J., Patapoutian A. Visualizing cold spots: TRPM8-expressing sensory neurons and their projections // J. Neurosci.– 2008.– Vol. 28, N3.– P. 566–575.
 19. Dhaka A., Murray A.N., Mathur J. et al. TRPM8 is required for cold sensation in mice // Neuron.– 2007.– Vol. 54, N3.– P. 371–378.
 20. 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, Issue 49.– P. 37353–37360.
 21. Eccles R. Menthol and related cooling compounds // J. Pharm. Pharmacol.– 1994.– Vol. 46, N8.– P. 618–630.
 22. Erler I., Al-Ansary D.M., Wissenbach U. et al. Trafficking and assembly of the cold-sensitive TRPM8 channel // J. Biol. Chem.– 2006.– Vol. 281, Issue 50.– P. 38396–38404.
 23. Erler I., Hirnet D., Wissenbach U. et al. Ca²⁺-selective transient receptor potential V channel architecture and function require a specific ankyrin repeat // J. Biol. Chem.– 2004.– Vol. 279, N33.– P. 34456–34463.
 24. Gallar J., Pozo M.A., Tuckett R.P., Belmonte C. Response of sensory units with unmyelinated fibres to mechanical, thermal and chemical stimulation of the cat's cornea // J. Physiol.– 1993.– Vol. 468, N1.– P. 609–622.
 25. Huang J., Zhang X., McNaughton P.A. Modulation of temperature-sensitive TRP channels // Semin. Cell Dev. Biol.– 2006.– Vol. 17, N6.– P. 638–645.
 26. Jones R. Sensory transduction: out in the cold // Nat. Rev. Neurosci.– 2002.– Vol. 3, Issue 3.– P. 169–170.
 27. Jordt S.E., Bautista D.M., Chuang H.H. et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 // Nature.– 2004.– Vol. 427, N6971.– P. 260–265.
 28. Kenshalo D.R., Duclaux R. Response characteristics of cutaneous cold receptors in the monkey // J. Neurophysiol.– 1977.– Vol. 40, N2.– P. 319–332.
 29. LaMotte R.H., Thalhammer J.G. Response properties of high-threshold cutaneous cold receptors in the primate // Brain Res.– 1982.– Vol. 244, N2.– P. 279–287.
 30. Lee J., Cha S.K., Sun T.J., Huang C.L. PIP₂ Activates TRPV5 and Releases Its Inhibition by Intracellular Mg²⁺ // J. Gen. Physiol.– 2005.– Vol. 126, N5.– P. 439–451.
 31. Liman E.R. Thermal gating of TRP ion channels: food for thought? // Sci. STKE.– 2006.– Vol. 2006, Issue 326.– P. 12.
 32. Lin S.Y., Corey D.P. TRP channels in mechanosensation // Curr. Opin. Neurobiol.– 2005.– Vol. 15, N3.– P. 350–357.
 33. 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, N25.– P. 15160–15165.
 34. Liu B., Qin F. Functional control of cold- and menthol-sensitive TRPM8 ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate // J. Neurosci.– 2005.– Vol. 25, N7.– P. 1674–1681.
 35. McKemy D.D. How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation // Molecular Pain.– 2005.– Vol. 1, N1.– P. 16–22.
 36. 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, N6876.– P. 52–58.
 37. McLaughlin S., Murray D. Plasma membrane phosphoinositide organization by protein electrostatics // Nature.– 2005.– Vol. 438, N7068.– P. 605–611.

- tion require a specific ankyrin repeat // *J. Biol. Chem.*—2004.— Vol. 279, N33.— P. 34456–34463.
24. Gallar J., Pozo M.A., Tuckett R.P., Belmonte C. Response of sensory units with unmyelinated fibres to mechanical, thermal and chemical stimulation of the cat's cornea // *J. Physiol.*—1993.— Vol. 468, N1.— P. 609–622.
 25. Huang J., Zhang X., McNaughton P.A. Modulation of temperature-sensitive TRP channels // *Semin. Cell Dev. Biol.*—2006.— Vol. 17, N6.— P. 638–645.
 26. Jones R. Sensory transduction: out in the cold // *Nat. Rev. Neurosci.*—2002.— Vol. 3, Issue 3.— P. 169–170.
 27. Jordt S.E., Bautista D.M., Chuang H.H. et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 // *Nature.*—2004.— Vol. 427, N6971.— P. 260–265.
 28. Kenshalo D.R., Duclaux R. Response characteristics of cutaneous cold receptors in the monkey // *J. Neurophysiol.*—1977.— Vol. 40, N2.— P. 319–332.
 29. LaMotte R.H., Thalhammer J.G. Response properties of high-threshold cutaneous cold receptors in the primate // *Brain Res.*—1982.— Vol. 244, N2.— P. 279–287.
 30. Lee J., Cha S.K., Sun T.J., Huang C.L. PIP₂ Activates TRPV5 and Releases Its Inhibition by Intracellular Mg²⁺ // *J. Gen. Physiol.*—2005.— Vol. 126, N5.— P. 439–451.
 31. Liman E.R. Thermal gating of TRP ion channels: food for thought? // *Sci. STKE.*—2006.— Vol. 2006, Issue 326.— P. 12.
 32. Lin S.Y., Corey D.P. TRP channels in mechanosensation // *Curr. Opin. Neurobiol.*—2005.— Vol. 15, N3.— P. 350–357.
 33. 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, N25.— P. 15160–15165.
 34. Liu B., Qin F. Functional control of cold- and menthol-sensitive TRPM8 ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate // *J. Neurosci.*—2005.— Vol. 25, N7.— P. 1674–1681.
 35. McKemy D.D. How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation // *Molecular Pain.*—2005.— Vol. 1, N1.— P. 16–22.
 36. McKemy D.D., Neuhauser W.M., Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation // *Nature.*—2002.— Vol. 416, N6876.— P. 52–58.
 37. McLaughlin S., Murray D. Plasma membrane phosphoinositide organization by protein electrostatics // *Nature.*—2005.— Vol. 438, N7068.— P. 605–611.
 38. Montell C., Rubin G.M. Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction // *Neuron.*—1989.— Vol. 2, N4.— P. 1313–1323.
 39. Nagata K., Duggan A., Kumar G., García-Acoveros J. Nociceptor and hair cell transducer properties of TRPA1, a channel for pain and hearing // *J. Neurosci.*—2005.— Vol. 25, N16.— P. 4052–4061.
 40. Namer B., Seifert F., Handwerker H.O., Maihöfner C. TRPA1 and TRPM8 activation in humans: effects of cinnamaldehyde and menthol // *Neuroreport.*—2005.— Vol. 16, N9.— P. 955–959.
 41. O'Neil K.T., DeGrado W.F. A thermodynamic scale for the helix-forming tendencies of the commonly occurring amino acids // *Science.*—1990.— Vol. 250, N4981.— P. 646–651.
 42. Nilius B. Transient receptor potential (TRP) cation channels: rewarding unique proteins // *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.*—2007.— Vol. 162, N3-4.— P. 244–253.
 43. Okuhara D.Y., Hsia A.Y., Xie M. Transient receptor potential channels as drug targets // *Expert. Opin. Ther. Targets.*—2007.— Vol. 11, N3.— P. 391–401.
 44. Owsianik G., Talavera K., Voets T., Nilius B. Permeation and selectivity of TRP channels // *Annu. Rev. Physiol.*—2006.— Vol. 68.— P. 685–717.
 45. Patapoutian A., Peier A.M., Story G.M., Viswanath V. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation // *Nat. Rev. Neurosci.*—2003.— Vol. 4, N7.— P. 529–539.
 46. Pedersen S.F., Owsianik G., Nilius B. TRP channels: an overview // *Cell Calcium.*—2005.— Vol. 38, N3-4.— P. 233–252.
 47. Pierau F.K., Torrey P., Carpenter D.O. Mammalian cold receptor afferents: role of an electrogenic sodium pump in sensory transduction // *Brain Res.*—1974.— Vol. 73, N1.— P. 156–160.
 48. Reid G. ThermoTRP channels and cold sensing: what are they really up to? // *Pflugers Arch.*—2005.— Vol. 451, N1.— P. 250–263.
 49. Rohacs T., Lopes C.M., Michailidis I., Logothetis D.E. PI(4,5)P₂ regulates the activation and desensitization of TRPM8 channels through the TRP domain // *Nat. Neurosci.*—2005.— Vol. 8, N5.— P. 626–634.
 50. Rohacs T., Nilius B. Regulation of transient receptor potential (TRP) channels by phosphoinositides // *Pflugers Arch.*—2007.— Vol. 455, N1.— P. 157–168.
 51. Runnels L.W., Yue L., Clapham D.E. The TRPM7 channel is inactivated by PIP(2) hydrolysis // *Nat. Cell Biol.*—2002.— Vol. 4, N5.— P. 329–336.
 52. Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reilly C.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*—2008.— Vol. 39, N4.— P. 466–474.
 53. Sawada Y., Hosokawa H., Hori A. et al. Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels // *Brain Res.*—2007.— Vol. 1160.— P. 39–46.
 54. Story G.M., Peier A.M., Reeve A.J. et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures // *Cell.*—2003.— Vol. 112, N6.— P. 819–829.
 55. Tominaga M. Molecular mechanisms of thermosensation // *Nip. Yak. Zas.*—2004.— Vol. 124, N4.— P. 219–227.
 56. Tsuruda P.R. Coiled coils direct assembly of a cold-activated TRP channel // *Neuron.*—2006.— Vol. 51, N2.— P. 201–212.
 57. Venkatchalam K., Montell C. TRP Channels // *Annu. Rev. Biochem.*—2007.— Vol. 76.— P. 387–417.
 58. Viana F., de la Pena E., Belmonte C. Specificity of cold thermotransduction is determined by differential ionic channel expression // *Nat. Neurosci.*—2002.— Vol. 5, N3.— P. 254–260.
 59. Voets T., Nilius B. Modulation of TRPs by PIPs // *J. Physiol.*—2007.— Vol. 582, N3.— P. 939–944.
 60. Wang S., Dai Y., Fukuoka T. et al. Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain // *Brain.*—2008.— Vol. 131, N5.— P. 1241–1251.

- ture sensation // *Nat. Rev. Neurosci.*– 2003.– Vol. 4, N7.– P. 529–539.
46. *Pedersen S.F., Owsianik G., Nilius B.* TRP channels: an overview // *Cell Calcium.*– 2005.– Vol. 38, N3-4.– P. 233–252.
 47. *Pierau F.K., Torrey P., Carpenter D.O.* Mammalian cold receptor afferents: role of an electrogenic sodium pump in sensory transduction // *Brain Res.*– 1974.– Vol. 73, N1.– P. 156–160.
 48. *Reid G.* ThermoTRP channels and cold sensing: what are they really up to? // *Pflugers Arch.*– 2005.– Vol. 451, N1.– P. 250–263.
 49. *Rohacs T., Lopes C.M., Michailidis I., Logothetis D.E.* PI(4,5)P2 regulates the activation and desensitization of TRPM8 channels through the TRP domain // *Nat. Neurosci.*– 2005.– Vol. 8, N5.– P. 626–634.
 50. *Rohacs T., Nilius B.* Regulation of transient receptor potential (TRP) channels by phosphoinositides // *Pflugers Arch.*– 2007.– Vol. 455, N1.– P. 157–168.
 51. *Runnels L.W., Yue L., Clapham D.E.* The TRPM7 channel is inactivated by PIP(2) hydrolysis // *Nat. Cell Biol.*– 2002.– Vol. 4, N5.– P. 329–336.
 52. *Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reilly C.A.* Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*– 2008.– Vol. 39, N4.– P. 466–474.
 53. *Sawada Y., Hosokawa H., Hori A. et al.* Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels // *Brain Res.*– 2007.– Vol. 1160.– P. 39–46.
 54. *Story G.M., Peier A.M., Reeve A.J. et al.* ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures // *Cell.*– 2003.– Vol. 112, N6.– P. 819–829.
 55. *Tominaga M.* Molecular mechanisms of thermosensation // *Nip. Yak. Zas.*– 2004.– Vol. 124, N4.– P. 219–227.
 56. *Tsuruda P.R.* Coiled coils direct assembly of a cold-activated TRP channel // *Neuron.*– 2006.– Vol. 51, N2.– P. 201–212.
 57. *Venkatachalam K., Montell C.* TRP Channels // *Annu. Rev. Biochem.*– 2007.– Vol. 76.– P. 387–417.
 58. *Viana F., de la Pena E., Belmonte C.* Specificity of cold thermotransduction is determined by differential ionic channel expression // *Nat. Neurosci.*– 2002.– Vol. 5, N3.– P. 254–260.
 59. *Voets T., Nilius B.* Modulation of TRPs by PIPs // *J. Physiol.*– 2007.– Vol. 582, N3.– P. 939–944.
 60. *Wang S., Dai Y., Fukuoka T. et al.* Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain // *Brain.*– 2008.– Vol. 131, N5.– P. 1241–1251.
 61. *Wasner G., Schattschneider J., Binder A., Baron R.* Topical menthol – a human model for cold pain by activation and sensitization of C nociceptors // *Brain.*– 2004.– Vol. 127, N5.– P. 1159–1171.

Accepted in 31.03.2009

*Поступила 31.03.2009
Рецензент А.В. Шило*