

## **СПЕЦИФІКА ІОННИХ КАНАЛІВ ТА МОДУЛЯЦІЯ ЇХ ФУНКЦІЙ У НЕЙРОНАХ НОЦИЦЕПТИВНОЇ СИСТЕМИ**

Надійшов 02.03.09

Розглядаються питання, пов'язані з композицією іонних каналів у мембранах нейронів ноцицептивної системи; особливу увагу приділено каналам сімейства TRP. Обговорюються фактори (зокрема, генетично детерміновані), котрі впливають на активність цих каналів. Розглянуто роль певних ензимів (протеїнкіназ, фосфоліпаз та ін.) у модуляції функціонування каналних структур, властивих ноцицептивним нейронам. Обговорено також роль кальцієвих трансмембранних струмів і стану клітинних кальційрегулюючих компартментів у передачі ноцицептивних сигналів. Особливу увагу приділено тривалим модуляційним змінам активності різних іонних каналів, котрі зумовлюють розвиток стабільних зрушень сенситивних властивостей системи ноцицепції (гіпералгезії, гіпоалгезії, алодінії) у певних станах неврологічної патології.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ноцицептори, больовий синдром, кальцій, канали, фармакологічні препарати.

### **ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМИ НОЦИЦЕПЦІЇ**

У загальнобіологічному аспекті процеси рецепції больових впливів і центральної обробки відповідної інформації є однією з найважливіших складових функціонування сенсорних систем хребетних (у тому числі й людини) і деяких інших груп тварин. Сприйняття болю дозволяє організму уникати дії подразників, які загрожують нормальній життєдіяльності, і зберігати свою цілісність. Дисфункція в системі ноцицепції може мати для організму катастрофічні наслідки. Подібні розлади виникають та розвиваються при багатьох захворюваннях і супроводжують їх; одночасно ці розлади можуть відігравати роль важливих самостійних патогенетичних факторів у розвитку тих або інших патологій.

Система ноцицепції є частиною загальної соматосенсорної системи. Її вхідними елементами, як і в інших підрозділах соматосенсорної системи, є первинні аферентні нейрони і центральні релейні ней-

рони, котрі передають ноцицептивну інформацію до „вищих” поверхів ЦНС. Первинною ж ланкою в системі ноцицепції є власне ноцицептори – первинні сенсорні структури певних груп сегментарних аферентних нейронів та аферентних нейронів деяких ядер черепномозкових нервів. Ноцицептори відрізняються від інших рецепторних структур соматосенсорної системи відносно високими порогоми збудження; розвиток у них генераторного потенціалу та ініціація імпульсної активності відбуваються лише за умови дії стимулів (механічних, термічних, хімічних), котрі мають достатньо високу енергію і створюють загрозу цілісності організму та його тканин. Це зумовлює в цілому невисоку модальну специфічність ноцицепторів. Класифікація таких рецепторних структур за модальністю (механоноцицептори, термоноцицептори та ін.) є самостійним аспектом, і в даному огляді ми на цьому будемо зупинятися лише в обмеженій мірі.

Морфологічно переважна частина больових рецепторів є вільними розгалуженнями первинних аферентних волокон, розподіленими в шкірі, м'язах, надкисниці та тканинах внутрішніх органів. Усі ноцицептивні волокна є порівняно тонкими та відносяться до груп  $A\delta$  (певна частина – можливо,

---

<sup>1</sup> Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).  
Ел. пошта: ekostyuk@biph.kiev.ua (О. П. Костюк);  
pkostyuk@biph.kiev.ua (П. Г. Костюк).

до А $\gamma$ ) та С. Перші з них є переважно мієлінізованими, тоді як другі – безмієліновими. Загально-відомо, що первинні аферентні волокна соматосенсорної системи є периферичними відростками псевдоуніполярних аферентних нейронів. Ці волокна забезпечують проведення імпульсної активності від рецепторних структур у ЦНС. Такі волокна за структурою та характеристиками проведення цілком подібні до рухових волокон (аксонів мотонейронів) та еферентних волокон автономної нервової системи (зокрема, у багатьох з них є мієлінова оболонка). Проте фактично такі волокна не є аксонами. Часто первинні аферентні волокна кваліфікують як специфічний вид нейронних відростків – дендрони. Соми первинних аферентних нейронів розташовані поза ЦНС – у спінальних дорсально-корінцевих гангліях (ДКГ) та в гангліях сенсорних ядер (або під'ядер) черепномозкових нервів. Ноцицептивні аферентні волокна є відростками аферентних нейронів з відносно невеликим діаметром сом – дрібних та середніх за величиною нейронів сенсорних гангліїв; іншими словами, між розміром сом таких нейронів та їх приналежністю до системи ноцицепції існує досить чітка кореляція. Ця особливість розглядалась у багатьох публікаціях; в аспекті, близькому до предмету нашого огляду, вона згадана в декількох роботах [1–3].

На сьогодні накопичено досить багато відомостей про композицію іонних каналів у мембранах первинних аферентних нейронів, у тому числі й ноцицептивних, та про механізми модуляції активності таких каналів. Слід, проте, вказати на певні концептуальні ускладнення, про які при розгляді цих питань згадують не завжди. Адже переважна частина відповідної інформації була отримана в експериментах саме на сомах первинних аферентних нейронів (нейронів сенсорних гангліїв), а не на сенсорних рецепторах як таких. Очевидно, є підстави вважати, що патерни експресії білків іонних каналів та сигнальних систем у сомі та периферичних відростках аферентного нейрона якісно не розрізняються. Вони визначаються діяльністю розташованого в ядрі генетичного апарата такого нейрона, котрий є єдиним цілим. Отже, властивості мембран сом аферентного нейрона та його периферичної рецепторної структури найчастіше *a priori* вважаються ідентичними. Однак при цьому звичайно не звертається уваги на можливість кількісних розбіжностей, наприклад відмінних значень щільності тих або інших іонних каналів у мембранах різних компартментів клітини. Прямі докази

близькості кількісних характеристик сукупностей іонних каналів у мембранах сом та периферичних ділянок аферентних нейронів відсутні; щоправда, немає й доказів протилежного – наявності драматичних відмінностей таких характеристик.

## ІОННІ КАНАЛИ В ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАНАХ НОЦИЦЕПТИВНИХ НЕЙРОНІВ

У мембранах первинних ноцицептивних нейронів присутній досить різноманітний набір іонних каналів. Окрім потенціалзалежних натрієвих та калієвих каналів, там виявлені хемокеровані глутаматчутливі рецептор-канальні комплекси (NMDA- та AMPA-типів, кайнатні). Специфічною особливістю ноцицепторів є інтенсивна експресія в них потенціалкеро-ваних каналів сімейства TRP (transitor receptor potential, рецептор-канальних комплексів транзитного рецепторного потенціалу). Саме наявність цих канальних структур і визначає істотною мірою приналежність периферичних рецепторних структур тонких аферентних волокон до ноцицепторів. Такі канали відкриваються і починають демонструвати неселективну (або низькоселективну) іонну проникність при зрушеннях рецепторного потенціалу, викликаючи дію ушкоджуючих стимулів [4, 5].

Сімейство каналів TRP є досить численним і різноманітним, і окремі підтипи таких каналів відповідають за дещо різні аспекти ноцицепції. До цього сімейства входять такі підгрупи, як TRPA, TRPC, TRPL, TRPM, TRPV та ін. Канали TRPA та TRPV фактично являють собою мультимодальні мембранні рецептори. Їх канали відкриваються при дії інтенсивних термічних, хімічних або механічних подразників. У деяких ноцицепторів поріг збудження є настільки високим, що вони не відповідають на дію звичайних больових подразників, а збуджуються лише після інтенсивного пошкодження тканин. Це так звані сплячі ноцицептори; для них характерна наявність мембранних рецепторів груп TRPV2 та TRPV3 [6].

Канали TRPV1, котрі мають ванілоїдні рецептори та є чутливими до дії капсаїцину, виявляють істотну чутливість до високих температур, тобто аферентні одиниці з наявністю зазначених каналів у мембрані є термонотицепторами. Термальна чутливість характерна і для інших сімейств TRP – TRPV2, TRPV3 та TRPV4, причому діапазони їхньої термозалежності є різними [4–7]. Канали TRPM8

та TRPA1 активуються при дії низьких температур, причому збудження ноцицепторів, для яких характерні вказані канали, індукує відчуття “спалахуючого болю” [6]. Больова чутливість таких одиниць може бути опосередкованою – холодова стимуляція веде до підвищення в даних клітинах рівня  $Ca^{2+}$ , а це підвищення вже безпосередньо активує TRPA1. За своєю структурою і функціями капсаїчутливі канали TRPV1 та TRPV3 є досить подібними [7]. Термальна чутливість ноцицепторів може забезпечуватися не лише каналами сімейства TRP; калієві канали TREK1 є також термозалежними (їх активність при підвищенні температури знижується [6]).

Серед усіх згаданих каналів лише канали групи TRPV є істотно проникними для кальцію, а також частково – для натрію.

Окрім мембранних рецепторів сімейства TRP, для ноцицептивних аферентних нейронів типовою є присутність пептидергічних рецепторів [8] (зокрема, типу P2X), рецепторів сімейства Mrg (магній-нуклеотидрегульованих) та рН-чутливих рецепторних структур сімейства ASIC. Кальцієві струми через мембрану ноцицептивних первинних аферентних нейронів забезпечуються наявністю потенціалзалежних кальцієвих каналів типів L, T, N, R та P/Q [1, 2]. До генерації ноцицептивних сигналів особливе відношення має активація високопорогових кальцієвих каналів N-типу; останні виявилися чутливими до змін температури. Слід також вказати на те, що помітна кальцієва проникність характерна для глутаматних рецептор-канальних комплексів.

Отже, формування аферентної імпульсації в периферичних ноцицептивних структурах залежить від стану багатьох видів рецептор-канальних комплексів у мембрані цих закінчень, а даний стан може піддаватися різноманітним модулюючим впливам. У результаті подібних впливів, котрі переходять межі норми, можуть розвиватися такі стани системи ноцицепції, як гіпералгезія (виникнення надлишково інтенсивних ефектів, викликаних больовою стимуляцією) [5], гіпоалгезія (анормальне пригнічення больової чутливості) та алодінія (виникнення болю у відповідь на стимуляцію, котра в нормі до больової відповіді не призводить). Взагалі, больові синдроми в певному аспекті можна підрозділити на два загальних типи – ноцицептивний та невропатичний біль. Останній зумовлений не адекватною активацією ноцицепторів, а тими чи іншими ушкодженнями або дисфункцією різних підрозділів ноцицептивної сенсорної системи. Невропатичний біль може виникати як на перифе-

ричному, так і на центральному рівні. Диференціація ноцицептивного та невропатичного болю може бути утрудненою; наприклад, активація ноцицепторів може відбуватися не внаслідок дії адекватного ушкоджуючого стимулу, а в результаті впливів певних субстанцій, котрі виділяються в тканинах при запальних процесах. Згідно з локалізацією ноцицепторів біль підрозділяється на соматичний (викликаний ушкодженнями шкіри, м'язів та надкисниці) та вісцеральний (виникаючий внаслідок ушкодження внутрішніх органів).

Як уже вказувалося, функціональні характеристики ноцицепторів можуть істотно модулюватися під дією різних факторів, насамперед тих, котрі визначають експресію білків тих або інших мембранних рецепторів. Значна частина нейронів ДКГ із сомами невеликих розмірів (тобто здогадно ноцицептивних) відносяться до пептидергічних одиниць. Властивості цих нейронів модулюються під впливом кальцитонін-генчутливого пептиду (CGSP) та субстанції P. Непептидергічні ноцицептори є чутливими до гліального фактора росту (GF). У них експресується RET+ (трансмембранний сигнальний компонент рецепторного комплексу гліального клітинного нейротрофічного фактора – NTF), і такі нейрони вміщують ізолектин. Термо- та хемочутливі пептидергічні ноцицептивні аферентні одиниці з домінуванням мембранних рецепторів сімейств TRP та Mrg (зокрема, MrgA1, MrgA3, MrgB4), пов'язаних з G-білками, є чутливими до дії транскрипційного фактора *Runx1*. Останній є критично необхідним для експресії TRPV1 та TRPM8 та активує експресію TRPC3 та АТФ-чутливих P2X-рецепторів [9, 10].

Істотний вплив на ноцицептивні нейрони здійснює нервовий фактор росту (NGF). Зниження продукції цього фактора призводить до розвитку стану гіпоалгезії. Дія NGF опосередковується рецепторами специфічного виду – тирозинкіназа А (TtkA)-чутливими. Сигнали, передача котрих забезпечується активацією TtkA-рецепторів, є принципово необхідними для встановлення молекулярної та функціональної специфічності значної частини ноцицепторів. У мишей з нокаутом генів, відповідальних за експресію TtkA-рецепторів, зникають фенотипічні маркери не тільки пептидергічних, але й непептидергічних аферентних одиниць як у межах неонатального періоду, так і у дорослих тварин [8]. У цих умовах також пригнічується експресія протончутливих каналів (ASIC 1-3),  $\mu$ -опіоїдних рецепторів ( $\mu$ OR) та натрієвих каналів Nav1.8.

*Runx1*-чутливі рецептори поділяються на декілька

груп. Серед них можна виділити RET-залежні та RET-незалежні, TrkA-залежні та TrkA-незалежні. У цілому *Runx1* є фактором, специфічно необхідним для формування термоноцицепції, але не механоноцицепції, тобто генетичний контроль ноцицепторів м'язів (пропріоноцицепторів) та термо/хемоноцицепторів здійснюється різними шляхами. Дія *Runx1* є критично необхідною для формування тієї частини ноцицепції, котра забезпечується діяльністю непертидергічних нейронів. Цей фактор впливає на регуляцію ефектів RET та TrkA та визначає розвиток низки іонселективних та певних груп іоннеселективних каналів [9, 10].

Взаємодія впливів *Runx1* та RET є досить складною. Вказувалося, що RET не має вирішального значення для визначення того чи іншого типу нейронів ДКГ, але є абсолютно необхідним фактором для адекватного розвитку соми цих нейронів (визначення нормального розміру) та встановлення нормальних проєкцій їх аферентних волокон (насамперед, формування шкірних рецепторів) [5]. Комплекс, який опосередковує дію RET, може бути складнішим, ніж уявлялось, і включати в себе корецептори гліального ретроградного фактора росту GFR $\alpha$ 2 [8]. Слід відмітити, що ефекти RET обмежуються первинною аферентною ланкою системи ноцицепції. У RET-мутантів дефектів у передачі аферентних сигналів на рівні спинного мозку не спостерігалось.

Такі групи мембранних рецептор-каналних комплексів, як TRPV1, MrgD та P2X3, є RET-незалежними, але вони досить залежні від *Runx1*. Рецептори TRPV1 та P2X3 практично не залежать від NGF/TrkA-сигналів; за відсутності *Runx1* їх кількість знижується, але лише частково [4].

Функціонування ноцицепторів істотно залежить від ретроградної сигналізації. Так, процеси запалення в тканинах, у котрих локалізовані ноцицептивні чутливі закінчення, призводять до посиленої експресії у відповідних аферентних нейронах низки нейропептидів (зокрема, мозкового нейротрофічного фактора – BDNF) та протеїнів натрієвих каналів і рецепторно-каналних комплексів TRPV. Все це зумовлює розвиток периферичної сенситизації та підвищує ефективність синаптичної передачі до центральних механізмів. Соми первинних аферентних нейронів у даному випадку змінюються і набувають низки нових молекулярних рис. У них посилюється продукція ензимів, котрі залучені в синтез тетрагідробіоптерину (BH4). Це, у свою чергу, призводить до інтенсифікації синтезу NO і впливає на активність кальцієвих каналів. Кінцевим ефектом у

такому ланцюгу подій є розвиток аналгезії. У той же час під впливом таких нейромодуляторів, як простагландини, у ноцицептивних аферентних одиницях підвищується рівень цАМФ та активатора аденілатциклази форсколіну. Підвищення концентрації цАМФ може призводити до посилення активності кальцієвих рецепторзалежних каналів. Ці зрушення зумовлюють сенситизацію ноцицепторів та виникнення алгезії. Розвиток гіпералгезії залежить не тільки від інтенсивності підвищення рівня цАМФ, але і від тривалості таких впливів [11].

### МОДУЛЯЦІЙНА РОЛЬ АКТИВАЦІЇ ПРОТЕЇНКАІНАЗ С (PKC) ЩОДО ПЛАЗМОЛЕМНИХ КАНАЛІВ

Істотну роль у механізмах сенситизації відіграють процеси, зумовлені зміною активності ензимів, котрі належать до групи PKC. Було показано, що PKC, як і PKA, значною мірою модулюють активність TRPV1 внаслідок фосфорилування каналних протеїнів. У результаті цього потенціюються кальцієві струми через такі канали. На дані процеси впливає внутрішньоклітинна концентрація Ca<sup>2+</sup>, і тому в них задіяні кальціймодулюючі протеїни кальмодулін та (або) кальциневрин [12, 13]. Більшість ізоформ PKC ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ) є кальційзалежними, але існує і кальційнезалежна ізоформа (PKC $\epsilon$ ). Дія PKC призводить до активації системи форболових ефірів та інтенсифікації експресії протеазактивованих рецепторів (PAR2). Впливи PKC модулюють не лише активність TRP (зокрема, TRPV1); такі впливи можуть зачіпати і потенціалзалежні кальцієві канали. Вважають, що впливи PKC можуть бути орієнтовані не тільки на каналні білки, але й на певні інші мікродомени клітинної мембрани; цей аспект потребує подальших спеціальних досліджень. Від активності PKC істотною мірою залежить продукція трансмітерів та нейромодуляторів (зокрема, брадикініну). Під дією PKC поріг температурної чутливості TRPV1 може зменшуватися до значень, менших за температуру тіла, та відбувається сенситизація цих рецепторів до дії капсаїцину. Кінцевим ефектом таких змін є загальна сенситизація ноцицептивних елементів при ушкодженні тканин та (або) розвитку запальних процесів. Як припускають, саме дія PKC є одним із вирішальних факторів, котрі зумовлюють розвиток тривалого болю при діабетичній нейропатії та в умовах застосування деяких схем хемотерапії [11, 14–16].

## ІНШІ МОДУЛЮЮЧІ СИСТЕМИ

Сенситизація рецепторів під впливом специфічних нейромедіаторів може настільки знижувати пороги збудження цих рецепторних структур, що пред'явлення стимулів низької (небольшої) інтенсивності починає викликати біль. Серед таких модуляторів слід згадати кініни, хемокіни, цитокіни, простаноїди, фактори росту, АТФ; аналогічний ефект може виникати при змінах рН (концентрації протонів). Останнім часом було ідентифіковано цілу низку речовин, котрі мають подібну модуляторну дію. Це активін TGF $\beta$ , хемокін CCL3, протеази, які активують рецептори гліального росту.

Агенти, котрі забезпечують блокування синтезу простагландину PGE2, впливаючи таким чином на локальну активність циклооксигенази-2 (COX-2), є найкращими нестероїдними засобами лікування больових синдромів. Ефект периферичної сенситизації значною мірою реалізується через фосфорилування рецепторів TRPV1 та, можливо, опосередковується підвищеною активацією фосфоліпази С (PLC), метаболізуванням у циклі PIP та активацією рецепторів TrkA. Іншим можливим шляхом інтенсифікації фосфорилування є посилення продукції PI3- та Src-кіназ [16, 17].

Різностямовані процеси сенситизації та розвитку тахіфілаксії (толерантності до збудження), змінюючи пороги збудження сенсорних рецепторів та ефективність синаптичної передачі від первинних аферентних нейронів, істотно впливають на передачу больової інформації. Тривала тахіфілаксія пов'язана із стабільним зниженням активації каналів та надходженням кальцію в нейрон. При цьому може виникати парадоксальна аналгетична реакція на аплікацію капсаїцину [17]. Зовнішньоклітинна аплікація АТФази зумовлює інгібуючий ефект щодо тахіфілаксії, котрий, швидше за все, реалізується за рахунок конформаційних змін каналних білків. Деякі дослідники вважають, що такі зміни відбуваються внаслідок дії на білок анкерин, який присутній у структурі багатьох TRP-каналів (у каналах TRPV1 він є компонентом воротного механізму). Як слід відзначити, каспазепін – агент, котрий є антагоністом активатора TRP-каналів капсаїцину, має досить виражений антибольовий ефект [18].

TRPV1-канали дуже чутливі до певних внутрішньоклітинних метаболітів, зокрема таких, як ендоканабіноїди (наприклад, анандамід) [19]. Продукція анандаміду посилюється при вході кальцію, опо-

середкованому відкриванням TRPV1, і його вплив на канали даної групи зростає; це розглядається як новий аспект функціональної ролі вказаного ендоканабіноїди здатні зв'язуватися з каналними білками, але взагалі механізм впливу анандаміду на TRPV1-канали до кінця не з'ясований [22]. TRPV1-канали, а також TRPA1 та TRPV3 можуть зв'язуватися з арахідоновою кислотою та брадикініном. Активація брадикінінових V2-рецепторів інтенсифікує вхід кальцію в клітину при її збудженні. Брадикінін підвищує частоту збуджуючих постсинаптичних струмів (ЗПСС) у релейних нейронах, на котрих закінчуються центральні аксони первинних ноцицептивних аферентних одиниць, і цей ефект блокується інгібіторами PLC. Тому не виключено, що в подібній інтенсифікації синаптичної активності може брати участь активація шляху PLC–PKC [14]. Можливим також є зв'язування білків TRPV-каналів з біоактивними ліпідами. Усі згадані речовини можуть дозалежно впливати на рецептори VR1. Ефекти залежать також від часу дії агента та змін внутрішньоклітинної концентрації кальцію [23]. Зв'язування такого типу відбувається в умовах розвитку запалення в тканинах, що вміщують ноцицептори, а також в умовах дії гліального фактора росту та активаторів Trk-рецепторів [20].

Певний внесок у розвиток сенситизації ноцицепторів може забезпечувати дія мітогенактивованої протеїнкінази. До активації кінази, в ендоплазматичному ретикулумі (ER) (ЕРК V2) може призводити вплив нервового фактора росту, аплікації капсаїцину (які зумовлюють посилення експресії TRPV1) та електростимуляція [24]. У той же час, згідно з думкою більшості дослідників, найбільш істотний вплив на стан основної групи мембранних рецепторів, характерної для ноцицептивних структур – TRPV1, здійснюють зміни концентрації кальцію у відповідних нейронних одиницях. Цей аспект буде розглянуто в наступному розділі.

## РОЛЬ КАЛЬЦІЄВИХ ТРАНСМЕМБРАННИХ СТРУМІВ У ПЕРЕДАЧІ НОЦИЦЕПТИВНИХ СИГНАЛІВ

Для з'ясування безпосередньої ролі Ca<sup>2+</sup> у внутрішньоклітинних процесах, пов'язаних з генерацією ноцицептивних сигналів та їх передачею в межах ЦНС, було проведено ряд досліджень трансмембранних кальцієвих струмів у первинних аферент-

них та центральних релейних нейронах системи ноцицепції [25].

Було показано, що кальцієві струми, викликані аплікацією капсаїцину, рееструються здебільшого в первинних аферентних нейронах із сомами малого та середнього розмірів. Амплітуда таких струмів демонструє чітку залежність від зовнішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ . Наростання цих струмів відбувається відносно повільно, а спадання є практично експоненціальним. Аналогічні струми спостерігались у гостроізолюваних нейронах дорсального рогу спинного мозку. Було показано, що через відповідні канали проходять не тільки іони  $\text{Ca}^{2+}$ , а й інші іони, також зумовлюючи больовий синдром [25, 26]. Як було відмічено, аплікації капсаїцину на диференційовані аферентні одиниці викликають модуляцію потенціалзалежних кальцієвих струмів саме в дрібних нейронах ДКГ [21]. Вольт-амперні характеристики (ВАХ) таких струмів зміщуються в бік гіперполяризації, а їх рівноважний потенціал в більшості випадків зміщується від  $-40$  до  $-20$  мВ. Аплікації капсаїцину по-різному впливають на канали L-, N- та T-типів. Струми через канали типу L з'являються вже після зміщення ВАХ капсаїцин-індукованих струмів у бік гіперполяризації.

Як уже згадувалося, канали TRPV1 присутні в мембранах вторинних ноцицептивних нейронів, локалізованих у сірій речовині спинного мозку. Сенситизація цих нейронів може бути частково зумовлена впливом РКС на глутаматергічні нейрони дорсального рогу [21, 29].

Активація TRPV1 призводить до розвитку тривалих кальцієвих сигналів у пресинаптичних елементах і посилює вивільнення глутамату в глутаматергічних синапсах кайнатного та NMDA-типів [30]. Ендогенна стимуляція ванілоїдних рецепторів або активація їх капсаїцином зумовлює полегшення глутаматергічної передачі до ДОФА-ергічних нейронів *substantia nigra* [31] та норадренергічних нейронів блакитної плями [32]. Аналогічних впливів на ГАМК-ергічні та гліцинергічні синапси не відмічено.

Кальцієві сигнали, викликані в нейронах ноцицептивної системи, істотно впливають на стан внутрішньоклітинних органел. Надходження кальцію через TRPV1-канали та поступове збільшення його рівня в клітині викликають деполяризацію мітохондрій [33]. Тривалі аплікації капсаїцину та підвищення рівня кальцію здатні зумовлювати формування та відкривання мітохондріальних мегаканалів (пор транз'єнтної проникності – mPTP) у мембра-

нах цих органел, що може кінець кінцем призвести до розвитку апоптозу клітин. На стан мітохондрій можуть безпосередньо впливати агоністи та антагоністи VR1; не виключений також вплив інших внутрішньоклітинних молекул [34]. Слід мати на увазі, що кальцієва сигналізація може по-різному впливати на мітохондрії в первинних аферентних нейронах (а вірогідно, і в перших центральних нейронах) залежно від особливостей локалізації цих органел (у безпосередній близькості до зовнішньої мембрани або на певній відстані від неї) [2].

Дія капсаїцину (активатора TPRV-каналів) розповсюджується не тільки на мітохондрії, але й на інші внутрішньоклітинні органели, насамперед на ER. Активація ріанодинчутливого компартмента ER відбувається до певної міри паралельно до активації VR1-каналів. Такої кореляції щодо IP3-чутливого ER не виявлено. Визначним феноменом в умовах аплікації капсаїцину є також взаємодія активності SERCA та функціонування ER, що проявляється в ефектах, індукованих аплікаціями тапсигаргіну [35, 36].

Істотна регуляція функціональних характеристик під впливом певних метаболітів і, взагалі, певних факторів зовнішнього середовища властива не тільки TPRV1-рецептор-канальним комплексам, але й деяким потенціалзалежним каналам. Наприклад, у разі підвищення температури потенціалзалежні низькопорогові кальцієві канали T-типу зазнають активації, як і TPRV1-канали. Подібні модифікації можуть призводити до того, що в деяких нейронах ДКГ починає генеруватися спонтанна пейсмеркерна активність. Даний процес має схильність до розповсюдження на неушкоджені нейрони. Це зумовлює розвиток больових синдромів, зокрема з наявністю “спалахів” болю. Скоріше за все, саме зміни в кальцієвих T-каналах є основним фактором, відповідальним за появу пейсмеркерної імпульсації, тоді як напади болю в більшій мірі зумовлені аномальною активацією TPRV1-каналів [37, 38]. Не виключено існування деякого фактора, котрий споріднює „ноцицептивні” канали сімейства TPR та певні групи кальцієвих каналів. Таким фактором може бути білок анкерин, присутній у структурі молекул як TPRV1-каналів, так і потенціалзалежних кальцієвих каналів.

Можливо, що розвиток болю під впливом капсаїцину до певної міри пов'язаний з дією цього агента на потенціалзалежні кальцієві канали ще одного типу – N-канали. Блокатор даних каналів циклопентидин може зумовлювати розвиток тривалої аналге-

зії, але зазначений агент має настільки інтенсивні побічні ефекти, що його пряме використання в терапевтичних цілях не є можливим [21, 39].

Викликання спонтанних болів в умовах розвитку нейропатичних зрушень або запалення пов'язане зі змінами кількості та (або) функціональних характеристик різних каналних структур – катіоннесефективних нуклеотидмодульованих каналів, потенціалзалежних низькопорогових каналів, кальцієвих каналів, а також низки калієвих та натрієвих каналів [40–42]. Саме модифікації каналів останньої групи можуть відігравати якщо не провідну, то в усякому разі дуже значну роль. Загальновідомо, що натрієві канали забезпечують швидку деполяризацію плазматичної мембрани; така деполяризація формує висхідну фазу потенціалу дії (ПД). Частина натрієвих каналів ефективно блокуються тетродотоксином (ТТХ), тоді як їх інша частина є ТТХ-нечутливою. У нейронах ДКГ із сомами малого розміру (тобто згодом ноцицептивних одиниць) переважно локалізовані саме ТТХ-нечутливі натрієві канали. Полегшення активації ТТХ-нечутливих натрієвих каналів  $Na_v1.8$  та  $Na_v1.9$  у мембранах нейронів ДКГ малого та середнього розмірів зумовлює істотне зниження порогу больової чутливості. Слід мати на увазі, що провідність через канали  $Na_v1.8$  відіграє істотну роль у розвитку генераторного потенціалу у рецепторних структурах аферентних нейронів [41]. Із вказаними вище змінами пов'язані й зміни у функції каналів TRPV1; це разом може зумовлювати зміщення порогу температурної чутливості термонociцепторів.

Зміни експресії потенціалзалежних ТТХ-резистивних каналів  $Na_v1.8$  також можуть призводити до змін тактильної чутливості в умовах дії холодової стимуляції. Кількість/щільність каналів  $Na_v1.8$  зменшується в умовах нефатальних ушкоджень аферентних нейронів, але експресія цих каналів різко збільшується в разі сенситизації даних аферентних одиниць [4]. Що ж до ТТХ-чутливих натрієвих каналів, то лише стан каналів  $Na_v1.7$  має відношення до визначення рівня больової чутливості.

Як уже вказувалося, канали TRPA1 присутні не тільки на периферичному (у первинних аферентних нейронах), але й на центральному рівні (у нейронах спинного мозку, мозочка, ядер таламуса й гіпоталамуса, в лімбічних структурах, гіпокампі та чорній субстанції). Ролі, які виконуються цими рецепторно-каналними комплексами в центральних нейронах, не інтерпретовані в багатьох деталях,

але очевидно, що дані комплекси задіяні в процесі синаптичної пластичності. Як було показано, антагоністи TRPV1-каналів уповільнюють розвиток довготривалої депресії, а розвитку цього феномена у мишей з нокаутом гена білка даних каналів практично не спостерігається. Виявилось також, що інгібітор SR141716A – ефективний блокатор індукції довготривалої депресії синаптичної передачі – також пригнічує активацію каналів TRPV1. Цікаво, що високий рівень активності цих каналів корелює з розвитком довготривалої депресії, тоді як під час індукції довготривалої потенціалізації їх активність істотно зменшується. Як на розвиток процесів синаптичної пластичності центральних нейронів, так і на функціонування каналів TRPV1 у цих клітинах впливають інгібітор останніх каспазепін, ензим ліпооксигеназа та канабіноїди, тобто ті ж самі агенти, котрі модулюють активність TRPV1-каналів у первинних аферентних нейронах [20, 22]. Вказані вище процеси в центральних нейронах, як і в периферичних, є кальційзалежними. Істотною ланкою в них є посилення синаптичного вивільнення глутамату після запуску сигнального каскаду іонами кальцію, котрі входять до клітин значною мірою через згадані канали.

Як уже згадувалося, розвиток больових феноменів залежить від стану цілої низки плазмолемних каналів, у тому числі не в останню чергу кальцієвих. У цьому аспекті на певну увагу заслуговують ефекти окремих агентів, котрі впливають на функцію даних каналів і, таким чином, на всю систему кальцієвої сигналізації в нервових клітинах. До числа таких агентів входить габапентин – агоніст рецепторів ГАМК, який за своєю молекулярною будовою є певною мірою подібним до цієї трансмітерної амінокислоти. Цей агент почали застосовувати як антиконвульсант, і були висловлені деякі припущення щодо механізмів його дії. Одним із аспектів його ефектів могли бути вплив на потенціалзалежні кальцієві канали в постсинаптичних клітинах і відповідна дія на систему сигнальних шляхів вторинних посередників [44, 45]. Нещодавно було показано вплив габапентину на кальцієві канали N-типу; при цьому виявилось, що даний агент демонструє значну аналгетичну дію [4]. Габапентин ефективно впливає на процеси іонної проникності та внутрішньоклітинної сигналізації не тільки в нейронах ЦНС (наприклад, гіпокампа), але й у первинних аферентних нейронах, причому виявляє певну селективність щодо клітин ДКГ із сомами середнього та малого діаметра (значна частина

яких має бути якраз нейронами ноцицептивної системи) [3, 45]. Певні дослідники вважають, що аналгетична дія габапентину істотною мірою пов'язана з його здатністю взаємодіяти з  $\alpha 2\delta$ -субодиницею потенціалкерованих кальцієвих каналів у мембранах нейронів ДКГ [44]. Взагалі ж, механізми аналгетичної дії цього препарату залишаються значною мірою нез'ясованими.

Очевидно, наприкінці слід зупинитися ще на одному аспекті механізмів, котрі зумовлюють больову чутливість, а саме на ролі протончутливих каналів сімейства ASIC та пуринчутливих каналів (наприклад, P2X), присутніх у мембранах первинних аферентних нейронів. Посилення експресії білків пуринергічних каналів призводить до істотного посилення больової чутливості і є характерним для розвитку багатьох випадків нейропатії. Ці феномени проявляються не лише на периферичному, але й на спинальному рівні. Активація пуринергічних каналів не викликає змін експресії каналів групи TRPV і не впливає на активність останніх, хоча канали обох згаданих груп можуть активуватися в разі зовнішньоклітинної аплікації АТФ. Отже, канали цих груп демонструють як деякі аспекти незалежності, так і певні взаємозв'язки [47, 48].

Канали сімейства ASIC, як відомо, активуються при зниженні рН, тобто в разі підвищення концентрації протонів у зовнішньоклітинному середовищі. Слід мати на увазі, що пошкодження тканин та розвиток запалення звичайно пов'язані саме з подібними зрушеннями рН. Необхідно, правда, визнати, що значною мірою не вирішена проблема, пов'язана з наступною обставиною. Зрушення рН, зумовлені згаданими вище патологічними феноменами, є помітними, але все ж таки часто не досягають значень, достатніх для істотної активації ASIC-каналів. Тим не менш, зв'язок активності протончутливих каналів із механізмами формування ноцицептивних сигналів зараз не ставиться під сумнів. Ідентифіковано шість ізоформ каналів сімейства ASIC – ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3 та ASIC4. Вважають, що найбільше значення для розвитку больових синдромів мають канали ASIC3, розташовані переважно в мембранах нейронів ДКГ із сомами невеликих розмірів. Активація каналів ASIC пов'язана зі зміною активності каналів TRPV1. Не виключено, що останні також мають певну властивість протончутливості. Посилення активності ASIC-каналів в умовах виникнення

запальних процесів та розвитку больових синдромів є очевидним фактом, тобто певний паралелізм між функціонуванням каналів цього сімейства та каналів групи TRPV є незаперечним [5, 49].

Таким чином, формування ноцицептивних аферентних сигналів і, відповідно, больових феноменів залежить від функціонування досить складної композиції іонних каналів у нейронах ноцицептивної системи і, зокрема, у первинних аферентних одиницях даної системи. Ці канали належать до різних сімейств і груп. Але, мабуть, найважливішу роль серед них відіграють канали групи TRPV. Специфічність таких каналів щодо іонів, котрі через них проходять, відносно невисока. Рецептори цих рецепторно-канальних комплексів високочутливі до впливів різних катіонів та метаболітів; дані впливи можуть зумовлювати процеси сенситизації та змінювати експресію білків таких каналів та їх рецепторів. Важливість ролі TRPV-каналів не робить менш істотним значення модуляції функцій інших каналів для індукції станів гіпералгезії, алодінії та (в деяких випадках) гіпоалгезії. Зміни кальцієвої сигналізації (модуляція входу  $Ca^{2+}$  через кальцієві та кальційпроникні канали і функціонування внутрішньоклітинних кальційрегулюючих органел) істотно впливають на експресію різних іонних каналів у нейронах ноцицептивної системи та, відповідно, на активність цих нейронів. На більшість згаданих процесів можуть активно впливати такі метаболіти, як брадикінін, ейкозаноїди, простагландини та субстанція P, а також низка ензимів (зокрема, протейнінази); їх впливи є значними в разі розвитку нейропатій. При больових синдромах, викликаних внаслідок запальних процесів, істотне значення мають впливи цитокінів. Аналіз механізмів розвитку больових синдромів неможливий без урахування модуляційних змін у вторинних (спинальних та стовбурових) релейних нейронах ноцицептивної системи, синаптично зв'язаних з первинними аферентними одиницями. Найістотніше значення при цьому мають зміни процесів глутаматергічної синаптичної передачі в нейронах сегментарних та висхідних (насамперед спіно-таламічних) шляхів. Результати досліджень модуляційних процесів у нейронах ноцицептивної системи сприятимуть успішному пошуку нових потужних аналгетичних засобів, котрі матимуть мінімальні побічні ефекти.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- R. S. Scroggs and A. P. Fox, "Calcium current variation between acutely isolated adult rat dorsal root ganglion neurons of different size," *J. Physiol.*, **442**, No. 1, 639-658 (1991).
- E. P. Kostyuk, "Transmission of nociceptive signalling and mechanisms underlying its modulation," *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **39**, № 6, 493-497 (2007).
- С. В. Романенко, П. Г. Костюк, О. П. Костюк, "Вплив габапентину на кальцієві транзєнти в нейронах дорсальнокорінцевих гангліїв щурів", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **40**, № 4, 281-287 (2008).
- Y. Lee, C. H. Lee, and U. Oh, "Painful channels in sensory neurons," *Mol. Cells*, **20**, 315-324 (2005).
- O. Gohar, "Contribution of ion channels in pain sensation," *Modulator*, No. 20, 1-44 (2005).
- J. D. Levine, "TRP channels: targets for the relief of pain," *Biochim. Biophys. Acta*, **1772**, 989-1003 (2007).
- H. Xu, I. S. Ramsey, S. A. Kotecha, et al., "TRPV3 is a calcium-permeable temperature-sensitive cation channel," *Nature*, **418**, 181-186 (2002).
- W. Luo, S. R. Wickramasinghe, J. M. Savitt, et al., "A hierarchical NGF signaling cascade controls Ret-dependent and Ret-independent events during development of nonpeptidergic DRG neurons," *Neuron*, **54**, 739-754 (2007).
- A. I. Chen, J. C. de Nooij, and T. M. Jessell, "Graded activity of transcription factor Runx3 specifies the laminar termination pattern of sensory axons in the developing spinal cord," *Neuron*, **49**, 395-408 (2006).
- C. L. Chen, D. C. Broom, Y. Liu, et al., "Runx1 determines nociceptive sensory neuron phenotype and is required for thermal and neuropathic pain," *Neuron*, **49**, 365-377 (2006).
- D. P. Mohapatra and C. Nau, "Regulation of Ca<sup>2+</sup>-dependent desensitization in the vanilloid receptor TRPV1 by calcineurin and cAMP-dependent protein kinase," *J. Biol. Chem.*, **280**, 13424-13432 (2005).
- T. Rosenbaum, A. Gordon-Shaag, M. Munari, et al., "Ca<sup>2+</sup>/calmodulin modulates TRPV1 activation by capsaicin," *J. Gen. Physiol.*, **123**, 53-62 (2004).
- Z. Z. Wu, S. R. Chen, and H. L. Pan, "Transient receptor potential vanilloid type 1 activation down-regulates voltage-gated calcium channels through calcium-dependent calcineurin in sensory neurons," *J. Biol. Chem.*, **280**, 18142-18151 (2005).
- K. Katanosaka, R. K. Banik, R. Giron, et al., "Contribution of TRPV1 to the bradykinin-evoked nociceptive behavior and excitation of cutaneous sensory neurons," *Neurosci. Res.*, **62**, 168-175 (2008).
- G. P. Ahern, I. M. Brooks, R. L. Miyares, et al., "Extracellular cations sensitize and gate capsaicin receptor TRPV1 modulating pain signaling," *J. Neurosci.*, **25**, 5109-5116 (2005).
- S. Mandadi, M. Numazaki, M. Tominaga, et al., "Activation of protein kinase C reverses capsaicin-induced calcium-dependent desensitization of TRPV1 ion channels," *Cell Calcium*, **35**, 471-478 (2004).
- B. R. Myers and D. Julius, "TRP channel structural biology: new roles for an old fold," *Neuron*, **54**, 847-850 (2007).
- A. R. Santos and J. B. Calixto, "Ruthenium red and capsazepine antinociceptive effect in formalin and capsaicin models of pain in mice," *Neurosci. Lett.*, **235**, 73-76 (1997).
- P. M. Lam, J. McDonald, and D. G. Lambert, "Characterization and comparison of recombinant human and rat TRPV1 receptors: effects of exo- and endocannabinoids," *Br. J. Anaesth.*, **94**, 649-656 (2005).
- M. Van der Stelt, M. Trevisani, V. Vellani, et al., "Anandamide acts as an intracellular messenger amplifying Ca<sup>2+</sup> influx via TRPV1 channels," *EMBO J.*, **24**, 3026-3037 (2005).
- T. Hagenacker, F. Spletstoeser, W. Greffrath, et al., "Capsaicin differentially modulates voltage-activated calcium channel currents in dorsal root ganglion neurons of rats," *Brain Res.*, **1062**, 74-85 (2005).
- M. Tognetto, S. Amadesi, S. Harrison, et al., "Anandamide excites central terminals of dorsal root ganglion neurons via vanilloid receptor-1 activation," *J. Neurosci.*, **21**, 1104-1109 (2001).
- L. De Petrocellis, C. J. Chu, A. S. Moriello, et al., "Actions of two naturally occurring saturated N-acyldopamines on transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels," *Br. J. Pharmacol.*, **143**, 251-256 (2004).
- T. Hagenacker, D. Ledwig, and D. Busselberg, "Feedback mechanisms in the regulation of intracellular calcium [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in the peripheral nociceptive system: role of TRPV-1 and pain related receptors," *Cell Calcium*, **43**, 215-227 (2008).
- P. G. Kostyuk, "Key role of calcium signaling in synaptic transmission," *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **39**, № 4/5, 290-293 (2007).
- U. Oh, S. W. Hwang, and D. Kim, "Capsaicin activates a nonselective cation channel in cultured neonatal rat dorsal root ganglion neuron," *J. Neurosci.*, **16**, 1659-1667 (1996).
- S. J. Bevan and P. Geppetti, "Protons: small stimulants of capsaicin-sensitive sensory nerves," *Trends Neurosci.*, **17**, 509-512 (1994).
- L. Liu and S. A. Simon, "Modulation of IA currents by capsaicin in rat trigeminal ganglion neurons," *J. Neurophysiol.*, **89**, 1387-1401 (2003).
- P. Sikand and L. S. Premkumar, "Potentiation of glutamatergic synaptic transmission by protein kinase C-mediated sensitization of TRPV1 at the first sensory synapse," *J. Physiol.*, **581**, 631-647 (2007).
- Y. V. Medvedeva, M. S. Kim, and Y. M. Usachev, "Mechanisms of prolonged presynaptic Ca<sup>2+</sup> signaling and glutamate release induced by TRPV1 activation in rat sensory neurons," *J. Neurosci.*, **28**, 5295-5311 (2008).
- S. Marinelli, M. Di, V. N. Berretta, et al., "Presynaptic facilitation of glutamatergic synapses to dopaminergic neurons of the rat substantia nigra by endogenous stimulation of vanilloid receptors," *J. Neurosci.*, **23**, 3136-3144 (2003).
- S. Marinelli, C. W. Vaughan, M. J. Christie, et al., "Capsaicin activation of glutamatergic synaptic transmission in the rat locus coeruleus *in vitro*," *J. Physiol.*, **543**, 531-540 (2002).
- A. Athanasiou, P. A. Smith, S. Vakilpour, et al., "Vanilloid receptor agonists and antagonists are mitochondrial inhibitors: how vanilloids cause non-vanilloid receptor mediated cell death," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **354**, 50-55 (2007).
- G. Czeh, A. Varga, Z. Sandor, et al., "Capsaicin induced changes of cytosolic calcium and mitochondrial membrane potential," in: *Receptors, Channels, Messengers*, P. G. Kostyuk, E. A. Lukyanetz (eds.), NASU, Kyiv (2005), pp. 112-129.
- W. Greffrath, T. Kirschstein, H. Nawrath, et al., "Changes in cytosolic calcium in response to noxious heat and their relationship to vanilloid receptors in rat dorsal root ganglion neurons," *Neuroscience*, **104**, 539-550 (2001).
- R. Rizzuto and T. Pozzan, "Microdomains of intracellular Ca<sup>2+</sup>: molecular determinants and functional consequences," *Physiol. Rev.*, **86**, 369-408 (2006).

37. M. Iftinca, B. E. McKay, T. P. Snutch, et al., "Temperature dependence of T-type calcium channel gating," *Neuroscience*, **142**, 1031-1042 (2006).
38. E. Bourinet, A. Alloui, A. Monteil, et al., "Silencing of the Cav3.2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception," *EMBO J.*, **24**, 315-324 (2005).
39. G. W. Zamponi and E. W. McCleskey, "Splicing it up: a variant of the N-type calcium channel specific for pain," *Neuron*, **41**, 3-4 (2004).
40. M. Kress, I. Izidorczyk, and A. Kuhn, "N- and L- but not P/Q-type calcium channels contribute to neuropeptide release from rat skin *in vitro*," *NeuroReport*, **12**, 867-870 (2001).
41. R. E. Coggeshall, S. Tate, and S. M. Carlton, "Differential expression of tetrodotoxin-resistant sodium channels Nav1.8 and Nav1.9 in normal and inflamed rats," *Neurosci. Lett.*, **355**, 45-48 (2004).
42. T. Ohta, T. Imagawa, and S. Ito, "Novel gating and sensitizing mechanism of capsaicin receptor (TRPV1): tonic inhibitory regulation of extracellular sodium through the external protonation sites on TRPV1," *J. Biol. Chem.*, **283**, 9377-9387 (2008).
43. A. M. Binshtok, B. P. Bean, and C. J. Woolf, "Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers," *Nature*, **449**, 607-610 (2007).
44. J. K. Cheng and L. C. Chiou, "Mechanisms of the antinociceptive action of gabapentin," *J. Pharmacol. Sci.*, **100**, 471-486 (2006).
45. Z. D. Luo, N. A. Calcutt, E. S. Higuera, et al., "Injury type-specific calcium channel alpha 2 delta-1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**, 1199-1205 (2002).
46. R. A. Newton, S. Bingham, P. C. Case, et al., "Dorsal root ganglion neurons show increased expression of the calcium channel alpha2delta-1 subunit following partial sciatic nerve injury," *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **95**, 1-8 (2001).
47. Y. Ding, P. Cesare, L. Drew, et al., "ATP, P2X receptors and pain pathways," *J. Auton. Nerv. Syst.*, **81**, 289-294 (2000).
48. H. U. Zeilhofer, M. Kress, and D. Swandulla, "Fractional Ca<sup>2+</sup> currents through capsaicin- and proton-activated ion channels in rat dorsal root ganglion neurons," *J. Physiol.*, **503**, Part 1, 67-78 (1997).
49. M. J. Beyak, "TRPV1 fans the flames of visceral pain," *J. Physiol.*, **586**, 5035 (2008).