Успехи биологической химии, т. 61, 2021, с. 107–154

ИОННЫЙ КАНАЛ TRPV1: СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ, МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ, ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

©2021 г.

И. Н. ГЛАДКИХ¹, О. В. СИНЦОВА¹, Е. В. ЛЕЙЧЕНКО¹, С. А. КОЗЛОВ^{2*}

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток ² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

I. Введение. II. Структура TRPV1. III. Субъединичный состав TRPV1. IV. Функциональные сайты и мутагенез TRPV1. V. Эндогенные регуляторы активности TRPV1. VI. Экзогенные модуляторы активности TRPV1. VII. TRPV1 и воспаление. VIII. TRPV1 и заболевания дыхательной системы. IX. TRPV1 и сердечно-сосудистые заболевания. X. TRPV1 и сахарный диабет. XI. TRPV1 и ментальные расстройства. XII. TRPV1 опосредует острый и хронический зуд. XIII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

TRP (Transient Receptor Potential) ионные каналы или каналы переменного рецепторного потенциала представляют собой суперсемейство трасмембранных белков, которые преобразуют химические

Принятые сокращения: АД – артериальное давление; а.о. – аминокислотный остаток; крио-ЭМ - просвечивающая криогенная электронная микроскопия; ПЦР - полимеразная цепная реакция; СД1Т – сахарный диабет 1 типа; СД2Т – сахарный диабет 2 типа; ТМ – трансмембранный домен; ЦНС – центральная нервная система; ARD – домен анкириновых повторов; CaM - кальмодулин; CB1 - каннабиноидный рецептор; CGRP - кальцитонинген-связанный пептид; СРА – циклическая фосфатидная кислота; DRG – ганглий дорсального корешка; EC₅₀ - полумаксимальная эффективная концентрация; GABAA рецепторы, эндогенным агонистом которых является у-аминомасляная кислота (ГАМК), основной тормозной медиатор в нервной системе позвоночных; НЕК293 - клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; ІСК – ингибиторный цистиновый узел; IC₅₀ - концентрация полумаксимального ингибирования; IL-1α - интерлейкин-1α; Кі – константа ингибирования; LPA – лизофосфатидная кислога; LPS – липополисахарид; LTB4 – лейкотриен B4; LTD – долгосрочная депрессия; NF-кB – транскрипционный ядерный фактор; NMDA – ионотропный рецептор глутамата, селективно связывающий N-метил-D-аспартат; PIP₂ – фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат; PKC – протеинкиназа С; TNF-α – фактор некроза опухоли; RTX – резинифератоксин; TRP – каналы переменного рецепторного потенциала; 5-НТ1А - подтип серотониновых рецепторов; 5'-I-RTX - 5'-йодрезинифератоксин; 12 (S)-НРЕТЕ – гидроксиэйкозапентаеновая кислота, 20-НЕТЕ – гидроксиэйкозатетраеновая кислота.

^{*}Адрес для корреспонденции: serg@ibch.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант 19-74-20088)

И.Н.Гладких и соавт.

и/или физические сигналы внешней среды в изменение потенциала клеточной мембраны и далее в колебания концентрации важнейшего вторичного мессенджера – внутриклеточного кальция (Ca²⁺). На основании структурной гомологии суперсемейство катионных каналов TRP подразделяется на семь подсемейств: TRPC (канонические), TRPV (ваниллоидные), TRPM (меластатиновые), TRPA (анкириновые), TRPP (полицистиновые), TRPML (муколипиновые) [1, 2], TRPN (немеханочувствительные каналы насекомых) [3]. Подсемейство TRPV, названное по способу активации ваниллоид-подобными соединениями, включает в себя шесть представителей: TRPV1-TRPV6, при этом канал TRPV1 является наиболее охарактеризованным вследствие особого интереса к изучению его роли в многочисленных физиологических процессах. Наиболее часто этот ионный канал упоминается в связи с его вовлеченностью в процессы ноцицепции, как одного из ключевых рецепторов боли. Это обсуждено во многих тематических обзорах, поэтому эту тему мы опустим. В данном обзоре мы сосредоточимся на других биологических функциях TRPV1, а также на последних результатах в области структурных и стуктурно-функциональных исследований этого канала, а также рассмотрим активные лиганды эндогенной и экзогенной природы.

TRPV1 – неселективный катионный канал, который активируется как физическим воздействием температуры (t>43°C) или изменением рН внеклеточной среды (pH < 6,0), так и многочисленными эндогенными и экзогенными ваниллоидами, медиаторами воспаления липидной природы, а также токсинами растений и животных [4]. Впервые клонированный в 1997 году из ганглиев дорсального корешка (DRG), TRPV1 сразу вызвал значительный практический интерес исследователей как термосенсор и ключевой ноцицептор в организме млекопитающих: это была первая охарактеризованная молекулярная мишень, отвечающая за регуляцию температуры, с одной стороны, и серьезная альтернатива для разработки неопиодных обезболивающих средств, с другой. Тогда же был начат активный поиск влияющих на функционирование TRPV1 специфических соединений с целью их дальнейшего использования при лечении боли различной этиологии [5]. Практически сразу была подтверждена роль TRPV1 в болевой чувствительности в экспериментах на нокаутных мышах. Несмотря на то, что нокаутные по гену TRPV1 мыши демонстрировали адекватные ответы на критические механические стимулы, они не проявляли болевого поведения, вызванного введением ваниллоидов, у них была нарушена тепловая чувствительность опасной температуры и прояв-

лялась слабая тепловая гиперчувствительность при воспалении [6]. За 10 лет последующих многочисленных исследований стало очевидно, что TRPV1 участвует также во множестве важных физиологических процессов, таких как, терморегуляция, липогенез, функционирование мочевого пузыря, сердечная деятельность, нейрогенез в ЦНС и вовлечен в ряд патологических состояний, например, эзофагеальную рефлюксную болезнь, недержание кала, аллергический контактный дерматит, астму, диабетическую нейропатию и ожирение, зуд и воспаление, боль при онкологии, тревожные расстройства и депрессию [5]. Экспрессия ионного канала TRPV1 в ненейрональных клетках была выявлена методом Вестерн-блоттинга на β-клетках поджелудочной железы [7]; с помощью ПЦР в режиме реального времени – в тучных клетках и кератиноцитах кожи человека [8]. Методом ПЦР и Вестернблоттинг анализом была подтверждена экспрессия генов и наличие белков TRPV1 в культивируемых первичных эпителиальных клетках бронхов человека [9] и во внутрилегочных артериях крысы [10]. Микроскопическими методами была доказана локализации TRPV1 в аксонах по всему дыхательному тракту, но не в эпителиальных клетках дыхательных путей [11], а также в гладкой мускулатуре артериол, но не в самом эндотелии [12].

II. СТРУКТУРА ТRPV1

В настоящее время просвечивающая криогенная электронная микроскопия (крио-ЭМ) является наиболее информативным методом структурной биологии и применяется как для изучения биологических макромолекул, так и установления лиганд-рецепторного взаимодействия при высоком разрешении [13–15]. С 2013 по 2020 год в базу структурных данных PDB было депонировано более 50 структур каналов суперсемейства TRP, полученных с помощью этой техники. Таким образом, на сегодняшний день разрешены пространственные структуры для всего подсемейства TRPV: TRPV1 [16-18], TRPV2 [19], TRPV3 [20], TRPV4 [21], TRPV5 [22] и TRPV6 [23]. До применения крио-ЭМ попытки использовать метод рентгеноструктурного анализа для получения структур TRP каналов имели ограниченный успех из-за проблем, связанных с низкой экспрессией мембранных белков в целом, а также их высокоподвижной многодоменной структурой с постоянными конформационными изменениями и олигомерной организацией на поверхности мембраны [24]. Как исключение, данные рентгеноструктурного анализа были успешно использованы для разрешения структуры TRPV6 [25], а также цитоплазматических

И.Н.Гладких	и	соавт.
-------------	---	--------

структурных доменов каналов, *N*-концевого домена анкириновых повторов (ARD) [26–28] и С-концевого регуляторного региона [29], необходимых для распознавания сигнальных молекул.

Анкириновые повторы представляют собой мотивы из 33 аминокислотных остатков, обычно участвующие в белок-белковых взаимодействиях [30, 31]. Они характерны для многих функциональных белков, отвечающих за передачу сигналов, целостность цитоскелета, транскрипцию или клеточную локализацию [30, 31]. Для TRPV каналов в 2006 году двумя независимыми научными группами были определены структуры крысиного (256 а.о.) и человеческого (251 а.о.) доменов анкириновых повторов TRPV2 (TRPV2-ARD) [27, 28], содержащих по шесть повторяющихся мотивов. Полученные результаты позволили предположить, что данный структурный домен может использоваться не только для стимулирования сборки тетрамерных каналов, как было принято считать ранее, но и для взаимодействия с регуляторными факторами. В 2007 году были получены две кристаллические структуры крысиного TRPV1-ARD (с разрешением 2,7 и 3,2 Å) и идентифицирован мультилигандный сайт связывания, важный для регуляции чувствительности канала [26]. Подобно TRPV2-ARD, домен анкириновых повторов канала TRPV1 (остатки 101-364) включает шесть повторяющихся мотивов, каждый из которых состоит из пары антипараллельных α-спиралей, за которыми следует соответствующая «пальцевая» петля. Различия между структурами TRPV1- и TRPV2-ARD состоят, главным образом, в форме поверхности (различия в конформации длинной «пальцевой» петли 3) и электростатических свойствах (больший положительный заряд TRPV1-ARD, pI 8,3, по сравнению с TRPV2-ARD, pI 5,8), что обусловливает различную специфичность и сродство к разным лигандам. На основе рентгеноструктурных данных был детально описан сайт связывания канала с АТР, внутриклеточного сенсибилизатора TRPV1. Показано, что остатки фосфорной кислоты взаимодействуют с положительными остатками канала R115 (внутренняя спираль 1), К155 и К160 (внутренняя спираль 2), адениновое основание - с L163 (внутренняя спираль 2) и Y199 («пальцевая» петля 2), и, в частности, аминогруппа аденина – с Q202 («пальцевая» петля 2) и Е210 (внутренняя спираль 3) (рис. 1а).

На основе структурных данных и данных, полученных в результате сайт-направленного мутагенеза TRPV1-ARD, было установлено, что кальмодулин (CaM), классический белок посредник, имеет тот же сайт связывания, что и ATP. В результате электрофизиологического тестирования было показано, что ATP предотвращает тахифилаксию

TRPV1: структура, модуляторы, терапевтический потенциал



Рис. 1. Пространственная структура TRPV1.

(а) Ленточная диаграмма свободного канала в закрытом состоянии (PDB ID 3J5P), одна из четырех субъединиц выделена голубым; анкириновые повторы (L111-H358) – розовым; показаны боковые цепи аминокислотных остатков, образующих сайт связывания ATP, согласно данным рентгеноструктурного анализа (PDB ID 2PNN).

(б, в) Пространственная структура усеченного канала (Т335-Т751) в липидном нанодиске (PDB ID 5IRZ). Гомотетрамерный канал представлен в виде ленточной диаграммы, одна из субъединиц выделена красным. Визуализация выполнена в UCSF Chimera [32].

канала (пропадание ответа на повторяющийся стимул) при повторных аппликациях капсаицина, в то время как CaM необходим для ее проявления. Также была доказана сенсибилизирующая роль фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата (PIP₂), еще одного внутриклеточного модулятора TRPV1 [33, 34], сайт связывания которого расположен в TRP домене канала, и показано, что ATP действует как напрямую, связываясь с TRPV1-ARD в конкуренции с CaM, так и косвенно, регенерируя дефосфорилированный PIP₂. На основе всей совокупности данных была предложена модель модуляции чувствительности TRPV1 с участием ARD. Согласно этой модели,

И.Н.Гладких и соавт.

сенсибилизация канала происходит за счет связывания TRPV1-ARD с ATP при высокой концентрации этого сенсибилизатора и низкой внутриклеточной концентрации ионов кальция (в покоящихся клетках), после чего приток Ca²⁺ активирует CaM, который замещает ATP и переводит канал в инактивированное состояние.

В 2020 г. была опубликована первая кристаллическая структура TRPV1-ARD человека (с разрешением 4,5 Å) [35]. В этом домене была обнаружена уникальная конформация в «пальцевой» петле 3 около остатка C258, который наиболее вероятно участвует в образовании межсубъединичной дисульфидной связи, что объясняет высокую чувствительность TRPV1 человека к окислителям, отмеченную ранее в экспериментах.

Комбинацией расчетных (молекулярная динамика) и спектроскопических (круговой дихроизм и собственная белковая флуоресценция) методов было продемонстрировано, что домен TRPV1-ARD претерпевает значительные структурные изменения при температурах выше 43°С, которые приводят к активации TRPV1 [36]. Эти данные предполагают, что ARD является динамическим модулем и может участвовать в управлении температурной чувствительностью TRPV1.

Структура TRPV1, непосредственно вовлеченная в формирование поры ионного канала в мембране, была определена в 2013 году с помощью крио-ЭМ с разрешением 3,27 Å [18]. Это была так называемая минимальная функциональная структура крысиного TRPV1 (598 а.о.). Для более детального распознавания структуры с N- и C-концов молекулы были удалены неструктурированные внутриклеточные фрагменты и часть наружной поровой петли ТМ5, так называемая поровая «башенка». ПЦР-фрагмент, содержащий аминокислотные остатки со 110 по 603 и с 627 по 764 (TRPV1 крысы содержит 838 а.о.) был клонирован и экспрессирован. При экспрессии в клетках млекопитающих или ооцитах такая укороченная субъединица собиралась в функциональный канал, который реагировал на различные стимулы, включая капсаицин, резинифератоксин, внеклеточные протоны, токсины пауков и тепло, и, подобно каналу дикого типа, обнаруживал относительно высокую проницаемость для ионов кальция [37, 38]. Таким образом, биофизическая и структурная информация, получаемая с помощью этой минимальной конструкции TRPV1, достаточно полно отражала свойства канала дикого типа. Однако функциональная роль поровой «башенки» (25 а.о.) до сих пор остается спорной. Исследования, проведенные разными группами, дали разные выводы относительно участия этого структурного фрагмента канала в активации теплом, протонами и лигандами [39-43].

Недавние исследования полноразмерной структуры крысиного TRPV2 с поровой «башенкой» и без нее с разрешением 4,0 Å и 3,6 Å, соответственно, позволили получить структуры канала в полностью и частично открытом состоянии со свободными ваниллоидными сайтами. Полученные результаты согласовались с предыдущими исследованиями в том, что поровая «башенка» не важна для сборки канала TRPV [18], однако она оказывает влияние на активность канала. Методом флуоресцентного имиджинга входящего Ca²⁺ установлено, что TRPV1, TRPV2 и TRPV4 показывают значительное снижение чувствительности к агонистам (около 10 раз в значениях EC₅₀), когда их поровые «башенки» были укорочены до 8 остатков [44]. TRP не считаются чувствительными к напряжению каналами из-за относительно средней зависимости проводимости от напряжения, однако при 25°С их чувствительность к агонисту сильно зависит от напряжения мембраны. Поэтому вполне возможно, что измеренная электрофизиологическими методами активность канала при фиксации положительного потенциала маскировала ухудшенную функциональность минимальной структуры канала, и влияние поровой «башенки» на взаимодействие «верхних» и «нижних ворот» было недооценено. Очевидно, необходимо проведение структурных исследований неукороченного ионного канала TRPV1 в окружении липидов для ревизии накопленной ранее структурной информации.

В настоящее время разрешены минимальные функциональные структуры TRPV1 в закрытом состоянии (рис. 1а), а также в комплексе с капсаицином, резинифератоксином (RTX) и пептидным токсином паука (DkTx) [17], кроме этого, сочетание метода крио-ЭМ с технологией липидных нанодисков позволило установить структуру свободного усеченного канала (335–751 а.о.) в двухслойной липидной среде (рис. 1б, в) и в комплексе с капсазепином, RTX и DkTx [16].

Функциональный TRPV1 канал является гомотетрамером, каждый мономер которого состоит из шести трансмембранных доменов TM1–TM6 с порообразующей петлей между доменами TM5 и TM6 (так называемой P-loop) и внутриклеточными *N*- и *C*-концевыми фрагментами (рис. 2). Четыре идентичные субъединицы формируют достаточно большую пору, проницаемую для катионов и молекул воды в липидном бислое [17, 18]. Геометрические размеры самого канала составляют 100 Å × 110 Å × 110 Å. Пора изнутри ограничена спиралью (pre-TM1, E416-R428) и TRP-доменом (E685-F712, локализованным после TM6) и имеет два «узких места»: так называемые «верхние ворота» – селективный фильтр, образованный короткими неструктурированными сегментами на внеклеточной стороне канала, и «нижние



И.Н.Гладких и соавт.

ворота» – участок, расположенный в пересекающихся спиралях ТМ6, локализованных ближе к цитоплазме.

Несмотря на то, что разрешены только минимальные функциональные структуры TRPV1 в закрытом и открытом состоянии, наблюдается очевидный прогресс в построении различных математических моделей для *in silico* экспериментов и расчета вероятных переходных состояний при моделировании открывания поры канала.

С помощью метода молекулярной динамики усеченного TRPV1 (427-719 а.о., без N-и C-концевых цитоплазматических доменов, но с достроенным трансмембранным фрагментом – поровой «башенкой») в закрытом и открытом состояниях в липидном бислое при различных температурах, было обнаружено зависящее от температуры открытие поры TRPV1 на уровне «верхних ворот» или селективного фильтра и частичное открытие «нижних ворот» в месте сужения поры [45]. На основании полученных данных относительно конформационных изменений различных доменных участков канала была предложена совершенно уникальная модель тепловой активации TRPV1, которая предполагает, что поровый домен с соседними ТМ петлями претерпевает большие температурно-зависимые конформационные переходы асимметричным образом и при этом фрагменты только одного мономера перемещаются с большой амплитудой, высвобождая пору при нагревании. Такая асимметричная активация выглядит биологически более оправданной, поскольку она эффективнее и надежнее, чем традиционно предлагаемая полностью симметричная схема активации каналов. Таким образом, достаточно активировать только один мономер для того, чтобы сместить равновесие из закрытого состояния в открытое, что бывает крайне важным на начальном этапе активации.

III. СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ ТRPV1

Как упоминалось выше, функциональный канал собирается на мембране из четырех одинаковых субъединиц. Для TRPV1 обнаружено несколько сплайс вариантов, которые подробно были описаны в обзоре [46]. Их экспрессия совместно с диким типом мономерного канала показала ингибирующее влияние на активацию различными стимулами. Предположительно, образуются и комплексы гетеромерных каналов.

Солокализация TRPV1 с рядом других TRP каналов была продемонстрирована во многих работах, также была экспериментально подтверждена возможность сборки в клетках гетеромерных комплек-

И.Н.Гладких и соавт.

сов [47-49]. Методом резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) показано взаимодействие между любыми двумя представителями TRPV1-4, и доказано, что субъединицы TRPV формируют гетеромерные каналы с промежуточным уровнем проводимости и сродством к активаторам по сравнению с гомомерными каналами [50]. Было детально изучено поведение гетеромерных каналов TRPV1/TRPV3 при активации теплом, агонистами и напряжением [51]. Показано, что гетеромерные каналы отличаются от гомомерных по чувствительности и динамическому диапазону к термическим и химическим стимулам и в гораздо меньшей степени - к изменениям трансмембранного потенциала. Эти наблюдения доказывают, что гетеромерные TRPV каналы являются уникальными клеточными сенсорами; они сенсибилизируются за счет повторяющихся тепловых стимулов и, таким образом, опосредуют различные сенсорные реакции на физиологические и опасные сигналы окружающей среды. Комбинацией методов иммуногистохимического и функционального анализа обнаружено, что каналы TRPV1 и TRPV4 экспрессируются как отдельные молекулярные единицы, TRPV1 (около 10%) и TRPV4 (около 40%), так и как гетеромерные, TRPV1/TRPV4 (около 10%), представляя собой различные субпопуляции с разной чувствительностью к механическим и воспалительным агентам [52]. Изучен вклад TRPV1/TRPV4 каналов в ангиогенез сетчатки [53]. Электрофизиологическими методами показано, что ингибирование любой из субъединиц гетеромерного канала, экспрессирующегося в первичных эндотелиальных клетках микрососудов сетчатки, способствует физиологической реваскуляризации ишемических областей в модели кислород-индуцированной ретинопатии у мышей. Было доказано существование TRPV1/TRPA1 гетеромерных каналов и идентифицированы N- и C-концевые домены TRPV1, ответственные за образование гетеромерного комплекса (A1-V1 в соотношении 2:2) [54]. Удивительно, что субъединица чувствительного к холоду канала TRPA1 может функционально взаимодействовать с субъединицей чувствительного к опасному нагреванию канала TRPV1, учитывая также их существенное различие в последовательностях. Понимание регуляции и функционального значения взаимодействия TRPA1-TRPV1 имеет огромное клиническое значение, поскольку, во-первых, оба канала являются потенциальными молекулярными мишенями для многих терапевтических препаратов; и, во-вторых, коэкспрессия TRPA1-TRPV1 гораздо более специфична для ноцицептивных сенсорных нейронов, чем экспрессия гомомерных TRPA1 или TRPV1 [55-57]. В экспериментальных работах [58] было показано, что гетеромерный

канал реагировал на агонисты TRPV1: капсаицин, закисление и этанол, но не на агонисты TRPA1. Однако канал, образованный TRPV1/ TRPA1 и имеющий только два сайта связывания для капсаицина, показывал меньший общий ток и меньший вызванный капсаицином, сдвиг кривой потенциал — зависимой активации TRPV1. С другой стороны, было показано, что совместная экспрессия TRPA1 и TRPV1 способствует TRPA1-опосредованным ответам в сенсорных нейронах тройничного нерва [57].

Все эти данные указывают на то, что часто встречающиеся гетеромерные комплексы каналов TRP, в том числе регулируют разнообразие нейрональной сенсибилизации и могут служить альтернативной терапевтической мишенью, отличной от стандартных гомотетрамерных каналов.

IV. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ САЙТЫ И МУТАГЕНЕЗ ТRPV1

После успешно разрешенной крио-ЭМ структуры стало понятно, что TRPV1 имеет относительно широкий внешний поровый домен, подходящий для лигандов разного размера и заряда [18]. В электрофизиологических экспериментах доказано, что активация одной субъединицы через сайт связывания ваниллоида является достаточной для активации всего канала, тогда как активация протонами через домен внешней поры требует участия четырех функциональных сайтов связывания [59]. При анализе открытых и закрытых структур TRPV1 видны значительные перегруппировки, которые происходят в наружной поре, поровой спирали и «верхних воротах» канала, но не в трансмембранных сегментах ТМ1-ТМ4. Методом сайт-направленного мутагенеза определено более сотни функциональных сайтов канала, расположенных практически вдоль всех субъединиц, которые отвечают за способность TRPV1 реагировать на разные агонисты, антагонисты или поровые блокаторы [42]. Очень часто взаимодействие с этими сайтами имеет аллостерический характер относительно изучаемой функции, поэтому на рисунке 2 мы схематично отобразили только наиболее актуальные.

Самым принципиальным является расположенный в TM6 сайт, который активируется эндо-ваниллоидами, такими как анандамид, или экзо-ваниллоидами, такими как капсаицин [60–63]. Было показано, что тройная мутация N676F, M677A и L678P нарушает способность капсаицина и RTX активировать TRPV1, сохраняя при этом способность канала отвечать на закисление [64], указывая тем самым, что отдельные аминокислотные остатки, находящиеся

И.Н.Гладких и соавт.

рядом или в ТМ6, контролируют ответы канала на различные способы его активации. Кроме того, показано, что замены некоторых аминокислотных остатков приводят к повышению чувствительности к капсаицину. Мутации Е600К и Е600Q вызвали более чем 10-кратный сдвиг влево кривой доза-ответ со значениями EC₅₀ 520, 50 и 40 нМ для каналов дикого типа и мутантных каналов соответственно [65]. Мутантные E636Q, D646N и E648Q каналы обладали в три раза большей чувствительностью к капсаицину, чем каналы TRPV1 дикого типа [66]. Совместное применение капсаицина (30 мкМ) и тепловых стимулов (47°С) вызывало эффективную потенциацию у аланиновых мутантов (в положениях 672-674, 678 и 682), которые были функционально «молчаливыми» или едва реагировали на капсаицин при базовой температуре. Однако по сравнению с TRPV1 дикого типа, токи капсаицин-индуцированных ответов, измеренные при 47°С, были значительно ниже [67]. И, наконец, недавно было установлено, что одна единственная аминокислота контролирует чувствительность TRPV1 разных видов к капсаицину. Показано, что замена Ala в позиции 578 спирали ТМ4-ТМ5 канала курицы, не чувствительного к капсаицину, на Glu была достаточной, чтобы наделить его чувствительностью к агонисту в микромолярных концентрациях [68].

Второй важный сайт – сайт связывания протонов, находится в области внешней поры [65]. Методом аланинового мутагенеза были выявлены значимые для протонной активации остатки: Y627, S629, E651 и T633 [69], среди которых последний, по мнению авторов, играет ключевую роль. Замена T633 на Ala отменяла активацию при низких значениях pH, при этом мутантный канал проявлял нормальные ответы на капсаицин, включая быструю кинетику активации и большие токи стационарного состояния. Кроме того, при низком pH также сохранялось потенцирование, несмотря на потерю чувствительности к низкому pH при прямой активации. Показано, что мутации D601A и E648A/Q также снижали реакции, вызванные протонами, сохраняя чувствительность к капсаицину или температуре. Однако эти данные противоречат результатам, полученным другой научной группой, которые идентифицировали Е648 как сайт, способствующий ответу на капсаицин и не влияющий на чувствительность к протонам или температуре [66]. Мутация F660S в человеческом TRPV1 являлась критичной для потенциал-зависимой активации канала при различных значениях рН. Оказалось, что протонная активация и потенцирование TRPV1 при закислении – это процесс, зависящий от мембранного потенциала, и данный аминокислотный остаток необходим именно

для протон-опосредованной активации TRPV1 [70]. Делеция R114 [71] вызывала потерю чувствительности к кислотным стимулам, а мутация S512Y снижала эффективность протонной активации канала [72]. Мутация в человеческом TRPV1, L547M, вызвала снижение активности канала при закислении, но когда в канале крысы была произведена обратная мутация (M547L), увеличение активности не наблюдалось [73].

В результате интенсивных исследований были также выявлены многочисленные области TRPV1 канала, которые вносят вклад в активацию, зависимую от температуры. Было обнаружено, что делеция последних 72 аминокислот С-концевого фрагмента TRPV1 приводила к постепенному снижению порога активации (с 41,5 до 28,6°С) и замедлению скорости активации [74], а обмен С-концевыми фрагментами между TRPV1 и активируемым холодом каналом TRPM8 переключал их чувствительность к теплу [75]. Внутриклеточный сегмент между ARD и TM1 также рассматривается в качестве термодатчика [40, 76]. Замена Е600Q/К усиливала реакцию канала на нагревание, тогда как введение в это положение остатка с более низким pKa (E600D) уменьшало чувствительность к теплу [65]. В результате аланин-сканирующего мутагенеза остатков Y666-G683, расположенных преимущественно в ТМ6, были выявлены аминокислоты, замены которых притупляли тепловые реакции (1668, L669, Y671, 1672, L673, L674, M677, L678 и M682), сдвигали температурный порог влево (V667, I668, L669, L673, L674, M677, L678 и M682), а также сильно снижали температурный коэффициент (O10) (T670, L681 и G683) [67]. Тепловые ответы тройного мутанта (N628K/N652T/Y653T) также были снижены по амплитуде и смещены в сторону более высоких температур, но при этом канал нормально реагировал на активацию капсаицином и pH [77]. Интересно, что время активации мутантов с соответствующими единичными заменами было идентичным или очень сходным с TRPV1 дикого типа. Однако тройной мутант показывал измененную кинетику теплового активирования. Он открывал только короткоживущие каналы (<1 мс), а более долгоживущие (~ 10 мс), как оказалось, полностью отсутствовали. Мутант Т633А проявлял более слабый ответ на активацию теплом, достигая ~ 32% от капсаицин-индуцированного тока, но сохранял при этом порог термической активации, характерный для дикого типа (~ 42°С) [69]. Напротив, замена E570 на Ala привела к существенному увеличению порога тепловой активации [78].

С помощью комбинации биохимических, электрофизиологических методов и методов молекулярного моделирования были проана-

11.11.1 <i>Maonan a coaom</i> .	И.Н.1	ладких	и	соавт.
---------------------------------	-------	--------	---	--------

лизированы точечные мутанты G643A, I679A + A680G и K688G/P TRPV1 и выявлены потенциально патогенные мутации [79]. Очень токсичными для ооцитов оказались замены I679A + A680G, скорее всего, из-за аномально повышенной базальной активности канала (всегда «открытые ворота»). Мутация K688G, предположительно, способствовала перемещению домена TRP и нарушала его связь с поровыми субъединицами, тем самым приводя к спонтанной активации и повышенной десенсибилизации канала. Наконец, было высказано предположение, что замена K688P нарушает направленное движение домена TRP, и мутированный канал показал примерно в 100 раз меньшую чувствительность к капсаицину, повышенную десенсибилизацию и более слабую активацию под действием тепла.

V. ЭНДОГЕННЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ TRPV1

Многочисленные исследования влияния разнообразных соединений на функциональную активность TRPV1 выявили его сложную фармакологию. Отличительной особенностью канала является наличие двух состояний, сенсибилизированного и десенсибилизированного, зависящих одновременно от многих эффекторов в клеточной среде [42, 80]. К ним относятся фосфорилирование с помощью множественных киназ, дефосфорилирование с помощью фосфатаз и связывание с различными липидами, нейротрансмиттерами, пептидами или небольшими белками, хемокинами и цитокинами [42]. Такие факторы влияют не только на аффинность связывания лигандов, но также и на их селективность [81].

В последнее десятилетие для TRPV1 было обнаружено более тридцати эндогенно продуцируемых агонистов, подробная характеристика которых приведена в недавнем обзоре [82]. К ним относятся производные полиненасыщенных жирных кислот: гидроксиэйкозапентаеновая кислота (12 (S)-HPETE), эпоксиэйкозотриеновая кислота (HX3), 20-гидроксиэйкозатетраеновая кислота (20-НЕТЕ) и другие; эндоканнабиноиды: N-ациламиды (N-acyl GABA) и N-ацетилэтаноламины (анандамид); N-ациламинокислоты или нейротрансмиттеры (N-арахидоноилтаурин); гормон окситоцин; сероводород (H_2S), эндогенное соединение, являющееся продуктом цистатионин β-синтазы и цистатионин γ-лиазы; глицерофосфолипиды (лизофосфатидная кислота, LPA) [83–86]. Большая часть этого списка – это молекулы липидной природы. Показано, что липиды не только окружают субъединицы канала, но и располагаются в гидрофобных ванилоид-связывающих сайтах. В работе по определению структуры

канала в нанодисках было продемонстрировано, что сайт связывания капсаицина в закрытом состоянии канала занят фосфатидилинозитол липидами, которые, как полагают авторы, могут стабилизировать закрытое состояние канала. Капсаицин и другие ванилоидные агонисты вытесняют эти фосфатидилинозитол липиды, способствуя образованию солевого мостика между R557 и E570, который тянет TM4-TM5 линкер в направлении от центральной оси канала, что вызывает открытие «нижних ворот» [16].

PIP, - липидный компонент внутренней части клеточной мембраны эукариотических клеток, в большинстве случаев выступает в качестве необходимого кофактора для активности канала [87]. В ранних работах высказано предположение, что PIP, ингибирует TRPV1, что в свою очередь приводит к сенсибилизации канала при активации фосфолипазой С [88]. Однако последующие исследования, проведенные в разных лабораториях, продемонстрировали, что PIP, или его предшественник PIP, наоборот, усиливают активность TRPV1 [89, 90]. Недавние исследования с применением методов молекулярного моделирования показали, что сайт связывания PIP, расположен между TRP доменом и линкером TM4-TM5. В этом сайте PIP, взаимодействует с аминокислотными остатками R575 и R579 линкера ТМ4-ТМ5 и с К694 в ТRР домене. Замены R575, R579 и К694 на Ala снижали аффинность связывания PIP₂. В результате молекулярной динамики было показано, что связывание PIP, вызывало конформационные перестройки структуры, образованной ТМ6 и TRP доменом, которые опосредовали открытие «нижних ворот» канала TRPV1 [90].

Холестерин, один из главных компонентов плазматических мембран, может регулировать функцию ионных каналов, изменяя механические свойства мембраны путем прямого взаимодействия с ионными каналами или поддерживая их в определенных микродоменах, липидных рафтах. Хотя разрушение липидного рафта не влияет на тепловую активацию канала, оно вызывает значительное снижение TRPV1 ответа к капсаицину на нейронах DRG/TG и на HEK293, экспрессирующих TRPV1, вероятно, за счет механизма уменьшения количества TRPV1 каналов в мембране [91, 92]. Увеличение уровня холестерина значительно снижает капсаицин- и термо-индуцированные токи, вероятно, за счет прямого взаимодействия со специфическими сайтами вдоль спирали TM5 канала, которые могут вызвать конформационные изменения в TRPV1, стабилизирующие, вероятно, закрытое состояния канала [93].

И.Н.Гладких и соавт.

Для ряда эндогенных агонистов были изучены сайты взаимодействия с каналом: 20-НЕТЕ взаимодействует с остатком S502, анандамид с остатками Y511, S512 и F591, и LPA связывается с остатком K710 (рис. 2). Эндогенные активаторы, связываясь с каналом в основном в области ваниллоидного сайта, увеличивают вероятность его открытия через фосфорилирование определенных аминокислотных остатков или увеличивают эффективность активирующих TRPV1 лигандов [94]. Показано, что многие эндованиллоиды, производные арахидоновой кислоты, синтезируются при воспалительных процессах [95]. Таким эндогенным лигандом является лейкотриен В4 (LTB4), участвующий в воспалительных заболеваниях слизистой оболочки толстой кишки или поджелудочной железы человека, функциональная роль которого была подтверждена в моделях воспаления на животных. LTB4 вызывал воспаление за счет мощного хемотаксического действия нейтрофилов, агрегацию и дегрануляцию нейтрофилов, а также увеличивал проницаемость сосудов [96]. Инъекция LTB4 в чревную артерию, снабжающую кровью непосредственно поджелудочную железу, вызывала увеличение отека поджелудочной железы, увеличение концентрации миелопероксидазы, фермента, вырабатываемого нейтрофилами, в тканях; также регистрировалось гистологическое повреждение, характерное для заболевания. При этом предварительное введение животным антагониста TRPV1, капсазепина, значительно подавляло все показатели воспаления, вызванного LTB4 [97]. В другой работе было обнаружено, что активатор TRPV1, 20-НЕТЕ, способствовал кардиопротекции при сепсисе, вызванном липополисахаридом. На нокаутных по гену TRPV1 мышах было показано, что эндогенная активация сердечного TRPV1 20-НЕТЕ приводит к высвобождению широко распространенного в периферической и центральной нервной системе кальцитонинген-связанного нейропептида (CGRP), который защищает сердце от дисфункции при эндотоксемии [98]. Установлено, что высвобождение CGRP в результате активации TRPV1 может модулировать вазодилатацию [99], воспалительные реакции [100], остеогенез [101] и остеокластогенез [102]. Помимо CGRP, активация канала приводит к высвобождению еще одного важного нейропептида – субстанции Р (SP), обладающего широким спектром биологической активности, включая генерацию нейрогенного воспаления [103].

Эндогенный агонист пептидной природы, гормон окситоцин, имеет собственный сайт связывания с TRPV1 каналом. Для окситоцина существует свой окситоциновый рецептор (OXTR), связанный с G-белком, который присутствует в нервных тканях, матке и грудных

железах [104]. Но в прямых экспериментах на клетках НЕК-293, стабильно экспрессирующих TRPV1, окситоцин индуцировал входящий ток, хотя и не столь значительный по сравнению с капсаицином и быстро десенситизируемый. Совместное применение капсаицина с окситоцином вызывало более сильный ток ионов Ca²⁺, что указывает на синергический эффект соединений. Способность канала активироваться одновременно окситоцином и капсаицином сохранялась как на диких нейрональных клетках, так и культивированных DRG нейронах. Показано, что окситоцин взаимодействует с остатками L635 и F649 TRPV1 канала, и его сайт связывания совпадает с сайтом для DkTx и резинифератоксина. Дополнительные эксперименты с каналом, встроенным в плоский липидный бислой, подтвердили, что окситоцин является прямым агонистом TRPV1, и его активность не зависит от любого другого промежуточного сигнального пути [105]. В результате стали понятны некоторые биологические эффекты окситоцина, такие как гипотермия и анальгетическое действие, которые прекрасно объясняются его способностью активировать TRPV1.

Активация TRPV1 канала протонами наблюдается во время воспалительного процесса, ишемии или роста опухоли, характеризующихся тканевым ацидозом (pH < 6,0). В более мягких условиях (pH 6,5) увеличивается чувствительность TRPV1 к термическому воздействию и другим агонистам [69]. Однако само по себе такое слабое закисление не способно вызвать открывание канала; как было показано для крысиного TRPV1, экспрессированного в HEK293, наблюдаемый ток через мембрану регистрировался только при pH ниже 6,0, а значение pH₅₀ составляло 5,27 ± 0,28 [59].

Описанию эндогенных антагонистов TRPV1 в литературе уделено гораздо меньше внимания. Это, например, побочные продукты обмена веществ, сопровождающие воспалительный процесс (лактаты); различные пищевые омега-3 жирные кислоты, такие как эйкозапентаеновая и линоленовая [106]; ингибитор амидгидролазы жирных кислот N-арахидоноилсеротонин [107]. Наконец, сообщалось, что полиамины (путресцин, спермидин и спермин пермеат) блокируют каналы TRPV1 [107]. Показано, что лактаты ингибируют каналы TRPV1 с внеклеточной стороны и независимо от внутриклеточного ацидоза. Концентрации лактатов, превышающие 10 мМ, обычно наблюдались у пациентов, страдающих серьезными заболеваниями, такими как инфаркт миокарда или мезентериальная ишемия. Концентрации лактатов до 50 мМ определялись в мышечной ткани во время чрезмерных физических нагрузок, а до 90 мМ лактаты могут

И.Н.Гладких и соавт.

накапливаться в тканях после церебральной ишемии. Было обнаружено, что в концентрациях, значительно более низких, чем физиологический нормальный уровень в плазме (2 мМ), лактаты также ингибируют TRPV1. Это открытие предполагает, что они могут являться важными эндогенными регуляторами TRPV1 как в физиологических, так и в патофизиологических условиях [108].

VI. ЭКЗОГЕННЫЕ МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ТRPV1

Обзор 2020 года, посвященный описанию структур, по меньшей мере, 137 природных соединений [95], в общих чертах дает представление о разнообразии молекул, взаимодействующих с TRPV1 каналом. Это низкомолекулярные соединения таких классов, как ваниллоиды, флавоноиды и их гликозиды, алкалоиды, трипренил фенолы, серосодержащие соединения, жирные кислоты, каннабиноиды, а также токсины наземных и морских животных. По эффекту, оказываемому на активность канала, все известные лиганды можно разделить на агонисты, антагонисты и соединения со смешанной функцией. Активаторы TRPV1, алкалоид капсаицин из острого перца чили рода Capsicum и дитерпен резинифератоксин (RTX), ультра-мощный фитотоксин из марокканского суккулента Euphorbia resinifera [109], а также токсин DkTx из яда паука Ornithoctonus huwena [110, 111], стали первыми уникальными инструментами фундаментальных исследований, которые постоянно применяются для различных экспериментов на животных, в структурно-функциональных исследованиях и тестировании in vitro.

TRPV1 каналы характеризуются полимодальностью в своей активации в ответ на раздражители различной природы. В результате конечный ответ, который проявляется в потоке катионов через открытый канал, за счет комбинации стимулов может быть усилен, ослаблен или канал может уйти в длительную десенситизацию или интернализацию. Так, аппликация 3 мМ камфоры к TRPV1-экспрессирующим клеткам, находящимся при температуре внеклеточного раствора 34°С, активировала увеличение входящего тока примерно в 10 раз, при этом нанесение 3 мМ камфоры на ту же клетку без повышенной температуры давало слабый ток [112]. Кроме этого, при активации канала низкими дозами капсаицина (2–300 нМ) пептидные модуляторы из яда морской анемоны *Heteractis crispa*, APHC1 и APHC3, усиливали его эффект, и ток ионов через канал возрастал до 250%, тогда как при активации высокими концентрациями капсаицина (3 мкМ), APHC1 и APHC3, напротив, ингибировали капсаи-

цин-индуцированный ток [113]. Аналогично слабый ток от минимального закисления эти пептиды потенцируют, но не влияют на ответ при активации закислением ниже pH 5,0. На основании данных компьютерного моделирования было высказано предположение, что пептидные антагонисты, взаимодействуя с внешними петлями TRPV1, стабилизируют канал во время активации в промежуточном состоянии и могут оказывать прямое и аллостерическое влияние на участок связывания с протонами и на цитоплазматический участок связывания с капсаицином соответственно.

Температурная чувствительность и взаимосвязь действия лигандов, влияющих на этот процесс является важным вопросом, в том числе, для фармацевтических разработок новых лекарств. Тепловой гомеостаз – это процесс, который биологические системы используют для сохранения стабильного внутреннего состояния для выживания, что обеспечивает более надежное и эффективное питание, метаболизм и экскрецию, а также способствует более точному и эффективному функционированию нервной и мышечной систем [114]. Каналы TRPV1 экспрессируются в периферических и центральных нейронах, где они распознают окружающее тепло или участвуют в терморегуляции [115]. В результате недавних исследований роли канала в термочувствительности трансгенных мышей, у которых был продлен процесс активации теплом за счет удаления фазы десенсибилизации, показано, что десенсибилизация служит важным защитным механизмом для млекопитающих, живущих в жаркой среде [116].

Было обнаружено, что антагонисты TRPV1 вызывают гипертермию, блокируя тоническое подавление вегетативной защиты от холода термогенез и вазоконстрикцию кожи [117]. Гипертермия вызывается только антагонистами, которые значительно блокируют активацию каналов TRPV1 протонами (это, как правило, полимодальные антагонисты, также известные как антагонисты первого поколения). К ним относятся AMG1629, AMG3731 [118], AMG 517 [119, 120], АМG0347 [121] и АВТ-102 [122, 123]. Избирательные по модальности антагонисты второго поколения [120], например, 5'-йод-резинифератоксин (5'-I-RTX) [124], AMG7905 от Amgen и AMG8562 [125], Abbott Laboratories 'A-425619 [126], AbbVie's Compound 3 [127] и Schwarz Pharma JYL1421 [120], не вызывают гипертермию, не блокируют активацию протонами или блокируют ее лишь частично. В отличие от низкомолекулярного антагониста, AMG9810, повышающего температуру тела на 2°С, пептидные антагонисты показали гипотермический эффект: при введении АРНС1 и АРНС3 температура тела снижалась на 2 и 1°С, соответственно [128], тогда как АРНС2 не

И.Н.Гладких и соавт.

оказывал влияние на температуру тела экспериментальных животных [129].

Подробное описание множества экзогенных активаторов, обнаруженных в растениях, большинство из которых широко используются в приготовлении пищи, а также медицине, можно найти в обзоре [95]. Так как TRPV1 является сенсором ноцицептивных нейронов, неудивительно, что в яде животных также обнаруживаются соединения, модулирующие активность канала, задействованного в системе взаимоотношений хищник-жертва. Ванилотоксины, DkTx (8522 Да; EC₅₀ 0,23 мкМ) из яда китайского паука птицееда Ornithoctonus huwena и VaTx1-VaTx3 (~ 4000 Да; EC₅₀ 9,96, 0,45 и 1,35 мкМ соответственно) из яда паука Psalmopoeus cambridgei, представляют собой токсины, содержащие два или один ІСК-домен (мотив укладки «ингибиторного цистинового узла») соответственно [110, 111]. Полученная крио-ЭМ структура комплекса DkTx-TRPV1 в околоатомном разрешении показала, что два домена ІСК этого токсина связывают две соседние субъединицы гомотетрамерного канала в антипараллельной ориентации [16,17]. Поэтому две молекулы DkTx могут полностью занять один TRPV1 путем связывания с внешней поровой областью канала [111]. Консервативные ароматические остатки DkTx, W11 и F27 в домене 1, W53 и F67 в домене 2, проникают в пустоты между TM4, TM6 и поровой спиралью TRPV1, которые в отсутствие токсина заполняют липидные молекулы [110]. На основании увеличения скорости связывания токсина и быстрого нарастания кинетики тока через TRPV1 в результате совместной аппликации DkTx и капсаицина, как на уровне одиночного канала, так и на целых клетках, было высказано предположение, что DkTx предпочтительно связывается с TRPV1 в открытом состоянии [111]. Подобно другим ICK токсинам, молекула DkTx способна проникать на глубину 9 Å в мембрану, что дополнительно стабилизирует комплекс DkTx-TRPV1 и вызывает локальные изменения в липидном бислое [16].

Токсин RhTx (2967,3 Да; EC₅₀ 500 нМ) из китайской сороконожки Scolopendra subspinipes mutilans является селективным активатором TRPV1 канала [130]. Предполагают, что RhTx влияет на механизм активации канала теплом как напрямую, так и аллостерически [130]. Однако наблюдаемые изменения активности токсинов могут быть просто результатом преимущественного связывания RhTx с TRPV1 в открытом состоянии. Установлено, что взаимодействие RhTx с TRPV1 осуществляется посредством электростатических взаимодействий заряженных *C*-концевых остатков токсина с остатками D602 поровой

«башенки», Y632 и T634 в области поры и L461 линкера TM1–TM2, при этом взаимодействия с липидным бислоем не наблюдается [130].

Токсин BmP01 (3178,6 Да) из яда скорпиона Mesobuthus martensii является еще одним пептидным активатором TRPV1 [131, 132]. Этот токсин, подобно токсинам пауков, имеет типичную структуру ІСК и взаимодействует с внешней поровой областью канала. Особенностью BmP01 является зависимость его активности от концентрации протонов, при понижении рН с 7,5 до 6,5 наблюдается потенцирование активности с EC₅₀ 169,5 \pm 12,3 мкМ до 3,76 \pm 0,4 мкМ соответственно [132, 133]. В результате сайт-направленного мутагенеза TRPV1 канала и токсина были выявлены функционально значимые остатки, вовлеченные в активацию [133]. Показано, что BmP01 связывается в области внешней поры канала подобно DkTx и RhTx, однако сайт взаимодействия отличается – образуется электростатическое взаимодействие между К23 токсина и остатком Е649 петли ТМ6 канала. Следовательно, три токсина могут активировать TRPV1 посредством различных механизмов. Эти наблюдения подтверждают предположение, что внешняя пора TRPV1 является важной и сложной структурой, участвующей в активации канала.

Первый экзогенный синтетический антагонист TRPV1, капсазепин, был обнаружен путем химической модификации капсаицина. К сожалению, он не рассматривался в качестве кандидата для клинического применения из-за его низкой метаболической стабильности, плохих фармакокинетических свойств и низкой селективности [134], однако положил начало созданию целого ряда синтетических антагонистов.

Антагонисты TRPV1 канала, выделенные из растений, как правило, мало представлены; примером таких антагонистов является алкалоид йохимбин из коры дерева *Pausinystalia yohimbe* или корней *Rauwolfia*, способный блокировать натриевые и TRPV1 каналы [135]. Традиционно яды животных являются источником биологически активных соединений, нацеленных на ионные каналы, поэтому кроме активаторов в них были обнаружены и ингибиторы TRPV1 канала.

Два ацилполиаминных токсина из яда североамериканского воронкового водяного паука Agelenopsis aperta, AG-489 (Ki 0,3 мкМ) и AG-505, обладали выраженной ингибирующей активностью по отношению к TRPV1. Показано, что ингибирование TRPV1 с помощью AG-489 было потенциал-зависимо и менее выражено при положительных потенциалах, что свидетельствует о прямом взаимодействии токсина с порой канала [136]. Использование сканирующего мутагенеза по линкеру TM5-TM6, области, формирующей внешнюю пору

	И.Н.	Гладких	и	соавт.
--	------	---------	---	--------

канала, выявило функционально важные аминокислотные остатки, влияющие на сродство к токсину. Так, полярные остатки, N628, E636, D646 и E651, снижали сродство к токсину, а гидрофобные остатки, Y627 и C634, наоборот, его повышали.

Токсин из паука *Phoneutria nigriventer*, PnTx3-5, эффективно снижал уровень глутамата, высвобождение которого из ганглиев троичного нерва инициировали добавлением капсаицина. Кроме этого, PnTx3-5 в нМ концентрации ингибировал вызванное капсаицином увеличение внутриклеточного Ca²⁺ в клетках HEK293, трансфецированных TRPV1. PnTx3-5 – это новый блокатор TRPV1, но пока не выяснено частичный или полный. В экспериментах *in vivo*, при внутрикожной инъекции капсаицина в левую вибриссу крысы, вызывающей ноцицептивное поведение, PnTx3-5 эффективно уменьшал болевые стимулы [137].

Ациклические гуанидиновые алкалоиды, монанхомикалин В и урупоцидин А, из дальневосточной морской губки *Monanchora pulchra*, показали умеренную ингибиторную активность в отношении TRPV1 (ЕС₅₀ 6,02 и 21,47 мкМ соответственно) [138].

Три пептида Кунитц-типа, АРНС1–АРНС3, выделенные из морской анемоны Heteractis crispa, являются неполными ингибиторами TRPV1 канала [113, 139]. Показано, что при аппликации АРНС1 и АРНСЗ происходит частичное (до 50%) ингибирование канала, активированного капсаицином (EC_{50} 54 нМ; IC_{50} 18 нМ). Ключевыми остатками взаимодействия пептидов с TRPV1 являлись К28 и E45, а также остатки С-концевой спирали (R48, R51 и R55), вносящие наибольший энергетический вклад в связывание [113]. По расчетам R48 взаимодействовал с E648, E651 и Y653 одной субъединицы, R51 – с E636 и Y627, а также *С*-концевой остаток R55 – с D646 другой субъединицы. Кроме этого, было предсказано взаимодействие между К28 и D601 и E45 и K656. Биологические испытания на животных показали, что мутантный пептид А13, сочетающий пространственное расположение положительно заряженных остатков АРНС1 и АРНС3, комбинирует в себе анальгетические свойства обоих природных пептидов, но, в отличие от них, не понижает, а повышает температуру тела экспериментальных животных, не изменяя при этом температурную чувствительность животных к горячей пластине [140].

В яде этого же вида морской анемоны был найден первый пептидный блокатор TRPV1, HCRG21. Он на 95% блокировал индуцированные капсаицином токи, проходящие через экспрессированные в ооцитах лягушки каналы TRPV1 (IC₅₀ 6,9 мкМ) [141]. В результате проведенных биологических испытаний было показано, что HCRG21,

несмотря на более высокое значение IC₅₀, обладал равной анальгетической способностью с APHC1 при внутримышечном введении и сохранял ее в течение 13 часов наблюдения [142]. Различия в фармакодинамическом профиле пептидов хорошо согласуются с различными механизмами их связывания с каналом. Согласно данным молекулярного моделирования, пептид HCRG21 взаимодействует с TRPV1 не в области внешней Р-петли, как APHC1, а блокирует трансмембранную пору канала. Показано, что в связывании с каналом принимают участие R1, который взаимодействует с E648 и E651; K28 – с D601 и E651; R48 – с E648, D646 и с E636 другой субъединицы; R51 – с E636 [141].

VII. TRPV1 И ВОСПАЛЕНИЕ

Традиционно к основным патологическим состояниям, вовлеченность в которые показана для канала TRPV1, относят различные острые и хронические боли, мигрень, кашель и онкологические заболевания, где канал работает как сенсор различных метаболитов новообразования. По этим же темам написано немало обзорных статей, и мы пропустим эти заболевания, остановившись на некоторых других не так часто обсуждаемых. Однако практически во всех патологических процессах функция TRPV1 тесно связана с развитием и поддержанием воспалительных состояний. Эти каналы ответственны за нейрогенную составляющую развития воспаления и в большом количестве экспрессируются в ноцицепторных нейронах периферической нервной системы [143].

При активации TRPV1 агонистами, нервные окончания могут высвобождать нейропептиды: CGRP, SP и соматостатин, которые начинают участвовать в воспалении и одновременно увеличивают проницаемость сосудов. Так, например, проницаемость сосудов дыхательных путей увеличивается в модели воспаления дыхательных путей после микроинъекции агониста и снижается после микроинъекции антагониста TRPV1 [144].

Исследования показали, что фибробласты, изначально преимущественно TRPV1 отрицательные клетки, через 24 и 48 часов после стимуляции тремя распространенными медиаторами воспаления: фактором некроза опухоли α (TNF-α), интерлейкином-1α (IL-1α), эндотоксином грамотрицательных бактерий, липополисахаридом (LPS), синтезируют мРНК, кодирующую TRPV1. Вестерн-блоттинг анализ также выявил увеличение экспрессии TRPV1, индуцируемое

|--|

исследуемыми воспалительными медиаторами, причем особенно значительное увеличение наблюдалось через 72 часа после индукции воспаления LPS и IL-1α. В отличие от необработанных фибробластов, в индуцированных клетках фиксировали сигналы внутриклеточного кальция в ответ на капсаицин, что подтверждает полную функциональность встроенных в мембрану рецепторов [145].

Экспрессия TRPV1 была обнаружена в CD4 + Т-клетках, в которых как нокаут, так и химическое ингибирование TRPV1 подавляли продукцию цитокинов Th2/Th17 [146]. Противовоспалительная роль TRPV1 также была выявлена в дендритных клетках костного мозга, предоставляющих антигены Т-клеткам и продуцирующих различные цитокины, которые участвуют в иммунно-воспалительных реакциях; показано, что активация TRPV1 препятствует созреванию дендритных клеток [147]. Таким образом, вопрос о том, является ли функция TRPV1 в клетках иммунной системы про- или противовоспалительной, остается спорным.

VIII. TRPV1 И ЗАБОЛЕВАНИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Иммуногистохимические исследования подтвердили наличие TRPV1 в сенсорных волокнах дыхательных путей, выстилающих трахею, бронхи и альвеолы, а также слизистую оболочку носа [11]. Помимо этого TRPV1 экспрессируется в эпителиальных клетках бронхов [9] и во внутрилегочных артериях [10]. Взаимосвязь TRPV1 с легочными заболеваниями показана in vitro и in vivo методами в различных экспериментальных моделях. Так, при легочной гипертензии (основном заболевании легочного кровообращения, которое характеризуется увеличением сопротивления легочных сосудов и включает пролиферацию и миграцию клеток гладких мышц легочной артерии) капсаицин увеличивал внутриклеточную концентрацию кальция и индуцировал миграционные ответы [10]. В модели острого повреждения легких, вызванного утоплением в морской воде, которая характеризуется одновременной инфильтрацией нейтрофилов, отеком легких с кровоизлиянием и выработкой медиаторов воспаления, было обнаружено, что высокая концентрация кальция в морской воде усугубляет повреждение легких (против утопления в растворе без кальция), а каналы TRPV1 являются медиаторами повышения внутриклеточного кальция. Приток кальция через TRPV1 приводил к повышению фосфорилирования NF-кВ и увеличению высвобождения TNF-α и IL-1β [148]. На другой модели острого повреждение легких, вызываемого системным воспалительным ответом, было показано,

что предварительная обработка капсазепином предотвращала рост сопротивления дыхательной системы и снижала увеличение демпфирования тканей во время эндотоксемии. У мышей, предварительно получавших капсазепин, наблюдалось уменьшение площади коллапса паренхимы легких, индуцированного LPS [149]. На модели ишемииреперфузии легких у кроликов были измерены эффекты капсаицина и капсазепина. Предварительная обработка капсаицином улучшала функцию газообмена, уменьшала влажность легких и количество нейтрофилов, снижала уровень малонового диальдегида в легких и миелопероксидазную активность, увеличивала активность супероксиддисмутазы и повышала уровень CGRP. То есть в отсутствии воспаления агонист TRPV1 ослаблял патологические поражения. Напротив, капсазепин усугублял нарушение газообмена, увеличивал проницаемость легочных микрососудов, окислительный стресс, инфильтрацию нейтрофилов, а также выявил снижение уровня CGRP [150].

Кроме того, канал TRPV1 представляет собой ключевой рецептор регуляции кашля, вызванного химическим раздражителем, и довольно много исследований проводится с использованием распыленного в воздухе капсаицина в качестве кашель-индуцирующего агента. Роль TRPV1 в механически вызванном кашле все еще не ясно определена, но в химически вызванном кашле хорошо установлена [151, 152].

Как видно из вышеперечисленного, вовлеченность TRPV1 в респираторные заболевания часто изучается на животных моделях с использованием селективного агониста канала – капсаицина или его классического антагониста – капсазепина. Обе эти молекулы зарегистрированы для возможного применения как лекарства, но имеют определенные противопоказания и ряд побочных эффектов.

IX. TRPV1 И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

TRPV1 экспрессируется в гладких мышцах сосудов, но не в их эндотелии [12]. Картирование экспрессии TRPV1 в артериальной сети мышей показало высокий уровень экспрессии канала в гладких мышцах артериол сердца, скелетных мышцах, жировой ткани и меньший – в некоторых участках мозгового кровообращения. Кроме того, наблюдался высокий уровень экспрессии TRPV1 в микрососудах или vasa vasorum, в то время как в аорте и крупных стволовых артериях, напротив, была обнаружена очень ограниченная экспрессия TRPV1 [12]. Эксперименты на изолированных артериолах показали, что капсаицин (1 мкМ) на ~ 80–85% сужал сосуды, взятые от мышей

И.Н.Гладких и	и соавт.
---------------	----------

дикого типа, не влияя на сократимость сосудов от нокаутных по гену TRPV1 мышей. Эксперименты in vivo подтвердили, что местное введение капсаицина сужает артериолы (~90%), не затрагивая близлежащие вены, тогда как у нокаутных мышей сужения артериол не наблюдалось. Обширная экспрессия в гладких мышцах артериол делает TRPV1 хорошо подходящей мишенью для влияния на системное артериальное давление (АД). Опыты с внутривенным введением капсаицина мышам и крысам показали увеличение АД на ~45 и 60 мм рт. ст. соответственно. Пиковые реакции на капсаицин происходили без каких-либо значительных изменений частоты сердечных сокращений [12]. Ранее было установлено, что капсаицин вызывает сердечнолегочный химический рефлекс Бецольда-Яриша, выражающийся в кратковременном падении АД, брадикардии и апноэ [153]. Было уточнено, что преходящий рефлекс Бецольда-Яриша опосредован активацией TRPV1 в сенсорных нейронах, тогда как активация TRPV1 в артериолах обеспечивала повышение артериального давления [12]. Также было доказано, что сосудосуживающие эффекты некоторых эндогенных биоактивных липидов опосредованы активацией TRPV1. Так, LPA, вазоконстрикторный липид, генерируемый тромбоцитами и атерогенными бляшками [154], сужала на 70% артериолы скелетных мышц, выделенных из мышей дикого типа, но не от нокаутных по гену TRPV1 мышей. Кроме того, системное введение LPA (60 мкг/кг) вызывало рефлекс Бецольда-Яриша и повышение АД (на ~30 мм рт. ст.) [12].

TRPV1 оказывает влияние на систему кровоснабжения как через нейроны, проходящие в спинном мозге, так и DRG-нейроны. В экспериментах по ишемии/реперфузии сердечной мышцы дополнительная активация TRPV1 спинного мозга способствовала увеличению повреждения миокарда, однако интратекальное введение антагониста TRPV1, капсазепина, приводило к уменьшению размера инфаркта. Капсазепин, вводимый в спинной мозг, также снижал уровень аритмии у животных после ишемии/реперфузии [155].

Х. TRPV1 И САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Чувствительные нейроны, экспрессирующие TRPV1, иннервируют все органы, включая поджелудочную железу [156,157] и жировую ткань [158]. Стоит отметить, что экспрессия TRPV1 была идентифицирована в β-клетках поджелудочной железы крысы [7] и в адипоцитах человека [159]. Физиологическая роль ненейронального рецептора TRPV1 в адипоцитах и β-клетках поджелудочной железы пока не ясна. Пока-

зано, что капсаицин увеличивает секрецию инсулина у мышей дикого типа (WT), но не у мышей, нокаутных по гену TRPV1. У нокаутных мышей была снижена индуцированная глюкозой секреция инсулина, которая также ослаблялась при введении AMG9810 (ингибитор TRPV1), CGRP8-37 (антагонист рецептора CGRP) или RP67580 (антагонист рецептора NK-1) у мышей дикого типа [160].

Показано, что у мышей, генетически предрасположенных к диабету 1 типа (СД1Т), не страдающих ожирением (линия NOD), гипофункциональный мутантный TRPV1, локализованный в локусе риска диабета Idd4.1, обусловливал воспаление поджелудочной железы и инсулинорезистентность [161]. В норме инсулин потенцирует токи TRPV1 сенсорных нейронов, а также снижает порог термической активации канала [162,163]. При нормальной температуре тела богатая инсулином среда островков Лангерганса генерирует тоническую активацию TRPV1 с ассоциированным высвобождением нейропептидов SP и CGRP, влияя на базальную секрецию инсулина, т.е. TRPV1 участвует в схеме местного контроля синтеза инсулина [164]. У мышей NOD из-за слабой чувствительности мутантного TRPV1 был нарушен контур взаимодействия: сенсорные нервные окончания β-клетки, результатом чего стала инфильтрация поджелудочной железы аутореактивными Т-клетками. Экспериментально показано, что заболевание у мышей можно предотвратить либо путем химической абляции TRPV1 положительных нейронов капсаицином, либо за счет местных инъекций достаточного количества SP; в обоих случаях не наблюдалась деструкция β-клеток при сохранении популяции аутореактивных Т-клеток [161]. Это указывает на то, что сенсорные нервы контролируют доступ лимфоцитов, включая аутореактивные Т-клетки, к органам и тканям.

Гипертрофическая жировая ткань является источником эндованиллоидов. Клетки В2 жировой ткани (В-лимфоциты, регулирующие местные воспалительные реакции) продуцируют лейкотриены, такие как LTB4, который может стимулировать нейроны, экспрессирующие TRPV1, как напрямую, взаимодействуя с TRPV1, так и косвенно, через собственный рецептор, рецептор 1 к лейкотриену В4 (LTB4R1) [165]. Производные липоксигеназы [85] и полиненасыщенные жирные кислоты омега-3 могут действовать как прямые агонисты TRPV1. Кроме того, свободные жирные кислоты могут стимулировать протеинкиназу С за счет образования диацилглицерина [106]. Протеинкиназа С, в свою очередь, фосфорилирует TRPV1, что приводит к его сенсибилизации [166] или активации [167].

И.Н.Гладких и	и	соавт.
---------------	---	--------

Излишняя активность TRPV1 в поджелудочной железе поддерживает устойчивое высвобождение SP и CGRP, которые ингибируют секрецию инсулина, способствуя развитию СД2Т [168]. Было обнаружено, что пероральный прием антагониста TRPV1, BCTC, улучшает толерантность к глюкозе у крыс линии Zucker с ожирением за счет стимуляции секреции инсулина, уменьшения окислительного стресса и воспаления в мезентериальном белом жире [169]. Об этом свидетельствовали снижение уровня индуцибельной NO-синтазы и уменьшение количества проникающих в жировую ткань макрофагов [169]. Подобно тучным крысам линии Zucker, у мышей с ожирением (мутантная линия с чрезмерным аппетитом из-за мутации в гене лептина [170]) наблюдается повышенный уровень CGRP в плазме [171]. Сообщалось, что у этих животных пероральное введение ВСТС не только нормализовало уровень CGRP, но также стимулировало высвобождение инсулина из β-клеток, улучшая, тем самым, чувствительность к инсулину в тканях-мишенях, таких как печень и скелетные мышцы; также наблюдалось улучшение и в липидном обмене [171].

Антагонисты TRPV1 (капсазепин и SB-366791) способны защищать поджелудочную железу от продолжающегося воспалительного повреждения, было показано, что они уменьшают боль и повреждение тканей во время экспериментального острого панкреатита у грызунов [172, 173]. Кроме того, антагонисты TRPV1 были запатентованы для лечения ожирения, инсулинорезистентности и диабета и находятся на стадии клинических испытаний [169].

ХІ. ТКРУІ И МЕНТАЛЬНЫЕ РАССТРОЙСТВА

Экспрессия ионных каналов TRPV1 в ЦНС обусловливает их участие в когнитивных процессах, связанных с регуляцией синаптической передачи и формированием синаптической пластичности [174, 175]. Показано, что агонисты канала, капсаицин и 12-(S)-НРЕТЕ, эндогенный эйкозаноид, высвобождаемый во время синаптической стимуляции, подавляли возбуждающие синапсы на интернейронах гиппокампа крыс, тогда как антагонисты предотвращали индукцию долгосрочной депрессии (LTD). Кроме того, в срезах мозга трансгенных мышей, лишенных рецепторов TRPV1, ни капсаицин, ни 12-(S)-НРЕТЕ не вызывали LTD. Эти результаты предполагают, что активация канала TRPV1 представляет собой новый механизм, способный избирательно изменять синапсы на интернейронах гиппокампа. Подобно другим

формам синаптической пластичности, TRPV1-опосредованная LTD может играть роль в долгосрочных изменениях физиологического и патологического поведения нервных цепей, как во время обучения, так и при эпилепсии. Позже было установлено, что активация TRPV1 усиливала глутаматергическую передачу в нескольких областях мозга, включая стриатум, паравентрикулярное ядро, стволовые нисходящие антиноцицептивные пути, дорсолатеральную область периакведуктального серого вещества мозга и спинной мозг [176], что позволило предположить, что активация TRPV1 может повышать тревожность. Действительно, нокаутные по TRPV1 мыши демонстрировали сниженную тревожность в чёрно-белой камере и в приподнятом крестообразном лабиринте [177]. Более того, исследование изменения активности специфических рецепторов, связанных с депрессией, тревогой и памятью в мозге нокаутных по TRPV1 мышей, убедительно свидетельствует, что потеря канала приводит к антидепрессанто-подобному, анксиолитическому, аномально-социальному поведению и снижению краткосрочной памяти вследствие изменения уровня экспрессии рецепторов 5-HT1A, GABAA и NMDA [178]. Напротив, активация TRPV1 как эндогенными, так и экзогенными лигандами, усиливала депрессивное поведение экспериментальных животных; при этом было показано, что два различных типа антидепрессантов, амитриптилин и кетамин, снимали депрессивное поведение, вызванное агонистом TRPV1 канала, RTX, подтверждая тем самым непосредственное участие канала в его развитии [179].

В настоящее время имеется множество доказательств того, что антагонисты TRPV1 обладают анксиолитической активностью. Показано, например, что капсазепин при систематическом применении вызывал уменьшение тревожности у крыс, тогда как агонист TRPV1, олванил, напротив, вызывал анксиогенный эффект [180]. Интраназальное введение пептида АРНСЗ вызывало острый анксиолитический и антидепрессивный эффекты, не связанные с ослаблением нейровоспаления [181].

Наблюдается также связь TRPV1 с шизофренией. Установлено, что канал содержится во многих дофаминергических клетках среднего мозга [182], и показано, что капсаицин-чувствительные первичные афферентные нейроны вовлечены в патогенез шизофрении: обнаружено сходство между нарушением терморегуляции у животных, подвергшихся капсаициновой десенситизации, и при шизофрении [176]. Активация TRPV1 и CB1-рецепторов опосредовала также

клеточную гибель среднемозговых дофаминергических нейронов [183]. Такие физиологические проявления, как ненормальные колебания температуры тела в течение дня и нарушение способности компенсировать температурный стресс, характерные для пациентов с шизофренией, а также сниженная восприимчивость к боли, косвенно доказывают вовлеченность TRPV1 в патогенез этого заболевания [176].

Достоверно показана вовлеченность TRPV1 в патогенез эпилепсии [184]. Методом ПЦР в режиме реального времени и Вестерн-блоттинг анализом был выявлен повышенный уровень мРНК и белка TRPV1, а также фактора роста нервов (NGF), сенсибилизирующего данный канал, в группе пациентов с мезиальной височной эпилепсией. Данные иммуногистохимии и иммунофлуоресценции подтвердили локализацию TRPV1 на NeuN-положительных нейронах и GFAPположительных астроцитах, а также на глутаматергических и на ГАМКергических нейронах. В пользу вовлеченности TRPV1 в патогенез эпилепсии говорят многочисленные исследования его активации окислительным стрессом, резинифератоксином, активаторами каннабиноидных рецепторов (СВ1) (например, анандамидом), а также изучения эпилептических эффектов, вызванных капсаицином, причем эти эффекты могут быть уменьшены соответствующими ингибиторами, включая капсазепин, 5'-I-RTX, резолвины и антагонисты CB1. Также сообщалось, что капсазепин и 5'-I-RTX снижали спонтанную возбуждающую синаптическую передачу посредством модуляции глутаминергических систем и десенсибилизации каналов TRPV1 в гиппокампе крыс [185].

XII. TRPV1 ОПОСРЕДУЕТ ОСТРЫЙ И ХРОНИЧЕСКИЙ ЗУД

Помимо воспалительной и невропатической боли TRPV1 также участвует в патогенезе зуда. Кожа иннервируется сетью периферических нервов, состоящей из относительно редких вегетативных и многочисленных сенсорных волокон. Показано, что избыточная экспрессия TRPV1 в очагах поражения у пациентов коррелировала с зудом при псориазе [186]. Было установлено, что множество сенсорных нейронов, экспрессирующих ионные каналы TRPV1 и Nav1.8, взаимодействуя с дендритными клетками, регулируют путь IL-23/ IL-17 и контролируют кожные иммунные ответы в модели псориаза, вызванного имиквимодом у мышей. Химическое ингибирование ноцицепторов TRPV1 и Nav1.8 резинифератоксином снижало ответы IL-23/IL-17 в данной модели [187]. Сравнительные эксперименты в аналогичной модели на мышах дикого типа и нокаутных по TRPV1

доказали ключевую роль TRPV1 в развитии псориаза. Так, по сравнению с мышами дикого типа, степень гиперплазии кожи, площадь микроабсцессов Манро и ангиогенез в пораженных участках кожи были значительно уменьшены у нокаутных мышей, что свидетельствует об уменьшении воспаления и барьерных дефектов кожи. Кроме того, инфильтрация лейкоцитов CD45+, тучных клеток, а также CD3+ Т-клеток была снижена у мышей с нокаутом по гену TRPV1 [188]. Методом количественной ПЦР в реальном времени было выявлено снижение уровня экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6, IL-23, S100A8, в то время как уровень экспрессии иммуносупрессивного цитокина IL-10 у нокаутных мышей был повышен [188].

Гистамин – наиболее известный эндогенный медиатор, вызывающий зуд [189]. При нанесении на кожу человека гистамин вызывает локальное расширение сосудов и острую реакцию, характеризующуюся покраснением, отеком и сильным зудом [190]. Среди четырех рецепторов гистамина, H1R и H4R экспрессируются селективно проводящими зуд нейронами DRG и опосредуют индуцированный гистамином зуд [191]. TRPV1 играет решающую роль в этом процессе. Гистамин активирует приток Ca²⁺ только в те сенсорные нейроны, в которых наблюдается коэкспрессия H1R и TRPV1. Это было доказано в результате электрофизиологических экспериментов на нейронах, взятых от мышей дикого типа и от TRPV1-нокаутных мышей [192]. Важно отметить, что у нокаутных мышей заметно уменьшалось расчесывание, вызванное гистамином, по сравнению с мышами дикого типа [192]. Для H4R наблюдалась аналогичная зависимость от коэкспрессии с TRPV1 [193].

Активация TRPV1 циклической фосфатидной кислотой (CPA), сама по себе, вызывает зуд и расчесывание. Олеиновая кислота является антагонистом TRPV1, и ингибирует индуцированную CPA активацию TRPV1 *in vitro*, а также TRPV1-зависимую боль и реакцию расчесывания *in vivo* [194]. Холестатический (печеночный) зуд – один из симптомов хронического поражения печени. Подкожные инъекции LPA, основного медиатора холестатического зуда, активирующего как TRPV1 так и TRPA1, вызывали расчесывание у грызунов [195, 196]. Достоверно показано, что в зуде, вызванном LPA, участвуют и TRPV1 и TRPA1; генетическое устранение либо TRPV1, либо TRPA1 снижало LPA-индуцированную активацию нейронов DRG и уменьшало расчесывание кожи, вызываемое подкожными инъекциями LPA [196].

Таким образом, TRPV1 является возможной мишенью для препаратов, разрабатываемых для лечения псориаза у людей, а также для

И.Н.І ладких и в	соавт.
------------------	--------

облегчения зуда. Синтетический антагонист TRPV1, PAC-14028, был разработан специально для лечения кожного зуда и различных, ассоциированных с ним, болезней кожи [197]. Его эффективность была доказана на моделях атопического дерматита, индуцированного экстрактом *Dermatophagoides farinae* и оксазолоном – на мышах [198]. В 2019 году были успешно проведены клинические испытания на 194 пациентах с атопическим дерматитом, в которых было показано, что ежедневное двукратное применение крема с 0,1–1% содержанием PAC-14028 уменьшает зуд и вызванное им нарушение сна и способствует практически полному заживлению экземы [199].

ХІП. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ионный канал TRPV1 имеет большое количество возможностей быть активированным, причем комбинаторика разных стимулов может давать различные конечные состояния канала, на которые накладываются к тому же разнообразные внутриклеточные пути регуляции. Эти особенности TRPV1, позволяющие ему тонко подстраивать свой ответ к совокупности внешних и внутренних факторов, в конечном счете, могут служить защитным механизмом, препятствующим возникновению ряда патологических состояний. Этот самый востребованный ионный канал расположен в центральной и периферической нервной системе, где выполняет функцию молекулярного интегратора в нейронах и дополнительно имеет ненейрональную локализацию в различных клетках млекопитающих. В общих чертах, излишняя активность TRPV1 связана с развитием патологических состояний, поэтому использование прямых антагонистов или молекул, регулирующих уровень его экспрессии, приводит к лечебным эффектам. Однако и агонисты, например, капсаицин, оказывают положительное обезболивающее действие за счет десенситизации ноцицептивных нейронов. Учитывая широкую вовлеченность ионного канала во множество физиологических процессов, применение высокоактивных модуляторов TRPV1 как средств терапии остается под вопросом, но многочисленные научные группы ведут активный поиск и испытания на животных моделях новых лигандов к TRPV1.

Благодарности: авторы выражают благодарность м.н.с. ЛМФБ ТИБОХ ДВО РАН А.С. Меньшову за помощь в подготовке рисунка 1.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Holzer, P., Izzo, A. A. (2014) The pharmacology of TRP channels, *British Journal of Pharmacology*, **171**, 2469–2473.
- Benemei, S., Patacchini, R., Trevisani, M., Geppetti, P. (2015) TRP channels, *Current Opinion in Pharmacology*, 22, 18–23.
- Samanta, A., Hughes, T.E.T., Moiseenkova-Bell, V. Y. (2018) Transient receptor potential (TRP) channels, *Subcellular Biochemistry*, 87, 141–165.
- Alawi, K., Keeble, J. (2010) The paradoxical role of the transient receptor potential vanilloid 1 receptor in inflammation, *Pharmacology & Therapeutics*, **125**, 181–195.
- Storozhuk, M.V., Moroz, O.F., Zholos, A.V. (2019) Multifunctional TRPV1 Ion Channels in Physiology and Pathology with Focus on the Brain, Vasculature, and Some Visceral Systems, *BioMed Research International*, 2019, 5806321.
- Caterina, M.J., Leffler, A., Malmberg, A.B., Martin, W.J., Trafton, J., Petersen-Zeitz, K.R., Koltzenburg, M., Basbaum, A.I., Julius, D. (2000) Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor, *Science*, 288, 306–313.
- Akiba, Y., Kato, S., Katsube, K.I., Nakamura, M., Takeuchi, K., Ishii, H., Hibi, T. (2004) Transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expressed in pancreatic islet β cells modulates insulin secretion in rats, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **321**, 219–225.
- Ständer, S., Moormann, C., Schumacher, M., Buddenkotte, J., Artuc, M., Shpacovitch, V., Brzoska, T., Lippert, U., Henz, B.M., Luger, T.A., Dieter, M., Martin, S. (2004) Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells, and epithelial cells of appendage structures, *Experimental Dermatology*, 13, 129–139.

- McGarvey, L.P., Butler, C.A., Stokesberry, S., Polley, L., McQuaid, S., Abdullah, H., Ashraf, S., McGahon, M.K., Curtis, T.M., Arron, J., Choy, D., Warke, T. J., Bradding, P., Ennis, M., Zholos, A., Costello, R. W., Heaney, L. G. (2014) Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133, 704.
- Martin, E., Dahan, D., Cardouat, G., Gillibert-Duplantier, J., Marthan, R., Savineau, J.P., Ducret, T. (2012) Involvement of TRPV1 and TRPV4 channels in migration of rat pulmonary arterial smooth muscle cells, *Pflügers Archiv: European Journal* of Physiology, 464, 261–272.
- Watanabe, N., Horie, S., Michael, G.J., Spina, D., Page, C.P., Priestley, J. V. (2005) Immunohistochemical localization of vanilloid receptor subtype 1 (TRPV1) in the guinea pig respiratory system, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 18, 187–197.
- Phan, T.X., Ton, H.T., Gulyás, H., Pórszász, R., Tóth, A., Russo, R., Kay, M.W., Sahibzada, N., Ahern, G.P. (2020) TRPV1 expressed throughout the arterial circulation regulates vasoconstriction and blood pressure, *The Journal of Physiology*, **32944976**.
- 13. Kühlbrandt, W. (2014) Cryo-EM enters a new era, *Elife*, **3**, e03678.
- Bai, X.C., McMullan, G., Scheres, S.H.W. (2015) How cryo-EM is revolutionizing structural biology, *Trends* in *Biochemical Sciences*, 40, 49–57.
- 15. Cheng, Y. (2015) Single-particle Cryo-EM at crystallographic resolution, *Cell*, **161**, 450–457.
- Gao, Y., Cao, E., Julius, D., Cheng, Y. (2016) TRPV1 structures in nanodiscs reveal mechanisms of ligand and lipid action, *Nature*, 534, 347–351.

- Cao, E., Liao, M., Cheng, Y., Julius, D. (2013) TRPV1 structures in distinct conformations reveal activation mechanisms, *Nature*, **504**, 113–118.
- Liao, M., Cao, E., Julius, D., Cheng, Y. (2013) Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryomicroscopy, *Nature*, 504, 107–112.
- Huynh, K.W., Cohen, M.R., Jiang, J., Samanta, A., Lodowski, D.T., Zhou, Z.H., Moiseenkova-Bell, V.Y. (2016) Structure of the full-length TRPV2 channel by cryo-EM, *Nature Communications*, 7, 1–8.
- Shimada, H., Kusakizako, T., Dung Nguyen, T.H., Nishizawa, T., Hino, T., Tominaga, M., Nureki, O. (2020) The structure of lipid nanodisc-reconstituted TRPV3 reveals the gating mechanism, *Nature Structural & Molecular Biology*, 27, 645–652.
- Deng, Z., Paknejad, N., Maksaev, G., Sala-Rabanal, M., Nichols, C.G., Hite, R.K., Yuan, P. (2018) Cryo-EM and X-ray structures of TRPV4 reveal insight into ion permeation and gating mechanisms, *Nature Structural & Molecular Biology*, 25, 252–260.
- 22. Dang, S., Van Goor, M.K., Asarnow, D., Wang, Y.Q., Julius, D., Cheng, Y., van der Wijst, J. (2019) Structural insight into TRPV5 channel function and modulation, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **116**, 8869–8878.
- McGoldrick, L.L., Singh, A.K., Saotome, K., Yelshanskaya, M. V., Twomey, E.C., Grassucci, R.A., Sobolevsky, A.I. (2018) Opening of the human epithelial calcium channel TRPV6, *Nature*, 553, 233–237.
- Singh, A.K., Mcgoldrick, L.L., Saotome, K., Sobolevsky, A.I. (2018) X-ray crystallography of TRP channels, *Channels*, **12**, 137–152.
- Saotome, K., Singh, A.K., Yelshanskaya, M. V., Sobolevsky, A.I. (2016) Crystal structure of the epithelial

calcium channel TRPV6, *Nature*, **534**, 506–511.

- Lishko, P. V., Procko, E., Jin, X., Phelps, C.B., Gaudet, R. (2007) The Ankyrin Repeats of TRPV1 Bind Multiple Ligands and Modulate Channel Sensitivity, *Neuron*, 54, 905–918.
- McCleverty, C.J., Koesema, E., Patapoutian, A., Lesley, S.A., Kreusch, A. (2006) Crystal structure of the human TRPV2 channel ankyrin repeat domain, *Protein Science*, 15, 2201–2206.
- Jin, X., Touhey, J., Gaudet, R. (2006) Structure of the N-terminal ankyrin repeat domain of the TRPV2 ion channel, *Journal of Biological Chemistry*, 281, 25006–25010.
- Lau, S.Y., Procko, E., Gaudet, R. (2012) Distinct properties of Ca2+calmodulin binding to N- and C-terminal regulatory regions of the TRPV1 channel, *The Journal of General Physiology*, 140, 541–555.
- Mosavi, L.K., Cammett, T.J., Desrosiers, D.C., Peng, Z. (2004) The ankyrin repeat as molecular architecture for protein recognition, *Protein Science*, 13, 1435–1448.
- Sedgwick, S.G., Smerdon, S.J. (1999) The ankyrin repeat: A diversity of interactions on a common structural framework, *Trends in Biochemical Sciences*, 24, 311–316.
- 32. Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., Ferrin, T.E. (2004) UCSF Chimera – A visualization system for exploratory research and analysis, *Journal of Computational Chemistry*, 25, 1605–1612.
- Liu, B., Zhang, C., Qin, F. (2005) Functional recovery from desensitization of vanilloid receptor TRPV1 requires resynthesis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, *The Journal of Neuroscience*, 25, 4835–4843.

- 34. Stein, A.T., Ufret-Vincenty, C.A., Hua, L., Santana, L.F., Gordon, S.E. (2006) Phosphoinositide 3-kinase binds to TRPV1 and mediates NGFstimulated TRPV1 trafficking to the plasma membrane, *The Journal of General Physiology*, **128**, 509–522.
- Tanaka, M., Hayakawa, K., Ogawa, N., Kurokawa, T., Kitanishi, K., Ite, K., Matsui, T., Mori, Y., Unno, M. (2020) Structure determination of the human TRPV1 ankyrin-repeat domain under nonreducing conditions, *Acta Crystallographica Section F*, **76**, 130–137.
- Ladrón-de-Guevara, E., Dominguez, L., Rangel-Yescas, G.E., Fernández-Velasco, D.A., Torres-Larios, A., Rosenbaum, T., Islas, L.D. (2020) The Contribution of the Ankyrin Repeat Domain of TRPV1 as a Thermal Module, *Biophysical Journal*, 118, 836–845.
- Chung, M.K., Güler, A.D., Caterina, M.J. (2008) TRPV1 shows dynamic ionic selectivity during agonist stimulation, *Nature Neuroscience*, 11, 555–564.
- Myers, B.R., Bohlen, C.J., Julius, D. A (2008) Yeast Genetic Screen Reveals a Critical Role for the Pore Helix Domain in TRP Channel Gating, *Neuron*, 58, 362–373.
- Yang, F., Cui, Y., Wang, K., Zheng, J. (2010) Thermosensitive TRP channel pore turret is part of the temperature activation pathway, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 7083–7088.
- Cui, Y., Yang, F., Cao, X., Yarov-Yarovoy, V., Wang, K.W., Zheng, J. (2012) Selective disruption of high sensitivity heat activation but not capsaicin activation of TRPV1 channels by pore turret mutations, *The Journal of General Physiology*, 139, 273–283.
- Yang, F., Ma, L., Cao, X., Wang, K., Zheng, J. (2014) Divalent cations activate TRPV1 through promoting

conformational change of the extracellular region, *Journal of General Physiology*, **143**, 91–103.

- 42. Winter, Z., Buhala, A., Ötvös, F., Jósvay, K., Vizler, C., Dombi, G., Szakonyi, G., Oláh, Z. (2013) Functionally important amino acid residues in the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) ion channel - an overview of the current mutational data, *Molecular Pain*, 9, 23800232.
- Jara-Oseguera, A., Bae, C., Swartz, K.J. (2016) An external sodium ion binding site controls allosteric gating in TRPV1 channels, *Elife*, 5, 1–33.
- 44. Dosey, T.L., Wang, Z., Fan, G., Zhang, Z., Serysheva, I.I., Chiu, W., Wensel, T.G. (2019) Structures of TRPV2 in distinct conformations provide insight into role of the pore turret, *Nature Structural & Molecular Biology*, **26**, 40–49.
- 45. Chugunov, A.O., Volynsky, P.E., Krylov, N.A., Nolde, D.E., Efremov, R.G. (2016) Temperature-sensitive gating of TRPV1 channel as probed by atomistic simulations of its transand juxtamembrane domains, *Scientific Reports*, 6, 33112.
- Schumacher, M.A., Eilers, H. (2010) TRPV1 splice variants: Structure and function, *Frontiers in Bioscience*, 15, 872–882.
- Liapi, A., Wood, J.N. (2005) Extensive co-localization and heteromultimer formation of the vanilloid receptorlike protein TRPV2 and the capsaicin receptor TRPV1 in the adult rat cerebral cortex, *European Journal of Neuroscience*, 22, 825–834.
- Rutter, A.R., Ma, Q.P., Leveridge, M., Bonnert, T.P. (2005) Heteromerization and colocalization of TrpV1 and TrpV2 in mammalian cell lines and rat dorsal root ganglia, *Neuroreport*, 16, 1735–1739.
- 49. Cheng, W., Sun, C., Zheng, J. (2010) Heteromerization of TRP channel

subunits: Extending functional diversity, *Protein Cell*, **1**, 802–810.

- Cheng, W., Yang, F., Takanishi, C.L., Zheng, J. (2007) Thermosensitive TRPV channel subunits coassemble into heteromeric channels with intermediate conductance and gating properties, *The Journal of General Phy*siology, **129**, 191–207.
- Cheng, W., Yang, F., Liu, S., Colton, C.K., Wang, C., Cui, Y., Cao, X., Zhu, M.X., Sun, C., Wang, K.W., Zheng, J. (2012) Heteromeric heatsensitive transient receptor potential channels exhibit distinct temperature and chemical response, *Journal of Biological Chemistry*, 287, 7279–7288.
- Lakk, M., Young, D., Baumann, J.M., Jo, A.O., Hu, H., Križaj, D. (2018) Polymodal TRPV1 and TRPV4 sensors colocalize but do not functionally interact in a subpopulation of mouse retinal ganglion cells, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, 353.
- 53. O'leary, C., McGahon, M.K., Ashraf, S., McNaughten, J., Friedel, T., Cincolà, P., Barabas, P., Fernandez, J.A., Stitt, A.W., McGeown, J.G., Curtis, T.M. (2019) Involvement of TRPV1 and TRPV4 channels in retinal angiogenesis, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **60**, 3297–3309.
- 54. Patil, M.J., Salas, M., Bialuhin, S., Boyd, J.T., Jeske, N.A., Akopian, A.N. (2020) Sensitization of smalldiameter sensory neurons is controlled by TRPV1 and TRPA1 association, *FASEB Journal*, **34**, 287–302.
- Akopian, A. N. (2010) Regulation of Nociceptive Transmission at the Periphery Via TRPA1-TRPV1 Interactions, *Current Pharmaceutical Biotechnolog*, 12, 89–94.
- Alessandri-Haber, N., Dina, O.A., Chen, X., Levine, J.D. (2009) TRPC1 and TRPC6 channels cooperate

with TRPV4 to mediate mechanical hyperalgesia and nociceptor sensitization, *Journal of Neuroscience*, **29**, 6217–6228.

- Salas, M.M., Hargreaves, K.M., Akopian, A.N. (2009) TRPA1-mediated responses in trigeminal sensory neurons: Interaction between TRPA1 and TRPV1, *European Journal of Neuroscience*, 29, 1568–1578.
- Fischer, M.J.M., Balasuriya, D., Jeggle, P., Goetze, T.A., McNaughton, P.A., Reeh, P.W., Edwardson, J.M. (2014) Direct evidence for functional TRPV1/TRPA1 heteromers, *Pflügers Archiv European Journal* of Physiology, 466, 2229–2241.
- 59. Hazan, A., Kumar, R., Matzner, H., Priel, A. (2015) The pain receptor TRPV1 displays agonist-dependent activation stoichiometry, *Scientific Reports*, 5, 12278.
- 60. Kumar, R., Hazan, A., Basu, A., Zalcman, N., Matzner, H., Priel, A. (2016) Tyrosine residue in the TRPV1 vanilloid binding pocket regulates deactivation kinetics, *Journal of Biological Chemistry*, **291**, 13855–13863.
- Jordt, S.E., Julius, D. (2002) Molecular basis for species-specific sensitivity to "hot" chili peppers, *Cell*, 108, 421–430.
- Kumar, R., Hazan, A., Geron, M., Steinberg, R., Livni, L., Matzner, H., Priel, A. (2017) Activation of transient receptor potential vanilloid 1 by lipoxygenase metabolites depends on PKC phosphorylation, *FASEB Journal*, **31**, 1238–1247.
- 63. Yang, F., Xiao, X., Cheng, W., Yang, W., Yu, P., Song, Z., Yarov-Yarovoy, V., Zheng, J. (2015) Structural mechanism underlying capsaicin binding and activation of the TRPV1 ion channel, *Nature Chemical Biology*, **11**, 518–524.

- Kuzhikandathil, E. V., Wang, H., Szabo, T., Morozova, N., Blumberg, P.M., Oxford, G.S. (2001) Functional analysis of capsaicin receptor (vanilloid receptor subtype 1) multimerization and agonist responsiveness using a dominant negative mutation, *Journal of Neuroscience*, 21, 8697–8706.
- 65. Jordt, S.E., Tominaga, M., Julius, D. (2000) Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extracellular site, *Proceedings* of the National Academy of Sciences, 97, 8134–8139.
- 66. Welch, J.M., Simon, S.A., Reinhart, P.H. (2000) The activation mechanism of rat vanilloid receptor 1 by capsaicin involves the pore domain and differs from the activation by either acid or heat, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**, 13889–13894.
- Susankova, K., Ettrich, R., Vyklicky, L., Teisinger, J., Vlachova, V. (2007) Contribution of the putative innerpore region to the gating of the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel (TRPV1), *Journal* of Neuroscience, 27, 7578–7585.
- Chu, Y., Cohen, B.E., Chuang, H. (2020) A single TRPV1 amino acid controls species sensitivity to capsaicin, *Scientific Reports*, 10, 8038.
- 69. Ryu, S., Liu, B., Yao, J., Fu, Q., Qin, F. (2007) Uncoupling proton activation of vanilloid receptor TRPV1, *Journal of Neuroscience*, 27, 12797–12807.
- Aneiros, E., Cao, L., Papakosta, M., Stevens, E.B., Phillips, S., Grimm, C. (2011) The biophysical and molecular basis of TRPV1 proton gating, *EMBO Journal*, **30**, 994–1002.
- Jung, J., Lee, S.Y., Hwang, S.W., Cho, H., Shin, J., Kang, Y.S., Kim, S., Oh, U. (2002) Agonist recognition

sites in the cytosolic tails of vanilloid receptor 1, *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 44448–44454.

- 72. Sutton, K.G., Garrett, E.M., Rutter, A.R., Bonnert, T.P., Jarolimek, W., Seabrook, G.R. (2005) Functional characterisation of the S512Y mutant vanilloid human TRPV1 receptor, *British Journal of Pharmacology*, 146, 702–711.
- 73. Johnson, D.M., Garrett, E.M., Rutter, R., Bonnert, T.P., Gao, Y.D., Middleton, R.E., Sutton, K.G. (2006) Functional mapping of the transient receptor potential vanilloid 1 intracellular binding site, *Molecular Pharmacology*, **70**, 1005–1012.
- Vlachová, V., Teisinger, J., Sušánková, K., Lyfenko, A., Ettrich, R., Vyklický, L. (2003) Functional role of C-terminal cytoplasmic tail of rat vanilloid receptor 1, *Journal of Neuroscience*, 23, 1340–1350.
- Brauchi, S., Orta, G., Salazar, M., Rosenmann, E., Latorre, R. (2006) A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels, *Journal of Neuroscience*, 26, 4835–4840.
- Yao, J., Liu, B., Qin, F. (2011) Modular thermal sensors in temperaturegated transient receptor potential (TRP) channels, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 11109–11114.
- 77. Grandl, J., Kim, S.E., Uzzell, V., Bursulaya, B., Petrus, M., Bandell, M., Patapoutian, A. (2010) Temperature-induced opening of TRPV1 ion channel is stabilized by the pore domain, *Nature Neuroscience*, 13, 708–714.
- Boukalova, S., Marsakova, L., Teisinger, J., Vlachova, V. (2010) Conserved residues within the putative S4-S5 region serve distinct functions

among thermosensitive vanilloid transient receptor potential (TRPV) channels, *Journal of Biological Chemistry*, **285**, 41455–41462.

- Lubova, K.I., Chugunov, A.O., Volynsky, P.E., Trofimov, Y.A., Korolkova, Y. V., Mosharova, I. V., Kozlov, S.A., Andreev, Y.A., Efremov, R.G. (2020) Probing temperature and capsaicin-induced activation of TRPV1 channel via computationally guided point mutations in its pore and TRP domains, *International Journal of Biological Macromolecules*, **158**, 1175–1183.
- 80. Ma, W., Quirion, R. (2007) Inflammatory mediators modulating the transient receptor potential vanilloid 1 receptor: Therapeutic targets to treat inflammatory and neuropathic pain, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **11**, 307–320.
- Pearce, L. V., Toth, A., Ryu, H.C., Kang, D.W., Choi, H.K., Jin, M.K., Lee, J., Blumberg, P.M. (2008) Differential modulation of agonist and antagonist structure activity relations for rat TRPV1 by cyclosporin A and other protein phosphatase inhibitors, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **377**, 149–157.
- Benítez-Angeles, M., Morales-Lázaro, S.L., Juárez-González, E., Rosenbaum, T. (2020) TRPV1: Structure, endogenous agonists, and mechanisms, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 3421.
- Nieto-Posadas, A., Picazo-Juárez, G., Llorente, I., Jara-Oseguera, A., Morales-Lázaro, S., Escalante-Alcalde, D., Islas, L.D., Rosenbaum, T. (2012) Lysophosphatidic acid directly activates TRPV1 through a C-terminal binding site, *Nature Chemical Biology*, **8**, 78–85.
- Zygmunt, P.M., Petersson, J., Andersson, D.A., Chuang, H.H., Sorgard, M., Di Marzo, V., Julius, D.,

Högestätt, E.D. (1999) Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide, *Nature*, **400**, 452–457.

- Hwang, S.W., Cho, H., Kwak, J., Lee, S.Y., Kang, C.J., Jung, J., Cho, S., Min, K.H., Suh, Y.G., Kim, D., Oh, U. (2000) Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: Endogenous capsaicinlike substances, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 6155–6160.
- Wen, H., Östman, J., Bubb, K.J., Panayiotou, C., Priestley, J. V., Baker, M.D., Ahluwalia, A. (2012) 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) is a novel activator of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channel, *Journal of Biological Chemistry*, 287, 13868–13876.
- Suh, B.C., Hille, B. (2008) PIP2 is a necessary cofactor for ion channel function: How and why? *Annual Review of Biophysics*, 37, 175–195.
- Chuang, H.H., Prescott, E.D., Kong, H., Shields, S., Jordt, S.E., Basbaum, A.I., Chao, M. V., Julius, D. (2001) Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition, *Nature*, 411, 957–962.
- Lukacs, V., Yudin, Y., Hammond, G.R., Sharma, E., Fukami, K., Rohacs, T. (2013) Distinctive changes in plasma membrane phosphoinositides underlie differential regulation of TRPV1 in nociceptive neurons, *Journal of Neuroscience*, 33, 11451–11463.
- 90. Poblete, H., Oyarzún, I., Olivero, P., Comer, J., Zuñiga, M., Sepulveda, R. V., Báez-Nieto, D., Leon, C.G., González-Nilo, F., Latorre, R. (2015) Molecular determinants of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P2) binding to transient receptor potential V1 (TRPV1) chan-

nels, Journal of Biological Chemistry, **290**, 2086–2098.

- Liu, M., Huang, W., Wu, D., Priestley, J. V. (2006) TRPV1, but not P2X3, requires cholesterol for its function and membrane expression in rat nociceptors, *European Journal of Neuroscience*, 24, 1–6.
- 92. Szoke, É., Börzsei, R., Tóth, D.M., Lengl, O., Helyes, Z., Sándor, Z., Szolcsányi, J. (2010) Effect of lipid raft disruption on TRPV1 receptor activation of trigeminal sensory neurons and transfected cell line, *European Journal of Pharmacology*, 628, 67–74.
- 93. Picazo-Juárez, G., Romero-Suárez, S., Nieto-Posadas, A.S., Llorente, I., Jara-Oseguera, A.S., Briggs, M., McIntosh, T.J., Simon, S.A., Ladrón-de-Guevara, E., Islas, L.D., Rosenbaum, T. (2011) Identification of a binding motif in the S5 helix that confers cholesterol sensitivity to the TRPV1 ion channel, *Journal of Biological Chemistry*, 286, 24966–24976.
- 94. Nagy, I., Friston, D., Valente, J.S., Perez, J.V.T., Andreou, A.P. (2014) Pharmacology of the Capsaicin Receptor, Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 Ion Channel, *Progress in Drug Research*, 68, 39– 76.
- Abbas, M.A. (2020) Modulation of TRPV1 channel function by natural products in the treatment of pain, *Chemico-Biological Interactions*, 330, 109178.
- Toda, A., Yokomizo, T., Shimizu, T. (2002) Leukotriene B4 receptors, *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 68–69, 575–585.
- 97. Vigna, S.R., Shahid, R.A., Nathan, J.D., McVey, D.C., Liddle, R.A. (2011) Leukotriene B4 mediates inflammation via TRPV1 in duct ob-

struction-induced pancreatitis in rats, *Pancreas*, **40**, 708–714.

- 98. Chen, J., Hamers, A.J.P., Finsterbusch, M., Massimo, G., Zafar, M., Corder, R., Colas, R.A., Dalli, J., Thiemermann, C., Ahluwalia, A. (2018) Endogenously generated arachidonate-derived ligands for trpv1 induce cardiac protection in sepsis, *FASEB Journal*, **32**, 3816–3831.
- Brain, S.D., Grant, A.D. (2004) Vascular actions of calcitonin generelated peptide and adrenomedullin, *Physiological Reviews*, 84, 903–934.
- 100. Gomes, R.N., Castro-Faria-Neto, H.C., Bozza, P.T., Soares, M.B.P., Shoemaker, C.B., David, J.R., Bozza, M.T. (2006) Calcitonin generelated peptide inhibits local acute inflammation and protects mice against lethal endotoxemia, *Shock*, 24, 590–594.
- 101. Wang, L., Shi, X., Zhao, R., Halloran, B.P., Clark, D.J., Jacobs, C.R., Kingery, W.S. (2010) Calcitonin-gene-related peptide stimulates stromal cell osteogenic differentiation and inhibits RANKL induced NF-κB activation, osteoclastogenesis and bone resorption, *Bone*, **46**, 1369–1379.
- 102. Takahashi, N., Matsuda, Y., Sato, K., De Jong, P.R., Bertin, S., Tabeta, K., Yamazaki, K. (2016) Neuronal TRPV1 activation regulates alveolar bone resorption by suppressing osteoclastogenesis via CGRP, *Scientific Reports*, 6, 29294.
- 103. Bodkin, J.V., Fernandes, E.S. (2013) TRPV1 and SP: Key elements for sepsis outcome? *British Journal of Pharmacology*, **170**, 1279–1292.
- 104. Gimpl, G., Fahrenholz, F. (2001) The oxytocin receptor system: Structure, function, and regulation, *Physiological Reviews*, **81**, 629–683.

И.Н.Гладких и соавт.

- 105. Nersesyan, Y., Demirkhanyan, L., Cabezas-Bratesco, D., Oakes, V., Kusuda, R., Dawson, T., Sun, X., Cao, C., Cohen, A.M., Chelluboina, B., Veeravalli, K.K., Zimmermann, K., Domene, C., Brauchi, S., Zakharian, E. (2017) Oxytocin Modulates Nociception as an Agonist of Pain-Sensing TRPV1, Cell Reports, 21, 1681–1691.
- 106. Matta, J.A., Miyares, R.L., Ahern, G.P. (2007) TRPV1 is a novel target for omega-3 polyunsaturated fatty acids, *Journal of Physiology*, **578**, 397–411.
- 107. Ahern, G.P., Wang, X., Miyares, R.L. (2006) Polyamines are potent ligands for the capsaicin receptor TRPV1, *Journal of Biological Chemistry*, 281, 8991–8995.
- 108. De La Roche, J., Walther, I., Leonow, W., Hage, A., Eberhardt, M., Fischer, M., Reeh, P.W., Sauer, S., Leffler, A. (2016) Lactate is a potent inhibitor of the capsaicin receptor TRPV1, *Scientific Reports*, **6**, 36740.
- 109. Raisinghani, M., Pabbidi, R.M., Premkumar, L.S. (2005) Activation of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) by resiniferatoxin, *Journal of Physiology*, 567, 771–786.
- 110. Bae, C., Anselmi, C., Kalia, J., Jara-Oseguera, A., Schwieters, C.D., Krepkiy, D., Lee, C.W., Kim, E.H., Kim, J.I.I., Faraldo-Gómez, J.D., Swartz, K.J. (2016) Structural insights into the mechanism of activation of the TRPV1 channel by a membrane-bound tarantula toxin, *Elife*, 5, e11273.
- 111. Bohlen, C.J., Priel, A., Zhou, S., King, D., Siemens, J., Julius, D. (2010) A bivalent tarantula toxin activates the capsaicin receptor, TRPV1, by targeting the outer pore domain, *Cell*, **141**, 834–845.

- 112. Xu, H., Blair, N.T., Clapham, D.E. (2005) Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloidindependent mechanism, *Journal* of Neuroscience, 25, 8924–8937.
- 113. Nikolaev, M. V, Dorofeeva, N.A., Komarova, M.S., Korolkova, Y. V, Andreev, Y.A., Mosharova, I. V, Grishin, E. V, Tikhonov, D.B., Kozlov, S.A. (2017) TRPV1 activation power can switch an action mode for its polypeptide ligands, *PLoS One*, **12**, 1–16.
- 114. Tansey, E.A., Johnson, C.D. (2015) Recent advances in thermoregulation, *Advances in Physiology Education*, **39**, 139–148.
- 115. Madden, C.J., Morrison, S.F. (2019) Central nervous system circuits that control body temperature, *Neuroscience Letters*, **696**, 225–232.
- 116. Luo, L., Wang, Y., Li, B., Xu, L., Kamau, P.M., Zheng, J., Yang, F., Yang, S., Lai, R. (2019) Molecular basis for heat desensitization of TRPV1 ion channels, *Nature Communications*, **10**, 2134.
- 117. Garami, A., Pakai, E., McDonald, H.A., Reilly, R.M., Gomtsyan, A., Corrigan, J.J., Pinter, E., Zhu, D.X.D., Lehto, S.G., Gavva, N.R., Kym, P.R., Romanovsky, A.A. (2018) TRPV1 antagonists that cause hypothermia, instead of hyperthermia, in rodents: Compounds' pharmacological profiles, in vivo targets, thermoeffectors recruited and implications for drug development, *Acta Physiologica*, 223, 1–18.
- 118. Gavva, N.R., Bannon, A.W., Surapaneni, S., Hovland, D.N., Lehto, S.G., Gore, A., Juan, T., Deng, H., Han, B., Klionsky, L., Kuang, R., Le, A., Tamir, R., Wang, J.,

Youngblood, B., Zhu, D., Norman, M.H., Magal, E., Treanor, J.J.S., Louis J.-C. (2007) The vanilloid receptor TRPV1 is tonically activated in vivo and involved in body temperature regulation, *Journal of Neuroscience*, **27**, 3366–3374.

- 119. Garami, A., Ibrahim, M., Gilbraith, K., Khanna, R., Pakai, E., Miko, A., Pinter, E., Romanovsky, A.A., Porreca, F., Patwardhan, A.M. (2017) Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Antagonists Prevent Anesthesia-induced Hypothermia and Decrease Postincisional Opioid Dose Requirements in Rodents, *Anesthesiology*, **127**, 813–823.
- 120. Garami, A., Shimansky, Y.P., Pakai, E., Oliveira, D.L., Gavva, N.R., Romanovsky, A.A. (2010) Contributions of different modes of TRPV1 activation to TRPV1 antagonist-induced hyperthermia, *Journal of Neuroscience*, **30**, 1435–1440.
- 121. Steiner, A.A., Turek, V.F., Almeida, M.C., Burmeister, J.J., Oliveira, D.L., Roberts, J.L., Bannon, A.W., Norman, M.H., Louis, J.C., Treanor, J.J.S., Gavva, N.R., Romanovsky A.A. (2007) Nonthermal activation of transient receptor potential vanilloid-1 channels in abdominal viscera tonically inhibits autonomic cold-defense effectors, *Journal of Neuroscience*, **27**, 7459–7468.
- 122. Voight, E.A., Gomtsyan, A.R., Daanen, J.F., Perner, R.J., Schmidt, R.G., Bayburt, E.K., Didomenico, S., McDonald, H.A., Puttfarcken, P.S., Chen, J., Neelands, T.R., Bianchi B.R., Han, P., Reilly, R.M., Franklin P.H., Segreti, J.A., Nelson, R.A., Zhi, S., King, A.J., Polakowski, J.S., Baker, S.J., Gauvin, D.M., Lewis, L.R., Mikusa, J.P., Joshi, S.K., Faltynek, C.R., Kym, P.R.,

Kort, M.E. (2014) Discovery of (R)-1-(7-chloro-2,2-bis(fluoromethyl) chroman-4-yl)-3-(3-methylisoquinolin-5-yl)urea (a-1165442): A temperature-neutral transient receptor potential vanilloid-1 (trpv1) antagonist with analgesic efficacy, *Journal of Medicinal Chemistry*, **57**, 7412–7424.

- 123. Honore, P., Chandran, P., Hernandez, G., Gauvin, D.M., Mikusa, J.P., Zhong, C., Joshi, S.K., Ghilardi, J.R., Sevcik, M.A., Fryer, R.M., Segreti, J.A., Banfor, P.N., Marsh, K., Neelands, T., Bayburt, E., Daanen, J.F., Gomtsyan, A., Lee, C.-H., Kort Michael, E., Reilly, R.M., Surowy, C.S., Kym, P.R., Mantyh, P.W., Sullivan, J.P., Jarvis, M.F., Faltynek, C.R. (2009) Repeated dosing of ABT-102, a potent and selective TRPV1 antagonist, enhances TRPV1-mediated analgesic activity in rodents, but attenuates antagonist-induced hyperthermia, Pain, 142, 27-35.
- 124. Shimizu, I., Iida, T., Horiuchi, N., Caterina, M.J. (2005) 5-Iodoresiniferatoxin evokes hypothermia in mice and is a partial transient receptor potential vanilloid 1 agonist in vitro, *Journal of Pharmacology* and Experimental Therapeutics, 314, 1378–1385.
- 125. Lehto, S.G., Tamir, R., Deng, H., Klionsky, L., Kuang, R., Le, A., Lee, D., Louis, J.C., Magal, E., Manning, B.H., Rubino, J., Surapaneni, S., Tamayo, N., Wang, T., Wang, J., Wang, J., Wang, W., Youngblood, B., Zhang, M., Zhu, D., Norman, M., Gavva, N.R. (2008) Antihyperalgesic effects of (R,E)-N-(2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-inden-4-yl)- 3-(2-(piperidin-1-yl)-4-(trifluoromethyl)phenyl)acrylamide (AMG8562), a novel

transient receptor potential vanilloid type 1 modulator that does not cause hyperthermia in rats, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **326**, 218–229.

- 126. Mills, C., McMackin, M., Jaffe, R., Yu, J., Zininberg, E., Slee, D., Gogas, K., Bradbury, M. (2008) Effects of the transient receptor potential vanilloid 1 antagonist A-425619 on body temperature and thermoregulation in the rat, *Neuroscience*, **156**, 165–174.
- 127. Gomtsyan, A., McDonald, H.A., Schmidt, R.G., Daanen, J.F., Voight, E.A., Segreti, J.A., Puttfarcken, P.S., Reilly, R.M., Kort, M.E., Dart, M.J., Kym, P.R. (2015) TRPV1 ligands with hyperthermic, hypothermic and no temperature effects in rats, *Temperature*, 2, 297–301.
- 128. Andreev, Y.A., Kozlov, S.A., Korolkova, Y. V., Dyachenko, I.A., Bondarenko, D.A., Skobtsov, D.I., Murashev, A.N., Kotova, P.D., Rogachevskaja, O.A., Kabanova, N. V., Kolesnikov, S.S., Grishin, E.V. (2013) Polypeptide modulators of TRPV1 produce analgesia without hyperthermia, *Marine Drugs*, **11**, 5100–5115.
- 129. Dyachenko, I.A., Andreev, Y.A., Logashina, Y.A., Murashev, A.N., Grishin, E. V. (2015) Biological activity of a polypeptide modulator of TRPV1 receptor, *Doklady Biological Sciences*, 465, 279–281.
- 130. Yang, S., Yang, F., Wei, N., Hong, J., Li, B., Luo, L., Rong, M., Yarov-Yarovoy, V., Zheng, J., Wang, K., Lai, Ren. (2015) A pain-inducing centipede toxin targets the heat activation machinery of nociceptor TRPV1, *Nature Communications*, **6**, 8297.
- 131. Hakim, M.A., Jiang, W., Luo, L., Li, B., Yang, S., Song, Y., Lai, R. (2015)

Scorpion toxin, BmP01, induces pain by targeting TRPV1 channel, *Toxins (Basel)*, 7, 3671–3687.

- 132. Wu, G., Li, Y., Wei, D., He, F., Jiang, S., Hu, G., Wu, H. (2000) Solution structure of BmP01 from the venom of scorpion *Buthus martensii* Karsch, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **276**, 1148–1154.
- 133. Yang, S., Yang, F., Zhang, B., Lee, B.H., Li, B., Luo, L., Zheng, J., Lai, R. (2017) A bimodal activation mechanism underlies scorpion toxin-induced pain, *Science Advances*, **3**, e1700810.
- 134. Brito, R., Sheth, S., Mukherjea, D., Rybak, L., Ramkumar, V. (2014) TRPV1: A Potential Drug Target for Treating Various Diseases, *Cells*, 3, 517–545.
- 135. Dessaint, J., Yu, W., Krause, J.E., Yue, L. (2004) Yohimbine inhibits firing activities of rat dorsal root ganglion neurons by blocking Na+ channels and vanilloid VR1 receptors, *European Journal of Pharmacology*, **485**, 11–20.
- 136. Kitaguchi, T., Swartz, K.J. (2005) An inhibitor of TRPV1 channels isolated from funnel web spider venom, *Biochemistry*, 44, 15544–15549.
- 137. Rita Pereira, E.M., Souza, J.M., Carobin, N.V., Silva, J.F., Santos, D.C., Silva Júnior, C.A., Binda, N.S., Borges, M.H., Pinto Nagem, R.A., Kushmerick, C., Ferreira, J., Castro Junior, C.J., Ribeiro, F.M., Gomez, M.V. (2020) Phoneutria toxin PnTx3-5 inhibits TRPV1 channel with antinociceptive action in an orofacial pain model, *Neuropharmacology*, **162**, 107826.
- 138. Korolkova, Y., Makarieva, T., Tabakmakher, K., Shubina, L., Kudryashova, E., Andreev, Y., Mo-

sharova, I., Lee, H.-S., Lee, Y.-J., Kozlov, S. (2017) Marine Cyclic Guanidine Alkaloids Monanchomycalin B and Urupocidin A Act as Inhibitors of TRPV1, TRPV2 and TRPV3, but not TRPA1 Receptors, *Marine Drugs*, **15**, 87.

- 139. Andreev, Y.A., Kozlov, S.A., Koshelev, S.G., Ivanova, E.A., Monastyrnaya, M.M., Kozlovskaya, E.P., Grishin, E. V. (2008) Analgesic compound from sea anemone *Heteractis crispa* is the first polypeptide inhibitor of vanilloid receptor 1 (TRPV1), *Journal of Biological Chemistry*, 283, 23914–23921.
- 140. Dyachenko, I.A., Palikov, V.A., Palikova, Y.A., Belous, G.I., Murashev, A.N., Andreev, Y.A., Logashina, Y.A., Maleeva, E.E., Grishin, E. V., Kozlov, S.A. (2017) Single mutation in peptide inhibitor of TRPV1 receptor changes its effect from hypothermic to hyperthermic level in animals, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, **43**, 509–516.
- 141. Monastyrnaya, M., Peigneur, S., Zelepuga, E., Sintsova, O., Gladkikh, I., Leychenko, E., Isaeva, M., Tytgat, J., Kozlovskaya, E. (2016) Kunitz-Type Peptide HCRG21 from the Sea Anemone *Heteractis crispa* Is a Full Antagonist of the TRPV1 Receptor, *Marine Drugs*, 14, 229.
- 142. Sintsova, O. V, Palikov, V.A., Palikova, Y.A., Klimovich, A.A., Gladkikh, I.N., Andreev, Y.A., Monastyrnaya, M.M., Kozlovskaya, E.P., Dyachenko, I.A., Kozlov, S.A., Leychenko, E.V. (2020) Peptide Blocker of Ion Channel TRPV1 Exhibits a Long Analgesic Effect in the Heat Stimulation Model, *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 493, 215–217.
- 143. Duitama, M., Vargas-López, V., Casas, Z., Albarracin, S.L., Suta-

chan, J.-J., Torres, Y.P. (2020) TRP Channels Role in Pain Associated With Neurodegenerative Diseases, *Frontiers in Neuroscience*, **14**, 782.

- 144. Lv, H., Yue, J., Chen, Z., Chai, S., Cao, X., Zhan, J., Ji, Z., Zhang, H., Dong, R., Lai, K. (2016) Effect of transient receptor potential vanilloid-1 on cough hypersensitivity induced by particulate matter 2.5, *Life Science*, **151**, 157–166.
- 145. Sadofsky, L.R., Ramachandran, R., Crow, C., Cowen, M., Compton, S.J., Morice, A.H. (2012) Inflammatory stimuli up-regulate transient receptor potential vanilloid-1 expression in human bronchial fibroblasts, *Experimental Lung Research*, **38**, 75–81.
- 146. Samivel, R., Kim, D.W., Son, H.R., Rhee, Y.H., Kim, E.H., Kim, J.H., Bae, J.S., Chung, Y.J., Chung, P.S., Raz, E., Mo, Ji-Hun. (2016) The role of TRPV1 in the CD4+ T cellmediated inflammatory response of allergic rhinitis, *Oncotarget*, 7, 148–160.
- 147. Yao, E., Zhang, G., Huang, J., Yang, X., Peng, L., Huang, X., Luo, X., Ren, J., Huang, R., Yang, L., Zhou, Y., Zhuo, R., Zhao, Y., Jin, X. (2019) Immunomodulatory effect of oleoylethanolamide in dendritic cells via TRPV1/AMPK activation, *Journal of Cellular Physiology*, 234, 18392–18407.
- 148. Li, C., Bo, L., Liu, Q., Liu, W., Chen, X., Xu, D., Jin, F. (2016) Activation of TRPV1-dependent calcium oscillation exacerbates seawater inhalation-induced acute lung injury, *Molecular Medicine Reports*, 13, 1989–1998.
- 149. Cabral, L.D.M., Giusti-Paiva, A. (2016) The Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Antagonist

Capsazepine Improves the Impaired Lung Mechanics during Endotoxemia, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **119**, 421–427.

- 150. Wang, M., Ji, P., Wang, R., Zhao, L., Xia, Z. (2012) TRPV1 agonist capsaicin attenuates lung ischemia-reperfusion injury in rabbits, *Journal of Surgical Research*, 173, 153–160.
- 151. Sumner, H., Woodcock, A., Kolsum, U., Dockry, R., Lazaar, A.L., Singh, D., Vestbo, J., Smith, J.A. (2013) Predictors of objective cough frequency in chronic obstructive pulmonary disease, *American Journal* of Respiratory and Critical Care Medicine, **187**, 943–949.
- 152. Ternesten-Hasséus, E., Johansson, Å., Löwhagen, O., Millqvist, E. (2006) Inhalation method determines outcome of capsaicin inhalation in patients with chronic cough due to sensory hyperreactivity, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 19, 172–178.
- 153. Kossakowski, R., Schlicker, E., Toczek, M., Weresa, J., Malinowska, B. (2019) Cannabidiol affects the bezold-jarisch reflex via TRPV1 and 5-HT3 receptors and has peripheral sympathomimetic effects in spontaneously hypertensive and normotensive rats, *Frontiers in Phar*macology, **10**, 500.
- 154. Cui, M.Z. (2011) Lysophosphatidic acid effects on atherosclerosis and thrombosis, *Clinical Lipidology*, **6**, 413–426.
- 155. Dou, M., Ma, Z., Cheng, X., Zou, G., Xu, Y., Huang, C., Xiong, W., He, S., Zhang, Y. (2019) Intrathecal lentivirus-mediated RNA interference targeting nerve growth factor attenuates myocardial ischaemia–reperfusion injury in rat,

British Journal of Anaesthesia, **123**, 439–449.

- 156. Gram, D.X., Ahrén, B., Nagy, I., Olsen, U.B., Brand, C.L., Sundler, F., Tabanera, R., Svendsen, O., Carr, R.D., Santha, P., Wierup, N., Hansen, A.J. (2007) Capsaicin-sensitive sensory fibers in the islets of Langerhans contribute to defective insulin secretion in Zucker diabetic rat, an animal model for some aspects of human type 2 diabetes, *European Journal of Neuroscience*, 25, 213–223.
- 157. Wick, E.C., Hoge, S.G., Grahn, S.W., Kim, E., Divino, L.A., Grady, E.F., Bunnett, N.W., Kirkwood, K.S. (2006) Transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide, and substance P mediate nociception in acute pancreatitis, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver*, **290**, 959–969.
- 158. Osaka, T., Kobayashi, A., Namba, Y., Ezaki, O., Inoue, S., Kimura, S., Lee, T.H. (1998) Temperatureand capsaicin-sensitive nerve fibers in brown adipose tissue attenuate thermogenesis in the rat, *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, **437**, 36–42.
- 159. Zhang, L.L., Liu, D.Y., Ma, L.Q., Luo, Z.D., Cao, T.B., Zhong, J., Yan, Z.C., Wang, L.J., Zhao, Z.G., Zhu, S.J., Schrader, M., Thilo, F., Zhu, Z.M., Tepel, M. (2007) Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity, *Circulation Research*, **100**, 1063–1070.
- 160. Zhong, B., Ma, S., Wang, D.H. (2019) TRPV1 mediates glucoseinduced insulin secretion through releasing neuropeptides, *In Vivo* (*Brooklyn*), **33**, 1431–1437.

- 161. Razavi, R., Chan, Y., Afifiyan, F.N., Liu, X.J., Wan, X., Yantha, J., Tsui, H., Tang, L., Tsai, S., Santamaria, P., Driver, J.P., Serreze, D., Salter, M.W., Dosch, H-M. (2006) TRPV1 + Sensory Neurons Control β Cell Stress and Islet Inflammation in Autoimmune Diabetes, *Cell*, **127**, 1123–1135.
- 162. Van Buren, J.J., Bhat, S., Rotello, R., Pauza, M.E., Premkumar, L.S. (2005) Sensitization and translocation of TRPVI by insulin and IGF-I, *Molecular Pain*, 1, 17.
- 163. Sathianathan, V., Avelino, A., Charrua, A., Santha, P., Matesz, K., Cruz, F., Nagy, I. (2003) Insulin induces cobalt uptake in a subpopulation of rat cultured primary sensory neurons, *European Journal of Neuroscience*, 18, 2477–2486.
- 164. Hermansen, K., Ahrén, B. (1990) Dual effects of calcitonin generelated peptide on insulin secretion in the perfused dog pancreas, *Regulatory Peptides*, 27, 149–157.
- 165. Zinn, S., Sisignano, M., Kern, K., Pierre, S., Tunaru, S., Jordan, H., Suo, J., Treutlein, E.M., Angioni, C., Ferreiros, N., Leffler, A., DeBruin, N., Offermanns, S., Geisslinger, G., Scholich, K. (2017) The leukotriene B4 receptors BLT1 and BLT2 form an antagonistic sensitizing system in peripheral sensory neurons, *Journal of Biological Chemistry*, **292**, 6123–6134.
- 166. Bhave, G., Hu, H.J., Glauner, K.S., Zhu, W., Wang, H., Brasier, D.J., Oxford, G.S., Gereau IV, R.W. (2003) Protein kinase C phosphorylation sensitizes but does not activate the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1), Proceedings of the National Academy of Sciences, 100, 12480–12485.

- 167. Premkumar, L.S., Ahern, G.P. (2000) Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C, *Nature*, 408, 985–990.
- 168. Ishizuka, J., Greeley, G.H., Cooper, C.W., Thompson, J.C. (1988) Effect of calcitonin gene-related peptide on glucose and gastric inhibitory polypeptide-stimulated insulin release from cultured newborn and adult rat islet cells, *Regulatory Peptides*, **20**, 73–82.
- 169. Gram, D.X., Holst, J.J., Szallasi, A. (2017) TRPV1: A Potential Therapeutic Target in Type 2 Diabetes and Comorbidities? *Trends in Molecular Medicine*, 23, 1002–1013.
- 170. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, *Nature*, **372**, 425–432.
- 171. Tanaka, H., Shimaya, A., Kiso, T., Kuramochi, T., Shimokawa, T., Shibasaki, M. (2011) Enhanced insulin secretion and sensitization in diabetic mice on chronic treatment with a transient receptor potential vanilloid 1 antagonist, *Life Science*, 88, 559–563.
- 172. Nathan, J.D., Patel, A.A., McVey, D.C., Thomas, J.E., Prpic, V., Vigna, S.R., Liddle, R.A. (2001) Capsaicin vanilloid receptor-1 mediates substance P release in experimental pancreatitis, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **281**, G1322-8.
- 173. Xu, G.Y., Winston, J.H., Shenoy, M., Yin, H., Pendyala, S., Pasricha, P.J. (2007) Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Mediates Hyperalgesia and Is Up-Regulated in Rats With Chronic Pancreatitis, *Gastroenterology*, **133**, 1282–1292.
- 174. Marzo, V., Starowicz, K., Cristino, L. (2008) TRPV1 Receptors in the

Central Nervous System: Potential for Previously Unforeseen Therapeutic Applications, *Current Pharmaceutical Design*, **14**, 42–54.

- 175. Kauer, J.A., Gibson, H.E. (2009) Hot flash: TRPV channels in the brain, *Trends in Neurosciences*, **32**, 215–224.
- 176. Chahl, L.A. (2011) TRP channels and psychiatric disorders, *Advancesin Experimental Medicine and Biology*, **704**, 987–1009.
- 177. Marsch, R., Foeller, E., Rammes, G., Bunck, M., Kössl, M., Holsboer, F., Zieglgänsberger, W., Landgraf, R., Lutz, B., Wotjak, C.T. (2007) Reduced anxiety, conditioned fear, and hippocampal long-term potentiation in transient receptor potential vanilloid type 1 receptordeficient mice, *Journal of Neuroscience*, 27, 832–839.
- 178. You, I.J., Jung, Y.H., Kim, M.J., Kwon, S.H., Hong, S.I., Lee, S.Y., Jang, C.G. (2012) Alterations in the emotional and memory behavioral phenotypes of transient receptor potential vanilloid type 1-deficient mice are mediated by changes in expression of 5-HT 1A, GABA A, and NMDA receptors, *Neuropharmacology*, **62**, 1034– 1043.
- 179. Abdelhamid, R.E., Kovács, K.J., Nunez, M.G., Larson, A.A. (2014) Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors, *Pharmacological Research*, **79**, 21–27.
- 180. Kasckow, J.W., Mulchahey, J.J., Geracioti, T.D. (2004) Effects of the vanilloid agonist olvanil and antagonist capsazepine on rat behaviors, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28, 291–295.

- 181. Tishkina, A.O., Mart'yanova, E.K., Logashina, Y.A., Andreev, Y.A., Khaibullina, S.F., Martynova, E. V., Rizvanov, A.A., Gulyaeva, N. V., Grishin, E. V. (2016) Effects of intranasal administration of the peptide antagonist of type I vaniloid receptor (TRPV1) in the rodent central nervous system, *Doklady Biological Sciences*, 470, 234–236.
- 182. Mezey, E. (2000) Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1), and VR1-like immunoreactivity, in the central nervous system of the rat and human, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 3655–3660.
- 183. Kim, S.R., Lee, D.Y., Chung, E.S., Oh, U.T., Kim, S.U., Jin, B.K. (2005) Transient receptor potential vanilloid subtype 1 mediates cell death of mesencephalic dopaminergic neurons In vivo and In vitro, *Journal of Neuroscience*, 25, 662– 671.
- 184. Sun, F.J., Guo, W., Zheng, D.H., Zhang, C.Q., Li, S., Liu, S.Y., Yin, Q., Yang, H., Shu, H.F. (2013) Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy, *Journal of Molecular Neuroscience*, **49**, 182–193.
- 185. Naziroglu, M. (2015) TRPV1 Channel: A Potential Drug Target for Treating Epilepsy, *Current Neuropharmacology*, **13**, 239–247.
- 186. Nattkemper, L.A., Tey, H.L., Valdes-Rodriguez, R., Lee, H., Mollanazar, N.K., Albornoz, C., Sanders, K.M., Yosipovitch, G. (2018) The Genetics of Chronic Itch: Gene Expression in the Skin of Patients with Atopic Dermatitis and Psoriasis with Severe Itch, *Journal* of Investigative Dermatology, **138**, 1311–1317.

- 187. Riol-Blanco, L., Ordovas-Montanes, J., Perro, M., Naval, E., Thiriot, A., Alvarez, D., Paust, S., Wood, J.N., Von Andrian, U.H. (2014) Nociceptive sensory neurons drive interleukin-23-mediated psoriasiform skin inflammation, *Nature*, 510, 157–161.
- 188. Zhou, Y., Follansbee, T., Wu, X., Han, D., Yu, S., Domocos, D.T., Shi, Z., Carstens, M., Carstens, E., Hwang, S.T. (2018) TRPV1 mediates inflammation and hyperplasia in imiquimod (IMQ)-induced psoriasiform dermatitis (PsD) in mice, *Journal of Dermatological Science*, **92**, 264–271.
- Shim, W.S., Oh, U. (2008) Histamine-induced itch and its relationship with pain, *Molecular Pain*, 4, 29.
- 190. Magerl, W., Westerman, R.A., Möhner, B., Handwerker, H.O. (1990) Properties of transdermal histamine iontophoresis: Differential effects of season, gender, and body region, *Journal of Investigative Dermatology*, **94**, 347–352.
- 191. Ohsawa, Y., Hirasawa, N. (2014) The role of histamine H1 and H4 receptors in atopic dermatitis: From basic research to clinical study, *Allergology International*, **63**, 533–542.
- 192. Shim, W.S., Tak, M.H., Lee, M.H., Kim, M., Kim, M., Koo, J.Y., Lee, C.H., Kim, M., Oh, U. (2007) TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase, *Journal of Neuroscience*, **27**, 2331–2337.
- 193. Jian, T., Yang, N., Yang, Y., Zhu, C., Yuan, X., Yu, G., Wang, C., Wang, Z., Shi, H., Tang, M., He, Q., Lan, L., Wu, G., Tang, Z. (2016) TRPV1 and PLC Participate in Histamine

H4 Receptor-Induced Itch, *Neural Plasticity*, **2016**, 1682972.

- 194. Morales-Lázaro, S.L., Llorente, I., Sierra-Ramírez, F., López-Romero, A.E., Ortíz-Rentería, M., Serrano-Flores, B., Simon, S.A., Islas, L.D., Rosenbaum, T. (2016) Inhibition of TRPV1 channels by a naturally occurring omega-9 fatty acid reduces pain and itch, *Nature Communications*, 7, 13092.
- 195. Kremer, A.E., Martens, J.J.W.W., Kulik, W., Rueff, F., Kuiper, E.M.M., Van Buuren, H.R., Van Erpecum, K.J., Kondrackiene, J., Prieto, J., Rust, C., Geenes, V.L., Williamson, C., Moolenaar, W.H., Beuers, U., Oude Elferinket, R.P.J., (2010) Lysophosphatidic acid is a potential mediator of cholestatic pruritus, *Gastroenterology*, **139**, 1008–1018.
- 196. Kittaka, H., Uchida, K., Fukuta, N., Tominaga, M. (2017) Lysophosphatidic acid-induced itch is mediated by signalling of LPA5 receptor, phospholipase D and TRPA1/TRPV1, Journal of Physiology, **595**, 2681–2698.
- 197. Lim, K.M., Park, Y.H. (2012) Development of PAC-14028, a novel transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channel antagonist as a new drug for refractory skin diseases, *Archives of Pharmacal Research*, **35**, 393–396.
- 198. Yun, J.W., Seo, J.A., Jeong, Y.S., Bae, I.H., Jang, W.H., Lee, J., Kim, S.Y., Shin, S.S., Woo, B.Y., Lee, K.W., Lim, K.M., Park, Y.H. (2011) TRPV1 antagonist can suppress the atopic dermatitis-like symptoms by accelerating skin barrier recovery, *Journal of Dermatological Science*, **62**, 8–15.

И.Н.Гладких	и	соавт.
-------------	---	--------

199. Lee, Y.W., Won, C.H., Jung, K., Nam, H.J., Choi, G., Park, Y.H., Park, M., Kim, B. (2019) Efficacy and safety of PAC-14028 cream – a novel, topical, nonsteroidal, selective TRPV1 antagonist in patients with mild-to-moderate atopic dermatitis: a phase IIb randomized trial, *British Journal of Dermatology*, **180**, 1030–1038.