

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო  
უნივერსიტეტი

მედიცინის ფაკულტეტი

დოქტორანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა  
კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინა

ივლიანე ნოზაძე

ტრანზიტორულ რეცეპტორულ პოტენციალთა არხების როლი  
ტკივილის მოდულაციაში

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი  
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: მერაბ ცაგარელი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი  
თამარ კუხელი, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი

თბილისი

2022

## აბსტრაქტი

ტრანზიტორულ რეცეპტორულ პოტენციალთა (Transient Receptor Potential - TRP) არხები აქტიურად შეისწავლება უკანასკნელი 30-40 წლის განმავლობაში და განიხილება, როგორც სამკურნალო პრეპარატების სამიზნეები. TRP არხები წარმოადგენენ კათიონების (ძირითადად კალციუმისა და ნატრიუმის იონებისთვის) გამტარ არხების ფართო ჯგუფს, რომლებიც ასრულებენ მნიშვნელოვან სასიგნალო ფუნქციას გრნობათა ორგანოებში (მხედველობა, სმენა, გემოვნება, ყნოსვა), ასევე სომატო-სენსორული შეგრძნებებში (შეხება, ტემპერატურული მგრძნობელობა, ტკივილი, ქავილი), ამას გარდა ეს არხები ჩართული არიან მთელი რიგი მემკვიდრული და შეძენილი დაავადებების განვითარებაში.

TRP არხები ასევე ამჟღავნებენ მგრძნობელობას ისეთი ნივთიერებების მიმართ, რომლებიც აღძრავენ ტკივილს. ასეთი ნივთიერებებია დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, კოჰას ზეთი (ჯანჯაფილი), მდოგვის ზეთი და სხვა. ამასთან ეს არხები მგრძნობიარენი არიან ტემპერატურის მიმართ (ე.წ. თერმო-TRP არხები). ზოგიერთი TRP არხი აქტივდება *in vitro* პირობებში სხვა რეცეპტორთა გააქტივებით, რომლებიც ჩაირთვებიან ანთების დროს, გამოყოფენ რა ე.წ. ანთების მედიატორებს და იწვევენ ტკივილს. ეს მონაცემები მკაფიოდ მიანიშნებს, რომ TRP არხების აქტიობის სპეციფიკური და შერჩევითი შეკავება შეიძლება გამოყენებულ იქნას ტკივილის მოსახსნელად.

სულ მცირე ექვსი ტემპერატურისადმი მგრძნობიარე TRP არხი არის ექსპრესირებული სენსორულ ნეირონებში და მათი უმრავლესობა აგრეთვე აქტიურდება რიგ რეცეპტორთა აგონისტებით, როგორცაა დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, მდოგვის ზეთი, კაპსაიციინი და სხვა ქიმიური გამღიზიანებლები. ამდენად, თერმო-TRP არხები ახდენენ, როგორც ტემპერატურული, ასევე ქიმიური და მექანიკური ტკივილის დეტექციას.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს თერმო-TRP არხების როლის დადგენა ტკივილის მოდულაციაში. კერძოდ, ვირთაგვებში თერმო-TRP არხების აგონისტებისა და ანტაგონისტების ეფექტებისა და არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლებით (NSAIDs) TRP არხების ქცევითი შესწავლა.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ:

1) თერმო-TRP აგონისტები, დარიჩინის ალდეჰიდი, მდოგვის ზეთი და კაპსაიციინი, იწვევენ თათის თერმული მოცილების რეფლექსის ლატენტური პერიოდის სარწმუნო შემცირებას კონტროლთან ან კონტრალატერალურ თათთან შედარებით. ანალოგიური შედეგები მივიღეთ თათის მოცილების მექანიკური ტესტის გამოყენების შემთხვევაშიც. დაახლოებით 30 წუთის შემდეგ დარიჩინის ალდეჰიდის, მდოგვის ზეთის და კაპსაიციინის ეფექტები უბრუნდება ბაზისურ მაჩვენებლებს.

2) მათგან განსხვავებით, მენტოლი იწვევს თათის თერმული მოცილების რეფლექსის ლატენტური პერიოდისა და მექანიკური ზღურბლის სარწმუნო გაზრდას კონტროლთან შედარებით, ანუ ანტინოციცეპტურ ეფექტებს.

3) NSAIDs ამცირებენ TRP არხების გააქტივებით განპირობებულ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიას. ამ ეფექტს ალბათ განაპირობებს NSAIDs მეშვეობით TRPA1 და TRPV1 არხების ინაქტივაცია ან დესენსიტიზაცია, რაც სრულიად ახალ შუქს ჰფენს ტკივილის მექანიზმების რეგულირების და მოდულაციის საკითხების შესწავლას. ამას გარდა, სხვადასხვა NSAIDs მოქმედება TRP არხებზე შეძლება შეიცავდეს ახალი კლასის ანალგეზიური წამლების შექმნის პოტენციურ შესაძლებლობას ნოციცეპტური და ქრონიკული ტკივილის მოსახსნელად.

ეს შედეგები უახლოეს პერსპექტივაში შეიძლება საფუძვლად დაედოს სრულიად ახალი ტიპის ანალგეტიკების სინთეზს, რომლებიც მიმართული იქნება უშუალოდ TRP არხების ბლოკირებაზე, რათა მინიმუმამდე შემცირდეს ტრადიციული ანალგეტიკებისათვის დამახასიათებელი არასასურველი გვერდითი მოვლენები.

## Abstract

The Transient Receptor Potential (TRP) channel superfamily is comprised of a large group of cation-permeable channels, which display an extraordinary diversity of roles in sensory signaling and are involved in plethora of animal behaviors. These channels are activated through a wide variety of mechanisms and participate in virtually every sensory modality. Although the physiological functions of most TRP channels are not well known, their wide distribution indicates that the biological roles and activation mechanisms for these channels are diverse. For instance, TRP channels are best recognized for their contributions to sensory transduction, response to temperature, nociceptive stimuli, touch, osmolarity, chemical substances such as pheromones or odorants, and other stimuli from both within and outside the cell. It is interesting that several TRP channels exhibit sensitivity to substances previously known to cause pain or pain-like sensations; these include pungent natural compounds present in cinnamon oil, wintergreen oil, clove oil, mustard oil, ginger oil, chili pepper, mint and which are menthol, capsaicin, camphor, thymol, and others. This data clearly indicates that the specific and selective inhibition of TRP channels can be used to relieve pain and thus these channels represent promising targets for the development of further generation of analgesic drugs.

The aim of the study was to determine the role of thermo-TRP channels in pain modulation. In particular, the behavioral study of the effects of thermo-TRP channels agonists and antagonists and TRP channels by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in rats.

The study revealed that: 1) Intraplantar injections thermo-TRP channels agonists cause a significant reduction in the latent period of the thermal paw withdrawal reflex compared to control or contralateral paw. Similar results were obtained when using the mechanical paw withdrawal test. After about 30 minutes the effects of cinnamon aldehyde, mustard oil and capsaicin return to baseline. 2) Dose-dependent effects of their blockade by a wide range of TRPA1 and TRPV1 channel antagonists. These results may in the near future form the basis for the synthesis of completely new types of analgesics aimed directly at blocking TRP channels in order to minimize the adverse side effects of traditional analgesics. 3) NSAIDs

reduce thermal and mechanical hyperalgesia caused by activation of TRP channels. This effect is probably due to the inactivation or desensitization of TRPA1 and TRPV1 channels through NSAIDs, which will shed new light on the study of regulation and modulation of pain mechanisms. In addition, the action of various NSAIDs on TRP channels could include the potential for the development of a new class of analgesic drugs to relieve nociceptive and chronic pain.

# სარჩევი

აბსტრაქტი.....	II
Abstract .....	IV
აბრევიატურების ჩამონათვალი.....	VIII
ცხრილების, გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი.....	VIII
1. შესავალი.....	1
თემის აქტუალობა .....	1
კვლევის მიზანი და ამოცანები.....	3
კვლევის მიზნის განსახორციელებლად განისაზღვრა შემდეგი ამოცანები. . .	4
კვლევის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა.....	4
კვლევის სიახლე.....	5
სადისერტაციო თემაზე გამოქვეყნებულ შრომათა სია .....	6
2. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	7
2.1. TRP არხების ფილოგენეზი .....	7
2.2. TRP არხების სტრუქტურულ-ფუნქციური მახასიათებლები.....	12
2.2.1. TRP არხების სტრუქტურული ბიოლოგია .....	13
2.2.2. TRP არხების ფიზიოლოგიური ფუნქციები.....	17
2.3. TRP არხების მოკლე მიმოხილვა .....	20
2.3.1. TRPA ქვეოჯახი .....	21
2.3.2. TRPC ქვეოჯახი .....	23
2.3.3. TRPM ქვეოჯახი .....	26
2.3.4. TRPML ქვეოჯახი .....	30
2.3.5. TRPP ქვეოჯახი .....	31
2.3.6. TRPV ქვეოჯახი .....	32
2.4. თერმო -TRP არხები .....	34
2.4.1 TRP არხების პერიფერიული თერმული მგრძობელობა.....	35
2.5. TRP არხები, როგორც ანალგეზიური და თერაპიული სამიზნეები .....	39
2.6. არაოპიოიდური ტოლერანტობა .....	41
2.7. TRP არხები და NSAIDs .....	43
3. კვლევის მეთოდები .....	45
3.1. ცხოველები .....	45
3.2. ქიმიური პრეპარატები .....	45

3.3. ქცევითი ტესტირება .....	46
3.4. მონაცემთა ანალიზი .....	48
4. შედეგები და განხილვა .....	49
4.1. TRP არხების აქტივაციის შესწავლა .....	49
4.1.1. დარიჩინის ალდეჰიდით TRPA1 არხის აქტივაცია .....	49
4.1.2. მდოგვის ზეთით TRPA1 არხის აქტივაცია .....	52
4.1.3. მენტოლის მოქმედებით გამოწვეული TRPM8 არხის აქტივაცია .....	56
4.1.4. კაპსაიცინის მოქმედებით გამოწვეული TRPV1 არხის აქტივაცია .....	63
4.2. TRP არხების ანტაგონისტების ეფექტების შესწავლა .....	68
4.2.1. TRPV1 არხის ანტაგონისტის AMG-517 გავლენა კაპსაიცინისთ განპირობებულ ჰიპერალგეზიაზე და ალოდინიაზე .....	68
4.2.2. TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 გავლენა CA და AITC განპირობებულ ჰიპერალგეზიაზე და ალოდინიაზე .....	70
4.3. NSAID გავლენა TRP არხების აგონისტებით გამოწვეულ აქტივაციაზე .....	74
4.3.1. NSAID-ის პრეინექციების გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხის შესაბამისი აგონისტებით გამოწვეულ აქტივაციაზე .....	74
4.3.2. NSAID-ის პოსტინექციების გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხის შესაბამისი აგონისტებით გამოწვეულ აქტივაციაზე .....	78
დასკვნები .....	81
ბიბლიოგრაფია .....	82

## აბრევიატურების ჩამონათვალი

AITC - ალილ იზოთიოციანატი

CNS - ცენტრალური ნერვული სისტემა

CA - დარიჩინის ალდეჰიდი

COX - ციკლო-ოქსიგენაზები

CGRP - კალციტონინის გენტან დაკავშირებული პეპტიდი

KO - ნოკაუტირებული (თაგვები)

MO - მდოგვის ზეთი

NSAIDs –Non-steroidal anti-inflammatory drugs (არასტეროიდული, ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატები)

TRP - Transient Receptor Potential (channels) [გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა (არხები)]

## ცხრილების, გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი

### ცხრილები

- ცხრილი 1. TRP არხების ფუნქციები, აქტივაცია და ურთიერთქმედება სხვა არხებთან
- ცხრილი 2. TRP არხების სუპეროჯახის ქვედანაყოფები, მათი ექსპრესიის მდებარეობები
- ცხრილი 3. თერმო-TRP არხების თვისებები
- ცხრილი 4. ანალგეზიური სამიზნეები, რომლებიც უზრუნველყოფენ კლინიკურად ვალიდურ ეფექტურობას

### სურათები

- სურათი 1. პუბლიკაციების რაოდენობა გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა (TRP) არხების შესახებ
- სურათი 2. TRP არხების წარმომადგენლთა ფილოგენეზური ხე
- სურათი 3. სამი ძირითადი თერმო-TRP ოჯახის წარმომადგენლები
- სურათი 4. გარდამავალი რეცეპტორულ პოტენციალთა (TRP) კათიონების ექვსი ოჯახი შეიცავს განსხვავებულ ნაწილებს ამინო და კარბოქსილის ბოლოებში.
- სურათი 5. TRP არხის სტრუქტურების შედარება
- სურათი 6. TRP არხების ფილოგენეტიკური მსგავსება ელექტრონული მიკროსკოპის მიხედვით.
- სურათი 7. ტკივილსა და ქავილის შეგრძნებაში მონაწილე TRP არხები



- სურათი 8. TRPA1 არხის რეგულირება ფოსფორილირებით.
- სურათი 9. TRPC არხების კრიო-EM სტრუქტურა
- სურათი 10. TRPM არხების სტრუქტურული შემადგენლობა
- სურათი 11. TRPM არხების ოჯახის ზოგადი სტრუქტურა
- სურათი 12. კრიო-EM სტრუქტურები და TRPM8 არხის ფუნქციები სიცივის შეგრძნების გამომწვევ ნივთიერებებთან
- სურათი 13. TRPV1 არხის ატომური მოდელის დიაგრამა
- სურათი 14. თერმო-TRP არხები უჩვენებენ მკაფიო თერმულ ზღურბლებს ძალზედ მტკივნეული სიცივის შეგრძნებიდან (TRPA1) მტკივნეული ცხელის შეგრძნებამდე (TRPV2)
- სურათი 15. თბილი და ცხელი მგრძნობიარე TRP-არხების პოზიტიური სელექტიური საიტები
- სურათი 16. TRP და TWIK-თან დაკავშირებული კალიუმის (TREK) არხების განაწილება მათი ტემპერატურის ზღურბლის მიხედვით
- სურათი 17. დარიჩინის ალდჰიდის ეფექტი თათის მოცილების თერმულ და მექანიკურ ტესტში
- სურათი 18. დარიჩინის ალდჰიდის ეფექტი ტემპერატურული უპირატესობის ტესტში
- სურათი 19. დარიჩინის ალდჰიდის ეფექტი ცივი ფირფიტის ტესტში
- სურათი 20. მდოგვის ზეთის ეფექტი თათის მოცილების თერმულ და მექანიკურ ტესტში
- სურათი 21. მდოგვის ზეთის მოქმედების ბიფაზური ეფექტები ტემპერატურული უპირატესობის ტესტში
- სურათი 22. მდოგვის ზეთი ეფექტი ცივი ფირფიტის ტესტში
- სურათი 23. მენტოლის ეფექტი თერმული თათის მოცილების ტესტში
- სურათი 24. მენტოლის ეფექტი მექანიკური თათის მოცილების ტესტში
- სურათი 25. ვირთაგვების ქცევა 5°C-დან > 50°C-მდე დიაპაზონში.
- სურათი 26. მენტოლის მოქმედების ბიფაზური ეფექტები ტემპერატურული უპირატესობის ტესტში
- სურათი 27. მენტოლის მოქმედების ეფექტი ცივი ფირფიტის ტესტში
- სურათი 28. კაპსაიცინის ეფექტი თათის მოცილების თერმულ და მექანიკურ ტესტში
- სურათი 29. კაპსაიცინის ორფაზიანი ეფექტი თერმულ უპირატესობაზე.
- სურათი 30. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში AMG-517-ის წინასწარი და მომდევნო vehicle და კაპსაიცინის შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა

ჯგუფებში.

სურათი 31. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში AMG-517-ის წინასწარი და მომდევნო vehicle და კაპსაიცინის შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში.

სურათი 32. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში HC-030031-ის წინასწარი და მომდევნო vehicle და CA შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში.

სურათი 33. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში HC-030031-ის წინასწარი და მომდევნო vehicle და AITC შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში.

სურათი 34. NSAIDs-ების წინასწარი მიკროინექცია ვირთაგვას უკანა თათში იწვევს დარიჩინის აღდეჰიდით გამოწვეული ჰიპერალგეზიის ანუ ტკივილის სარწმუნო შესუსტებას კონტროლთან შედარებით.

სურათი 35. NSAIDs-ების წინასწარი მიკროინექცია ვირთაგვას უკანა თათში იწვევს მდოგვის ზეთით (ალილ-იზოთიოციანიტი) გამოწვეული ჰიპერალგეზიის ანუ ტკივილის სარწმუნო შესუსტებას კონტროლთან შედარებით.

სურათი 36. NSAIDs-ების წინასწარი მიკროინექცია ვირთაგვას უკანა თათში იწვევს კაპსაიცინით გამოწვეული ჰიპერალგეზიის ანუ ტკივილის სარწმუნო შესუსტებას კონტროლთან შედარებით.

სურათი 37. NSAIDs-ის პოსტ-მიკროინექციის ეფექტები, ასევე საკონტროლო ექსპერიმენტების შედეგები, რომლებიც ადასტურებენ, რომ CA გარეშე NSAIDs მკვეთრ ანტინოციცეპტურ მოქმედებას იწვევენ.

სურათი 38. NSAIDs-ის პოსტ-მიკროინექციის ეფექტები, ასევე საკონტროლო ექსპერიმენტების შედეგები, რომლებიც ადასტურებენ, რომ AITC გარეშე NSAIDs მკვეთრ ანტინოციცეპტურ მოქმედებას იწვევენ.

# 1. შესავალი

## თემის აქტუალობა

ტკივილი ჯანმრთელობის სერიოზული პრობლემაა, რომელიც გავლენას ახდენს ადამიანის ცხოვრების ხარისხზე. იგი თან სდევს მრავალ მწვავე თუ ქრონიკულ დაავადებას. ცხოველებსა და ადამიანის ორგანიზმში ტკივილი გამოიწვევა სხვადასხვა გამლიზიანებელი ფაქტორით. სხვა სენსორული შეგრძნებების მსგავსად, ტკივილის შეგრძნებას აღიქვამენ სპეციალიზირებული რეცეპტორები, ნოციცეპტორები, რომლებიც ამოიცნობენ, გარდაქმნიან და გადასცემენ სიგნალებს ცენტრალურ ნერვულ სისტემას. ამდენად, ტკივილი ახდენს სხვადასხვა ფუნქციური სისტემის მობილიზაციას მავნე გამლიზიანებლების ზემოქმედების თავიდან ასაცილებლად (Basbaum et al., 2009, Meyer et al., 2006, Nassini et al., 2020, Heinricher et al., 2009).

გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა (transient receptor potential-TRP) არხის, როგორც რეცეპტორის იდენტიფიკაციამ, დასაბამი მისცა ახალ ერას ტკივილის შეგრძნების მოლეკულური მექანიზმის გარკვევაში (Caterina et al, 1997). მომდევნო წელს სამწვერა ნერვის ბირთვში (trigeminal subnucleus caudalis (Vc) ასევე აღმოჩენილ იქნა ნეირონების პოპულაცია, რომელიც პასუხობდა მტკივნეულ გაცხელებაზე, გაციებასა და ენის ქიმიური გამლიზიანებლებით ზემოქმედებაზე (Carstens et al, 1998).

TRP არხები აქტიურად შეისწავლება უკანასკნელი 30-40 წლის განმავლობაში და განიხილება როგორც სამკურნალო პრეპარატების სამიზნეები. ისინი წარმოადგენენ ტემპერატურულ და ტკივილის რეცეპტორებში არსებულ TRP ცილა-არხების ძალიან დიდ ოჯახს. სულ ახლახანს ეს კვლევები დაგვირგვინდა 2021 წლის ნობელის პრემიის მინიჭებით ფიზიოლოგიის დარგში ამერიკელი მეცნიერისთვის დავიდ ჯულიუსისთვის (David Julius) ტემპერატურისა და ტკივილის მიმართ მგრძობიარე არხების შესწავლისთვის (Caterina, 2021; Reeh, Fischer, 2022).

მზარდმა გენეტიკურმა გამოკვლევებმა ცხოველებსა და ადამიანში უჩვენეს, რომ TRP არხების ფიზიოლოგიური როლი საკმაოდ სცილდება ნერვულ სისტემას; მეტიც, სულ უფრო დიდი რაოდენობის გამოკვლევები მიუთითებენ TRP არხების მონაწილეობაზე სხვადასხვა პათოლოგიურ პროცესებში, რომლებიც უკავშირდებიან

კანს, შარდის ბუმბუს, თირკმელებს, სუნთქვისა და საჭმლის მომნელებელ სისტემებს (Aroke et al., 2020; Louis et al., 2013; Tai Y., 2017).

გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა არხები წარმოადგენენ კათიონების (ძირითადად კალციუმისა და ნატრიუმის) გამტარი არხების ფართო ჯგუფს, რომლებიც ასრულებენ მნიშვნელოვან სასიგნალო ფუნქციას გრძნობათა ორგანოებში და ამდენად მნიშვნელოვნად განაპირობებენ ცხოველთა ქცევას. ეს არხები აქტიურდებიან მრავალფეროვანი მექანიზმების საშუალებით და მონაწილეობენ პრაქტიკულად ყველა სენსორულ სისტემაში, როგორებიცაა მხედველობა, სმენა, გემოვნება, ყნოსვა, ასევე სომატო-სენსორული შეგრძნებები (შეხება, ტკივილი, ქავილი, ტემპერატურა). შესაბამისად, ამ არხებს ძლიერი გავლენა აქვთ ცხოველთა ქცევაზე (Fowler, Montell, 2012, Samanta et al., 2018, Tsagareli et al., 2020, Li, 2017, Nilius, Flockerzi, 2014, Liu et al., 2021).

მიუხედავად იმისა, რომ TRP არხების ფიზიოლოგიური ფუნქციები ჯერ კიდევ ბოლომდე არ არის შესწავლილი, ცოცხალ ორგანიზმებში ამ არხების ფართო წარმომადგენლობა მიუთითებს მათ მნიშვნელოვან ბიოლოგიურ როლზე. მაგ., TRP არხები ჩართული არიან სენსორული სიგნალების ტრანსდუქციაში, ისინი აგრეთვე პასუხობენ აქტივაციით ტემპერატურულ, მტკივნეულ (ნოციცეპტურ), მექანიკურ სტიმულებზე და ქიმიურ ნივთიერებებზე (ფერომონები, ოდორანტები) და სხვა (Moran, Szallasi, 2018; Nilius, Szallasi, 2014; Nozadze et al., 2016b; Nozadze et al., 2016a, 2018, 2019; Tsagareli, 2013a, 2015). TRPA1, TRPV1 და TRPM8 უაღრესად მგრძნობიარე არიან სხვადასხვა ტემპერატურის მიმართ, რის გამოც მათ თერმო-TRP არხებს უწოდებენ (Dhaka et al., 2006; Himmel, Cox, 2017; Jeon, Caterina, 2018; Lamas et al., 2019).

საინტერესოა ის გარემოებაც, რომ TRP არხები ამავე დროს ამჟღავნებენ მგრძნობელობას ისეთი ქიმიური ნივთიერებების მიმართ, რომლებიც აღძრავენ ტკივილს და ტკივილის მსგავს შეგრძნებებს. ასეთი ნივთიერებებია დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, კოჭას ზეთი (ჯანჯაფილი), მდოგვის ზეთი, ქაფური, მიხაკის ზეთი, კაპსაიცინი და სხვა (Meotti et al., 2014; Nilius, Szallasi, 2014; Nozadze et al., 2016, 2018, 2019; Tsagareli, 2019). ზოგიერთი TRP არხი აქტივდება *in vitro* პირობებში სხვა რეცეპტორთა გააქტივებით, რომლებიც ჩაირთვებიან ანთების დროს და იწვევენ ტკივილს. (Tsagareli et al., 2010, 2013a, 2016; Venkatachalam et al., 2014; Castillo et al., 2018). გარდა ამისა, ეს არხები ჩართული არიან მთელი რიგი მემკვიდრული და

შემენილი დაავადებების განვითარებაში (Bamps et al., 2021; Benemei, Dussor, 2019; Castillo et al., 2018; Dietrich, 2019; Geppetti et al., 2015; Hantute-Ghesquier et al., 2018; Nilius, Szallasi, 2014; Silverman et al., 2020; Tsagareli et al., 2010, 2013b, 2016; Venkatachalam et al., 2014).

ამრიგად, თერმო-TRP არხების შესწავლა უაღრესად აქტუალური და მნიშვნელოვანია, როგორც ფუნდამენტური ფიზიოლოგიური მეცნიერებისთვის, ისე სამედიცინო პრაქტიკისთვის. ჩვენი და სხვა ავტორთა მიერ წარმოდგენილი კვლევის შედეგების საფუძველზე, ჩვენ ვფიქრობთ, რომ TRP არხების აქტივობის სპეციფიკური და შერჩევითი შეკავება გამოყენებული იქნება ტკივილის მოსახსნელად.

### **კვლევის მიზანი და ამოცანები**

სულ მცირე ექვსი ტემპერატურისადმი მგრძობიარე TRP არხი არის ექსპრესირებული სენსორულ ნეირონებში და მათი უმრავლესობა აგრეთვე წარმოადგენს რეცეპტორებს სენსორულ-აქტიური ნივთიერებისადმი, როგორცაა დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, მდოგვის ზეთი, კაპსაიცინი და სხვა ქიმიური გამღიზიანებლები. ეს არხები მთავარი მოლეკულებია ნოციცეპციაში. თერმული TRP არხები ახდენენ, როგორც ტემპერატურული, ასევე ქიმიური და მექანიკური ტკივილის დეტექციას.

წარმოდგენილი ნაშრომის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა თერმო-TRP არხების როლის დადგენა ტკივილის მოდულაციაში. კერძოდ, ვირთაგვებში თერმო-TRP არხების აგონისტებისა და ანტაგონისტების ეფექტებისა და არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლებით (NSAIDs) ტრანზიტორულ რეცეპტრულ პოტენციალთა იონური არხების (TRP) ქცევითი შესწავლა.

### **კვლევის მიზნის განსაზოვრციელებლად განისაზღვრა შემდეგი ამოცანები:**

1. თერმული და მექანიკური ტკივილის ფენომენების შესწავლა TRPA1, TRPV1 TRPM8 არხების გააქტიურებისას მათზე შესაბამისი აგონისტების (დარიჩინის ალდეჰიდი და მდოგვის ზეთ, კაპსაიცინი, მენტოლი) მოქმედების შედეგად სითბური და მექანიკური ტკივილის დროს.

2. TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 ეფექტების შესწავლა, თუ რამდენად მოახდენს ეს ანტაგონისტი TRP1 არხის დოზა-დამოკიდებულ ბლოკირებას სითბური და მექანიკური ტკივილის დროს.

3. TRPV1 არხის ანტაგონისტის AMG-517-ის დოზა-დამოკიდებული მახლო-კირებელი მოქმედების შესწავლა სითბური და მექანიკური ტკივილის დროს.

4. არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლების (კეტოროლაკი, დიკლოფენაკი და ქსეფოკამი) გავლენის გამოკვლევა დარიჩინის ალდეჰიდისა და მდოგვის ზეთით გამოწვეულ TRPA1 არხის გააქტივებაზე სითბური და მექანიკური ტკივილის დროს.

5. არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლების გავლენის დადგენა კაპსაიცინით გამოწვეულ TRPV1 არხის გააქტივებაზე სითბური და მექანიკური ტკივილის დროს.

### **კვლევის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა:**

ნაშრომში კომპლექსურადაა გამოკვლეული მტკივნეული თერმული და მექანიკური სტიმულაციით გამოწვეულ რეფლექსურ პასუხებზე TRP არხების აგონისტების, დარიჩინის ალდეჰიდისა და მდოგვის ზეთის (TRPA1 არხისთვის), მენტოლის (TRPM8 არხისთვის) და კაპსაიცინის (TRPV1 არხისთვის), და ასევე ამ არხების ანტაგონისტების მოქმედების ეფექტები. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ თერმო-TRP არხების აგონისტების თათქვეშა ინექციები იწვევენ თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდის სარწმუნო შემცირებას კონტროლთან ან კონტრალატერალურ თათთან შედარებით, ანუ ჰიპერალგეზიისა და ალოდინიის განვითარებას. ანალოგიური შედეგები იქნა მიღებული თათის მექანიკური მოცილების ტესტის შემთხვევაშიც. გარდა ამისა ნაჩვენებია TRPA1 და TRPV1 არხების ანტაგონისტების, შესაბამისად HC-030031 და AMG-517, წინასწარი ინტრაპლანტური შეყვანის შედეგად გამოწვეული, აღნიშნული ჰიპერალგეზიისა და ალოდინიის სარწმუნო ბლოკირება.

სადისერტაციო ნაშრომის შედეგები უზრუნველყოფს ახალი ინფორმაციის მიღებას ფუნდამენტური ნერვული მექანიზმების შესახებ, რომლებიც საფუძვლად უდევს ტკივილს და აგრეთვე თერმული და ქიმიური სტიმულებით გამოწვეულ

გაღიზიანებას. მიღებული შედეგები აგრეთვე მოგვცემს ახალ ინფორმაციას თერმული და ქიმიური სტიმულებით განპირობებული ეფექტების ურთიერთქმედების ბუნებისა და მოქმედების ადგილისა (პერიფერიული *vs* ცენტრალური სენსიტიზაცია) და მათზე NSAIDs-ის გავლენების შესახებ.

წარმოდგენილი მონაცემები უჩვენებს ახალ მექანიზმს, რომელიც ერთმანეთთან აკავშირებს NSAIDs-ის ანთების საწინააღმდეგო და ტკივილ გამაყუჩებელ ეფექტებს. ეს მექანიზმი შესაძლოა პირდაპირ იწვევდეს TRPA1 და TRPV1 არხების ინაქტივაციას ან დესენსიტიზაციას. ჩვენ ვარაუდობთ, რომ კლინიკურად კარგად ცნობილ NSAIDs ფუნქციას დაემატა, მათი როგორც TRPA1 და TRPV1 არხის რეგულატორების ფუნქცია. NSAIDs მოქმედების შესწავლა TRPA1 და სხვა თერმომგრძობიარე TRP არხებზე სრულიად ახალ შუქს ჰფენს ტკივილის მექანიზმების რეგულირებისა და მოდულაციის საკითხების შესწავლას. ასეთი მონაცემები ხელს შეუწყობს ტკივილის მექანიზმების გარკვევას ახალი თერაპიული საშუალებების მისაგნებად ტკივილის უფრო ადექვატურად სამკურნალოდ, რასაც ჩვენი საზოგადოებისთვის სამედიცინოსთან ერთად დიდი სოციალური მნიშვნელობაც გააჩნია.

### **კვლევის სიახლე**

თერმული და მექანიკური ტკივილის ფენომენების შესასწავლად პირველად იქნა გამოცდილი TRPA1, TRPV1 და TRPM8 არხების აგონისტებისა და ანტაგონისტების ფართო სპექტრი.

ექსპერიმენტების შემდგომ სერიებში ჩვენ პირველად შევისწავლეთ ვირთაგვას თათში NSAIDs-ის (კეტოროლაკი, ქსეფოკამი და დიკლოფენაკი) პრე- და პოსტ-ინექციების ეფექტები TRPA1 და TRPV1 არხების აგონისტებთან მიმართებაში თერმული და მექანიკური მტკივნეული სტიმულაციით გამოწვეულ რეფლექსურ პასუხებზე. აღმოჩნდა, რომ მხოლოდ NSAIDs წინასწარი შეყვანა (და არა პოსტ-ინექციები) ახდენს ზემოთ აღნიშნული არხების შესაბამისი აგონისტებით გააქტივების შესუსტებას ქცევითი ტესტების მიხედვით. TRP არხების აქტივობის სპეციფიკური და შერჩევითი შეკავება გამოყენებული იქნება ტკივილის მოსახსნელად, რაც მნიშვნელოვან წვლილს შეიტანს ახალი კლასის ტკივილგამაყუჩებელი პრეპარატების შესაქმნელად.

## სადისერტაციო თემაზე გამოქვეყნებულ შრომათა სია

1. **Nozadze I.**, Gurtskaia G., Tsagareli M.G. TRPV1 and TRPA1 channels are involved in pain sensations. *Bulletin Georgian National Acad. Sci.*, 2021, vol. 15, no. 4, pp. 131-139 124 (ISSN: 0321-1665)
2. Tsagareli M.G., **Nozadze I.** An overview on transient receptor potential channels superfamily. *Behavioral Pharmacology*, 2020, vol 31, no 5, pp. 413–434 (doi: 10.1097/FBP.0000000000000524) Impact Factor: 2.293 (2020)
3. **Nozadze I.**, Tsagareli M.G. TRP channels in physiological nociception and pain. In: *Modern Advances in Pharmaceutical Research*. P.K. Sharma (ed). London: Book Publisher Intern., 2020, vol. 3, chapter 1, pp. 10-37 (doi: 10.9734/bpi/mapr/v3)
4. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Agonist-evoked hyperalgesia and allodynia: The role of transient receptor potential channels in pain and itch. In: *Hyperalgesia and Allodynia: A Closer Look. Symptoms, Mechanisms and Treatment*. M.G. Tsagareli (ed.). New York: NOVA Medicine & Health, 2019, chapter 7, pp. 151-174 (ISBN: 978-1-53614-536-6)
5. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. NSAIDs attenuate agonist-evoked activation of the TRPA1 channel: Behavioral evidence. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders*. Proc. Beritashvili Exp. BMC. New York: NOVA Biomedical, 2018, chapter 23, pp. 256-270 (ISBN: 978-1-53614-395-9)
6. Tsagareli M., **Nozadze I.**, Gurtskaia G., Tsiklauri N., Abzianidze E. The transient receptor potential channels' agonist-evoked hyperalgesia and allodynia in pain and itch. *Proc. Georgian National Acad. Sci., Biomed. Series*, 2018, vol. 44, nos. 3-4, pp. 291-305 (ISSN: 0321-1665)
7. Tsagareli M.G., **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G. Non-steroidal anti-inflammatory drugs attenuate agonist-evoked activation of transient receptor potential channels. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, vol. 97, pp. 745-751 (doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.131) Impact Factor: 6.5291 (2022)
8. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. Role of transient receptor potential channels in itch and pain sensations. *Bulletin Georgian National Acad. Sci.*, 2018, New Series, vol. 12, no.1, pp. 118-124 (ISSN: 0321-1665)
9. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation. *Data Brief*, 2016, vol. 6, pp. 668-673 (doi: 10.1016/j.dib.2015.12.055) Impact Factor: 1.133 (2022)
10. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Role of thermo TRPA1 and TRPV1 channels in heat, cold and mechanical nociception of rats. *Behavioral Pharmacology*, 2016, vol. 27, no. 1, pp. 29-36 (doi: 10.1097/FBP.0000000000000176) Impact Factor: 2.293 (2020)
11. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. TRP channel in thermal pain sensation. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders*. Proc. Beritashvili Exp. BMC. New York: Nova Biomedical, 2016, chapter 22, pp. 271-287 (ISBN: 978-1-63484-988-3)
12. **Nozadze I.**, Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Behavioral study of TRPA1 and TRPV1 channels relationship in Rats. *Bulletin Georgian National Acad. Sci.*, 2014, New Series, vol. 8, no. 1, pp 122-127 (ISSN: 0321-1447)
13. Tsagareli M.G., **Nozadze I.R.**, Gurtskaia G.P., Carstens M. I., Tsiklauri N.J., Carstens E.E. Behavioral and electro-physiological study of thermal and mechanical pain modulation by TRP channel agonists. *Нейрофизиология / Neurophysiology*, 2013, vol. 45, no. 4, pp. 369-378; Republished in: Neurophysiology (Springer), 2013, 45(4): 329-339 (ISSN: 0028-2561) Impact Factor: 0.587 (2020)

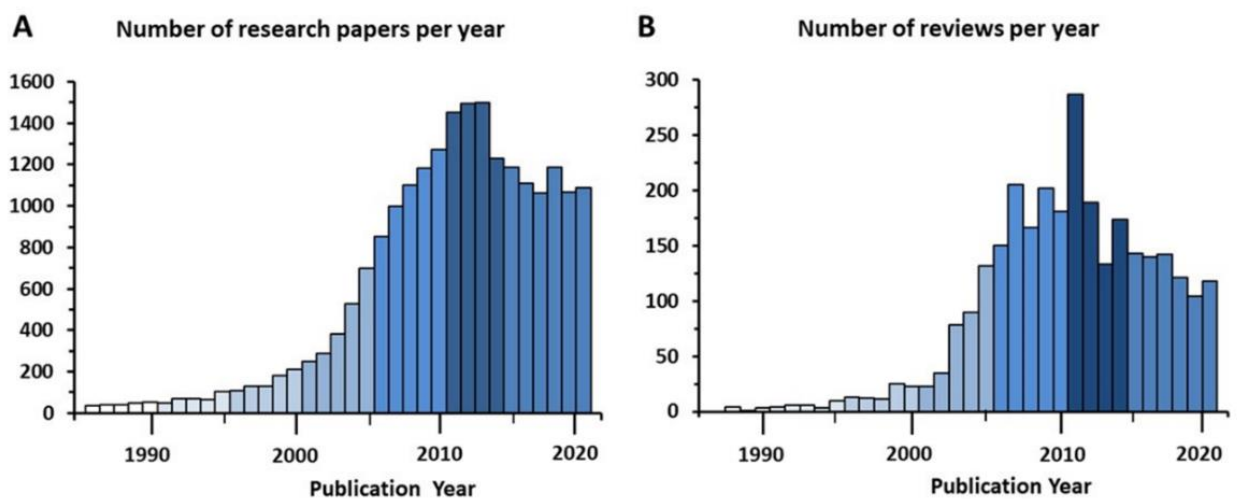


## 2. ლიტერატურის მიმოხილვა

### 2.1. TRP არხების ფილოგენეზი

გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა [transient receptor potential (TRP)] არხები წარმოადგენენ კათიონების (ძირითადად კალციუმისა და ნატრიუმის) გამტარი არხების ფართო ჯგუფს, რომლებიც ასრულებენ მნიშვნელოვან სასიგნალო ფუნქციას გრძნობათა ორგანოებში და ამდენად მნიშვნელოვნად განაპირობებენ ცხოველთა ქცევას. ეს არხები აქტიურდებიან მრავალფეროვანი მექანიზმების საშუალებით და მონაწილეობენ პრაქტიკულად ყველა სენსორულ სისტემაში, როგორებიცაა მხედველობა, სმენა, გემოვნება, ყნოსვა, ასევე სომატო-სენსორული შეგრძნებები (შეხება, ტკივილი, ქავილი, ტემპერატურა). შესაბამისად, ამ არხებს ძლიერი გავლენა აქვთ ცხოველთა ქცევაზე (Aroke et al., 2020; Bamps et al., 2021; Fowler, Montell, 2012; Tsagareli, 2019; Tsagareli, Nozadze, 2020).

უკანასკნელი სამი ათწლეულის განმავლობაში ამ არხების შესწავლა უაღრესად გაფართოვდა, რაზეც მეტყველებს პუბლიკაციების მზარდი რაოდენობა (Zhu et al., 2021). ამ დროისთვის გამოქვეყნებულია 17.000-ზე მეტი პუბლიკაცია და 2.500-ზე მეტი მიმოხილვითი სტატია TRP არხების შესახებ (სურათი 1).



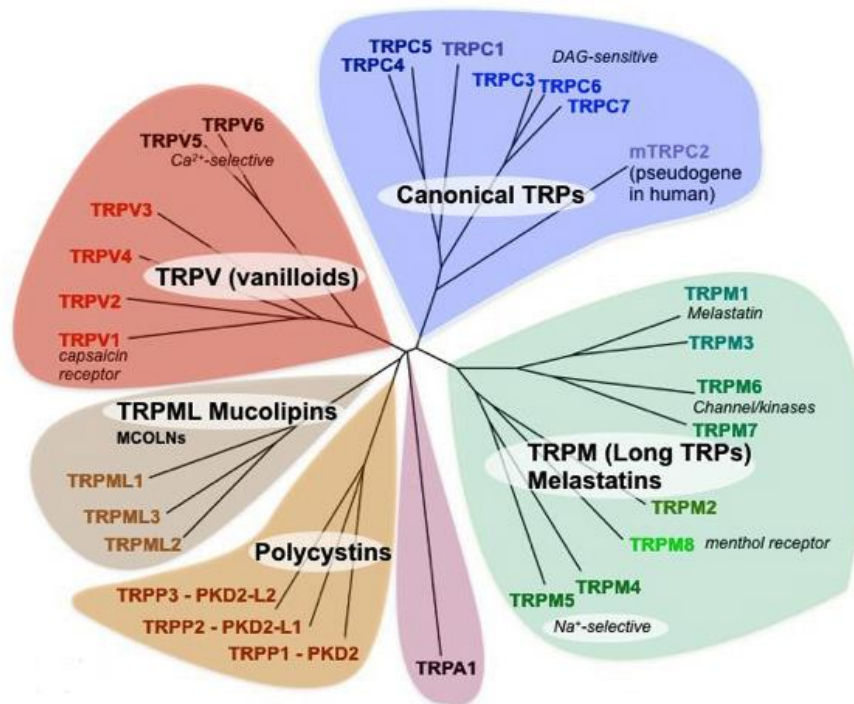
სურათი 1. პუბლიკაციების რაოდენობა (A - კვლევითი სტატიები, B - მიმოხილვითი) გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა (TRP) არხების შესახებ PubMed ბაზის მიხედვით (2021 წლის 8 ოქტომბერი).

ძუძუმწოვრთა TRP არხების ფართო ოჯახი ძირითადად შედგება 6 ქვეოჯახისგან, ესენია: TRP-canonical (TRPC), TRP-vanilloid (TRPV), TRP-melastatin (TRPM), TRP-ankyrin (TRPA), TRP-mucolipin (TRPML), and TRP-polycystic (TRPP). მიუხედავად იმისა, რომ მათი ფიზიოლოგიური ფუნქციები ჯერ კიდევ ბოლომდე არ არის გამოვლენილი, ცოცხალ ორგანიზმებში ამ არხების ფართო წარმომადგენლობა მიუთითებს მათ მნიშვნელოვან ბიოლოგიურ როლზე. მაგ., TRP არხები ჩართული არიან სენსორული სიგნალების ტრანსდუქციაში, ისინი აგრეთვე პასუხობენ აქტივაციით ტემპერატურულ, მტკივნეულ (ნოციცეპტურ), მექანიკურ სტიმულებზე, და ქიმიურ ნივთიერებებზე (ფერომონები, ოდორანტები) და სხვა. ამ ექვსი ქვეოჯახიდან, ოთხი ქვეოჯახის წარმომადგენლები, კერძოდ TRPA1, TRPV1-4, TRPM2-5, და TRPM8 უაღრესად მგრძობიარე არიან სხვადასხვა ტემპერატურის მიმართ, რის გამოც მათ თერმო-TRP არხებს უწოდებენ (Castillo et al., 2018; Kashio, 2021; Tsagareli, Nozadze, 2020).

TRP არხები ამჟღავნებენ მგრძობელობას ისეთი ნივთიერებების მიმართ, რომლებიც აღძრავენ ტკივილს. ასეთი ნივთიერებებია დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, კოჭას ზეთი (ჯანჯაფილი), მდოგვის ზეთი და სხვა. ამასთან ეს არხები ამჟღავნებენ მგრძობელობას ტემპერატურის მიმართ (თერმო-TRP არხები). ზოგიერთი TRP არხი აქტივდება *in vitro* პირობებში სხვა რეცეპტორთა გააქტივებით, რომლებიც ჩაირთვებიან ანთების დროს და იწვევენ ტკივილს. TRP არხები ასევე მონაწილეობენ პროცესებში, რომლებსაც თან ახლავს ანთების მედიატორების გამოყოფა. ეს მონაცემები მკაფიოდ მიანიშნებს, რომ TRP არხების აქტიობის სპეციფიკური და შერჩევითი შეკავება შეიძლება გამოყენებულ იქნას ტკივილის მოსახსნელად (Bamps et al., 2021; Dietrich, 2019; Moran, 2018; Nozadze, Tsagareli, 2020; Silverman et al., 2020, Julius, 2013 ).

ფილოგენეზის თვალსაზრისით TRP არხები წარმოადგენენ უძველეს, ევოლუციურად კარგად შენახულ ცილებს, რომლებიც ფუნქციონირებენ ცოცხალი ორგანიზმების ფართო სპექტრში, ესენია: უხერხემლოები (მაგ., ჭიები, ტკიპები), მწერები (ბუზები, კოლოები და ფუტკარი) და ხერხემლიანები (თაგვები, ადამიანი) (Venkatachalam et al., 2014).

მწერებში გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა (TRP) არხების ოჯახთა წევრების საერთო რაოდენობა 13-14-ია, რაც ძუძუმწოვრების TRP არხების ოჯახთა წევრების დაახლოებით ნახევარს შეადგენს. როგორც ნაჩვენებია ძუძუმწოვრების TRP არხებისთვის, ეს შეიძლება მიგვანიშნებდეს იმაზე, რომ ცალკეული TRP არხები პასუხისმგებელი არიან მრავალფეროვანი სენსორული შეგრძნებების ინტეგრირებაზე. ეს შედეგები ცხადყოფს, რომ ადგილი ჰქონდა ევოლუციურ კონსერვაციას (შენახვას) და ცვლილებებს მწერების TRP არხებში. კერძოდ, TRPA ქვეოჯახში დაჩქარდა ევოლუციური პროცესები, რაც მიუთითებს მექანიზმების განსხვავებულობაზე, რომელსაც მწერები იყენებენ გარემოს ტემპერატურის განსაზღვრისათვის (Matsuura et al., 2009).

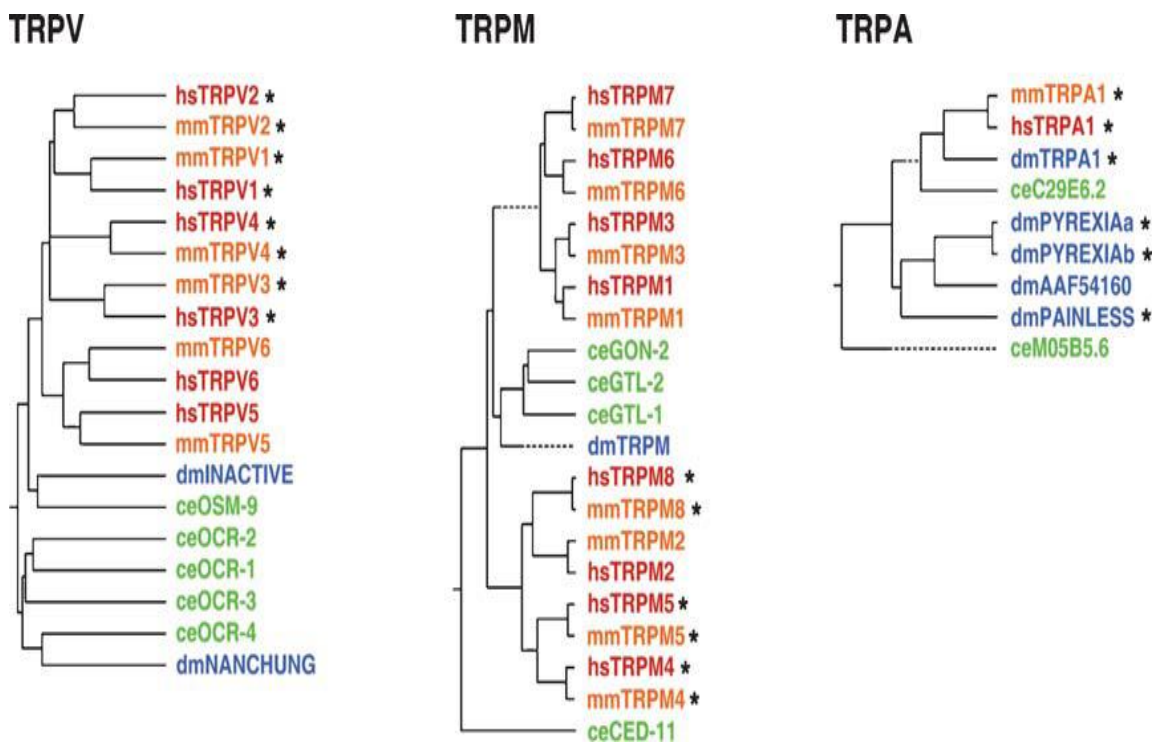


სურათი 2. TRP არხების წარმომადგენლთა ფილოგენეზური ხე ძუძუმწოვრების ყველა 33 არხისა და ასევე თავგებისა და ცხოველთა ზოგიერთი სხვა სახეობის TRP არხების ტრანსმემბრანული დომენების გათვალისწინებით. (Modified from Clapham, 2003).

ექვსი ქვეოჯახიდან მინიმუმ ხუთი მოიცავს ოჯახთა წევრებს, რომლებიც შენარჩუნებულია ისეთ განსხვავებულ ცხოველებში როგორებიცაა მრგვალი ჭია *Caenorhabditis elegans*, ხილის ბუბი *დროზოფილა* და ადამიანები (სურათი 2). სხვადასხვა TRP-ების გააქტიურების რეჟიმები საკმაოდ მრავალფეროვანია (Latorre et al., 2009; Montell, 2001).

დღეს, პირველი TRP არხის მიღებიდან თითქმის 30 წლის შემდეგ, შეგვიძლია ჩამოვთვალოთ ასზე მეტი არხი ამ სუპეროჯახში (უხერხემლო და ხერხემლიანი ცხოველები ერთად აღებული), რომლებიც ორგანიზებულია მათი ჰომოლოგიური თანმიმდევრობით ექვს ძირითად ქვეოჯახად. მეშვიდედ მიჩნეულია მექანორეცეპციაში ჩართული TRPN ('NO-mechano-potential C' (NOMP-C) არხი, რომელიც მაგ., გვხვდება მრგვალ ჭიებში (*Caenorhabditis elegans*). ტუბუმწოვრებში წარმოდგენილია 33 TRP არხის გენი, ხერხემლიანებში თითქმის 60, ნემატოდებში 24, ხილის ბუზში 16 და საფუარში 1 (სურათი 2).

შვიდივე ქვეოჯახი წარმოდგენილია ბუზებსა და ჭიებში, თუმცა ამ ორგანიზმებს ნაკლები TRP არხი აქვთ, ვიდრე ადამიანებს. ამის მიუხედავად, TRPA ქვეოჯახი ყველაზე დიდია მწერებში, მიუხედავად იმისა, რომ თავგებსა და ადამიანებში მხოლოდ ერთი წარმომადგენელი არსებობს. ეს მნიშვნელოვანი განსხვავება შეიძლება ასახავდეს TRPA არხების განსაკუთრებით მნიშვნელოვან როლს გარემოსა და ტემპერატურის ცვლილების შესაცნობად, რამდენადაც პოიკილოთერმული ცხოველები, როგორცაა მწერები, განსაკუთრებით მგრძობიარენი არიან სიცხისა და სიცივის მიმართ (Venkatachalam et al., 2014).



სურათი 3. სამი ძირითადი თერმო-TRP ოჯახის წარმომადგენლები. ვარსკვლავით აღნიშნულია უშუალოდ ტემპერატურისადმი მგრძობიარე არხები (Dhaka et al., 2006).

ნოცოცეპტური ტრანსდუქციის კომბინირებულმა მოლეკულურმა და ფიზიოლოგიურმა ანალიზებმა რამდენიმე სახეობაში მნიშვნელოვანი მექანიზმები გამოავლინა. კერძოდ, TRP არხებმა გამოავლინეს თავიანთი მნიშვნელობა ნოცოცეპტური ტრანსდუქციაში, როგორც ხერხემლიან ცხოველებში, ისე უხერხემლოებში (Walters, 2009). თერმო-TRP ჰომოლოგიის სპექტრი შეიცვალა ხერხემლიანთა ევოლუციის გზით. ვინაიდან თერმო-TRP ჩართულია თერმომგრძობელობაში, ისევე როგორც სხვა სახის სენსორულ გამოვლენაში, სპექტრის ცვალებადობა შეიძლება ასოცირდებოდეს ორგანიზმების გარემოში ადაპტაციასთან (Dhaka et al., 2006; Saito, Shingai, 2006) (სურათი 3).

თერმო რეგულირებადი TRP-ს (თერმო-TRP) კვლევამ გამოავლინა რამდენიმე გენის დუბლირება, რომელიც წინ უსწრებს ცილის თანმიმდევრობის მაღალ დივერგენციებს. თითქმის ყველა TRP, მათ შორის ცხელი და ცივი ტკივილის რეცეპტორების ჩათვლით (TRPV1 და TRPA1 შესაბამისად) გვხვდება ხერხემლიან ცხოველებში და სათავეს იღებს მათი უახლესი საერთო წინაპრისგან (MRCA). ზომიერად ცივი და თბილი რეცეპტორები ძუძუმწოვრებში, TRPM8 და TRPV3 შესაბამისად, წარმოიშვა მოგვიანებით ოთხფეხა ცხოველისა და ძვლოვანი თევზების საერთო წინაპარში და გახდნენ ტემპერატურული მგრძობელობის ძირითადი კომპონენტები ძუძუმწოვრებში. აღსანიშნავია, რომ TRPA1 ქვეწარმავლებში სითბოს რეცეპტორია, ხოლო TRPV3 სიცივის რეცეპტორია ბაყაყებში. ეს იმაზე მეტყველებს, რომ თერმო-რეცეპტორებმა გაიარეს დივერსიფიკაციის ეტაპი ოთხფეხა ცხოველებში რაც, ალბათ, ასოცირდება არაწყლოვან ეკოსისტემებთან ადაპტაციასთან და ტემპერატურის უფრო დიდ ცვლილებებს ექვემდებარება (Blanquart et al., 2019).

აქ არ შეგვიძლია არ აღვნიშნოთ ის ფაქტი, რომ 2021 წლის ნობელის პრემია ფიზიოლოგიაში მიენიჭა ამერიკელ მეცნიერს დევიდ ჯულიუს ტემპერატურისადმი მგრძობიარე TRP რეცეპტორული არხების აღმოჩენისთვის.

ქვევით მოყვანილ ცხრილში 1 მოცემულია TRP არხების სამი უმნიშვნელოვანესი ქვეოჯახის წარმომადგენელთა ძირითადი ფუნქციები, მათი აქტივაცია და მონაწილეობა სარეგულაციო მექანიზმებში და აგრეთვე მათი ურთიერთქმედება სხვა TRP არხებთან.

ცხრილი 1. TRP არხების ფუნქციები, აქტივაცია და ურთიერთქმედება სხვა არხებთან. (Adapted from Aarts, Tymiansky, 2015).

Channel	Function	Activation/Regulation	Subunit Interaction
<i>Canonical</i>			
TRPC1	Capacitive calcium entry? CNS morphology	[Ca <sup>2+</sup> ]; G-protein; PLCβ; PLCγ; calmodulin	TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPPs
TRPC2	Pheromone sensing	G-protein; PLCβ; PLCγ;	TRPPs
TRPC3	Vasoregulation; airway regulation	G-protein; PLCβ; PLCγ; calmodulin; DAG	TRPC1
TRPC4	Vasoregulation; GI motility	G-protein; PLCβ; PLCγS; calmodulin	
TRPC5	Growth cone morphology	G-protein; PLCβ; calmodulin	TRPC1, TRPC5
TRPC6	Vasoregulation; airway	G-protein; PLCβ; calmodulin; DAG	TRPC1, TRPC4
TRPC7	regulation Capacitive calcium entry? Constitutive activity?	G-protein; PLCβ; calmodulin; DAG	TRPC3, TRPC7 TRPC3, TRPC6
<i>Vanilloid</i>			
TRPV1		Capsaicin; T > 43°C	
TRPV2	Capsaicin receptor; heat	T > 53°C; insulin growth factor1	TRPV3
TRPV3	sensation	T > 30°C;	
TRPV4	Noxious heat sensing Heat sensing; pain	Hypo-osmolarity; T > 24°C; arachidonic acid	TRPV1
TRPV5	Osmotic sensing; pressure	Constitutive	
TRPV6	sensing	Constitutive	TRPV5 TRPV6
<i>Melastatin</i>			
TRPM1	Ca <sup>2+</sup> uptake in kidney		
TRPM2	Ca <sup>2+</sup> uptake in intestine	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; ADP ribose; NAD	
TRPM3	Melastatin; tumor suppressor	Constitutive; hypo-osmolarity	
TRPM4	Metabolic stress sensor? Ca <sup>2+</sup> uptake in kidney	Voltage sensitive; increased [Ca <sup>2+</sup> ]	
TRPM5	Membrane depolarization; monovalent selective channel	Voltage sensitive; G-protein; PLCβ; [Ca <sup>2+</sup> ];	
TRPM6	Taste; monovalent selective	Intracellular Mg <sup>2+</sup>	
TRPM7	channel	PIP2; PLCβ; PLCγ; tyrosine phosphate;	TRPM7
TRPM8	Mg <sup>2+</sup> homeostasis; uptake in kidney Mg <sup>2+</sup> homeostasis? Extracellular Ca <sup>2+</sup> sensing? Trace ion regulation? Noxious cold sensing	ROS; decreased [Ca <sup>2+</sup> ]; T < 25°C; menthol	TRPM6, TRPM2?

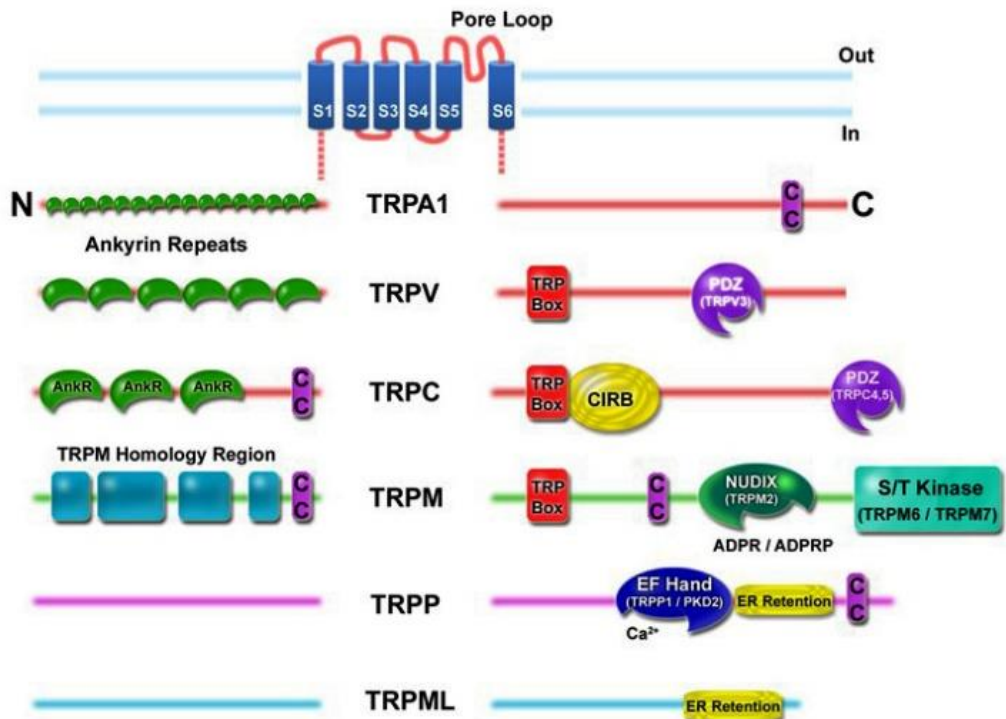
## 2.2. TRP არხების სტრუქტურულ-ფუნქციური მახასიათებლები

TRP არხების სტრუქტურული კვლევები კიდევ უფრო სწრაფი ტემპით მიმდინარეობს, რაც ადასტურებს შეხედულებას TRP არხების ერთობლიობისა და რეგულირების შესახებ. უკანასკნელი ტექნიკური მიღწევები TRP არხის სტრუქტურული ბიოლოგიის ნათელ პერსპექტივას მოასწავებს (López-Romero et al., 2019; Madej, Ziegler, 2018; Vangeel, Voets, 2019).

### 2.2.1. TRP არხების სტრუქტურული ბიოლოგია

TRP არხების კომპლექსური მემბრანული ცილების შესახებ ცოდნა გაიზარდა TRP არხების კრიო-ელექტრონული მიკროსკოპიული (კრიო-EM) გამოკვლევების მეშვეობით, დაწყებული TRP ვანილოიდური 1 არხით (TRPV1). უახლოესი სრული იონური არხების სტრუქტურები შევსებულია სხვადასხვა TRP არხის დომენური სტრუქტურებით (Diver et al., 2019; Goretzki et al., 2018).

TRP არხის აგებულება სხვა იონური არხების მსგავსია. TRP არხის სუპეროჯახის წევრების უმეტესობას სტრუქტურული მსგავსების დაბალი დონე აქვს, მაგრამ ზოგიერთი არხი - როგორცაა TRPC3 და TRPC7, ისევე როგორც TRPV5 და TRPV6 - ჰომოლოგიურია ერთმანეთის მიმართ. TRP არხების უმეტესობას ტრანსმემბრანული სპირალის ტოპოლოგია გააჩნიათ (S1- დან S6), S5- სა და S6-ს შორის არსებული შექცევითი მარყუჯით, რომელიც ქმნის არხების ფორებს, რომელიც თავის მხრივ განმეორებად სტრუქტურულ ნაწილს წარმოადგენს. ეს არხები ტეტრამერიზდება 24-სპირალიან ფუნქციურ ცილოვან კომპლექსში (სურათი 4).

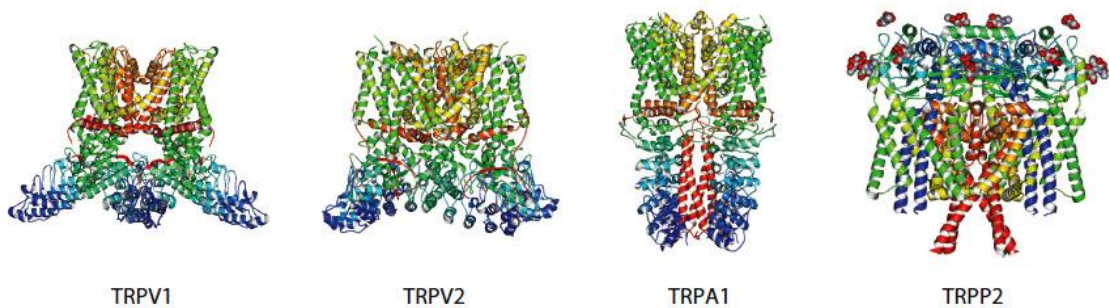


სურათი 4. გარდამავალირეცეპტორულ პოტენციალთა (TRP) კათიონების ექვსი ოჯახი შეიცავს განსხვავებულ ნაწილებს ამინო და კარბოქსილის ბოლოებში. (Reproduced from Moran et al, 2011 with permission).

მრავალი TRP არხი ქმნის ფუნქციურ არხებს ჰომო-ტეტრამერების სახით, თუმცა ჰეტერომულტიმერიზაცია იშვიათი არ არის. ამ უკანასკნელმა ფენომენმა შეიძლება

მნიშვნელოვანი გავლენა იქონიოს წამლის აღმოჩენაში, რადგანაც მას გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს იონური არხების ენდოგენური ქვეჯგუფის შემადგენლობის გასაგებად, რათა TRP სწორად იყოს მიზანმიმართული ფარმაკოლოგიური საშუალების მეშვეობით (Moran et al, 2011).

ისევე როგორც ეს გამოვლინდა სხვა იონური არხებისთვის, TRP არხის ფუნქციაზე ძლიერად მოქმედებს უჯრედშიდა (ინტრაცელულალური) დომენები და მგრძობელობა ფუნქციონალური მოდულატორების მიმართ. ასე მაგალითად, ფოსფოინოზიდებით რეგულირება, ან მეოთხეული ამონიუმის იონებისა და შხამიანი ტოქსინების ინჰიბირება იონური არხების ოჯახებში (Hellmich, Gaudet, 2014). ყველა ფუნქციური TRP არხების საერთო სტრუქტურა მნიშვნელოვნად განსხვავდება. ახლახანს, რამდენიმე TRP არხის სტრუქტურა განმარტებული იქნა კრიო-EM-ის საშუალებით (სურათი 5).

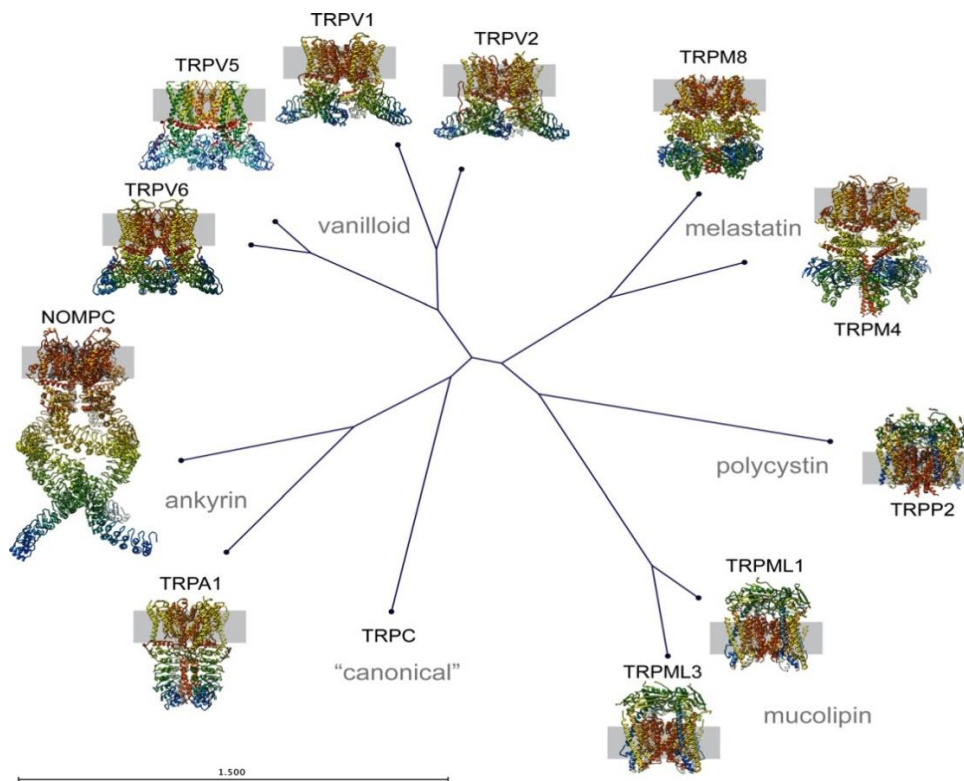


სურათი 5. TRP არხის სტრუქტურების შედარება, რომელიც აჩვენებს აღნიშნული არხის გვერდით ხედს (Reproduced from Moran, 2018).

ამჟამად, კრიო-EM-ის საშუალებით მიღებული სტრუქტურის მოდელები ხელმისაწვდომია 48 TRP არხისთვის 11 ქვეოჯახიდან (სურათი 6), ხოლო სტრუქტურების რაოდენობა კვლავ იზრდება.

კრიო-EM-ის პოტენციური შესაძლებლობათა გათვალისწინებით, კონფორმაციული ჰეტეროგენურობის იდენტიფიცირებისთვის 2D და 3D კლასიფიკაციის მეთოდებით, თითქმის ყველა TRP არხისთვის დაფიქსირდა სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობა; მაგალითად, ღია და დახურული კონფორმაციები და ინჰიბირებული ან გააქტიურებული მდგომარეობები. უფრო მეტიც, ბევრ სტრუქტურაში არხები ასოცირდებიან ლიპიდებთან (Madej, Zeigler, 2018).





სურათი 6. TRP არხების ფილოგენეტიკური მსგავსება ელექტრონული მიკროსკოპიის მიხედვით. შესაბამისი კოორდინატები ნაჩვენებია, როგორც ლენტის მოდელები, ფერები N-(ლურჯი) და C ტერმინალამდე (ყვითელი). ნაცრისფერი მარტუკუთხედი მიაჩნდება მემბრანის სიგანეზე (Reproduced from Madej, Zeigler, 2018).

TRP არხის სხვადასხვა ქვეოჯახების სტრუქტურებს შორის შედარება აჩვენებს მსგავსებას და რაც მთავარია, განსხვავებებს, რომლებიც იძლევა იონების შერჩევისა და აქტივაციის შესახებ მოლეკულურ გაგებას. TRP არხები იზიარებენ ტეტრამერულ წყობას. მემბრანული არხის ნაწილში ორგანიზაციული მსგავსების გამო, კერძოდ, ფორების დომენში, რომელიც შეიცავს შერჩევითობის ფილტრს, არსებული სტრუქტურების შედარებამ იონის სელექციურობისა და შეღწევადობის შესახებ მოგვცა საფუძვლიანი ცოდნა (Madej, Zeigler, 2018).

დევიდ კლეჰამის (David Clapham) ლაბორატორიაში ახლახანს დადგინდა, რომ TRPM6 და TRPM7 არხები თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს ემბრიონის ადრეულ განვითარებაში. უნიკალურია, რომ ეს არხები ასევე შეიცავს აქტიურ კინაზას. TRPM6 და TRPM7 ფუნქციები კორელაციაშია კინაზას დომენის დაყოფასთან, რომელიც შემდეგ გადადის ბირთვში ჰისტონების ფოსფორილირებისათვის და არეგულირებს გენის ექსპრესიას (Duan et al., 2018a, 2018b).

TRPM7 შეიცავს, როგორც იონის არხს, ასევე  $\alpha$ - კინაზას. არხის დომენი მოიცავს არასელექციურ კათიონის არხს, რომელსაც აქვს მნიშვნელოვანი გამტარობა  $Mg^{2+}$  და  $Zn^{2+}$ -სათვის. სტრუქტურები შეიცავენ ამინომჟავურ ნარჩენებს იონებთან დამაკავშირებელი უბნისთვის, ხოლო ჰიდრატირებული  $Mg^{2+}$  იონები გადის ფორის ცენტრში.  $[Mg^{2+}]$ -ის მაღალი შემცველობისას, ფორების სპირალში ვლინდება შესამჩნევი გარე დისულფიდური კავშირი, რომელიც აუცილებელია იონური არხის ფუნქციონირებისთვის. ეს შედეგები უზრუნველყოფენ სტრუქტურულ ჩარჩოს TRPM1/3/6/7 ქვეჯგუფის შესაცნობად და ზრდის ცოდნის ბაზას TRP არხების მრავალფეროვნებისა და ევოლუციის შესასწავლად (Duan et al., 2018a).

გარდა ამისა, გამოვლენილია კრიო-EM TRPC4-ის სტრუქტურა მისივე არალიგანდურ (აპო) მდგომარეობაში. სტრუქტურა ავლენს უნიკალურ არქიტექტურას მარყუჟის ფორაში, რომელიც სტაბილიზებულია დისულფიდური ბმებით. საერთო ტეტრამერული ექვს-ტრანსმემბრანული ნაკეცის მიღმა, TRPC4 სტრუქტურა ემიჯნება სხვა TRP არხებს უნიკალური ციტოზოლური დომენის საშუალებით. ეს უნიკალური ციტოზოლური N-ტერმინალური დომენი ქმნის ფართო (ვრცელ) კონტაქტებს TRP და C-ტერმინალურ დომენებთან (Duan et al., 2018c). TRPC4 როგორც არასელექციური კათიონური არხი ხასიათდება საშუალო სელექციურობით  $Ca^{2+}$ -თან მიმართებაში ერთვალენტურ კათიონებთან შედარებით. TRPC სტრუქტურის შედარება სხვა TRP არხის სტრუქტურებთან ხაზს უსვამს რამოდენიმე საერთო ნიშანსა და განსხვავებას.

გარდა ამისა, მეცნიერთა ამ ჯგუფმა განახორციელა დაკვირვება ადამიანის TRPM4-ის ელექტრონულ კრიომიკროსკოპიულ სტრუქტურაზე დახურულ,  $Na^+$  შეკავშირებულ, აპო მდგომარეობაში pH 7,5-ით. შემოთავაზებულ იქნა ხუთი ნაწილობრივ ჰიდრატირებული ნატრიუმის იონი, გამტარობის ფორების ცენტრის დასაკავებლად და ბისპირალურ დომენში შესასვლელად. მათ განახორციელეს ზედა სტრობიმპულსის იდენტიფიცირება სელექციურ ფილტრში და ქვედა სტრობიმპულსის იდენტიფიცირება ციტოპლაზმური ბისპირალური დომენის შესასვლელში. TRP დომენსა და S4-S5 დამაკავშირებელ საშუალებებს, N-ტერმინალურ დომენსა და N- და C- ტერმინალებს შორის არსებობს ინტრამოლეკულური ურთიერთქმედება (Duan et al, 2018b). TRPM4 არხი არის

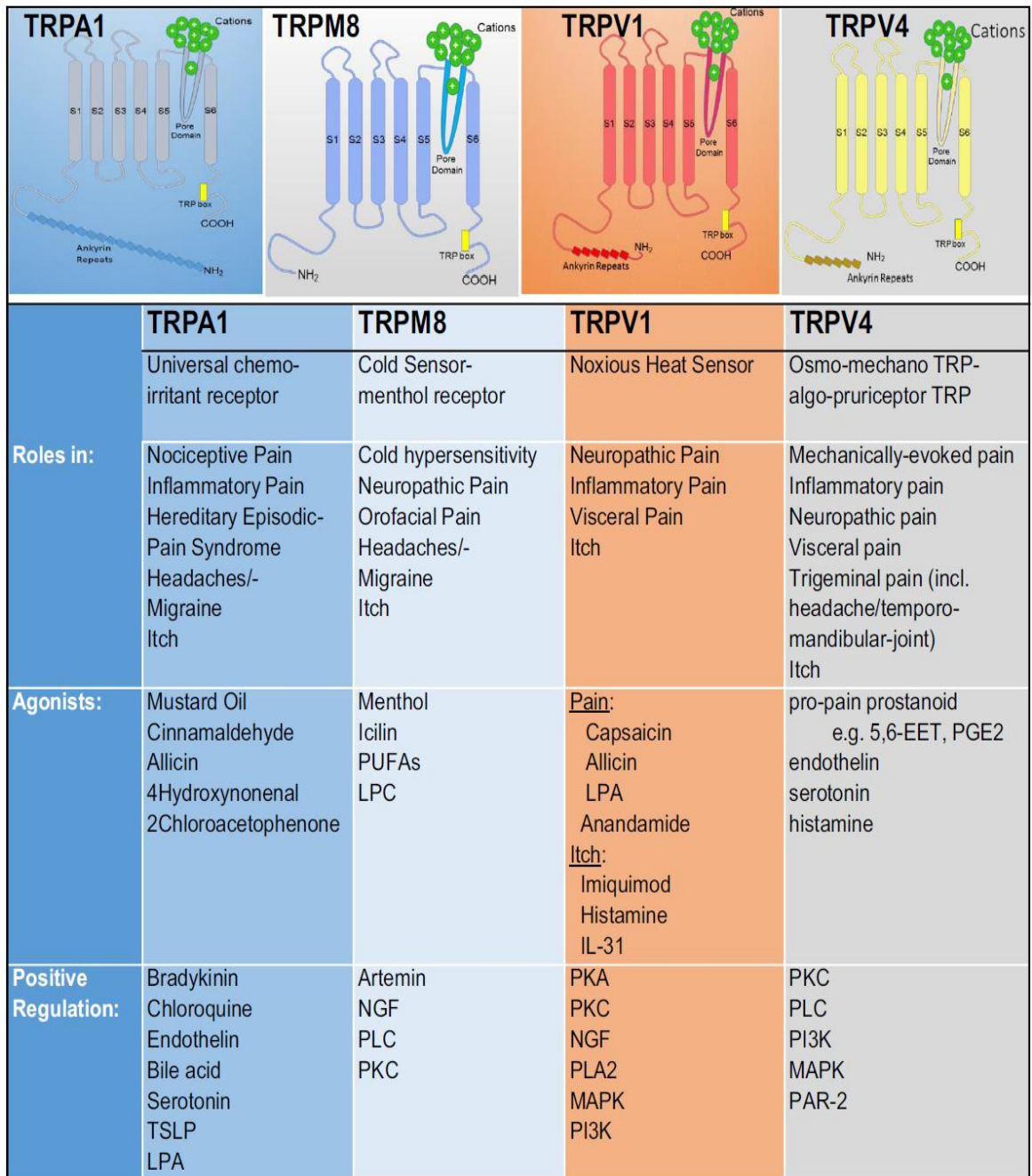
ფართოდ გავრცელებული კალციუმით აქტივირებული შერჩევითი კათიონის არხი. ადამიანის TRPM4-ში მუტაციას მივყავართ პროგრესირებად გულის ბლოკადასთან.

### 2.2.2. TRP არხების ფიზიოლოგიური ფუნქციები

TRP არხებს უჯრედულ ბიოლოგიაში უამრავი ფუნქცია აქვთ, მათ შორის მიგრაცია, პროლიფერაცია და გადარჩენა. ისინი მონაწილეობენ კანცეროგენეზში, იმუნოლოგიურ პროცესებში, ქსოვილის ჰომეოსტაზში და აქტიურად არიან წარმოდგენილი სენსორული ტრანსდუქციის საშუალებებსა და ელექტროლიტების ჰომეოსტაზში. ყველა TRP არხი კათიონ გამტარი არხია და გამოირჩევა მინიმუმ კალციუმის გამტარობით და ასრულებს თავის ფუნქციას ძირითადად კალციუმის სიგნალების გადაცემისათვის საჭირო მოვლენების ხელშეწყობით. კერძოდ, ორი TRP არხი, TRPV5 და TRPV6, გადაიქცნენ მაღალსელექციურ იონურ არხებად, რომლებიც მონაწილეობენ ეპითელური კალციუმის ტრანსპორტირების პროცესში, რაც მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს ადამიანის კალციუმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას (van Goor et al., 2017).

TRP არხები ასრულებენ უამრავ ფიზიოლოგიურ და პათოლოგიურ როლს სხვადასხვა უჯრედგარე და უჯრედშიდა სტიმულის საპასუხოდ, როგორცაა ტემპერატურის ცვლილება, pH ან ოსმოლარობა, დაზიანება, კალციუმის მარაგების შემცირება, აგრეთვე არამდგრადი ქიმიკატები და ციტოკინები. გააქტიურების შემდეგ, TRP არხები, ჰომო- ან ჰეტერო-ტეტრამერული კონფიგურაციებით, ფუნქციონირებენ, როგორც რამდენიმე სასიგნალო გზის ინტეგრატორი რიგი პასუხების მისაღებად. ძირითადი ტემპერატურული TRP არხებისთვის, რომლებიც ასევე ჩართული არიან ტკივილისა და ქავილის შეგრძნებებში ნაჩვენებია სურათზე 7.

ზოგიერთი TRP მონაწილეობს სენსორულ ფუნქციებში, როგორცაა ყნოსვა, გემოვნება, ტკივილი, ქავილი და ფერომენების შეგრძნება. ზოგიერთი მათგანი რეაგირებს ტემპერატურაზე და შესაძლოა თავიდან აიცილოს ქსოვილისთვის საზიანო ტემპერატურა. ზოგიერთი TRP მგრძნობიარეა ბუნებრივი ნაერთების ან მათი ინგრედიენტების მიმართ, რომლებიც გამოიყენება სამედიცინო პრაქტიკაში (Aroke et al., 2020; Bamps et al., 2021; Buijs, McNaughton, 2020; Nozadze et al., 2018b)



სურათი 7. ტკივილსა და ქავილის შეგრძნებაში მონაწილე TRP არხები (TRPA1, TRPM8, TRPV1, TRPV4). მათი ფიზიოლოგიური ფუნქციები, ქიმიური აგონისტები და რეგულატორები. (Reproduced from Moore et al., 2018).

წარმოდგენილ ცხრილში 2 მოცემულია TRP არხების ქვეოჯახების თითოეული წევრი, მათი ექსპრესიის ადგილები რეცეპტორებში, ნეირონებში, პერიფერიულ და ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, ასევე სხვადასხვა სომატურ და ვისცერალურ ორგანოებში. ასევე მითითებულია ცხოველთა ის სახეობები, რომელთა გენების კლონირებაც განხორციელდა ამონიშქავების საერთო რაოდენობების აღნიშვნით.

**ცხრილი 2.** TRP არხების სუპეროჯახის ქვედანაყოფები, მათი ექსპრესიის მდებარეობები, სახეობრივი კლონირება ამინომჟავების რაოდენობის მითითებით ფრჩხილებში. (Adapted from Aarts, Tymiansky, 2015).

Channel	Function	Activation/Regulation	Subunit Interaction
<i>Canonical</i>			
TRPC1	Capacitive calcium entry? CNS morphology	[Ca <sup>2+</sup> ]; G-protein; PLCβ; PLCγ; calmodulin	TRPC3, TRPC4, TRPC5,
TRPC2	Pheromone sensing	G-protein; PLCβ; PLCγ;	TRPPs
TRPC3	Vasoregulation; airway regulation	G-protein; PLCβ; PLCγ; calmodulin; DAG	TRPC1
TRPC4	Vasoregulation; GI motility	G-protein; PLCβ; PLCγS; calmodulin	
TRPC5	Growth cone morphology	G-protein; PLCβ; calmodulin	TRPC1, TRPC5
TRPC6	Vasoregulation; airway	G-protein; PLCβ; calmodulin; DAG	TRPC1, TRPC4
TRPC7	regulation Capacitive calcium entry?	G-protein; PLCβ; calmodulin; DAG	TRPC3, TRPC7 TRPC3, TRPC6
<i>Vanilloid</i>			
TRPV1	Constitutive activity?	Capsaicin; T > 43°C	
TRPV2	Capsaicin receptor; heat	T > 53°C; insulin growth factor1	TRPV3
TRPV3	sensation	T > 30°C;	
TRPV4	Noxious heat sensing Heat sensing; pain	Hypo-osmolarity; T > 24°C; arachidonic acid	TRPV1
TRPV5	Osmotic sensing; pressure	Constitutive	
TRPV6	sensing	Constitutive	TRPV5 TRPV6
<i>Melastatin</i>			
TRPM1	Ca <sup>2+</sup> uptake in kidney Ca <sup>2+</sup> uptake in intestine		
TRPM2		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; ADP ribose; NAD	
TRPM3	Melastatin; tumor suppressor	Constitutive; hypo-osmolarity	
TRPM4	Metabolic stress sensor? Ca <sup>2+</sup> uptake in kidney	Voltage sensitive; increased [Ca <sup>2+</sup> ]	
TRPM5	Membrane depolarization; monovalent selective channel	Voltage sensitive; G-protein; PLCβ; [Ca <sup>2+</sup> ];	
TRPM6	Taste; monovalent selective	Intracellular Mg <sup>2+</sup>	
TRPM7	channel	PIP2; PLCβ; PLCγ; tyrosine	TRPM7
TRPM8	Mg <sup>2+</sup> homeostasis; uptake in kidney Mg <sup>2+</sup> homeostasis? Extracellular Ca <sup>2+</sup> sensing? Trace ion regulation? Noxious cold sensing	phosphate; ROS; decreased [Ca <sup>2+</sup> ]; T < 25°C; menthol	TRPM6, TRPM2?

გამოვლენილია, რომ TRP ოჯახის ეს წევრები მონაწილეობენ უჯრედების ფიზიოლოგიურ ფუნქციებში და ასევე მთელ რიგ მემკვიდრეობით და შეძენილ დაავადებაში. TRP არხის ფუნქციის დარღვევები, ცილის ექსპრესიის დონის შეცვლის, არხის თვისებების ცვლილების ან მათი მრავალი მარეგულირებლის ცვლილების შედეგად, ასოცირდება მრავალ დაავადებასთან, ქრონიკული ტკივილებიდან გულსისხლძარღვთა დაავადებებამდე; ასევე ჩონჩხის ანომალიები, თირკმელების დაავადებები, ტვინის დაავადებები, სიმსივნე და სხვა (Li, 2017).

TRP არხების დიდი რაოდენობა შეიძლება გააქტიურდეს უშუალოდ სპეციფიკური ლიგანდების, როგორცაა ვანილოიდური ნაერთების, ენდოგენური ლიპიდების, ATP და სხვადასხვა მედიკამენტები. არაპირდაპირი გააქტიურება, რომელიც წარმოიქმნება რეცეპტორების შუამავლობით სიგნალის გადაცემაში, ან G-ცილასთან დაწყვილებული რეცეპტორების (GPCR) ან რეცეპტორული თიროზინ კინაზების საშუალებით, აკონტროლებს მრავალი TRP არხის აქტიობას. დაბოლოს, რამდენიმე TRP არხი აქტიურდება ბიოფიზიკური მექანიზმებით, როგორცაა ძაბვა, ტემპერატურა და დაჭიმულობა. საინტერესოა, რომ მექანიკური რეცეპცია, გამოწვეული პლაზმური მემბრანის დეფორმაციით, ახლახანს იქნა შემოთავაზებული, როგორც უნივერსალური გააქტიურების მექანიზმი ყველა TRP არხისთვის (van Goor et al., 2017).

### 2.3. TRP არხების მოკლე მიმოხილვა

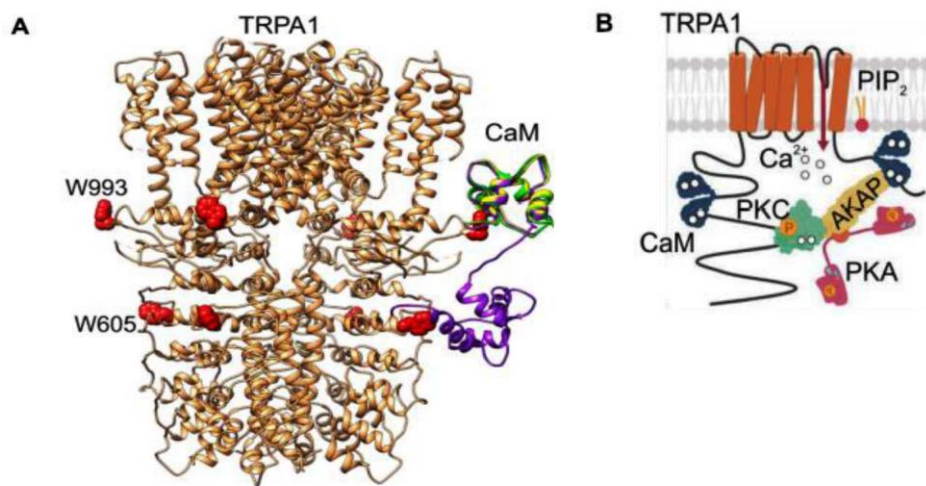
ბოლო ათწლეულების განმავლობაში განხორციელებულმა ფართო კვლევებმა TRP არხებზე, განსაკუთრებით კი TRP გენის ნოკაუტირებულ ცხოველებში, რომლებიც მოპოვებული იქნა ემბრიონის ღეროვან უჯრედებში ინდივიდუალური *Trp* გენების დელეციის შედეგად ჰომოლოგიური რეკომბინაციის საშუალებით, შესაძლებელი გახდა ცოცხალ ორგანიზმებში TRP არხის ფუნქციების იდენტიფიცირება და მათი კავშირი ფიზიოლოგიურ და პათოფიზიოლოგიურ პროცესებთან. TRP არხი სავარაუდოდ გამოხატულია ადამიანის სხეულის ყველა უჯრედში. ამიტომ მოულოდნელი არ იყო, რომ TRP არხები ჩართულია რამდენიმე ჯერ კიდევ ნაკლებად შესწავლილ დაავადებაში. ამიტომ წარმოიშვა დიდი პერსპექტივა ახალი წამლის შემუშავებასთან დაკავშირებით, რომლებიც ამ არხებზე იქნებიან ორიენტირებულნი (Nilius, Flockerzi, 2014). არსებული გამოწვევების მიუხედავად TRP არხებისადმი თერაპიული ინტერესი სულ უფრო იზრდება, ამიტომ, გასაკვირი არ არის, რომ ამ იმედის მომცემი არხების მიმართ ფიქსირდება მნიშვნელოვანი ფარმაცევტული ინტერესი (Moran, 2018; Koivisto et al., 2022).

### 2.3.1. TRPA ქვეოჯახი

TRPA1 არის გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა არხების ანკირინის ქვეოჯახის ერთადერთი წევრი, რომელიც ჯერჯერობით გამოვლენილია მუშუმწოვრებში და წარმოადგენს საკუთარ ქვეჯგუფს. TRPA1 ცილა, თავდაპირველად ANKTM1 (ანკირინის მსგავსი ტრანსმემბრანული დომენების ცილა 1) პირველად იდენტიფიცირდა ადამიანის ნაყოფის ფილტვის ფიბრობლასტებში, როგორც ტრანსფორმაციასთან ასოცირებული გენური პროდუქტი. მოგვიანებით ჩატარებულმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ TRPA1 გამოხატული იყო ზურგის ტვინის დორსალური ფესვის განგლიის (DRG), კვანძოვანი განგლიის (NG) და სამწვერა ნერვის განგლიის (TG) სენსორულ ნეირონებში და ამრიგად, გადამწყვეტი მნიშვნელობა ჰქონდა სენსორული ფუნქციების გააზრებისათვის, რაც ხაზს უსვამს იმას, რომ TRPA1 წარმოადგენს სავარაუდო კომპონენტს მტკივნეული და ანთებითი სტიმულებისთვის (Andrade et al., 2012; Zhao et al., 2020).

TRPA1 არის არასელექციური კათიონის არხი, ექვსი სავარაუდო ტრანსმემბრანული სეგმენტით (S1 – S6), უჯრედშიდა N- და C- ტერმინალებით და ფორების მარყუჯით S5- სა და S6-ს შორის. N- ტერმინალი (დაბოლოება) მოიცავს 14-დან 18-მდე ანკირინს, რაც მნიშვნელოვანია ცილა-ცილოვანი ურთიერთქმედებისა და არხის პლაზმურ მემბრანაში კალციუმის შეღწევისთვის. უჩვეულოდ დიდი N-დაბოლოების ანკირინის განმეორებითი დომენის გამო, ასევე შესაძლებელია, რომ TRPA1 მონაწილეობდეს მექანო-შეგრძნებებში, რომელშიც N- დაბოლოებას შეუძლია შეასრულოს კავშირი მექანიკურ სტიმულებსა და არხების კარიბჭეს შორის. N-დაბოლოების არეალი შეიცავს ცისტეინების დიდ რაოდენობას, რომელთაგან ზოგიერთს შეუძლია შექმნას ცილების მონომერებში დისულფიდის ხიდების რთული ქსელი. ნავარაუდევია, რომ N- და C- დაბოლოებები მოიცავენ  $Ca^{2+}$ -თან დამაკავშირებელ ადგილებს, რომლებსაც შეუძლიათ TRPA1-ის სენსიბილიზაცია და დესენსიბილიზაცია (Zygmunt, Högestätt, 2014).

დღეისათვის ცნობილია, რომ TRPA1 არხს გააჩნია მაღალი მგრძობელობა რიგი ქიმიური გამღიზიანებლების მიმართ (ალიცინი, კარვაკროლი, დარიჩინის ალდეჰიდი, ჯინჯეროლი, მდოგვის ზეთი, თიმოლი, ვასაბი) და ფუნქციონირებს, როგორც მგრძობიარე, დაბალი ზღურბლის მქონე ელექტროფილური რეცეპტორი (Paulsen et al., 2015; Zhao et al., 2020).



სურათი 8. TRPA1 არხის რეგულირება ფოსფორილირებით. (A)  $Ca^{2+}/CaM$ -ის N- და C-ტერმინალები (სამი კონფორმერი ნაჩვენებია იისფერით, მწვანით და ყვითლით) შეუძლიათ TRPA1-თან შეკავშირება. (B) შეღწეული  $Ca^{2+}$  უკავშირდება კალმოდულინს (ქმნის კომპლექსს  $Ca^{2+}/CaM$ ), ფოსფატიდილ-ინოზიტოზოლ-4,5-ბისფოსფატი (PIP<sub>2</sub>) კონკურენციას უწევს  $Ca^{2+}/CaM$  TRPA1 არხთან შესაკავშირებლად. (Adapted from Zimova et al., 2020).

TRPA1 არის შერეული (სხვადასხვაგვარი) ქიმიური მტკივნეული ზემოქმედების რეცეპტორი, რომელიც ასევე მონაწილეობს სიცივისა და მტკივნეულ მექანიკურ შეგრძნებებში. ის მონაწილეობს Aδ- და C-სენსორული ნეირონების სუბპოპულაციაში, ისევე როგორც სხვა სენსორულ უჯრედებში, მათ შორის ეპითელური უჯრედებში. თავდაპირველად სენსორულ ნეირონებში,  $Ca^{2+}$  და  $Na^{+}$  იონები აღწევენ TRPA1-ის საშუალებით და იწვევენ მემბრანის დეპოლარიზაციას, მოქმედების პოტენციალს და ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფას, როგორც პერიფერიულ, ასევე ცენტრალურ ნერვულ პროექციებში. გარდა იმისა, რომ აქტიურდება ცისტეინისა და ლიზინის რეაქტიული ელექტროფილების და ოქსიდანტების საშუალებით, TRPA1 ირიბად აქტიურდება ანთების გამომწვევი საშუალებებით ფოსფოლიპაზა C სასიგნალო გზით, რომელშიც ციტოზოლური  $Ca^{2+}$  მნიშვნელოვანი რეგულატორია არხის გაღება-დახურვის პროცესში (Zygmunt, Högestätt, 2014).

სისხლის იმუნურ უჯრედებში (ნეიტროფილები) TRPA1 არხი დაკავშირებულია ართრიტთან, ანაფილაქსიასთან და ატოპიურ დერმატიტთან (მასტოციტები), ათეროსკლეროზთან, თირკმელების დაზიანებასთან, გულის ჰიპერტროფიასთან და ნაწლავის ანთებით დაავადებასთან (მაკროფაგები), და ასევე კოლიტთან (T-უჯრედები). TRPA1-ის წვლილი იმუნიტეტში ორმხრივია; როგორც უჯრედული



სტრესის, ქსოვილების დაზიანების და ეგზოგენური ტკივილის სტიმულის დეტექტორი იგი იწვევს დამცავ პასუხებს, მაგრამ რეგულაციის ნორმიდან გადახრის პირობებში ხელს უწყობს ანთებითი მდგომარეობების გამწვავებას (Naert et al., 2021).

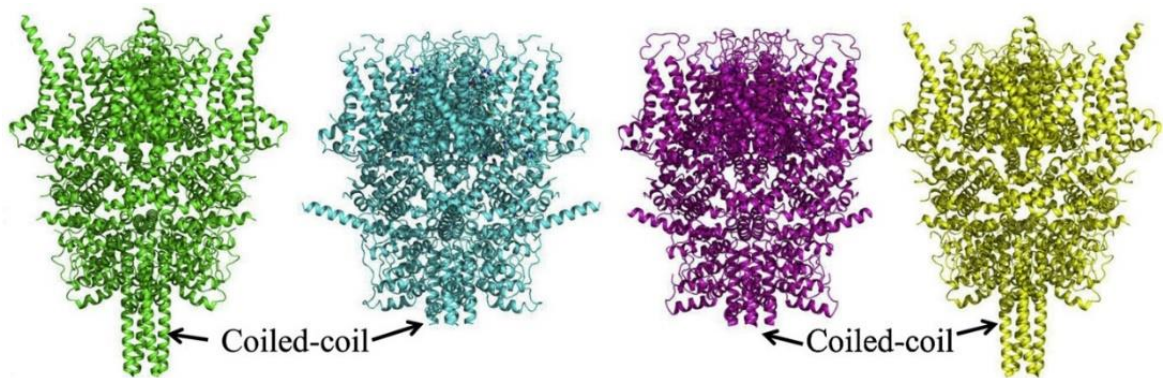
### 2.3.2. TRPC ქვეოჯახი

TRP-კანონიკური (TRPC) ქვეოჯახი, რომელიც შედგება შვიდი წევრისგან (TRPC1-TRPC7), არის  $Ca^{2+}$ -გამტარი კათიონების არხები, რომლებიც აქტიურდება რეცეპტორების საშუალებით ფოსფატიდილ-ინოზიტოლის ბიფოსფატის (PIP2) ჰიდროლიზის საპასუხოდ სარეზერვო დამოკიდებული და დამოუკიდებელი მექანიზმების გზით (Ong et al., 2014). თითქმის 25 წლის წინ აღმოჩენილი TRPC ქვეჯგუფი (Wes et al., 1995; Zhu et al., 1995), უნიკალურია იმით, რომ მისი წევრები არა მხოლოდ აგონისტის გააქტიურებული არასელექციური კათიონის დინებებზე არიან პასუხისმგებელნი, არამედ იმაზეც, რომ მონაწილეობენ  $Ca^{2+}$  სიგნალის გადაცემის ე.წ. ნელ მდგრად რეჟიმში, რომელიც მოითხოვს უჯრედშიდა  $Ca^{2+}$ -ის ზრდას. ეს ქვეოჯახი განსხვავდება სხვა TRP ქვეოჯახებისგან იმით, რომ იგი ასრულებს ორ განსხვავებული ტიპის ფუნქციას: მემბრანის დეპოლარიზაციას, ანუ TRP სენსორული ტრანსდუქციას და უჯრედშიდა  $Ca^{2+}$  მდგრად ზრდას (Birbaumer, 2009; Curcic et al., 2019; Li et al., 2019).

ამ ქვეოჯახის შვიდი წევრი ჩვეულებრივ იყოფა ოთხ ჯგუფად, თანმიმდევრული ჰომოლოგიის საფუძველზე (I) TRPC1; II) TRPC2; (III) TRPC3, TRPC6, TRPC7; და (IV) TRPC4 და TRPC5. TRPC არხები ქმნიან ჰეტერო-ტეტრამერებსა და ჰომო-ტეტრამერებს TRP არხის სუპეროჯახში, სადაც სხვადასხვა წევრებს გარკვეული პრეფერენციები გააჩნიათ. მაგალითად, TRPC1 აყალიბებს ფიზიოლოგიურად შესაბამის ფუნქციურ არხებს რამდენიმე TRPC არხების ფარგლებში, მათ შორის TRPC4, აგრეთვე, TRPV1 და TRPP2 (Samanta et al., 2018).

კრიო-EM-ის მიღწევები საშუალებას იძლევა განისაზღვროს TRP იონური არხების, მათ შორის TRPC ქვეოჯახის სტრუქტურა. ეს სტრუქტურები ნათელს ჰფენს რეცეპტორებით აქტივირებული TRPC არხის არქიტექტურას და უზრუნველყოფს სტრუქტურულ საფუძველს იმის გასარკვევად თუ როგორ არის აგებული იონების გამტარობა და კარიბჭის მექანიზმი. მიუხედავად იმისა, რომ TRPC-ს ფართო ფარმაცევტული გამოყენება აქვს სხვადასხვა დაავადებების სამკურნალოდ, TRPC-ებზე სპეციფიკურად მიზანშეწონილი პრეპარატების მიღება შეიზღუდა იმის გამო,

რომ მისი მოლეკულური გააქტიურების მექანიზმები, სტრუქტურული თვისებები და ფიზიოლოგიურ პირობებს შორის კავშირი არ არის სათანადოდ შესწავლილი. ეს სტრუქტურები წარმოადგენს ამ მნიშვნელოვანი მოლეკულების სამომავლო გამოკვლევის ამოსავალ წერტილს (Li et al., 2019).



სურათი 9. TRPC არხების კრიო-EM სტრუქტურა, TRPC3 (მწვანე), TRPC4 (ცისფერი), TRPC5 (პურპური), TRPC6 (ყვითელი). (Adapted from Li et al., 2019).

მონაცემების მზარდი რაოდენობა მიუთითებს TRPC არხების მნიშვნელოვან წვლილზე ფუნდამენტური ნერვული ფუნქციების რეგულირებაში. ბოლო დროს ნაჩვენებია, რომ TRPC არხები ასოცირდებიან ნეირონების განვითარებასთან, პროლიფერაციასთან და დიფერენცირებასთან. გარდა ამისა, TRPC არხებს ასევე აქვთ პოტენციური როლი ნეიროსეკრეციის, გრძელვადიანი პოტენციაციისა და სინაფსური პლასტიურობის რეგულირებაში. გასული წლების განმავლობაში TRPC არხების ნეირონებთან დაკავშირებული მრავალი მნიშვნელოვანი აღმოჩენა მუდმივად ხაზს უსვამდა ამ ჯგუფის იონური არხების მნიშვნელოვან წვლილს ნეირონების ფუნქციების მოწესრიგებაში (Bollimuntha et al., 2009). კალციუმის ნაკადი TRPC არხების შუამავლობით წარმოქმნის მკაფიო უჯრედშიდა  $Ca^{2+}$ -ის დენებს, რომლებიც არეგულირებენ სიგნალის გადაცემას და შესაბამის უჯრედშიდა ფუნქციებს. ამისთვის საჭიროა TRPC არხების ლოკალიზაცია პლაზმური მემბრანის სპეციფიკურ მიკროდომენებში და არხების ფუნქციების ზუსტი რეგულირება, რომელსაც კოორდინაციას უწევს სხვადასხვა კარკასული, გადამტანი (სატრანსპორტო) და მარეგულირებელი ცილები (Ong et al., 2014).

დაბოლოს, TRPC არხებს გააჩნიათ ცენტრალური როლი სხვადასხვა ფიზიო-პათოლოგიურ პროცესებში, კერძოდ კი თირკმელებში, გულსისხლძარღვთა

სისტემასა და ფილტვებში, სადაც TRPC არხების ფუნქციები ბოლო წლების განმავლობაში ფართოდ იქნა შესწავლილი. ამ ცილებში მუტაციები ხშირად ასოცირდება ადამიანებში არსებულ დაავადებებთან. ცხოველების მოდელებში TRPC არხების *in vivo* კვლევის შედეგად, დაავადების პათოგენეზში TRPC არხების როლის შესახებ ჩვენი ცოდნა მნიშვნელოვნად ფართოვდება (Tai et al, 2017).

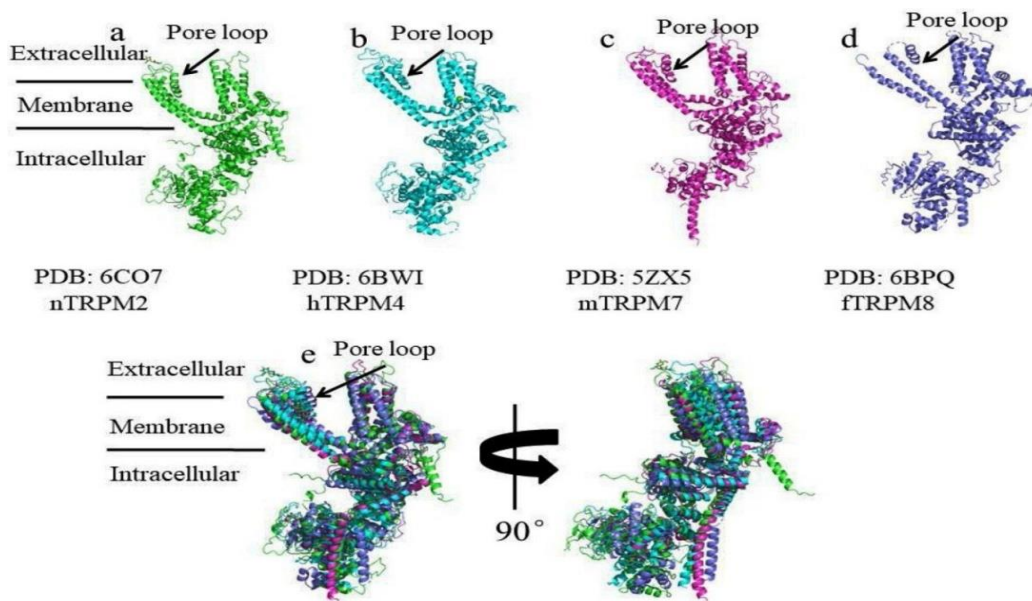
როგორც ავლინებთ, TRPC1 იონური არხი ძუძუმწოვართა ერთ-ერთი პირველი TRP არხია, რომლის კლონირებაც განხორციელდა (Zhu et al., 1995). ადამიანებში ის კოდირდება *Trpc1* გენით, რომელიც მდებარეობს მე-3 ქრომოსომაში. სავარაუდოდ, ცილა შედგება ექვსი ტრანსმემბრანული სეგმენტისაგან, ციტოპლაზმაში მდებარე N- და C-დაბოლოებებით. უჯრედგარე მარყუჟი, რომელიც 5 და 6 ტრანსმემბრანულ სეგმენტებს აკავშირებს, მონაწილეობს იონური ფორების ფორმირებაში. უჯრედის შიგნით TRPC1 იმყოფება ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში, პლაზმურ მემბრანასა და პირველად წამწამში. ეს ანტენის მსგავსი სენსორული ორგანეა ფუნქციონირებს, როგორც სასიგნალო პლატფორმა. ადამიანისა და მღრღნელების ქსოვილებში ის თითქმის ყველგან არის გამოხატული. TRPC1 ურთიერთქმედებს ცილების მრავალფეროვან ჯგუფთან, მათ შორის იონური არხის ქვეჯგუფთან, რეცეპტორებთან და ციტოზოლურ ცილებთან, რათა მოახდინოს გავლენა  $Ca^{2+}$ -ის განვლადობაზე. იგი პირველ რიგში, ფუნქციონირებს როგორც კათიონის არასელექციური არხი, რომელიც აკონტროლებს  $Ca^{2+}$ -ის შეღწევადობას უჯრედის ზედაპირის რეცეპტორების გააქტიურების საპასუხოდ. ამ გზების საშუალებით, ის გავლენას ახდენს უჯრედის ძირითად ფუნქციებზე, როგორცაა გამრავლება, დიფერენციაცია, სეკრეცია და მიგრაცია, აგრეთვე უჯრედის ტიპის სპეციფიკურ ფუნქციებზე, როგორცაა ნეირონების ზრდის კონუსების ქემოტროფული მოქცევა და მიობლასტური შერწყმა. TRPC1-ის ბიოლოგიური როლი შესწავლილი იქნა გენეტიკურად მოდიფიცირებულ თაგვებში, სადაც *Trpc1* გენი ექსპერიმენტულად მოცილებულია. მიუხედავად იმისა, რომ ეს თაგვები ცხოვრობენ ზრდასრულ ასაკამდე, ისინი ავლენენ რამდენიმე ორგანოსა და ქსოვილში არსებულ დეფექტებს, როგორცაა გულ-სისხლძარღვთა, ჩონჩხის, იმუნური, კუნთებისა და ცენტრალური ნერვული სისტემები. გენეტიკურმა და ფუნქციურმა გამოკვლევებმა გამოავლინა TRPC-ს ჩართულობა პარკინსონის დაავადების, ჰანთინგტონის დაავადების, დიუშენის კუნთოვანი დისტროფიის, სიმსივნის, კრუნჩხვების და დარიე-უაიტის კანის დაავადების დროს (Dietrich, 2014; Nesin, Tsiokas, 2014; Li, 2019).

TRPC1 და TRPC4/5 არხების აგონისტები და ანტაგონისტები ასევე წარმოადგენენ მნიშვნელოვან მინიშნებებს ამ იონური არხების ფუნქციური მნიშვნელობის გასაგებად მშობლიურ უჯრედებსა და ცხოველების *in vivo* მოდელებში. მნიშვნელოვანია, რომ ამ ცილოვანი არხების კვლევით შესაძლებელია ახალი თერაპიული საშუალებების შექმნა ადამიანის რიგი დაავადებების და დარღვევების სამკურნალოდ (Rubaiy, 2019).

### 2.3.3. TRPM ქვეოჯახი

ჰომოლოგიის საფუძველზე TRPM (მელასტატინის) ქვეოჯახის წევრები იყოფა 4 ჯგუფად: TRPM1/3, TRPM2/8, TRPM4/5 და TRPM6/7.  $Ca^{2+}$ -ის განვლადობასთან დაკავშირებით TRPM ქვეოჯახში იგი მერყეობს  $Ca^{2+}$  იონების გაუნვლადობიდან (TRPM4 და TRPM5)  $Ca^{2+}$  იონების სრულ განვლადობამდე (TRPM3, TRPM6 და TRPM7). სხვა TRP არხებისგან განსხვავებით, TRPM ქვეოჯახის არხებს არ აქვთ N-ტერმინალური ანკირინის გამეორება (Gees et al., 2012).

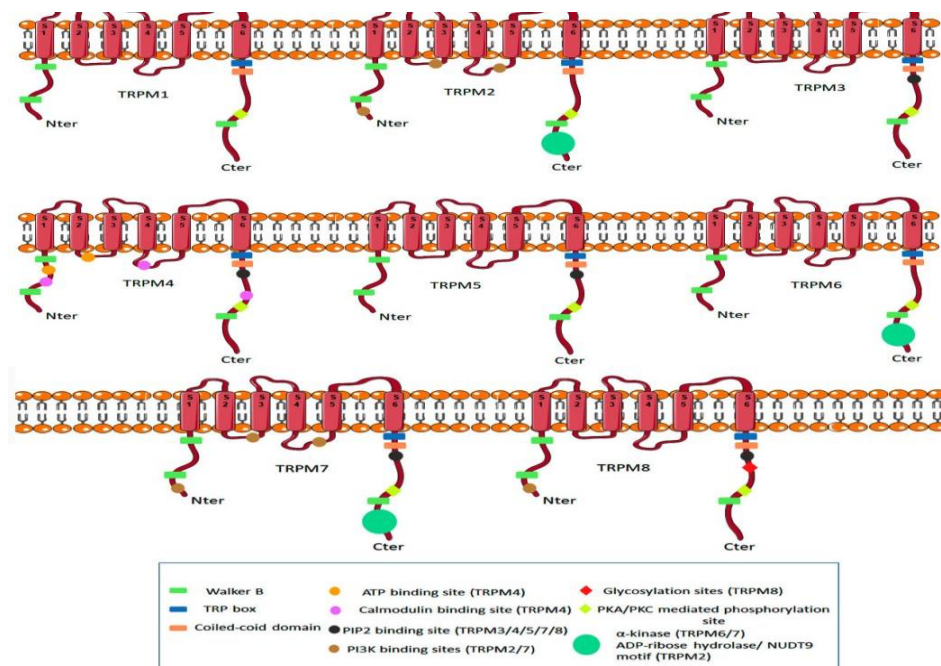
TRPM ქვეოჯახის წევრებს შორის მიმდევრობისა და სტრუქტურული მსგავსების დონის გათვალისწინებით, გასაკვირი არ არის, რომ ჯგუფში ასევე ხდება ღია და ახლო მდგომარეობების გადაკვეთა. ამჟამად, ცილის მონაცემთა ბანკის 20 -ზე მეტი ჩანაწერიდან არის 4 უნიკალური TRPM სტრუქტურა (სურათი 10), რომლებმაც დაადასტურეს მრავალფეროვნება, იონური განვლადობისა და განსხვავებული მექანიზმები (Chen et al., 2019).



სურათი 10. TRPM არხების სტრუქტურული შემადგენლობა. (A) TRPM2 (*Nematostella vectensis*), (B) TRPM4 (*Homo sapiens*), (C) TRPM7 (*Mus musculus*), (D) TRPM8 (*Ficedula albicollis*). (Reproduced from Chen et al., 2019).

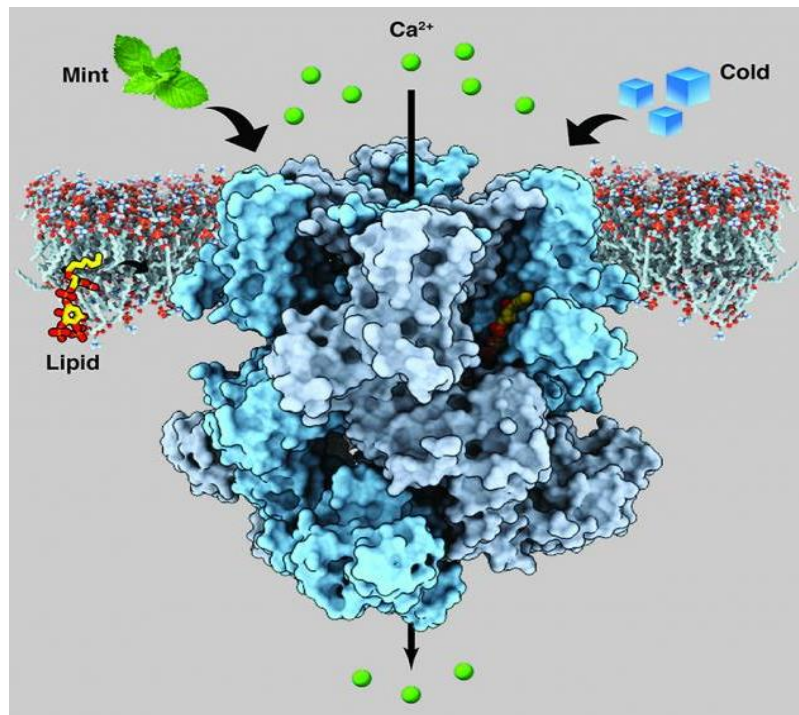
უახლესი 3D კრიო-სტრუქტურის ელექტრონული მიკროსკოპის მონაცემების თანახმად, TRP დომენი არ არის უწყვეტი  $\alpha$ -სპირალი, არამედ აქვს ხვეული სტრუქტურა, სიგრძის დაახლოებით ორი მესამედისა, რითაც TRP დომენი ორ სემენტად იყოფა (Winkler et al., 2017). ყველა TRPM ცილის N-ტერმინალური ნაწილი ჩვეულებრივ უფრო გრძელია, დაახლოებით 300–400 aa-ით, ვიდრე TRPC და TRPV ოჯახების ერთი და იგივე რეგიონები. ამ რეგიონში ასევე არის უზარმაზარი, დაახლოებით 700 aa TRPM-ჰომოლოგიის დომენი (სურ. 11). TRPM ოჯახის C ტერმინალის თანმიმდევრობა აჩვენებს მაღალ ცვალებადობას, განსხვავდება 1000-დან 2000 aa- მდე (Hantute-Ghesquier et al., 2018).

TRPM არხები გამოხატულია ადამიანის ორგანიზმის ორგანოთა სისტემების ფართო სპექტრში, როგორცაა იმუნური და გულ-სისხლძარღვთა სისტემები. მათი ფართო გამოხატვის გამო, TRPM არხები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ უჯრედების განვითარებაში და მათთან დაკავშირებულ დაავადებებში. მაგალითად, აღმოჩნდა, რომ TRPM4 და TRPM5 არხები მოქმედებენ, როგორც მოდულატორები გემოვნების უჯრედებში, TRPM7 მონაწილეობს ძუძუმწოვრების ჰომეოსტაზში, ხოლო TRPM8 მნიშვნელოვანია სიცივის შეგრძნებისთვის (Chen et al., 2019; Diver et al., 2019; Thapa et al., 2021).



სურათი 11. TRPM არხების ოჯახის ზოგადი სტრუქტურა (reproduced from Hantute-Ghesquier et al., 2018).

ჩვენთვის საინტერესო მელასტატინი-8 (TRPM8) თავდაპირველად კლონირებული იყო პროსტატის კიბოს ქსოვილიდან (Tsavaler et al., 2001). ცოტა ხნის შემდეგ, ცილა გამოვლინდა, როგორც ცივი და მენტოლით გააქტიურებული იონური არხი პერიფერიულ სენსორულ ნეირონებში, სადაც ის გადამწყვეტ როლს ასრულებს ცივი ტემპერატურის შეგრძნებაში. ფუნქციურმა და მორფოლოგიურმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ TRPM8 არის გამოხატული დორსალური ფესვისა და სამწვერა განგლიის პირველადი სენსორული ნეირონების სუბპოპულაციაში. ამ სენსორული ნეირონების თერმოსენსიტიური ნერვული დაბოლოებები აინერვირებს კანისა და ლორწოვან გარსებს (მაგ. რქოვანას, პირის ღრუს, ცხვირის ეპითელიუმს). TRPM8 არის არასელექციური კათიონური არხი, კალციუმის საშუალო (ზომიერი) განვლადობით (სურათი 12).



სურათი 12. კრიო-EM სტრუქტურები და TRPM8 არხის ფუნქციები სიცივის შეგრძნების გამომწვევ ნივთიერებებთან (მენტოლი, იცილინი) მიმართებაში. (Adapted from Yin et al., 2019).

ფიზიკური (მაგალითად, ცივი ტემპერატურა) და ქიმიური სტიმულის (მაგალითად, მენტოლი) გარდა, TRPM8 ასევე იცვლება ძაბვით. TRPM8-ის შეცვლილი გამოხატულება ან ფუნქცია ასოცირდება სხვადასხვა დაავადებასთან. იმის გათვალისწინებით, რომ TRPM8 ნაკლებად ექსპრესირდება ჯანმრთელ ქსოვილებში, ეს გარემოება გვთავაზობს საინტერესო შესაძლებლობებს, იგი

განვიხილოთ, როგორც დიაგნოსტიკური ან პროგნოზული მარკერი თერაპიულ ჩარევის მიზნით სხვადასხვა პათოლოგიების დროს, როგორცაა სიმსივნე, შაკიკი, უროგენიტალური ტრაქტის, სასუნთქი გზებისა და სისხლძარღვთა დაავადებები (Almaraz et al., 2014, Thapa et al., 2021).

ფელიქს ვიანას ჯგუფმა (Ordás et al., 2019) ახლახანს აღმოაჩინა, რომ TRPM8 ასევე გამოხატულია ცნს-ში. მათ აღმოაჩინეს თავის ტვინის გარკვეულ უბნებში უჯრედები, რომლებშიც ექსპრესირდება TRPM8, ესაა ჰიპოთალამუსი, თალამუსის რეტიკულური ბირთვი, ქერქული უბნები, ლიმბურ სტრუქტურები და ტვინის ღეროს ზოგიერთი ბირთვი (Ordás et al., 2019).

TRPM8 არხის წვლილისადმი ინტერესის მიზეზები შაკიკში დიდწილად დაკავშირებულია მათ გამოხატულებასთან მენინგეალურ ნოციციტორებზე და მათ რეაგირებაზე სხვადასხვა სახის ენდოგენურ და ეგზოგენურ სტიმულებზე, რომლებიც შეიძლება დაკავშირებული იყოს შაკიკის შეტევებთან (Benemei, Dussor, 2019; Geppetti et al., 2015).

TRPM8 არხი გადამწყვეტ როლს ასრულებს მრავალ პათოფიზიოლოგიურ პროცესში. უპირველესად იგი გამოვლინდა, როგორც სიცივის/ მენტოლის რეცეპტორი პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში (Diver et al., 2019; McKemy et al., 2002). ამ აღმოჩენამ გამოიწვია ასობით კვლევა ამ არხის როლზე პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში და მასთან დაკავშირებულ ტკივილისა და ტემპერატურის შეგრძნებებში (Señaris et al., 2018), თუმცა TRPM8-ის ჩართვა სიმსივნეებში შედარებით უგულვებელყოფილია. ამ ფაქტის მიუხედავად, არსებობს მზარდი მონაცემები, რომ TRPM8 გულდასმით უნდა იქნას შესწავლილი კანცეროგენეზის ფარგლებში, განსაკუთრებით პროსტატაში, სადაც ის ძალიან გამოხატულია და ბევრმა ლაბორატორიამ დაადასტურა ამ არხის ექსპრესია კიბოს პროგრესირების დროს. სხვა მრავალ საკითხთან ერთად, რომლებიც ჯერ კიდევ უნდა განიხილებოდეს, პროსტატაში TRPM8-ის ენდოგენური მოდულატორების და მათი მოქმედების მექანიზმების საკითხი უაღრესად აქტუალურია. ფიზიოლოგიური მარკერების გამოყენებამ, როგორებიცაა პროსტატის სპეციფიკური ანტიგენი (PSA), ანდროგენები და ლიპოპროტეინ ლიპაზა (LPL), დაამტკიცა, რომ TRPM8-ს შეუძლია ექსპრესირდეს დაბალი ტემპერატურის რეცეპტორების მოქმედებებისას იმ ორგანოებში, რომლებიც

დაუცველნი არიან ტემპერატურის ცვალებადობისგან (Diver et al., 2019; Noyer et al., 2018).

#### 2.3.4. TRPML ქვეოჯახი

TRPML ქვეოჯახი სამი წევრისგან შედგება: TRPML1, TRPML2 და TRPML3. პირველი არხი, TRPML1 იდენტიფიცირებული იყო როგორც ცილა მუტირებული ლიზოსომური დაავადების, მუკოლიპიდოზის IV ტიპის (MLIV) დროს. TRPML2 იქნა ნაპოვნი მონაცემთა ბაზის ძებნისას და TRPML3 გამოვლინდა, როგორც მუტაციური ცილა თავგებში ვარინტა-ვადლერის ფენოტიპით. ამ უკანასკნელს ახასიათებს სმენითი, ვესტიბულური და მელანოციტური ფენოტიპი, რომელიც გამოწვეულია TRPML3-ის სავარაუდო მეხუთე ტრანსმემბრანულ დომენში A419P ფუნქციის მუტაციით (Yamaguchi, Muallem, 2010). TRPML ცილების ფუნქციები გულისხმობს მათ მონაწილეობას ვეზიკულურ გადაცემასა და ბიოგენეზში, ნეირონების განვითარებაში, ფუნქციონირებასა და სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნებაში, აგრეთვე ორგანულ უჯრედშიდა და იონური ჰომეოსტაზის რეგულირებაში (Venkatachalam et al., 2015).

ახლახან ნაჩვენები იქნა, რომ ენდოლისოზომური, არჩევითი კათიონური არხები, ორპორიანი არხები (TPCs) და მუკოლიპინები (TRPMLs), როგორც TPC/TRPML ურთიერთქმედების პარტნიორები („ინტერაქტომები“) არეგულირებენ უჯრედული მემბრანის დინამიკას და აუტოფაგიას. ვარაუდობენ, რომ არხის განსხვავებული იზოფორმები ანიჭებენ მკაფიო თვისებებს უჯრედს. TRPML3 არხის ცილა, როგორც ჩანს, გააქტიურებულია ჰეპატოცელულური კარცინომის დროს და თრგუნავს ერითროლეიკემიასა და თრომბოციტებს სიმსივნის მქონე პაციენტებში. TRPML3-ის პოტენციურ გავლენას იმუნოლოგიურ და ონკოგენურ სასიგნალო გზებზე შეიძლება ჰქონდეს განსაკუთრებული მნიშვნელობა. ავტორები ხაზს უსვამენ იმ პოტენციალს, რომელსაც TPC/TRPML ფლობს, როგორც მომავალი თერაპიული სამიზნე დღეისთვის განუკურნებელი დაავადებების სამკურნალოდ იდენტიფიცირდება მიდგომები, რომლებიც აუცილებელია ენდოლიზოსომური, არსელექციური არხების მრავალმხრივი როლების გასარკვევად (Krogsaeter et al., 2018).



### 2.3.5. TRPP ქვეოჯახი

უკანასკნელ ხანს განსაკუთრებული მნიშვნელობა შეიძინა პოლიცისტოზური თირკმლის დაავადების (PKD1 და PKD2) გამოვლენამ, როგორც გენების მუტაციური აუტოსომურ-დომინანტური პოლიცისტოზური თირკმლის დაავადებისა (ADPKD). დაშიფრული ცილების TRPP1 (პოლიცისტინი-1) და TRPP2 (პოლიცისტინი-2) ბიოლოგიური როლი გამოიკვეთა ADPKD პაციენტების ფენოტიპებიდან, მაგრამ ხერხემლიანთა და უხერხემლო ცხოველთა ბოლოდროინდელმა კვლევებმა მნიშვნელოვნად გააფართოვა ჩვენი ცოდნა ამ ცილების ფიზიოლოგიური ფუნქციების შესახებ. დამატებით TRPP3 და TRPP5 არხების და პოლიცისტინის-1 მსგავსი ცილების იდენტიფიცირებამ (PKD1L1, PKD1L2, PKD1L3 და PKDREJ) კიდევ უფრო გაართულა მათი უჯრედულ-სასიგნალო ფუნქციების გარკვევა. TRPP ცილები ერთიანდებიან პოლიცისტინ-1 ოჯახის წევრებთან ერთად და ქმნიან რეცეპტორულ-არხის კომპლექსებს. ცილის ამ მოდულებს აქვთ მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური როლები, დაწყებული მილაკური მორფოგენეზიდან მარცხენა-მარჯვენა ასიმეტრიის განსაზღვრამდე. პოლიცისტინის ოჯახის დამფუძნებელი წევრები, TRPP2 და polycystin-1, არის ნათელი მაგალითი იმისა, თუ როგორ შეუძლია ადამიანის დაავადების გენების შესწავლას ფუნდამენტური ბიოლოგიური მექანიზმების გააზრება (Semmo et al., 2014).

სტრუქტურული თვალსაზრისით, დევიდ კლაპემის გუნდმა ცოტა ხნის წინ დაადგინა, რომ ადამიანის პოლიცისტინის 2-11 ცილის სტრუქტურა შეესაბამება TRPP პოლიცისტინ-2 სტრუქტურას და აღნიშნა, რომ უბნებს შორის არსებული განსხვავებები შეიძლება განპირობებული იყოს პოლიცისტინ-2 და პოლიცისტინ 2-11 სხვადასხვა შედწევადობით იონების მიმართ (Hulse et al., 2018).

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ TRPP და TRPML ქვეოჯახების წევრები იზიარებენ დიდ, უჯრედულ/ლუმინალურ დომენს, სახელწოდებით ტეტრაგონალური გახსნა პოლიცისტინის (TOP) დომენისათვის TRPP-ში და პოლიცისტინ-მუკოლიპინის (PMD) დომენის TRPML-ში. TRPP2-ის, TRPML1-ის და TRPML3-ის სტრუქტურებმა გამოავლინა საინტერესო მსგავსება  $Ca^{2+}$ -თან და უარყოფითად დამუხტული ლიპიდების აქტივაციასთან დაკავშირებით. TRPML1 მდებარეობს ენდოსომურ და ლიზოსომურ მემბრანებში და უშუალოდ მონაწილეობს IV ტიპის მუკოლიპიდოზში, ხოლო TRPP2 მდებარეობს ძირითადად ენდოპლაზმურ ბადეში (ER) და

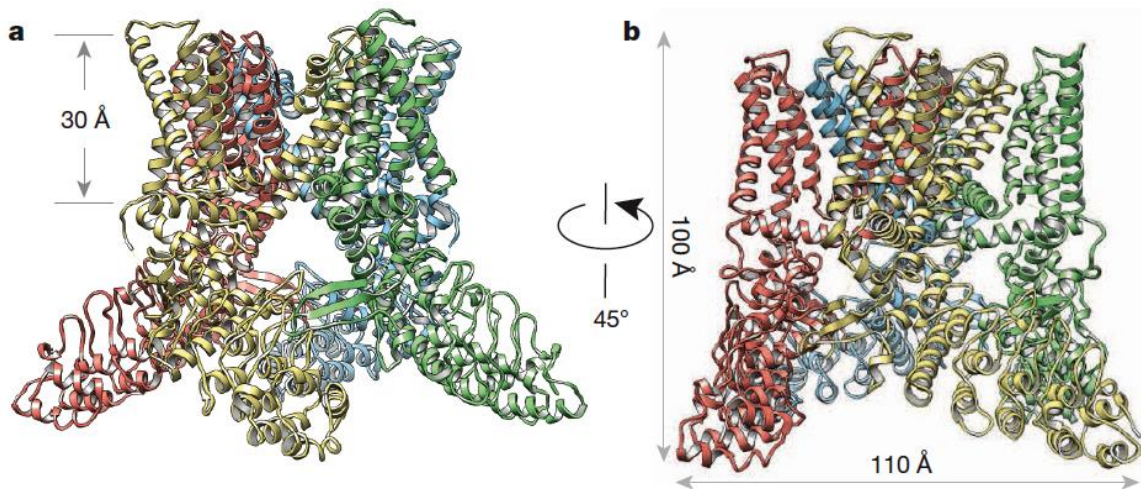
დამოკიდებულია უჯრედის ტიპზე. ამ მსგავსების მიუხედავად, შესამჩნევი განსხვავებაც შეინიშნება. კერძოდ, ტეტრამერული შეკრების ფარგლებში PMD და TOP დომენის კოორდინაცია არსებითად შეცვლილია. TRPP2-ში, უნიკალური  $\beta$  ურთიერთქმედებს S3a სპირალურ გაფართოებებთან, რაც სავარაუდოდ იწვევს კონფორმაციულ ცვლილებებს პირდაპირ არხის მემბრანულ-ინტეგრალურ ნაწილში. TRPML და TRPP2 სტრუქტურებში არსებული არხის გახსნა/დაკეტვის მდგომარეობათა სხვადასხვა პარამეტრებმა შეიძლება გამოავლინოს ლოკალიზაციაზე დამოკიდებული ფუნქციური ვარიაციები (Madej, Ziegler, 2018).

### 2.3.6. TRPV ქვეოჯახი

TRP იონური არხების ვანილოიდური (TRPV) ქვეოჯახი წარმოიშვა და მოიპოვა საზოგადოების პოპულარობა 1997 წელს, როდესაც მისი დამფუნქციონებელი წევრები პირველად იქნა აღწერილი, TRPV1 ძუძუმწოვრებში და OSM-9 *C. elegans*-ში. TRPV1 გამოვლინდა კლონირების სტრატეგიის გამოყენებით. შესაბამისად, TRPV2, -V3 და -V4, გამოვლენილი იქნა კანდიდატური გენის მიდგომით. თანმიმდევრობითი შედარების გზით TRPV არხები შეიძლება დაიყოს ოთხ ჯგუფად. ერთი მოიცავს ძუძუმწოვრების TRPV-ს ოთხ წარმომადგენელს (TRPV1, -V2, -V3, და -V4). *In vitro* მთლიანი უჯრედების ჩაწერამ აჩვენა, რომ ისინი რეაგირებენ 42, 52, 31 და 27°C გრადუს ტემპერატურაზე, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ ისინი ჩართულნი არიან თერმოგრძნობელობაში, შესაბამისად გამოიყენება ტერმინი "თერმო-TRP" არხები (Liedtke, 2017).

სტრუქტურული თვალსაზრისით, TRPV ქვეოჯახი შედგება ექვსი ჰომოლოგიური წევრისგან, განსხვავებული ფუნქციებით. TRPV1 – TRPV4 წევრები არიან შერჩევითი კათიონური არხები, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ნოციციტებში, ხოლო TRPV5 და TRPV6 ჩართულია  $Ca^{2+}$  ეპითელურ ჰომეოსტაზში. კრიო-EM ანალიზი ვარაუდობს, რომ TRPV ქვეოჯახის წევრებს აქვთ უაღრესად ჰომოლოგიური სტრუქტურული ტოპოლოგია. ამ შედეგებმა შესაძლებელი გახადა TRPV არხების ფუნქციონალური მრავალფეროვნების სტრუქტურული ახსნა და მათი დიფერენციალური რეგულირება ცილებისა და ლიგანდების მიერ (Huynh et al., 2014). ამასთან კაპსაიცინის რეცეპტორის (TRPV1) კონფორმაციული ცვლილებები, შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას, როგორც მოდელი იმის გასაგებად, თუ როგორ

ხდება სელექციურობის ფილტრის დინამიური გადასვლები ალგოგენურ აგენტებზე, პროტონების, ვანილოიდების აგონისტებისა და პეპტიდური ტოქსინების საპასუხოდ, რაც იწვევს მცირე და მსხვილ ორგანული კატიონებს შეღწევას უჯრედში. ეს სტრუქტურები ასევე არეგულირებენ ლიგანდის სუბსტრატთან შემაკავშირებელ მექანიზმს, ისევე როგორც ალოსტერულ შეერთებას საკვანძო უბნებს შორის, რომლებიც პროქსიმალურად მდებარეობენ სელექციურ ფილტრთან და ციტოპლაზმურ კარიბჭესთან (Zhang et al., 2021).



სურათი 13. TRPV1 არხის ატომური მოდელის დიაგრამა ოთხი იდენტური ქვედანაყოფის ფერადი კოდირებით, რომელიც გვიჩვენებს ხედს გვერდიდან (a და b). (Adapted from Liao et al., 2013).

TRPV1 არხი ექსპრესირდება პერიფერიულ სენსორულ ნერვულ ბოჭკოებში, რომლებიც მონაწილეობენ ტემპერატურისა და ტკივილის შეგრძნებაში. ფუნქციურად, იგი მოქმედებს როგორც მტკივნეული სითბოს სენსორი (42°C-ზე მეტ ტემპერატურაზე გაცხელებისას). ის ასევე შეიძლება გააქტიურდეს ზოგიერთი ენდოგენური ლიპიდური მოლეკულების, მჟავა ხსნარის (pH < 6.5) და ზოგიერთი მძაფრი ქიმიური და საკვები ინგრედიენტების მიერ, როგორცაა ცხარე წიწაკას (ჩილის) კომპონენტი კაპსაიცინი, ასევე ტოქსინებით, როგორცაა რეზინფერატოქსინი და ვანილოტოქსინები (Jeon, Caterina, 2018). სტრუქტურულად, TRPV1 ქვედანაყოფებს აქვთ ექვსი ტრანსმემბრანული (TM) დომენი უჯრედშიდა N- (შეიცავს 6 ანკირინის მსგავს გამეორებას) და C- ტერმინალებით და ფორების უბანი TM5-სა და TM6-ს დომენებს შორის, რომლებიც მნიშვნელოვანია არხის გააქტიურებისათვის და იონების სელექტურობისთვის. N- და C-ტერმინალებს აქვთ უბნები, რომლებიც ფოსფორილირების/ დეფოსფორილირების ადგილებია,

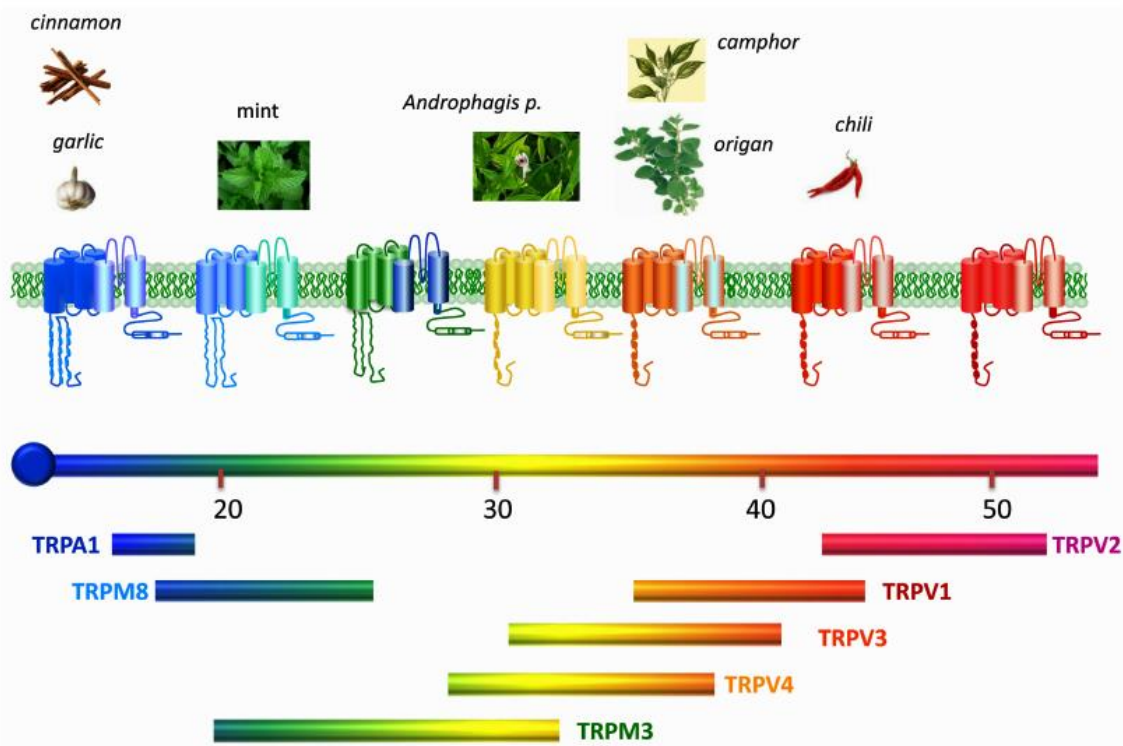
აკავშირებს, არეგულირებს TRPV1 მგრძობელობას და მემბრანის ჩართვას (Liao et al., 2013) (სურ. 13).

არხს აქვს რამდენიმე ურთიერთქმედი ცილა, რომელთაგან ზოგიერთი (მაგ. AKAP7a/150) მნიშვნელოვანია TRPV1 ფოსფორილირებისთვის. TRPV1 არხის კინეტიკა ავლენს მრავალ ღია და დახურულ მდგომარეობას, ასევე შემოთავაზებულია არხის გააქტიურების რამდენიმე მოდელი ძაბვისა და ლიგანდის შეკავშირებითა და ტემპერატურით. TRPV1 არხის აგონისტებისა და ანტაგონისტებით და თავების *Trpv1* გენზე კლონირებით მიღებულ არხზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა მისი როლი ტკივილში, თერმორეგულაციასა და ოსმორეგულაციაში. დევიდ ჯულიუსის ლაბორატორიაში მიღებული შედეგები, რომლებიც პირველად გამოქვეყნდა 25 წლის წინ (Caterina et al., 1997), წელს დაგვირგვინდა ნობელის პრემიის მინიჭებით ცნობილი ამერიკელი მეცნიერისთვის (იხ. მიმოხილვითი სტატიები, Autzen et al., 2019; Julius, 2013).

#### 2.4. თერმო-TRP არხები

ტემპერატურის აღქმა ცხოველებისა და ადამიანების სენსორული გამოცდილების აუცილებელი კომპონენტია. ძუძუმწოვრებს გააჩნიათ დამცავი მექანიზმები, რომლებიც ხელს უწყობენ მათ გადარჩენას, როგორც დაბალ, ასევე მაღალ ტემპერატურაზე. ნერვული სისტემის რეაქცია ტემპერატურის ცვლილებებზე ჰომეოთერმებისთვის უპირატესად მნიშვნელოვანია სხეულის სტაბილური ტემპერატურის შესანარჩუნებლად. ცენტრალური და პერიფერიული თერმო-მარეგულირებელი სისტემები შეიცავენ სენსორულ რეცეპტორებს/ სიგნალის გადამყვანებს, ინტეგრატორებს და ეფექტურ ორგანოებს, რომლებიც შექმნილია სხეულის ტემპერატურის რეგულირებისთვის ვიწრო დიაპაზონში (Castillo et al., 2018; Kashio, 2021; Taylor, 2014; Tipton et al., 2008).

რამდენიმე TRP არხი ავლენს ძლიერ ტემპერატურაზე დამოკიდებულ კარიბჭის თვისებებს, რაც იწვევს დეპოლარიზაციული დენის მკვეთრ ცვლილებებს გაგრილების ან გათბობის დროს (სურათი 14).



სურათი 14. თერმო-TRP არხები უჩვენებენ მკაფიო თერმულ ზღურბლებს ძალზედ მტკივნეული სიცივის შეგრძნებიდან (TRPA1) მტკივნეული ცხელის შეგრძნებამდე (TRPV2). თითოეული თერმო-TRP არხი ასევე აქტიურდება სპეციფიკური ბუნებრივი ქიმიური ნივთიერებით, იწვევს რა შესაბამის თერმულ და ტკივილის შეგრძნებას. (Adapted from Ferrandiz-Huertas et al., 2014).

ამ დამახასიათებელი ნიშნის საფუძველზე, ე.წ. "თერმო-TRP" არხები ფართოდ იქნა შესწავლილი, მათი როგორც თერმო-სენსორების პოტენციური როლი სომატოსენსორულ სისტემაში და ასევე მათი მაღალი თერმული მგრძნობელობის საფუძველები (Castillo et al., 2018; Kashio, 2021; Tsagareli, 2019; Voets, 2014).

#### 2.4.1. TRP არხების პერიფერიული თერმული მგრძნობელობა

სხვა სომატოსენსორული მოდალობის მსგავსად, არამტკივნეული სითბოს პერიფერიული აღქმა კანის სენსორული ნეირონების სპეციალიზირებული ქვე-პოპულაციის შუამავლობით ხდება. სითბოს მგრძნობიარე ნეირონები განიმუხტებიან დაბალი ზღურბლის მქონე მოქმედების პოტენციალებით კანის „ნორმალურ“ ტემპერატურაზე (დაახლ. 29-32°C), მაგრამ ამ ზღურბლოვანი დონის ზევით ტემპერატურის მატებასთან ერთად თანდათანობით იზრდება მათი განმუხტების სიჩქარე. რეაგირების ეს ფორმა თბილ ბოჭკოებს უფრო მგრძნობარეს ხდის მომატებული ტემპერატურის მიმართ, ვიდრე სითბოს ნოციციტორები, რომლებიც განაპირობებენ ტკივილის აღქმას და რეაგირებენ მხოლოდ >42-45°C

ტემპერატურაზე. გარდა ამისა, სითბოს ნოციცეპტორებისგან განსხვავებით, რომლებიც აგრძელებენ ტემპერატურის კოდირებას 50°C-ზე ზევით, სითბოსადმი მგრძობიარე ნეირონები, როგორც წესი, გადიან პლატოზე ან თუნდაც ამცირებენ განმუხტვების სიჩქარეს 45°C გრადუსზე. სითბოს მგრძობიარე ნეირონების მესამე განმასხვავებელი ნიშანი ის არის, რომ ზოგიერთი „პოლიმოდალური“ სითბოს მგრძობიარე ნოციცეპტორისგან განსხვავებით, პირველი ყოველთვის უცვლელია კანის მექანიკური სტიმულაციის მიმართ (Jeon, Caterina, 2018). დღეისათვის თერთმეტი თერმომგრძობიარე TRP არხია გამოვლენილი ძუძუმწოვრებში (ცხრილი 3).

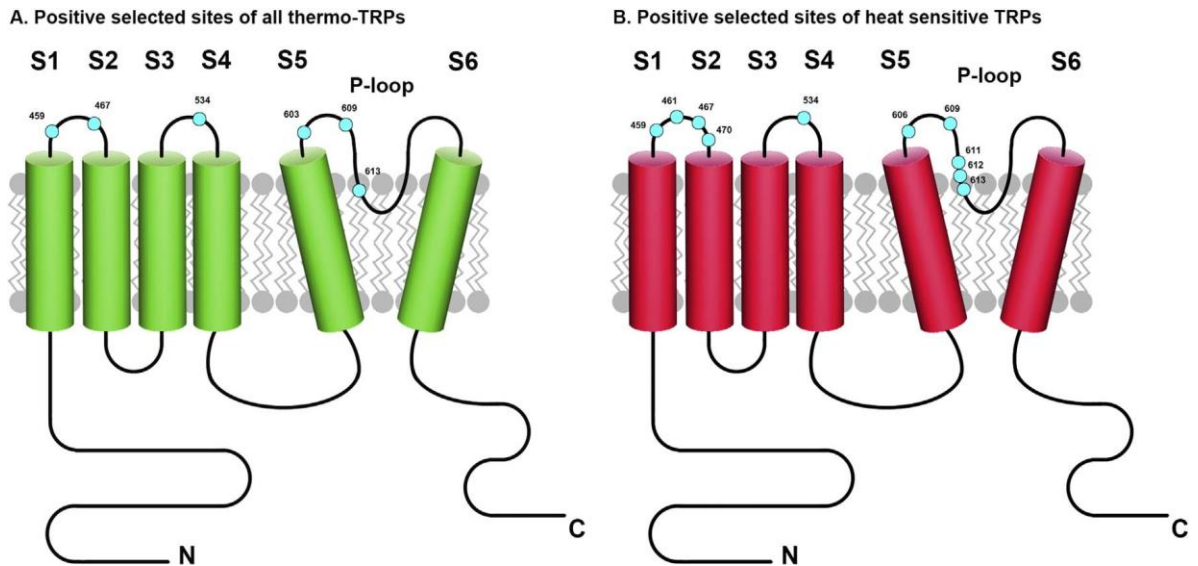
ცხრილი 3. თერმო-TRP არხების თვისებები (reproduced from Uchida et al., 2017).

Sensation/ TRP subunits		Temperature threshold	Tissue distribution	Other stimuli
<i>Heat</i>	TRPV1	> 42°C	Sensory neuron, brain, skin	Capsaicin, proton, capsiate, gingerol, shogaol, allicin, NO, shanshool, camphor, resiniferatoxin, vanillotoxin, 2-APB, propofol, anandamide, arachidonic acid metabolic products (by lipoxigenases), monoacylglycerol, extracellular cations
	TRPV2	> 52°C	Sensory neuron, brain, spinal cord, lung, liver, spleen, colon, heart, immunocyte	Probenecid, 2-APB, cannabidiol, mechanical stimulation
<i>Warm</i>	TRPV3	> 32°C	Skin, sensory neuron, brain, spinal cord, stomach, colon	Camphor, carvacrol, menthol, eugenol, thymol, 2-APB
	TRPV4	> 27-41°C	Skin, sensory neuron, brain, kidney, lung, inner ear, bladder	4α-PDD, bisandrographolide, citric acid, arachidonic acid metabolic products (by epoxygenases), anandamide, hypo-osmolality, mechanical stimulation
	TRPM 2	> 36°C	Brain, immunocyte, pancreas, etc.	(cyclic) ADPribose, b-NAD, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , intracellular Ca <sup>2+</sup>
	TRPM 3	Warm-heat	Brain, sensory neuron, pancreas, eye	Ca <sup>2+</sup> store depletion, pregnenolone sulfate, nifedipine, clotrimazole
	TRPM 4	Warm	Heart, liver, pancreas, immunocyte, etc.	Intracellular Ca <sup>2+</sup>
	TRPM 5	Warm	Taste cell, pancreas	Intracellular Ca <sup>2+</sup>
<i>Cold</i>	TRPM 8	< 27°C	Sensory neuron	Menthol, icilin, eucalyptol
	TRPM 5	Cold	Brain, sensory neuron, liver, heart, kidney	G <sub>9/11</sub> -coupled receptors, diacylglycerol, GD <sup>3+</sup>
	TRPA1	< 17°C	Sensory neuron, inner cell	Allyl isothiocyanate, carvacrol, cinnamaldehyde, allicin, diallyl trisulfide, miogadial, miogatrial, capsiate, acrolein, icilin tetrahydrocannabinol, menthol (10-100 μM), formalin, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , alkalization, intracellular Ca <sup>2+</sup> , NSAIDs, propofol/ isoflurane/ desflurane/ etomidate/ octanol/ hexanol, etc.

ეს არხები მიეკუთვნება TRPV, TRPM, TRPA და TRPC ქვეოჯახებს, და მათი აქტივაციისთვის ტემპერატურის ზღვრბლები არის ფიზიოლოგიური ტემპერატურის დიაპაზონში, რაც ჩვენ შეგვიძლია განვასხვავოთ. TRPV1 და TRPV2 არხები აქტივდებიან მაღალი ტემპერატურით, ხოლო TRPM8 და TRPA1 კი დაბალი (ცივი) ტემპერატურით. TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4 და TRPM5 აქტივდებიან თბილი ტემპერატურით. TRPM3 ნაჩვენები იყო, როგორც მტკივნეული სითბოს სენსორი და TRPC5 გამოვლინდა, როგორც ცივი სენსორის კანდიდატი. თერმო-TRP არხები გამოხატულია სენსორულ ნეირონებში და კანს შეუძლია იმოქმედოს, როგორც გარემოს ტემპერატურის სენსორი. თერმო-TRP არხები ჩვეულებრივ ფუნქციონირებენ, როგორც "მულტიმოდალური რეცეპტორები", რომლებიც რეაგირებენ სხვადასხვა ქიმიურ და ფიზიკურ სტიმულებზე. ამ არხების გააქტიურებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს უჯრედში  $Ca^{2+}$  კონცენტრაციის ცვლილებებს და გააკონტროლოს მემბრანის პოტენციალი მრავალი ტიპის უჯრედში. გამონაკლისია TRPM4 და TRPM5, არხები, რომლებიც არ არ ატარებენ ორვალენტთან კათიონებს.

მეორეს მხრივ, თერმო-TRP არხები ასევე გამოხატულია ქსოვილებში, რომლებიც არ ექვემდებარებიან ტემპერატურის დინამიურ ცვლილებებს, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ ამ არხებს აქვთ სხვა ფიზიოლოგიური როლები, რომლებიც არ არის დაკავშირებული ტემპერატურის ცვლილებების შეგრძნებასთან. დაბოლოს, ბოლოდროინდელმა კვლევებმა გამოავლინა თერმული მგრძნობელობის მექანიზმი და თერმო-TRP არხების ფიზიოლოგიური როლი ენერჯის მეტაბოლიზმში (Uchida et al., 2017).

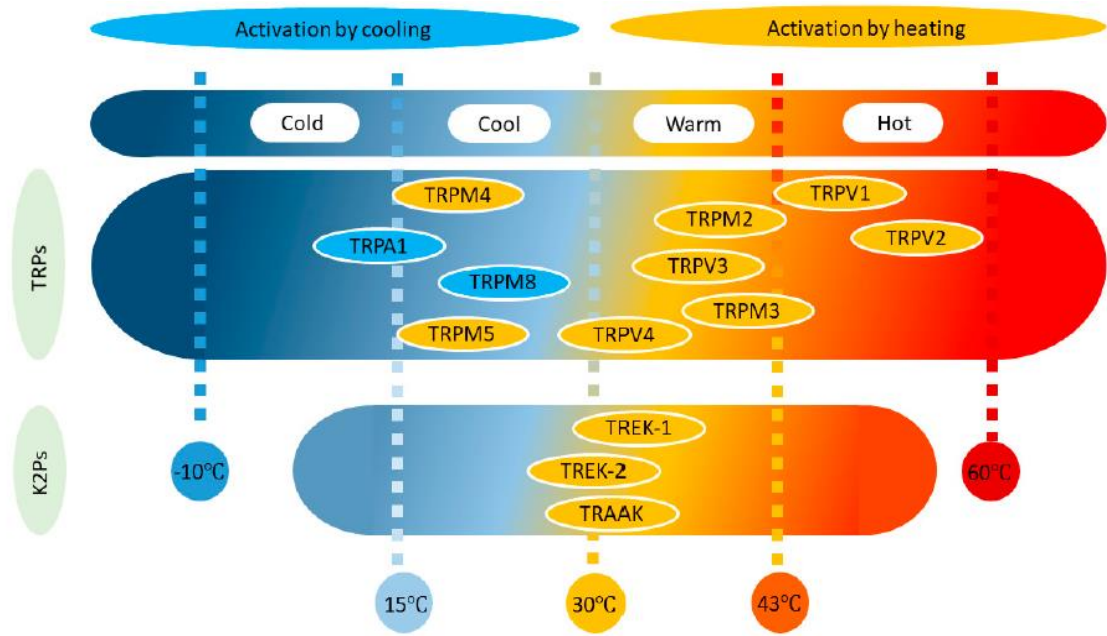
თერმო მგრძნობიარე TRP არხები შეიძლება დაიყოს ორ ქვეტიპად, სიცივისა და სითბოს რეცეპტორებად, რაც ეფუძნება საპასუხო რეაქციების პატერნებს. ტემპერატურის შემცირებით სიცივისადმი მგრძნობიარე თერმო-TRP არხების გახსნის ალბათობა იზრდება, ხოლო სითბოს რეცეპტორები აჩვენებენ ტემპერატურის მატებასთან ერთად გახსნის გაზრდილ ალბათობას. მეორეს მხრივ, თერმო-TRP რეაქციის ნიმუშები თერმულ ზემოქმედებაზე შეიძლება დაიყოს ოთხ ჯგუფად: ცივი, გრილი, თბილი და ცხელი, თუმცა ექსპერიმენტულად არ არსებობს მკაფიო საზღვრები ცივსა და გრილს შორის, ისევე როგორც თბილსა და ცხელს შორის (Liu et al., 2017).



სურათი 15. თბილი და ცხელი მგრძობიარე TRP-არხების პოზიტიური სელექტიური საიტები. ცისფერი სფეროები წარმოადგენს დადებითად შერჩეულ ადგილებს, რომლებიც დანომრილია ადამიანის TRPV1 ამინომჟავების თანმიმდევრობით (Liu et al., 2017).

როგორც ზევით აღინიშნა, TRP დიდ ოჯახი შეიძლება დაჯგუფდეს შვიდ ქვეოჯახად, სტრუქტურისა და ამინომჟავების თანმიმდევრობის საფუძველზე, ყველა TRP არხით, რომელიც შედგება სამი სტრუქტურული დომენისგან, ანუ N-ტერმინალის, ტრანსმემბრანული რეგიონისა და C-ტერმინალისაგან (სურათი 15). ტრანსმემბრანული რეგიონი შეიცავს ექვს ტრანსმემბრანულ სეგმენტს (S1-S6) თანმიმდევრობის ჰომოლოგიისა და კათიონური განვლადობის სხვადასხვა ხარისხით (Venkatachalam, Montell, 2007). N- და C- ტერმინალური დომენები უჯრედშიდაა განლაგებული. ყველაზე გამორჩეული სეგმენტები განლაგებულია N-ტერმინალებზე, ხოლო ყველაზე დაცული უბნები გვხვდება S6 დომენში, რომელიც, სავარაუდოდ, ყველაზე მნიშვნელოვანი უბანია არხის ჩამკეტისთვის. მიუხედავად იმისა, რომ მრავალი კვლევა ხაზს უსვამს თერმო-TRP არხების N- და C-ტერმინალური დომენების მნიშვნელობას თერმული შეგრძნებისთვის, შეუძლებელია ამ დომენების ჩართვა ფილოგენეტიკური შერჩევის ანალიზში, ვინაიდან ქვეოჯახებში ეს თანმიმდევრობა ძალიან მრავალფეროვანია, რათა დააკმაყოფილოს ყველა მოდელის მინიმალური მოთხოვნები (Liu et al., 2017).





სურათი 16. TRP და TWIK-თან დაკავშირებული კალიუმის (TREK) არხების განაწილება მათი ტემპერატურის ზღვრების მიხედვით. საყურადღებოა, როდესაც TREK არხები აქტიურდებიან ტემპერატურის მატებით (ნარინჯისფერი), TRP არხები ასევე შეიძლება გააქტიურდნენ ტემპერატურის დაწევით (ლურჯი). (Reproduced from Lamas et al., 2019).

ამ კლასიფიკაციიდან გამომდინარე, ჩვეულებრივ საუბარია ოთხ თერმულ შეგრძნებაზე (ცივი 10–15 °C, გრილი 16–30 °C, თბილი 31–42 °C და ცხელი 43–60 °C), მაშინ როცა სიცივისა და სიცხის რეცეპორები იმავდროულად ტკივილის შეგრძნებასაც განაპირობებენ (სურათი 16).

## 2.5. TRP არხები, როგორც ანალგეზიური და თერაპიული სამიზნეები

უკანასკნელი რამდენიმე ათეული წლის განმავლობაში მრავალი გამოკვლევა მიეძღვნა სენსორული ტკივილის რეცეპციის მექანიზმების შესწავლას (Fields et al, 2006, Meyer et al, 2006; Tsagareli, 2005, Tsagareli, Tsiklauri, 2011). ცხოველურ მოდელებში ფუნდამენტურმა და პრეკლინიკურმა გამოკვლევებმა გამოავლინა მრავალი გზა და მექანიზმი, რომლებიც ჩართულია პათოლოგიური ტკივილის მგრძობელობის განვითარებაში (Decosterd, Woolf, 2000; Mogil, 2009; Vierck, 2006). მიუხედავად ამ წარმატებისა პრეკლინიკური კვლევების შედეგების გადატანა ტკივილის სამკურნალოდ ნელა ხორციელდება. ეს ნაწილობრივ გამოწვეულია ცხოველურ მოდელებში შესასწავლ მოლეკულური და ფიზიოლოგიური მექანიზმების კლინიკური მნიშვნელობის გაგების სირთულით. ამას ადასტურებს

შედარებით მცირერიცხოვანი ახალი სამკურნალო საშუალებები, რომლებიც უკანასკნელ წლებში იქნა შეტანილი კლინიკაში ტკივილის სამკურნალოდ. მიუხედავად იმისა, რომ ახალი პრეპარატების რაოდენობა მაინც იზრდება უმთავრესად ციკლოქსიგენაზების ინჰიბიტორების სინთეზის ხარჯზე, ძირითად საშუალებებად კვლავ რჩება ოპიოიდური (Schug, Gandham, 2006) და არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატები (McQuay, Moore, 2006; Tsagareli, Tsiklauri, 2012), ამიტომ ტკივილის თერაპია ჯერ კიდევ ემყარება პაციენტისთვის დანიშნულ წამლებს, რომლებიც არ იწვევენ ადექვატურ გაუტკივარებას (Basbaum, Julius, 2006). ამდენად, კვლავ რჩება აუცილებლობად ახალი ტერაპიული აგენტების შექმნა, რომლებიც იმოქმედებენ განსხვავებული მექანიზმებით.

ცნობილია, რომ იონთა არხები აქტივდებიან სტიმულებით, როგორებიცაა მემბრანული პოტენციალი, ლიგანდები ან ტემპერატურა. ისინი გარდაქმნიან ამ ინფორმაციას კონფორმაციულ ცვლილებებში, რაც იწვევს იონთა არხების (ფორების) ჭიშკართა გახსნას. ამრიგად, იონური არხების ფუნქციონირების ფარგლებში საკვანძო საკითხად რჩება თუ როგორ არიან ჩართული ცილოვანი დომენები სენსორული სტიმულების შეგრძნებასა და არხების ჭიშკრების გაღება-დახურვაში (Basbaum, Julius, 2006).

როგორც უკვე ითქვა, TRP არხები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ სენსორული ფუნქციის განხორციელებაში (Cortright et al, 2007; Levine, Alessandri-Haber, 2007; Myers, Julius, 2007; Patapoutian et al, 2009). ისინი ასევე ამჟღავნებენ მგრძნობელობას ისეთი ნივთიერებების მიმართ, რომლებიც აღძრავენ ტკივილს და ტკივილის მსგავს შეგრძნებებს. ასეთი ნივთიერებებია დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, კოჰას ზეთი (ჯანჯაფილი), მდოგვის ზეთი და სხვა. მრავალი TRP არხი ამჟღავნებს მნიშვნელოვან მგრძნობელობას ტემპერატურის მიმართ. ზოგიერთი TRP არხი აქტივდება *in vitro* პირობებში სხვა რეცეპტორთა გააქტივებით, რომლებიც ჩაირთვებიან ანთების დროს და იწვევენ ტკივილს. TRP არხები ასევე მონაწილეობენ პროცესებში, რომლებსაც ახლავს ანთების მედიატორების გამოყოფა. ეს მონაცემები მკაფიოდ მიანიშნებს, რომ TRP არხების აქტივობის სპეციფიკური და შერჩევითი ბლოკირება შეიძლება გამოყენებულ იქნას ტკივილის მოსახსნელად (Cortright et al, 2007; Nilius et al, 2007; Patapoutian et al, 2009; Schumacher, 2010).

თავდაპირველად ყურადღება გამახვილდა TRP არხების შესწავლაზე ნოციცეპტორებში („ტკივილის რეცეპტორები“). მზარდმა გენეტიკურმა გამოკვლევებმა ცხოველებსა და ადამიანში უჩვენეს, რომ TRP არხების ფიზიოლოგიური როლი საკმაოდ სცილდება ნერვულ სისტემას (Nilius, Owsianik, 2010). მეტიც, სულ უფრო დიდი რაოდენობის გამოკვლევები მიუთითებენ TRP არხების მონაწილეობაზე სხვა პათოლოგიურ პროცესებში, რომლებიც უკავშირდებიან კანს, შარდის ბუშტს, თირკმლებს, სუნთქვისა და საჭმლის მომწელებელ სისტემებს (Boesmans et al., 2011; Dietrich, Guderman, 2011; Holzer, 2011; Moran et al., 2011, Wu et al., 2010).

ამრიგად, სრულიად ლოგიკურია, რომ TRP არხების წევრები შეიძლება აღმოჩნდნენ შესაბამისი სამიზნეები შემდგომი თაობის ანალგეზიური წამლების შესაქმნელად (Bamps et al., 2021; Cortright et al, 2007, Moran, 2018; Patapoutian et al, 2009). ამდენად, TRP არხების სუპეროჯახი რჩება თერაპიული მიზნების აქტუალურ და პოტენციურად მომგებიან ჯგუფად დაავადებების ფართო სპექტრისთვის, დაწყებული რესპირატორული დარღვევებით და ნევროლოგიურ-ფსიქიატრიული დაავადებებით, და დამთავრებული დიაბეტით და სიმსივნეებით. ამიტომ, TRP არხის მოდულატორული წამლების აღმოჩენის მიმდინარე მცდელობები ითვალისწინებს ადამიანის გენეტიკას, რათა მოხდეს კონკრეტული ჩვენებებისა და პაციენტების ჯგუფების იდენტიფიცირება, რომლებსაც შეეძლებათ ისარგებლონ ფარმაკოთერაპიით (Koivisto et al., 2022).

## 2.6. არაოპიოიდური ტოლერანტობა

ოპიოიდური პეპტიდების მოქმედების შედარებით მაღალი ეფექტურობა, – დაკავშირებული, დამოკიდებულების, ტოლერანტობის და ნარკომანიის რისკებთან, მნიშვნელოვანია რა მწვავე, ქრონიკული და ტერმინალური ტკივილის მართვაში, – წარმოადგენს მთავარ მამოძრავებელ მიზეზს თანამედროვე, ე.წ. ოპიოიდური კრიზისის განვითარებაში, მათი ფართო ხელმისაწვდომობასთან, რეცეპტების გადაჭარბულ გამოწერასთან და ფართო გავრცელებასთან ერთად. ამ ოპიოიდური კრიზისის დასაძლევად ფარმაცევტულმა წარმოებამ უნდა აღმოაჩინოს ახალი ანალგეტიკები, რომელთა მექანიზმები არ მოიცავს მიუ-ოპიოიდურ რეცეპტორებს (MOR), მაგრამ გააჩნია ძლიერი ტკვილგამაყუჩებელი ძალა და უარყოფითი

მოქმედების დაბალი რისკი, განსაკუთრებით გადაჭარბებული გამოყენებისა და ტოლერანტობის თვალსაზრისით.

სამიზნეების საკმაოდ შეზღუდული რაოდენობა არსებობს, რომელზეც წამლები მოქმედებენ კლინიკურად მნიშვნელოვანი ანალგეზიის მისაღწევად (ცხრილი 4). უმეტეს შემთხვევაში, ამ ანალგეტიკების მოლეკულური სამიზნეები მხოლოდ კარგად გამოირკვა მათი შემადგენელი კომპონენტების მოქმედების აღმოჩენის შემდეგ, მორფინისა და სალიცილის მჟავის შემცველი მედიკამენტებისთვის; უმრავლესი წამლებისთვის კი მათი ანალგეტიკური მოქმედება მეორადად იქნა აღმოჩენილი სხვა კლინიკური ნიშნების გათვალისწინებით (ანტი-ანთებითი, ანტი-ეპილეფსიური, საანესთეზიო ან ანტი-დეპრესიული) (Bannister et al., 2017; Woolf, 2020).

**ცხრილი 4.** ანალგეზიური სამიზნეები, რომლებიც უზრუნველყოფენ კლინიკურად ვალიდურ ეფექტურობას.

სამიზნეები	ანალგეტიკები (წამლის ფუნქცია)
ალფა2-დელტა კალციუმის არხი	გაბაპენტინი (ანტიეპილეფსიური)
Cav2.2 კალციუმის არხი	ზიკონოტიდი
CGRP	ერენუმაბი (შაკიკი)
COX-2	NSAIDs/COX-2 ინჰიბიტორები (ანტიანთებითი)
მიუ-ოპიოიდური რეცეპტორი	მორფინი/ოპიოიდები
NMDA რეცეპტორი	კეტამინი (ანესთეტიკი)
სუპიაპტერინ რედუქტაზა	სულფასალაზინი (ანტი-ანთებითი)
სეროტონინ-ნორეპინეფრინის უკუმიტაცება	დულოქსეტინი (ანტიდეპრესანტი)
მაზაზე-დამოკიდებული ნატრიუმის არხი	კარბამაზეპინი (ანტიეპილეფსიური)
5-HT1B/D რეცეპტორის აგონისტები	ტრიპტანები (შაკიკი)

*შემოკლებები:* Cav2.2, მაზაზე-დამოკიდებული კალციუმის არხი 2.2; CGRP, კალციტონინის გენტან შეჭიდული პეპტიდი; COX-2, ციკლოოქსიგენაზა-2; 5-HT<sub>1B</sub>, 5-ჰიდროქსიტრიპამინი (სეროტონინი); NMDA, N-მეთილ-D-ასპარტატის რეცეპტორი; NSAID, არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატი (adapted from Woolf, 2020).

იდეალურ შემთხვევაში, აუცილებელია მკურნალობა შეესაბამებოდეს იმ პირობებს, რომლებშიც კონკრეტული სამიზნეებია მთავარი ავადმყოფთა ტკივილის წარმოშობის დადგენაში. ამრიგად, დიაგნოსტიკური ძალისხმევის ნაწილი უნდა იყოს მიმართული იმის გასარკვევად, თუ რა მექანიზმები უნდა იწვევდნენ ცალკეულ პაციენტში ტკივილს და, ამ ინფორმაციის გამოყენებით, დადგინდეს თერაპიული სამიზნეები მკურნალობისთვის. ამის მარტივი ილუსტრაციაა ციკლოოქსიგენაზა-2 (COX-2), რომელიც წარმოიქმნება მაკროფაგებში ანთების ადრეულ პერიოდში და

ხელს უწყობს პერიფერიულ სენსიტიზაციას. საინტერესოა, რომ COX-2 წარმოიქმნება, აგრეთვე, ზურგის ტვინის ნეირონებში, რომლებშიც იგი ხელს უწყობს ცენტრალურ სენსიტიზაციას. პერიფერიული და ცენტრალური ინდუქციის არარსებობის შემთხვევაში, სამიზნე არ არის ხელმისაწვდომი, და ამდენად NSAIDs-ებს არ ექნებათ სამიზნე ეფექტი (Woolf, 2020).

რიგ NSAIDs (აცეტამინოფენი, დიკლოფენაკი, კეტოროლაკი, ლორნოქსიკამი, მეტამიზოლი და სხვ.), კლინიკური და ექსპერიმენტულ ტკივილის პარადიგმებში, გააჩნიათ საშუალო სიძლიერის ეფექტი. ამასთან აღსანიშნავია საკმაოდ მაღალი თერაპიული ინდექსი, პოსტოპერაციული და ანთებითი ტკივილის მდგომარეობების დროს, მკვეთრად გამოხატული გვერდითი მოვლენების გარეშე. თანამედროვე მონაცემებიდან გამომდინარე NSAIDs: 1) მცირე გავლენას ახდენენ მწვავე ნოციცეპციური ტკივილის ზღურბლზე; 2) თუმცა სარწმუნოდ ამცირებენ წარმოქმნილ ფასილიტაციურ მდგომარეობებს მექანიკური და თერმული ჰიპერალგეზიის დროს ვირთაგვების და თაგვების კარაგენანით და ფრეუნდ ადიუვანტით გამოიწვეულ ანთების მოდელებში; 3) ანტიჰიპერალგეზიური ეფექტი კარგად შეინიშნება ნაკლები ანთებით მოდელებში (მაგ., ინტრაპლანტარული ფორმალინით გამოწვეულ მეორე ტონურ ფაზაში); დაბოლოს 4) ძლიერი ანტიჰიპერპათიული ეფექტები აღინიშნება თერმულ (ცხელ, ცივ) ჰიპერალგეზიასა და მექანიკურ ალოდინიაზე, ვირთაგვისა და თაგვის მოდელებში. ეს ეფექტები მიუთუთებს NSAIDs მოქმედებას სპინალურ და სუპრასპინალურ დონეებზე იმის გათვალისწინებით, რომ ეს პრეპარატები და მათი მეტაბოლიტები ციკლოოქსიგენაზების ინჰიბიტორების გარდა შეიძლება მოქმედებდნენ TRP არხებზე, ან კანაბინოიდებისა და სეროტონინის სიგნალიზაციაზე (Haykal et al., 2019; Honvo et al., 2019; Hoshijima et al., 2021).

## 2.7. TRP არხები და NSAIDs

დღეისათვის ტკივილის ტერაპიაში ჩართულია ისეთი წამლები, რომლებიც უკვე რამდენიმე ათეული წელია გამოიყენებიან, მაგ., არასტეროიდული, ანთების საწინააღმდეგო წამლები (non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ან ოპიატები. მაგრამ ამ უკანასკნელთათვის დამახასიათებელი გვერდითი მოვლენები ძალზე ზღუდავს მათ გამოყენებას. NSAIDs მიეკუთვნებიან ინჰიბიტორებს, რომლებიც

თრგუნავენ ციკლო-ოქსიგენაზებს (COX), რაც იწვევს პროსტაგლანდინების სინთეზის ინჰიბირებას. ეს უკანასკნელი კი იწვევენ სენსიტიზაციას და ტკივილის სიგნალების გაძლიერებას (Duggan et al, 2010; Martel-Peletier, et al, 2011). პროსტაგლანდინები (prostaglandins (PGs) წარმოადგენენ პროსტანოიდების ბიოაქტიურ კომპონენტებს. პროსტანოიდებში აგრეთვე გაერთიანებულია პროსტაციკლინი და თრომბოქსანი. პროსტანოიდები წარმოიქმნებიან არაქიდონის მჟავებისაგან, რომელიც გამოთავისუფლდება უჯრედში პლაზმური მემბრანის ფოსფოლიპიდებისაგან ქსოვილის დაზიანების ან ანთების შედეგად. დადგენილია, რომ ექსპრესირებული COX-1 და ინდუცირებული COX-2 გარდაქმნიან არაქიდონის მჟავას პროსტაგლანდინების პრეკურსორებად PGG<sub>2</sub> და PGH<sub>2</sub>, რომელთაგანაც ყველა პროსტანოიდი წარმოიქმნება ქსოვილ-სპეციფიკური ფერმენტ სინთეტაზებით. COX-ის აქტიობის ინჰიბირება წარმოადგენს ძირითად მექანიზმს ასპირინისა და სხვა NSAIDs მოქმედებისა, რაც აღმოჩენილ იქნა გასული საუკუნის 70-იანი წლების დასაწყისში (Vane, 1971; Ferreira, 1972).

არაქიდონის მჟავას არაერთმა წარმოებულმა, მათ შორის რამდენიმე ელექტროფილურმა პროსტაგლანდინმა, აჩვენა TRPA1 არხის გააქტიურება (Hu et al., 2010; Maher et al., 2008; Materazzi et al., 2008; Nassini et al., 2015; Taylor-Clark et al., 2008). ითვლება, რომ კოვალენტური მოდიფიკაცია არის მთავარი მექანიზმი, რომელიც ჩართულია TRPA1 არხების პირდაპირ გააქტიურებაში. ცოტა ხნის წინ ნაჩვენები იყო, რომ ჰესპერიდინი („ვიტამინი P“) ავლენს ანტინოციცეპტურ მოქმედებას და სინერგისტულ რეაქციას კეტოროლაკთან ერთად, შესაძლოა TRPV1 რეცეპტორების იონური არხის ჩართვით, რაც მათ კლინიკურ პოტენციალზე მიუთითებს ტკივილის თერაპიაში (Martinez et al., 2011).

NSAIDs მოქმედების შესწავლა თერმომგრძობიარე TRP არხებზე სრულიად ახალ შუქს მოჰფენს ტკივილის მექანიზმებისა და რეგულირების მოდულაციის საკითხების შესწავლას. ამას გარდა, სხვადასხვა NSAIDs მოქმედება TRP არხებზე შეიძლება შეიცავდეს პოტენციურ შესაძლებლობას ახალი კლასის ანალგეზიური წამლების შექმნისთვის ნოციციცეპტური და ქრონიკული ტკივილის მოსახსნელად.

### 3. კვლევის მეთოდები

#### 3.1 ცხოველები

ექსპერიმენტები ჩატარდა თეთრ ვირთაგვებზე, წონა 200-250 გ. მათი გამრავლება წარმოებდა ივ. ბერიტაშვილის ბიომედიცინის ცენტრის ვივარიუმში. ცხოველები იმყოფებიდნენ სტანდარტულ პირობებში ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 65% ტენიანობა, სინათლე - დილის 6:00 საათიდან საღამოს 8:00 საათამდე), იკვებებოდნენ სტანდარტული საკვებით, წყლის თავისუფალი მიღებით. ცხოველებზე ექსპერიმენტების ჩატარებისას სრულად იყო გათვალისწინებული ტკივილის შემსწავლელი საერთაშორისო ორგანიზაციის მოთხოვნები (Zimmermann, 1983). ექსპერიმენტები ჩატარდა რამდენიმე ეტაპად:

პირველი ეტაპი - საკონტროლო ჯგუფის ტესტირება.

მეორე ეტაპი - TRPM8, TRPV1 და TRPA1 არხების აგონისტების ტესტირება.

მესამე ეტაპი - TRPV1 და TRPA1 არხების ანტაგონისტების ეფექტების შესწავლა.

მეოთხე ეტაპი - NSAID-ის პრე- და პოსტინექციების გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხის შესაბამისი აგონისტების მოქმედებით გამოწვეულ აქტივაციაზე. თითოეულ ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ჯგუფში იყო ექვსი ვირთაგვა.

#### 3.2. ქიმიური პრეპარატები

ქიმიური ნივთიერებების ინექცია: ყველა ქიმიურ ნივთიერება (მდოგვის ზეთი, დარიჩინის ალდეჰიდი, კაპსაიციინი, მენტოლი, TRPA1 არხის ანტაგონისტი-HC-030031, TRPV1 არხის ანტაგონისტი -AMG 517 და ასასწ-ს (დიკლოფენაკი, კეტოროლაკი, ქსეფოკამი) შევიდინეთ კომპანიისგან Sigma-Aldrich Chemicals, Co., (St. Louis, MO, USA). ამ ნივთიერებების სხვადასხვა დოზა შეგვყავდა ვირთაგვების უკანა თათში ნემსით, რომელიც ჰამილტონის მიკროშპრიცთან კანულითაა (PE50) დაკავშირებული. საკონტროლო ცდებში ძირითადად ვიყენებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს, ან სპეციალურ გამხსნელებს (tween, DMSO), რომლებიც შეგვყავდა ანალოგიურადვე. NSAIDs ინექცია ხორციელდებოდა 5-10 წუთით ადრე TRP არხების აგონისტების შეყვანამდე.

### 3.3. ქცევითი ტესტირება

დასახული ამოცანების განსახორციელებლად თათის მოცილების თერმული ტესტი (Thermal paw withdrawal (Hargreaves) test) და თათის მოცილების მექანიკური დაწოლის (Mechanical paw withdrawal threshold (Von Frey) test) ტესტი გამოვიყენეთ. რიგ ცდებში ასევე გამოვიყენეთ ტემპერატურული უპირატესობის ტესტი (Thermal preference test).

#### თათის მოცილების თერმული ტესტი



თავდაპირველად, სამი დღის მანძილზე, ვირთაგვებს ვაჩვენებთ მინის ზედაპირზე (რომელიც თბება 30°C-მდე) დგომას. შემდეგ ვიღებთ ფონურ მონაცემებს: აღვრიცხავთ უკანა თათის ფოკუსირებული სხივით გაღიზიანებისას თათის მოცილების რეფლექსის ფარულ პერიოდს თითოეული ცხოველისთვის სამჯერ, ხუთი წუთის ინტერვალებით (Plantar Test 390, IITC, Woodland Hills, CA, USA). ამის შემდეგ ერთ-ერთ უკანა თათში შეგვყავდა ქიმიური ნივთიერება და ინექციის შემდეგ ვზომავდით ფარულ პერიოდს, როგორც იპსი- ისე კონტრალატერალური თათისთვის 5, 15, 30, 45, 60 და 120 წუთიანი ინტერვალებით. კონტრალატერალური თათი, რომელშიც არ შეგვყავდა ქიმიური პრეპარატი, გამოიყენებოდა გარკვეულწილად, როგორც საკონტროლო.

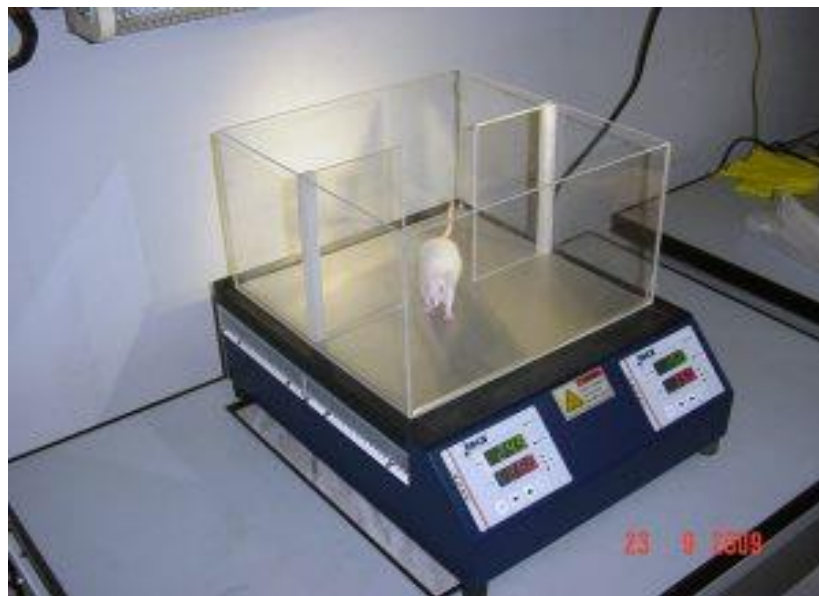
#### თათის მოცილების მექანიკური ტესტი





თავდაპირველად თავგებს ვათავსებთ პლექსიგლასის ყუთში მისაჩვენად. ამ ყუთს არ აქვს ძირი და ცხოველი თავსდება უშუალოდ ბადეზე, რომლის ქვედა მხრიდან შესაძლებელია თათების მექანიკური გაღიზიანება პლასტმასის წვერიანი ღერით (ფილამენტი). ხელსაწყოთი წარმოებს თათის მოცილების ფარული პერიოდის რეგისტრაცია ციფრულად (2390 IITC, CA, USA). თითოეული უკანა თათისთვის იზომება ფონური მონაცემები სამჯერ, 5 წთ-ის ინტერვალებით. ამის შემდეგ თავგების ერთ-ერთ უკანა თათში ვახდენდით ქიმიური გამღიზიანებლის ინექციას და ვზომავდით მექანიკურ გამღიზიანებელზე (დაწოლა) თათის დაწოლის ზღურბლს, ისეთივე ინტერვალებით, როგორც წინა ტესტში. ორივე ტესტისთვის გამოვიყენებთ თავგების ერთსა და იმავე ჯგუფს, მაგრამ ტესტებს შორის მინიმუმ 7 დღიანი ინტერვალით.

### ტემპერატურული უპირატესობის ტესტი



ვირთავგებს თავდაპირველად ვათავსებთ მისაჩვენად პლექსიგლასის ყუთში, რომელიც მოთავსებულია თერმულ-ელექტრულ ფირფიტაზე (PE34 Hot/Cold Plate, IITC, USA), რომლის ორი ნაწილი შესაძლებელია დავაყენოთ სასურველ ტემპერატურაზე. თავდაცვითი რეაქციის (თათის აწევა, ლოკვა, შეხტომა) პერიოდის დაფიქსირებისთანავე ცხოველი ამოიყვანება ყუთიდან და ბრუნდება თავის გალიაში.

### 3.4 მონაცემთა ანალიზი

თათის თერმული და მექანიკური მოცილების რეაქციები სტატისტიკურად გამოითვლებოდა განმეორებადი ვარიაციული ანალიზით. მონაცემთა შეჯერება წარმოებდა საკონტროლო და სატესტო ჯგუფებს შორის  $t$ -Tukey-Kramer ტესტით. მიღებული მონაცემები გამოხატავენ საშუალოს  $\pm$  საშუალო კვადრატული გადახრას. სტატისტიკური სარწმუნოობა განისაზღვრებოდა  $P < 0,05$  შემთხვევისთვის. გამოვიყენეთ კომპიუტერული სტატისტიკური პაკეტი Prism 4.03 (GraphPad Software, Inc., USA)

## 4. შედეგები და განხილვა

### 4.1. TRP არხების აქტივაციის შესწავლა

სენსორულ ნეირონებში სულ მცირე ექვსი ტემპერატურისადმი მგრძობიარე TRP არხი ექსპრესირდება და მათი უმრავლესობა ამავე დროს წარმოადგენს ზემოთ აღნიშნული ქიმიური ნივთიერებების რეცეპტორებს, როგორებიცაა დარიჩინის ალდეჰიდი, მენტოლი, მდოგვის ზეთი, კაპსაიციინი და სხვა.

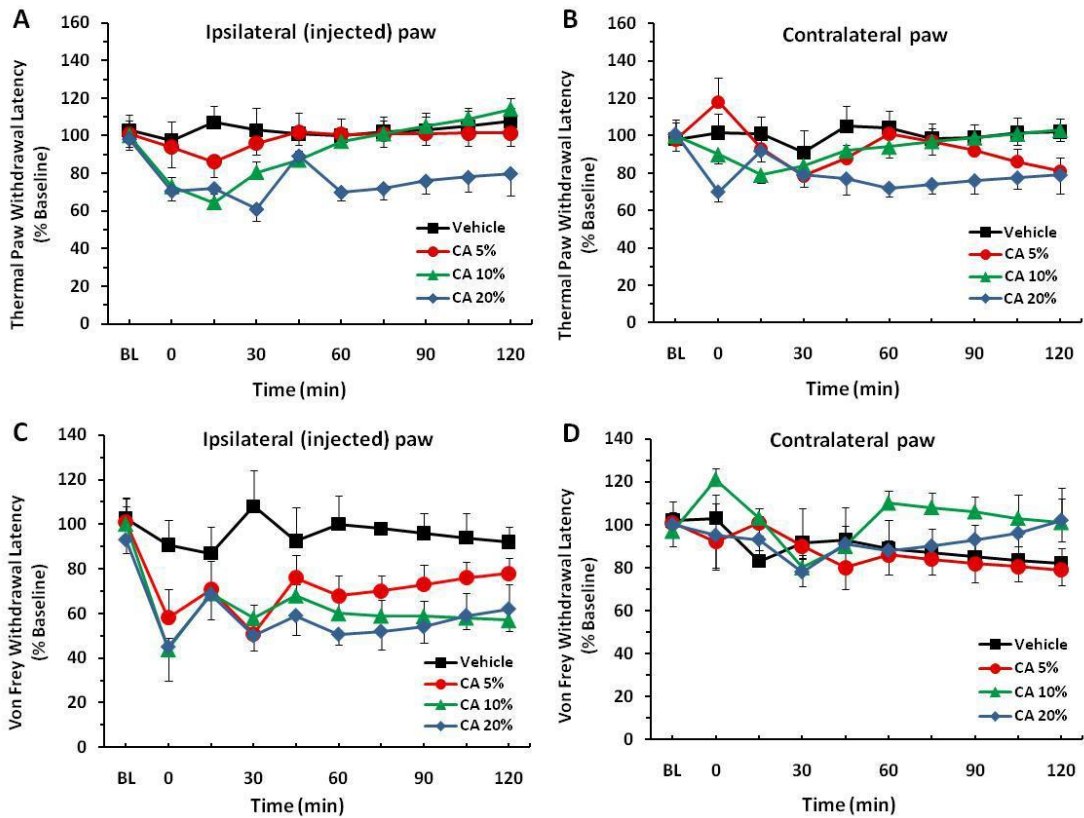
წინამდებარე ნაშრომში პირველ ეტაპზე ჩვენ გამოვიკვლიეთ TRP არხებზე შესაბამისი აგონისტების – დარიჩინის ალდეჰიდის, მდოგვის ზეთის, კაპსაიციინის, მენტოლის – მოქმედების ეფექტები, შემდგომ ეტაპებზე შევისწავლეთ TRP არხების ანტაგონისტების გავლენა ამ არხების აქტივაციაზე და NSAIDs-ის გავლენა TRP არხების შესაბამისი აგონისტებით გამოწვეულ აქტივაციაზე.

#### 4.1.1. დარიჩინის ალდეჰიდით TRPA1 არხის აქტივაცია

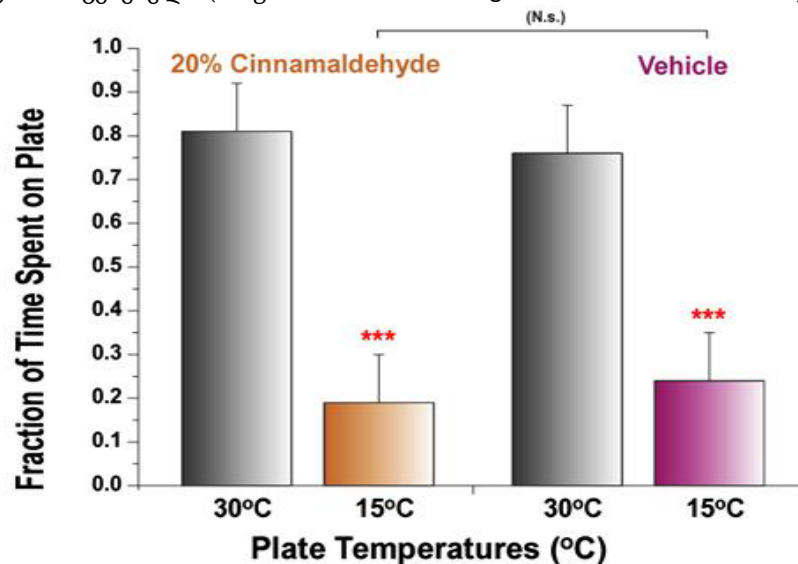
თერმო-TRP ოჯახის წევრი, TRPA1 არხი განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს მისი ფუნქციური მრავალფეროვნების გამო. ამასთან, ის როგორც უჯრედების სენსორი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სხვადასხვა პათოფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს (Nilius et al., 2012; Zheng, 2013).

TRPA1 არხს ააქტივებს დარიჩინის მწვავე ქიმიური კომპონენტი – დარიჩინის ალდეჰიდი (CA) და ასევე 18°C-ზე დაბალი ტემპერატურა. ცდების ამ სერიაში ჩვენ შევისწავლეთ თუ როგორ ურთიერთქმედებენ თერმული და ქიმიური გამღიზიანებლებლები TRPA1 არხების აქტივაციის დროს. კერძოდ, ჩვენ ვირთავებში სპეციფიკურად გამოვიკვლიეთ TRPA1 შესაბამისი აგონისტით – დარიჩინის ალდეჰიდით გამოწვეულ ეფექტზე მტკივნეული სითბური და სიცივის სტიმულების გავლენა.

მე-17 სურათზე ჩანს, რომ CA-ის სამი განსხვავებული კონცენტრაცია (5%, 10% და 20%) იწვევს რამდენადმე დოზა-დამოკიდებულ სითბურ ჰიპერალგეზიასა და მექანიკურ ალოდინიას. 20% CA და 10% CA ინექცირებული ვირთავების ჯგუფის ეფექტები სარწმუნოდ განსხვავდება ( $p < 0.05$ ) 5% CA და vehicle ჯგუფებისაგან ორივე ტესტის შემთხვევაში. კონტრალატერალური თათში (B,D) CA სხვადასხვა კონცენტრაციები არ იწვევენ სარწმუნო ეფექტებს ( $p > 0.5$ ). ამასთან, უნდა აღინიშნოს, რომ დარიჩინის ალდეჰიდით განპირობებული ჰიპერალგეზია გრძელდება დაახლოებით 2 საათს.

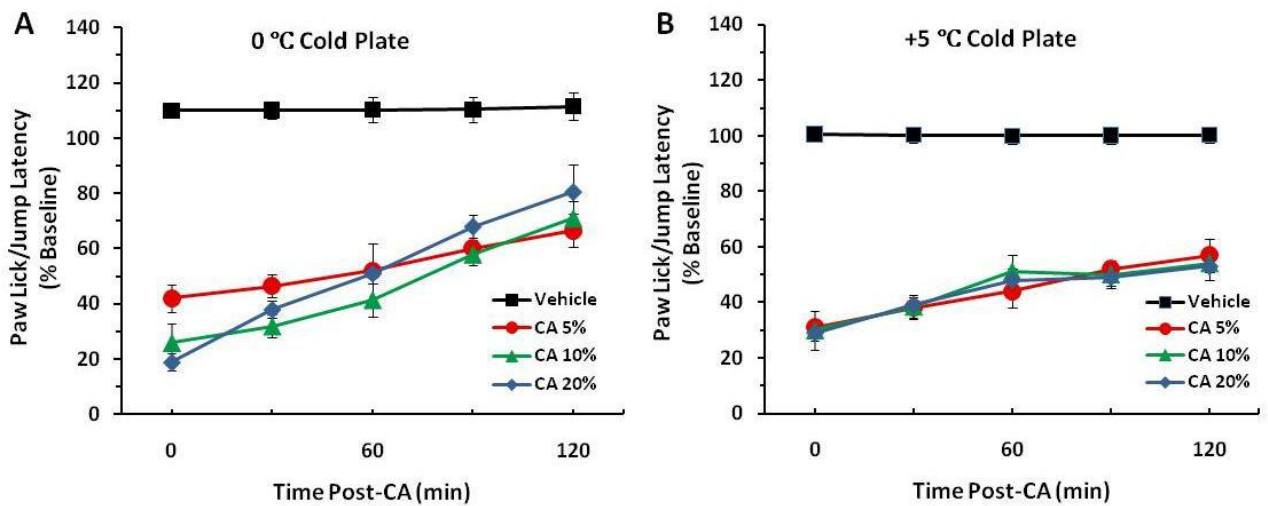


სურათი 17. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ლატენტური პერიოდისა და მექანიკურ გალიზიანების ზღურბლის ცვლილების დინამიკა იპსილატერალურ თათში (A,C) სხვადასხვა კონცენტრაციის CA - ისა და vehicle ინექციისას. კონტრალატერალური (არაინექცირებული) თათი (B,D). BL - ბაზისური მაჩვენებელი (Tsagareli et al. Bull. Georgian National Acad. Sci.2010)



სურათი 18. ვირთაგების ექსპერიმენტული და საკონტროლო ჯგუფები, რომლებსაც გაუკეთდა 20% CA, აჩვენებენ ცივი ფირფიტის მნიშვნელოვან აცილებას. თერმული უპირატესობის ტესტირებისთვის ვირთაგვა თავსდება ზედაპირზე, რომელიც შედგება ორი მიმდებარე თერმოელექტრული ფირფიტისგან, რომლებიც შეიძლება დამოუკიდებლად გაცხელდეს ან გაცივდეს წინასწარ დაყენებულ ტემპერატურამდე (-5-დან  $> 50 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ -მდე). ორივე ფირფიტას ზემოდან აქვს პლექსიგლასის ყუთი, ცენტრალური ტიხრით, რომელის შუა ნაწილი გახსნილია, რათა ვირთგვას თავისუფლად შეეძლოს გადაადგილება ორ ზედაპირს შორის. ერთი ფირფიტა თბება  $30^{\circ}\text{C}$ -მდე, ხოლო მეორე  $15^{\circ}\text{C}$ -მდე. CA ან საკონტროლო ხსნარის ინექციას ვახდენთ ერთდოულად ორივე უკანა თათში.

მე-18 სურათზე ნაჩვენებია, რომ ტემპერატურული უპირატესობის ტესტში (30°C და 15°C) ვირთაგვებმა, რომლებსაც შეყვანილი აქვთ მაღალი კონცენტრაციის (20%) CA, ავლენენ სარწმუნო განრიდებას ცივი ფირფიტის მიმართ. ისინი დროის დიდ ნაწილს 30°C-მდე გამთბარ ფირფიტაზე ატარებენ ( $p < 0.001$ ). იგივე ეფექტი შეიმჩნევა საკონტროლო ხსნარით დამუშავებულ ცხოველებში. ეს ნიშნავს, რომ TRPA1 არხი არ არის მგრძობიარე აღნიშნული ტემპერატურების (30 °C vs 15 °C) მიმართ.



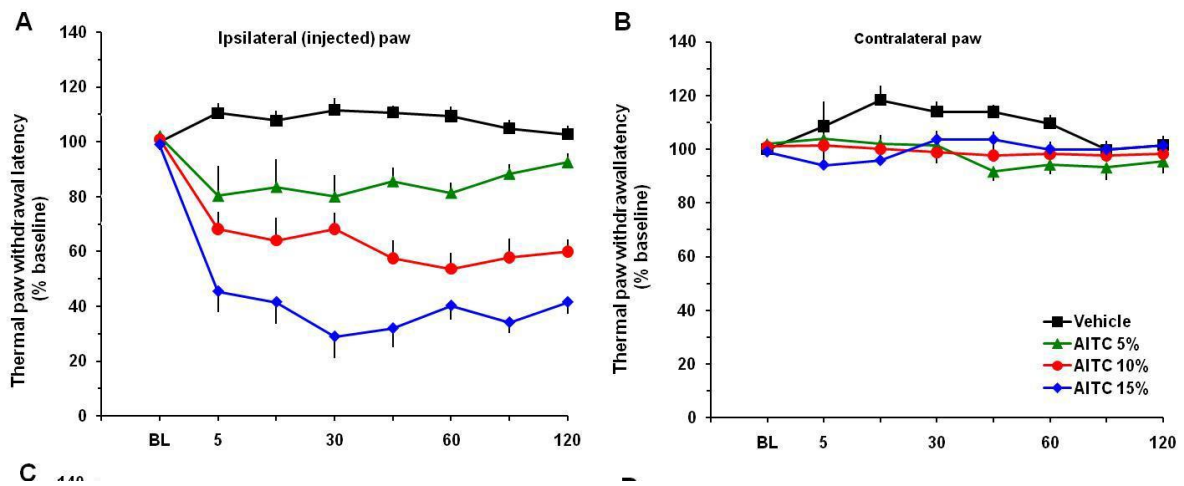
სურათი 19. ვირთაგვების ექსპერიმენტული და საკონტროლო ჯგუფები, რომლებსაც გაუკეთდა CA, აჩვენებენ ცივი ფირფიტის მნიშვნელოვან განრიდებას. ცივი ფირფიტის ტესტირებისთვის ვირთაგვა თავსდება ზედაპირზე, რომელს ტემპერატურაა 0 °C (A) ან 5 °C (B). ფირფიტაზე ცხოველი თავსდება 2 საათის განმავლობაში. სხვადასხვა კონცენტრაციის CA -ის ან საკონტროლო ხსნარის ინექციას ვახდენთ ერთდროულად ორივე უკანა თათში.

სურათი 19A - სხვადასხვა კონცენტრაციის CA (5%, 10%, 20%) ბილატერალურმა ინექციამ ცივი ფირფიტის ტესტში – 0°C -ზე, აჩვენა ფირფიტაზე ცხოველის ყოფნის პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებული შემცირება ( $p < 0.05$ ), რაც ცივი სტიმულის მიმართ გამოვლენილ ჰიპერალგეზიაზე მიუთითებს. სურათი 19B - სხვადასხვა კონცენტრაციის CA (5%, 10%, 20%) ბილატერალურმა ინექციამ ცივი ფირფიტის ტესტში – 5°C, აჩვენა ფირფიტაზე ცხოველის ყოფნის პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებული შემცირება ( $p < 0.05$ ), რაც ცივი სტიმულის მიმართ გამოვლენილ ჰიპერალგეზიაზე მიუთითებს. ე.ი. ამ ტესტების მიხედვით TRPA1 არხი მგრძობიარეა დაბალი ტემპერატურების მიმართ.

ამრიგად, CA-ის (5%, 10% და 20%) უკანა თათში ტერფქვეშა უნილატერალური ინექცია იწვევს იპსილატერალური თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებულ შემცირებას სითბური (ცივი) ტკივილის სტიმულებზე, ანუ ჰიპერალგეზიას. იგი ასევე ამცირებს თათის მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლს, ე.ი. იწვევს მექანიკურ ალოდინიას. CA-ის ბილატერალურმა ინექციამ გამოავლინა ჰიპერალგეზია სიცივეზე (ცივი ფირფიტის ტესტი) და არამტკივნეულ სიცივეზე განრიდება (თერმული უპირატესობის ტესტი). TRPA1 აგონისტებით გამოწვეული ეფექტები მიუთითებს, რომ TRPA1 არხი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს თერმული, მექანიკური და ტკივილის შეგრძნებათა აღმოცენებაში.

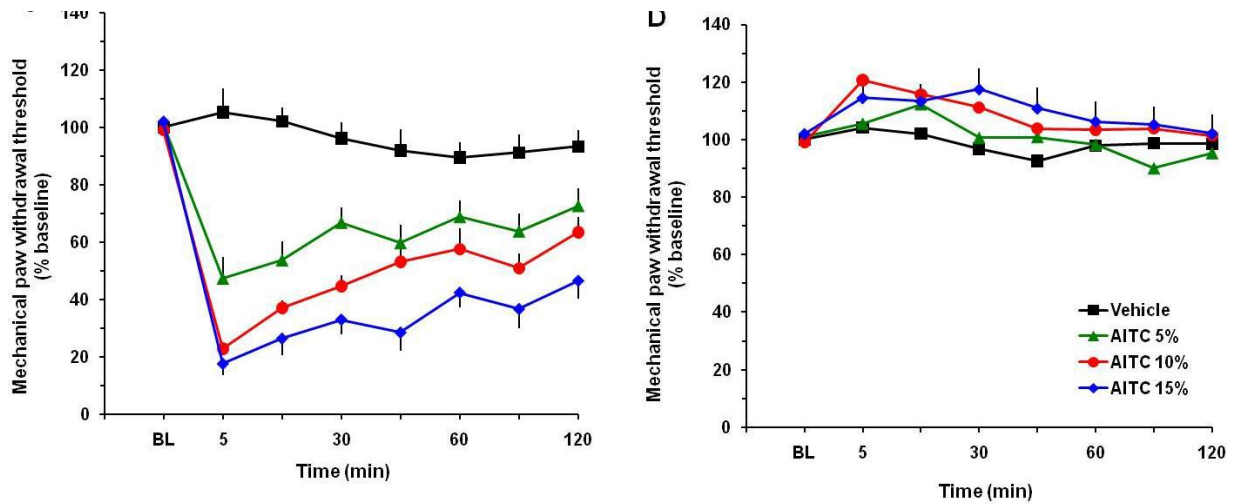
#### 4.1.2. მდოგვის ზეთით TRPA1 არხის აქტივაცია

TRPA1 არხის მეორე აგონისტი, მდოგვის ზეთის ძირითადი კომპონენტი ალილ იზოთიოციანიტი (AITC) გამოიყენება, როგორც *in vivo* ტკივილის მოდელი პრეკლინიკურ კვლევებში. ეს ნივთიერება იწვევს ანთებას, სპონტანურ ტკივილს და ძლიერ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიას.

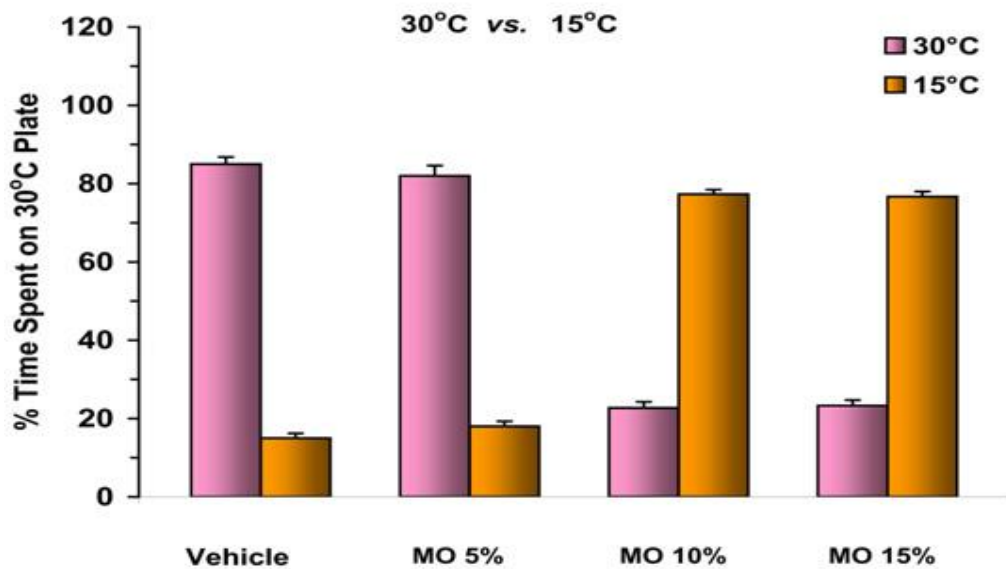


მე-20 სურათზე ნაჩვენებია TRPA1 არხის მგრძობელობის ცვლილება AITC-ის მიმართ. წარმოდგენილია თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდის (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში AITC -ის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და საკონტროლო ხსნარის ინექციის შემდეგ ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფში. AITC-ის ყველა

კონცენტრაცია (5%, 10%, 15%) იწვევს დოზა-დამოკიდებულ სითბურ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას კონტროლთან შედარებით ( $P < 0.001$ ).



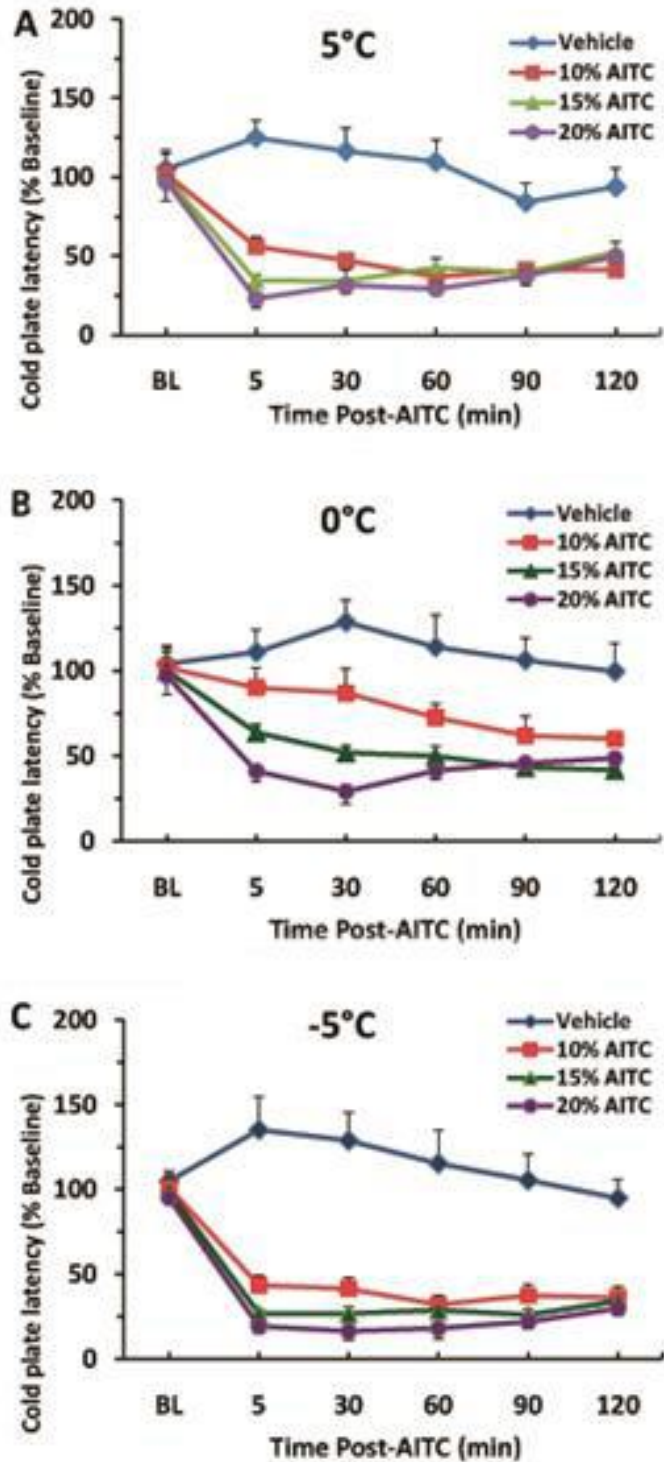
სურათი 20. AITC - ის მიკროიექცია იპსილატერალურ თათში (A,C) კონტრალატერალურთან (არაინექცირებული) შედარებით იწვევს დოზა-დამოკიდებულ სითბურ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას. კონტრალატერალური (არაინექცირებული) თათი (B,D). BL - ბაზისური მაჩვენებელი (Nozadze et al, Behav Pharmacol, 2016b).



სურათი 21. AITC-ის მოქმედების ბიფაზური ეფექტები ტემპერატურული უპირატესობის ტესტში (Nozadze et al., Behav Pharmacol, 2016b).

21-ე სურათზე მოცემულია AITC-ის მოქმედების ბიფაზური ეფექტები, რომელიც გამოვლინდა ტემპერატურული უპირატესობის ტესტით. AITC-ის აგონისტის მაღალი კონცენტრაციების (10% და 15%) შემთხვევაში ვირთაგვები უფრო მეტ დროს ატარებენ ცივ ფირფიტაზე ( $P < 0,01$ ), ვიდრე თბილზე, მაშინ როცა დაბალი

კონცენტრაციისა (5%) და საკონტროლო ხსნარის (vehicle) შემთხვევაში უპირატესობას ანიჭებენ თბილ ფორფიტას ( $P < 0.001$ ).



სურათი 22. AITC-ის ინტრაპლანტარული ინექციები იწვევს დოზა-დამოკიდებულ ცივ ჰიპერალგეზიას (A) +5°C, (B) 0°C და (C) -5°C, შესაბამისად. გასათვალისწინებელია, რომ AITC-ის ეფექტი არის მაქსიმალური 5 წუთის შემდეგ. BL - ბაზისური მაჩვენებელი (Nozadze et al, Behav Pharmacol, 2016b)



22-ე სურათზე წარმოდგენილია სხვადასხვა კონცენტრაციის AITC-ის მოქმედების ეფექტები ცივი ფირფიტის ტესტით (A) 5 °C, (B) 0 °C და (C) -5 °C, შესაბამისად. AITC-ის ინექციები იწვევს დოზა-დამოკიდებულ ჰიპერალგეზიას. AITC-ის ბილატერალურმა ინექციამ გამოიწვია ცივი ფირფიტის ლატენტობის მნიშვნელოვანი შემცირება კონტროლთან (vehicle მინერალური ზეთი) შედარებით, ე.ი. ადგილი აქვს ცივი სტიმულის მიმართ გამოვლენილ ჰიპერალგეზიას. არ გამოვლინდა AITC-ის ანტინოციცეპტური ეფექტი აღნიშნული ტესტით. -5 °C ცივი ფირფიტის ტესტში, AITC გამოიწვია ძალიან მნიშვნელოვანი განსხვავება საკონტროლო ხსნარით დამუშავებულ ჯგუფებთან შედარებით ( $P < 0.001$ ). გასათვალისწინებელია, რომ საკონტროლო ხსნარი ავლენს გარკვეულ დამცავ ეფექტს ცივი ტემპერატურის მიმართ ვიდრე AITC, განსაკუთრებით -5 °C-ცივი ფირფიტის ტესტში.

TRPA1, როგორც სენსორული ნეირონების ლიგანდ-დამოკიდებული არხი, თავდაპირველად მოხსენებული იყო, რომ აქტივდება ცივი, 18°C-ზე დაბალი ტემპერატურით (Caterina MJ, 2007; Abin et al., 2008), თუმცა ეს მოსაზრება სადავოა (Belmonte et al., 2008). TRPA1 რეცეპტორები პასუხისმგებელი არიან ცენტრალური ტკივილის ჰიპერმგრძობელობაზე სხვადასხვა პათოფიზიოლოგიურ პირობებში, როგორცაა ანთებითი და ნეიროპათიური ტკივილი (Eid, 2008; Kerstein et al., 2009), თუმცა, ჩვენი ქცევითი მონაცემები მხარს უჭერს TRPA1 რეცეპტორების როლს სიცივის გამოვლენაში, რადგან CA-ის ინტრაპლანტარული ინექცია ვირთაგვებში იწვევს ცივი ზედაპირის თავიდან არიდებას (ტემპერატურის უპირატესობის ტესტი) და მნიშვნელოვნად ამცირებს თათის მოცილების რეფლექსის ლატენტურ პერიოდებს 0°C-ზე და -5°C-ზე (ცივი ფირფიტის ტესტი), რაც მიუთითებს ჰიპერალგეზიაზე სიცივის მიმართ. ცივი ფირფიტის ტესტში, ჩვენ გამოვავლინეთ ცივი ჰიპერალგეზია AITC-ით დამუშავებულ ჯგუფში და არ დაფიქსირდა რაიმე ანტინოციცეპტური ეფექტი (Nozadze et al., 2014) ეს შედეგები შეესაბამება შესაძლებლობას, რომ TRPA1 არხის ანტაგონისტებს შეუძლიათ აწიონ TRPA1 არხების სიცივით გამოწვეული ზღურბლი, რათა გაზარდონ მათი სიცივისადმი მგრძობელობა (Karashima et al., 2009).

ამრიგად, AITC-ის (5%, 10% და 15%) უკანა თათში ტერფქვემა უნილატერალური ინექცია იწვევს იპსილატერალური თათის მოცილების თერმული

რეფლექსის ფარული პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებულ შემცირებას სითბური ტკივილის სტიმულებზე, ანუ ჰიპერალგეზიას. იგი ასევე ამცირებს თათის მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლს, ე.ი. იწვევს მექანიკურ ალოდინიას. AITC-ის ბილატერალურმა ინექციამ გამოავლინა ჰიპერალგეზია სიცივეზე (ცივი ფირფიტის ტესტი) და არამტკივნეულ სიცივეზე განრიდება (თერმული უპირატესობის ტესტი). TRPA1 აგონისტებით გამოწვეული ეფექტები მიუთითებს, რომ TRPA1 მნიშვნელოვან როლს ასრულებს თერმული, მექანიკური და ტკივილის შეგრძნებათა აღმოცენებაში.

დასკვნის სახით შეიძლება ითქვას, რომ TRPA1 არხი წარმოადგენს თბილი ტემპერატურის სენსორს; როდესაც ის სტიმულირდება სხვადასხვა აგონისტებით (მაგ., AITC, CA და ა.შ.), შედეგად ადგილი აქვს უფრო მეტად ცხელის შეგრძნებას, და არა სიცივის შეგრძნებას. თუმცა, TRPA1-ის როლი სიცივის განცდასა და სიცივით გამოწვეული ტკივილის მგრძნობელობაში ჯერ კიდევ რჩება საკამათო. ჩვენს მიერ წარმოდგენილი მონაცემები მხარს უჭერენ TRPA1-ის როლს სიცივის გამოვლენაში, რადგან TRPA1 აგონისტმა CA გაზარდა სიცივის მგრძნობელობა ორ ქცევით ტესტში. სრულიად უდავოა, რომ TRPA1 არხი ჩართულია ტკივილის შეგრძნებაში და TRPA1 აგონისტები აძლიერებენ მგრძნობელობას სითბურ ტკივილზე, შესაძლოა TRPV1 არხის არაპირდაპირი მოდულირებით, რომელიც TRPA1-თან ერთად ექსპრესირდება ნოციციპტორებში (Nozadze et al., 2016a, b; Nozadze et al., 2019; Tsagareli et al., 2013b).

#### 4.1.3. მენტოლის მოქმედებით გამოწვეული TRPM8 არხის აქტივაცია

როგორც უკვე ავლინებთ, თითქმის ოცდახუთი წლის წინ *Trp* გენების სუპეროჯახის აღმოჩენამ, რომელიც განაპირობებს TRP კათიონური ცილოვანი არხების სინთეზს, მოგვცა სრულიად ახალი შესაძლებლობები ამ არხების ფიზიოლოგიური და პათოფიზიოლოგიური თავისებურებების შესასწავლად. TRP იონური არხების კვლევის გაფართოებამ მოიპოვა მდიდარი ინფორმაცია მათი მოლეკულური მექანიზმების შესახებ ზოგიერთი პოტენციური წამლის სამიზნეების იდენტიფიცირებისთვის. ასევე იზრდება ინტერესი ცხოველთა მოდელების მიმართ, რომლებშიც სიმულირებულია რიგი ადამიანის გენეტიკური აშლილობები და სხვ. ამჟამინდელ ადრეულ ეტაპზე ბევრი რამ არის გასარკვევი იონური არხების ამ მნიშვნელოვანი სუპერ ოჯახის შესახებ, რომლებიც ძირითადად სენსორულ ფუნქციას ასრულებენ. მათი გააქტიურების მექანიზმების გააზრება უდავოდ

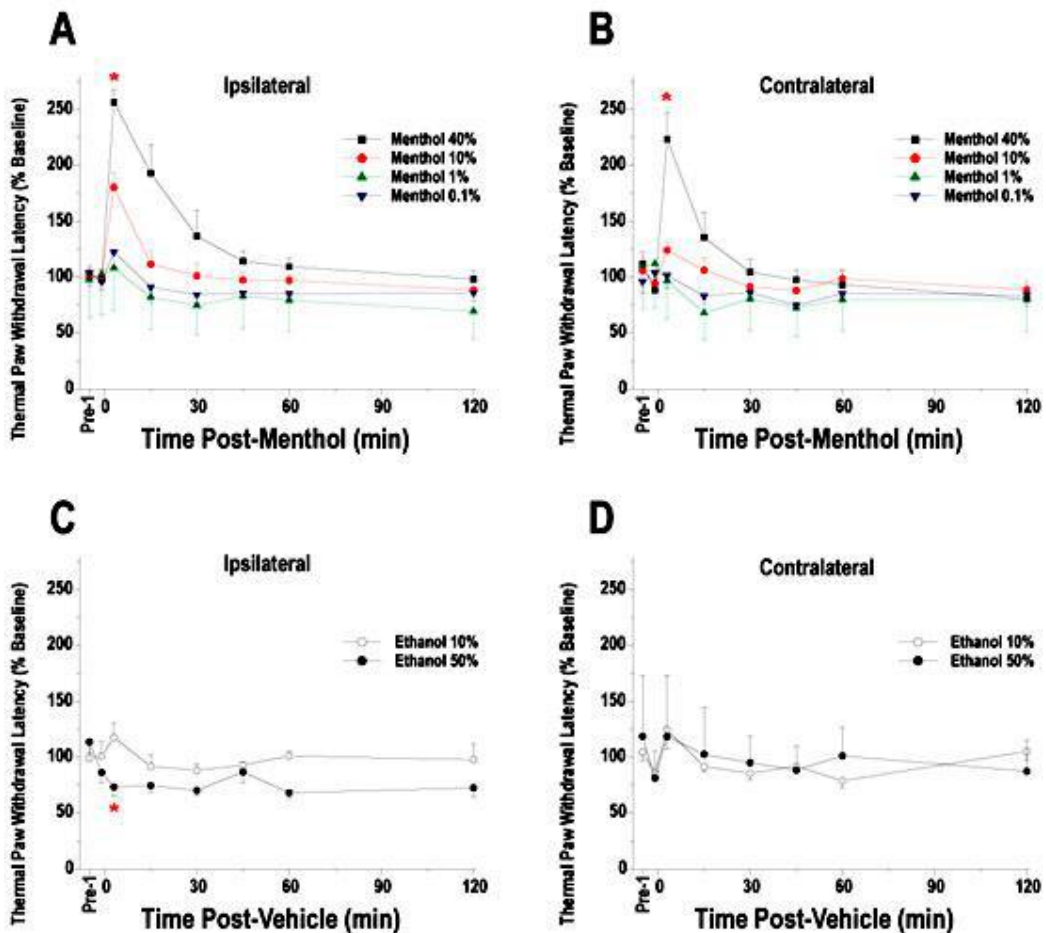
დაეხმარება TRP არხების მრავალმხრივი როლის გამოვლენას ნორმალურ და პათოლოგიურ პირობებში, იგულისხმება ნევროლოგიური და ონკოლოგიური დაავადებები, ტკივილი, ვისცერული ორგანოებისა და გენეტიკური დაავადებები.

TRPM8 იდენტიფიცირებულია, როგორც ცივი და მენტოლაქტივირებადი იონური არხი პერიფერიულ სენსორულ ნეირონებში, რომელიც უპირატესად გამტარია  $Ca^{2+}$  იონებისთვის. ის გადამწყვეტ როლს თამაშობს დაბალი ტემპერატურის გამოვლენაში. მალამოები და ტკივილგამაყუჩებლები საშუალებები ხშირად შეიცავს 5-16% მენტოლს ან უფრო მეტს. მენტოლი, მცენარე პიტნის *Mentha x piperita*-ს (Lamiaceae) ბუნებრივი პროდუქტი მონოტერპენი ფართოდ გამოიყენება კოსმეტიკაში, ასევე როგორც არომატიზატორი და როგორც შუამავალი სხვა ნაერთების მისაღებად. პიტნის სხვადასხვა ექსტრაქტები შეიცავს მენტოლს, როგორც ძირითად აქტიურ კომპონენტს და საუკუნეების განმავლობაში გამოიყენება, როგორც ტრადიციული წამალი მრავალი დაავადების სამკურნალოდ, მათ შორის ინფექციების, უძილობის და ასევე მწერების ნაკბენების საწინააღმდეგოდ (Journigan et al., 2013). გარდა ამისა, კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ მენტოლი უსაფრთხო და ეფექტურია სხვადასხვა მტკივნეული მდგომარეობის სამკურნალოდ, მათ შორისაა კუნთოვანი ტკივილი, სპორტული დაზიანებები, ნეიროპათიური ტკივილი და შაკიკი. გარდა ამისა, მენტოლი ასევე გამოიყენება საკვებ დანამატებში და აქვს ფართო გამოყენება პირის ღრუს ჰიგიენაში.

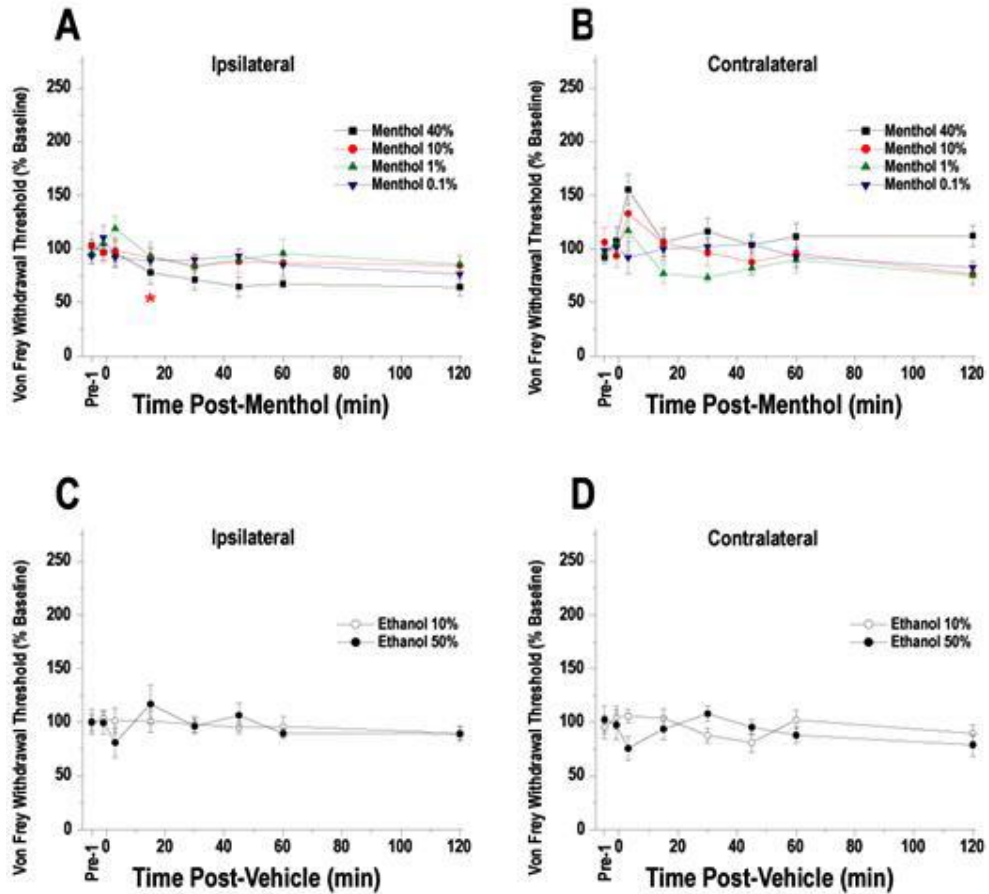
TRPM8 არხი აქტიურდება  $28^{\circ}C$ -ზე დაბალი ტემპერატურით, ისევე როგორც მენტოლითა და სხვა გამაგრილებელი აგენტებით, ხოლო TRPM8 ნოკაუტირებული თაგვები ავლენენ ცივი ზედაპირის მიმართ დაქვეითებულ მგრძობელობას (Dhaka et al., 2007; Colburn et al., 2007).

23-ე სურათზე წარმოდგენილია მენტოლის მოქმედების ეფექტები თათის მოცილების თერმული ტესტით. 40%, 10% და 1% მენტოლით დამუშავებული ვირთაგვის ჯგუფების მონაცემები მნიშვნელოვნად განსხვავდება საკონტროლო ხსნარით დამუშავებული ჯგუფებისგან, ამასთან 40% მენტოლით დამუშავებული ჯგუფის მონაცემები მნიშვნელოვნად განსხვავდება ყველა სხვა კონცენტრაციის ეფექტებისაგან ( $p < 0.01$ ). აღინიშნება თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებულ ზრდა. ე.ი. მენტოლს გააჩნია ანტინოციცეპტური ეფექტი. 10%-იანი მენტოლის ჯგუფის მონაცემები

მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა 1%-ისგან ( $p = 0.07$ ), ისევე როგორც 0.1% და 0.01% ჯგუფები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება საკონტროლო ხსნარით დამუშავებული ჯგუფებისგან. კონტრალატერალური თათში შეიმჩნევა სარკისებური გამოსახულების აშკარა ეფექტი (სურ. 23B). C და D გვიჩვენებს საკონტროლო ხსნარით დამუშავებული ჯგუფის მონაცემებს. მნიშვნელოვანი განსხვავებაა სხვადასხვა კონცენტრაციის საკონტროლო ხსნარით დამუშავებულ ჯგუფებს შორის ( $p < 0.01$ ), 50% ეთანოლმა, როგორც საკონტროლო ხსნარმა, გამოიწვია თერმული რეფლექსის ლატენტიური პერიოდის მნიშვნელოვანი შემცირება ( $p < 0.01$ ) (სურ. 23C). ეთანოლის სხვადასხვა კონცენტრაციების ეფექტი კონტრალატერალურ თათში იგივეა (სურ. 23D).



სურათი 23. თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდის დინამიკა მენტოლის სხვადასხვა კონცენტრაციის შემთხვევაში (A). აღინიშნება თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდის სარწმუნო, დოზა-დამოკიდებული ზრდა ( $p < 0.01$ ) კონტრალატერალურ თათთან (B) და საკონტროლო ხსნარებთან (C,D) შედარებით (Tsagareli et al. Bull. Georgian National Acad. Sci.2010).

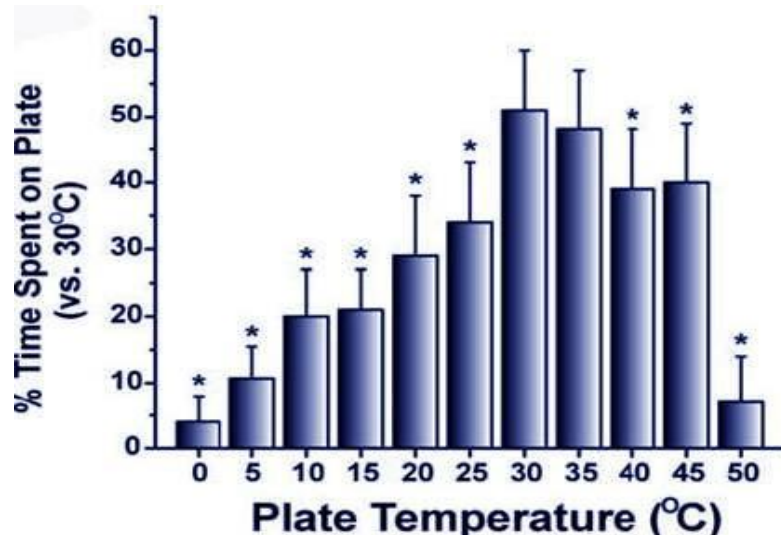


სურათი 24. მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა მენტოლის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და საკონტროლო ხსნარის ინექციისას. მაღალ კონცენტრაციაზე (40%) მენტოლს (A) გააჩნია სუსტი ალოდინური ეფექტი, რაც მიუთითებს მის მცირე ლოკალურ ანესთეზიურ უნარზე. კონტრალატერალური თათის მონაცემები (B). საკონტროლო ხსნარის ეფექტი (C,D), (Tsagareli et al. Bull. Georgian National Acad. Sci.2010).

24-ე სურათზე წარმოდგენილია მენტოლის მოქმედების ეფექტები თათის მოცილების მექანიკური ტესტით. იპსილატერალური (ინექცირებული) უკანა თათის (A) მონაცემები 0.1-10% მენტოლის ჯგუფების შემთხვევაში მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება საკონტროლო ხსნარით დამუშავებული ჯგუფებისგან. მხოლოდ 40% მენტოლის ჯგუფის მონაცემები მნიშვნელოვნად განსხვავდება დანარჩენი კონცენტრაციის (0.1%, 1%, 10%) ეფექტებისგან ( $p < 0.05$ ), რაც მიუთითებს მაღალი კონცენტრაციის მენტოლის მიერ გამოწვეულ ალოდინიაზე. კონტრალატერალური უკანა თათისთვის (B), მენტოლის კონცენტრაციის არცერთი ჯგუფის ეფექტი არ განსხვავდება საკონტროლო ხსნარის ჯგუფებისგან. C და D სურათებზე მოცემული მონაცემები აჩვენებს, რომ არ არის მნიშვნელოვანი განსხვავება საკონტროლო

ხსნარის ჯგუფებს შორის, როგორც იპსილატერალური, ისე კონტრალატერალური თათებისთვის.

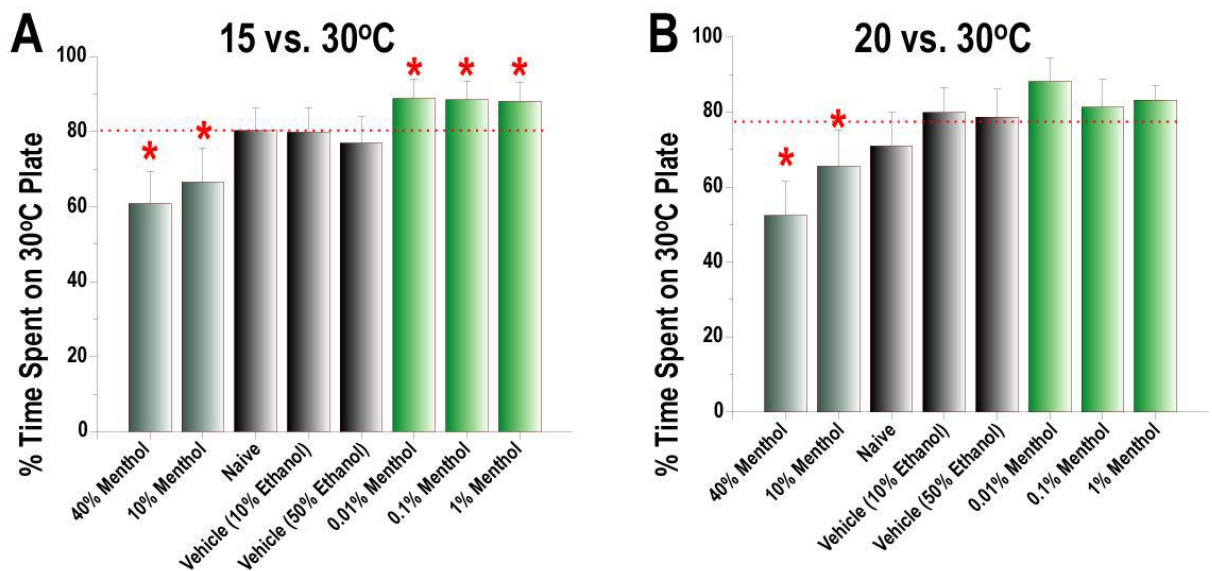
ექსპერიმენტების მომდევნო სერიაში შევისწავლეთ თუ როგორ ურთიერთქმედებენ თერმული და ქიმიური გამღიზიანებლებლები TRPM8 არხების აქტივაციის დროს. ამისთვის პირველ ეტაპზე ჩატარდა საკონტროლო ცდები, რომელთა შედეგები წარმოდგენილია 25-ე სურათზე. აღმოჩნდა, რომ არაინექცირებული ცხოველები მნიშვნელოვნად ერიდებოდნენ 30°C-ზე დაბალ და 35°C-ზე მაღალ ტემპერატურას ( $p < 0.05$ ) (სურ. 25).



სურათი 25. ვირთაგვები მოთავსებულია თერმოელექტრონულ ფირფიტაზე, რომლის ტემპერატურა დამოუკიდებლად შეიძლება ვარირებდეს 5 °C-დან > 50 °C-მდე დიაპაზონში. გრაფიკი ასახავს დროის საშუალო პროცენტს, რომელიც გაატარეს ვირთაგვებმა თბილ ან ცივ ფირფიტაზე. ისინი მნიშვნელოვნად ერიდებოდნენ < 30 °C და > 35 °C ტემპერატურას ( $p < 0.05$ ). (Tsagareli et al. Bull. Georgian National Acad. Sci.2010)

26-ე სურათზე მოცემულია ტემპერატურული უპირატესობის ტესტის შედეგები. ექსპერიმენტული ჯგუფის ვირთაგვებში ვახდენდით 10% და 40% მენტოლის, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში vehicle-ის (10% ეთანოლი) ბილატერალურ ინექციას და განვსაზღვრავდით ტკივილის ხარისხს შესაბამისი ტემპერატურის მქონე ფირფიტაზე გატარებული დროის მიხედვით. ტესტირებისთვის ერთი ფირფიტა დაყენებული იყო 30 °C-ზე, ხოლო მეორე 15 °C ან 20 °C-ზე. მენტოლის მაღალი კონცენტრაციამ (10% და 40%) გამოიწვია ვირთაგვების მნიშვნელოვნად ( $p < 0.05$ ) შემცირებული დროის გატარება 30°-ზე, კონტროლთან შედარებით, რაც მიუთითებს სიცივის მიმართ ჰიპომგრძობელობაზე. დაბალ კონცენტრაციებში (0.01-1%) ვირთაგვები მნიშვნელოვნად მეტ დროს ატარებდნენ

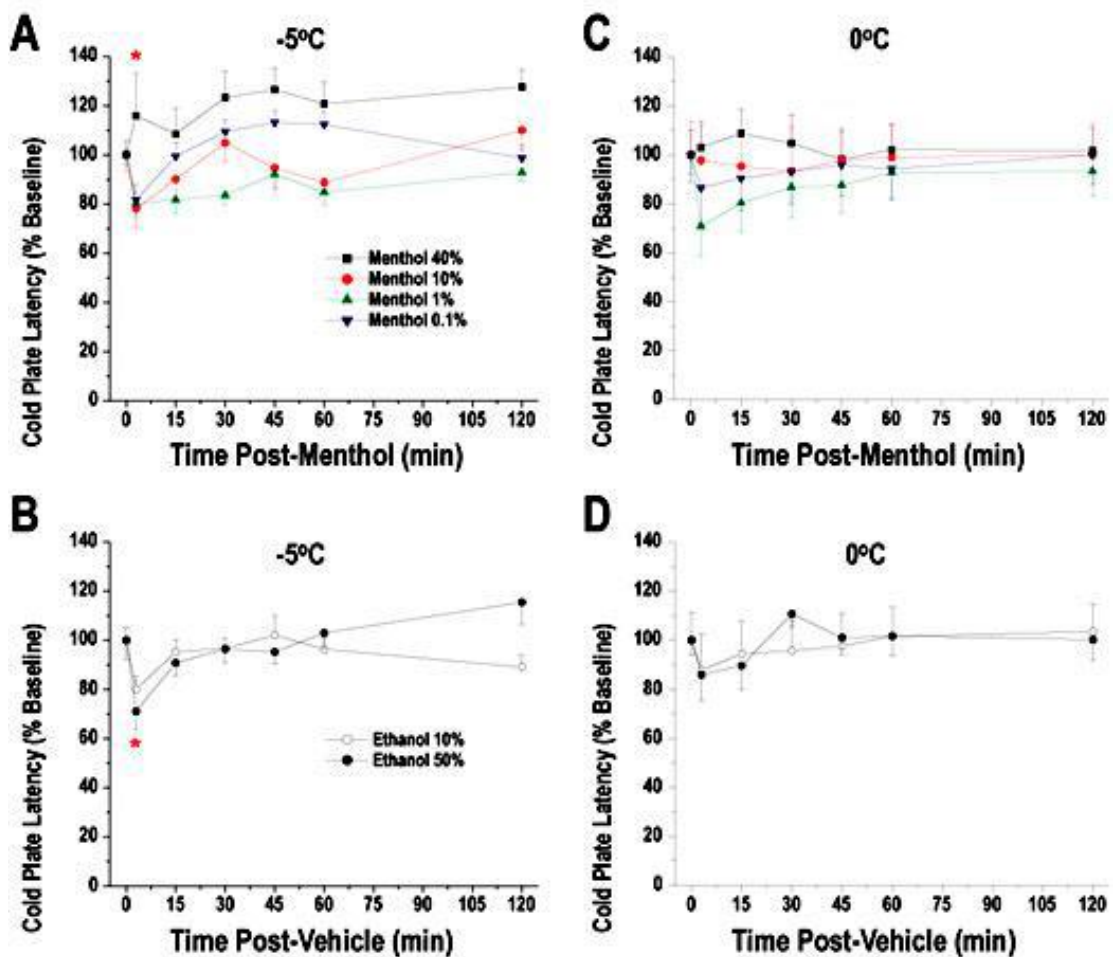
30°C ზედაპირზე ( $p < 0.05$ ), რაც მიუთითებს სიცივის მიმართ ჰიპერმგრძობელობაზე. მენტოლის ყველაზე დაბალ კონცენტრაციაზე (0,01%) დაფიქსირდა ფირფიტის გადაკვეთის რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება ( $9,7 \pm 1,3$ ), არაინექცირებულ და საკონტროლო ხსნარებით დამუშავებულ ცხოველებთან შედარებით ( $16,7 \pm 2,3$  და  $15,4 \pm 1,8$ , შესაბამისად,  $p < 0,05$  ორივესთვის). არ იყო მნიშვნელოვანი განსხვავებები საკონტროლო ჯგუფებს შორის, 10% ეთანოლი, 50% ეთანოლი და ინტაქტური ჯგუფები აჩვენებდნენ პრეფერენციებს 30 °C ფირფიტაზე  $79,9 \pm 6,6\%$ ,  $77 \pm 7,0\%$  და  $80,3 \pm 6,0\%$  შესაბამისად.



სურათი 26. მენტოლს აგააჩნია ორფაზიანი ეფექტი ტემპერატურის უპირატესობის ტესტში მაღალი (40%, 10%) და დაბალი კონცენტრაციის (0.01%, 0.1%, 1%) მენტოლის აპლიკაციისას, (Tsagareli et al. Bull. Georgian National Acad. Sci.2010).

მიღებული კვლევის შედეგები შეიძლება შეჯამდეს შემდეგნაირად: მენტოლი ზრდის თათის მოცილების მექანიკურ ზღურბლს ორივე, იპსი- და კონტრალატერალურ თათში (სურ. 24). ასევე ზრდის ცივი ფირფიტის ლატენტურ პერიოდს 0 °C-ზე, რაც მიუთითებს მის ანტინოციცეპტურ ეფექტზე. მენტოლის უმაღლესი კონცენტრაცია (40%) ასევე სარწმუნოდ ახანგრძლივებს ცივი ფირფიტის ლატენტობას, რაც შეესაბამება ანტინოციცეფციას. თუმცა, მენტოლის დაბალი კონცენტრაცია მნიშვნელოვან გავლენას არ ახდენს ცივი ფირფიტის ტესტის ლატენტობაზე, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ მენტოლის ანტინოციცეპტური ეფექტი უკეთ გამოხატულია ცხელ სტიმულზე (სურ. 23A), ვიდრე ცივზე (ცივი ფირფიტის ტესტი, -5 °C -ზე) (სურ. 27A). ნაკლებად სავარაუდოა, რომ ეფექტი დაკავშირებული

იყოს მენტოლის ადგილობრივ საანესთეზიო თვისებასთან, რადგან მენტოლის უმაღლესი კონცენტრაცია ზრდის მექანომგრძობელობას (ალოდინია). მენტოლის ადგილობრივი გამოყენება ამ კონცენტრაციის დიაპაზონში იწვევს მის ანტინოციცეპტურ მოქმედებას, როგორც 0 °C, ასევე -5 °C ტემპერატურით განპირობებული ტკივილის დროს. საკონტროლო ჯგუფებში -5 °C -ზე (სურ. 27B) სხვადასხვა კონცენტრაციების (10% და 50%) ეთანოლის ეფექტები განსხვავებულია, ხოლო 0 °C-ზე (D) იგივე კონცენტრაციის ეთანოლის გამოყენების შემთხვევაში განსხვავება არ აღინიშნება.



სურათი 27. 40% მენტოლის ანტინოციცეპტური ეფექტი -5 °C ცივი ფირფიტის ტესტში (A).

ამრიგად, მენტოლი დოზა-დამოკიდებულად ზრდის თათის მოცილების რეფლექსის ლატენცობას, ე.ი. გააჩნია ანტინოციცეპტური ეფექტი. ჩვენი მონაცემებით იგი არ უნდა მოქმედებდეს მექანორეცეპტორებზე, თუმცა მაღალ კონცენტრაციაზე (40%) გააჩნია სუსტი ალოდინიური ეფექტი, რაც მიუთითებს მცირე ლოკალურ ანესთეზიურ უნარზე. სიცვისადმი განრიდების ტესტმა



გამოავლინა მენტოლის ბიფაზური მოქმედება. მაღალ ტემპერატურაზე იგი ამცირებს სიცივეზე განრიდებას, მაშინ როცა დაბალ სარწმუნოდ ზრდის ამ უკანასკნელ ეფექტს.

მთლიანობაში, წარმოდგენილი შედეგები ზოგადად შეესაბამება ნეიროფიზიოლოგიურ და ადამიანის ფსიქო-ფიზიოლოგიურ მონაცემებს და მხარს უჭერს TRPM8 არხის, როგორც ტკივილის მოდულაციის პოტენციურ პერიფერიულ სამიზნეს (Albin et al., 2008; Klein et al., 2010; Zanotto et al., 2008).

#### 4.1.4. კაპსაიცინის მოქმედებით გამოწვეული TRPV1 არხის აქტივაცია

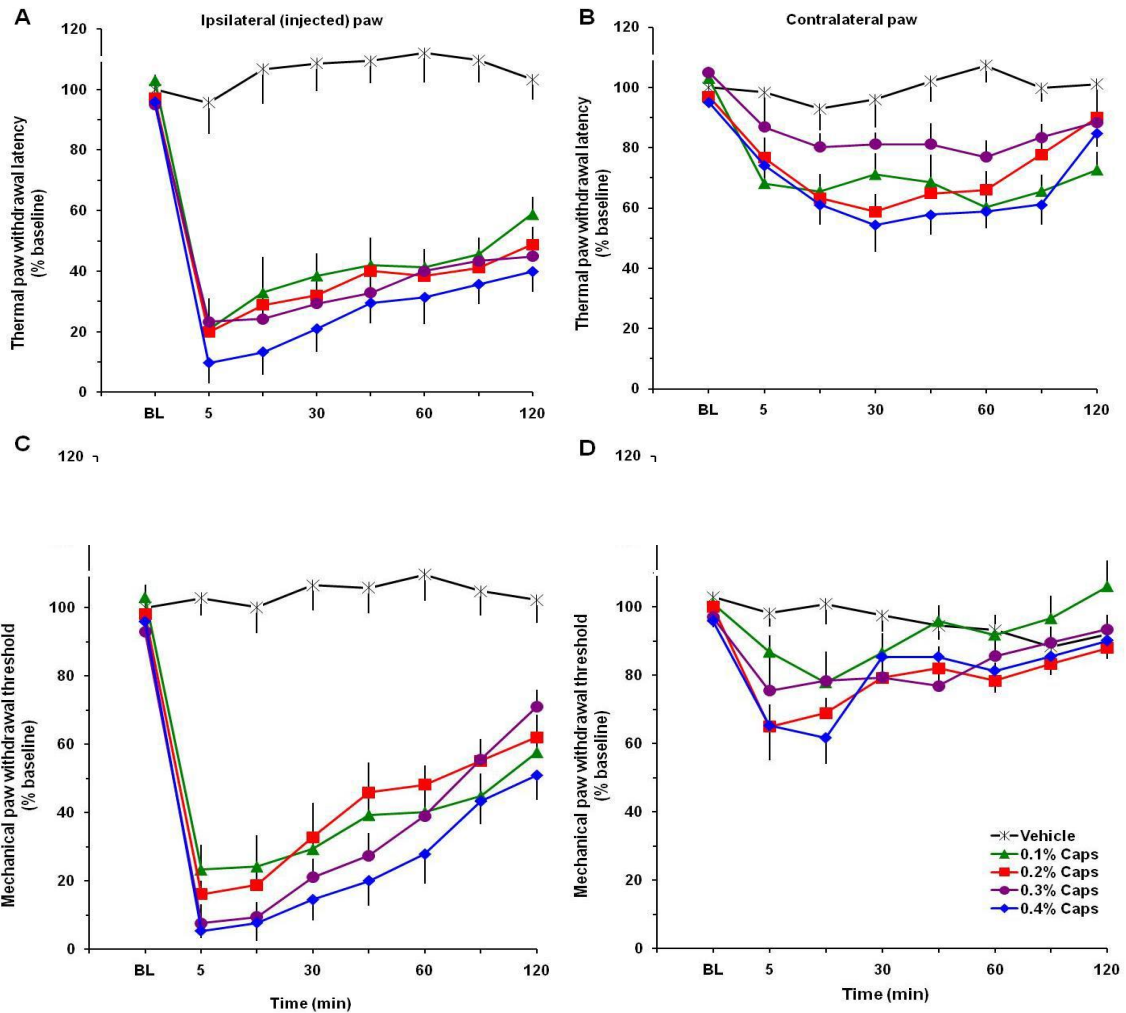
კაპსაიცინი არის წიწაკის (პილპილის) (*Capsicum*) ბუნებრივი კომპონენტი და განაპირობებს მის სიცხარეს. TRPV1 არხი აქტიურდება ცხარე სანელებლით, რომელიც წარმოქმნის კაპსაიცინოიდებს, როგორც აქტიურ ინგრედიენტებს. კაპსაიცინოიდები არის ფენოლური ამინის (ვანილამინის) საშუალო ზომის ამიდები, ძირითადად განშტოებული ცხიმოვანი მჟავებით. ჩილის წიწაკას თორმეტზე მეტი ძირითადი კაპსაიცინოიდი ახასიათებს, რომელთაგან ყველაზე გავრცელებულია კაპსაიცინი (Nilius et al., 2013).

სტრუქტურულად, TRPV1 ქვედანაყოფებს აქვთ ექვსი ტრანსმემბრანული დომენი უჯრედშიდა N- (რომელიც შეიცავს 6 ანკირინის მსგავს გამეორებას) და C-ბოლოებს და ფორების რეგიონს TM5 და TM6 შორის, რომლებიც შეიცავს უბნებს, არხის აქტივაციისა და იონის სელექციურობისთვის. N - და C - ბოლოებს აქვთ უბნები, რომლებიც წარმოადგენს ფოსფორილირების/დეფოსფორილირებისა და ფოსფატიდილინოზიტოლის ბიფოსფატის [PI(4,5)P<sub>2</sub>] შეკავშირების ადგილებს TRPV1 მგრძნობელობის რეგულირებით. არხს აქვს რამდენიმე ურთიერთმოქმედი ცილა, რომელთაგან ზოგიერთი (მაგ. AKAP7a/150) მნიშვნელოვანია TRPV1 ფოსფორილირებისთვის. TRPV1 არხის კინეტიკა ავლენს მრავალ ღია და დახურულ მდგომარეობას და შემოთავაზებულია არხის გააქტიურების რამდენიმე მოდელი ლიგანდის შეერთებით და ტემპერატურით. თავგებზე TRPV1 აგონისტებსა და ანტაგონისტებზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა TRPV1-ის როლი ტკივილში, თერმორეგულაციასა და ოსმორეგულაციაში (Bevan et al., 2014, Nozadze et al., 2014).

კაპსაიცინის კანზე ზემოქმედება იწვევს მტკივნეული წვის შეგრძნებას ვანილოიდური TRPV1 რეცეპტორის მეშვეობით, რომელიც ასევე აქტიურდება

მტკივნეული თერმული სტიმულებით 43 °C-ზე ზემოთ ან მყავე გარემოში pH=5.4 (Tominaga 2009).

ცდების ამ სერიაში, ქცევითი ტესტების გამოყენებით, ჩვენ გამოვიკვლიეთ, მოქმედებს თუ არა კაპსაიცინი თერმული და მექანიკური სტიმულების მიმართ მგრძობელობაზე მამრ ვირთავეებში.

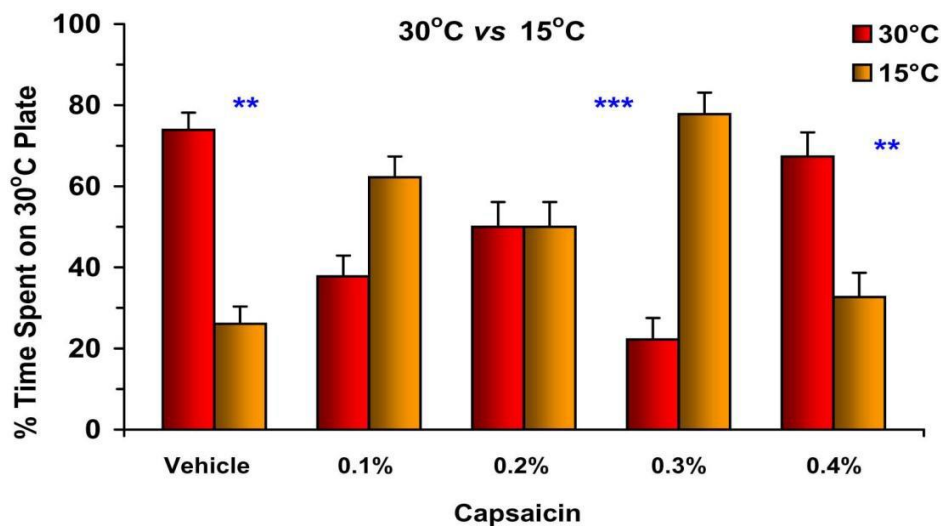


სურათი 28. სხვადასხვა კონცენტრაციის კაპსაიცინით განპირობებული თერმული და მექანიკური ჰიპერალგეზია (A). კონტრალატერალური (B) თათის შემთხვევაში მიიღება იპსილატერალურ თათში ინექციებით განპირობებული ეფექტის რამდენადმე შემცირებული სარკისებური გამოსახულება (Nozadze et al., *Behav Pharmacol*, 2016b).

28-ე სურათზე ნაჩვენებია თერმული თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A, B) და მექანიკური ზღურბლის (C, D) ცვლილების დინამიკა იპსი-და კონტრალატერალურ თათში კაპსაიცინის სხვადასხვა კონცენტრაციისა (0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%) და საკონტროლო ხსნარის ინექციის შედეგად ვირთავეების სხვადასხვა ჯგუფებში. კაპსაიცინის მიკროინექცია იპსილატერალურ თათში კონტრალატერალურთან (არაინექცირებული) შედარებით იწვევს სარწმუნო, დოზა-

დამოკიდებულ სითბურ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას. თათის თერმული მოცილების რეფლექსის შემთხვევაში კაპსაიცინის ყველა კონცენტრაციამ აჩვენა მნიშვნელოვანი ეფექტი კონტროლთან შედარებით ( $P < 0.001$ ). A და C სურათებზე მოცემულია იპსილატერალური (ინექცირებული) თათის მონაცემები, ხოლო B და D სურათებზე კი კონტრალატერალური (არაინექცირებული) თათის მონაცემები. თათის მოცილების მექანიკური გაღიზიანების ტესტმა აჩვენა კაპსაიცინის სხვადასხვა კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი ეფექტი კონტროლთან შედარებით ( $P < 0.001$ ). არსებობს სარკისებური ეფექტი თათის თერმული მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (B) და მექანიკური ზღურბლის (D) ცვლილებაში ( $P < 0.01$ ).

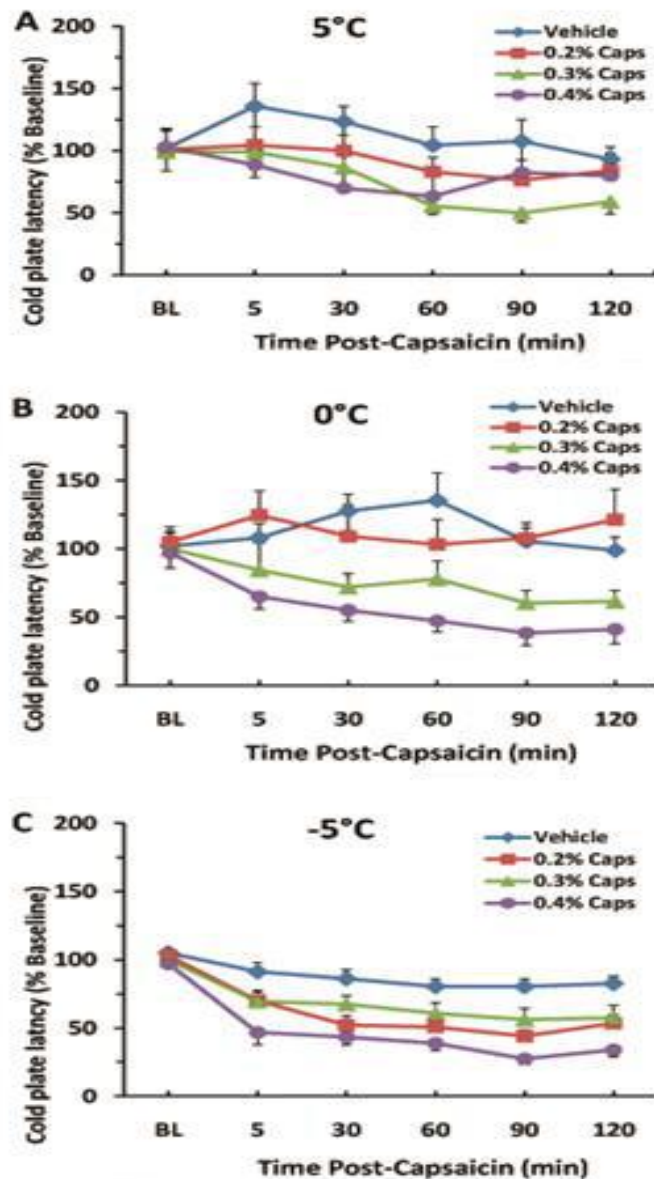
ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში შევისწავლეთ სხვადასხვა კონცენტრაციის კაპსაიცინის ეფექტები ტემპერატურული უპირატესობის ტესტით. კაპსაიცინის სხვადასხვა დოზების ბილატერალური ინტრაპლანტარული შეყვანა იწვევს ჰიპერ- ან ჰიპომგრძობლობას  $30^{\circ}\text{C}$  და  $15^{\circ}\text{C}$  ტემპერატურის მიმართ.



სურათი 29. კაპსაიცინის ორფაზიანი ეფექტი თერმულ უპირატესობაზე (Nozadze et al., *Behav. Pharmacol.*, 2016b).

როგორც 29-ე სურათიდან ჩანს ვირთაგვები დროის დიდ ნაწილს ატარებენ  $15^{\circ}\text{C}$ -ის ფირფიტაზე  $30^{\circ}\text{C}$ -თან შედარებით. სახლდობრ,  $0.3\%$  კაპსაიცინის დროს ვირთაგვები მნიშვნელოვნად მეტ დროს ატარებდნენ  $15^{\circ}\text{C}$ -ზე, ვიდრე  $30^{\circ}\text{C}$  ფირფიტაზე ( $P < 0.001$ ), კონტროლთან (Vehicle) შედარებით, რაც მიუთითებს სიცივის ჰიპომგრძობლობაზე. თუმცა, კაპსაიცინის ყველაზე მაღალი ( $0.4\%$ )

კონცენტრაციის ინექციისას ვირთაგვები მნიშვნელოვნად მეტ დროს ატარებდნენ 30 °C ფირფიტაზე, ვიდრე 15 °C ფირფიტაზე, ისევე როგორც საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვები ( $P < 0.01$ ). დაბალ (0,1% და 0,2%) კონცენტრაციებში არ იყო მნიშვნელოვანი განსხვავებები თბილ (30 °C) და ცივ (15 °C) ფირფიტებს შორის. თუმცა კაპსაიცინის ყველაზე დაბალი (0.1%) კონცენტრაციის ინექციისას ცხოველები ძლიერ უპირატესობას ანიჭებდნენ ცივ (15°C) ფირფიტას, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.



სურათი 30. კაპსაიცინის ინტრაპლანტარული ინექციები იწვევს დოზა-დამოკიდებულ ცივ ჰიპერალგეზიას (A) +5°C, (B) 0°C და (C) -5°C, შესაბამისად კონტროლთან (vehicle). სურათი გვიჩვენებს ცივი ფირფიტის ლატენტურობის ცვლილებას კაპსაიცინის მითითებული კონცენტრაციების ადგილობრივი გამოყენების შემდეგ. როგორც ჩანს კაპსაიცინის ეფექტი დროთა განმავლობაში იზრდება, გამომდინარე იქედან, რომ ის უფრო ნელა დიფუნდირდება კანში (Nozadze et al., *Behav. Pharmacol.*, 2016b).

ამრიგად, კაპსაიცინის სხვადასხვა კონცენტრაცია (0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%) დოზა-დამოკიდებულად ცვლის თათის მოცილების რეფლექსების პასუხებს მტკივნეულ სითბურ და მექანიკურ გაღიზიანებებზე. ტემპერატურული უპირატესობის ტესტით გამოვლინდა ამ ნივთიერების მოქმედების ბიფაზური ხასიათი. კაპსაიცინის 0.1% და 0.2% კონცენტრაციების ხსნარების ინექციის შემთხვევაში, ექსპერიმენტული ჯგუფის ცხოველები უპირატესობას ანიჭებენ თბილ (30 °C) ფირფიტაზე ყოფნას, მაშინ როცა 0.3% ხსნარის შემთხვევაში უფრო მეტ დროს ატარებდნენ ცივ ფირფიტაზე (15 °C). ეს შედეგები შეესაბამება მდოგვის ზეთის ინექციით მიღებულ მონაცემებს და ადასტურებს TRP არხებზე შესაბამისი აგონისტების მოქმედების დოზა და ტემპერატურა დამოკიდებულ მოქმედებას.

ამრიგად, ჩვენი კვლევებით დასტურდება რომ TRPV1 არხი, როგორც სითბოს სენსორი, რეაგირებს მის აგონისტ კაპსაიცინზე, რაც იწვევს გაცხელების შეგრძნებას და შესაბამისად ამცირებს ზღურბლს მაღალი ტემპერატურის მიმართ (Nozadze et al., 2016a, b).

ჩვენი კვლევის შედეგები ასევე მიუთითებს, რომ თერმოსენსიტიურ იონურ არხებს შეუძლიათ გარემოში ტემპერატურული ცვლილებების დიაპაზონის დაფიქსირება და ნერვულ სიგნალებად გარდაქმნა. ჩვენ განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს TRP არხის აგონისტების შესაძლებლობა განახორციელონ ტემპერატურული მგრძობელობის მოდულირება, რაც მნიშვნელოვანი ტკივილის შეგრძნების ფორმირებისთვის. TRPV1, როგორც სითბური გამღიზიანებლის სენსორი, აქტივდება შესაბამისი აგონისტით – კაპსაიცინით, რომელიც იწვევს სითბოს შეგრძნებას. TRPV1 წარმოადგენს რა თერმომგრძობიარე არხს, ამავე დროს კაპსაიცინის მიმართ ავლენს გააქტივების დაბალ ზღურბლს (Tsagareli et al., 2013b).

როგორც ზევით ავლნიშნეთ, მიუხედავად იმისა, რომ TRPA1 არხი არის დაბალი ტემპერატურის სენსორი, შესაბამისი აგონისტებით (მაგ., AITC, CA და სხვ.) მოქმედებისას აღმოცენდება ტკივილის შეგრძნება, ვიდრე სიცივის. TRPA1 არხის როლი ცივი სტიმულების მიმდებლობაში და ცივით განპირობებული ტკივილის ფორმირებაში ურთიერთსაწინააღმდეგოა. ჩვენი ბოლო მონაცემები ადასტურებს TRPA1-ის როლს სიცივის გამოვლენაში, TRPA1 აგონისტმა CA გააძლიერა სიცივის მიმართ მგრძობელობა ორივე ქცევითი ტესტში. TRPA1 უდავოდ მონაწილეობს ტკივილის შეგრძნების ფორმირებაში, რადგან მისი აგონისტები იწვევენ სითბურ

ტკივილს. ეს ფაქტი შეიძლება განპირობებული იყოს TRPV1 არხის მამოდულირებელი გავლენით TRPA1–ზე, რადგან ისინი ერთად ექსპრესირდებიან პერიფერიულ ნოციცეპტორებში.

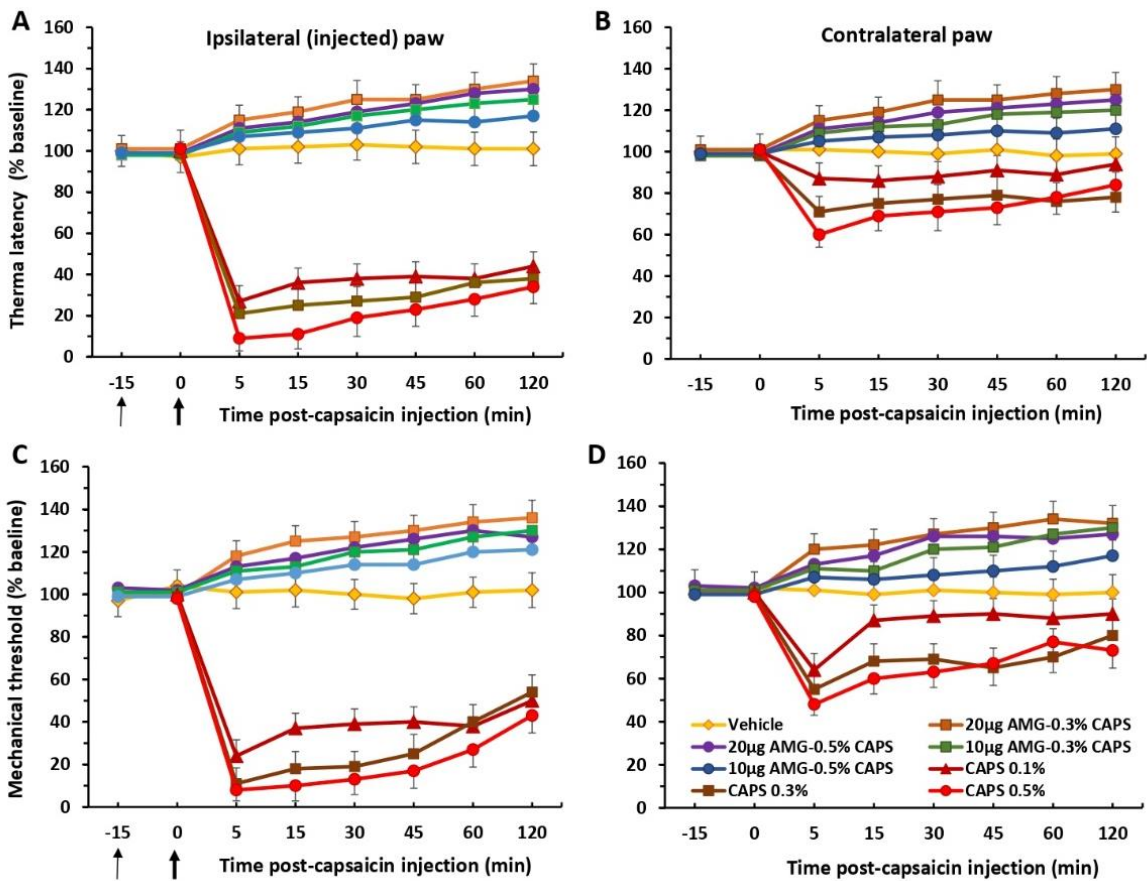
#### **4.2. TRP არხების ანტაგონისტების ეფექტების შესწავლა**

ჩვენ ნათლად ვაჩვენეთ, რომ ბუნებრივი ქიმიური ნივთიერებები, როგორცაა დარიჩინის ალდეჰიდი, ალილ იზოთიოციანატი, კაპსაიციინი და მენტოლი გავლენას ახდენენ ვირთაგვების მექანიკურ და თერმულ მგრძობელობაზე. ამ შედეგების მიხედვით TRPA1 და TRPV1 არხები აშკარად მონაწილეობენ ტკივილის რეაქციებში და TRPA1 აგონისტები აძლიერებენ სითბურ ტკივილს, რაც შესაძლოა განპირობებული იყოს TRPV1 არხის მამოდულირებელი გავლენით TRPA1–ზე, რადგან ისინი პერიფერიულ ნოციცეპტორებში ერთად ექსპრესირდებიან (Nozadze et al., 2014, 2016a, 2020; Tsagareli, 2020). საერთო ჯამში, ჩვენი წინა მონაცემები ადასტურებს, რომ თერმომგრძობიარე TRPA1 და TRPV1 არხები მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ტკივილის მოდულაციაში და ეს ორი თერმორეცეპტორული არხი სინერგიულად მოქმედებს კანზე დამაზიანებელი თერმული გამღიზიანებლის მოქმედებისას (Nozadze et al., 2016b; Tsagareli 2019, 2020).

##### **4.2.1. TRPV1 არხის ანტაგონისტის AMG-517 გავლენა კაპსაიციინით განპირობებულ ჰიპერალგეზიაზე და ალოდინიაზე**

ექსპერიმენტების შემდგომ სერიაში გამოვიკვლიეთ TRPV1 არხის ანტაგონისტ AMG-517 წინასწარი ინექციის გავლენა კაპსაიციინით TRPV1 არხის გააქტივების ეფექტებზე. AMG-517 ინექციის შემდეგ ხუთი წუთის ინტერვალით ხდება თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდისა (სურ. 31A) და მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლის (სურ. 31C) მონაცემების აღრიცხვა; წვრილი ისარი უჩვენებს ამ მონაცემის გასაშუალოებულ სიდიდეს. თხუთმეტი წუთის შემდეგ იმავე თათში შეგყვავს კაპსაიციინი და ვახდენთ მონაცემების აღრიცხვას ქცევით ტესტებით 5, 15, 30, 45, 60 და 120 წუთებზე. კაპსაიციინი იწვევს თერმულ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას, რასაც უჩვენებს სურათზე მუქი ისარი.

კაპსაიცინის ინტრაპლანტარული ინექცია იწვევს თერმული ჰიპერალგეზიას და მექანიკური ალოდინიას საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ( $P < 0.001$ ), რომელიც გრძელდება დაახლოებით 2 საათს. თათის მოცილების თერმული რეფლექსის შემთხვევაში ვირთაგების კაპსაიცინით დამუშავებული ჯგუფების ეფექტები სარწმუნოდ განსხვავდებოდა საკონტროლო (vehicle) ჯგუფისგან ( $P < 0.001$ ), (სურ. 31A). კონტრალატერალური უკანა თათისთვის ასევე მივიღეთ სარკისებური ეფექტები (B).



სურათი 31. კაპსაიცინის ინტრაპლანტარული ინექცია იწვევს თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A) და მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლის (C) მნიშვნელოვან შემცირებას, ანუ ვითარდება შესაბამისად თერმული ჰიპერალგეზია და მექანიკური ალოდინია. თუმცა, TRPV1 არხის ანტაგონისტი AMG-517 წინასწარი ინექცია ასუსტებს ამ ჰიპერალგეზიას და ალოდინიას. მსგავსი ეფექტი აღირიცხება კონტრალატერალურ თათში (B, D), (Nozadze et al., 2021).

თათის მოცილების მექანიკურ ტესტში, კაპსაიცინით დამუშავებული ჯგუფების ეფექტები მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან, რაც მიუთითებს ალოდინიაზე ( $P < 0.001$ ) (სურ. 31C). კონტრალატერალური უკანა

თათისთვის აღნიშნება სარკისებური ეფექტი, განსაკუთრებით 0.3 და 0.5% კაპსაიცინის დოზებისთვის ( $P < 0.01$ ), (სურ. 31D).

ამის შემდეგ, სურათიდან ნათლად ჩანს, რომ TRPV1 არხის ანტაგონისტის AMG-517 წინასწარი ინექცია ასუსტებს აღნიშნულ ჰიპერალგეზიას და ალოდინიას (სურ. 31A, C). მსგავსი ეფექტები შეინიშნება კონტრალატერალურ თათშიც (სურ. 31B, D).

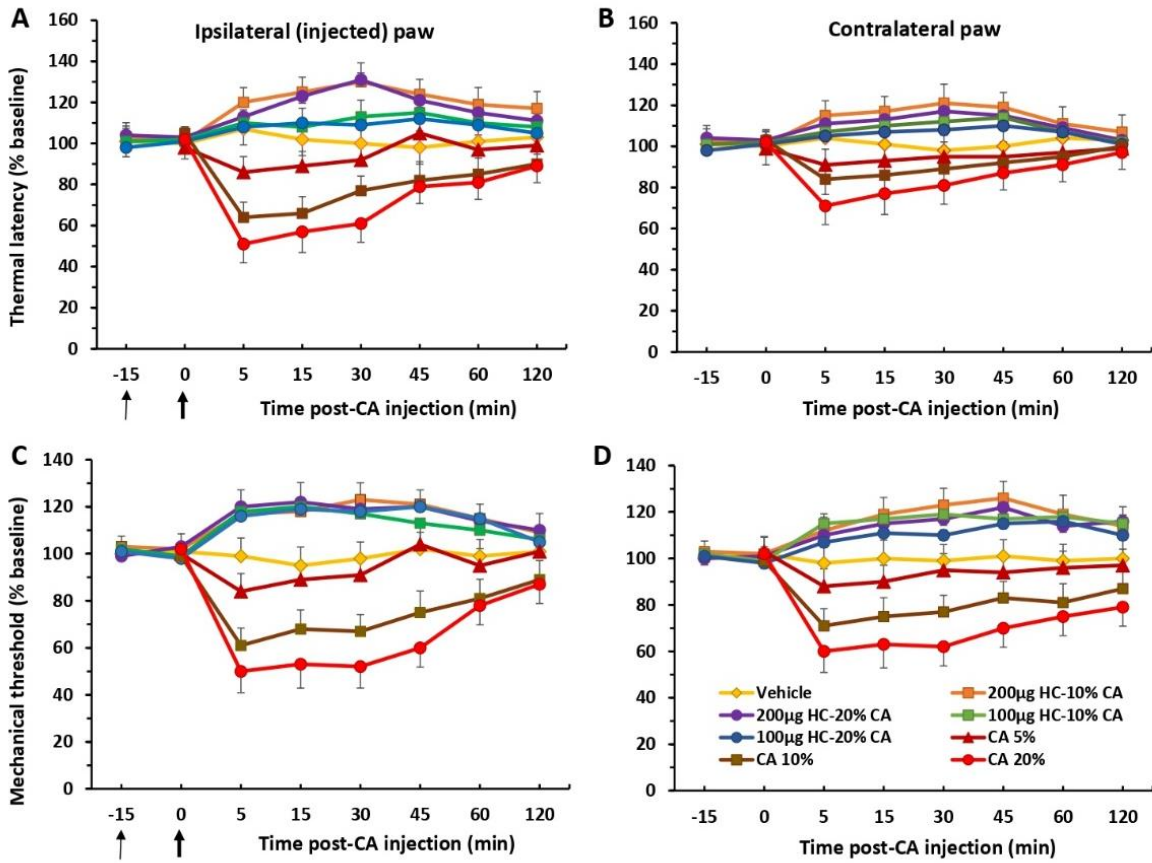
ამრიგად, TRPV1 არხის ანტაგონისტ AMG-517 წინასწარი მიკროინექციები საგრძნობლად ამცირებს თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ლატენტურ პერიოდსა და თათის მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლს, ანუ სარწმუნოდ ბლოკავს კაპსაიცინით გამოწვეულ თერმულ ჰიპერალგეზიასა და მექანიკურ ალოდინიას და შესაბამისად კაპსაიცინით გამოწვეულ TRPV1-ის გააქტივებას (სურ. 31A,C). მსგავსი ეფექტები დაფიქსირდა კონტრალატერალურ თათშიც (სურ. 31B,D).

#### **4.2.2. TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 გავლენა CA და AITC განპირობებულ ჰიპერალგეზიაზე და ალოდინიაზე**

ექსპერიმენტების ამ სერიაში, ჩვენ გამოვიკვლიეთ, თუ რა გავლენას ახდენს TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 წინასწარი ინექცია, ამ არხების შესაბამისი აგონისტებით განპირობებულ აქტივაციაზე.

32-ე სურათზე ნაჩვენებია, რომ TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 წინასწარი ინექცია ასუსტებს დარიჩინის ალდეჰიდით გამოწვეულ ჰიპერალგეზიას. ვირთაგვებს თავდაპირველად გაუკეთდა vehicle – ს ინტრაპლანტარული ინექცია ერთ უკანა თათში, ბაზისური პასუხების დასადგენად. დარიჩინის ალდეჰიდის ინექცია სხვადასხვა დოზით (5%, 20%) იმავე უკანა თათში იწვევს ძლიერ თერმულ ჰიპერალგეზიას და მექანიკური ალოდინიას ( $P < 0.001$ ) (სურ. 32A,C), რასაც უჩვენებს სურათზე მუქი ისარი. TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 წინასწარი ინექცია დროში ასუსტებს აღნიშნულ ჰიპერალგეზიას და ალოდინიას. მსგავსი ეფექტი შეინიშნება კონტრალატერალურ თათშიც (B, D). პრეინტრაპლანტარული ინექცია მოიცავს TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031-ის ორ კონცენტრაციას (100  $\mu$ g და 200  $\mu$ g). ანტაგონისტის ორივე კონცენტრაცია ასუსტებს დარიჩინის ალდეჰიდით გამოწვეული თერმულ ჰიპერალგეზიას.





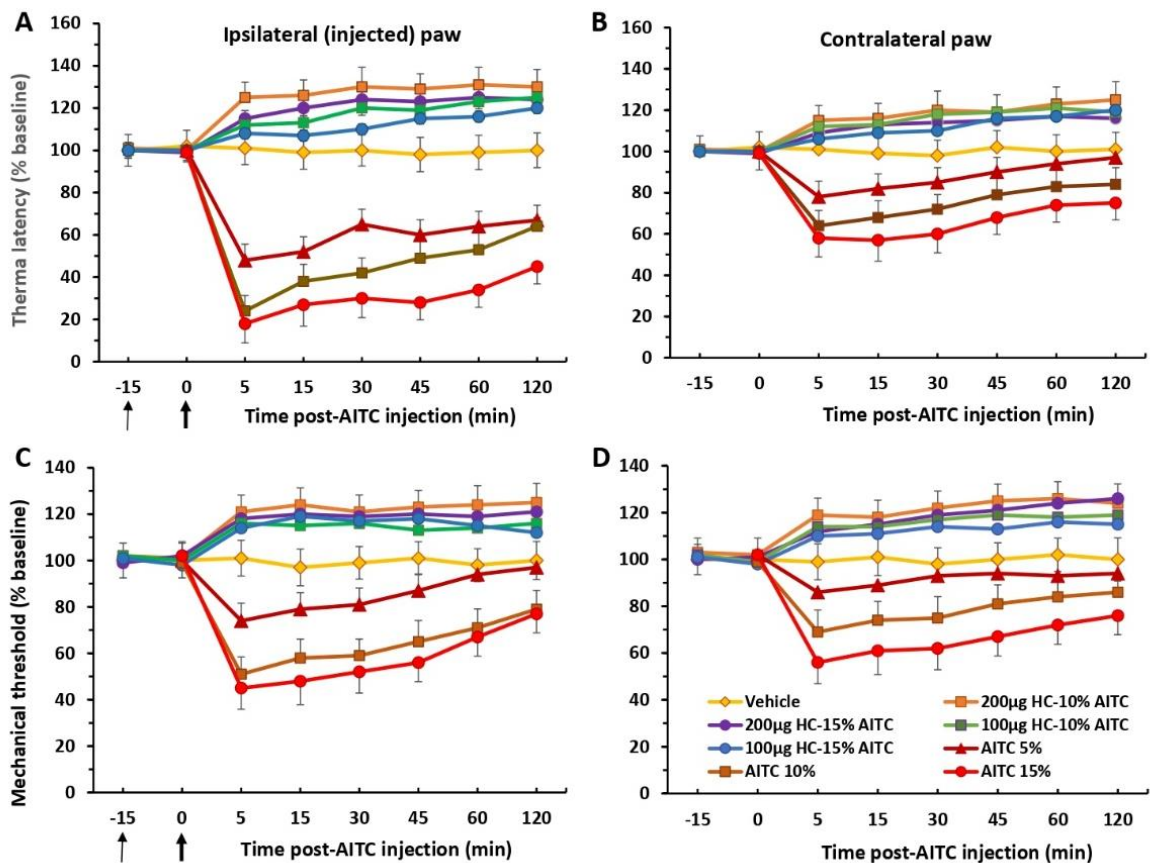
სურათი 32. CA ინტრაპლანტარული ინექცია იწვევს თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A) და მექანიკური გალიზიანების ზღურბლის (C) მნიშვნელოვან შემცირებას, ანუ ვითარდება შესაბამისად თერმული ჰიპერალგეზია და მექანიკური ალოდინია. თუმცა, TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 წინასწარი ინექცია ასუსტებს ამ ჰიპერალგეზიას და ალოდინიას. შეინიშნება მსგავსი ეფექტი კონტრალატერალურ თათში (B, D). (Nozadze et al, 2021).

დარიჩინის ალდეჰიდის შემთხვევისთვის, მნიშვნელოვანი განსხვავებები იქნა ნაპოვნი თათის მოცილების თერმული რეფლექსისთვის (იპსილატერალური თათი) HC-030031 წინასწარი შეყვანის ჯგუფებსა და CA ჯგუფებს შორის ( $p < 0.001$ ) (სურ. 33A), ასევე კონტრალატერალურ თათში აღირიცხება სარკისებური ჰიპერალგეზიური ეფექტი, თუმცა ნაკლები სიდიდის (სურ. 32B).

თათის მოცილების მექანიკური ტესტით ასევე ნაჩვენებია, რომ TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 ორი განსხვავებული კონცენტრაცია (100  $\mu\text{g}$  და 200  $\mu\text{g}$ ) ასუსტებს დარიჩინის ალდეჰიდით გამოწვეული მექანიკურ ალოდინიას ( $p < 0.001$ ) (სურ. 32C), ხოლო კონტრალატერალურ თათში შემცირებული სარკისებრი ეფექტი (სურ. 32D).

33-ე სურათზე ნაჩვენებია, რომ სხვადასხვა კონცენტრაციის ალილ იზოთიოციანატის ინექცია იპსილატერალური თათში იწვევს თათის მოცილების

თერმული რეფლექსის ლატენტობის (A) და მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლის (B) სარწმუნო დოზა-დამოკიდებულ შემცირებას vehicle – თან შედარებით. 15% ალილ იზოთიოციანატით ინექცირებული ვირთაგვების ჯგუფის მონაცემები მნიშვნელოვნად განსხვავდება საკონტროლო და 5% ალილ იზოთიოციანატის ჯგუფისაგან. ალილ იზოთიოციანატის მაღალი დოზა იწვევს ლატენტობის თითქმის 80%-მდე შემცირებას პირველი 5 წუთის განმავლობაში. კონტრალატერალურ თათში ფიქსირდება სარკისებრი ეფექტი, განსაკუთრებით 15%-იანი ალილ იზოთიოციანატით ინექცირებულ ჯგუფებში საკონტროლო ხსნართან შედარებით (სურ. 33, B,D).



სურათი 33. მდოგვის ზეთის ინტრაპლანტარული ინექცია იწვევს თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A) და მექანიკური გაღიზიანების ზღურბლის (C) მნიშვნელოვან შემცირებას, ანუ ვითარდება შესაბამისად თერმული ჰიპერალგეზია და მექანიკური ალოდინია. თუმცა, TRPA1 არხის ანტაგონისტის HC-030031 წინასწარი ინექცია ასუსტებს ამ ჰიპერალგეზიას და ალოდინიას. შეინიშნება მსგავსი ეფექტი კონტრალატერალურ თათზე (B, D). BL - ბაზისური მაჩვენებელი (Nozadze et al, 2021).

საზოგადოდ ჩვენს ცდებში აღნიშნული სარკისებური ეფექტები კონტრალატერალურ კიდურში გამოწვეულია სენსიტიზაციის განვითარებით

ზურგის ტვინის საპირისპირო, კონტრალატერალურ მხარეს ტრანსნეირონული გზებით, რაც კარგად ცნობილი ფაქტია ტკივილის ფიზიოლოგიაში (Aloisi et al., 1993; Huang, Yu, 2010; Rotpenpian et al., 2021; Strachan, 2006).

TRPA1 არხის ანტაგონისტი HC-030031 ასუსტებს თერმულ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას, რომელიც წარმოიქმნება AITC-ის ინექციისას იმავე უკანა თათში. თერმული თათის მოცილების რეფლექსის მნიშვნელოვანი განსხვავებები იქნა ნანახი HC-030031-ით წინასწარ ინექცირებულ ჯგუფებსა და მხოლოდ AITC-ით ინექცირებულ ჯგუფებს შორის ( $p < 0.001$ ) (სურ. 33A). თათის მოცილების მექანიკური ტესტისთვის დაფიქსირდა მსგავსი მნიშვნელოვანი განსხვავებები ( $p < 0.001$ ) (სურ. 33C). HC-030031 წინასწარი შეყვანა მნიშვნელოვნად ამცირებს სუსტ სარკისებურ ეფექტს კონტრალატერალურ თათში (სურ. 33B,D).

ამრიგად, ჩვენი მონაცემები მხარს უჭერს მოსაზრებას, რომ კაპსაიცინით გამოწვეული ტკივილი მოითხოვს გარდამავალი რეცეპტორულ პოტენციური ვანილოიდის 1 (TRPV1) არხის მონაწილეობას პერიფერიულ ნოციცეპტორებში, ხოლო აგონისტების უმეტესობა, როგორცაა დარიჩინის ალდეჰიდი ან მდოგვის ზეთი, საჭიროებს TRPA1 არხის ჩართულობას. ამ არხების აგონისტების ინექცია იწვევს ნოციცეპტური თათის თერმული მოცილების ფარული პერიოდისა და მექანიკური დაწოლის ზღურბლის სარწმუნო შემცირებას, ანუ თერმულ ჰიპერალგეზიასა და მექანიკურ ალოდინიას. TRPV1 არხის ანტაგონისტის (AMG-517) წინასწარი ინექცია იწვევს ტკივილის თავდაცვითი რეფლექსური რეაქციების მნიშვნელოვან შემცირებას. ასევე TRPA1 არხის ანტაგონისტის (HC-030031) წინასწარი შეყვანა განაპირობებს დარიჩინის ალდეჰიდისა და ალილ იზოთიოციანიტის შედეგად გამოწვეული თერმული ჰიპერალგეზიისა და მექანიკური ალოდინიის სარწმუნო შემცირებას. ამით ჩვენ ვაჩვენებთ, რომ ორგანიზმისთვის დამაზიანებელი მტკივნეული სტიმულებით გამოწვეული თერმული ჰიპერალგეზია და მექანიკური ალოდინია განპირობებულია TRPV1 და TRPA1 კათიონური არხების გააქტივებით.

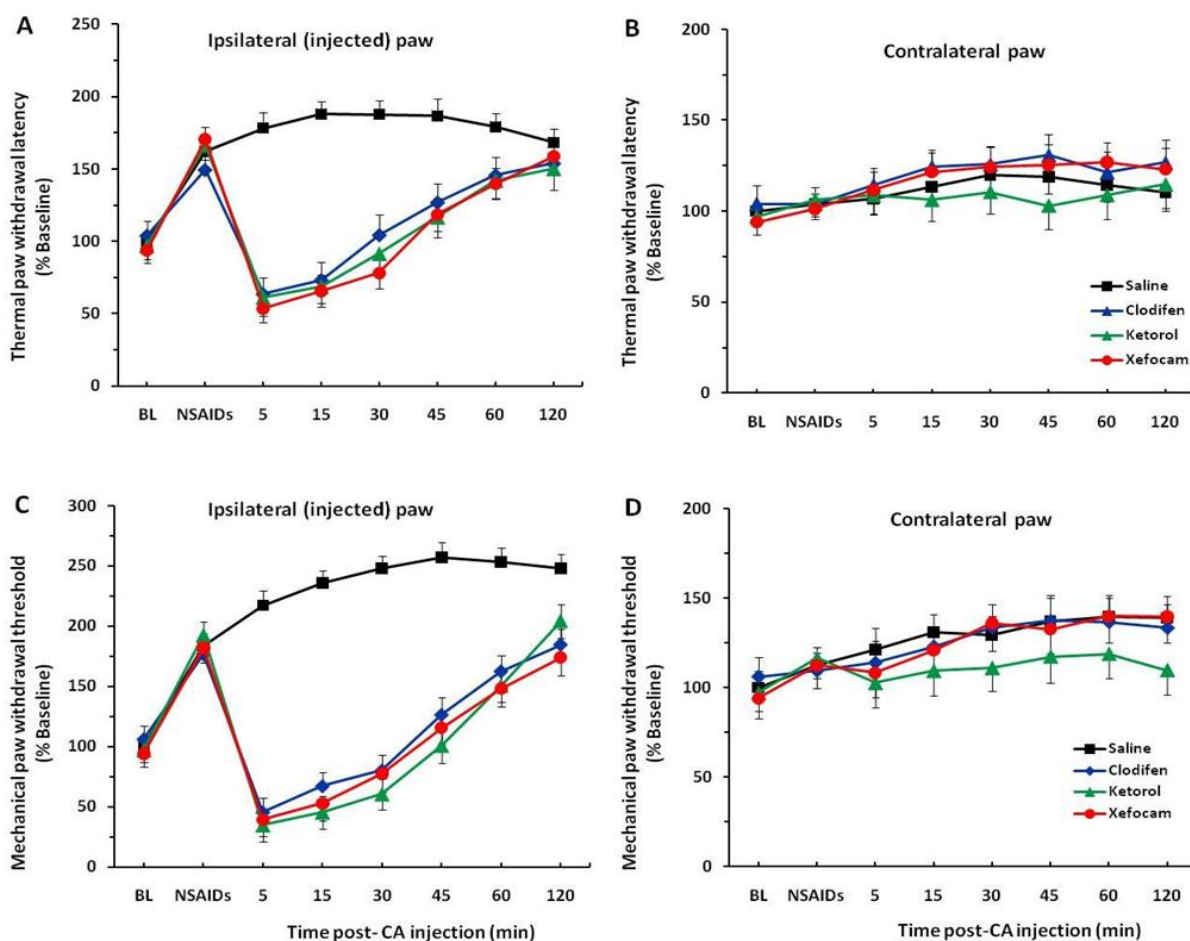
### **4.3. არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების გავლენა TRP არხების შესაბამისი აგონისტების მოქმედებით გამოწვეულ აქტივაციაზე**

ცდების ამ სერიაში ჩვენ შევისწავლეთ TRP არხების არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატებით (NSAIDs) შესაძლო რეგულაციის საკითხები. კერძოდ, შევისწავლეთ ფართოდ გამოყენებული NSAIDs -ის (დიკლოფენაკი, კეტოროლაკი და ქსეფოკამი) გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხების გააქტივებით განპირობებულ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიაზე.

ცნობილია, რომ არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატები მოქმედებენ ციკლო-ოქსიგენაზების (COX) ინჰიბირებით, რაც ამცირებს პროსტაგლანდინების წარმოქმნას. ეს უკანასკნელნი ასრულებენ ტკივილის მედიატორების როლს, ზრდიან რა ორგანიზმში ტკივილის მგრძობელობას. ამასთან, ამცირებენ თერმულ ნოციცეპციას და მექანიკურ ალოდინიას ანთებითი და ნეიროპათიკური ტკივილის მოდელურ ცდებში. NSAIDs ზემოქმედებას ახდენენ პერიფერიულ და ცენტრალურ ნერვულ სისტემაზე.

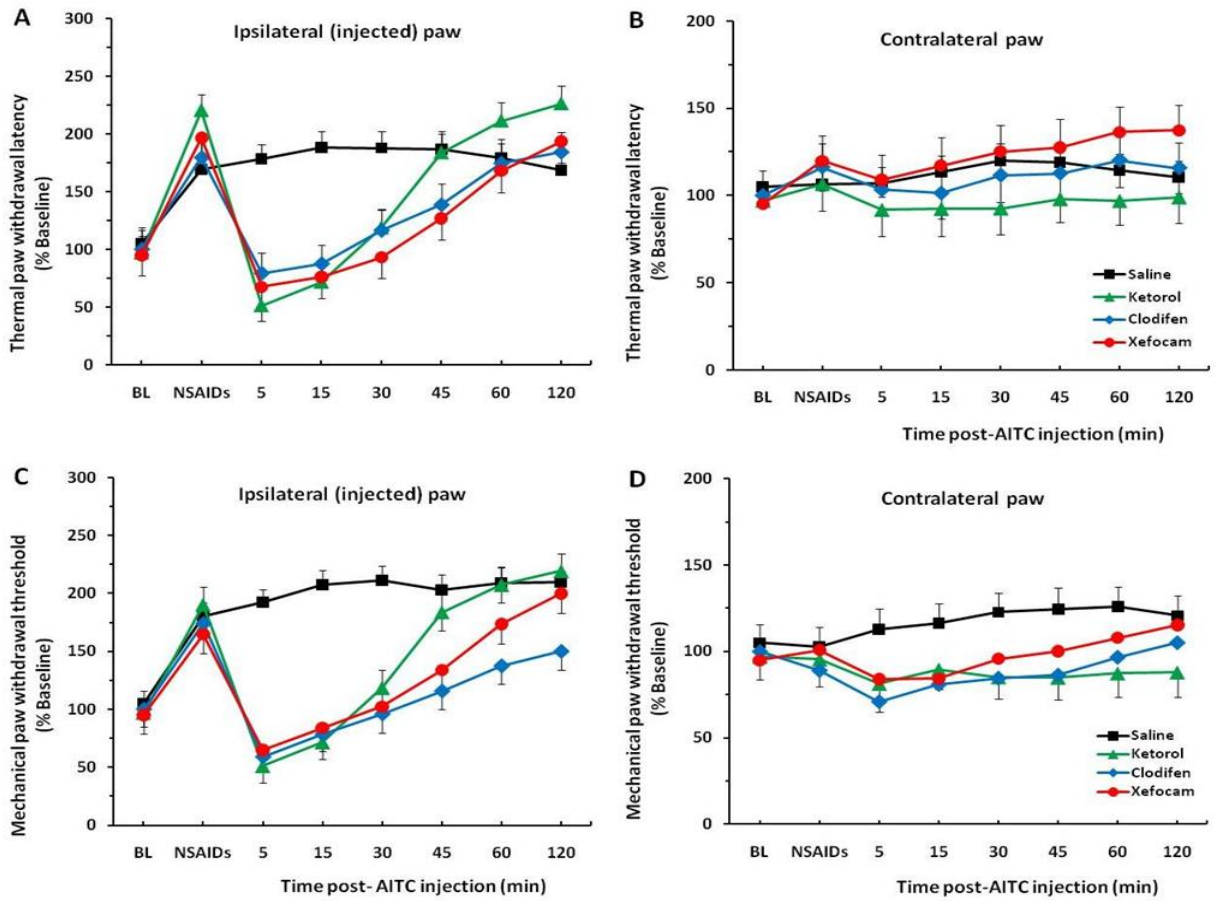
#### **4.3.1. NSAIDs-ის წინასწარი ინექციების გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხის შესაბამისი აგონისტების მოქმედებით გამოწვეულ აქტივაციაზე**

ექსპერიმენტები ჩატარდა მამრობითი სქესის ვირთაგვებზე. გამოყენებული იყო ორი ქცევითი ტესტირების მოდელი: თათის მოცილების თერმული და თათის მოცილების მექანიკური ტესტი. თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ლატენტიური პერიოდი და თათის მექანიკური მოცილების რეფლექსის ზღურბლი იზომებოდა TRPA1 არხის აგონისტების ალილ იზოთიოციანიტის (AITC) (მდოგვის ზეთის ბუნებრივი კომპონენტი) და დარიჩინის ალდეჰიდის და TRPV1 არხის აგონისტის კაპსაიცინის ან საკონტროლო ხსნარების უკანა თათში შეყვანიდან 5, 15, 30, 45, 60 და 120 წუთის შემდეგ. TRP არხის აგონისტებისა და საკონტროლო ხსნარების გამოცდამდე ოცი წუთით ადრე ვახდენდით დიკლოფენაკის, კეტოროლაკის ან ქსეფოკამის წინასწარ შეყვანას იმავე უკანა თათებში და ცხოველები გამოიცდებოდა ორივე ქცევითი ტესტით (სურ. 34, 35, 36).



სურათი 34. თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ლატენტური პერიოდის (A) და თათის მოცილების მექანიკური გალიზიანების ზღურბლის (C) ცვლილების დინამიკა იპსილატერალურ თათში NSAIDs - ის წინასწარი და მომდევნო საკონტროლო ხსნარისა და დარიჩინის ალდეჰიდის შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში. კონტრალატერალური (არაინექცირებული) თათი (B,D). BL – ბაზისური მონაცემები (Tsagareli et al., *Biomed & Pharmacother*, 2018).

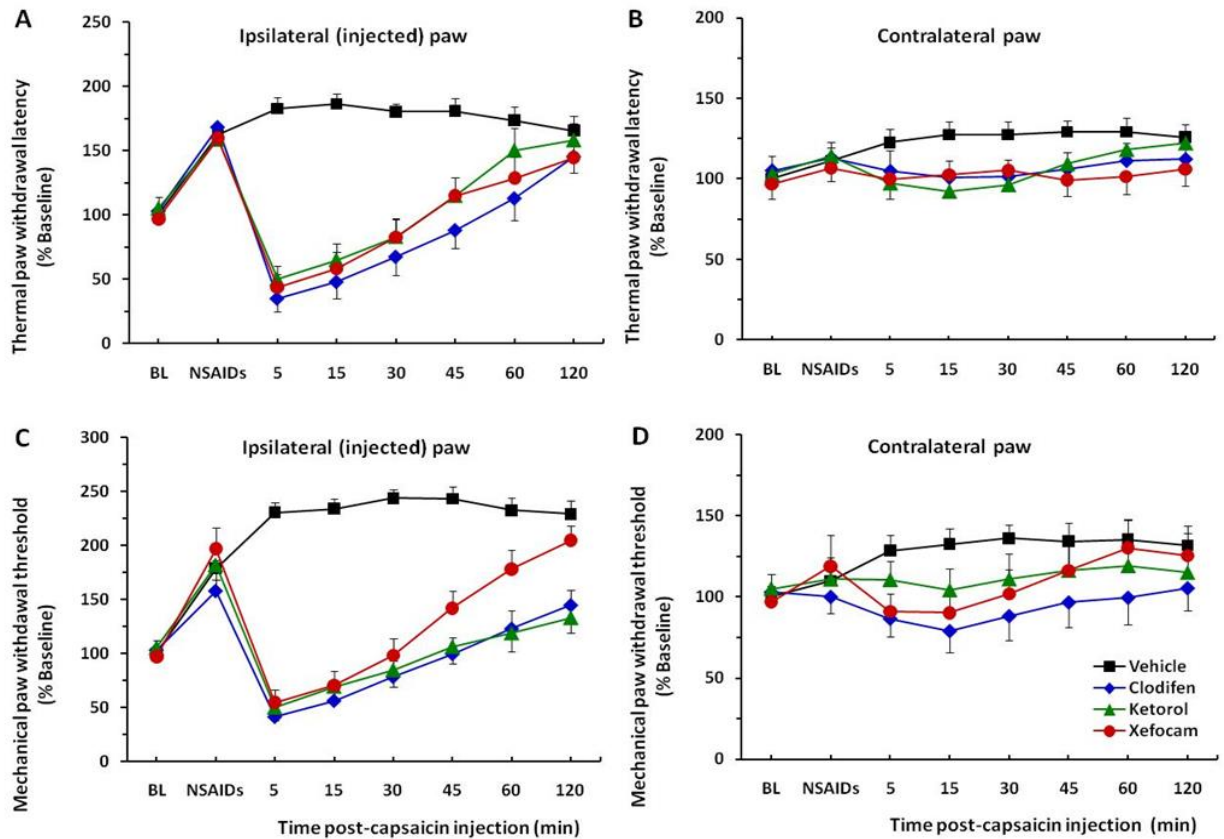
34-ე სურათის მიხედვით ჩანს, რომ ვირთაგვების უკანა იპსილატერალურ თათში (A,C) NSAIDs -ის პრეინექციებმა, სარწმუნოდ დაბლოკა TRPA1 არხის აგონისტის, დარიჩინის ალდეჰიდის მოქმედება, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ NSAIDs -ები, ორივე ქცევით ტესტში იწვევენ ტკივილის სარწმუნო შემცირებას კონტროლთან და კონტრალატერალურ (B,D) თათთან შედარებით ( $P < 0.001$ ).



სურათი 35. თათის მოცილების რეფლექსის ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში NSAIDs-ის (კლოდიფენი, კეტოროლაკი და ქსეფოკამი) წინასწარი და მომდევნო ფიზიოლოგიური ხსნარის და AITC შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში. NSAIDs-ების წინასწარი მიკროინექცია ვირთაგვას უკანა თათში იწვევს მდოგვის ზეთით (ალილ-იზოთიოციანიტი) გამოწვეული ჰიპერალგეზიის ანუ ტკივილის სარწმუნო შესუსტებას კონტროლთან და კონტრალატერალურ (B, D) თათთან შედარებით. ნაჩვენებია საკონტროლო ფიზიოლოგიური ხსნარის, კონტრალატერალური (არაინექცირებული) თათის და BL-ბაზისური მონაცემები (Tsagareli et al., *Biomed & Pharmacother*, 2018).

საკონტროლო ხსნარის ტერფქვემა ინექციის შემდეგ CA (სურათი 34A,C), AITC (სურათი 35 A,C) და კაპსაიცინის (სურათი 36 A,C) ინექცია იწვევს გამოხატულ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიას, რომელიც გრძელდება 2 სთ (ყავისფერი წყვეტილი ხაზი), ეს ეფექტი ემთხვევა TRP არხების აგონისტების ეფექტებს, რომელიც კვლევის საწყის ეტაპზე იქნა დადგენილი. დიკლოფენაკის, კეტოროლაკისა და ქსეფოკამის ტერფქვემა ინექცია, რომელიც 20 წუთით უსწრებს TRP არხების აგონისტების ინექციას, იძლევა მკაფიოდ გამოხატულ ანალგეზიურ ეფექტს (სურათები 34 A,C; 35 A,C; 36 A,C). უნდა აღინიშნოს, რომ ამ დროს განვითარებული თერმული და მექანიკური ჰიპერალგეზია ძალიან ხანმოკლეა. თვალსაჩინო

განსხვავებაა ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს შორის, როგორც თერმული ტესტის ლატენტობის, ისე მექანიკური ტესტის ზღურბლის მხრივ ყოველი NSAIDs – თვის: თერმული ტესტი – დიკლოფენაკი,  $t = 12.02, P < 0.001$ , კეტოროლაკი,  $t = 9, 749, p < 0.001$  და ქსეფოკამი  $t = 34.144, P < 0.001$ . მექანიკური ტესტი – დიკლოფენაკი,  $t = 14.165, P < 0.001$ , კეტოროლაკი,  $t = 22.198, P < 0.001$  და ქსეფოკამი  $t = 11.136, P < 0.001$ . ორივე ტესტის შემთხვევაში კონტრალატერალურ თათში სუსტი სარკისებური ჰიპერალგეზიური ეფექტი აღირიცხება.



სურათი 36. თათის მოცილების რეფლექსის თერმული ფარული პერიოდისა (A,B) და მექანიკური ზღურბლის ცვლილების დინამიკა (C,D) იპსილატერალურ თათში NSAIDs-ის (კლოდიფენი, კეტოროლაკი და ქსეფოკამი) წინასწარი და მომდევნო vehicle და კაპსაიცინის შეყვანის ფონზე ვირთაგვების სხვადასხვა ჯგუფებში. NSAIDs-ების წინასწარი მიკროინექცია ვირთაგვას უკანა თათში იწვევს კაპსაიცინით გამოწვეული ჰიპერალგეზიის ანუ ტკივილის სარწმუნო შესუსტებას კონტროლთან შედარებით, იპსი-(A,C) და კონტრალატერალურ (B, D) თათში. ასევე მოცემულია საკონტროლო ფიზიოლოგიური ხსნარის და BL- ბაზისური მონაცემები (Tsagareli et al., *Biomed & Pharmacother*, 2018).

ეს შედეგები აჩვენებს, რომ არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო საშუალებების წინასწარი ინექცია არ ამცირებს ჰიპერალგეზიის სიდიდეს, მაგრამ სარწმუნოდ ამოკლებს აგონისტების (CA, AITC და CAPS) მოქმედებით

განპირობებულ ჰიპერალგეზიის ხანგრძლივობას. მსგავსი შედეგია მიღებული მექანიკური ტესტისთვის.

ამრიგად, ვირთაგვებზე ჩატარებული ქცევითი ტესტებით ჩვენ ვაჩვენეთ, რომ ფართოდ გამოყენებული NSAIDs პრეინექცია ახდენს შესაბამისი აგონისტებით გააქტივებული TRPA1 და TRPV1 არხების ინაქტივაციას. რაც გულისხმობს იმას, რომ არხების მგრძნობელობა შესაბამისი აგონისტების მიმართ (დარიჩინის ალდეჰიდი, მდოგვის ზეთი, კაპსაიცინი) დაქვეითებულია ორივე ქცევით ტესტში. ბაზისურ მაჩვენებელამდე ჰიპერალგეზია აღდგება დაახლოებით 40 წუთში. კერძოდ, კეტოროლაკის, დიკლოფენაკისა და ქსეფოკამის წინასწარი შეყვანა იწვევს ძლიერ ანტინოციცეპტურ ეფექტს ( $P < 0.001$ ).

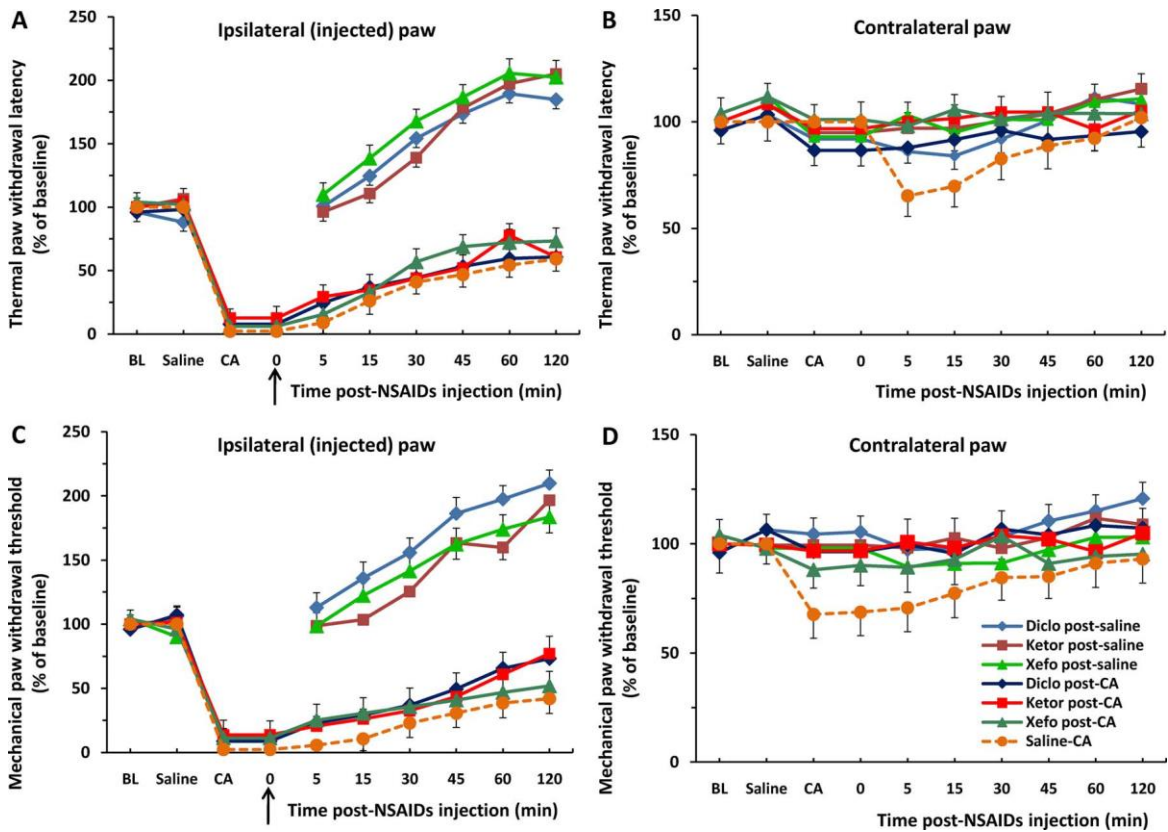
#### **4.3.2. NSAID-ის პოსტინექციების გავლენა TRPA1 და TRPV1 არხის შესაბამისი აგონისტების მოქმედებით გამოწვეულ აქტივაციაზე**

ექსპერიმენტების შემდგომ სერიაში გამოვიკვლიეთ NSAIDs-ის პოსტ-მიკროინექციის ეფექტები, კაპსაიცინის, დარიჩინის ალდეჰიდისა ან ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანაზე. ამ ნივთიერებების ინექციიდან ოცი წუთის შემდგომ შეგვყავს NSAIDs და ვახდენთ მონაცემების აღრიცხვას ქცევით ტესტებით NSAIDs-ების შეყვანიდან 5, 15, 30, 45, 60 და 120 წუთებზე. როგორც სურათებიდან ჩანს, NSAIDs-ს პოსტინექცია გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა არხების (TRPA1, TRPV1) აგონისტებით გამოწვეულ ტკივილს ნაკლებად ასუსტებენ ორივე ქცევით ტესტში (სურ. 37 და 38).

იგივე შედეგები მივიღეთ მდოგვის ზეთის ძირითადი კომპონენტის ალილ იზოციანატის (AITC) შეყვანის შემთხვევაშიც. NSAIDs-ის პოსტინექციები სარწმუნოდ არ ამცირებენ აგონისტებით გამოწვეულ ჰიპერალგეზიასა და ალოდინიას (სურ. 38). შესაბამისად, NSAIDs-ის პოსტინექციები არ ამცირებს თერმულ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას, რომელიც განპირობებულია TRPA1 აგონისტების – ალილ იზოტიოციანატის და დარიჩინის ალდეჰიდის მოქმედებით; თერმული ტესტის ლატენტობა და მექანიკური გალიზიანების ზღურბლი ბაზისურ მაჩვენებლს 2 საათის შემდეგ უბრუნდება. მაშასადამე, NSAIDs-ის პრეინექციები და არა პოსტინექციები ამცირებს TRP არხების

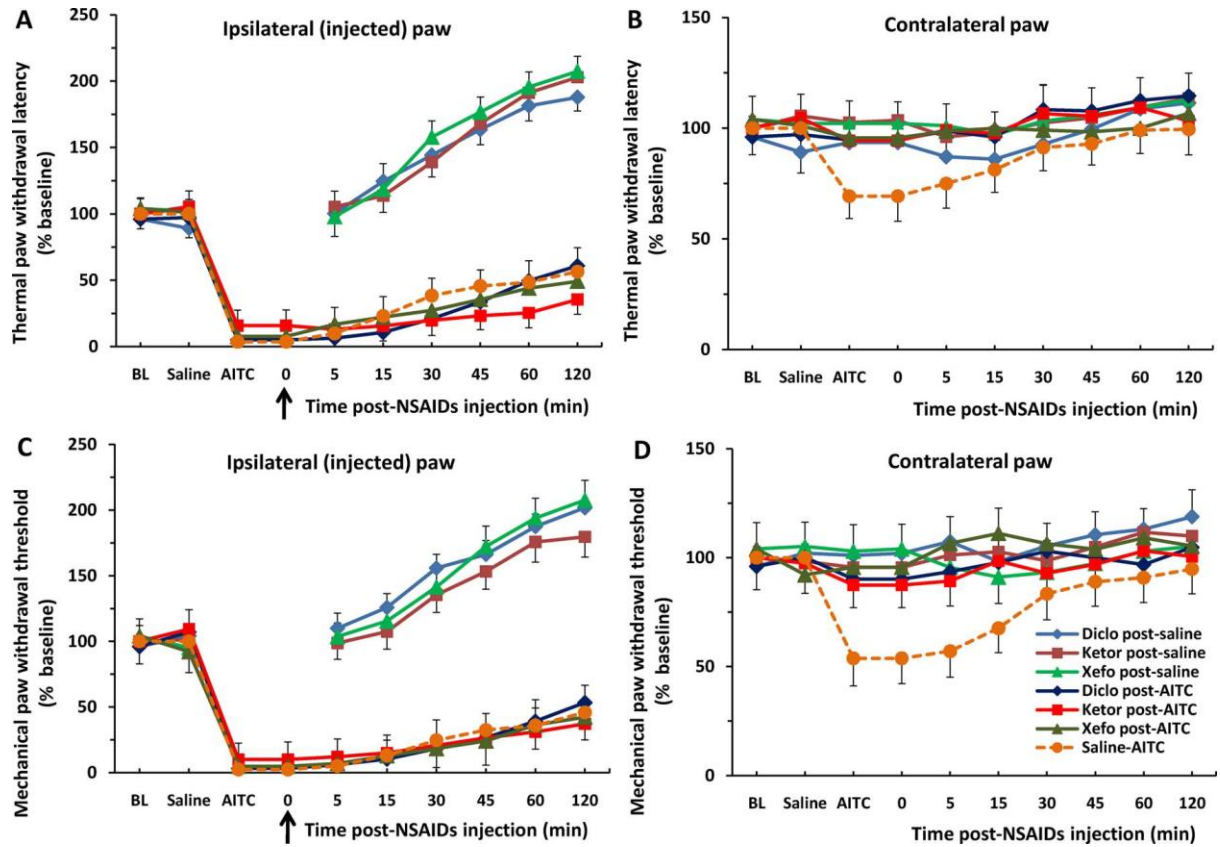


აგონისტებით განპირობებულ თერმული და მექანიკური ჰიპერალგეზიის ხანგრძლივობას.



სურათი 37. თერმული და მექანიკური განრიდების რეაქციის დინამიკა NSAIDs-ის პოსტ-მიკროინექციის შემდეგ. ექსპერიმენტული ჯგუფის ვირთაგვების იპსილატერალურ თათში წინასწარ შეყვანილია CA. საკონტროლო ჯგუფში (ფიზიოლოგიური ხასნარი) ვლინდება ძლიერი ანალგეზია ექსპერიმენტულ ჯგუფთან შედარებით ( $p < 0.001$ ) (A), მაგრამ ეფექტი არ ვლინდება კონტრალატერალურ თათში (B). თათის განრიდების მექანიკურ ტესტში (C,D) იგივე ეფექტია, რაც A და B თერმულ ტესტში. ისრით ნაჩვენებია NSAIDs-ის ინექციის დრო. BL - ბაზისური მაჩვენებელი. (Tsgareli et al., *Biomed & Pharmacother*, 2018).

ამრიგად, ჩვენს მიერ წარმოდგენილი წინამდებარე და ლიტერატურის მონაცემები ადასტურებს ახალ მექანიზმს, რომელიც მოიცავს არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების ტკივილგამაყუჩებელ ეფექტებს TRPA1 არხზე მოქმედებით. ეს უკანასკნელი მექანიზმი მიიღწევა CA ან AITC-ით TRPA1 გააქტიურების შემდეგ, TRPA1 არხის დესენსიტიზაციის/ ინაქტივაციის გზით ან პროსტაგლანდინების შემცირების გზით და შეიძლება გამოყენებულ იქნას თერაპიულად ტკივილის სამკურნალოდ (Nozadze et al., 2016a, 2016c, 2018; Tsgareli et al., 2018).



სურათი 38. თერმული და მექანიკური განრიდების რეაქციის დინამიკა NSAIDs-ის პოსტ-მიკროინექციის შემდეგ. ექსპერიმენტული ჯგუფის ვირთაგვების იპსილატერალურ თათში წინასწარ შეყვანილია ალილ იზოთიოციანატი. საკონტროლო ჯგუფში (ფიზიოლოგიური ხასნარი) ვლინდება ძლიერი ანალგეზია ექსპერიმენტულ ჯგუფთან შედარებით ( $p > 0.001$ ) (A), მაგრამ ეფექტი არ ვლინდება კონტრალატერალურ თათში (B). თათის განრიდების მექანიკურ ტესტში (C,D) იგივე ეფექტია, რაც A და B თერმულ ტესტში. ისრით ნაჩვენებია NSAIDs-ის ინექციის დრო. BL - ბაზისური მაჩვენებელი. (Tsagareli et al, *Biomed & Pharmacother*, 2018).

ზოგადი დასკვნის სახით შეიძლება თქვას, რომ *Trp* გენის სუპეროჯახის აღმოჩენამ, თითქმის ოცდახუთი წლის წინ, დასაბამი მისცა ამ გენების მიერ TRP კათიონური არხების კოდირებისა და მრავალფეროვანი ფუნქციების შესწავლას; რეცეპტორული და სხვა ტიპის უჯრედების ფიზიოლოგიური და პათოფიზიოლოგიური ფუნდამენტური მექანიზმების გაგებას, რაც ამ დრომდე შეუძლებელი იყო. TRP არხები წარმოადგენენ ერთ-ერთ ყველაზე სწრაფად მზარდ საკვლევ თემას იონურ არხებთან დაკავშირებით, კანელოპათიებისა და ტრანსლაციურ მედიცინის საკითხების ჩათვლით.

## დასკვნები

1. გარდამავალ რეცეპტორულ პოტენციალთა არხები (TRPA1, TRPM8, TRPV1) ჩართულია თერმული, მექანიკური და ტკივილის შეგრძნების აღმოცენებაში, ვინაიდან ისინი ავლენენ მგრძობელობას, როგორც მაღალი ან დაბალი ტემპერატურის, ასევე რიგი ქიმიური ლიგანდების მიმართ. სახელდობრ, TRPA1 არხი ავლენს მგრძობელობას დარიჩინის ალდეჰიდისა და მდოგვის ზეთის ძირითადი კომპონენტის (ალილ იზოთიოციანიტი) მიმართ; TRPM8 არხის გააქტივება ხდება მენტოლით და დაბალი ტემპერატურით; TRPV1 არხის გააქტივება ხდება კაპსაიცინით და მაღალი ტემპერატურით.

2. TRPV1 არხის ანტაგონისტი AMG-517 და TRPA1 არხის ანტაგონისტი HC-030031 ასუსტებენ მათი აგონისტებით, შესაბამისად CAPS (TRPV1) და AITC და CA (TRPA1), გამოწვეულ თერმულ ჰიპერალგეზიას და მექანიკურ ალოდინიას. ეს შედეგები უახლოეს პერსპექტივაში შეიძლება საფუძვლად დაედოს სრულიად ახალი ტიპის ანალგეტიკების სინთეზს, რომლებიც მიმართული იქნება უშუალოდ TRP არხების ბლოკირებაზე, რათა მინიმუმამდე შემცირდეს ტრადიციული ანალგეტიკებისათვის დამახასიათებელი არასასურველი გვერდითი მოვლენები.

3. არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების წინასწარი შეყვანა იწვევს აღნიშნული არხების შესაბამისი აგონისტებით გააქტივების შესუსტებას. ამ ეფექტს უნდა განაპირობებდეს NSAIDs მეშვეობით ამ არხების ინაქტივაცია ან დესენსიტიზაცია. ამით კლინიკურად კარგად ცნობილ NSAIDs მოქმედების ეფექტებს დაემატა TRP არხების რეგულაციის ფუნქცია.

4. TRP იონური არხების შესწავლის შედეგად მიღებული მონაცემები გვიჩვენებს, რომ ეს არხები წარმოადგენენ ახალი თაობის ტკივილგამაყუჩებელი წამლების საიმედო სამიზნეს და შესაბამისად ტკივილის მართვის პერსპექტიულ საშუალებას, როგორც პერიფერიაზე, ისე შესაძლოა ცენტრალური ნერვული სისტემის დონეზე.

## ბიბლიოგრაფია - References

- Albin K.C., Carstens M.I., Carstens E. (2008) Modulation of oral heat and cold pain by irritant chemicals. *Chem. Series*, 33(1): 3-15.
- Aloisi A.M., Porro C.A., Cavazzuti M., Baraldi P., Carli G. (1993) 'Mirror pain' in the formalin test: behavioral and 2-deoxyglucose studies. *Pain*, 55(2): 267-273 (doi: 10.1016/0304-3959(93)90156-J.)
- Almaraz L., Manenschijn J.A., de la Pena E., Viana F. (2014) TRPM8. In: Nilius B., Flockerzi V. (eds.) *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer, pp. 547–579.
- Andrade E.L., Meotti F.C., Calixto J.B. (2012) TRPA1 antagonists as potential analgesic drugs. *Pharmacol. Therap.* 133: 189–204.
- Aroke E.N., Powell-Roach K.L., Jaime-Lara R.B., Tesfaye M., Roy A., Jackson P., Joseph P.V. (2020) Taste the pain: The role of TRP channels in pain and taste perception. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(16): 5929 (doi: 10.3390/ijms21165929)
- Autzen H.E., Julius D., Cheng Y. (2019) Membrane mimetic systems in CryoEM: keeping membrane proteins in their native environment. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 58: 259-268 (doi: 10.1016/j.sbi.2019.05.022)
- Bamps D., Vriens J., de Hoon J., Voets T. (2021) TRP channel cooperation for nociception: Therapeutic opportunities. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 61: 655-677 (doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010919-023238)
- Bannister K., Kucharczyk M., Dickenson A.H. (2017) Hopes for the future of pain control. *Pain Therapy*, 6(2): 117-128 (doi: 10.1007/s40122-017-0073-6)
- Basbaum A.I., Bautista D.M., Scherrer G., Julius D. (2009) Cellular and molecular mechanism of pain. *Cell*, 139(2):267–284 (doi: 10.1016/j.cell.2009.09.028)
- Belmonte C., Viana F. (2008) Molecular and cellular limits to somatosensory specificity. *Mol. Pain.*; 4: art. 14. (doi: 10.1186/1744-8069-4-14)
- Benemei S., Dussor G. (2019) TRP channels and migraine: Recent developments and new therapeutic opportunities. *Pharmaceuticals*, 12(2), 54 (doi.org/10.3390/ph12020054)
- Bevan S., Quallo T., Andersson D.A. (2014) TRPV1. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.) *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Handb. Exp. Pharmacol., Berlin, Springer. 222: 207-245 (doi: 10.1007/978-3-642-54215-2\_9)
- Birnbaumer L. (2009) The TRPC class of ion channels: a critical review of their roles in slow, sustained increases in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 49: 395–426.
- Blanquart S., Borowiec A.S., Delcourt P., Figeac M. (2019) Evolution of the human cold/menthol receptor, TRPM8. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 136: 104-118 (doi: 10.1016/j.ympev.2019.04.011)
- Buijs T.J., McNaughton P.A. (2020) The role of cold-sensitive ion channels in peripheral thermosensation. *Front. Cell. Neurosci.*, 14: 262 (doi: 10.3389/fncel.2020.00262)
- Carstens E., Kuenzler N., Handwerker H. O. (1998) Activation of neurons in rat trigeminal subnucleus caudalis by different irritant chemicals applied to oral or ocular mucosa. *Journal of Neurophysiol.*, 465-492 (doi: org/10.1152/jn.1998.80.2.465)
- Carstens E., Klein A., Iodi Carstens M., Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E. (2010) Effects of thermosensitive transient receptor potential (TRP) channel agonists on the neural coding of touch, temperature and pain sensation. *Proc. Int. Confer. Fundam. Probl. Neurosci.*, Tbilisi, pp. 267-280.
- Castillo K., Diaz-Franulic I., Canan J., Gonzalez-Nilo F., Latorre R. (2018) Thermally activated TRP channels: molecular sensors for temperature detection. *Phys. Biol.*, 15(2): 021001 (doi: 10.1088/1478-3975/aa9a6f)

- Caterina M.J. (2007) Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 292: R64–R76 (doi: 10.1152/ajpregu.0046.2006)
- Caterina M.J. (2021) How do you feel? A warm and touching 2021 Nobel tribute. *J. Clin. Invest.* 131(24): e156587 (doi: 10.1172/JCI156587)
- Caterina M.J., Schumacher M.A., Tominaga M., Rosen T.A., Levine J.D., Julius D. (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389 (6653): 816–824 (doi: 10.1038/39807)
- Chen Y., Zhang X., Yang T., Bi R., Huang Z., Ding H., et al. (2019) Emerging structural biology of TRPM subfamily channels. *Cell Calcium*, 79: 75–79.
- Clapham D. (2003) TRP channels as cellular sensors. *Nature*, 426 (6966): 517–24 (doi: 10.1038/nature02196)
- Colburn R.W., Lubin M.L., Stone D.J., Wang Y., Lawrence D., D’Andrea M.R. et al. (2007). Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice. *Neuron*, 54(3): 379–386 (doi: 10.1016/j.neuron.2007.04.017)
- Cortright D.N., Krause J.E., Broom D.C. (2007) TRP channels and pain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1772: 978–988.
- Curcic S., Schober R., Schindl R., Groschner K. (2019) TRPC-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling and control of cellular functions. *Semin Cell Dev Biol.*, 94: 28–39 (doi: 10.1016/j.semcdb.2019.02.001)
- Dhaka A., Murray A.N., Mathur J., Earley T.J., Petrus M.J., Patapoutian A. (2007) TRPM8 is required for cold sensation in mice. *Neuron*, 54(3): 371–378 (doi: 10.1016/j.neuron.2007.02.024)
- Dhaka A., Viswanath V., Patapoutian A. (2006) TRP ion channels and temperature sensation. *Annu. Rev. Neurosci.* 29:135–161.
- Dietrich A. (2019) Transient receptor potential (TRP) channels in health and disease. *Cells*, 8(5): 413 (doi: 10.3390/cells8050413)
- Diver M.M., Cheng Y., Julius D. (2019) Structural insights into TRPM8 inhibition and desensitization. *Science*, 365(6460): 1434–1440 (doi: 10.1126/science.aax6672)
- Duan J., Li Z., Li J., Hulse R.E., Santa-Cruz A., Valinsky W.C., et al. (2018a) Structure of the mammalian TRPM7, a magnesium channel required during embryonic development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115: E8201–E8210.
- Duan J., Li Z., Li J., Santa-Cruz A., Sanchez-Martinez S., Zhang J., Clapham D.E. (2018b) Structure of full-length human TRPM4. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115: 2377–2382.
- Duan J., Li J., Zeng B., Chen G.L., Peng X., Zhang Y., et al. (2018c) Structure of the mouse TRPC4 ion channel. *Nature Commun.*, 9: 3102.
- Duggan K.C., Walters M.J., Musee J., Hard J.M., Kiefer J.R., Oates J.A., Marnett L.J. (2010) Molecular bases for cyclooxygenase inhibition by the non-steroidal anti-inflammatory drug naproxen. *J. Biol. Chem.*, 285: 34950–34959.
- Ferrandiz-Huertas C., Mathivanan S., Wolf C.J., Devesa I., Ferrer-Montiel A. (2014) Trafficking of thermo-TRP channels. *Membranes* (Basel), 4(3): 525–564 (doi: 10.3390/membranes4030525)
- Ferreira S.H. (1972) Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nature New Biol.*, 240(102): 200–203 (doi: 10.1038/newbio240200a0)
- Fields H.L., Basbaum A.I., Heinricher M.M. (2006) Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: *Wall and Melzack’s Textbook of Pain*, McMahon S.B., Koltzenburg M., (eds.), 5th ed., Elsevier, London, 125–143.
- Flockerzi V., Nilius B. (2014) TRPs: Truly remarkable proteins. In: Nilius B, Flockerzi V, editors. *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer. pp. 1–12.
- Fowler M.A., Montell C. (2013) Drosophila TRP channels and animal behavior. *Life Sci.*, 92: 394–403.
- Fowler M.A., Montell C. (2012) Drosophila TRP channels and animal behavior. *Life Sciences*, 92(8–9):394–403 (doi: 10.1016/j.lfs.2012.07.029)

- Gees M., Colsool B., Nilius B. (2012) The role of transient receptor potential cation channels in Ca<sup>2+</sup> signaling. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2: a003962 (doi: 10.1101/cshperspect.a003962)
- Geppetti P., Benemei S., De Cesaris F. (2015) CGRP receptors and TRP channels in migraine. *J. Headache Pain*, 16: A21.
- Goretzki B., Glogowski N.A., Diehl E., Duchardt-Ferner E., Hacker C., Gaudet R., Hellmich U.A. (2018) Structural basis of TRPV4 N terminus interaction with syndapin/PACSIN1-3 and PIP2. *Structure*, 26: 1583–1593.e5.
- Hantute-Ghesquier A., Haustrate A., Prevarskaya N., Lehen'kyi V. (2018) TRPM family channels in cancer. *Pharmaceuticals* (Basel), 11: E58.
- Haykal T., Barbarawi M., Zayed Y., Yelangi A., Dhillon H., Goranta S. et al. (2019) Safety and efficacy of aspirin for primary prevention of cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 145 (7): 1795-1809 (doi: 10.1007/s00432-019-02932-0)
- Heinricher M.M., Tavares I., Leith J.L., Lumb B.M. (2009) Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res. Rev.*, 60: 214-225.
- Hellmich U.A., Gaudet R. (2014) Structural biology of TRP channels. *Exp. Pharmacol.*, 223: 963-990 (doi: 10.1007/978-3-319-05161-1\_10)
- Himmel N.J., Cox D.N. (2017) Sensing the cold: TRP channels in thermal nociception. *Channels*, 11: 370-372 (doi: 10.1080/19336950.2017.1336401)
- Honvo G., Leclercq V., Geerinck A., Thomas T., Veronese N., Charles A. et al. (2019) Safety of topical non-steroidal anti-inflammatory drugs in osteoarthritis: Outcomes of a systematic review and meta-analysis. *Drugs Aging.*, 36 (Suppl 1): 45-64 (doi: 10.1007/s40266-019-00661-0)
- Hoshijima H., Hunt M., Nagasaka H., Yaksh T. (2021) Systematic review of systemic and neuraxial effects of acetaminophen in preclinical models of nociceptive processing. *J. Pain Res.*, 14: 3521-3552 (doi: 10.2147/JPR.S308028)
- Holzer P. (2011) Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol. Therap.* 131(1): 142-70 (10.1016/j.pharmthera.2011.03.006)
- Hu H., Tian J., Zhu Y., Wang C., Xiao R., Herz J., Wood J.D., Zhu M.X. (2010) Activation of TRPA1 channels by fenamate non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Pflugers Arch – Eur J Physiol*, 459: 579-592.
- Huang D, Yu B. (2010) The mirror-image pain: an unclered phenomenon and its possible mechanism. *Neurosci Biobehav Rev*; 34(4): 528-532 (doi: 10.1016/j.neubiorev.2009.10.011)
- Hulse R.E., Li Z., Huang R.K., Zhang J., Clapham D.E. (2018) Cryo-EM structure of the polycystin 2-11 ion channel. *eLife*, 7: e36931.
- Huynh K.W., Cohen M.R., Chakrapani S., Holdaway H.A., Stewart P.L., Moiseenkova-Bell V.Y. (2014) Structural insight into the assembly of TRPV channels. *Structure*, 22: 260–268.
- Jeon S., Caterina M.J. (2018) Molecular basis of peripheral innocuous warmth sensitivity. *Handb. Clin. Neurol.* 156: 69–82.
- Julius D. (2013) TRP channels and pain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 29: 355-384 (doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833)
- Karashima Y., Talavera K., Everaerts W., Janssens A., Kwan K.Y., Vennekens R, Nilius B., Voets T. (2009) TRPA1 acts as a cold sensor *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(4): 1273-1278 (doi: 10.1073/pnas.0808487106)
- Kashio M. (2021) Thermosensation involving thermo-TRPs. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 520: 111089 (doi: 10.1016/j.mce.2020.111089)
- Kerstein P., del Camino D., Moran M., Stucky C. (2009) Pharmacological blockade of TRPA1 inhibits mechanical firing in nociceptors. *Mol. Pain*, 5: art. 19 (doi: 10.1186/1744-8069-5-19)

- Klein A.H., Iodi Carstens M., Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Carstens E. (2010) Topical application of L-menthol induces heat analgesia, mechanical allodynia, and a biphasic effect on cold sensitivity in rats. *Behav. Brain Res.*, 212(2): 179-186 (doi: 10.1016/j.bbr.2010.04.015)
- Koivisto A-P., Belvisi M.G., Gaudet R., Szallasi A. (2022) Advances in TRP channel drug discovery: from target validation to clinical studies. *Nature Rev. Drug Discov.*, 21(1): 41-59 (doi: 10.1038/s41573-021-00268-4)
- Krogsaeter E.K., Biel M., Wahl-Schott C., Grimm C. (2019) The protein interaction networks of mucolipins and two-pore channels. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, 1866: 1111–1123.
- Lamas J.A., Rueda-Ruzafa L., Herrera-Perez S. (2019) Ion channels and thermosensitivity: TRP, TREK, or both? *Int. Mol. Sci.*, 20: E2371
- Latorre R., Zaelzer C., Brauchi S. (2009) Structure-functional intimacies of transient receptor potential channels. *Quart. Rev. Biophys.*, 42: 201–246 (doi: 10.1017/S0033583509990072)
- Levine J.D., Alessandri-Haber N. (2007) TRP channels: targets for the relief of pain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1772: 989-1003.
- Li H. (2017) TRP classification. In: Wang Y. (ed.), *Transient Receptor Potential Canonical Channels and Brain Diseases*. Berlin: Springer, pp. 1–8.
- Li J., Zhang X., Song X., Liu R., Zhang J., Li Z. (2019) The structure of TRPC ion channels. *Cell Calcium*. 80: 25-28 (doi: 10.1016/j.ceca.2019.03.005)
- Liao M., Cao E., Julius D., Cheng Y. (2013) Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. *Nature*, 504(7478): 107-112 (doi: 10.1038/nature12822)
- Liedtke W.B. (2017) TRPV channels' function in osmo- and mechanotransduction. In: Liedtke W.B., Heller S. (eds.) *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- López-Romero A.E., Hernández-Araiza I., Torres-Quiroz F., Tovar-Y-Romo L.B., Islas LD, Rosenbaum T. (2019) TRP ion channels: Proteins with conformational flexibility. *Channels (Austin)*. 13(1): 207-226 (doi: 10.1080/19336950.2019.1626793)
- Madej M., Ziegler C.M. (2018) Dawning of a new era in TRP channel structural biology by cryo-electron microscopy. *Flugers Arch.–Eur. J. Physiol.*, 470(2): 213-225 (doi: 10.1007/s00424-018-2107-2)
- Maher M., Ao H., Banke t., Nasser N., Wu NT., Breitenbucher JG., Chaplan SR., Wickenden AD. (2008) Activation of TRPA1 by farnesyl thiosalicyc acid. *Mol. Pharmacol.*, 73: 1225-1234.
- Martinez AL., Gonzalez-Trujano ME., Chavez M., Pellecer F., Moreno J., Lopez-Munoz FJ. (2011) Hesperidin produces antinociceptive response and synergistic interaction with ketorolac in an arthritic gout-type pain in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 97(4): 683-689 (doi: 10.1016/j.pbb.2010.11.010)
- Materazzi S., Nassini R., Andre E., Campi B., Amadesi S., Trevisani M., Bunnett NW., Patacchini R., Geppetti P. (2008) Cox-dependent fatty acid metabolites cause pain through activation of the irritant receptor TRPA1. *Proc Natl Acad Sci Usa*, 105, 12045-12050 (doi: 10.1073/pnas.0802354105)
- Matsuura H., Sokabe T., Kohno K., Tominaga M., Kadowaki T. (2009) Evolutionary conservation and changes in insect TRP channels. *BMC Evol. Biol.*, 9: 228 (doi: 10.1186/1471-2148-9-228)
- McKemy D.D., Neuhausser W.M., Julius D. (2002) Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*, 416(6876): 52-58 (doi: 10.1038/nature719)
- McQuay H.J., Moore A. (2006) NSAIDs and Coxibs: clinical use. In: *Wall and Mellzack's Textbook of Pain*. S.B. McMahon, M. Kolzenburg (eds.), San Diego, Elsevier, pp. 471-480.
- Meyer R.A., Ringkamp M. Campbell J. N and Srinivasa N. R. (2006) Peripheral mechanisms of cutaneous. In: *Wall and Mellzack's Textbook of Pain*. S.B. McMahon, M. Koltzenburg (eds), 5th ed. San Diego, Elsevier, pp. 3-35.
- Montell C. (2001) Physiology, phylogeny, and functions of the TRP superfamily of cation channels. *Sci STKE*, 2001: re1.

- Moran M.M., McAlexander M.A., Voets T., Szallasi A. (2011) Transient receptor potential channels as therapeutic targets. *Nature Rev. Drug Discov.*, 10: 601–620.
- Moran M.M. (2017) TRP channels as potential drug targets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 58: 309–330 (doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010617-052832)
- Moran M.M., Szallasi A. (2018) Targeting nociceptive transient receptor potential channels to treat chronic pain: Current state of the field. *Brit. J. Pharmacol.*, 175: 2185–2203 (doi:10.1111/bph.14044)
- Moore C., Gupta R., Jordt S.E., Chen Y., Liedtke W.B. (2018) Regulation of pain and itch by TRP channels. *Neurosci. Bull.*, 34(1): 120–142 (doi: 10.1007/s12264-017-0200-8)
- Naert R., López-Requena A., Talavera K. (2021) TRPA1 Expression and pathophysiology in immune cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 22: 11460 (doi.org/10.3390/ijms222111460)
- Nassini R., Fusi C., Materazzi S., Coppi E., Tuccinardi T., Marone IM, et al. (2015) The TRPA1 channel mediates the analgesic action of dipyrrone and pyrazolone derivatives. *Brit. J. Pharmacol.*, 172: 3397–3411
- Nesin V., Tsiokas L. (2014) TRPC1. *Exp. Pharmacol.*, 222: 15–51 (doi: 10.1007/978-3-642-54215-2\_2)
- Nilius B., Owsianik G., Voets T., Peters JA. (2007) Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol. Rev.*, 87: 165–217.
- Nilius B., Owsianik G. (2010) Transient receptor potential channelopathies. *Pflugers Arch.*, 460: 437–450.
- Nilius B., Flockerzi V. (2014) what do we really know and what do we need to know: Some controversies, perspectives and surprises. In: Nilius B., Flockerzi V. (eds.). *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer, pp. 1239–1280.
- Nilius B., Szallasi A. (2014) Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacol. Rev.*, 66: 676–814.
- Nilius B., Appendino G. (2013) Spices: The savory and beneficial science of pungency. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, (Springer). 164: 1–76 (doi: 10.1007/112\_2013\_11)
- Nozadze I., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. (2021) TRPV1 and TRPA1 channels are involved in pain sensations. *Bull. Georgian Natl. Acad. Sci.*, New series, 15(4): 131–139.
- Nozadze I., Tsagareli MG. (2020) TRP channels in physiological nociception and pain. In: *Modern Advances Pharmaceut Res.*, vol. 3, chap. 1, pp. 10–37. London: Book Publisher Intern (doi: 10.9734/bpi/mapr/v3)
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. (2016a) TRP channels in thermal pain sensation. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders*, vol. 1, chap. 22. New York: Nova Biomedical, pp. 271–287.
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli MG. (2016b) Role of thermo TRPA1 and TRPV1 channels in heat, cold and mechanical nociception of rats. *Behav. Pharmacol.*, 27(1): 29–36.
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. (2016c) NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation. *Data Brief*, 6: 668–673 (doi: 10.1016/j.dib.2015.12.055)
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. (2018a) NSAIDs attenuate agonist-evoked activation of the TRPA1 channel: Behavioral evidence. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders*, vol. 2, chap. 21. New York: Nova, pp. 257–271.
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M. (2018b) The role of transient receptor potential (TRPA1) channels in pruritus. *Georgian Med. News.*, 22(7–8) (280–281): 134–137.
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. (2018c). Role of transient receptor potential channels in itch and pain sensations. *Bull. Georgian National Acad. Sci.*, New Series, vol. 12, no.1, pp 118–124
- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. (2019) Agonist-evoked hyperalgesia and allodynia: The role of transient receptor potential channels in pain and itch. In: *Hyperalgesia and Allodynia: A Closer Look. Symptoms, Mechanisms and Treatment*. M.G. Tsagareli (ed.). Chap. 7. New York: Nova Sciences, pp. 151–174.



- Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Behavioral Study of TRPA1 and TRPV1 Channels Relationship in Rats. *Bull. Georgian National Acad. Sci.*, 2014, New Series, vol. 8, no. 1, pp 122-127
- Ong H.L., de Souza L.B., Cheng K.T., Ambudkar I.S. (2014) Physiological functions and regulation of TRPC channels. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.). *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer, pp. 1005–1034.
- Ordás P., Hernandez-Ortego P., Vara H., Fernandez-Pena C., Reimundez A., Morenilla-Palao C. et al. (2019) Expression of the cold thermoreceptor TRPM8 in rodent brain thermoregulatory circuits. *J. Comp. Neurol.*, 529 (1): 234-256 (doi: 10.1002/cne.24694)
- Patapoutian A., Tate S., Woolf C.J. (2009) Transient receptor potential channels: targeting pain at the source. *Nature Rev. Drug Discov.*, 8(1): 55-68.
- Paulsen C.E., Armache J.P., Gao Y., Cheng Y., Julius D. (2015) Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms. *Nature*, 520: 511–517.
- Rotpenjian N., Tapechum S., Vattarakorn A., et al. (2021) Evolution of mirror-image pain in temporomandibular joint osteoarthritis mouse model. *J Appl Oral Sci*; 29: e20200575 (doi:10.1590/1678-7757-2020-0575)
- Reeh P.W., Fischer M.J.M. (2022) Nobel somatosensations and pain. *Pflugers Arch.*, Feb 14 (doi: 10.1007/s00424-022-02667-x). Epub ahead of print.
- Rubaiy H.N. (2019) treasure troves of pharmacological tools to study transient receptor potential canonical 1/4/5 channels. *Brit. J. Pharmacol.*, 176: 832-846.
- Saito S., Shingai R. (2006) Evolution of thermo-TRP ion channel homologs in vertebrates. *Physiol. Genomics.*, 27:219-230.
- Samanta A., Hughes T.E.T., Moiseenkova-Bell V.Y. (2018) Transient Receptor Potential (TRP) channels. In: J.R. Harris, E.J. Boekema (eds.) *Membrane Protein Complexes: Structure and Function*, pp. 141–165.
- Semmo M., Kuttgen M., Hofherr A. (2014) The TRPP subfamily and Polycystin-1 proteins. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.). *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer, pp. 675–711.
- Señaris R., Ordás P., Reimúndez-A., Viana F. (2018) Mammalian cold TRP channels: impact on thermoregulation and energy homeostasis. *Pflugers Arch.*, 470(5): 761-777 (doi: 10.1007/s00424-018-2145-9)
- Schug S.A., Gandham N. (2006) Opioids: clinical use. In: *Wall and Mellzack's Textbook of Pain*. S.B. McMahon, M. Kolzenburg (eds.). San Diego: Elsevier, pp. 443-458.
- Schumacher M.A. (2010) Transient receptor potential channels in pain and inflammation: Therapeutic opportunities. *Pain Practice*, 10(3): 185-200 (doi.org/10.1111/j.1533-00.2010.00358.x)
- Silverman H.A., Chen A., Kravatz N.L., Chavan S.S., Chang E.H. (2020) Involvement of neural transient receptor potential channels in peripheral inflammation. *Front. Immunol.*, 11: 590261 (doi: 10.3389/fimmu.2020.590261)
- Souza Monteiro de Araujo D., Nassini R., Geppetti P., De Logu F. (2020) TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. *Expert. Opin. Ther. Targets*, 24(10): 997–1008 (doi: 10.1080/14728222.2020.1815191)
- Strachan L. (2006) Mirror image contralateral pain reproduction – other cases. *Acupunct Med*; 24(3): 137 (doi: 10.1136/aim.24.3.137)
- Tai Y., Yang S., Liu Y., Shao W. (2017) TRPC channels in health and disease. In: Wang Y. (ed.). *Transient Receptor Potential Canonical Channels and Brain Diseases*. Berlin: Springer, pp. 35-45.
- Taylor-Clark TE., Udem B.J., Mac D.W., Ghatta S., Carr M.J., McAlexander MA. (2008) Prostaglandin-induced activation of nociceptive neurons via direct interaction with transient receptor potential A (TRPA1). *Mol. Pharmacol.*, 73: 274-281.
- Tominaga M. (2009) Thermal sensation (cold and heat) through thermosensitive TRP channel activation. In: A.I., Basbaum, M.C. Bushnell (eds.). *Science of Pain*. San Diego: Elsevier, 127–132.

- Tsagareli M.G. (2005) Neurobiological basis of pain: Review. *Georgian J. Neurosci.*, 1(4): 69-82.
- Tsagareli M.G. (2011) Behavioral testing of the effects of thermo-sensitive TRP channel agonists on touch, temperature and pain sensations. *Neurophysiol.* (Springer), 43(4): 309–320.
- Tsagareli M.G. (2013a) Transient receptor potential ion channels as promising therapeutic targets: An overview. In: *Frontiers in CNS Drug Discovery*; New York: Bentham, vol. 2, chap. 5, pp. 118-145.
- Tsagareli M.G., Nozadze I.R., Gurtskaia G.P., Carstens M. I., Tsiklauri N.J., Carstens E.E. (2013b). Behavioral and electro-physiological study of thermal and mechanical pain modulation by TRP channel agonists. *Нейрофизиология/ Neurophysiology*, 2013, vol. 45, no. 4, pp. 369-378; Republished in: *Neurophysiology* (Springer), 2013, 45(4): 329-339 (ISSN: 0028-2561) Impact Factor: 0.587 (2020)
- Tsagareli M.G. (2015) Thermo –TRP channels in pain sensation. *Brit. J. Pharm. Sci.* 6(6):376-384 (doi:10.9734/BJPR/2015/16883)
- Tsagareli M.G. (2019) Behavioral study of agonist-evoked activation of transient receptor potential channels. New York: Nova Science.
- Tsagareli M.G. (2020a) Thermo-TRP channels in pain sensation: An overview. In: *Modern Adv. Pharm. Res.*, P.K. Sharma (ed.). London: Book Publ. Int., vol. 3, chap. 3, pp. 36-50 (doi: 10.9734/bpi/mapr/v3)
- Tsagareli M.G. (2020b) Transient receptor potential cation channels: Transducers for sensory information. *Proc. Georgian Natl. Acad. Sci.*, Biomed. Series, 46(5-6): 335-348.
- Tsagareli M.G., Nozadze I. (2020) An overview on transient receptor potential channels superfamily. *Behav. Pharmacol.*, 31: 413–434 (doi: 10.1097/FBP.0000000000000524)
- Tsagareli M.G., Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G. (2018) Non-steroidal anti-inflammatory drugs attenuate agonist-evoked activation of transient receptor potential channels. *Biomed & Pharmacother.*, 97: 745-751 (doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.131)
- Tsagareli M.G., Nozadze I., Tsiklauri N., Carstens Iodi M., Gurtskaia G., Carstens E. (2020) Thermal hyperalgesia and mechanical allodynia elicited by histamine and non-histaminergic itch mediators: Respective involvement of TRPV1 and TRPA1. *Neuroscience*, 449: 35-45 (doi: 10.1016/j.neuroscience.2020.09.048)
- Tsagareli M.G., Tsiklauri N. (2012) Behavioral study of “Non-Opioid Tolerance”. New York: Nova Biomedical.
- Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Zanotto K.L., Gurtskaia G., et al. (2010) Behavioral evidence of heat hyperalgesia and mechanical allodynia induced by intradermal cinnamaldehyde in rats. *Neurosci. Letters*, 473: 233-236 (doi: 10.1016/j.neulet.2010.02.056)
- Tsavalier L., Shapero M.H., Morkowski S., Laus R. (2001) Trp-p8, a novel prostate specific gene, is upregulated in prostate cancer and other malignancies and share high homology with transient receptor potential calcium channel proteins. *Cancer Res.*, 61: 3760–3769.
- van Goor M.K.C., Hoenderop J.G.J., van der Wijst J. (2017) TRP channels in calcium homeostasis: from hormonal control to structure-function relationship of TRPV5 and TRPV6. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Res.* 1864:883– 893.
- Vane J.R. (1971) inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.*, 231: 232-235.
- Vangeel L., Voets T. (2019) Transient receptor potential channels and calcium signaling. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, pii: a035048 (doi: 10.1101/cshperspect.a035048)
- Venkatachalam K., Luo J., Montell C. (2014) Evolutionarily conserved, multitasking TRP channels: Lessons from worms and flies. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.), *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*, Handb. Exp. Pharmacol., Springer, vol. 222, pp. 937-962 (doi: 10.1007/978-3-319-05161-1\_9)
- Venkatachalam K., Wong C.O., Zhu M.X. (2015) The role of trpmls in endolysosomal trafficking and function. *Cell Calcium*, 58: 48–56.

- Walters E.T. (2009) Evolutionary aspects of pain. In: A.I. Basbaum, Bushnell M,C, (eds.). *Science of Pain*. San Diego: Elsevier, pp. 175–184.
- Wes P.D., Chevesich J., Jeromin A., Rosenberg C., Stetten G., Montell C. (1995) TRPC1, a human homolog of a drosophila store-operated channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 9652–9656.
- Winkler P.A., Huang Y., Sun W., Du J., Lü W. (2017) Electron cryo-microscopy structure of a human TRPM4 channel. *Nature*, 552(7684): 200-204 (doi: 10.1038/nature24674)
- Woolf C.J. (2020) Capturing novel non-opioid pain targets. *Biol. Psychiatry*, 87(1):74-81 (doi:10.1016/j.biopsych.2019.06.017)
- Wu L.J., Sweet T.B., Clapham D.E. (2010) Current progress in the mammalian TRP ion channel family. *Pharmacol.Rev*, 62, 381-404.
- Yamaguchi S., Muallem S. (2010) Opening the TRPML gates. *Chem. Biol.* 17: 209–210.
- Yin Y., Le S.C., Hsu A.L., Borgnia M.J., Yang H., Lee S.Y. (2019) Structural basis of cooling agent and lipid sensing by the cold-activated TRPM8 channel. *Science*, 363(6430): eaav9334 (doi: 10.1126/science.aav9334)
- Zanotto K.L., Iodi Carstens M., Carstens E. (2008) Cross-desensitization of responses of rat trigeminal subnucleus caudalis neurons to cinnamaldehyde and menthol. *Neurosci. Letters*, 430(1): 29–33 (doi: 10.1016/j.neulet.2007.10.008)
- Zhang K., Julius D., Cheng Y. (2021) Structural snapshots of TRPV1 reveal mechanism of polymodal functionality. *Cell*; 184(20): 5138-5150.e12 (doi: 10.1016/j.cell.2021.08.012)
- Zhao J., Lin King J.V., Paulsen C.E., Cheng Y., Julius D. (2020) Irritant-evoked activation and calcium modulation of the TRPA1 receptor. *Nature*, 585(7823): 141-145 (doi: 10.1038/s41586-020-2480-9)
- Zhu X., Chu P.B., Peyton M., Birnbaumer L. (1995) Molecular cloning of a widely expressed human homologue for the drosophila trp gene. *FEBS Lett.*, 373: 193–198.
- Zhu X., Tian C., Zhou Y., Shi J., Yuan G., Zhang L. et al. (2021) Transient Receptor Potential channels: A Global Bibliometric analysis from 2012 to 2021. *Channels (Austin)*. 15(1): 624-634 (doi: 10.1080/19336950.2021.1983100)
- Zimmerman M. (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals, *Pain*, 16 (2): 109-110 (doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)
- Zimova L., Barvikova K., Macikova L., Vyklicka L., Sinica V., Barvik I., Vlachova V. (2020) Proximal C-terminus serves as a signaling hub for TRPA1 channel regulation via its interacting molecules and supramolecular complexes. *Front. Physiol.*, 11: 189 (doi: 10.3389/fphys.2020.00189)
- Zygmunt P.M., Högestätt E.D. (2014) TRPA1. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.). *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels*. Berlin: Springer, pp. 583–630.