

А.П. Кондрацький, К.О. Кондрацька, Р. Скрима, Н. Преварська, Я.М. Шуба

Статеві відмінності у холодовій чутливості: роль гормональної регуляції TRPM8-каналу

У цій роботі ми виявили відмінності термочутливості самців і самиць миші в невеликому діапазоні температур: самиці характеризуються більш низьким температурним порогом чутливості в діапазоні 15–25 °С. Показано, що в основі цих особливостей лежать відмінності в електрофізіологічних властивостях холод-ментолактивованого терморецептора – TRPM8 у нейронах задньокорінцевих гангліїв (ЗКГ) самців і самиць. Так, густина струму, що переноситься через TRPM8 (I_{TRPM8}) в нейронах ЗКГ самців, культивованих за наявності тестостерону, була меншою, ніж у нейронах ЗКГ самиць, культивованих за наявності 17 β -естрадіолу. Крім того крива стаціонарної потенціалзалежної активації TRPM8 у нейронах самиць була зсунута на 15 мВ у бік гіперполяризації порівняно з нейронами самців. Усі вказані відмінності в біофізичних властивостях I_{TRPM8} зникали при вилученні тестостерону та 17 β -естрадіолу з культуральних середовищ. Зроблено припущення, що в основі статевих відмінностей в термочутливості, принаймі частково, лежать особливості регуляції холодного рецептора TRPM8 статевими стероїдними гормонами – тестостероном та/або 17 β -естрадіолом.

Ключові слова: самиці, самиці, термочутливість, статеві гормони, холодний рецептор TRPM8.

ВСТУП

Здатність відчувати зовнішню температуру життєво необхідна організмам для підтримки гомеостазу, адаптації до змін в навколишньому середовищі, уникнення небезпечних (дуже високих і низьких) температур. У хребетних термочутливість головним чином зумовлена наявністю спеціальних каналів-терморецепторів з родини TRP (від англ. Transient receptor potential), які реагують на зміни температури докільця в широкому діапазоні [7]. Відповідно до їх ролі в термочутливості ці канали головним чином експресуються в плазматичній мембрані сенсорних нейронів, де вони беруть участь у перетворенні різних термічних стимулів у електричне збудження, здатне до розповсюдження у інтеграційні центри ЦНС.

Одним з цікавих представників цієї групи є холодний рецептор, відомий під

назвою TRPM8 [14]. TRPM8 експресується приблизно в 7 % сенсорних нейронів малого діаметра (близько 10–20 мкм) задньокорінцевих гангліїв (ЗКГ), де виконує функцію сенсора температури в доболювому, холодному діапазоні – 8–28 °С [5, 14, 17]. Він може бути експериментально активованим зниженням температури (поріг активації близько 28 °С), а також ментолом, іциліном та низкою інших хімічних сполук, що викликають відчуття охолодження. При своїй активації TRPM8 пропускає вхідний катіонний струм, який деполяризує мембрану нейрона, викликаючи збудження.

Багато авторів указують на існування статевих відмінностей у термочутливості й сприйнятті болю, причому у самиць, як правило, температурний і больовий порогови нижче, ніж у самців. Водночас у людей, крім різниці у гормональному статусі, такі відмінності можуть бути зумовлені низкою

додакових факторів, включаючи вік, емоційний стан, тренування, кліматичні умови, культуральні традиції, досвід тощо. Очевидно, що у тварин вирішальним фактором є саме гормональний статус, що спонукає до думки про можливу роль статевих гормонів у регуляції властивостей та/або експресії каналів-терморекцепторів. Це припущення узгоджується, зокрема, з раніше опублікованими даними про кореляцію експресії холодового рецептора TRPM8 і функціонального андрогенного рецептора в простаті [3, 22]. Незважаючи на значний прогрес у розумінні статевих особливостей у всіх їх проявах, досить мало відомо про механізми, які лежать в основі відмінностей у температурочутливості, а тому ця проблема вимагає подальших досліджень.

Метою нашої роботи було виявити відмінності у температурочутливості самців і самиць у добольовому діапазоні (8–30 °C) температур за допомогою порівняння поведінкових реакцій експериментальних тварин різної статі та встановити, до якої міри ці відмінності можуть бути пов'язані з функціонуванням холодового рецептора TRPM8 сенсорних нейронів.

МЕТОДИКА

У своїх поведінкових експериментах з визначення різниці в термочутливості самців і самиць ми використали мишей, бо вони відзначаються більшою рухливістю, ніж щури, які в багатьох випадках віддавали перевагу пасивному лежанню на поверхні з комфортною для них температурою.

Поведінкові досліді: метод вибору поверхні. Тварину (мишу) поміщали в прозору камеру, виготовлену із плексигласу. Нижня частина камери (підлога) складалася із двох однакових порожнинних платформ, через які незалежно пропускали воду з різною температурою за допомогою двох водяних термоциркуляторів НААКЕ

С10 (Німеччина). На поверхні однієї платформи підтримували постійну (контрольну) комфортну для тварини температуру 30 °C, а на поверхні іншої – температуру варіювали від 7 до 30 °C. При цьому вимірювали час, проведений твариною на кожній із платформ за період 10 хв [1, 21].

Виділення та культивування ізольованих нейронів ЗКГ щура. Для електрофізіологічних досліджень використовували ізольовані ЗКГ нейрони статевозрілих щурів масою 250–300 г. Тварин декапітували після анестезії ефіром. ЗКГ (8–10 од.) швидко вирізали та поміщали у холодний (4 °C) розчин (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 5, глюкоза – 10, HEPES – 10, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 1; pH 7,4. Ганглії очищали від сполучної тканини й кровоносних судин та інкубували в стандартному позаклітинному розчині з додаванням 2 мг/мл колагенази (тип I, «Sigma», США) і 5 мг/мл протеази (тип XXIII, «Sigma», США) протягом 50 хв при 37 °C. Потім ганглії декілька разів промивали в холодному розчині для вилучення ферменту та переносили в середовище DMEM («Gibco», Великобританія) з додаванням 10%-ї телячої сироватки та 8 мкг/мл гентаміцину, де їх диспергували піпеткою Пастера (діаметр 1–2 мм) для отримання ізольованих клітин. Суспензію клітин переносили в чашки Петрі з культуральним середовищем та інкубували при 37 °C в атмосфері 5 % CO₂. Дослідження проводили через 18–24 год інкубації.

Електрофізіологічний експеримент. Мембранні струми в нейронах ЗКГ щура реєстрували за допомогою методики patch-clamp в конфігурації «ціла клітина». Склад позаклітинного розчину був таким (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 5, глюкоза – 10, HEPES – 10, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 1, pH 7,4. Реєструвальну піпетку заповнювали штучним внутрішньоклітинним розчином такого складу (ммоль/л): CsCl – 145, CaCl₂ – 2, EGTA – 8, HEPES – 10, Mg²⁺-АТФ – 2, Li-ГТФ – 0,5; pH 7,3. Опір реєструвальних

піпеток знаходився в межах 2–5 МОм. Ментол («Sigma», США) розчиняли в 96%-му етанолі для отримання базового розчину з концентрацією 1 моль/л. Перед кожним експериментом його додавали у позаклітинний розчин до отримання необхідної робочої концентрації (50–200 мкмоль/л). Зміну зовнішньоклітинного розчину та прикладання сполук проводили за допомогою термостатованої багатоканальної мікропіпетки зі спільним витоком, який був розташований на відстані 100–200 мкм від досліджуваної клітини. Всі реактиви, які використовувалися для приготування розчинів, були від фірми «Sigma» (США). Температуру зовнішнього розчину підтримували за допомогою циркуляційного водяного термостата НААКЕ С10 і сконструйованої в нашій лабораторії системи фіксації температури.

Дослідження проводили з використанням підсилювача фірми «Dagan PC-ONE» (США) в комплексі з персональним комп'ютером під управлінням електрофізіологічного програмного забезпечення pCLAMP 8.0 («Axon Instruments», США). Обробку та аналіз результатів здійснювали off-line за допомогою програми Clampfit з

паketу pCLAMP 8.0 та програми Origin 7.0 («Microcal», США). Для оцінки статистичної достовірності ми використовували однонаправлений тест ANOVA: $P < 0,05$ вважалося статистично достовірним.

РЕЗУЛЬТАТИ

Коли температура обох поверхонь камери підтримувалася на однаковому, комфортному для тварин контрольному значенні 30 °С, як і очікувалося, незалежно від статі тварини не віддавали перевагу якійсь одній половині підлоги, проводячи однаковий час на кожній з них (рис. 1). Однак з охолодженням однієї з половинок камери все більше виявлялася тенденція до того, що тварини надавали перевагу саме теплій (30 °С) поверхні, проводячи все менше часу на холодній (див. рис. 1). Хронометраж знаходження тварин на кожній з поверхонь та статистична обробка отриманих результатів показали, що самці проводять більше часу на холодній поверхні, ніж самиці (див. рис. 1), причому ця різниця була найбільшою в діапазоні температур від 15 до 25 °С, сягаючи статистичної достовірності при 20 °С. При охолодженні

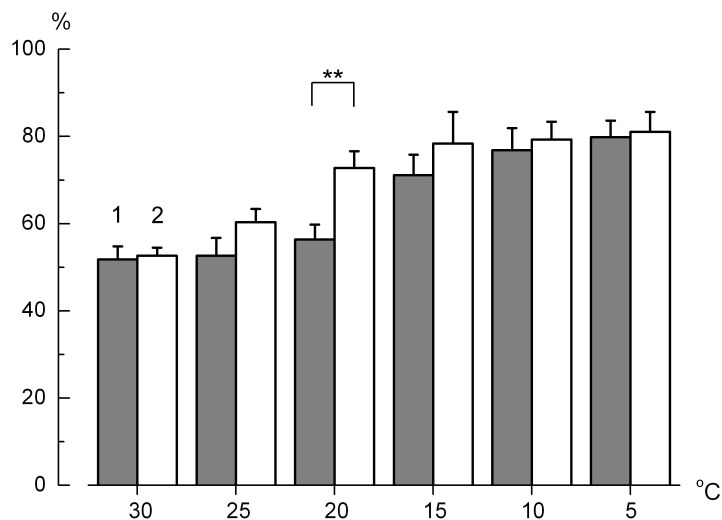


Рис. 1. Статеві відмінності в холодовій чутливості самців (1) і самиць (2) мишей. За віссю абсцис – температура однієї з поверхонь, за віссю ординат – відносний час, проведений на поверхні з комфортною температурою 30 °С. ** $P < 0,01$

однієї з поверхонь до температур, нижчих від 15 °С, різниця в часі, проведеному на кожній з поверхонь самцями і самицями, поступово зникала.

Отримані поведінкові результати свідчать про наявність залежних від статі відмінностей у чутливості до охолодження, причому той факт, що максимум цих відмінностей спостерігається в добовому діапазоні температур дає змогу припустити, що в їх основі лежать особливості експресії, функціонування, або регуляції холодового рецептора TRPM8 у самців і самиць статевими гормонами. Тому наступним нашим завданням було порівняти електрофізіологічні властивості TRPM8 у нейронах ЗКГ самців і самиць.

Для збереження характерних *in vivo* відмінностей у гормональному фоні нейронів ЗКГ самців і самиць після ізоляції нейрони самців продовжували культивувати у середовищі з додаванням 10 нмоль/л тестостерону, а нейрони самиць – з додаванням 0,37 нмоль/л 17 β -естрадіолу. Аналогічні концентрації тестостерону або 17 β -естрадіолу були також у всіх розчинах, які використовували для електрофізіологічних експериментів відповідно з нейронами ЗКГ самців і самиць.

Для активації мембранного струму через TRPM8-канали (I_{TRPM8}) нейронів ЗКГ під час електрофізіологічного експерименту ми застосували відомий агоніст цих каналів – ментол. При цьому штучний внутрішньоклітинний розчин, яким заповнювали реєстраційну мікропіпетку, як основного катіона містив не K^+ , а Cs^+ , що забезпечило практично повне усунення вихідних калієвих струмів нейрона і, таким чином, суттєве зменшення базового рівня струму, на тлі якого очікувалася активація I_{TRPM8} . Ментол прикладали під час неперервної стимуляції клітини з частотою 0,33 Гц імпульсами потенціалу, що склалися з фази деполаризації до 100 мВ та фази гіперполяризації до -100 мВ, з'єднаних між

собою лінійно-змінною ділянкою із швидкістю зміни потенціалу 1,6 мВ/мс (рис. 2,а). Такий протокол стимуляції давав змогу одночасно характеризувати амплітуду струму при двох потенціалах – ± 100 мВ, а також вимірювати його вольт-амперні значення у відповідь на лінійно-змінний потенціал (див. рис. 2,в). Електрофізіологічні дослідження проводили при 33–34 °С.

Як видно з рис. 2, а,б, за таких експериментальних умов аплікація ментолу викликала в певній частині нейронів різке збільшення амплітуди вихідного струму. При цьому компонент струму, який активувався саме ментолом, тобто I_{TRPM8} , одержували відніманням від загального струму під час дії ментолу базового струму, який реєстрували без наявності агоніста. Про I_{TRPM8} судили на основі визначення його густини (тобто амплітуда струму віднесена до ємності мембрани нейрона) при потенціалі 100 мВ. Статистичний аналіз отриманих результатів показав, що густина I_{TRPM8} у самців має тенденцію до зниження порівняно із самицями, хоч ця різниця в усьому діапазоні потенціалів і не сягала рівня статистичної достовірності (див. рис. 2,в).

Раніше було встановлено, що TRPM8, як і деякі інші термо-TRP, в своїй основі є потенціалзалежним; просто за високих температур (понад 28°C) його активаційна крива зсунута у бік дуже високих, нефізіологічних значень потенціалу (потенціал половинної активації, $V_{1/2} > 140$ мВ) [20]. Зниження ж температури, або вплив ментолу призводять до зсуву кривої потенціалзалежності стаціонарної активації TRPM8 у бік більш негативних, фізіологічних потенціалів, що і лежить в основі механізму активуючої дії цих чинників [20]. Тому нашим наступним завданням було з'ясувати, чи не зумовлюються відмінності у густині I_{TRPM8} самців і самиць зсувом їх активаційних кривих одна відносно одної.

Для побудови кривих потенціалзалежності стаціонарної активації TRPM8 ми

використали стандартний для такого типу досліджень протокол стимуляції, при якому струм за наявності ментолу активували кондиціонуючими ступінчастими імпульсами до різних значень потенціалу, після чого потенціал завжди повертали до фіксованого тестового значення – в нашому випадку 100 мВ (рис. 3,в), де вимірювали амплітуду "хвоста" струму (тобто струму на самому початку тестового зміщення до +100 мВ) [20]. При побудові кривих відкладали нормоване значення амплітуди "хвоста" від величини кондиціонуючого потенціалу.

На рис. 3 а, б, показано зразки оригінальних записів струмів у відповідь на вказаний протокол до (див. рис. 3,а) та після аплікації 100 мкмоль/л ментолу (див. рис. 3,б) при 33 °С. Як і в попередніх експериментах, I_{TRPM8} -компонент струму,

який використовували для побудови активаційних кривих, одержували відніманням базового струму від струму за наявності ментолу (див. рис. 3,в). Активаційні криві для I_{TRPM8} у нейронах ЗКГ самців і самиць порівнюються на рис. 3,г. Апроксимація експериментальних точок рівнянням Больцмана для одержання такого показника активації, як потенціал половинної активації – $V_{1/2}$, дала такі результати: у самців $V_{1/2} = 109$ мВ, а у самиць – 94 мВ (див. рис. 3,г). Таким чином, $V_{1/2}$ у самиць є приблизно на 15 мВ більш негативним, ніж у самців. Це означає, що при фіксованому потенціалі один і той самий холодний стимул викличе більшу активацію TRPM8 в нейронах самиць порівняно із самцями внаслідок чого межа холодного сприйняття у самиць буде лежати в зоні більш високих температур.

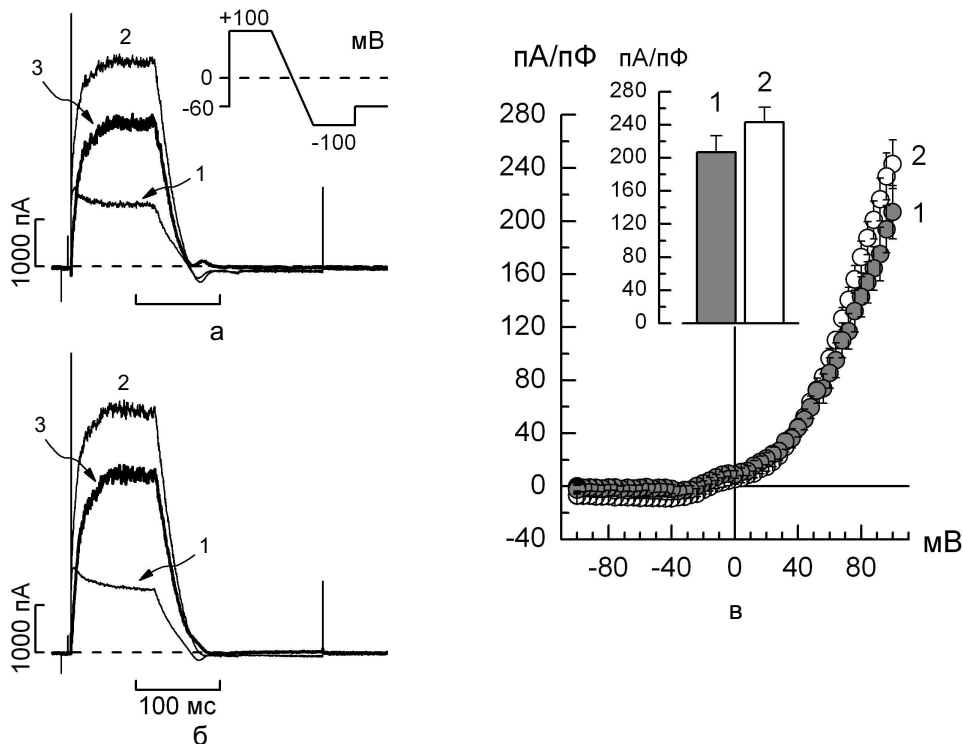


Рис. 2. Статеві відмінності амплітудних характеристик ментолактивованих струмів сенсорних нейронів задньокорінцевих гангліїв (ЗКГ) шура: 1 – контроль (до прикладання ментолу), 2 – після прикладання 100 мкмоль/л ментолу, 3 – різницевий (ментолактивований) I_{TRPM8} у відповідь на представлений протокол стимуляції у нейроні ЗКГ самця (а) та самиці (б), в – усереднені вольт-амперні характеристики I_{TRPM8} у нейронах ЗКГ самців (1) та самиць (2); вставка: густина I_{TRPM8} при +100 мВ

Слід зазначити, що при відсутності відповідних статевих гормонів у середовищах перебування нейронів упродовж усього експериментального циклу відзначені вище відмінності у біофізичних властивостях I_{TRPM8} у нейронах ЗКГ самців і самиць повністю зникали.

ОБГОВОРЕННЯ

У літературі є багато відомостей про те, що холодова чутливість залежить від статі та віку [8, 9, 15], тобто тих ознак особи, для яких характерним є різний фон статевих гормонів. Водночас молекулярні механізми, що лежать в основі таких відмінностей, залишаються не зовсім зрозумілими. Відкриття TRPM8, як основного детектора температур у добольовому холодо-

вому діапазоні [14], та підтвердження цієї його ролі на моделі нокаутних за TRPM8 мишей [2, 4, 6] дало змогу підійти до розв'язання механізмів регуляції температурочутливості різноманітними чинниками.

Ми проаналізували термочутливість самців і самиць у добольовому діапазоні холодних температур, за допомогою поведінкових тестів на мишах та електрофізіологічного аналізу функціонування TRPM8 у сенсорних нейронах ЗКГ щурів. Нами було встановлено, що самці проводять більше часу на холодній поверхні, ніж самиці, а значить холодні температури викликають у них менший дискомфорт, очевидно, внаслідок того, що поріг такого дискомфорту для самців лежить при більш низьких температурах, ніж для самиць. Слід зазначити, що особливо істотна

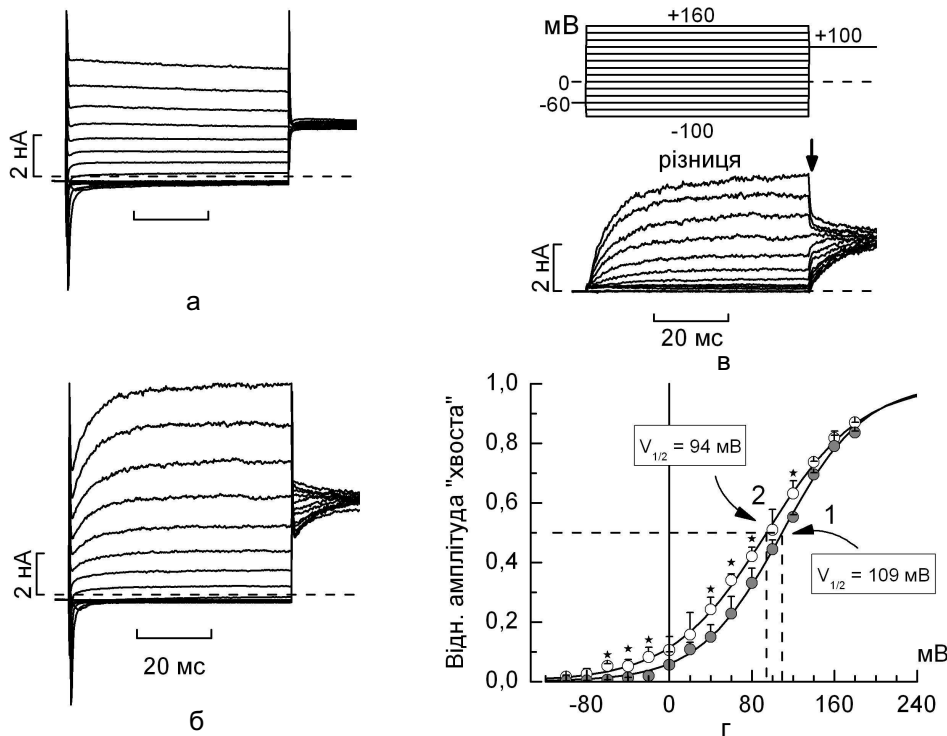


Рис. 3. Статеві відмінності в активційних характеристиках TRPM8: а – контроль (до прикладання ментолу), б – після прикладання 100 мкмоль/л ментолу, в – різницевий (ментолаактивований) I_{TRPM8} нейрона задньокорінцевого ганглія (ЗКГ) щура у відповідь на представлений протокол стимуляції; стрілкою позначені амплітуди "хвостів" струму, які використовувались для побудови кривих потенціалзалежності стаціонарної активації TRPM8, г – криві потенціалзалежності стаціонарної активації TRPM8 каналу в нейронах ЗКГ самців (1) і самиць (2) та їх апроксимація рівнянням Больцмана; $V_{1/2}$ – значення потенціалів половинної активації. * $P < 0,05$

різниця спостерігалася в діапазоні температур від 15 до 25 °С, тобто в тому, де за відчуття холоду відповідає саме холодний рецептор TRPM8. Ми припускаємо, що природа таких відмінностей насамперед полягає у регуляції TRPM8 стероїдними статевими гормонами.

Це припущення підтверджується нашими електрофізіологічними дослідженнями, які вказують на те, що у нейронах ЗКГ самців і самиць, які після ізоляції культивувалися при наявності тестостерону або естрадіолу відповідно для збереження відмінностей у гормональному фоні, характерних для *in vivo*, біофізичні властивості струму через TRPM8 помітно відрізняються. Так, густина I_{TRPM8} активованого TRPM8 агоністом ментолом, у самців була нижчою, ніж у самиць, причому ця різниця корелювала зі зсувом активаційних кривих TRPM8 самиць і самців одна віносно одної. Зсув активаційних кривих був таким, що поріг активації I_{TRPM8} у нейронах самиць знаходився при більш від'ємних значеннях мембранного потенціалу. Це у свою чергу означає, що збудження нейронів ЗКГ самиць відбудеться при меншому холодному стимулі, ніж нейронів ЗКГ самців.

У літературі представлено досить багато даних, що свідчать про регуляцію різноманітних іонних каналів статевими гормонами [11, 12, 16, 18]. Однак механізми такої регуляції є не завжди зрозумілими. Стероїдні гормони можуть брати участь у регуляції клітинних процесів двома шляхами: через класичні внутрішньоклітинні рецептори, які впливають на геном, а також негеномним шляхом, який може включати активацію мембранних рецепторів або пряму дію на молекулу-мішень [10, 13].

Геномний механізм полягає в тому, що стероїди, які є порівняно невеликими гідрофобними молекулами, за допомогою дифузії проходять через плазматичну мембрану і зв'язуються зі специфічними рецепторними білками, що призводить до

зміни конформації гормонрецепторного комплексу та його траслокації в ядро, де він може регулювати експресію специфічних генів-мішеней [13]. Оскільки цей механізм включає активацію генів і синтез нових білків для здійснення тієї чи іншої функції, зазвичай час до проявлення ефекту становить від декількох хвилин до декількох діб з моменту прикладання гормону.

Однак ефекти стероїдних гормонів можуть проявлятися і набагато швидше – за секунди або хвилини – час, недостатній для активації геномного шляху. Це такі ефекти, як підвищення проникності мембран, посилення транспорту глюкози й амінокислот, звільнення лізосомальних ферментів, регуляція деяких іонних каналів тощо [10, 19]. Механізм негеномної дії стероїдних гормонів полягає у зв'язуванні з рецепторами на плазматичній мембрані, молекулярна природа яких не завжди відома, і активації сигнальних шляхів, що включають вторинні посередники цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} тощо. Також можлива пряма взаємодія гормону з іонними каналами.

Наші результати поки не дають відповіді на те, яким чином відбувається регуляція TRPM8 статевими гормонами та який саме гормон – тестостерон, та/або 17β -естрадіол є ключовим для такої регуляції. Для з'ясування цих питань потрібні подальші дослідження із гострим прикладанням гормонів, використанням специфічних блокаторів внутрішньоклітинних рецепторів і фармакологічних засобів впливу на різноманітні сигнальні шляхи.

Таким чином, наші результати вказують на існування відмінностей в термочутливості самців і самиць миші в доболювому діапазоні температур і, що найімовірніше, ці відмінності опосередковані впливом стероїдних гормонів – тестостерону та/або 17β -естрадіолу на холодний рецептор TRPM8 у мембрані сенсорних нейронів. Який саме із цих гормонів бере участь у регуляції TRPM8, і за яким

механізмом вона здійснюється залишається предметом подальших досліджень.

Робота виконана за часткової підтримки гранту INTAS 05-100008-8223.

**А.П. Кондрацкий, Е.А. Кондрацкая,
Р. Скрыма, Н. Преварская, Я.М. Шуба**

ПОЛОВЫЕ ОТЛИЧИЯ В ХОЛОДОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ: РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ TRPM8-КАНАЛА

В данной работе мы выявили различия термочувствительности самцов и самок мыши в небольшом диапазоне температур: самки характеризуются более низким температурный порогом чувствительности в диапазоне 15–25 °С. Показано, что в основе этих особенностей лежат отличия в электрофизиологических свойствах холоднолактативируемого терморепцептора – TRPM8 в нейронах заднекорешковых ганглиев (ЗКГ) самцов и самок. Так, плотность тока, переносимого через TRPM8 (I_{TRPM8}) в нейронах ЗКГ самцов, культивированных в присутствии тестостерона, была меньше чем в нейронах ЗКГ самок, культивированных в присутствии 17 β -эстрадиола. Кроме этого, кривая стационарной потенциалзависимой активации TRPM8 в нейронах самок была сдвинута на 15 мВ в сторону гиперполяризации по сравнению с нейронами самцов. Все указанные отличия в биофизических свойствах I_{TRPM8} исчезали при устранении тестостерона и 17 β -эстрадиол из культуральных сред. Сделано предположение, что вероятнее всего в основе половых различий в термочувствительности по крайней мере частично лежат особенности регуляции холодого рецептора TRPM8 половыми стероидными гормонами – тестостероном и/или 17 β -эстрадиолом.

Ключевые слова: самцы, самки, термочувствительность, половые гормоны, холодовой рецептор TRPM8.

**A. P. Kondratskyi, K. O. Kondratska,
R. Skryma, N. Prevarskaya, Ya. M. Shuba**

GENDER DIFFERENCES IN THE COLD SENSITIVITY: ROLE OF HORMONAL REGULATION OF TRPM8 CHANNEL

We have studied the gender differences in the perception of cutaneous cold stimuli in the innocuous temperature range (5–30°C) in mice and rats. In the behavioral tests using two variable temperature plates technique female subjects displayed lower threshold for the sensation of cooling temperatures in the range of 15–25°C compared to males. Patch-clamp experiments carried out on dorsal root ganglion (DRG) neurons from

male and female rats maintained in the short-term cultures in the presence of testosterone or 17 β -estradiol, respectively, have revealed gender- and hormone-related differences in the electrophysiological properties of cold/menthol-sensitive TRPM8 channel: average density of menthol-activated I_{TRPM8} current density in females' DRG neurons was higher compared to males', and the steady-state voltage-dependent activation curve of TRPM8 in females was shifted towards hyperpolarized potentials compared to males. These distinctive TRPM8 properties vanished upon withdrawal of testosterone and 17 β -estradiol from the culture mediums. We conclude that the observed differences in the behavioural sensitivity to innocuous cold and in functional properties of TRPM8 cold receptor are due to differential regulation of TRPM8 by sex steroid hormones, testosterone and/or 17 β -estradiol.

Key words: males, females, thermosensitivity, sex hormones, cold receptor TRPM8.

International Center of Molecular Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

Laboratoire de Physiologie Cellulaire, Universite des Sciences et Technologies de Lille, France

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Allchorne A.J., Broom D.C., Woolf C.J. Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats // *Mol Pain*. – 2005. – **1**. – P. 36–39.
2. Bautista D.M., Siemens J., Glazer J.M. et al. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold // *Nature*. – 2007. – **448**(7150). – P. 204–208.
3. Bidaux G., Roudbaraki M., Merle C. et al. Evidence for specific TRPM8 expression in human prostate secretory epithelial cells: functional androgen receptor requirement // *Endocrinol. Relat. Cancer*. – 2005. – **12**(2). – P. 367–382.
4. Colburn R.W., Lubin M.L., Stone D.J. et al. Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice // *Neuron*. – 2007. – **54**(3). – P. 379–386.
5. de la Pena E., Malkia A., Cabedo H. et al. The contribution of TRPM8 channels to cold sensing in mammalian neurones // *J. Physiol.* – 2005. – **567**(2). – P. 415–426.
6. Dhaka A., Murray A.N., Mathur J. et al. TRPM8 is required for cold sensation in mice // *Neuron*. – 2007. – **54**(3). – P. 371–378.
7. Dhaka A., Viswanath V., Patapoutian A. Trp ion channels and temperature sensation // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2006. – **29**. – P. 135–161.
8. Doeland H.J., Nauta J.J., van Zandbergen J.B. et al. The relationship of cold and warmth cutaneous sensation to age and gender // *Muscle Nerve*. – 1989. – **12**(9). – P.712–715.

9. Harju E.L. Cold and warmth perception mapped for age, gender, and body area // *Somatosens Mot. Res.* – 2002. – **19**(1). – P. 61–75.
10. Herve J.C. Non-genomic effects of steroid hormones on membrane channels // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2002. – **2**(4). – P. 411–417.
11. Kelly M.J., Qiu J., Ronnekleiv O.K. Estrogen modulation of G-protein-coupled receptor activation of potassium channels in the central nervous system // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2003. – **1007**. – P. 6–16.
12. Lee D.Y., Chai Y.G., Lee E.B. et al. 17Beta-estradiol inhibits high-voltage-activated calcium channel currents in rat sensory neurons via a non-genomic mechanism // *Life Sci.* – 2002. – **70**(17). – P. 2047–2059.
13. McEwen B.S. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity // *TiPS.* – 1991. – **12**. – P. 141–147.
14. McKemy D.D., Neuhausser W.M., Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation // *Nature.* – 2002. – **416**(6876). – P. 52–58.
15. Molina N., Bedran-de-Castro M.T., Bedran-de-Castro J.C. Sex-related differences in the analgesic response to the rat tail immersion test // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1994. – **27**(7). – P. 1669–1672.
16. Okabe K., Okamoto F., Kajiya H. et al. Estrogen directly acts on osteoclasts via inhibition of inward rectifier K⁺ channels // *Naunyn Schmiedeb. Arch Pharmacol.* – 2000. – **361**(6). – P. 610–620.
17. Raid G., Babes A., Pluteanu F. A cold- and menthol-activated current in rat dorsal root ganglion neurones: properties and role in cold transduction // *J. Physiol.* – 2002. – **545**(2). – P.595–614.
18. Scragg J.L., Dallas M.L., Peers C. Molecular requirements for L-type Ca(2+) channel blockade by testosterone // *Cell Calcium.* – 2007. – **42**(1). – P. 11–15.
19. Simoncini T., Genazzani A.R. Non-genomic actions of sex steroid hormones // *Eur. J. Endocrinol.* – 2003. – **148**(3). – P. 281–292.
20. Voets T., Droogmans G., Wissenbach U. et al. The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels // *Nature.* – 2004. – **430**(7001). – P. 748–754.
21. Walczak J.S., Beaulieu P. Comparison of three models of neuropathic pain in mice using a new method to assess cold allodynia: the double plate technique // *Neurosci Lett.* – 2006. – **399**(3). – P. 240–244.
22. Zhang L., Barritt G.J. Evidence that TRPM8 is an androgen-dependent Ca²⁺ channel required for the survival of prostate cancer cells // *Cancer. Res.* – 2004. – **4**(22). – P. 8365–8373.

*Міжнар. центр молекуляр. фізіології НАН України, Київ;
Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;
Лільськ. ун-т наук та технологій, Франція
E-mail: artikon@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до
редакції 16.03.2009*