

# Patomechanizmy powstawania bólu wywołanego przez nowotwory głowy i szyi

## *Pathomechanisms of head and neck cancer pain*

Adam Maksymilian Mróz<sup>1</sup>, Maria Zasadzińska<sup>1</sup>, Fabian Orlicki<sup>1</sup>, Grzegorz Borowski<sup>1</sup>, Paulina Piechowicz<sup>1</sup>, Tomasz Dzierżanowski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Medycyny Paliatywnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

<sup>2</sup>Caritas Diecezji Warszawsko-Praskiej, Warszawa, Polska

### Streszczenie

Nowotwory głowy i szyi wywołują u pacjentów silny ból, który obniża jakość życia i utrudnia wykonywanie podstawowych funkcji życiowych. Leczenie tego bólu dostępnymi metodami stanowi duże wyzwanie terapeutyczne. Obecnie próbuje się znaleźć rozwiązanie w bezpośrednim blokowaniu mechanizmów odpowiedzialnych za ból. Dokładne mechanizmy molekularne powstawania tego zjawiska nie są jednak do końca poznane. Wśród czynników wywołujących ból w chorobie nowotworowej głowy i szyi istotną rolę odgrywają cytokiny. Są to czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ , interleukiny, endoteliny i czynniki neurotroficzne, takie jak czynnik wzrostu nerwów. Wydzielane przez guz i tkankę aktywują i uczulają receptory na neuronach aferentnych. Receptory dla tych cząsteczek to receptory z rodziny TRP oraz ich swoiste receptory. Do powstania bólu przyczyniają się także elementy mikrośrodowiska guza, wśród których znajdują się między innymi proteazy i jony wodorowe. Aktywują i regulują inne receptory bólu – receptory z rodziny PAR. Niniejszy artykuł przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący najpowszechniej badanych patomechanizmów powstawania bólu w nowotworach głowy i szyi.

**Słowa kluczowe:** ból, nowotwory głowy i szyi, patomechanizm, ból nocyceptywny, ból neuropatyczny, cytokiny.

### Abstract

Tumours of the head and neck induce severe pain in patients, compromising their quality of life and impeding basic life functions. Treating this pain with currently available methods poses a significant therapeutic challenge. Current efforts are focused on identifying solutions that directly target the mechanisms responsible for the pain. However, the precise molecular mechanisms underlying the development of this phenomenon are not fully understood. Among the pain-inducing factors in head and neck cancer, cytokines play a crucial role. These include TNF- $\alpha$ , interleukins, endothelin, and neurotrophic factors such as NGE. Secreted by the tumour and surrounding tissue, these substances activate and sensitise receptors on afferent neurons. Receptors for these molecules belong to the TRP family and their specific receptors. Additionally, the microenvironment of the tumour, comprising elements like proteases and hydrogen ions, contributes to pain through the activation and regulation of other pain receptors, particularly those in the PAR family. This article presents the current state of knowledge regarding the most widely studied pathomechanisms involved in the development of pain in head and neck tumours.

**Key words:** pain, head and neck cancer, pathomechanism, nociceptive pain, neuropathic pain, cytokines.

Adres do korespondencji:

lek. Adam Maksymilian Mróz, Klinika Medycyny Paliatywnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska, e-mil: adam.m03@outlook.com

## WSTĘP

Nowotwory głowy i szyi (GiS), ich objawy oraz powikłania występujące na skutek leczenia stanowią powszechny problem terapeutyczny. Nasilony ból, często niemożliwy do opanowania, jest najbardziej uciążliwym objawem doświadczanym przez chorych [1, 2]. Ponadto, jest także najczęstszym pierwszym objawem raka GiS, skłaniającym pacjentów do szukania pomocy lekarskiej [3]. Częstość występowania bólu w nowotworach GIS wynosi 65–90% i jest wyższa niż w przypadku innych nowotworów, w których sięga 40–50% [4–7].

Ból nowotworowy powoduje trudności w codziennym życiu chorych, ogranicza zdolność przyjmowania pokarmów doustnie, czego rezultatem może być konieczność wykonania przezskórnej endoskopowej gastrostomii [8, 9]. Utrudnione są relacje społeczne, praca zawodowa oraz aktywność seksualna [2, 10, 11], skutkiem czego jest drastyczne obniżenie jakości ich życia oraz zaburzenia nastroju, takie jak lęk czy depresja [5, 10–14]. Stąd brak bólu okazuje się priorytetem pacjentów w walce z rakiem GiS [15]. Operacyjne usunięcie guza może prowadzić do zmniejszenia natężenia bólu [16]. Resekcja jest jednak obciążona ryzykiem deformacji twarzy lub szyi, osłabienia funkcji ramienia [15] czy silnego bólu neuropatycznego [17–19]. Leczenie oparte na lekach opioidowych często okazuje się niewystarczające [20]. Konieczne jest stosowanie dużych dawek, co powoduje szczególnie uciążliwe działania niepożądane, uniemożliwiające prawidłowe funkcjonowanie pacjenta [12].

Ból związany z obecnością nowotworów GiS może mieć charakter nocycyptywny bądź neuropatyczny, lub łączyć te cechy. Silny ból nocycyptywny pojawia się na wczesnym etapie choroby, nawet kiedy guz jest mały, poprzez parakrynnie oddziaływanie na gęstą sieć receptorów bólowych w błonie śluzowej [5, 21]. W mikrośrodkowisku guza dochodzi do ich aktywacji przez substancje wydzielane przez guz, a także komórki gleju czy komórki odpornościowe; należą do nich między innymi czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$*  – TNF- $\alpha$ ), interleukiny, endoteliny, czynnik wzrostu nerwów (ang. *nerve growth factor* – NGF), adenylo-5'-trifosforan (ang. *adenosine-5'-triphosphate* – ATP) i proteazy, w tym legumina [22, 23]. Mikrośrodkowisko guza jest wyjątkowo wrażliwe na bodźce, ponieważ nowotwór promuje w jego obrębie rozrost nowych neuronów, zarówno czuciowych, jak i współczulnych [23]. Jest to najczęściej ból zlokalizowany w okolicy łoża zmiany, tj. w jamie ustnej, w tym na języku i dnie jamy ustnej, w krtani, gardle i śliniankach [24]. Natężenie bólu rośnie wraz z postępującym zaawansowaniem nowotworu [23]. Ból potęguje także naciek i przerzuty do kości, jest

to jednak rzadkie zjawisko, które pojawia się w zależności od lokalizacji nowotworu [12, 25]. Ból neuropatyczny stanowi znaczny problem dla pacjentów po rozpoczęciu leczenia [26]. Leczenie operacyjne i w mniejszym stopniu chemioterapia uszkadzają nerwy, wywołując trudny w leczeniu, długotrwały ból neuropatyczny, natomiast radioterapia powoduje bolesne zapalenie błony śluzowej jamy ustnej [27–30]. Dolegliwości te mogą być tak silne, że konieczne staje się zaprzestanie leczenia [31]. Warto zaznaczyć, iż już przed rozpoczęciem leczenia ból neuropatyczny obserwowany jest u około połowy pacjentów [32]. Mechanizmem odpowiedzialnym za to zjawisko jest między innymi inwazja okołonerwowa guza (ang. *perineural invasion*) [33]. Inwazja okołonerwowa guza to rodzaj przerzutu oparty na neurotropizmie komórek guza, które wrastają do przestrzeni nerwowej, promowany przez cząsteczki z rodziny czynników neurotroficznych i zwiastujący gorsze rokowanie [34, 35].

## CY TOKINY

### TNF- $\alpha$

Czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  stymuluje procesy zapalne i wywołuje ból nocycyptywny [21]. Ból powstaje bezpośrednio po połączeniu się TNF- $\alpha$  z receptorem czynnika martwicy nowotworu (ang. *tumor necrosis factor receptor* – TNFR), obecnym na włóknach aferentnych [36]. Stymulacja receptorów TNFR przez TNF- $\alpha$  prowadzi także do hiperalgezji [30, 37]. Istnieje wiele dowodów na udział TNF- $\alpha$  w powstawaniu bólu związanego z nowotworami GiS. Scheff i wsp. (2017) udowodnili, iż wstrzyknięcie TNF- $\alpha$  pobranego z komórek raka kolczystokomórkowego jamy ustnej (RKJU) do łapy myszy wywoływało u niej silną reakcję nocycyptywną [38]. Ponadto, w innym badaniu udowodniono istnienie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w komórkach raka GiS a natężeniem bólu zgłaszanym przez pacjentów [22, 39]. To stężenie jest szczególnie wysokie w komórkach RKJU w stosunku do prawidłowych keratynocytów [22]. Jest także znacznie wyższe w surowicy krwi pacjentów z nowotworami GiS doświadczających silnego bólu niż u pacjentów nieodczuwających bólu lub zdrowych [40]. Obniżenie stężenia TNF- $\alpha$  lub blokiwanie jego działania wiązało się z ustępowaniem bólu [22, 41]. Działanie TNF- $\alpha$  jest oparte między innymi na dwóch osiach pozytywnego sprzężenia zwrotnego. TNF- $\alpha$  stymuluje komórki Schwanna do wydzielania mediatorów bólu, w tym również TNF- $\alpha$ , który oddziałuje zwrotnie na komórki Schwanna, napędzając oś sprzężenia zwrotnego i tym samym nasilając ból [22]. Ponadto, wydzielanie TNF- $\alpha$  jest kontrolowane przez czynnik transkrypcyjny NF kappa B (NF- $\kappa$ B). TNF- $\alpha$  oddziałuje stymulująco na ten

czynnik, który następnie promuje dalsze wydzielanie TNF- $\alpha$  i innych cytokin powodujących ból, prowadząc do jego zaostrzenia [21, 30]. TNF- $\alpha$  powoduje ból też pośrednio, oddziałując na mikrośrodowisko guza [40, 42]. Wspomaga rozwój procesu zapalnego, przyciągając komórki odpornościowe i stymulując je do wydzielania interleukin IL-1 $\beta$  i IL-6, które również przyczyniają się do powstawania bólu [21, 42]. Oprócz wywoływania bólu TNF- $\alpha$  bierze udział w powstawaniu objawów, takich jak zmęczenie, bezsenność i upośledzenie zdolności poznawczych [40]. Układ współczulny poprzez norepinefrynę wydzielaną w sytuacji stresowej, jaką jest choroba nowotworowa, stymuluje wydzielanie TNF- $\alpha$ , nasilając doznania bólowe [39].

## Endoteliny

Endotelina-1 (ET-1) jest peptydem związanym z odczuwaniem bólu nocyceptywnego występującego w nowotworach GiS [30, 43, 44]. Ból ten powstaje na skutek jej połączenia z receptorami występującymi na całym nerwie trójdzielny i jego odgałęzieniach unerwiających guz [36, 45, 46]. ET-1 uwrażliwia włókna nocyceptywne, zwiększając ich pobudliwość w reakcji na inne cząsteczki powodujące ból [11]. Efektem tego jest allodynia mechaniczna i hiperalgezja na bodziec cieplny [30, 47]. Co więcej, ET-1 obniża próg wydzielania ATP z komórek endotelium, który także jest jednym z czynników powodujących ból [20]. Ponadto, stymuluje proces remodelingu kości wywołanego nowotworem lub przerzutem, wywołując dolegliwości bólowe [21]. Dowody na związek ET-1 z bólem powstałym z powodu nowotworu GiS opracowano na podstawie modeli zwierzęcych i tkanek ludzkich. Wstrzyknięcie ET-1 do wargi lub stawu skroniowo-żuchwowego szczura wywoływało u niego zachowania wskazujące na odczuwanie bólu nocyceptywnego [36]. Zabieg wstrzyknięcia ET-1 u człowieka wywołał podobny efekt [44]. Stężenie ET-1 w mikrośrodowisku RKJU oraz surowicy u chorych na ten nowotwór jest szczególnie wysokie [10, 36, 47], znacznie wyższe niż w innych nowotworach, co pokrywa się z różnicami w intensywności bólu [20, 46]. Stężenie ET-1 wyraźnie silniej koreluje z natężeniem bólu niż wielkość nowotworu [46, 48]. ET-1 działa, łącząc się z receptorami endotelinowymi ETA i ETB, które są związane z białkiem G [46, 49]. W zwoju trójdzielny szczura receptory ETA są obecne zarówno na włóknach A $\delta$ , jak i niepeptyderygicznych włóknach C, a receptory ETB są obecne na niepeptyderygicznych włóknach C i komórkach satelitowych gleju [30]. Udział receptorów ETA i ETB w procesach bólowych różni się. Stymulacja receptora ETA w mikrośrodowisku guza wywołuje silny ból [46]. Zablockowanie receptora ETA jego antagonistą powoduje zniesienie bólu w takim samym stopniu, jak podanie morfiny systemowej w dużych dawkach [20]. W RKJU ma to związek z wydzielaniem

$\beta$ -endorfiny po jego zablokowaniu [50]. Ponadto ETA ma udowodnioną funkcję w powstawaniu bólu neuropatycznego i zapalnego [46]. Aktywacja receptora ETB prowadzi do zmniejszenia bólu [46] poprzez wydzielanie endogennych opioidów [51]. W badaniu na mysim modelu RKJU dowiedziono, że zastosowanie agonisty receptora ETB znosi ból nocyceptywny w mechanizmie wydzielania  $\beta$ -endorfiny [52]. Efekt ten zostaje zniesiony po podaniu naloksonu.

## Czynniki neurotroficzne

Do rodziny czynników neurotroficznych należą także czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (ang. *brain-derived neurotrophic factor* – BDNF) oraz NGF. Czynniki wzrostu nerwów zostały odkryte jako pierwszy, a jego działanie reguluje lokalny wzrost i przeżycie włókien nerwowych [53]. Receptory dla NGF to błonowe receptory kinazy tropomiozyny A (ang. *tropomyosin receptor kinase A* – TrkA) oraz p75 obecne na neuronach [54]. Czynniki wzrostu nerwów działa po połączeniu się z receptorami TrkA i p75 lub jest transportowany do ciała komórki, gdzie modyfikuje ekspresję genów [54, 55]. Po połączeniu NGF z receptorem dochodzi do aktywacji szlaku kinazy białkowej C i uwolnienia jonów wapnia [56]. Zablockowanie działania NGF przeciwciałem anti-NGF prowadzi do złagodzenia bólu nocyceptywnego i bólu wywołanego rakiem kości u myszy [57–59]. Powstawanie bólu nocyceptywnego związane jest z pobudzeniem receptorów TRP i PAR2 oraz receptorów P2X2 i P2X3 [60, 61]. Czynniki wzrostu nerwów modulują te receptory, obniżając ich próg pobudzenia i zwiększając stopień ich ekspresji, co wykazano w badaniach na zwierzętach [60, 62–66]. Po podaniu anti-NGF zaobserwowano natomiast zmniejszenie ekspresji powyższych receptorów [61]. W nowotworach GiS NGF jest jednym z głównych czynników prowadzących do powstawania bólu [36]. Komórki RKJU wytwarzają znaczne ilości NGF, co widoczne jest zarówno w badaniach tkanek pochodzenia ludzkiego, jak również u zwierząt [30, 36, 59]. W związku z tym nerwy sąsiadujące z masą guza są narażone na wysokie stężenia NGF w jego mikrośrodowisku [41, 49]. Oprócz komórek guza NGF wydzielany jest także przez komórki Schwanna w wyniku pobudzenia przez nowotwór bezpośrednio poprzez hipoksję wynikającą z obecności guza lub za pośrednictwem TNF- $\alpha$  [67–69]. TNF- $\alpha$  wydzielany razem z NGF tworzy pętlę pozytywnego sprzężenia zwrotnego, aktywując własne wydzielanie z komórek Schwanna i jeszcze bardziej nasilając ból [70]. Czynniki wzrostu nerwów uczestniczy również w inwazji okołonерwowej, zjawisku powodującym silny ból związany z rozrostem nowotworu [49, 59].

Oprócz czynnika wzrostu nerwów w bólu nowotworowym bierze udział również BDNF, którego receptorem jest receptor kinazy tropomiozyny B (ang. *tropomyosin receptor kinase B* – TrkB). Ponadto BDNF uczestniczy w patogenezie bólu neuropatycznego, zapalnego i związanego z rakiem kości [24]. Na jego udział w powstawaniu bólu w RKJU wskazuje zwiększona ekspresja BDNF w neuronach zwoju nerwu trójdzielnego (ang. *trigeminal ganglion* – TG) u myszy z tym nowotworem oraz zniesienie bólu po zablokowaniu TrkB w tym samym modelu [71]. Czynniki neurotroficzne pochodzenia mózgowego w obecności nowotworu wydzielane są nie tylko przez komórki nowotworowe i neurony unerwiające guz, ale również przez komórki odpornościowe czy komórki Schwanna [24, 72–74].

## ATP

Adenozyno-5'-trifosforan to szybko działający neurotransmitter [75], który jest czynnikiem powodującym ból nocyceptywny [76, 77]. Przyczynia się do jego powstawania w nowotworach GiS, także w RKJU, który wydziela ATP w dużych ilościach, drażniąc neurony nocyceptywne w mikrośrodowisku guza [20, 61]. Bodziec bólowy powstaje po połączeniu ATP z jednym z receptorów należących do rodziny P2X lub receptorem P2Y12R [20, 61]. Receptory P2X, do których należą P2X2 i P2X3, są obecne głównie na obwodowych nocyceptorach, zarówno należących do zwojów nerwu trójdzielnego, jak i do zwojów rdzeniowych (ang. *dorsal root ganglia* – DRG) [77]. W przypadku RKJU włókna TG unerwiające nowotwór mają na swojej powierzchni liczne receptory P2X2 i P2X3 [61]. Te receptory mogą występować pojedynczo lub łączyć się, tworząc homo- i heterodimery oraz trimery, które różnią się właściwościami prądu wywołanego po aktywacji, a więc rodzajem wywołanego bólu [61, 75, 78, 79]. ATP jest dzięki temu zdolny wywoływać i ból przewlekły, i ból ostry [61]. Receptory P2Y12 są obecne na neuronach w rdzeniu kręgowym i na sąsiadujących komórkach mikrogleju [80]. Obecność RKJU powoduje ekspresję i uwrażliwienie receptorów P2Y12, które po aktywacji przez ATP w ośrodkowym układzie nerwowym wywołują ból i odpowiadają za mechaniczną allodynię [80]. W rdzeniu kręgowym w wydzielaniu ATP bierze udział między innymi paneksyna-1, duży kanał błonowy nieselektywnie przepuszczający jony i inne cząsteczki sygnałowe, jak IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ , obecny na komórkach mikrogleju [11].

## PROTEAZY I ODCZYN KWAŚNY

Wydzielanie proteaz do mikrośrodowiska nowotworu powoduje zniszczenie i katabolizm lokalnych

białek, czego następstwem jest obniżenie pH. Zakwaszenie środowiska wykazuje synergistyczny wpływ na aktywność cytokin i modulację pozostałych mediatorów bólu, co skutkuje dodatnim sprzężeniem zwrotnym [30]. Ciągła stymulacja receptorów czucia nocyceptywnego prowadzi do zmian w działaniu układu nerwowego. Następują obniżenie potencjału progowego i poszerzenie pola czucia obwodowo oraz zmiany adaptacyjne we wzgórzu, korze mózgu, mechanizmów zstępujących modulacji czucia bólu i pobudliwości jądra rdzeniowego nerwu trójdzielnego [30, 81]. Metabolizm beztlenowy w guzie i tkankach w stanie zapalnym zakwasza płyn pozakomórkowy. Legumaina (endopeptydaza asparaginylowa) to proteaza cysteinowa endosomów późnych i lizosomów z optimum działania w kwasowym pH. Legumaina zwiększa stężenie Ca<sup>2+</sup> wewnątrz komórki, co powoduje aktywację receptorów aktywowanych proteazą (PAR2) [82]. Kwasica okołotkankowa jest nieodłącznie związana z nowotworami litymi [83]. Może być wtórna do oddychania beztlenowego, nekrozy czy apoptozy komórek guza. Kwasica jest ważnym elementem stanu zapalnego, a kwasowe pH jest bezpośrednią przyczyną bólu i hiperalgezji [84]. Przez kanały jonowe wrażliwe na kwasy (ang. *acid-sensing ion channels* – ASICs) protony aktywują neurony czuciowe [85]. Mediatory zapalenia prowadzą do zwiększenia liczby ASICs na powierzchni komórek nerwowych, co skutkuje większą pobudliwością neuronów [86]. Rola kwasicy wydaje się szczególnie istotna w powstawaniu bólu w nowotworach kości. Przyspieszają one przebudowę kostną, która zależy od proliferacji osteoklastów [87]. Osteoklasty wytwarzają białka, które utrzymują kwasowe pH w swoim otoczeniu, co wzmacnia demineralizację kości. Białkiem, które zapobiega nadmiernej aktywności osteoklastów jest osteoprotegereyna [88]. Na modelach zwierzęcych udokumentowano zmniejszenie bólu w wyniku inhibicji osteoklastów przez osteoprotegereynę [87, 89–91]. Z kolei bisfosfoniany, które wywołują apoptozę osteoklastów, mogą opóźnić wystąpienie bólu kostnego u pacjentów z przerzutami do kości. Jednakże brakuje mocnych dowodów na ich bezpośrednie działanie analgetyczne [92, 93].

## RECEPTORY

### TRP

Jonowe kanały związane z receptorami przejściowego potencjału (ang. *transient receptor potential channels* – TRP) to błonowe receptory czuciowe [30], wśród których największe znaczenie w nowotworach jamy ustnej mają TRPV1 (ang. *transient receptor potential vanilloid 1*), TRPV4, TRPA1 (ang. *transient receptor potential ankyrin 1*) i TRPM8 (ang. *transient receptor potential metastatin member 8*) [94–97]. Są zloka-

lizowane na obwodowych zakończeniach nerwów czuciowych, odpowiedzialnych za przewodzenie bólu nocyceptywnego [30, 97]. Nerwy mające receptory TRP wywodzą się zarówno ze zwojów nerwu trójdzielnego, jak i zwojów rdzeniowych [97]. Przykładem może być TRPA1 obecny na 90% nerwów czuciowych człowieka i unerwiający większość

guzów u pacjentów z RKJU [39]. Receptory TRP są podatne na uwrażliwienie, które prowadzi do hiperalgezji i allodynii, związanych głównie z bodźcami mechanicznymi [30, 94, 95, 98]. Podstawowym mechanizmem uwrażliwienia receptorów TRP jest ich fosforylacja, do której dochodzi między innymi na skutek uruchomienia mechanizmów zależnych od

**Tabela 1.** Charakterystyka receptorów biorących udział w przewodzeniu bólu w nowotworach głowy i szyi

Receptor	Ligand/bodziec aktywujący	Mechanizm działania	Występowanie
TNFR	TNF- $\alpha$	Stymulowanie wydzielania mediatorów bólu	
PAR2	Trypsyna, tryptaza	Aktywacja receptora poprzez rozszczepienie	Nocyceptory obwodowe
	NGF	Hiperalghezja	
	Legumaina	Aktywacja receptora poprzez zwiększenie stężenia jonów Ca <sup>2+</sup>	
TrkA	NGF	Aktywacja szlaku kinazy białkowej C, uwalnianie jonów Ca <sup>2+</sup>	Nocyceptory obwodowe
p75	NGF		
P2X	ATP	Bodziec bólowy	Nocyceptory TG i DRG
	NGF	Obniżenie progu pobudzenia receptora, zwiększenie stopnia ekspresji receptora	
P2Y12	ATP	Bodziec bólowy	Neurony aferentne w rdzeniu kręgowym, komórki mikrogleju
ASIC	H <sup>+</sup>	Aktywacja neuronów czuciowych	Neurony aferentne
ETA	Endotelina 1	Uwrażliwienie włókien nocyceptywnych na mediatory bólu, stymulacja remodelingu kości związanego z nowotworem	Włókna C i A $\delta$ neuronów aferentnych TG i DRG
ETB	Endotelina 1	Wydzielanie endogennych opioidów ( $\beta$ -endorfiny)	Włókna C neuronów aferentnych, komórki satelitowe gleju
TRP (ogółem)	Fosforylacja	Hiperalghezja, allodynia	
	NGF	Hiperalghezja, allodynia	
	Aktywacja PAR2	Hiperalghezja, allodynia	
TRPV1	Ciepło > 43°C, protony (jony wodorowe), kapsaicyna, ucisk	Bodziec bólowy	Włókna C neuronów aferentnych DRG i TG
TRPV2	Ciepło, ucisk	Bodziec bólowy	Neurony aferentne DRG
TRPV3	–	Bodziec bólowy	Język, skóra, keratynocyty
TRPV4	Zmiany w osmolarności zewnątrzkomórkowej, ucisk	Bodziec bólowy	Neurony aferentne DRG
TRPA1	Zimno, ucisk	Bodziec bólowy, stres oksydacyjny, napływ makrofagów	Neurony aferentne TG i DRG
TRPM8	Zimno, mentol, ucisk	Bodziec bólowy, neurogenny stan zapalny	Włókna C i A $\delta$ neuronów aferentnych TG i DRG, ograniczone do włókien z TrkA

ASIC – kanał jonowy wrażliwy na kwasy (ang. acid-sensing ion channels), ATP – adenozy-5'-trifosforan (ang. adenosine-5'-triphosphate), DRG – zwój nerwu rdzeniowego (ang. dorsal root ganglion), ETA – receptor endotelinowy typu A (ang. endothelin A receptor), ETB – receptor endotelinowy typu B (ang. endothelin B receptor), NGF – czynnik wzrostu nerwów (ang. nerve growth factor), PAR2 – receptor aktywowany proteazą 2 (ang. protease-activated receptor 2), TG – zwój trójdzielny (ang. trigeminal ganglion), TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (ang. tumor necrosis factor  $\alpha$ ), TNFR – receptor czynnika martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor receptor), TrkA – receptor kinazy tropomiozyny A (ang. tropomyosin receptor kinase A), TRP – jonowe kanały związane z receptorami przejściowego potencjału (ang. transient receptor potential channels), TRPA1 – receptor ankerynowy przejściowego potencjału 1 (ang. transient receptor potential ankyrin 1), TRPM8 – receptor melastatynowy przejściowego potencjału 8 (ang. transient receptor potential melastatin 8), TRPV1 – receptor waniloidowy przejściowego potencjału 1 (ang. transient receptor potential vanilloid 1), TRPV2 – receptor waniloidowy przejściowego potencjału 2 (ang. transient receptor potential vanilloid 2), TRPV3 – receptor waniloidowy przejściowego potencjału 3 (ang. transient receptor potential vanilloid 3), TRPV4 – receptor waniloidowy przejściowego potencjału 4 (ang. transient receptor potential vanilloid 4)

cyklazy adenylowej, kinazy białkowej A lub kinazy białkowej C-ε [99–101]. Receptor TRPA1 jest obecny również na komórkach Schwanna, gdzie oprócz bólu jego aktywacja promuje stres oksydacyjny i napływ makrofagów [102, 103]. TRPM8 jest natomiast silnie związany z włóknami mającymi na powierzchni receptory TrkA, co sugeruje jego rolę w powstawaniu neurogennego stanu zapalnego [30, 104]. W Tabeli 1 przedstawiono właściwości poszczególnych receptorów TRP.

## PAR2

Receptor aktywowany proteazami 2 (ang. *protease-activated receptor 2* – PAR2) to receptor związany z białkiem G obecny na obwodowych neuronach nocycyptywnych [49, 105]. Pełni istotną rolę w powstawaniu bólu w nowotworach jamy ustnej [20, 106]. Aktywacja polega na rozszczepieniu (ang. *cleavage*) PAR2 przez proteazy (trypsynę i tryptazę) [82]. Po połączeniu się z  $G_{\alpha q}$  dochodzi do wytwarzania cAMP i aktywacji szlaków kinaz regulowanych sygnałem pozakomórkowym (ang. *extracellular signal-regulated kinases*) oraz szlaku kinazy białkowej D (ang. *protein kinase D*), czego rezultatem jest sensytyzacja nocycyptorów [82, 107, 108]. Do proteaz aktywujących PAR2 należą między innymi trypsyna wydzielana przez komórki raka jamy ustnej oraz fibroblasty obecne w jego podścielisku [49], tryptaza, katepsyna S, legumaina, kallikreina i elastaza [47, 82, 109, 110]. Aktywacja PAR2 oprócz generowania bólu uwrażliwia receptory TRP na nocycyptorach, prowadząc do hiperalgezji i przewlekłego bólu [82, 101]. Ponadto obecność proteaz w mikrośrodkowisku guza prowadzi do zwiększenia liczby receptorów PAR2 na narażonych neuronach, nasilając ból [111].

## PODSUMOWANIE

Mechanizmy prowadzące do powstawania bólu w przebiegu nowotworu GiS są złożone. Czynniki wywołujące ból są wydzielane nie tylko przez nowotwór, ale także przez prawidłowe tkanki chorego. Fizjologiczne odczuwanie bólu zostaje zaburzone, dochodzi do uwrażliwienia neuronów i dodatkowego nasilenia bólu. Regulacja tych mechanizmów zachodzi nie tylko na obwodzie, ale również w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Cytokiny, czyli TNF-α, interleukiny, czynniki neurotroficzne oraz ATP, wywołują bodziec bólowy. Umożliwiają im to receptory, takie jak TRP i PAR2. Proteazy i niskie pH w obrębie mikrośrodkowiska guza modulują wrażliwość neuronów na ból. Tak zawiłe mechanizmy z jednej strony utrudniają zrozumienie tego zjawiska, z drugiej zaś przedstawiają liczne potencjalne cele terapeutyczne. Mimo licznych badań, mecha-

nizmy powstawania bólu nie zostały do końca poznane, stąd istotne jest dalsze prowadzenie badań przybliżających do ich całkowitego zrozumienia.

## DEKLARACJE

1. Zgoda Komisji Bioetycznej na badania: Nie dotyczy.
2. Zewnętrzne źródła finansowania: Brak.
3. Konflikt interesów: Brak.

## PIŚMIENNICTWO

1. Hammerlid E, Bjordal K, Ahlner-Elmqvist M i wsp. A prospective study of quality of life in head and neck cancer patients. Part I: at diagnosis. *Laryngoscope* 2001; 111: 669-680.
2. Bjordal K, Ahlner-Elmqvist M, Hammerlid E i wsp. A prospective study of quality of life in head and neck cancer patients. Part II: Longitudinal data. *Laryngoscope* 2001; 111: 1440-1452.
3. Cuffari L, Tesseroli de Siqueira JT, Nemr K, Rapaport A. Pain complaint as the first symptom of oral cancer: a descriptive study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 56-61.
4. Khawaja SN, Scrivani SJ. Utilization of neurolysis in management of refractory head and neck cancer-related pain in palliative patients: a retrospective review. *J Oral Pathol Med* 2020; 49: 484-489.
5. Ruparel S, Bendele M, Wallace A, Green D. Released lipids regulate transient receptor potential channel (TRP)-dependent oral cancer pain. *Mol Pain* 2015; 11: 30.
6. Khawaja SN, Scrivani SJ. Head and neck cancer-related pain. *Dent Clin North Am* 2023; 67: 129-140.
7. Van den Beuken-van Everdingen MHJ, de Rijke JM, Kessels AG, Schouten HC, van Kleef M, Patijn J. Prevalence of pain in patients with cancer: a systematic review of the past 40 years. *Ann Oncol* 2007; 18: 1437-1449.
8. Muthanandam S, Muthu J. Understanding cachexia in head and neck cancer. *Asia Pac J Oncol Nurs* 2021; 43: 527-538.
9. Mäkitie A, Alabi RO, Orell H i wsp. Managing cachexia in head and neck cancer: a systematic scoping review. *Adv Ther* 2022; 39: 1502-1523.
10. Alamir AH, Patil S. Allicin could potentially alleviate oral cancer pain by inhibiting "pain mediators" TNF-alpha, IL-8, and endothelin. *Curr Issues Mol Biol* 2021; 43: 187-196.
11. Koyama R, Iwata K, Hayashi Y i wsp. Pannexin 1-mediated ATP signaling in the trigeminal spinal subnucleus caudalis is involved in tongue cancer pain. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 11404.
12. Connelly ST, Schmidt BL. Evaluation of pain in patients with oral squamous cell carcinoma. *J Pain* 2004; 5: 505-510.
13. Nakamura T, Okui T, Hasegawa K i wsp. High mobility group box 1 induces bone pain associated with bone invasion in a mouse model of advanced head and neck cancer. *Oncol Rep* 2020; 44: 2547-2558.
14. Hammermüller C, Hinz A, Dietz A i wsp. Depression, anxiety, fatigue, and quality of life in a large sample of patients suffering from head and neck cancer in comparison with the general population. *BMC Cancer* 2021; 21: 94.
15. List MA, Stracks J, Colangelo L i wsp. How do head and neck cancer patients prioritize treatment outcomes before initiating treatment? *J Clin Oncol* 2000; 18: 877-884.
16. Kolokythas A, Connelly ST, Schmidt BL. Validation of the University of California San Francisco oral cancer pain questionnaire. *J Pain* 2007; 8: 950-953.

17. Bossi P, Giusti R, Tarsitano A i wsp. The point of pain in head and neck cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; 138: 51-59.
18. Shah S, Har-El G, Rosenfeld RM. Short-term and long-term quality of life after neck dissection. *Head Neck* 2001; 23: 954-961.
19. Van Wilgen CP, Dijkstra PU, Van Der Laan BFAM, Plukker JT, Roodenburg JLN. Shoulder and neck morbidity in quality of life after surgery for head and neck cancer. *Head Neck* 2004; 26: 839-844.
20. Schmidt BL. The neurobiology of cancer pain. *J Oral Maxillofac Surg* 2015; 73: S132-S135.
21. Benoliel R, Epstein J, Eliav E, Jurevic R, Elad S. Orofacial pain in cancer: part I--mechanisms. *J Dent Res* 2007; 86: 491-505.
22. Salvo E, Tu NH, Scheff NN i wsp. TNF $\alpha$  promotes oral cancer growth, pain, and Schwann cell activation. *Sci Rep* 2021; 11: 1840.
23. Bhattacharya A, Janal MN, Veeramachaneni R i wsp. Oncogenes overexpressed in metastatic oral cancers from patients with pain: potential pain mediators released in exosomes. *Sci Rep* 2020; 10: 14724.
24. Grayson M, Arris D, Wu P i wsp. Oral squamous cell carcinoma-released brain-derived neurotrophic factor contributes to oral cancer pain by peripheral tropomyosin receptor kinase B activation. *Pain* 2022; 163: 496-507.
25. Grisanti S, Bianchi S, Locati LD i wsp. Bone metastases from head and neck malignancies: prognostic factors and skeletal-related events. *PLoS One* 2019; 14: e0213934.
26. Rojo RD, Ren JL, Lipe DN i wsp. Neuropathic pain prevalence and risk factors in head and neck cancer survivors. *Head Neck* 2022; 44: 2820-2833.
27. Kouri M, Nicolatou-Galitis O, Vadalouca A i wsp. Oral mucositis-related neuropathic pain in head and neck cancer patients receiving radiotherapy or chemo-radiotherapy. A prospective study. *J BUON* 2021; 26: 2010-2018.
28. Wu MP, Reinshagen KL, Cunnane MB i wsp. Clinical perineural invasion and immunotherapy for head and neck cutaneous squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2022; 132: 1213-1218.
29. Kouri M, Rekatsina M, Vadalouca A i wsp. Pharmacological management of neuropathic pain after radiotherapy in head and neck cancer patients: a systematic review. *J Clin Med* 2022; 11: 4877.
30. Epstein JB, Miasowski C. Oral pain in the cancer patient. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2019; 2019: lgz003.
31. Palmier NR, Leme AFP, de Rossi T i wsp. Salivary alpha-1-antitrypsin and macrophage migration inhibitory factor may be potential prognostic biomarkers for oncologic treatment-induced severe oral mucositis. *Support Care Cancer* 2021; 29: 2939-2946.
32. Buchakjian MR, Davis AB, Sciegienka SJ, Pagedar NA, Sperry SM. Longitudinal perioperative pain assessment in head and neck cancer surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2017; 126: 646-653.
33. Salvo E, Campana WM, Scheff NN i wsp. Peripheral nerve injury and sensitization underlie pain associated with oral cancer perineural invasion. *Pain* 2020; 161: 2592-2602.
34. Roh J, Muelleman T, Tawfik O, Thomas SM. Perineural growth in head and neck squamous cell carcinoma: a review. *Oral Oncol* 2015; 51: 16-23.
35. Binmadi NO, Basile JR. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: a discussion of significance and review of the literature. *Oral Oncol* 2011; 47: 1005-1010.
36. Viet CT, Corby PM, Akinwande A, Schmidt BL. Review of preclinical studies on treatment of mucositis and associated pain. *J Dent Res* 2014; 93: 868-875.
37. Viet CT, Dang D, Ye Y, Ono K, Campbell RR, Schmidt BL. Demethylating drugs as novel analgesics for cancer pain. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 4882-4893.
38. Scheff NN, Ye Y, Bhattacharya A i wsp. Tumor necrosis factor alpha secreted from oral squamous cell carcinoma contributes to cancer pain and associated inflammation. *Pain* 2017; 158: 2396-2409.
39. Atherton M, Park S, Horan NL i wsp. Sympathetic modulation of tumor necrosis factor alpha-induced nociception in the presence of oral squamous cell carcinoma. *Pain* 2023; 16: 27-42.
40. Oliveira KG, von Zeidler S V, Lamas AZ i wsp. Relationship of inflammatory markers and pain in patients with head and neck cancer prior to anticancer therapy. *Braz J Med Biol Res* 2014; 47: 6000-604.
41. Ye Y, Bae SS, Viet CT, Troob S, Bernabé D, Schmidt BL. IB4(+) and TRPV1(+) sensory neurons mediate pain but not proliferation in a mouse model of squamous cell carcinoma. *Behav Brain Funct* 2014; 10: 5.
42. Brea MARM, Micó JA. [TNF and cytokines and pain: beyond the tisular inflammation]. *Reumatol Clin* 2009; 5 Suppl 2: 1-4.
43. Dang D, Ye Y, Aouizerat BE i wsp. Targeting the endothelin axis as a therapeutic strategy for oral cancer metastasis and pain. *Sci Rep* 2020; 10: 20832.
44. Hans G, Deseure K, Robert D, De Hert S. Neurosensory changes in a human model of endothelin-1 induced pain: a behavioral study. *Neurosci Lett* 2007; 418: 117-121.
45. Mckenzie GAG, Hinsley EE, Hunter K, Lambert DW. The endothelin axis in head and neck cancer: a promising therapeutic opportunity? *J Oral Pathol Med* 2014; 43: 395-404.
46. Viet CT, Ye Y, Dang D i wsp. Re-expression of the methylated EDNRB gene in oral squamous cell carcinoma attenuates cancer-induced pain. *Pain* 2011; 152: 2323-2332.
47. Kopruszinski CM, dos Reis RC, Rae GA, Chichorro JG. Blockade of peripheral endothelin receptors abolishes heat hyperalgesia and spontaneous nociceptive behavior in a rat model of facial cancer. *Arch Oral Biol* 2019; 97: 231-237.
48. Pickering V, Jay Gupta R, Quang P, Jordan RC, Schmidt BL. Effect of peripheral endothelin-1 concentration on carcinoma-induced pain in mice. *Eur J Pain* 2008; 12: 293-300.
49. Viet CT, Schmidt BL. Biologic mechanisms of oral cancer pain and implications for clinical therapy. *J Dent Res* 2012; 91: 447-453.
50. Quang PN, Schmidt BL. Endothelin-A receptor antagonism attenuates carcinoma-induced pain through opioids in mice. *J Pain* 2010; 11: 663-671.
51. Quang PN, Schmidt BL. Peripheral endothelin B receptor agonist-induced antinociception involves endogenous opioids in mice. *Pain* 2010; 149: 254-262.
52. Khodorova A, Navarro B, Jouaville LS i wsp. Endothelin-B receptor activation triggers an endogenous analgesic cascade at sites of peripheral injury. *Nat Med* 2003; 9: 1055-1061.
53. Rocco ML, Soligo M, Manni L, Aloe L. Nerve growth factor: early studies and recent clinical trials. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16: 1455-1465.
54. Friedman WJ, Greene LA. Neurotrophin signaling *via* Trks and p75. *Exp Cell Res* 1999; 253: 131-142.
55. Woolf CJ. Phenotypic modification of primary sensory neurons: the role of nerve growth factor in the production of persistent pain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996; 351: 441-448.
56. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 299-309.
57. Sevcik MA, Ghilardi JR, Peters CM i wsp. Anti-NGF therapy profoundly reduces bone cancer pain and the accompanying increase in markers of peripheral and central sensitization. *Pain* 2005; 115: 128-141.
58. Halvorson KG, Kubota K, Sevcik MA i wsp. A blocking antibody to nerve growth factor attenuates skeletal pain induced by prostate tumor cells growing in bone. *Cancer Res* 2005; 65: 9426-9435.

59. Ye Y, Dang D, Zhang J i wsp. Nerve growth factor links oral cancer progression, pain, and cachexia. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1667-1676.
60. Shinoda M, Ogino A, Ozaki N i wsp. Involvement of TRPV1 in nociceptive behavior in a rat model of cancer pain. *J Pain* 2008; 9: 687-699.
61. Ye Y, Ono K, Bernabé DG i wsp. Adenosine triphosphate drives head and neck cancer pain through P2X2/3 heterotrimers. *Acta Neuropathol Commun* 2014; 2: 62.
62. Zhang X, Huang J, McNaughton PA. NGF rapidly increases membrane expression of TRPV1 heat-gated ion channels. *EMBO J* 2005; 24: 4211-4223.
63. Stein AT, Ufret-Vincenty CA, Hua L, Santana LF, Gordon SE. Phosphoinositide 3-kinase binds to TRPV1 and mediates NGF-stimulated TRPV1 trafficking to the plasma membrane. *J Gen Physiol* 2006; 128: 509-522.
64. Amaya F, Shimosato G, Nagano M i wsp. NGF and GDNF differentially regulate TRPV1 expression that contributes to development of inflammatory thermal hyperalgesia. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 2303-2310.
65. Asai H, Ozaki N, Shinoda M i wsp. Heat and mechanical hyperalgesia in mice model of cancer pain. *Pain* 2005; 117: 19-29.
66. Beaudry H, Dubois D, Gendron L. Activation of spinal mu- and delta-opioid receptors potently inhibits substance P release induced by peripheral noxious stimuli. *J Neurosci* 2011; 31: 13068-13077.
67. Shan C, Wei J, Hou R i wsp. Schwann cells promote EMT and the Schwann-like differentiation of salivary adenoid cystic carcinoma cells *via* the BDNF/TrkB axis. *Oncol Rep* 2016; 35: 427-435.
68. Salvo E, Saraihong P, Curtin JG, Janal MN, Ye Y. Reciprocal interactions between cancer and Schwann cells contribute to oral cancer progression and pain. *Heliyon* 2019; 5: e01223.
69. Bunimovich YL, Keskinov AA, Shurin G V, Shurin MR. Schwann cells: a new player in the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother* 2017; 66: 959-968.
70. Takei Y, Laskey R. Interpreting crosstalk between TNF-alpha and NGF: potential implications for disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 381-388.
71. Chodroff L, Bendele M, Valenzuela V, Henry M, Ruparel S. EXPRESS: BDNF signaling contributes to oral cancer pain in a preclinical orthotopic rodent model. *Mol Pain* 2016; 12: 1744806916666841.
72. Yi S, Yuan Y, Chen Q i wsp. Regulation of Schwann cell proliferation and migration by miR-1 targeting brain-derived neurotrophic factor after peripheral nerve injury. *Sci Rep* 2016; 6: 29121.
73. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L i wsp. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor *in vitro* and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 1999; 189: 865-870.
74. Hu ZL, Luo C, Hurtado PR i wsp. Brain-derived neurotrophic factor precursor in the immune system is a novel target for treating multiple sclerosis. *Theranostics* 2021; 11: 715-730.
75. Jarvis MF. Contributions of P2X3 homomeric and heteromeric channels to acute and chronic pain. *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7: 513-522.
76. North RA. P2X3 receptors and peripheral pain mechanisms. *J Physiol* 2004; 554: 301-308.
77. Burnstock G. P2X receptors in sensory neurones. *Br J Anaesth* 2000; 84: 476-488.
78. MacKenzie AB, Surprenant A, North RA. Functional and molecular diversity of purinergic ion channel receptors. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868: 716-729.
79. Lewis C, Neidhart S, Holy C, North RA, Buell G, Surprenant A. Coexpression of P2X2 and P2X3 receptor subunits can account for ATP-gated currents in sensory neurons. *Nature* 1995; 377: 432-435.
80. Dubner R, Tamagawa T, Shinoda M i wsp. Involvement of microglial P2Y12 signaling in tongue cancer pain. *J Dent Res* 2016; 95: 1176-1182.
81. Warner DS, Woolf CJ, Ch B. Central sensitization uncovering the relation between pain and plasticity. *Anesthesiology* 2007; 106: 864-867.
82. Tu NH, Jensen DD, Anderson BM i wsp. Legumain induces oral cancer pain by biased agonism of protease-activated receptor-2. *J Neurosci* 2021; 41: 193-210.
83. Helmlinger G, Sckell A, Dellian M, Forbes NS, Jain RK. Acid production in glycolysis-impaired tumors provides new insights into tumor metabolism 1. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1284-1291.
84. Steen KH, Issberner U, Reeh PW. Pain due to experimental acidosis in human skin: evidence for non-adapting nociceptor excitation. *Neurosci Lett* 1995; 199: 29-32.
85. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001; 413: 203-210.
86. Mamet J, Baron A, Lazdunski M, Voilley N. ProInflammatory mediators, stimulators of sensory neuron excitability *via* the expression of acid-sensing ion channels. *J Neurosci* 2002; 22: 10662.
87. Clohisy DR, O'Keefe PE, Ramnaraine ML. Pamidronate decreases tumor-induced osteoclastogenesis in osteopetrotic mice. *J Orthopaed Res* 2001; 19: 554-558.
88. Lacey DL, Timms E, Tan HL i wsp. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165-176.
89. Honore P, Mantyh PW. Bone cancer pain: from mechanism to model to therapy. *Pain Medicine* 2000; 1: 303-309.
90. Honore P, Luger NM, Sabino MAC i wsp. Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med* 2000; 6: 521-528.
91. Peters CM, Lindsay TH, Pomonis JD i wsp. Endothelin and the tumorigenic component of bone cancer pain. *Neuroscience* 2004; 126: 1043-1052.
92. Porta-Sales J, Garzón-Rodríguez C, Llorens-Torromé S, Brunelli C, Pigni A, Caraceni A. Evidence on the analgesic role of bisphosphonates and denosumab in the treatment of pain due to bone metastases: a systematic review within the European Association for Palliative Care guidelines project. *Palliat Med* 2017; 31: 5-25.
93. Wong RKS, Wiffen PJ. Bisphosphonates for the relief of pain secondary to bone metastases. *Cochrane Database System Rev* 2002; 202: CD002068.
94. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev* 2007; 87: 165-217.
95. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009; 139: 267-284.
96. Colburn RW, Lubin ML, Stone DJ i wsp. Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice. *Neuron* 2007; 54: 379-386.
97. Alessandri-Haber N, Dina OA, Chen X, Levine JD. TRPC1 and TRPC6 channels cooperate with TRPV4 to mediate mechanical hyperalgesia and nociceptor sensitization. *J Neurosci* 2009; 29: 6217-6228.
98. Rau KK, Jiang N, Johnson RD, Cooper BY. Heat sensitization in skin and muscle nociceptors expressing distinct combinations of TRPV1 and TRPV2 protein. *J Neurophysiol* 2007; 97: 2651-2662.
99. Numazaki M, Tominaga T, Toyooka H, Tominaga M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues. *J Biol Chem* 2002; 277: 13375-13378.
100. Zhao P, Pattison LA, Jensen DD i wsp. Protein kinase D and Gβγ mediate sustained nociceptive signaling by biased agonists of protease-activated receptor-2. *J Biol Chem* 2019; 294: 10649-10662.



101. Amadesi S, Cottrell GS, Divino L i wsp. Protease-activated receptor 2 sensitizes TRPV1 by protein kinase Cepsilon- and A-dependent mechanisms in rats and mice. *J Physiol* 2006; 575: 555-571.
102. Souza Monteiro de Araujo D, Nassini R, Geppetti P, De Logu F. TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. *Expert Opin Ther Targets* 2020; 24: 997-1008.
103. De Logu F, Nassini R, Materazzi S i wsp. Schwann cell TRPA1 mediates neuroinflammation that sustains macrophage-dependent neuropathic pain in mice. *Nat Commun* 2017; 8: 1887.
104. Kobayashi K, Fukuoka T, Obata K i wsp. Distinct expression of TRPM8, TRPA1, and TRPV1 mRNAs in rat primary afferent neurons with delta/c-fibers and colocalization with trk receptors. *J Comp Neurol* 2005; 493: 596-606.
105. Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH i wsp. Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med* 2000; 6: 151-158.
106. Lam DK, Dang D, Zhang J, Dolan JC, Schmidt BL. Novel animal models of acute and chronic cancer pain: a pivotal role for PAR2. *J Neurosci* 2012; 32: 14178-14183.
107. DeFea KA, Zalevsky J, Thoma MS, Dery O, Mullins RD, Bunnett NW. Beta-arrestin-dependent endocytosis of proteinase-activated receptor 2 is required for intracellular targeting of activated ERK1/2. *J Cell Biol* 2000; 148: 1267-1281.
108. Amadesi S, Grant AD, Cottrell GS i wsp. Protein kinase D isoforms are expressed in rat and mouse primary sensory neurons and are activated by agonists of protease-activated receptor 2. *J Comp Neurol* 2009; 516: 141-156.
109. Nyberg P, Ylipalosaari M, Sorsa T, Salo T. Trypsins and their role in carcinoma growth. *Exp Cell Res* 2006; 312: 1219-1228.
110. Ye Y, Jensen DD, Viet CT i wsp. Advances in head and neck cancer pain. *J Dent Res* 2022; 101: 1025-1033.
111. Lam DK, Schmidt BL. Serine proteases and protease-activated receptor 2-dependent allodynia: a novel cancer pain pathway. *Pain* 2010; 149: 263-272.