

Protein Kinaz C Aktivatörü PMA'nın TRPV1 Kanalları Üzerindeki Etkileri

Received : 23.03.2015

Revised : 18.08.2015

Accepted : 20.08.2015

Cemil Özgül*,°**

Giriş

Gelişmiş biyolojik sistemlerin hayatsal fonksiyonlarını düzgün bir şekilde sürdürebilmesi, kendi organ ve dokularının işlevlerini aksatmadan yerine getirmesiyle mümkündür. Bu dokuların faaliyetleri, hücrelerin kendi aralarında koordineli ve bir düzen içinde çalışmasıyla gerçekleşmektedir. Hücresel düzeyde aktiviteler ya birincil habercilerin (hormonlar veya nörotransmitter maddeler) doğrudan hücreyi etkilemesi ya da birincil habercilerin ikincil habercileri etkinleştirilmesi yoluyla hücresel yanıtın oluşmasıyla gerçekleştirilebilmektedir. En çok bilinen ikincil haberciler siklik AMP (cAMP) bağımlı kinaz (protein kinaz A, PKA), fosfotidil inositol ve protein kinaz C (PKC) yollarıdır. Daha sonraki bölümlerde bunlar ayrı ayrı ele alınacaktır.

Bir diğer önemli etken ise hücre zarı üzerinde bulunan iyon kanalları aktiviteleridir. İyon kanalları hücre içerisinde ve dışarısında farklı konsantrasyonlarda bulunan iyonların, sitoplazmaya veya organeller içerisine giriş çıkışını sağlamakla görevlidirler. İyonlar (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^+ , K^+ , Cl^- , vs) hücre zarından gelişi güzel geçmemekte, hücre üzerinde bulunan ve hücre dışından hücre içine doğru bir tünel gibi yerleştirilmiş, iyon kanalları adı verilen protein yapıları özel yapılardan geçmektedirler¹. Hatta yapılan bazı çalışmalar neticesinde; suyun bile hücre zarından rastgele geçmediği, suya özel, akuaporinler olarak adlandırılan iyon kanallarından geçtiği ispatlanmıştır². Bu iyonların hücre içerisine girmesi adeta bir pilin şarjı ve deşarjı gibi hücresel boyutta enerji oluşumuna ve hücresel yanıtların oluşmasına sebebiyet vermektedir. Buradan tümevarım yapılacak olunursa, eğer bu hücreler kas hücresi ise kasın kont-

* İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi, Beykoz, İstanbul

** İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Fatih, İstanbul

° Yazışma Yapılacak Yazar: E-posta: cozul@medipol.edu.tr

raksiyonuna, eğer bu hücreler sinir hücreleri ise, ilgili alanda sinir iletimine sebebiyet verecektir. Bu örnekleri çoğaltmak mümkündür. Bu durum daha da genelleştirilirse, hareket etme, düşünme, gülme, konuşma gibi vücudun tüm işlevleri, iyon kanalları tabir edilen özelleşmiş protein yapıardan katyon ve anyonların giriş-çıkışı sayesinde oluyor denilebilir.

Bahsedilen bu hücre zarı iyon kanalları, izin verdiği iyon isimlerine göre isimlendirilmekle beraber, başlıca voltaja duyarlı, ligand kapılı, mekanik reseptörlü, sızma kapılı ve özel kanallar olarak sınıflandırılmaktadırlar³. Bu kanallardan farklı olarak, voltaj bağımlı olmayan, non-selektif katyon kanalları olarak tabir edilen Geçici Reseptör Potansiyeli (*Transient Receptor Potential*, TRP) üst ailesi de mevcuttur. TRP geni ilk defa fotoreseptör çalışmaları esnasında, *Drosophila melanogaster* türü sirke sineği göz hücrelerinde keşfedilmiştir^{4,5}. Mutasyona uğramış bu kanalların sürekli bir ışığa karşı, gelip geçici (kesikli) bir gerilim oluşturmasıyla karakterize edilmiştir⁶. Memelilere ait toplam yirmisekiz çeşit TRP kanalları mevcuttur ve bunları altı alt ailede toplamak mümkün olmaktadır. Bu TRP üst kanal ailesi içerisinde bulunan TRP vanilloid (TRPV) kanalları kendi arasında altı alt birime ayrılmakla beraber, daha ziyade TRPV1 kanalları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu kanallar, yüksek sıcaklık, asidik pH ve kırmızı acı biberde bulunan kapsaisin maddesi ile aktive olduğu ispatlanmıştır⁷. Ayrıca bu kanalın özellikle nöronlarda ve daha ziyade arka kök gangliyon hücrelerinde (AKG) inflamatuvar ve ağrı mekanizmaları üzerinde önemli ölçüde rol aldığı daha sonra yapılan araştırmalarda anlaşılmıştır⁸. Aynı zamanda, bu kanalların PKA ve PKC gibi ikincil haberciler yoluyla aktive olduğu da ispatlanmıştır^{9,10}. Bu PKC'yi ikincil haberci sistemi olmadan aktive edebilen bazı maddeler bulunmuştur. Bunlar içinde en fazla bilinen bir forbol ester olan *phorbol-12-myristate-13-acetate* (PMA) maddesidir. Daha sonraları yapılan çalışmalar neticesinde PMA'nın PKC yoluyla TRPV1 katyon kanallarının açılmasına yardımcı olduğu anlaşılmıştır¹¹⁻¹⁵.

Bu TRPV1 kanallarının önemi, günümüzde bilinen voltaja duyarlı Ca⁺² kanal blokerlerinin hemen hiçbiri bu kanalları inhibe edememesinden kaynaklanmaktadır. Bu kanallar şayet bozulacak olursa hücre içi Ca⁺² miktarı patolojik düzeylerde seyredip hücrenin ölümüne sebebiyet verebilecektir. Konuya bu noktadan bakılacak olunursa, bu kanallar üzerine yapılan çalışmalara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Çünkü bunların düzenlenmesi veya patolojik durumdan fizyolojik duruma döndürülmesi, başta nöropatik ağrı, Alzheimer (Alzaymır) Parkinson, bipolar bozukluklar olmak üzere birçok nörolojik hastalıkların tedavisine büyük katkı sağlayacağı bilim insanları tarafından düşünülmektedir. Bu derleme çalışması, PMA ile aktive edilen PKC aktivasyonunun TRPV1 üzerine etkisi ve bu yolla hücre içerisine Ca⁺² girişi üzerine odaklanacaktır.

Sinyal İletimi

Vücudumuzun hayatsal faaliyetini devam ettirebilmesi için gerekli olan kan, tüm vücudun ihtiyacı olan besinleri dokulara taşımaktadır. Kan başlıca oksijen, karbondioksit, glikoz gibi en önemli hayatsal molekülleri taşımakla görevlidir¹. Bunların yanı sıra, hayati faaliyetler için elzem olan hormonal sistemin de taşıyıcısıdır. Hormonlar kendilerine özgü üretim yeri olan bazı endokrin organ ve bezlerden salgılandıktan sonra kana karışarak, hedef doku hücresine doğru ilerlemeye başlarlar. Bir hormonun hücrede etki gösterebilmesi için kendine has reseptöre bağlanma zorunluluğu vardır¹⁶. Bu reseptörler gerek hücre zarı yüzeyinde gerekse hücre içerisinde olsun, o hormon, anahtar kilit ilişkisi gibi bunlara bağlanır. Bu bağlanma neticesine cevap olarak hücre içerisinde, hücresel yanıtı oluşturmak üzere bazı moleküller üretilir. Bu moleküller, hormonla birlikte başlayan sinyalin devamı olarak da düşünülebilir. Bu iletimin ilk basamağında hormonlar olduğundan, hormonlara birincil haberci, hormon reseptöre bağlandıktan sonra oluşan moleküllere ve buna bağlı oluşan tüm tepkimelere ikincil haberci sistemi denilmektedir. Hormonların salınımından, hücresel cevap oluşuncaya kadar birçok kimyasal tepkimeler ve değişiklikler meydana gelir ki, bunların tümüne birden sinyal iletimi adı verilir^{16,17}.

2.1 İkincil Haberci Sistemi

İkincil haberci sistemin içerisinde en iyi bilinen iki mekanizma mevcuttur. Bunlar; adenilil siklaz ve Ca^{+2} / fosfotidilinositol ileti yollarıdır.

2.1.1 Adenilil Siklaz Yoluyla Sinyal İletimi

Hedef hücreye ulaşan hormon veya nörotransmitter madde kendine uygun reseptörlere (bu mekanizmada genellikle β ve α_2 adrenerjik reseptörleri rol oynar) bağlandığında, guanizin trifosfat (GTP), guanizin difosfata (GDP) dönüşerek G_s proteinini aktivasyonuna sebebiyet verir. α , β ve γ segmentlerinden oluşan G_s proteininin α parçası ayrılarak hücre zarına gömülü vaziyette ve inaktif halde bulunan adenilil siklazı aktive eder. Bu zara bağlı enzim Adenozin trifosfatı (ATP), 3', 5'-adenozin monofosfat'a (siklik AMP veya cAMP) çevirir. cAMP'nin aktive olması bir grup enzimlerin çalışmaya başlamasına neden olur. Bunlara, cAMP bağımlı protein kinazlar denir. Mesela, cAMP, PKA'nın iki tane alt birimine bağlanarak, katalitik alt birimlerin salınmasına ve aktifleşmesine yol açar. Böylece PKA aktifleşmiş olur. Aktifleşmiş PKA, ATP'den bir fosfat kopararak protein substratların özgün serin ve treonin kalıntılarına taşınmasını katalizler. Fosforilasyona uğramış proteinler direkt bir etki ile iyon kanallarının aktivasyonuna veya DNA moleküllerini fosforile

ederek özgün genlerin ekspresyonlarının artmasına sebep olabilirler. Özet olarak hücrenin hayati fonksiyonlarının gerçekleşebilmesi ve hayatını devam ettirebilmesi için gerekli hücre yanıtlarının oluşmasını sağlarlar^{16,17}.

2.1.2 Kalsiyum / Fosfotidil İnositol Yoluyla Sinyal İletimi

Adenilil siklaz iletimine benzer şekilde, hedef hücreye ulaşan hormon veya nörotransmitter madde kendine uygun reseptörlere bağlandığında, GTP, GDP'ye dönüşerek G_q proteinini aktivasyonuna sebebiyet verir. G proteinin α parçası hücre zarına yapışık olarak bulunan fosfolipaz C (PLC) yi aktif hale getirir. Aktif hale gelmiş PLC iki olaya sebep olur, fosfotidil inositol-4-5-bisfosfattan (PIP_2) İnositol-1,4,5- trifosfat (IP_3) meydana gelir ve yine PIP_2 den diaçilgliserol (DAG) oluşur^{18,19}.

PIP_2 'den oluşan İnositol-1,4,5- trifosfat (IP_3), endoplazmik retikulum (ER) üzerinde bulunan kendine özgü reseptöre bağlanarak endoplazmik retikulum (ER) içinden Ca^{+2} 'u sitozole serbestler. Ca^{+2} miktarı hücre içerisinde belli bir konsantrasyona ulaşıncaya, ilk defa 1986 yılında Dr. Putney tarafından tanımlanan depoya duyarlı Ca^{+2} kanalları (*Store-operated Ca^{+2} Channel*, depoya duyarlı Ca^{+2} kanalı, SOC) aktive olur^{18,20}. Bu kanallar sayesinde, hücre dışında, hücre içine kıyasla 10000–20000 kat daha fazla bulunan Ca^{+2} iyonları hücre içerisine akmaya başlar ve hücrenin daha da depolarize olmasını sağlar. Bu sayede sinir iletimi, kas kasılması gibi hayatsal fonksiyonların yerine getirilmesi sağlanır. Hücre görevini tamamladıktan sonra, iyon dengesinin sağlanması için, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPase (SERCA), ER den sitozole salınan Ca^{+2} ları tekrar ER ye alır, benzer şekilde, plazma membran Ca^{+2} ATPase (PMCA) pompaları da tekrar Ca^{+2} ları hücre dışına gönderir. Böylece hücre istirahat haline dönmüş olur. Fizyolojik süreçte bu döngü bir denge içerisinde devam etmektedir¹⁹. Eğer bu döngüde pompaların yeterli olmaması ya da hiç çalışmaması veya oksidatif stresin artışından dolayı Ca^{+2} salınımının fazlaşması gibi nedenlerden dolayı anormal bir durum olacak olursa, Ca^{+2} daha fazla hücre içerisine girecek ve dolayısıyla daha fazla hücre içi oksidatif stresi artıracaktır. Bu oksidatif strese karşı antioksidan mekanizmalar devreye girmez veya yetersiz kalacak olursa oksidatif stresle aktive olan Ca^{+2} kanallarının açılmasına sebep olarak hücreyi apoptoza kadar götürebilecektir.

PIP_2 'den DAG'ın meydana gelme yoluna bakacak olursak, PLC'nin aktivasyonu neticesi DAG oluşur. DAG ise PKC'yi aktive eder. Ayrıca ER kaynaklı sitozoldeki Ca^{+2} artışı da PKC'yi aktive eder. PKC ise diğer kinaz gruplarında olduğu gibi ATP'den bir fosfatı koparıp ilgili proteinlere bağlayarak, o proteinin fosforilasyonuna sebep olup, proteinin yapısının değişmesini sağlar. Bu sayede hücresel yanıt oluşur (Şekil 4)¹⁶.

Esterler

“Kimyada esterler, bir hidroksil grubundaki hidrojen atomunun bir organik grup (bu metinde R' olarak gösterilecektir) ile yer değiştirmiş olduğu organik bileşiklerdir. Hidrojenin bir H⁺ iyonu olarak ayrışabileceği -OH grubu olan bu tür asitlere oksijen asidi denir.

En yaygın esterler karboksilat esterlerdir, bunlarda söz konusu asit bir karboksilik asittir. Örneğin, eğer asit asetik asit ise, esterine asetat denir. Kararsız bileşikler olan karbamik asit veya karbonik asitten, sırasıyla karbamatlar, RO(CO)NHR' ve dialkil karbonatlar, RO(CO)OR, gibi kararlı esterler elde edilebilir. Esterler inorganik asitlerden de oluşabilirler, örneğin dimetil sulfat bir esterdir ve bazen “sülfürik asit dimetil ester” olarak adlandırılır.

Esterler tuzlara benzer şekilde adlandırılırlar; katyon ve anyonları olmasa da, kullanılan terminoloji aynı biçimdedir: daha elektronegatif olan kısmın ardından daha elektropozitif olan kısım söylenir”²¹.

Esterler, ayrıca, bir alkol ile bir asit yoğunlaştırılmasıyla oluşturulmaktadır. Esterler her yerde bulunabilir. Çoğu doğal katı ve sıvı yağlar (örneğin, trigliseridler) gliserol yağlı asit esterleri bulunmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı esterler yaygın olarak kullanılan koku ve uçucu yağlar ve feromonlar bulunurlar. Fosfoesterler DNA moleküllerinin bel kemiğini oluşturmaktadır. Polyester ester gruplarıyla bağlantılı monomerler ile önemli plastik, nitrogliserin gibi nitrat esterleri gibi patlayıcı özellikleri ile de tanınırlar²².

3.1 Forbol Esterler ve PMA

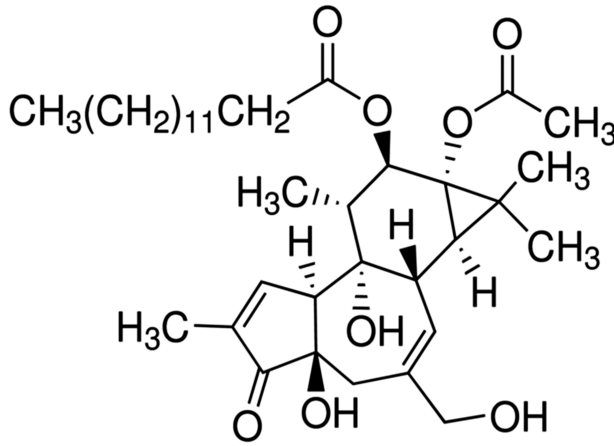
Forbol, doğal bitkisel bir bileşiktir. Forbol ilk olarak 1934 yılında Asya'nın güney doğusunda yetişen ve bir çalı olan *Croton tiglium* bitkisinin tohumlarından elde edilen Kroton yağının hidrolizi ile elde edilmiştir^{23,24}. Bunun ilk yapısal şekli ise 1967 yılında tanımlanmıştır^{25,26}.

Forboller su içinde olduğu gibi polar çözücüler içinde de rahatça çözünebilirler. Forbollerin çeşitli esterleri önemli biyolojik özelliklere sahiptirler. Bunlardan en önemlilerinden biri; PKC aktivasyon mekanizması yoluyla tümör destekleyicisi olarak hareket etmeleridir²⁷. Bunlar; DAG'ı taklit ederek, iki hidroksil grubu şeklinde, esterleri oluşturmak için yağ asitleri ile tepkimeye giren gliserol türevleridir²². Ayrıca, PKC ile forbol ester etkileşimleri, bazı enzim aktivitelerini, protein biyosentezini, DNA yazılımını, poliaminlerin üretimini, hücre farklılaşması sürecini ve gen ekspresyonunu etkilerler²⁸.

Forbol esterler ve bunların farklı türevleri güçlü tümör tetikleyicisi olarak bildirilmiştir. Bu etki, forbol esterlerin son derece düşük konsantrasyonla-

rında diğer biyolojik etkilerine nisbeten, dikkate değer bir farklılığa sebebiyet vermektedir. Bunlar PKC'yi aktive ettiği için cilt tahrişi ve tümör oluşumundan sorumludurlar. Bu durumda, pek çok hücre ve dokuların gelişim süreçlerine ve organizmaların geniş bir yelpazesi biyolojik etkilerin bir çeşitliliğinin üretimine katkı sağlar²⁸.

Forboller içinde en yaygın olanı *12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate* (TPA) ismiyle de bilinen *phorbol-12-myristate-13-acetate* (PMA) kimyasalıdır (Şekil 1). PMA kanser modelleri üzerinde biyomedikal araştırmaları için kullanılmaktadır. PMA ionomycin ile birlikte T hücrelerini uyarmak, proliferasyon, sitokin üretimi ve bu sitokinlerin hücre içi boyamaları için kullanılır. Ayrıca PMA'nın PKC'yi aktive ederek ikincil haberci sistemde rol aldığı da bilinmektedir²².



Şekil 1

Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) kimyasalının kimyasal yapısını gösteren şekil¹⁵³.

3.2 Forbol Esterlerin PKC Üzerine Etkileri

Forbol esterlerin ilk ve ana işlem yerleri biyolojik zarlardır. Bunlar amfililik (suda çözünen ve çözünmeyen fonksiyonel grupları birlikte içeren molekül) moleküller olmasından dolayı fosfolipit zar reseptörlerine bağlanma eğilimlerine sahiptirler. İlk etkileri; hücre reseptörlerinin aktivitelerinde değişiklik, 2-deoksiglukoz ve diğer besinlerin alımı, hücre yapısının değişmesi, araşidonik asit salınımına ve prostaglandin sentezlerine sebep olması, hücre yüzeyi reseptörlerine epidermal büyüme faktörünün bağlanmasına engel ol-

ması ve lipit metabolizmasını değiştirmesi gibi faktörler bu forbol esterlerin başlıca etkileri olarak görülmektedir²⁹.

Forbollerin PKC aktivasyonu ve ona bağlanması üzerine çok sayıda çalışma yapıp üzerinde durulmuştur. Bunun sebebi, bu mekanizmanın, sinyal iletimi yollarında kritik bir role sahip olması ve hücre büyümesini ve farklılaşmasını etkilemesidir^{30,31}. Normal sinyal iletimi esnasında DAG tarafından aktive edilen bu enzim, daha sonra hızlı bir şekilde hidroliz edilir. DAG, fosfotidil serin (PS), zarlar için ilgisinin artırılmasıyla PKC fonksiyonlarının aktivasyonundan sorumludur. Aktivasyon üzerinden, değişik sinyal iletimi yollarının oluşması için, PKC enzimleri, RACK (*receptor for activated C kinase*, C kinaz aktivasyonundan sorumlu reseptör) proteinleri (PKC aktivasyonu için zara bağlı reseptörler) tarafından plazmaya transloke edilirler. DAG'ın bir analogu ve PKC nin güçlü bir aktivatörü olan bu forboller hücre tarafından oldukça fazla metabolize edilirler^{32,33}. Bu durum, PKC'nin yüksek aktivasyonuna sebebiyet vermekle birlikte, hücre çoğalmasını tetikler. Böylece hücre yanıtları oluşmuş olur. Bu forbol esterler hem PKC'yi aktive eder, hem de uzun inkübasyon sonrası enzimin aşağı yönde düzenlenmesini sağlayabilir³⁴. DAG ve forboller tarafından PKC'nin bu regülasyonu etkileşim gücündeki bazı farklılıklarla birlikte aynı mekanizma ile meydana gelir³². Omurgasız deniz canlısı olan *Bugula neritina*'dan izole edilmiş makrosiklik lakton olan *Bryostatin* maddesi de aynı zamanda PKC'yi aktive etmektedir³⁵. Bunun yanı sıra forbol esterlerin aksine, kanserojen veya tam tümör düzenleyicisi değildir³⁶. *Bryostatin*, antagonize kronik yanıtlar PMA tarafından arttırılmadan PMA'nın kendisi gibi bazı aynı hücre sel yanıtları ortaya çıkarır³⁷. Ayrıca, *Bryostatin* miyeloid ve lenfoid hücre hatlarının farklılaşmasına, trombosit agregasyonuna, gen ekspresyonunun bazı etkilerinin değişmesine ve önemli ölçüde anti-tümör aktivite oluşumuna sebep olmaktadır³⁸.

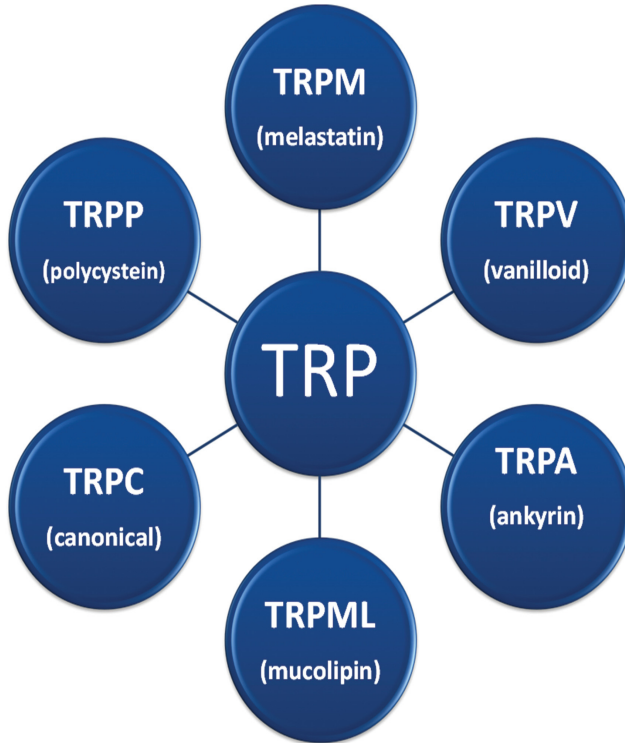
İyon Kanalları

Hücrelerin faaliyetleri, hücre dışı ve hücre içi farklı konsantrasyonlarda bulunan birçok farklı çeşit iyonların, hücre içinden dışarıya veya dışından içeriye geçişi ile gerçekleşmektedir. Bu iyonlar hücre zarından gelişi güzel geçmemekte, hücre üzerinde bulunan, hücre dışından, hücre içine doğru bir tünel gibi yerleştirilmiş, iyon kanalları adı verilen protein yapıları tarafından gerçekleşmektedir^{1,39}. Yinelemek gerekirse, bu iyon kanalları izin verdiği iyon isimlerine göre isimlendirilmekle beraber, başlıca voltaja duyarlı, ligand kapılı, mekanik reseptörlü, sızma kapılı ve özel kanallar olarak sınıflandırılmaktadırlar³.

4.1 TRP Üst Ailesi

Geçici Reseptör Potansiyeli (*Transient Receptor Potential*, TRP) üst ailesi voltaj bağımlı olmayan, non-selektif kation kanallarıdır. TRP geni ilk defa fotoreseptör çalışmaları esnasında, *Drosophila melanogaster* türü sirke sineği göz hücrelerinde keşfedilmiştir^{4,5}. Mutasyona uğramış bu kanalların sürekli bir ışığa karşı, gelip geçici (kesikli) bir gerilim oluşturmasıyla karakterize edilmiştir⁶. TRP kanalları memelilerden omurgasızlara kadar, canlıların farklı dokularında bulunmaktadır⁴⁰. Bu kanallar genel olarak hücre sitozolünde bulunan C ucu, N ucu ve bu ikisi arasında, hücre zarı içine gömülü transmembran bölge olmak üzere üç ana bölgeden oluşmaktadır^{41,42}. Bu transmembran bölge altı olası segmentlerden oluşmakta, 5. ve 6. segmentler arasında bulunan gözenek, iyon geçişlerine olanak sağlamaktadır^{43,44}.

Memelilere ait toplam yirmisekiz çeşit TRP kanalı mevcuttur ve bunları altı alt ailede toplamak mümkündür⁴⁵.



Şekil 2

Transient Receptor Potential (TRP) üst ailesinin memelilere ait altı alt birimini gösteren şekil.

TRP *ankyrin* (TRPA) bir alt aileden, TRP *conancial* (TRPC) yedi alt aileden, TRP *melastatin* (TRPM) sekiz alt aileden, TRP *mucoipin* (TRPML) üç alt aileden, TRP *polycysteine* (TRPP) üç alt aileden ve TRP *vanilloid* (TRPV) altı alt aileden oluşmaktadır (Şekil 2). Ayrıca, memelilerde bulunmayan TRPN (NOMPC: *no mechanoreceptor potential channel*) alt ailesi de mevcuttur⁶.

4.1.1 TRPV Kanalları

TRPV kanalları kendi aralarında 6 alt üyeye ayrılmaktadır. Bunlardan TRPV1 – V4 kanalları ısıya duyarlı reseptörler olarak keşfedilmişlerdir.

TRPV1 (vanilloid reseptör, VR1) yüksek sıcaklık (> 42°C), asidik pH (<6) ve kırmızı acı biberde bulunan kapsaisin maddesi ile aktive olmaktadır. Ayrıca ikincil haberci sisteminde cAMP'ye bağlı kinaz (PLA) ve PKC aracılığı ile de aktive olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda TRPV1 kanalının Ca⁺² iyonuna geçirgenliği oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (P_{Ca}/P_{Na} = 9,6). Ayrıca, bu kanal kapsazepin maddesi ve PIP₂ vasıtalarıyla inaktive olmaktadır^{7,8,46}.

TRPV2 (vanilloid reseptör benzeri, VRL1), TRPV1'in aksine, vanilloid, proton ve düzenleyici sıcaklıklar arasında aktive olmamaktadır. Ancak vücut sıcaklığına göre oldukça yüksek sıcaklıklarda aktive olabilmektedirler (>52°C)⁴⁷.

TRPV2 kanalları TRPV1'e benzer şekilde outward I-V grafiği benzerlik göstermekte olup, görece olarak yüksek düzeyde Ca⁺²'a (P_{Ca}/P_{Na} =2,9) geçirgendir. Ayrıca bu kanalların *ruthenium red* kimyasalı tarafından inhibe edilebildiği rapor edilmiştir⁴⁷.

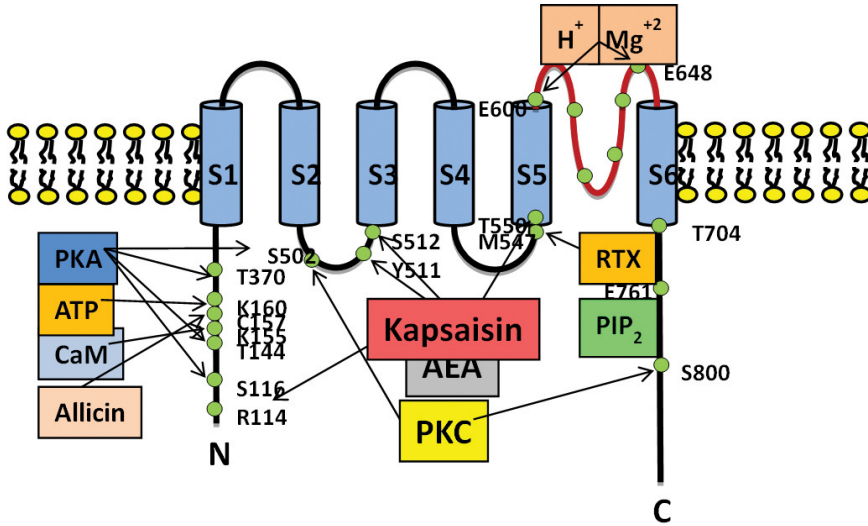
İlk olarak, sırasıyla, *vanilloid receptor-related osmotically activated channel*, (VROAC) ve *OSM-9-like TRP channel 4* (OTRPC4) olarak adlandırılan TRPV3 ve TRPV4 kanalları ılık düzeydeki sıcaklık değişimleri ile aktive olan kanallardır (TRPV3 ~34 – 38°C, TRPV4 ~27 – 35°C)⁴⁸⁻⁵¹. Bu kanalların duyuşsal ve hipotalamik nöronlar, keratinositler başta olmak üzere birçok dokuda eksprese olduğu rapor edilmiştir. TRPV4 kanalları hipoosmolarite, sentetik forbol esterler ve 5',6'-*epoxy-icosatrienoic* asit gibi termal olmayan etkilerle de aktive olabilmektedirler^{51,52}.

4.1.2 TRPV1 Katyon Kanalları

TRP kanalları ilk 1989 yılında, fotoreseptör çalışmaları esnasında *Drosophila melanogaster* sirke sineğinde keşfedilmesine rağmen, TRPV kanalları içinde ilk olarak bulunan ve üzerine en çok çalışma yapılan TRPV1 kanalı TRP alt ailesinin bir üyesi kabul edilerek, kapsaisinle açılan reseptör olarak ilk 1997 yılında tanımlandı⁵³⁻⁵⁶.

TRPV1 kanalları AKG, trigeminal gangliyon (TG) ve Vagal nöronları gibi tüm duyuşal gangliyonlarda eksprese olmuştur^{54,57}. Ayrıca TRPV1 kanalları, keratinositler, mast hücreleri, saç folikül hücreleri, düz kaslar, mesane, akciğer, karaciğer, böbrek, dalak gibi sinir hücresi olmayan doku ve hücrelerde de varlığı tespit edilmiştir^{58,59}.

TRPV1 kanalları diğer TRP kanallarında olduğu gibi N, C ucu ve bu ikisi arasındaki altı segmentli transmembran bölgeden oluşmaktadır. N ucunda tekrarlı ankrin bölgesine sahipken, C ucunda TRP domain olarak adlandırılan Nudiks bölgesi bulunmamaktadır. Onun yerine, TRP benzeri domain, PKC, kalmodulin taşıyıcı bölge ve PIP₂ bağlama bölgesi mevcuttur (Şekil 3)^{46,60}. PIP₂ bölgesi acı biberde bulunan kapsaisin maddesini kendine bağlama özelliğine sahip olup, kanalın açılmasına olanak sağlamaktadır⁶¹. Aynı zamanda, bu kanalların yüksek sıcaklık (>42°C) ve düşük pH (~5,2) ile de aktive olduğu rapor edilmiştir⁶². Kapsaisin veya sıcaklık ile aktive edilen TRPV1 kanallarının spesifik blokleri kapsazepin maddesidir^{55,63}.



Şekil 3

Hücre zarına yerleşmiş olarak bulunan *Transient Receptor Potential Vanilloid 1* (TRPV1) kanalı ve bu kanalı aktive ve inaktive eden kimyasalların bağlanma bölgelerini gösteren şekil. Şekil üzerindeki her bir yeşil nokta bir amino asiti temsil etmektedir. Harflendirmenin, amino asit isim karşılığı; **C**: sistein, **E**: glutamik asit, **K**: lizin, **M**: metiyonin, **R**: arjinin, **S**: serin,

T: treonin, **Y**: tirozin. Kanala bağlanan kimyasallar; **AEA**: anandamin, **ATP**: adenozin trifosfat,

CaM: kalmodulin, **PIP2**: fosfotidil inositol-4-5-bifosfat, **PKA**: protein kinaz A, **PKC**: protein kinaz C, **RTX**: resiniferatoksın (79 numaralı kaynaktan Türkçeleştirilmiştir).

Forbol esterler ile yakın ilişkili ve yüksek tahriş edici özelliği olan kapsaisin ve resiniferatoksin (RTX) kimyasalları bu kanalların aktivatörüdür. RTX'in kapsaisine göre neredeyse 20 kat daha güçlü olduğu rapor edilmiştir^{64,65}. CB1 reseptörü, *12-hydroperoxy-eicosatetraenoic acid* (12- HPETE) ve *N -arachidonoyl dopamine* (NADA) agonisti olan Anandamin de TRPV1'in doğal açıcısıdır. Ayrıca, siyah biberden elde edilen *Piperin*, karanfilden elde edilen *Eugenol*, turpta bulunan *Zingeron* maddeleri de TRPV1 kanallarını aktive etmektedir^{66,67}. Dahası, içlerinde vanilil parçası bulunan, aynı zamanda çiğ zencefilden elde edilen ve gliserollerin dehidrasyonu sonucu ortaya çıkan *Gingeroller* ve *Shogaoller* de TRPV1 kanallarını aktive edebilmektedirler⁶⁸⁻⁷¹.

Kapsaisin ve analogları lipofilik oldukları için, hücre zarından rahatça geçip hücrenin iç tarafında bulunan TRPV1 kanallarının bağlanma bölgelerine rahatça bağlanıp, kanalın açılmasına olarak sağlamaktadır⁷². Hücrenin iç tarafına salınmış vaziyette duran kanalın N (Arg114) ve C (Glu761) uçları bu agonistlerin bağlanması için elverişli bölgelerdir⁷³. Ayrıca, TM4'te yerleşmiş şekilde bulunan Tyr511 bölgesi kapsaisin aracılı, Met547 bölgesi de RTX aracılı TRPV1 aktivasyonu için gereklidir⁷⁴. Buna ek olarak, Tyr511 alifatik kapsaisin alanı ve diğer vanilloid agonistleri ile hidrofobik etkileşimlerinden sorumlu iken, kapsaisinin Thr550 bölgesi ile etkileşmesi kanalın aktivasyonu için de önem arz ettiği bildirilmiştir⁷⁵. Trp549 ve Ser512 gibi diğer kalıntılar kapsaisin hassasiyeti için de önemlidir (Şekil 3)⁷⁴.

Yakın geçmişte yapılan bazı çalışmalar, sarımsak ve soğan gibi *Allium* cinsi bitkilerden elde edilen keskin bileşiklerin TRPV1 kanallarını aktive edip edemeyeceği üzerine tartışmışlardır⁷⁶. Aynı tür nöronal hücreler için, bu tahriş edici maddelerin TRPV1 ve TRPA1 kanallarını hedef seçtiği öne sürülmüştür⁷⁵. TRPV1 in sarımsak ve soğanda bulunan *Allicin* maddesi tarafından aktivasyonu için N-ucunda bulunan tek sistein içeren bölgeye (C157) bağlanması gerekmektedir (Şekil 3)⁷⁷⁻⁷⁹.

Kristal yapıya sahip TRPV1 N-terminal ucu tekrarlı altı ankrin bölgesinden oluşur. Bu bölgede PIP₂, ATP ve kalmodulin gibi kanal açıcı ajanların çoklu-ligand bağlanma alanları mevcuttur⁸⁰. ANK-2 tekrarının iç sarmal 2 de yerleşmiş C157 bölgesi ATP gibi diğer düzenleyici kimyasalların bağlanmasına olanak sağlar⁸⁰. Örneğin, N-terminal ucun iç sarmal 2 de bulunan K155, K160 ve L163 alanları ATP bağlanma bölgeleridir (Şekil 3)^{79,80}.

Doğal analjezik bir madde olarak bilinen kâfur, kapsaisinden daha yüksek dozlarda kullanıldığı takdirde AKG nöronlarında TRPV1 üzerinden Ca²⁺ akışını arttırmıştır⁸¹. Kapsaisin aracılı oluşan TRPV1 kanal akımlarının bloke edicisi kapsazepin maddesi, kâfur tarafından aktive edilen kanalı inhibe edememektedir. Çünkü kapsaisinin bağlandığı bölge ile kâfurun bağlanma bölgesi farklı-

lık arz etmektedir. Buna ek olarak, kâfur vanilloide bağımsız bir mekanizma ile kapsaisinden çok daha hızlı bir şekilde kanalı duyarısızlaştırabilmektedir^{79,81}.

İnflamasyon ve iskemi sırasında asidik pH'ı arttırmanın ağrı hissini daha da fazlaştıracığı tahmin edilebilir^{82,83}. Aδ ve C-fiberlerinde, asite duyarlı iyon kanalları (ASICs) ve TRPV1 kanalları kanser ve eklem iltihap hastalıklarının da kapsayan çeşitli koşullarla yakın ilişki içindedir^{84,85}. Daha önce de belirtildiği gibi TRPV1 kanalı düşük pH, yüksek sıcaklık ve kapsaisinle açılabilmesinin yanı sıra bunlardan daha da enteresan olan durum; orta ve yüksek derecedeki pH değerleri ile de açılabilmesidir^{79,86}.

Birçok hücre sinyali işlemlerinde rol oynayan, damarlarda vazodilatasyona sebebiyet veren ve hücre içinde azot kaynaklı oksidan bir ajan olarak bilinen nitrik oksit (NO) molekülü TRPV1 kanallarını aktive edebilmektedir^{87,88}. NO'nun, 5. ve 6. segmentler arasındaki boşluğun oluşma sebepleri olarak görülen N-terminal uç tarafındaki iki sisteini etkileyerek kanalı aktive ettiği tahmin edilmektedir⁸⁹. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda, NO'nun TRPV1 kanalı üzerinde entegre bir sensör gibi vazife yaptığı söylenebilir⁹⁰. NO sentezinden sorumlu olan enzim, nitrik oksit sentetaz (NOS), hücre içi Ca⁺² ile aktive olmaktadır. NO kaynaklı TRPV1 kanalının açılması sonrasında, hücre içine Ca⁺²'un girişi, kanalın aktivasyonu ve NO ürünlerinin oluşması hücrede düzenleyici bir geri bildirim mekanizması oluşmasına sebep olabilir⁸⁸. Bu geri bildirim mekanizması hipoksi koşulu gibi NO'nun ilk olarak üretimi, daha sonra kendisinin (NO'nun) daha fazla aktive olmasına sebep olabilecektir. Bunun neticesinde ise daha fazla TRPV1 kanalı aktive olup, hücre içerisine daha fazla Ca⁺² girişi olacaktır^{88,89}.

TRPV1 hücrede bir termometre molekülü gibi çalışır. Sabit voltaj altında kanalda herhangi bir akım değişikliği yokken, sıcaklık 43°C ve üzerine çıkarıldığında TRPV1 kaynaklı, hücre *in-ward* akımlarında artış gözlemlenmektedir⁵⁴. Sıcaklıktaki bu artış, TRPV1 kanal akımları üzerinden, sadece doğrudan ağrı hissini üretmeye sebep değil, aynı zamanda pro-inflamatuvar nöropeptidlerin efferent salınımı yolu ile nörolojik iltihaplanmaya sebep olmaktadır^{91,92}. Cilt üzerindeki serbest sinir hücresi terminallerinde TRPV1 varlığı, nosiseptif sıcaklıkların algılanmasını sağlamaktadır⁹². Çoğu zaman bu kanalların düzenleyicileri, sıcaklık kaynaklı ve sıcaklık tabanlı olmayan ağrı ve iltihaplara karşı bir tepki olarak üretilir⁹². İltihaplanma, iskemi ve ağrı gibi anormal hücresel koşullar altında da sıcaklık artışı olmaksızın TRPV1 kanalları aktive olabilmektedir^{79,92}.

TRPV1'in C-terminal ucunun kanal gövde tarafına yakın olan ilk yarı bölgesi sıcaklık değişimine hassas bölge olarak rapor edilmiştir⁹³. Bununla birlikte, daha sonra kanalın bu sıcaklığa duyarlılığını ortadan kaldıracak

herhangi bir mutasyona rastlanmamıştır⁹³. Yapılan bazı çalışmalarda, en az iki TRP kanalının (TRPM8, TRPV1) C-terminal uçlarında sıcaklığı algılayıcı bölgelerin olduğu ifade edilmiştir^{79,93}.

TRPV1 kanalı ağız boşluğu boyunca sinir hücreleri ve tat reseptör hücrelerinde de tespit edilmiştir. Bu kanalı yapay tatlandırıcıların bile aktive edebileceği rapor edilmiştir⁹⁴. Yapay tatlandırıcılar sadece TRPV1 kanalını aktive etmemekte aynı zamanda hem heterolog ekspresyon sistemleri içinde hem de ayrılmış birinci duyu nöronlarındaki bazı reseptörleri de uyarmaktadır⁹⁵. Ayrıca TRPV1 kanalı metalik tat hissi uyandıran CuSO_4 , ZnSO_4 , and FeSO_4 tuzları tarafından da aktive edilmektedir. Buna ek olarak hücre dışı, Na^+ , Mg^{+2} ve Ca^{+2} iyonları kapsaisinle ve anandamin (AEA), NADA ve iki değerlikli katyonların yüksek konsantrasyonu (>10 mM) gibi diğer ilgili uyarıcı maddeler kanalı daha da duyarlı hale getirmektedir. Ayrıca, proton-bağlama bölgesi olarak önceden tespit edilen iki glutamatın, E600 ve E648, bu yukarıda anlatılan etkilerin gerçekleştirilmesinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır⁹⁶.

Çok değerlikli katyonlar iltihaplanma ve ağrı sinyallerini arttıran moleküller olarak bilinmektedirler⁹⁷. Bunların miktarları enfeksiyon, travma ve kanser hastalığı gibi durumlarda artmaktadır⁹⁸. Sperminin kemirgenlerinin intratekal yöntemi, yalama, çizilme ve ısırma gibi nosifensif davranışları içerir⁹⁹. Yapılan bir çalışmaya göre, katyonik poliaminlerin TRPV1 etkinliğini düzenlediğini göstermiştir¹⁰⁰. Yani, bu spermin ve spermidin gibi poliamlerin hücre dışı uygulanması, hem heterolog ifade sisteminde hem de duysal nöronlarda, doğrudan TRPV1 kanalını aktive etmektedir^{79,100}.

Zehirli canlıların ısırılmaları ve sokmalarının, vücutta ciddi derecede ağrı ve iltihaplanmaya yol açtığı iyi bilinmektedir. Bu zehirlerin sebep olduğu ağrı ve iltihapların hangi moleküller vasıtasıyla gerçekleştiği yeterince bilinmesine rağmen, zehirler tarafından meydana gelen ağrının oluşma mekanizması oldukça belirsiz kalmıştır¹⁰¹. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, örümcek ve akrep gibi tehlikeli canlıların zehirlerinin TRPV1 kanalları üzerindeki etkilerine bakılmış ve kanalı aktive ettiği gözlemlenmiştir¹⁰¹. Aktivasyon etkileri için kısmi sorumlusu ve vanillotoksinler olarak adlandırılan üç sistein düğüm (ICK) peptidleri gözlemlenmiştir¹⁰¹. Bu itibarla TRPV1'in vanillotoksinler tarafından aktive edilme mekanizmasının açıklanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bunların aksine olarak, *Agelenopsis aperta* familyasından gelen bir Kuzey Amerika örümceğinin zehri, TRPV1 kanalının güçlü bir potansiyel inhibitörü olarak görülmektedir¹⁰². *Acylpolyamine* toksinlerinden ikisi, AG489 ve AG505, hücre dışı uygulandığında da TRPV1 kanalını inhibe etmektedir. TM5-TM6 arasında bulunan dört amino asit, bu kanalların toksin çekiciliğini enteresan bir şekilde azaltmaktadır¹⁰².

4.1.2.1 TRPV1 Kanalı ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller daima tek elektron transferleri içeren biyolojik redoks tepkimelerinin sık görünen ürünlerindedirler. Bazı ilaç türleri, çevre kirliliğine yol açan maddeler, ağır metaller, sıcaklık, ultraviyole ışınları veya görünür ışık ve diğer iyonize olabilen radyasyon çeşitleri gibi birçok dış faktörler bu serbest radikallerin biyolojik sistemlerde üretilmesine sebep olmaktadır^{103,104}. Serbest radikallerin en önemlileri vücudun en fazla gereksinim duyduğu O₂ den meydana gelen reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan radikallerdir. ROT ve diğer oksidanlar ilk bakışta fagositik hücreler tarafından zararlı mikro organizmaları yok etmek için kullanılsa da hücre için de oldukça tehlike arz etmektedir⁴⁴. Kontrolsüz bir şekilde reaktif türlerin üretimi, DNA moleküllerini, lipitleri, proteinleri, karbonhidratları veya hücresel hasar ve hastalıklarda çıkan zincir reaksiyonlarını içeren biyolojik moleküler mekanizmanın geniş yelpazesinde, önemli ölçüde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hasara sebep olmaktadır¹⁰⁵. Bu olumsuz sistemi bertaraf etmek için gelişen mekanizmalara ise antioksidan mekanizmalar denmektedir. Bunların başlıcaları süper oksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), alfa tokoferol gibi birçok moleküllerden oluşmaktadır. Örneğin O₂ elektron kaybetmesi ile oluşan süper oksit radikale SOD etki ederek H₂O₂ ye ve H₂O₂ ile de Katalaz veya GSH-Px tepkimeye girerek ürünün suya dönüşmesini sağlar ve böylece başlangıçta hücre için tehlikeli olan süper oksit radikali suya dönüştürülerek zararsız hale getirilmiş olur. Oksidan ve antioksidan maddeler vücutta bir denge içindedir ki buna oksidatif denge adı verilmiştir. Şayet bu denge oksidanların lehine dönecek olursa, yani antioksidanlar yetersiz kalır veya üretilmezse oksidanlar çok daha fazla hücrede birikecek ve hücre için tehlike arz etmeye başlayacaktır ki, buna da oksidatif stres adı verilmektedir^{1,106}. Oksidatif stres oluşum sebepleri birçok nedene bağlanabilir. Bu oksidatif stresin oluşması neticesinde iyon kanallarının özellikle açılma mekanizmaları oksidatif stres kaynaklı olan TRP kanallarının bazı alt aileleri normal fizyolojik aktivitesinin ötesinde çok daha fazla aktivite göstermesiyle, hücre içine, başta Ca⁺² olmak üzere birçok katyonun daha fazla hücre içine girmesine sebebiyet verip, hücreyi apoptozise kadar götürebilmektedir¹⁰⁶. Böyle bir durumda olan bir hücreye antioksidan madde takviye edilmesi bu tür iyon kanalları aktivitelerini düzenlemek yararlı olabileceği düşünülerek yapılan bir takım çalışmalar mevcuttur.

Yakın zamana kadar antioksidanların TRPV1 üzerine etkileri bilinmemesine rağmen, henüz yayınlanmış, fare AKG hücreleri üzerine yapılan bir çalışmaya göre; hücre içi GSH'u tüketme özelliğine sahip olan butiyonin sülfoksimin (BSO) ile hücreler inkübe edildikten sonra, Patch-Clamp tekniği altında, kapsaisin ile hücre dışı uyarım yapıldığında, kontrol grubuna göre,

BSO'lu gruptaki hücrelerin kanal aktivasyonu çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu denemeden sonra ortama, ayrı ayrı GSH ve N-asetil sistein eklenilip, BSO ile inkübe edilmiş AKG hücreleri tekrar kapsaisin ile aktif hale getirilmeye çalışılmasına rağmen, kanallar açılmamıştır¹⁰⁷. Bu çalışma neticesinde; TRPV1 kanalları oksidatif stresle daha fazla aktive olmakta, en güçlü antioksidan mekanizmalardan biri olan tiyol gruplarının kanal akımları üzerine düzenleyici etkisi görülmektedir. Diğer antioksidan mekanizmalarının, PMA ve diğer oksidatif strese sebebiyet verecek ajanlarla aktive edilen TRPV1 kanalları üzerine etkisinin araştırılması, bu kanal akımlarına bağlı hastalıkların etiolojisinin anlaşılmasına katkı sağlayabilecektir.

4.1.2.2 TRPV1 Kanalı ve Duyarsızlaşma

Duyusal nöronlarda, vanilloid tarafından duyarsızlaştırma ifadesi ilk 1949 yılında Nicholas Jancso tarafından tanımlanmıştır^{108,109}. Aktive kaybına sebebiyet veren bu duyarsızlaştırma veya refrakter dönem TRPV1 kanal seviyelerinde de varlığı gösterilmiştir¹¹⁰. 1961 yılında Jancso ve arkadaşlarının yetişkin ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmaya göre; daha önceden 3 ay kimyasal yolla ağrı oluşturulan hayvanlara 1-3 gün boyunca, 4 mg, 8mg ve nihayet 15 mg (yaklaşık 80 mg/kg) kapsaisinin uygulanması, ağrıya karşı deneklerin duyarsız hale gelmesi için yeterli olduğu rapor edilmiştir¹¹¹.

TRPV1 kanalları için iki tür duyarsızlaşma ifadesi tanımlanmaktadır. Bunlar; Akut Duyarsızlaşma: Bir agonistin kanala bağlanmasıyla, o kanalın hızlı bir şekilde aktivite kaybı olması durumudur. Taşiflaksi: tekrarlanan agonistlerin, her verilisinde bir öncekine göre kanalın daha da duyarsızlaşma hali olarak tanımlanmaktadır¹¹².

TRPV1'in akut duyarsızlaşma durumu bir agonist ile indüklenen konformasyonel değişikliği yansıtır. Bu durum kanal gözeneginin kapanması ile sonuçlanır. Bu süreç, hücre içi kalsiyum varlığına bağlıdır ve bu durum hücre içi kalsiyum kıskaçlarıyla inhibe edilebilir⁵⁴. Bazı araştırmalar göstermektedir ki; kalsiyum ve kalmodulin (CaM) TRPV1 için bir Ca⁺² sensörü gibi davranarak, kendisi ile kanal arası etkileşime sebep olmaktadır. Bu da akut duyarsızlaşmayı doğurur. Böylece hücre içi Ca⁺² konsantrasyonlarının artışlarına tepki olarak kanal aktivitesi yavaşlar¹¹³. Kapsaisin TRPV1'e bağlandığında kanal açılır ve hücre içine Ca⁺² akar. Ca⁺² akışından sonra CaM kanalın ilgili bölgesine bağlanması, üniter iletkenlik ve kanal sayısı değişmeksizin, kapalı duruma doğru kutuplanma yaparak veya yeni bir kapalı durumu uyararak duyarsızlaştırmaya sebep olur^{79,113}.

Taşiflaksi, çok sayıda yalıtkan ara durumlar üzerinden dinlenme ve aktiflik halleri arasında TRPV1'in değişmesini içerir^{114,115}. Bu nedenle; taşiflaksi, ATP ve PIP₂ gibi kalsiyum ve diğer pek çok faktörlerin etkisiyle, kanalların

agonistler tarafından tekrar tekrar aktive edilme çabalarıyla, TRPV1'in dinlenme halinden ara durumlara kadar tüm hallerinin geri kazanımı olarak değerlendirilmektedir¹¹⁶.

4.1.2.3 TRPV1 Kanalı ve Fosforilasyon

Fosforilasyon, defosforilasyon ve refosforilasyon süreçleri TRPV1 kanal fonksiyonları için oldukça önemlidir. Örnek olarak, TRPV1 duyarsızlığını ortadan kaldıran fosfataz ve T hücrelerinin büyümesini ve farklılaşmasını uyaran protein fosfotaz, kalsinörin, Ser 502 ve Thr 704 fosforilasyonu üzerinden TRPV1 aktivitelerini düzenleyen kalmodulin bağımlı kinaz II'nin (CamKII) ey-lemleri üzerine önemli etkilere sahiptir^{61,117}.

Nosiseptif nöronlarda, ATP, sinir hücreleri büyüme faktörü (NGF), bradiki-nin, kemokinler gibi proinflamatuvar ajanlar tarafından PLC'nin aktivasyonu, TRPV1'i ısı, asit ve kapsaisine daha da duyarlı hale gelmesine sebep olmaktadır^{13,118-120}. Bu olgu, doku hasarı ve iltihaplanması sonrasında, kanalın ağırlı uyarılara karşı olan duyarlılığın artmasının sebebini bizlere açıklamaktadır⁷⁹.

TRPV1 kanal faaliyeti aynı zamanda, PLC gibi fosfolipazlar üzerinden PIP_2 ve düzenleyici lipitler tarafından modüle edilebilmektedir. Duyarsızlaşma ilgili TRPV1 akımlarının düzenlenmesi için PIP_2 sentezleri gereklidir^{121, 122}. Yine de, PIP_2 'nin TRPV1 akımlarını arttırıp arttırmadığı konusunda hâlâ bazı tartış-malar mevcuttur¹³. Diğer yandan, PtdIns(4) P (PIP)'dan üretilen PtdIns(4,5) P_2 nin ve diğer fosfo inositollerin TRPV1'i aktive ettiği bulundu. Ayrıca, PIP_2 tarafından, kanal üzerinde bulunan R701 ve K701 amino asitlerinin pozitif yüklenmesi neticesinde TRPV1'in doğrudan aktive olduğu bulunmuştur¹²³⁻¹²⁵.

Yapılan başka bir çalışma neticesi ise, PIP_2 ile ilgili karmaşaya açıklık getirir vaziyettedir. HEK293 hücrelerinde yapılan bir çalışmaya göre, TRPV1 kanalları yüksek kapsaisine maruz bırakılması, hücre içine Ca^{+2} akışını arttırmış ve bunu takiben PLC'yi aktive etmiştir. Bu durum PtdIns(4,5) P_2 ve PtdIns(4)P lerin tükenmesine ve dolayısıyla kanal aktivitesinin azalmasına sebebiyet vermiştir. Bu olaylar göz önünde bulundurulduğunda kanalın duyarsızlaşmaya doğru ilerlediği bulunmuştur¹²³. PLC'nin inhibisyonu kanalın duyarsızlaşması ile sonuçlanmıştır. PtdIns(4,5) P_2 'nin prekürsörü PtdIns(4)P, kanalları aktive etmekte ve duyarsızlaşmayı durdurmaktadır. Buna ek olarak, sadece düşük kapsaisin konsantrasyonlarında, bu PtdIns(4,5) P_2 'nin kanal üzerine inhibe edici özelliği bulunmuştur. Bu inhibitör etkinin sadece sağlam hücreler ve eksize yama yöntemi haricinde saptanabildiğinden, bu etkinin dolaylı olacağı ön görülmüştür. Uyarılmış PLC-bileşik agonistleri kanal aktivitesini azaltmak için yeterince düşük lipit düzeylerinin üretilmesi haricinde, PtdIns(4,5) P_2 nin ılımlı azalmasını (bunu inhibe edici etkisinin azalmasını uyardığı için) PtdIns(4,5) P_2 'nin inhibitör veya aktivatör etkileri arasındaki dengeyi kanalın

uyarım seviyesi belirlemektedir şeklinde açıklanmıştır. Bu durumun aksine yüksek konsantrasyonlu kapsaisinle kanalların uyarımı, keskin ve sert bir şekilde PtdIns(4,5)P₂ tüketimine yol açarak kanalın açılmasını sınırlamaya götürür ve kanal duyarsızlaşmaya başlar. Bu durum karmaşık lipitler tarafından TRPV1 akımlarının düzenlendiğini gösterir¹²³.

Bu bağlamda, bu çalışma göstermiştir ki; fosfo inositid 3-kinaz TRPV1 doğrudan ilişki içindedir ve bu plazma-membranda TRPV1 trafiğini kolaylaştırılmaktadır. Bu trafiğin NGF ve hiperalejiye neden olabilecek olan diğer aljezik ajanlardan sorumlu olduğu gözlemlenmiştir^{120,121,124}.

Ayrıca diğer zar lipitleri de TRPV1'i düzenler. Endojen kanabinoid anandaminin doğal bir türevi olan *oleylethanolamide* (OEA), anadamin kendisi ve bazı lipoksijenaz ürünlerinin hepsi TRPV1 kanallarını modüle ederler¹²⁶⁻¹²⁸.

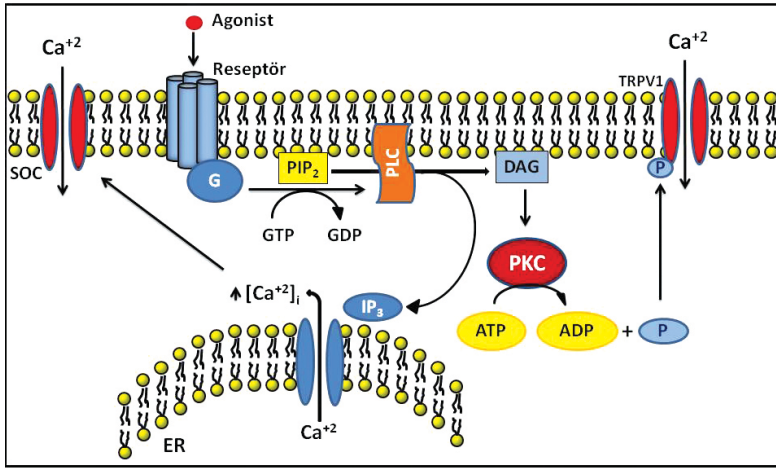
Son zamanlarda; analjezik özellikleri sergileyen omega-3 yağ asitinin TRPV1 ile doğrudan etkileşim içinde olduğu rapor edilmiştir¹²⁹. Bu yağ asitleri, bir fosforilasyon-bağımlı bir şekilde ve hücre dışı protonlara verdiği yanıtları arttırarak TRPV1'i etkinleştirir¹²⁴. Fakat bunun ilginç tarafı; bu lipitler vanilloid agonistlerinin yanıtlarını inhibe ederler. N-3 yağ asitleri tarafından TRPV1aktivitelerinin düzenlenmesi ağırlı durumlar için bir terapinin geliştirilmesi için bir avantaj olabilir¹²⁹.

Histamin, bradikinin, serotonin ve prostaglandin gibi diğer inflamatuvar ajanlar hücre içi yollar vasıtasıyla TRPV1'i aktive eder^{13, 118}. Kendisine eşlik eden nosiseptör aktivasyonlarında TRPV1 kanal aktivasyonları ile sonuçlanır^{130,131-138}.

Hücre içi sinyal çeşitlerinden, inflamatuvar mediatörlerin etkisi TRPV1 üzerinden ortaya çıkar. TRPV1'in ısıya tepkisini düzenleme kabiliyetine sahip tirozin kinazlar ve G-proteine bağlı reseptörler kanalın normal vücut sıcaklığında bile açılmasına olanak sağlarlar^{118,132,139}. Örneğin, bradikinin aksiyonu aracılığıyla 12-HPETE oluşumu TRPV1'in aktivasyonu ile sonuçlanır. PKC veya PKA ile kanal fosforilasyon üzerinden TRPV1 kanalına bağımlı bazı inflamatuvar ajanların etkileri mevcuttur^{131,132,140-143}.

PGE₂ gibi prostaglandinler cAMP düzeylerini artırır ve bu nedenle PKA aktive olması sonucu kanalı doğrudan fosforile eder¹⁴¹. Kanal PKA tarafından fosforile edildiğinde, Thr¹⁴⁴, Thr 370 ve Ser 502 bölgeleri sıcaklıkla uyarılmış TRPV1 cevaplarının duyarlılığından sorumlu tutulurken, yine PKA tarafından fosforile edilen ve kanalın N-terminal ucuna yerleşmiş olan Ser 116 ve Thr 370 bölgeleri TRPV1'in duyarsızlaşmasından sorumlu tutulmaktadır¹⁴¹⁻¹⁴⁵. Termal hiperalejinin gelişmesinde bu ikinci etki PKA için bir rol teşkil etmektedir¹⁴⁴. İlginçtir ki, bu etki periferik opioid reseptörler üzerinden morfin hareketi tarafından bastırılır (Şekil 3)¹⁴⁵.

PKC ve bunu müteakip fosforilasyonlar, kapsaisine, asite ve termal etkilere TRPV1 kanalının cevaplarını güçlendirir¹¹. Bu fosforilasyon Ser 502 ve Ser 800 kanal parçaları tarafından gerçekleştirilir ki, bu bölgeler şu özelliklere sahiptir: 1) *endovanilloid* / *endokannabinoid* NADA-yüklü TRPV1 aktivasyonunda potansiyel rol alması 66, 2) Ca^{+2} ve OEA yüklü TRPV1 aktivasyonunun varlığında, duyarsızlaştırılması sonrası 3) kanalın re-fosforilasyonundan sorumlu olmasıdır^{127,146}. Ayrıca, SNARE bağımlı egzozitoz yoluyla, PKC'nin plazma-membran kanal trafiğine de en azından kısmen dâhil olduğu rapor edilmiştir (12). TRPV1 kanalının N-terminal bölgesi, PKC-bağımlı TRPV1 aktivasyonunun gücünü inhibe eden veziküler proteinlerin ek bileşenleri ve synaptotagmin IX ile etkileşimini mümkün kılar, (Şekil 4)¹².



Şekil 4

Hücre zarında bulunan reseptöre bir hormonun bağlanmasıyla oluşan ikincil haberci sistemin devreye girmesiyle oluşan bir dizi hücresel yanıtı gösteren şekil. Hedef hücreye gelen hormon veya nörotransmitter madde kendine uygun reseptörlere bağlanır, GTP, GDP'ye dönüşerek,

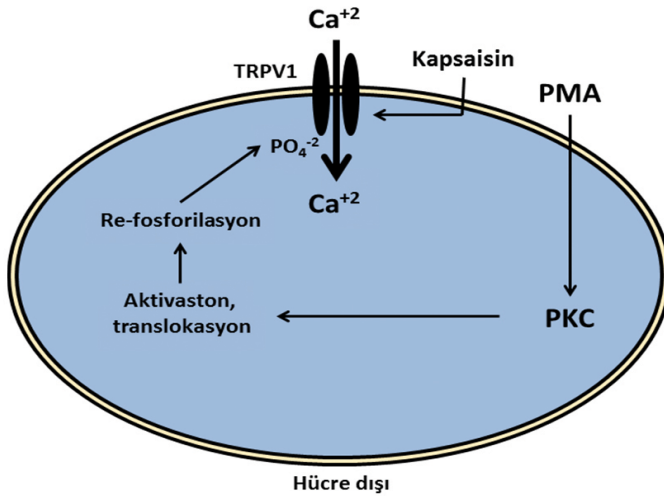
G proteininin aktivasyonuna sebebiyet verir. G proteinin ise PLC'yi aktif hale getirir. Aktif hale gelmiş PLC, iki olaya sebep olur, 1. PIP₂ den, IP₃ meydana gelir, IP₃ endoplazmadaki Ca²⁺ iyonlarını sitozole serbestleyerek SOC kapılarının açılması sağlayıp, hücre içerisine Ca²⁺'un dolmasını sağlar. 2. PIP₂, DAG'ın aktive olmasını sağlayarak, PKC'yi aktive eder. Bu da ATP'den bir fosfat koparıp, TRPV1'i fosforile veya refosforile ederek kanalın açılmasını ve bu kanal yoluyla yine sitozole Ca²⁺ un girişine sebep olur. Her iki durumda, birçok hücresel yanıtın oluşmasına sebebiyet verir (**ADP**: adenosin difosfat, **ATP**: adenosin trifosfat, **DAG**: diaçilgliserol, **ER**:

endoplazmik retikulum, **GDP**: guanozin difosfat, **GTP**: guanozin trifosfat, **IP₃**: inositol-1,4,5-trifosfat, **P**: fosfor, **PIP₂**: fosfotidil inositol-4-5-bifosfat, **PLC**: fosfolipaz C, **PKC**: protein kinaz C,

SOC: depoya duyarlı Ca²⁺ kanalı, **TRPV1**: *transient receptor potential vanilloid 1*).

Forbol ester gibi bazı moleküller de TRPV1 kanalının aktivasyonunda rol almaktadırlar. Örneğin, bir PKC-aktivasyonlu bir forbol türü olan ve TRPV1 kanallarına RTX'in bağlanmasını engelleyen PMA, kanalın C-terminal bölgesindeki Tyr 704 alanı ile etkileşime girerek kanalın aktive olmasını sağlamaktadır, (Şekil 3,4,5)^{13,14}.

Son zamanlarda, nöronlar üzerinde yapılan bazı çalışmalara göre; TRPV1, kanalları N- ve C- terminal bölgeleri üzerinden, büyüme konisi hareketlerini düzenleyen ve sitoskeleton dinamiklerini hareketlendiren tübülün – sitoskeleton ile karşılıklı etkileşim içinde olduğu gösterilmiştir^{147,148}. Bu durum hücre zarıyla ilişki içinde olduğu müddetçe, proteinin C terminal kısmı tübülünü dengeleyebilir. Ve bu durum, kanalın geri kalanında bağımsız bir şekilde filopedyaya oluşumuna neden olabilmektedir¹⁴⁹⁻¹⁵².



Şekil 5

Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)'nın, protein kinaz C (PKC)'yi aktive ederek transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) katyon kanalını uyardığını gösteren şekil (146 numaralı kaynaktan Türkçeleştirilmiştir).

Nöronal hücrelerde, hücre dışından verilen PMA kimyasalı, ikincil haberci olan PKC'yi aktive etmektedir. Aktive olan PKC ise TRPV1 kanallarının açılmasına yardımcı olarak hücre içerisine Ca²⁺ akışına sebep olmaktadır (Şekil 5). Bu açılma mekanizması şayet devamlı olacak olursa, hücrenin patolojik sürece girmesine sebep olacaktır. Bu durumun bertaraf edilebilmesi için yapılan çalışmalar, Ca²⁺ girişinin inhibe edilmek istenen nörolojik hastalıkların etiolojisine katkı sağlayabilecektir.

Sonuç

TRPV1 kanalı birçok kimyasalla aktive ve inhibe oldukları daha önceki bölümlerde ifade edilmişti. Bu aktivasyon mekanizmaları içerisinde en önemlilerden biri olarak görülen ikincil haberci sistemleri içerisinde yer alan PKC aktivasyon mekanizmasıdır. Ayrıca, forbol esterlerinin en meşhuru ve TPA olarak da bilinen PMA maddesi hücre dışından uygulandığında PKC'yi doğrudan aktive etmektedir. PKC de TRPV1 kanallarını aktive ederek, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu arttırmaktadır. Hücre içi artan Ca^{+2} miktarı aynı zamanda PKC'yi daha fazla aktive etmekte ve bu sistem bir döngü gibi devam etmektedir. Bilindiği üzere, artan Ca^{+2} miktarı hücre içi oksidatif strese sebep olmaktadır. Eğer bu artan oksidatif stres, antioksidanlar tarafından bertaraf edilmese, hücrenin apoptoza kadar gidebileceği ön görülebilir.

Sinir hücrelerinde, PMA aracılığıyla PKC aktivasyonu neticesinde TRPV1'in açılıp hücre içerisine Ca^{+2} konsantrasyonunun normal koşulların üzerine çıkması nörolojik hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın tetikçisi olabileceği düşünülmektedir. Bu hastalıkların tedavisinde, PMA aracılı PKC aktivasyonu yoluyla TRPV1 kanalları üzerinden Ca^{+2} akışının durdurulması istenmesi gayet tabiidir. Bu konuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmasından dolayı, antioksidan maddelerin bu mekanizma üzerinden aktive olan TRPV1 kanal inhibisyonuna etkisinin araştırılması, hücre içi Ca^{+2} miktarının azaltılması veya kontrol altında tutulması gerekli olduğu düşünülen hastalıkların etiolojisine önemli ölçüde katkı sağlayabilecektir.

Teşekkür

Yazar, bu makalenin İngilizce özetini kontrol edip, hatalarını bildirdiğinden dolayı, Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, İngiliz Dili ve Edebiyatı Bölümü öğretim elemanı Sayın Önder Çakırtaş Bey'e teşekkürlerini sunar.

Özet

TRP alt ailesinin bir üyesi olarak bilinen TRPV1 kanalları non-selektif katyon kanallarıdır. Bu kanalların en fazla bulunduğu dokular; arka kök gangliyon nöronları, vagal nöronlar ve trigeminal gangliyon nöronlarıdır. TRPV1 sıcaklık değişimi, düşük pH, kırmızı acı biberden elde edilen kapsaisin maddesi ile aktive olmaktadır. Bu kanalın sıcaklıkla aktive olması hücrede adeta termometre vazifesini gören kanal olarak düşünülmeye sebep olmaktadır. Kapsaisin reseptörü olarak da bilinen TRPV1'in özel kapatıcısı ise kapsazepin maddesidir.

Vücut aktivitelerinin devamını sağlayan en önemli unsurlardan biri; birincil haberci (hormonlar ve nörotransmitter maddeler) ve ikincil haberci sistemleridir. İç salgı bezlerinden salınan hormonlar hedef hücreye ulaştığında kendine özgü reseptörlere bağlanır ve ikincil haberci sistemini aktif hale getirir. Bu ikincil haberci sistemlerinin en önemlilerinden biri, PLC aktivasyonu yoluyla PKC aktivasyonudur. Ayrıca, PKC hücre içi Ca^{+2} miktarı arttıkça da aktive olmaktadır. Aynı zamanda, forbol esterler içinde en iyi bilinen PMA maddesi de doğrudan PKC'yi aktif hale getirmektedir. PKC ise TRPV1 kanallarının bazı özel bölgelerine bağlanarak kanalı aktif hale getirir. Hücre içi Ca^{+2} miktarı arttıkça oksidatif stresin de artacağı iyi bilinmektedir. TRPV1'in aktive olmasıyla daha fazla hücre içi Ca^{+2} miktarı artacak, artan Ca^{+2} miktarı ile de daha fazla PKC aktivasyonu olacaktır. Pozitif geribildirim mekanizması gibi bu süreç devam ederken, hücre içi oksidatif stres aşırı derecede fazlalaşacaktır. Eğer antioksidan sistem devreye girmez veya yetersiz kalırsa hücre apoptoza kadar devam edebilecektir.

Sinir hücrelerinde, PKC aktivasyonu ile TRPV1'in açılıp hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonunun fizyolojik koşulların ötesine geçmesi, fazla Ca^{+2} miktarına bağlı birçok hastalığın tetikçisi olabileceği düşünülmektedir. Bu hastalıkların tedavisinde PKC yoluyla TRPV1 kanalları üzerinden Ca^{+2} akışının durdurulmak istenmesi gayet tabiidir. Bu konuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmasından dolayı, antioksidan maddelerin bu mekanizma üzerinden aktive olan TRPV1 kanal inhibisyonuna etkisinin araştırılması, nörolojik hastalıkların tedavisinin etiyojisine büyük katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: TRPV1 Kanal Agonist ve Antagonistleri, Protein Kinaz C, İkinci Haberciler, Oksidatif Stres, Sinir Hücreleri

Abstract

Effects of Protein Kinase C Activator PMA on TRPV1 Channels

TRPV1 channel, which is one of TRP super families, is a non-selective cation channel. An important part of the TRPV1 channel is located in dorsal root ganglion, vagal and trigeminal neurons. TRPV1 is activated by high temperatures, low pH and capsaicin isolated from red hot chili peppers. The activation of this channel is via temperature hence it functions in the neurons like a thermometer. Also, the chemical capsazepine is a specific blocker of TRPV1.

One of the most important events for the activities in the body is primary and secondary (hormones and neurotransmitters) messenger systems. Hor-

mones are released by endocrine glands and they bind a specific receptor. When the hormone binds to its receptor, it leads to the release of the secondary messenger. One of the most important secondary messengers is PKC via activation of PLC. When Ca^{2+} ions levels are elevated in the cell, it causes the increase of the PKC levels, as well. Also, PMA agent is a phorbol ester, directly activates PKC, which in turn induces TRPV1 channels. It is well known that an increase in the amount of intracellular Ca^{2+} leads to an increase in oxidative stress. The activation of TRPV1 increases further the amount of intracellular Ca^{2+} and an increase by means of the amount of Ca^{2+} causes more activation of PKC. While this process continues as a positive feedback mechanism, the oxidative stress will continue to increase. If the antioxidant system is not activated or is insufficient, the cell will be directed to apoptosis.

Ca^{2+} concentration as a result of the opening of TRPV1 via PKC activation and going beyond physiological conditions in the nerve cells can lead to a lot of diseases. In treatment of these diseases, stopping the flowing of Ca^{2+} via TRPV1 and activation of PKC request is self-evident. Due to the presence of a limited number of studies on this topic, investigation of the effects of antioxidant substances inhibition of TRPV1 channel activated by this mechanism will contribute to the etiology of neurological disorders' treatment.

Key Words: TRPV1 Channel Agonists and Antagonists, Protein Kinase C, Secondary Messengers, Oxidative Stress, Nerve Cells

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

12- HPETE : *12-hydroperoxy-eicosatetraenoic acid*

AEA : Anandamin veya *N-arachidonylethanolamine*

AKG : Arka kök gangliyon

AMP : Adenozin monofosfat

ATP : Adenozin trifosfat

BSO : Butiyonin sülfoksimin

CaM : Kalmodulin

CamKII : Kalmodulin bağımlı kinaz II

cAMP : Siklik AMP veya 3', 5'-adenozin monofosfat

DAG	: Diaçilgliserol
ER	: Endoplazmik retikulum
GDP	: Guanizin difosfat
GSH	: Glutasyon
GTP	: Guanizin trifosfat
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
IP ₃	: İnositol-1,4,5- trifosfat
NADA	: <i>N -arachidonoyl dopamine</i>
NGF	: Sinir hücreleri büyüme faktörü
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
OEA	: <i>Oleyethanolamide</i>
PIP ₂	: Fosfotidil inositol-4-5-bifosfat
PKA	: Protein kinaz A veya cAMP bağımlı kinaz
PKC	: Protein kinaz C
PLC	: Fosfolipaz C
PMA	: <i>Phorbol-12-myristate-13-acetate</i>
PMCA	: Plazma membran Ca ⁺² ATPase
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RTX	: Resiniferatoksin
SERCA	: Sarkoplazmik retikulum Ca ⁺² ATPase
SOC	: <i>Store-operated Ca⁺² Channel</i> , depoya duyarlı Ca ⁺² kanalı
SOD	: Süper Oksit Dismutaz
TG	: Trigeminal gangliyon
TPA	: <i>12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate</i>
TRP	: <i>Transient Receptor Potential</i> , Geçici Reseptör Potansiyeli
TRPV	: TRP <i>vanilloid</i>

KAYNAKLAR

1. Guyton AC, Hall EJ. Textbook of Medical Physiology. 11th Ed. Philadelphia: Saunders, 2006.
2. Agre P, Sasaki S, Chrispeels MJ. Aquaporins: a family of water channel proteins. *Am J Physiol.* 1993 Sep;265(3 Pt 2):F461.
3. Cummings B. Get Ready for Biology. SanFrancisco: Pearson Education Inc. 2007.
4. Cosens DJ, Manning A. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature.* 1969; 224: 285-7.
5. Minke B, Wu C, Pak WL. Induction of photoreceptor voltage noise in the dark in *Drosophila* mutant. *Nature.* 1975; 258:84 - 87.
6. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature.* 2003; 426:517-24.
7. Fernandes ES, Fernandes MA, Keeble JE. The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves. *Br J Pharmacol.* 2012; 166:510-521.
8. Hong S, Wiley JW. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1. *J Biol Chem.* 2005; 280:618-627.
9. Efendiev R, Bavencoffe A, Hu H, Zhu MX, Dessauer CW. Scaffolding by A-kinase anchoring protein enhances functional coupling between adenylyl cyclase and TRPV1 channel. *J Biol Chem.* 2013; 288:3929-37.
10. Wollemann M, Tóth F, Benyhe S. Protein kinase C inhibitor BIM suspended TRPV1 effect on mu-opioid receptor. *Brain Res Bull.* 2013; 90:114-7.
11. Numazaki M, Tominaga M. Nociception and TRP Channels. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2004;3:479-485.
12. Ristoiu V, Shibasaki K, Uchida K, Zhou Y, Ton BH, Flonta ML, Tominaga M. Hypoxia-induced sensitization of transient receptor potential vanilloid 1 involves activation of hypoxia-inducible factor-1 alpha nd PKC. *Pain.* 2011; 152:936-45.
13. Chuang HH, Prescott ED, Kong H, Shields S, Jordt SE, Basbaum AI, Chao MV, Julius D. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition. *Nature* 2001;411:957-62.
14. Bhave G, Hu HJ, Glauner KS, Zhu W, Wang H, Brasier DJ, Oxford GS, Gereau RWt. Protein kinase C phosphorylation sensitizes but does not activate the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12480-85.
15. Nazıroğlu M, Özgöl C. Vitamin E modulates oxidative stress and protein kinase C activator (PMA)-induced TRPM2 channel gate in dorsal root ganglion of rats. *J Bioenerg Biomembr.* 2013; 45:541-9.
16. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principle of Biochemistry 5th Ed. 2008.
17. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of The Cell 5th ed. 2008.
18. Putney JW Jr. A model for receptor-regulated calcium entry. *Cell Calcium.* 1986; 7:1-12.
19. Clapham DE, Runnels LW, Strübing C. The TRP ion channel family. *Nat Rev Neurosci.* 2001; 2:387-96.
20. Eraç Y, Selli Ç, Tosun M. Kalsiyumun çok yönlü işlevselliğinde TRPC iyon kanallarının rolleri. *Hacettepe University Journal of Pharmacy.* 2009; 28:161-83.

21. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Ester>, Erişim tarihi 26.06.2014.
22. Blumberg PM. "Protein kinase C as the receptor for the phorbol ester tumor promoters: sixth Rhoads memorial award lecture". *Cancer Res.* 1988; 48:1-8.
23. Flaschenträger B, v. Wolffersdorff R. "Über den Giftstoff des Crotonöles. 1. Die Säuren des Crotonöles". *Helvetica Chimica Acta* 1934;17: 1444-52.
24. Kauffmann T, Neumann H, Lenhardt K "Zur Konstitution des Phorbols, I. Über die reduzierende Gruppe des Phorbols". *Chemische Berichte.* 1959; 92:1715-26.
25. Hecker E, Bartsch H, Bresch H, Gschwendt M, Härle B, Kreibich G, Kubinyi H, Schairer HU, Szczepanski Ch v, Thielmann HW. "Structure and stereochemistry of the tetracyclic diterpene phorbol from croton *tigium L*". *Tetrahedron Letters.* 1967; 8:3165-70.
26. Pettersen RC, Ferguson G, Crombie L, Games ML, Pointer DJ. "The structure and stereochemistry of phorbol, diterpene parent of co-carcinogens of croton oil". *Chem. Commun. (London.)* 1967; (14): 716.
27. Tseng S-S, Van Duuren BL, Solomon JJ. "Synthesis of 4a.alpha.-phorbol 9-myristate 9a-acetate and related esters". *J. Org. Chem.* 1977; 42: 3645-49.
28. Goel G, Makkar HP, Francis G, Becker K. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *Int J Toxicol.* 2007; 26:279-88.
29. Weinstein, I. B., L. S. Lee, P. B. Fisher, A. Mufson, and H. Yamasaki. Action of phorbol esters in cell culture: mimicry of transformation, altered differentiation, and effects on cell membranes. *J. Supramol. Struct.* 1979; 12:195-208.
30. Clemens, M. J., I. Trayner, and J. Menaya. The role of protein kinase C isoenzymes in the regulation of cell proliferation and differentiation. *J. Cell Sci.* 1992; 103:881-87.
31. Nishizuka, Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science.* 1992; 258:607-14.
32. Mosior, M., and A. C. Newton. Mechanism of interaction of protein kinase C with phorbol esters. Reversibility and nature of membrane association. *J. Biol. Chem.* 1995;270:25526-33.
33. Segal, A., B. L. van Duuren, and U. Mate. The identification of phorbol myristate acetate as a new metabolite of phorbol myristate acetate in Mouse skin. *Cancer Res.* 1975;35:2154-59.
34. Silinsky, E. M., and T. J. Searl. Phorbol esters and neurotransmitter release; more than just protein kinase C? *Br. J. Pharmacol.* 2003; 138:1191-201.
35. Pettit FH, Humphreys J, Reed LJ. Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase activity by protein thiol-disulfide exchange. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982; 79:3945-8.
36. Hennings, H., P. M. Blumberg, G. R. Pettit, C. L. Herald, R. Shores, and S. H. Yupsa. Bryostatin 1, an activator of protein kinase C, inhibits tumor promotion by phorbol esters in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis* 1987; 8:1343-46.
37. Lee TG, Park JB, Lee SD, Hong S, Kim JH, Kim Y, Yi KS, Bae S, Hannun YA, Obeid LM, Suh PG, Ryu SH. Phorbol myristate acetate-dependent association of protein kinase C alpha with phospholipase D1 in intact cells. *Biochim Biophys Acta.* 1997; 1347:199-204.
38. Amador, M. L., J. Jimeno, L. Paz-Ares, H. Cortes-Funes, and M. Hidalgo. Progress in the development and acquisition of anticancer agents from marine sources. *Ann. Oncol.* 2003;14:1607-15.
39. Celik O, Naziroğlu M. Melatonin modulates apoptosis and TRPM2 channels in transfected cells activated by oxidative stress. *Physiol Behav.* 2012; 107:458-65.

40. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol.* 2006; 209:31-41.
41. Voets T, Nilius B. Modulation of TRPs by PIPs. *J Physiol.* 2007; 582:939-44.
42. Nazıroğlu M. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: where are we now? *Neurochem Res.* 2011; 36:355-66.
43. Hardie RC, Minke B. Novel Ca²⁺ channels underlying transduction in *Drosophila* photoreceptors: implications for phosphoinositide-mediated Ca²⁺ mobilization. *Trends Neurosci.* 1993; 16:371-76.
44. Özgül C, Nazıroğlu M. Role of TRPM2 cation channels on molecular pathways in neurological diseases *J.Exp. Clin. Med* 2010; 27: 144-51.
45. Nazıroğlu M, Özgül C. Effects of antagonists and heat on TRPM8 channel currents in dorsal root ganglion neuron activated by nociceptive cold stress and menthol. *Neurochem Res.* 2012; 37:314-20.
46. Cao E, Cordero-Morales JF, Liu B, Qin F, Julius D. TRPV1 channels are intrinsically heat sensitive and negatively regulated by phosphoinositide lipids. *Neuron.* 2013; 77:667-79.
47. Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ, Julius D. A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature.* 1999; 398:436-41.
48. Peier AM, Reeve AJ, Andersson DA, Moqrich A, Earley TJ, Hergarden AC, Story GM, Colley S, Hogenesch JB, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A. A heat-sensitive TRP channel expressed in keratinocytes. *Science.* 2002; 296:2046-49.
49. Garcia-Elias A, Mrkonjić S, Jung C, Pardo-Pastor C, Vicente R, Valverde MA. The TRPV4 Channel. *Handb Exp Pharmacol.* 2014; 222:293-319.
50. Kambiz S, Duraku LS, Holstege JC, Hovius SE, Ruigrok TJ, Walbeehm ET. Thermo-sensitive TRP channels in peripheral nerve injury: A review of their role in cold intolerance. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014; 67:591-99.
51. Watanabe H, Vriens J, Prenen J, Droogmans G, Voets T, Nilius B. Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. *Nature.* 2003;424:434-38.
52. Nilius B, Biró T. TRPV3: a 'more than skinny' channel. *Exp Dermatol.* 2013; 22:447-52.
53. Montell C, Rubin GM. Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron* 1989; 2:1313-23.
54. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997; 389:816-24.
55. Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 1998; 21:531-43.
56. Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24:487-517.
57. Chatchaisak D, Srikiatkachorn A, Maneesri-le Grand S, Govitrapong P, Chetsawang B. The role of calcitonin gene-related peptide on the increase in transient receptor potential vanilloid-1 levels in trigeminal ganglion and trigeminal nucleus caudalis activation of rat. *J Chem Neuroanat.* 2013; 47:50-6.

58. Vandewauw I, Owsianik G, Voets T. Systematic and quantitative mRNA expression analysis of TRP channel genes at the single trigeminal and dorsal root ganglion level in mouse. *BMC Neurosci.* 2013; 14:14:21.
59. Lundberg JM, Martling CR, Saria A. Substance P and capsaicin-induced contraction of human bronchi. *Acta Physiol Scand* 1983; 119:49–53.
60. Prescott ED, Julius D. A modular PIP2 binding site as a determinant of capsaicin receptor sensitivity. *Science.* 2003; 300:1284–8.
61. Jung J, Shin JS, Lee SY, Hwang SW, Koo J, Cho H, Oh U. Phosphorylation of vanilloid receptor 1 by Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulates its vanilloid binding. *J Biol Chem* 2004; 279:7048–54.
62. Anand U, Otto WR, Bountra C, Chessell I, Sinisi M, Birch R, Anand P. Cytosine arabinoside affects the heat and capsaicin receptor TRPV1 localisation and sensitivity in human sensory neurons. *J Neurooncol.* 2008; 89:1–7.
63. Liu BY, Tsai TL, Ho CY, Lu SH, Lai CJ, Kou YR. Role of TRPA1 and TRPV1 in the ROS-dependent sensory irritation of superior laryngeal capsaicin-sensitive afferents by cigarette smoke in anesthetized rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013; 26:364–72.
64. Szallasi A, Blumberg PM. Resiniferatoxin, a phorbol-related diterpene, acts as an ultrapotent analog of capsaicin, the irritant constituent in red pepper. *Neuroscience* 1989; 30:515–20.
65. Latorre R, Brauchi S, Orta G, Zaelzer C, Vargas G. ThermoTRP channels as modular proteins with allosteric gating. *Cell Calcium* 2007; 42:427–38.
66. Hsu CC, Bien MY, Huang YT, Ruan T, Kou YR, Lin YS. N-arachidonyl dopamine sensitizes rat capsaicin-sensitive lung vagal afferents via activation of TRPV1 receptors. *Respir Physiol Neurobiol.* 2009; 31:167:323–32.
67. Suh YG, Oh U. Activation and activators of TRPV1 and their pharmaceutical implication. *Curr Pharm Des* 2005;11:2687–98.
68. Dedov VN, Tran VH, Duke CC, Connor M, Christie MJ, Mandadi S, Roufogalis BD. Gingerols: a novel class of vanilloid receptor (VR1) agonists. *Br J Pharmacol* 2002;137:793–98.
69. Iwasaki Y, Morita A, Iwasawa T, Kobata K, Sekiwa Y, Morimitsu Y, Kubota K, Watanabe T. A nonpungent component of steamed ginger--[10]-shogaol--increases adrenaline secretion via the activation of TRPV1. *Nutr Neurosci* 2006; 9:169–78.
70. Morera E, De Petrocellis L, Morera L, Moriello AS, Nalli M, Di Marzo V, Ortar G. Synthesis and biological evaluation of 6]-gingerol analogues as transient receptor potential channel TRPV1 and TRPA1 modulators. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012; 15:22:1674–7.
71. Chung G, Im ST, Kim YH, Jung SJ, Rhyu MR, Oh SB. Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by eugenol. *Neuroscience.* 2014; 261:153–60.
72. Jung J, Hwang SW, Kwak J, Lee SY, Kang CJ, Kim WB, Kim D, Oh U. Capsaicin binds to the intracellular domain of the capsaicin-activated ion channel. *J Neurosci* 1999; 19:529–38.
73. Jung J, Lee SY, Hwang SW, Cho H, Shin J, Kang YS, Kim S, Oh U. Agonist recognition sites in the cytosolic tails of vanilloid receptor 1. *J Biol Chem* 2002; 277:44448–54.
74. Chou MZ, Mtui T, Gao YD, Kohler M, Middleton RE. Resiniferatoxin binds to the capsaicin receptor (TRPV1) near the extracellular side of the S4 transmembrane domain. *Biochemistry* 2004; 43:2501– 11.

75. Gavva NR, Klionsky L, Qu Y, Shi L, Tamir R, Edenson S, Zhang TJ, Viswanadhan VN, Toth A, Pearce LV, Vanderah TW, Porreca F, Blumberg PM, Lile J, Sun Y, Wild K, Louis JC, Treanor JJ. Molecular determinants of vanilloid sensitivity in TRPV1. *J Biol Chem* 2004; 279:20283–95.
76. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, Tsuruda PR, Read AJ, Poblete J, Yamoah EN, Basbaum AI, Julius D. TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell* 2006; 124:1269–82.
77. Rosenbaum T, Castanares DT, Lopez-Valdes HE, Hiriart M. Nerve growth factor increases L-type calcium current in pancreatic beta cells in culture. *J Membr Biol* 2002; 186:177–84.
78. Macpherson LJ, Dubin AE, Evans MJ, Marr F, Schultz PG, Cravatt BF, Patapoutian A. Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines. *Nature* 2007;445:541–45.
79. Jara-Oseguera A, Simon SA, Rosenbaum T. TRPV1: on the road to pain relief. *Curr Mol Pharmacol*. 2008;1:255–269.
80. Liao M, Cao E, Julius D, Cheng Y. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. *Nature*. 2013; 504:107–12.
81. Xu H, Blair NT, Clapham DE. Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism. *J Neurosci* 2005; 25:8924–37.
82. Nagae M, Hiraga T, Yoneda T. Acidic microenvironment created by osteoclasts causes bone pain associated with tumor colonization. *J Bone Miner Metab* 2007; 25:99–104.
83. Ugawa S, Ueda T, Ishida Y, Nishigaki M, Shibata Y, Shimada S. Amiloride-blockable acid-sensing ion channels are leading acid sensors expressed in human nociceptors. *J Clin Invest* 2002; 110:1185–90.
84. Jordt SE, Tominaga M, Julius D. Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extracellular site. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:8134–39.
85. Welch JM, Simon SA, Reinhart PH. The activation mechanism of rat vanilloid receptor 1 by capsaicin involves the pore domain and differs from the activation by either acid or heat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:13889–94.
86. Kaszas K, Keller JM, Coddou C, Mishra SK, Hoon MA, Stojilkovic S, Jacobson KA, Iadarola MJ. Small molecule positive allosteric modulation of TRPV1 activation by vanilloids and acidic pH. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012; 340:152–60.
87. Shahani N, Sawa A. Protein S-nitrosylation: role for nitric oxide signaling in neuronal death. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1820:736–42.
88. Hess DT, Matsumoto A, Kim SO, Marshall HE, Stamler JS. Protein S-nitrosylation: purview and parameters. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6:150–66.
89. Yoshida T, Inoue R, Morii T, Takahashi N, Yamamoto S, Hara Y, Tominaga M, Shimizu S, Sato Y, Mori Y. Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nat Chem Biol* 2006; 2:596–607.
90. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev* 1997; 49:137–42.
91. Ren JY, Song JX, Lu MY, Chen H. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in isolated perfused heart from diabetic rats: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide and substance P. *Regul Pept*. 2011; 169:49–57.

92. Vlachova V, Teisinger J, Susankova K, Lyfenko A, Ettrich R, Vyklicky L. Functional role of C terminal cytoplasmic tail of rat vanilloid receptor 1. *J Neurosci* 2003; 23:1340–50.
93. Brauchi S, Orta G, Salazar M, Rosenmann E, Latorre R. A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels. *J Neurosci* 2006; 26:4835–40.
94. Nilius B, Talavera K, Owsianik G, Prenen J, Droogmans G, Voets T. Gating of TRP channels: a voltage connection? *J Physiol* 2005; 567:35–44.
95. Riera CE, Vogel H, Simon SA, le Coutre J. Artificial sweeteners and salts producing a metallic taste sensation activate TRPV1 receptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293:626–34.
96. Ahern GP, Brooks IM, Miyares RL, Wang XB. Extracellular cations sensitize and gate capsaicin receptor TRPV1 modulating pain signaling. *J Neurosci* 2005; 25:5109–16.
97. Wallace HM. Targeting polyamine metabolism: a viable therapeutic/preventative solution for cancer? *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8:2109–16.
98. Li J, Doyle KM, Tatlisumak T. Polyamines in the brain: distribution, biological interactions, and their potential therapeutic role in brain ischaemia. *Curr Med Chem* 2007; 14:1807–13.
99. Medina MA, Correa-Fiz F, Rodriguez-Caso C, Sanchez-Jimenez F. A comprehensive view of polyamine and histamine metabolism to the light of new technologies. *J Cell Mol Med* 2005;9:854–64.
100. Ahern GP, Wang X, Miyares RL. Polyamines are potent ligands for the capsaicin receptor TRPV1. *J Biol Chem* 2006; 281:8991–95.
101. Siemens J, Zhou S, Piskorowski R, Nikai T, Lumpkin EA, Basbaum AI, King D, Julius D. Spider toxins activate the capsaicin receptor to produce inflammatory pain. *Nature* 2006;444:208–12.
102. Kitaguchi T, Swartz KJ. An inhibitor of TRPV1 channels isolated from funnel Web spider venom. *Biochemistry* 2005; 44:15544–9.
103. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481–93.
104. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation in brain homogenates: the role of iron and hydroxyl radicals. *J Neurochem.* 1997; 69:1330–1.
105. Akyol O, Herken H, Uz E, Fadillioğlu E, Unal S, Söğüt S, Ozyurt H, Savaş HA. The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma from schizophrenic patients. The possible role of oxidant/antioxidant imbalance. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2002; 26:995–1005.
106. Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nat Med.* 2012; 18:509–19.
107. Nazıroğlu M, Cığ B, Özgül C. Neuroprotection induced by N-acetylcysteine against cytosolic glutathione depletion-induced Ca²⁺ influx in dorsal root ganglion neurons of mice: role of TRPV1 channels. *Neuroscience.* 2013; 242:151-160.
108. Jancso N. Pharmacological analysis of the function and receptor structure of the pain-sensitive nerve endings. *Acta Physiol Hung* 1957; 11:11–14.
109. PORSZASZ J, JANCZO N. Studies on the action potentials of sensory nerves in animals desensitized with capsaicin. *Acta Physiol Acad Sci Hung.* 1959; 16:299–306.

110. Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J, Jancso N. Stimulation and desensitization of the hypothalamic heat sensitive structures by capsaicin in rats. *J Physiol* 1970; 208:449–59.
111. Jancso N, Jancso-Gabor A, Takats I. Pain and inflammation induced by nicotine, acetylcholine and structurally related compounds and their prevention by desensitizing agents. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 1961; 19:113–32.
112. Szallasi A, Blumberg PM. Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev* 1999; 51:159–212.
113. Schwarz S, Greffrath W, Busselberg D, Treede RD. Inactivation and tachyphylaxis of heat-evoked inward currents in nociceptive primary sensory neurones of rats. *J Physiol* 2000;528:539–49.
114. Liu L, Simon SA. Capsaicin-induced currents with distinct desensitization and Ca²⁺ dependence in rat trigeminal ganglion cells. *J Neurophysiol* 1996; 75:1503–1514.
115. Liu L, Simon SA. The influence of removing extracellular Ca²⁺ in the desensitization responses to capsaicin, zingerone and olvanil in rat trigeminal ganglion neurons. *Brain Res* 1998; 809:246–52.
116. Koplas PA, Rosenberg RL, Oxford GS. The role of calcium in the desensitization of capsaicin responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 1997; 17:3525–37.
117. Czikora Á, Rutkai I, Pásztor ET, Szalai A, Pórszász R, Boczán J, Édes I, Papp Z, Tóth A. Different desensitization patterns for sensory and vascular TRPV1 populations in the rat: expression, localization and functional consequences. *PLoS One*. 2013; 8(11):e78184.
118. Tominaga M, Wada M, Masu M. Potentiation of capsaicin receptor activity by metabotropic ATP receptors as a possible mechanism for ATP-evoked pain and hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:6951–56.
119. Moriyama T, Iida T, Kobayashi K, Higashi T, Fukuoka T, Tsumura H, Leon C, Suzuki N, Inoue K, Gachet C, Noguchi K, Tominaga M. Possible involvement of P2Y₂ metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity. *J Neurosci* 2003;23:6058–62.
120. Zhang N, Inan S, Cowan A, Sun R, Wang JM, Rogers TJ, Caterina M, Oppenheim JJ. A proinflammatory chemokine, CCL3, sensitizes the heat- and capsaicin-gated ion channel TRPV1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:4536–41.
121. Zhang X, Huang J, McNaughton PA. NGF rapidly increases membrane expression of TRPV1 heat-gated ion channels. *Embo J*. 2005;24:4211–23.
122. Liu B, Zhang C, Qin F. Functional recovery from desensitization of vanilloid receptor TRPV1 requires resynthesis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *J Neurosci* 2005;25:4835–43.
123. Lukacs V, Thyagarajan B, Varnai P, Balla A, Balla T, Rohacs T. Dual regulation of TRPV1 by phosphoinositides. *J Neurosci* 2007;27:7070–80.
124. 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;128:509–22.
125. Brauchi S, Orta G, Mascayano C, Salazar M, Raddatz N, Urbina H, Rosenmann E, Gonzalez-Nilo F, Latorre R. Dissection of the components for PIP₂ activation and thermosensation in TRP channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:10246–51.

126. Hwang SW, Cho H, Kwak J, Lee SY, Kang CJ, Jung J, Cho S, Min KH, Suh YG, Kim D, Oh U. Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:6155–60.
127. Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V, Julius D, Hogestatt ED. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 1999;400:452–57.
128. González-Aparicio R, Moratalla R. Oleoylethanolamide reduces L-DOPA-induced dyskinesia via TRPV1 receptor in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2014;62:416–25.
129. Matta JA, Miyares RL, Ahern GP. TRPV1 is a novel target for omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Physiol* 2007;578:397–411.
130. Rukwied R, Chizh BA, Lorenz U, Obreja O, Margarit S, Schley M, Schmelz M. Potentiation of nociceptive responses to low pH injections in humans by prostaglandin E2. *J Pain* 2007;8:443–51.
131. Moriyama T, Higashi T, Togashi K, Iida T, Segi E, Sugimoto Y, Tominaga T, Narumiya S, Tominaga M. Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins. *Mol Pain* 2005;1:3.
132. Premkumar LS, Ahern GP. Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature* 2000;408:985–990.
133. Ohta T, Ikemi Y, Murakami M, Imagawa T, Otsuguro K, Ito S. Potentiation of transient receptor potential V1 functions by the activation of metabotropic 5-HT receptors in rat primary sensory neurons. *J Physiol* 2006;576:809–22.
134. Sugiwar T, Bielefeldt K, Gebhart GF. TRPV1 function in mouse colon sensory neurons is enhanced by metabotropic 5-hydroxytryptamine receptor activation. *J Neurosci* 2004;24:9521–30.
135. Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Kim M, Koo JY, Lee CH, Kim M, Oh U. TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci* 2007;27:2331–7.
136. Kim BM, Lee SH, Shim WS, Oh U. Histamine-induced Ca²⁺ influx via the PLA(2)/lipoxygenase/ TRPV1 pathway in rat sensory neurons. *Neurosci Lett* 2004;361:159–162.
137. Studer M, McNaughton PA. Modulation of single-channel properties of TRPV1 by phosphorylation. *J Physiol.* 2010;588:3743–56.
138. Grace M, Birrell MA, Dubuis E, Maher SA, Belvisi MG. Transient receptor potential channels mediate the tussive response to prostaglandin E2 and bradykinin. *Thorax.* 2012;67:891–900.
139. Shin J, Cho H, Hwang SW, Jung J, Shin CY, Lee SY, Kim SH, Lee MG, Choi YH, Kim J, Haber NA, Reichling DB, Khasar S, Levine JD, Oh U. Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:10150–5.
140. Cesare P, Moriondo A, Vellani V, McNaughton PA. Ion channels gated by heat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7658–63.
141. Bhave G, Zhu W, Wang H, Brasier DJ, Oxford GS, Gereau RWt. cAMP-dependent protein kinase regulates desensitization of the capsaicin receptor (VR1) by direct phosphorylation. *Neuron* 2002;35:721–731.
142. Mohapatra DP, Nau C. Desensitization of capsaicin-activated currents in the vanilloid receptor TRPV1 is decreased by the cyclic AMP-dependent protein kinase pathway. *J Biol Chem* 2003;278:50080–90.

143. Mohapatra DP, Wang SY, Wang GK, Nau C. A tyrosine residue in TM6 of the Vanilloid Receptor TRPV1 involved in desensitization and calcium permeability of capsaicin-activated currents. *Mol Cell Neurosci* 2003;23:314–24.
144. Jeske NA, Diogenes A, Ruparel NB, Fehrenbacher JC, Henry M, Akopian AN, Hargreaves KM. A-kinase anchoring protein mediates TRPV1 thermal hyperalgesia through PKA phosphorylation of TRPV1. *Pain*. 2008;138:604–16.
145. Vetter I, Wyse BD, Monteith GR, Roberts-Thomson SJ, Cabot PJ. The mu opioid agonist morphine modulates potentiation of capsaicin-evoked TRPV1 responses through a cyclic AMP-dependent protein kinase A pathway. *Mol Pain* 2006;2:22.
146. Mandadi S, Numazaki M, Tominaga M, Bhat MB, Armati PJ, Roufogalis BD. Activation of protein kinase C reverses capsaicin-induced calcium-dependent desensitization of TRPV1 ion channels. *Cell Calcium* 2004;35:471–78.
147. Goswami C. TRPV1-tubulin complex: involvement of membrane tubulin in the regulation of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurochem*. 2012;123:1–13.
148. Goswami C, Dreger M, Otto H, Schwappach B, Hucho F. Rapid disassembly of dynamic microtubules upon activation of the capsaicin receptor TRPV1. *J Neurochem* 2006;96:254–66.
149. Goswami C, Hucho T. TRPV1 expression-dependent initiation and regulation of filopodia. *J Neurochem*. 2007;103:1319–33.
150. Goswami C, Hucho TB, Hucho F. Identification and characterisation of novel tubulin-binding motifs located within the C-terminus of TRPV1. *J Neurochem* 2007;101:250–62.
151. Goswami C, Schmidt H, Hucho F. TRPV1 at nerve endings regulates growth cone morphology and movement through cytoskeleton reorganization. *Febs J* 2007;274:760–72.
152. Simonetti M, Hagenston AM, Vardeh D, Freitag HE, Mauceri D, Lu J, Satagopam VP, Schneider R, Costigan M, Bading H, Kuner R. Nuclear calcium signaling in spinal neurons drives a genomic program required for persistent inflammatory pain. *Neuron*. 2013;77:43-57.
153. www.sigmaaldrich.com/ Erişim tarihi: 21.06.2013