

Derleme

Ağrı Moleküler Yolaklarında TRPV1 Katyon Kanalının Önemi

Betül YAZĞAN¹, Yener YAZĞAN², Mustafa NAZIROĞLU^{a3}

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

³Süleyman Demirel Üniversitesi, Nörolojik Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi (Nörobam), Isparta, Türkiye

ÖZET

TRPV1 katyon kanalları seçici olmayan bir katyon kanalı olup, merkezi ve periferik primer duysal nöronlarda özellikle varlığı gösterilmiştir. Bu kanallar, kapsaisin (acı kırmızıbiberin keskin bileşeni) ve resiniferatoksine gibi vanilloidler, yüksek ısı (>43°C), asit (pH<5), hücrel voltaj değişikliği, oksidatif stres ve inflammatuar medyatörler ile aktive olmaktadır. Ağrılı uyaranların algılanması ve taşınmasına katılan TRPV1'in, duysal fonksiyonlarındaki rolü üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu derleme makalesinde, yazarlar ağrının etiolojisinin anlaşılması için mevcut yeni kaynak bilgilerini özetlemeyi ve değişik tipteki nöronal ağrıların tedavilerine katkı sağlayacak ilaçların geliştirilmesine katkı sağlamayı amaçlamışlardır. TRPV1'in migren, osteoartrit, nöropati, inflammatuar kemik hastalığı ve kanser sonucu oluşan akut ve kronik ağrıya katkıda bulunduğunu; ağrı gelişimi ve modülasyonuna ilaveten termoregülasyon ve osmoregülasyona katıldığı bildirilmiştir. Ayrıca TRPV1 aktivasyonunun dirençli öksürük ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve hiperaktif mesane bağlı ağrı oluşumu gibi patolojik süreçlerde yer aldığı gösterilmiştir. TRPV1 kanal aktivitesi allosterik olarak düzenlenir. Fosfatidilinositol-bisfosfat (PIP₂) ve lizofosfatidik asit (LPA) gibi lipitler kanalın allosterik düzenleyicileri ve aktivatörleri olarak rol alırlar. Çok sayıda inflammatuar medyatör ve büyüme faktörü, hücre içi kinaz yollarını aktive eder ve TRPV1 kanalları üzerindeki özel noktaların fosforilasyonunu sağlayarak kanalın aktivasyonunu düzenler. Fosforilasyon kanalın sensitizasyonuna ve dolayısıyla ağrılı uyaranlara karşı hiperaljezi oluşmasına neden olurken, defosforilasyon kanalın desensitizasyonuna (duyarsızlaşma) neden olur. Sonuç olarak, TRPV1 kanallarının immünohistokimyasal, biyofiziksel ve farmakolojik olarak iyi karakterize edilmesi, yeni analjezik ilaçların geliştirilmesi için fikirsel ve teknik altyapının oluşmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: TRPV1 kanalı, kalsiyum iyonu, ağrı; arka kök gangliyon, kapsaisin.

ABSTRACT

Importance of TRPV1 Cation Channel on Molecular Pathways of Pain

TRPV1 is a non-selective cation channel that is mostly located on central and primary afferent sensory neurons. TRPV1 is activated by noxious painful stimuli such as acid (low pH), noxious heat (>43°C), voltage, components of the inflammatory, oxidative stress and vanilloids. TRPV1 has important role on detection and transmission of painful stimuli. In this review article, the authors summarize the recent information of pain literature to understand the etiology of the pain. The effects of TRPV1 on different types of neuronal pain are investigated in the laboratory and clinical trials. TRPV1 is reported to contribute to acute, chronic pain, such as osteoarthritis, neuropathic pain, migraine, bone cancer pain. It is also reported that TRPV1 takes part in pain processing and modulation, thermoregulation, osmoregulation among other functions. Activation of TRPV1 has important role on persistent cough, chronic obstructive pulmonary disease, bladder hyperactivity associated with bladder inflammation in human. TRPV1 is regulated / activated by some lipids such as phosphatidylinositolbiphosphate (PIP₂) and lysophosphatidylcholine (LPA). Hence, PIP₂ and LPA have been described as modulator and allosteric activator of the channel. A range of inflammatory mediators and growth or tumor factors are known to contribute to hyperalgesia via sensitization of TRPV1 through activation of kinase pathways that can lead to direct receptor phosphorylation at multiple intracellular sites. In conclusion, immunohistochemical, biophysical, pharmacological characterization of these channels might provide the intellectual and technical infrastructure for developing new classes of analgesic drugs.

Key words: TRPV1 channel, calcium ion, pain, dorsal root ganglion neuron, capsaicin.

Transient Reseptor Potential (TRP) kanalları; nosiseptif duysal sinir sonlanmalarında konumlanan ve rahatsız edici potansiyeli olan termal, mekanik veya kimyasal uyaranlarla aktive olan, seçici olmayan özel bir katyon kanalı ailesidir (1). TRP kanalları katyonlara karşı seçici olmamakla birlikte kalsiyum (Ca⁺²)'a karşı duyarlılığı oldukça yüksektir. TRP

kanalları ya direkt olarak plazma zarlarındaki Ca⁺² giriş kanalları gibi davranmakta ya da Ca⁺² giriş kanallarının modülasyonunu sağlayacak olan zar potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca⁺² kanalları üzerinde etkili olmaktadır. TRP üst ailesinin, her biri kendi içinde alt gruplara ayrılan altı üyesi bulunmaktadır. TRP conancial (TRPC) yedi alt aileden, TRP vanilloid

^aYazışma Adresi: Dr. Mustafa NAZIROĞLU, Süleyman Demirel Üniversitesi, Nörolojik Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi (Nörobam), Isparta, Türkiye
Tel: 0 246 2113641
Gelis Tarihi/Received: 17.04.2015

e-mail: mustafanaziroglu@sdu.edu.tr
Kabul Tarihi/Accepted: 28.04.2015

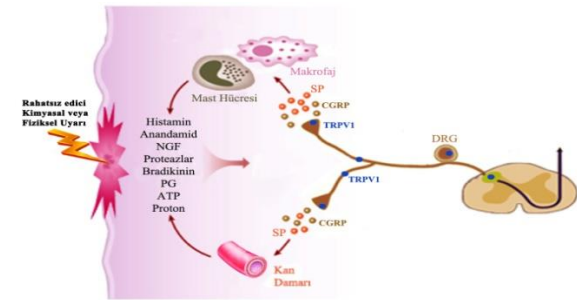
(TRPV) altı alt aileden, TRP melastatin (TRPM) sekiz alt aileden, TRP polisistein (TRPP) üç alt aileden, TRP mukolipin (TRPML) üç alt aileden ve TRP ankrin (TRPA) bir alt aileden oluşmaktadır (2,3). Tüm bu TRP katyon kanallarının çok sayıda hastalığın fizyopatolojisinde önemli rollere sahip oldukları bilinmekte ve bu kanallara olan ilgi artmaktadır. TRPV1, bu kanallar içinde ağrı modülasyonu ile ilgili olarak ilgiyi en fazla çeken kanal olmuştur.

Kapsaisin (CAP) veya CAP benzeri etki oluşturabilen resinoferatoksin (RTX), ısı, asit, oksidatif stres ürünleri ve endokanabnoidler gibi etkenler vanilloidler olarak adlandırılır (4,5). TRPV1, vanilloidlerle aktive olan bir iyon kanal reseptörüdür ve esas olarak duysal iletimde rol alır. TRPV1'in ağrı duyusunun taşınması ve belirlenmesinde rol alan duysal nöronları uyarmasındaki rolü çok sayıda çalışmada ele alınmış ve bu kanalların nosiseptif ve inflamatuvar ağrıda önemli düzenleyiciler olduğu gösterilmiştir (4,6,7). Ayrıca TRPV1'in termoregülasyon, osmoregülasyon, aşırı aktif mesane ve öksürük refleksi ile ilgili olduğu da bildirilmiştir (8). Bu kanalların varlığı insan, sıçan, tavşan, fare, kobay ve zebra balığında belirlenmiştir.

Fizyolojik koşullarda TRPV1 katyon kanalları inaktif iken; rahatsız edici kimyasal ve termal uyarıların varlığında aktive olurlar. CAP, allisin, RTX gibi eksojen ajanlar kanalı aktive ederken, aynı zamanda yüksek sıcaklık, ekstrasellüler ve intrasellüler pH dengesizlikleri ve anandamid gibi endojen uyarılar da kanalın aktive olmasını sağlarlar (6, 9). TRPV1 kanallarının iyonize olmayan elektromanyetik radyasyon (EMR) etkisiyle de aktive olduğu ve Ca^{+2} geçişine aracılık ederek hücre içi kaspaz yollarının aktivasyonuna ve hücre ölümüne neden olduğu rapor edilmiştir (9-11). TRPV1'in aktivasyonunda bir diğer önemli yol ise kanalın prostaglandinler, bradikinin, endojen lipid türevleri gibi inflamatuvar medyatörlerle allosterik olarak düzenlenmesidir (12).

Spesifik TRPV1 antagonistlerinin geliştirilmesi ve genetiği değiştirilmiş farelerle yapılan çalışmalar bu kanalların lokasyonları ve fonksiyonlarının araştırılmasında büyük katkılar sağlamıştır. TRPV1 kanallarının, arka kök ganglion nöronları (DRG), trigeminal ganglion ve vagal ganglionlarda; ayrıca bu ganglionların bipolar duysal nöronlarının periferik ve santral uzantıları üzerinde yoğun olarak eksprese edildiği bildirilmiştir. Primer duysal nöronlar nosiseptif ve nosiseptif olmayan bilgiyi periferden medullaspinalise taşırlar. Primer duysal afferent liflerin periferik uçları (nosiseptör) deri, subkutan doku, periost, eklem kapsülü, kas (çizgili kas ve düz kas), adventisya, plevra ve peritonda lokalize miyelinsiz sinir uçlarıdır. Santral uçları medullaspinalis arka boynuzunda spinal nöronlarla sinaps yapar. TRPV1 eksprese eden bu nöronlar, C ve Aδ olarak sınıflandırılan miyelinsiz veya ince miyelinli sinir

lifleridir (13,14). Rodentlerde TRPV1 eksprese eden nöronların tüm duysal nöronların % 30-50'sini oluşturduğu rapor edilmiştir (15). CAP duyarlı bu sinir lifleri substans P (SP) ve kalsitonin geni-ilişkili peptid (CGRP) içerirler ve bu lifler üzerindeki TRPV1 kanallarının uyarılması bu nöropeptidlerin salınımına neden olur (16). Nöropeptidler damar düz kas ve endotel hücreleri ile inflamatuvar hücrelerin aktive olmasına ve çok sayıda medyatör salgılanmasına neden olur. Bu medyatörler de TRPV1 kanallarında kovalent modifikasyonla sensitizasyona yol açar. (Şekil 1).



Şekil 1. İnflamasyon ve doku hasarı ile nosiseptörlerin sensitizasyonu. *Rahatsız edici kimyasal veya fiziksel uyarılarla aktive olan primer afferent nosiseptörler bu uyarıyı spinalkord'ta bulunan sekonder nöronlara iletir ve oradan beynin ilgili alanlarına ulaştırılarak, rahatsız edici bir duyu veya ağrı oluşumuna neden olur. Nosiseptörlerden salınan SP ve CGRP gibi nöropeptidlerin etkisiyle lökositlerden ve kan damarından inflamatuvarsitokinlerin salgılanması sonucu nörojenik inflamasyon oluşur. İnflamasyon etkisiyle TRPV1 kanalının sensitizasyonu, nosiseptör terminalde fiziksel ve kimyasal uyarılara karşı duyarlılığı artırır. Bu durum doku hasarı sonrası gelişen ağrı hipersensitivitesini ve hiperaljeziyi açıklar. Kısaltmalar: SP: substans P; CGRP: kalsitonin geni-ilişkili peptid.

TRPV1'in nervus vagus'un jugular (nervus vagus'un superior gangliyonu) ve nodos (nervus vagus'un inferior gangliyonu) ganglionları üzerinde de çok sayıda bulunduğu belirlenmiştir (17). Bu iki gangliyona, iç organlardan (kalp, larinks, akciğerler, gastrointestinal bölgesi) ve kafa bölgesinden vagus sinirinin duysal iletilerini alan afferent lifler gelir ve oradan nucleus solitarius'a uzanır. Kanalın agonist ve antagonistleri kullanılarak yapılan çok sayıda çalışmada elde edilen fizyolojik ve elektrofizyolojik bulgular beyin çok sayıda çekirdeğinde ve farklı bölgelerinde TRPV1 ekspresyonunun bulunduğu göstermiştir (9,14). TRPV1 kanallarının periakvaduktal gri cevher nöronları (PAG), amigdala, anterior, cingulate ve insular korteks gibi beyin ağrı iletimi ve düzenlenmesi ile ilgili alanlarında eksprese edildiği ve ağrıyı santralden de module ettiği belirlenmiştir (18). TRPV1'in öğrenme, bellek ve sinaptik plastisite gibi beyin diğer önemli işlevleri üzerinde etkili olduğu, ayrıca anksiyete, stres, depresyon gibi patolojilerde rol aldığı düşünülmekte ve bu etkileri araştırılmaktadır.

Çeşitli fizyolojik sistemlerde yapılan çalışmalarda, TRPV1 ekspresyonu gastrointestinal sistemde; primer ve vagal duysal nöronların uçları ve miyenterik pleksuslardaki nöronlarda, ayrıca nöronlar olmayan ince barsak villusları ve gastrik epitelyum

hücrelerinde de gösterilmiştir (19-22). Mast hücreleri, derideki keratinositler ve idrar kesesi epitel hücreleri gibi nöron içermeyen çeşitli hücrelerde de TRPV1 eksprese edildiği belirlenmiştir. (23,24).

TRPV1 proteinlerinin ekspresyonu, nöronal büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) gibi nöronal büyüme faktörleri ile düzenlenir. Ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), östradiol ve tümör büyüme faktörleri gibi faktörler de kanal proteinleri ekspresyonunun düzenlenmesine katılabilmektedir (8).

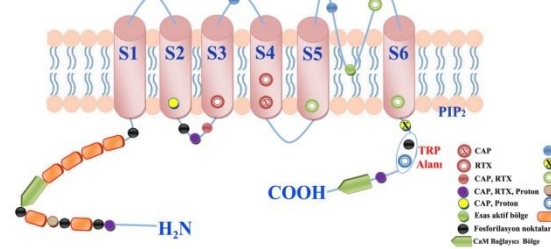
TRPV1 Kanalının Yapısı

Bütün TRP kanalları yapısal olarak, 6 trans membran segment (S1-S6) içeren voltaj kapılı katyon kanalları ailesinin üyeleridir. Kanalın S5 ile S6 segmentleri arasında bulunan bir ara bölge etrafında homo veya heterotetromerik olarak düzenlenmişlerdir. S6 segmentinin C terminal kısmı tüm TRP alt üyelerinde ortak olan "TRP alanı" içerir. Bu temel ortak özellikleri dışında her bir alt üyenin kanalın N ve C terminallerinde kanalı özel kılan yapıları vardır. TRPV1 reseptörlerinin, N terminalleri 6 adet ankrin tekrarı içerirken; C terminalinde bulunan PIP₂ bölgesi, kanal desensitizasyon bölgesidir. Ayrıca N ve C terminal bölgelerde bulunan Ca²⁺- kalmodilin (CaM) bağlanma bölgesi de kanalın desensitizasyon bölgeleridir. TRPV1 kanalları üzerinde kanal agonistleri için bağlanma bölgeleri ve kanalın allosterik düzenleyicileri olan kinaz enzimleri için çok sayıda fosforilasyon bölgesi vardır (3,25). S5 ve S6 segmentleri arasında bulunan aminoasit rezidüelleri kanalın iyon seçiciliğini kontrol eder ve bu bölge aynı zamanda kanalın esas aktif bölgesidir (8). Kanalın agonistleri olan CAP, RTX ve kanal antagonisti kapsazepinin transmembran segment 3 ve 4 (S3-S4) arasındaki özel bölgelere bağlandığı, ayrıca CAP ve RTX için çok sayıda başka bağlanma bölgeleri de olduğu rapor edilmiştir (26,27) (Şekil 2).

Araştırmacılar spesifik nokta mutasyonları oluşturarak TRPV1 kanalı üzerindeki ısı-duyarlı bölgelerin belirlenmesine katkıda bulunmuşlardır. Bu çalışmalar ışığında TRPV1 kanallarının ara bölgesi (S5-S6) ve S6 segmenti ile C ve N terminal uzantıların belirli bölgelerinin sıcaklık algılaması ile ilgili olduğu belirlenmiştir (28-31).

Fizyolojik koşullarda kanal ara bölgesi kapalıdır. TRPV1'in her bir aktivatörü, kanalın farklı bölgesine bağlanarak aktivasyon kapısını açar veya kanalın düzenleyicileri olan çeşitli araçlar ve düzenleyiciler allosterik düzenleme ile kanalda yapısaldeğişiklik oluşturur ve yine sonuç olarak aktivasyon kapısını açarlar. Kanal aktive olduğunda başta Ca²⁺ olmak üzere mono ve çift değerli katyonların hücre içine geçişi gerçekleşir. İlk olarak oluşan aksiyon potansiyeli ağrı duyusu oluşumuna ve iletimine neden olur. Ancak henüz tam anlaşılamayan bir mekanizma sayesinde

kanalda desensitizasyon (duyarsızlık) oluşabilir ve kanal artık yeni uyarılara yanıt vermez duruma gelebilir (32).



Şekil 2. TRPV1'in kanal yapısı ve önemli aktivasyon bölgeleri.

*Şekilde TRPV1'in her bir agonistinin bağlanabildiği aktivasyon bölgeleri ve kinaz enzimleri için fosforilasyon bölgeleri gösterilmektedir. TRP alanı, tüm TRP üst ailesinde bulunan ve PIP₂ aktivasyonu için gerekli olan alandır. CaM bağlayıcı bölgeler kanalın desensitizasyonunun gerçekleştiği bölgelerdir.

Kısaltmalar: CAP: kapsaisin; RTX: resiniferatoxin; PIP₂: phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate.

TRPV1 Kanalının Aktivasyonu

TRPV1 kanalları hücre dışı proton, CAP, RTX, anandamid ve bazı peptit yapıda toksinlerle direkt aktive olabilir veya bradikinin, ATP, NGF gibi pozitif allosterik modulatorlerle dolaylı olarak aktive olabilir.

1. TRPV1 Kanallarının Direkt Aktivasyonu

1.1. Kanalın Eksojen ve Endojen Aktivatörleri

TRPV1 kanallarının vanilloidler olarak adlandırılan proaljezik özellikte çok sayıda endojen ve eksojenagonisti vardır. CAP, RTX, zararlı ısı (>43 °C), düşük pH (<5), voltaj ve çeşitli endojen lipidler kanalı aktive eden agonistlerdir. Bu agonistler kanal üzerinde spesifik bağlanma bölgelerine bağlanarak kanalı aktive ederler ve Ca²⁺ iyonlarının hücre içine geçişini sağlarlar (25,32-34). CAP acı kırmızıbiberde bulunan keskin kokulu bir bileşiktir ve preklinik çalışmalarda en yaygın kullanılan kanal agonistidir (35). Euphorbia resinifera'dan izole edilen RTX ve soğan-sarımsak gibi bitkilerde bulunan allisin de diğer agonistlerdir. TRPV1 aktivasyonu yapan bitki kaynaklı toksinler dışında tarantula toksini de direkt olarak kanal aktivasyonu yapan bir vanillotoksindir (36).

1.2. Isı

TRP kanalları zararlı sıcak veya soğuk durumlarda biyolojik termosensörler olarak görev alırlar. TRP kanallarının ısı ile aktive olan alt tipleri termo-TRP olarak adlandırılmaktadır. Bunlardan TRPV1 sıcak-duyarlı (>43 °C) ve TRPM8 soğuk-duyarlı (<30 °C) (29). Termo-TRP ailesinin diğer üyeleri olan TRPV2, daha yüksek ısıda (>52 °C) aktive olurken; TRPV3 ve TRPV4, vücut ısısında (35 °C ile 37 °C arasında) aktive olabilmektedir (28). TRPV1 kanalları, inflamatuvar medyatörler veya nosiseptif uyarı ile aktive olarak ısıya bağlı hiperaljezi oluşturmaları nedeniyle en çok ilgi gören termo-TRP kanalıdır. TRPV1 rahatsız edici ısının algılanmasını ve ısı regülasyonu sağlar. TRPV1 geni bulunmayan farelerin

rahatsız edici ısıyı algılama yeteneklerinin kayb olduğu belirlenmiştir (4). Zararlı ısı TRPV1 kanallarını direkt olarak aktive edebilir veya kanal üzerinde allosterik düzenleme yaparak kanalın voltaj, proton, CAP gibi kanal aktivatörlerine duyarlılığını arttırabilir.

1.3. Asit

Protonlar [H⁺], TRPV1 üzerinde iki yolla etkili olur. İlk etkisi ısı eşliğini düşürmesidir. Normal şartlarda bu kanallar 43 °C üzerindeki ısı ile açılırken ekstrasellüler proton artışında bu eşik değeri düşer, kanalın duyarlılığı artmış olur. İkinci etki yolu ise düşük ekstrasellüler veya yüksek intrasellüler pH'nın kanal kapısını direkt olarak açmasıdır (32). Patolojik durumların birçoğunda görülen asidite, duysal nöronlar üzerindeki TRPV1 kanallarının aktive olmasına neden olur ve ağrı duyarlılığını artırır. Bu kanalların aktive olmasıyla hücre içine Ca²⁺ girişinde artış olur, kanser ve apoptozis ile sonuçlanan patolojik süreçlerin gelişimine katkıda bulunur (10). Bu nedenlerden dolayı TRPV1'in bloke edilmesi, etkili bir tedavi hedefi olarak tavsiye edilebilir (37).

TRPV1 kanalları membrandepolarizasyonu ile direkt aktive olabilir. Kanalı aktive eden ek bir uyarı olmadığında kanalın açılması için normal zar potansiyelinin çok üstünde pozitif bir potansiyel gereklidir. Oysa yüksek ısı veya bir kanal agonisti varlığında daha negatif bir potansiyelde kanal aktive olabilir (8).

1.4. Endokanabnoidler

İlk bulunan endokanabnoid anandamid'tir. Ayrıca lipooksijenaz (LO) yolunda üretilen birçok lipid türevidir. TRPV1 endojen agonisti olarak rol oynar 12- ve 15-(S)- hydroperoxy- eicosatetraenoic acids (HPETE), 5- ve 15-(S)-hydroxyeicosatetraenoic acids (HETE) ve lökotrien B4 bunlardandır. TRPV1'in bu endojen agonistleri kanalı aktive ederek inflammatuar ağrıya yol açarlar (38). Ayrıca N-arachidonoyl-dopamine beyinde bulunan güçlü bir agonisttir ve TRPV1 bağımlı termal hiperaljeziye DRG nöronlarında nörotransmitter salınımında rol oynar (39). Nöroseptif nöronlarda kanabnoid reseptörleri (CB) ile TRPV1 reseptörlerinin ko-lokalize bulunduğu gösterilmiştir. DRG nöronlarında yapılan immün boyamalarda TRPV1 reseptörlerine % 98 oranında CB reseptörlerinin eşlik ettiği bulunmuştur (40). Duysal nöronlarda TRPV1 ile CB reseptörleri zıt etkilidir. Selektif CB reseptör agonisti HU210, CAP'ın oluşturduğu iyon durumunu değiştirmiştir (32). Yapılan çalışmalar anandamidin TRPV1 üzerindeki etkisiyle nöroseptif yanıtı arttırdığı; CB reseptörleri üzerindeki etkisiyle ise inhibe ettiği rapor edilmiştir (32).

2. TRPV1 Kanallarının Allosterik Düzenlenmesi

2.1. Kanalın Sensitizasyonu

TRPV1 kanallarının termal ve inflammatuar hiperaljezi oluşumunda önemli olduğu yapılan çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. TRPV1 kanallarının anahtar noktalarının birçoğunun fosforilasyonu kanalın aktivasyonunda düzenleyici rol oynar. Çeşitli inflammatuar medyatörler, kanal üzerindeki birçok noktada fosforilasyon yaparak TRPV1 kanallarının duyarlılığını arttırırlar. Kanalın duyarlılığının artması, kanalın agonistlerinin daha düşük dozlarda kanalı açmasına ve kanalın ısı, asit, voltaj gibi diğer uyarılara karşı uyarı eşiklerinin düşmesine neden olur (41,42), böylece inflamasyon veya nöroseptisyon varlığında hiperaljezi oluşur (43). Hiperaljeziye TRPV1 kanallarının uyarılması sonucu SP ve CGRP gibi nöropeptidlerin salınımı da ciddi düzeyde katkıda bulunur (16).

2.1.1. Kanalın Kısa Fakat Hızlı Düzenlenme Mekanizması

TRPV1 kanalının aminoasit rezidüelleri üzerinde çok sayıda fosforilasyon bölgesi vardır. Bu bölgeler yoğunlukla kanalın intrasellüler bölümünde bulunan N terminal ve C terminal uzantılarında yer alırken, transmembran bölgelerde de fosforilasyon noktaları mevcuttur. Protein Kinaz A (PKA) ve Protein Kinaz C (PKC) tarafından spesifik aminoasit rezidüellerin fosforilasyonu inflammatuar medyatörlerin kanalı aktive ettiği yoldur (43, 44). Çeşitli inflammatuar medyatörler kendi reseptörlerine bağlanıp hücre içine geçer ve ikinci haberci sistemlerini aktive ederek, kanalın fosforilasyonunu sağlarlar. Fosfolipaz C (PLC) ile hidroliz olmadığı sürece PIP₂, kanalın negatif düzenleyicisidir (33,39,45).

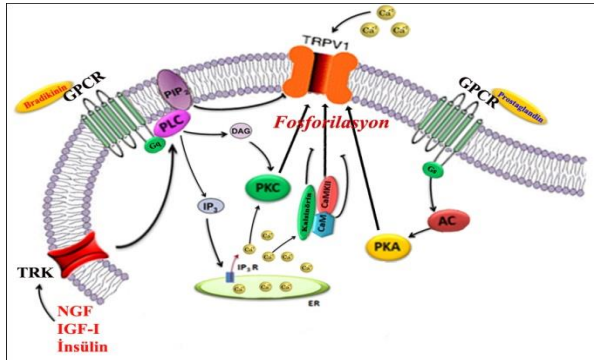
NGF, insulin ve IGF-I, Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)'yi aktive ederek PKC aktivitesini artırır. Ayrıca PI3K kaskadının çalışması kalsiyum/kalmodulin-bağımlı protein kinaz II (CaMK II) üzerinden de PKC aktivasyonunu sağlar. PKC aktivasyonu ise kanalın spesifik aminoasit rezidüellerinin fosforilasyonuna neden olur. Bradikinin, histamin, ATP gibi medyatörler membranda bulunan kendi reseptörlerine bağlanarak PLC aktivasyonuna neden olurlar ve bu enzimin aktivasyonu hem PIP₂ hidrolizine hem de PKC yolunun aktive olmasına yol açar (43,46). C terminal bölgede bulunan PIP₂, TRPV1 kanalının inaktif durumda olmasını sağlar. Ancak hücre içi zincirleme olayların aktivitesi, PLC enzimini aktive edince PIP₂ hidroliz olur ve kanalı inhibe edici etkisi ortadan kalkar. Prostaglandinler kendi reseptörlerine bağlanmalarının ardından c-AMP bağımlı yolla PKA üzerinden özel bölge fosforilasyonu sağlarlar. Tüm bu fosforilasyon yolları TRPV1 kanallarının aktivasyon eşliğinin düşmesine ve aktivasyon süresinin uzamasına neden olur.

2.1.2. Tirozin Kinaz Reseptörleri Üzerinden Orta Vadeli Düzenleme

Hücre içindeki veziküller üzerinde bulunan kanal proteinleri, bu kanallar için hücre içi depo görevi görmektedir. NGF, insulin ve IGF-I gibi büyüme faktörlerinin tirozinkinaz (TRK) reseptörlerine bağlanması PI3K, PKC ve Src (non-reseptör tirozinkinaz) ikinci haberci yollarını tetikleyerek vezikül membranlarında bulunan TRPV1 kanalları üzerindeki spesifik bölgelerde fosforilasyon sağlar ve bu veziküllerin membranla bütünleşip membrana yeni TRPV1 kanallarının taşınmasına yol açar. Membranda TRPV1 kanal sayısının artışı nosiseptif ve inflamatuvar ağrı duyarlılığını artırır (25).

2.1.3. Büyüme Faktörleri İle Uzun Vadeli Düzenleme

Kanalın uzun vadeli düzenlenmesi, TRPV1 kanal proteininin gen transkripsiyonunda artış ile yapılır ve bu yolla TRPV1'in uzun süreli sensitizasyonu sağlanmış olur. Kronik nörojenik ve inflamatuvar ağrıların fizyopatolojisinde bu sensitizasyonun rolü önemlidir (42). Büyüme faktörleri TRK reseptörüne bağlanır ve MAP kinaz yolunu aktive ederek TRPV1 gen ekspresyonunu artırır. Sentezlenen TRPV1 proteinleri hücre yüzeyine taşınır ve kanal sayısı artmış olur. MAP kinaz yolunu aktive eden bir diğer etken ise reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin artışıdır (47). NGF, BDNF ve GDNF gibi nöronal büyüme faktörleri TRPV1 ekspresyonunu artırır. Ayrıca tümör büyüme faktörleri, östradiol, insulin, IGF-I gibi faktörler de ekspresyon artışına neden olabilen büyüme faktörleridir (8,48). NGF duysal nöronların gelişiminde önemli bir medyatördür. İnflamatuvar durumlarda sinir uçlarından salınan CGRP ve SP gibi nöropeptidler NGF ve diğer nöron büyüme faktörlerinin düzeylerini artırır. (Şekil 3)



Şekil 3. TRPV1'in sensitizasyonu ve desensitizasyonu*İnflamatuvar medyatörler G protein kenetli reseptörlerine (GPCR) bağlanarak PKA ve PLC ikinci haberci sistemlerini aktive eder. Ayrıca hücre içi serbest Ca^{2+} artışı CaMKII enzimini aktiflerken büyüme faktörleri de TRK reseptörlerini aktive eder. Bu enzimlerin, kanal üzerindeki spesifik noktaları fosforilemesi ya da PIP_2 'yi hidrolize etmesi kanal aktivasyonuna ve sensitizasyonuna neden olur. Hücre içi serbest Ca^{2+} artışı kalsinörini aktive eder, bu enzim defosforilasyonla kanalı inaktive eder. Hücre içi serbest Ca^{2+} aşırı artışında ise CaM kanal üzerinde belirli bölgelere bağlanarak kanalı yine inaktive eder.

Kısaltmalar: PKA: Protein kinaz A; PKC: Protein kinaz C; PLC: Fosfolipaz C; AC: Adenilatsiklaz; CaM: Ca^{2+} -kaldmodulin; CaMK II: Kalsiyum-kaldmodilin bağımlı kinaz II; PIP_2 : phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; TRK: Tirozinkinaz.

2.2. TRPV1 Kanalının Desentizasyonu

TRPV1 kanallarının spesifik bölgelerinin bir çoğunun fosforilasyonu kanalın aktivasyonunda düzenleyici rol oynar. Fosforilasyon kanal aktivasyonunu sağlarken, defosforilasyon kanalın desentizasyonuna neden olur ve kanal artık yeni uyarılara yanıt veremez (32). Desentize olan kanalın agonistlerine karşı yanıtının azaldığı, bildirilmiştir (49). TRPV1'in inaktivasyonu ve desentizasyonunun kalsiyum aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmektedir. TRPV1 bir kaç yolla desentize olur:

(i). Açık TRPV1 kanallarından çok miktarda Ca^{+2} hücre içine geçer, kalsinörini (Ca^{+2} - kaldmodulin-bağımlı fosfataz) aktive eder ve bu enzim defosforilasyon yaparak kanalı desentize eder.

(ii). CaM'ın TRPV1 kanalının N ve C terminalinde bulunan kendi spesifik bölgelerine bağlanarak kanalı inaktive etmesi ikinci bir kalsiyum bağımlı desentizasyon yoludur (45,50).

(iii). TRPV1'in CAP gibi kanal agonistleri tarafından desentizasyonu ise, agonistlerin konsantrasyonuna bağlı olarak kanalın bu agonist için affinitesinin azalması ile ilişkili olabilir.

TRPV1 Kanallarının Fizyolojik Etkileri

Nosiseptif Sinyal İletiminin Düzenlenmesi ve Ağrı

Nosiseptifsinaptik iletimin düzenlenmesi, patolojik ağrı durumlarının çoğunun gelişiminde ve onarımında, büyük önem arz etmektedir. Nosiseptörlerle periferden algılanan bilgiyi medulla spinalise taşıyan primer duysal nöronların santral uçları medulla spinalis arka boynuzunda spinal nöronlarla sinaps yapar. Bu sinapslar ve bu alanda salgılanan nörotransmitterler ağrının modülasyonunu sağlamaktadır. Periakvaduktal gri madde (PAG), formasyon retikülaris ve lokus seruleus gibi supraspinal inen kontrol mekanizmaları, medulla spinalis düzeyinde primer afferentleri baskılayıp kontrol altında tutar. TRPV1 kanallarının PAG nöronları, amigdala, anterior, cingulat ve insular korteks gibi beyin ağrı iletimi ve düzenlenmesi ile ilgili alanlarında eksprese edildiğinin belirlenmesi (51,52) ve ayrıca ağrının inen yollarında glutamaterjik, glisinergic, serotonergic ve noradrenergik iletimin modülasyonunda da rol aldığı rapor edilmiştir (53,54) bu kanalların ağrı ile ilgili son araştırmalarda en çok ilgi gören hedeflerden biri olmasını sağlamıştır (18). TRPV1 kanallarının aktivasyonu hiperaljeziye neden olurken, desentizasyonu ağrı yanıtının azalmasına neden olmaktadır.

TRPV1 reseptörlerinin aktivasyonunun nosiseptif sinyalin düzenlenmesinde oldukça önemli olduğu yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (55). İnflamatuvar durumlarda, artan inflamatuvar

medyatorların TRPV1 kanallarını fosforilasyonu sonucu kanalın duyarlılığının ve kanal ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (47). Kanal duyarlılığın artmasıyla hiperaljezi oluşur. Deneysel inflammatuar ağrı modellerinde Freund'sadjuvant (CFA), tümör nekroz faktör-alfa (TNF-a) gibi maddelerin periferik olarak uygulanması termal hiperaljeziye neden olmuştur (30). Ayrıca TRPV1 geni olmayan farelerde termal hiperaljezi ve ödemin daha az olduğu belirlenmiştir (30,56). Benzer şekilde HEK-293 hücrelerinde kültür ortamına ATP uygulanması TRPV1 reseptörlerinin ısı eşiğini 43 °C'den vücut ısısı düzeylerine düşürerek uyarılabilirliğini arttırmıştır (57). Kronik inflammatuar patolojilerde kanalların allosterik düzenlemeyle uzun süreli duyarlılaşması ve salgılanan çeşitli büyüme faktörlerinin etkisiyle TRPV1 kanal ekspresyonunun artması inflammatuar ağrının süregelmesine katkı sağlamaktadır.

TRPV1, inflamasyona bağlı asidite durumlarında SP ve CGRP gibi inflammatuar nöropeptidlerin salınımını ve ekspresyonunu indükleyerek inflamasyonu ve ağrıyı artırır (58). İnflammatuar ağrı modeli oluşturulan farelerde DRG nöronlarında CGRP mRNA ekspresyonu artmış ve farelerin nosiseptif bir davranış olan arka pence hareketi sergiledikleri görülmüştür. Ayrıca farelerde spesifik TRPV1 antagonisti olan 5'-iodoresiniferatoxin (I-RTX) uygulanması inflamasyona bağlı asitin neden olduğu CGRP ekspresyonu ve salınımı azalmıştır. Asit uygulanmış farelerde ise TRPV1 'den yoksun primer DRG hücrelerinde CGRP salınımında artış olmadığı gözlenmiştir (58).

Preklinik kanser modellerinde TRPV1 ekspresyonu araştırılmış, kemik kanserinde ipsi-lateral DRG nöronlarında ekspresyonun arttığı belirlenmiştir. TRPV1 geni olmayan farelerde ve TRPV1 antagonisti ile tedavi edilmiş farelerde kansere bağlı ağrının azaldığı gösterilmiştir (59). Benzer bir başka çalışmada kemik kanserinde TRPV1 antagonistin morfinin analjezik etkisini güçlendirdiği belirlenmiştir (60).

Zayıflatılmış arı zehiri (ZAZ), ağrı ve inflamasyona neden olan güçlü bir nosiseptördür. Nöropatik ağrı modeli oluşturulan sıçanlarda, perinöral ZAZ uygulaması yapılmış ve bu sıçanlarda TRPV1 kanallarının desentizasyonu yoluyla nöropatik ağrı azalmıştır (61). TRPV1 reseptör antagonisti SB366791 uygulaması periferik sinir hasarı sonrası gelişen nöropatik ağrıyı azaltmıştır (59). CAP'ın PAG bölgesine mikroenjeksiyonu, TRPV1 reseptörlerinin desentizasyonuna yol açarak antinoseptif etki oluşturmuştur. Ayrıca PAG üzerindeki TRPV1 reseptörlerinin stimule olması, antinosepsiyonu indüklemiştir. CAP'ın sıçan Intra-periakuaduktalgrey bölgesine mikroenjeksiyonu, plantar testte nosiseptifreaksiyon süresinin gecikmesine neden olmuştur ve bu etki TRPV1 antagonisti kapsazepinle

bozulmuştur (62). CAP'ın bu antinoseptif etkisi supraspinal inen kontrol yollarında TRPV1'in, glutamat metabotropik reseptörlerini aktive ederek glutamat salınımını arttırmasına bağlı olabilir (62).

TRPV1 Kanallarının Diğer Etkileri

TRPV1 kanallarının birincil işlevlerinin nosiseptif duysal iletimin düzenlenmesi ve ağrının modülasyonu olduğu bilinmektedir. Ancak bu kanalların duysal gangliyon ve nöronlar dışındaki farklı hücrelerde de ekspresyonlarının olduğu belirlenmiş ve etkileri çok sayıda araştırmacı tarafından incelenmiştir.

TRPV1'in fizyolojik vücut ısının sürdürülmesindeki düzenleyici rolleri önemlidir. TRPV1, rahatsız edici ısının algılanmasını sağlayan reseptörler olmalarının yanında, ısının modülasyonuna önemli katkılar sağladığı, bu genden yoksun farelerle yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (30,34,63). TRPV1'in santral sinir sisteminde özellikle hipotalamusun preoptik bölgesinde eksprese edilmesi, ısı regülasyonu ile ilgili olduğu dair kanıt oluşturmaktadır (29,34). Ayrıca TRPV1 antagonistlerinin, en önemli yan etkilerinin hipertermi olması bu kanalların ısı regülasyonu ile ilgili olduğunun başka bir kanıtıdır (64). TRPV1'in supraopticonucleus (SON) ve organum vasculosum terminalis (OVLT) nöronlarında eksprese edildiği ve serebrospinal sıvı osmolaritesini düzenlemede rol aldığı belirlenmiştir. TRPV1 geni OVLT nöronlarında hipertansiyona bağlı olarak kodlandığı ve TRPV1 geni olmayan farelerde, hipertansiyonun OVLT nöronlarında ekzitasyona neden olmadığı gösterilmiştir (65).

TRPV1 kanalları non-iyonize elektromanyetik radyasyon (EMR) etkisiyle aktive olur ve Ca⁺² geçişine aracılık ederek hücre içi kaspaz yollarının aktivasyonuna ve hücre ölümüne neden olur. Ghazizadeh ve Naziroglu (2014), sıçanlarda deneysel epilepsinin ve Wi-Fi maruziyetinin etkilerini araştırmış ve her iki durumun da hipokampus ve DRG hücrelerinde hücre içi serbest Ca⁺² düzeyini, oksidan ürünleri ve apoptozisi arttırdığını göstermişlerdir. TRPV1 antagonisti kapsazepin uygulandığında ise tüm bu değerlerde azalma olduğunu belirlemişlerdir (9). Yine başka bir deneysel epilepsi modelinde, TRPV1 ekspresyonunun ve aktivitesinin temporal korteks ve hipokampusta arttığı gösterilmiştir (66). İnsan göğüs kanseri hücrelerinde (MCF-7) yapılan bir çalışmada EMR'nin TRPV1 aktivasyonu aracılığıyla oksidatif stres ve apoptozisi arttırdığını rapor etmişlerdir (10).

Hava yollarındaki duysal nöronlarda eksprese edilen TRPV1 kanalları öksürük oluşumunda rol alır ve günümüzde bu kanalların antagonistleri öksürük kesici olarak denenmektedir. Astım ve diğer kronik obstrüktif pulmoner hastalıkların patogeneğinde TRPV1'in kompleks rolü tanımlanmıştır. TRPV1 hem havayolu epitel hücrelerinde hem de duysal sinirsonlanmalarında

eksprese edildiği bulunmuştur (67). SP ve CGRP, TRPV1 eksprese eden sinir sonlanmalarında salınır ve bronkokonstrüksiyon, immün hücre birikimi ve mukus salgısının artmasına neden olmaktadır. Ayrıca epitel hasarı ve inflamasyon nedeniyle artan NGF salınımının TRPV1 kanalları üzerindeki uzun süreli etkisi kanal sayısının gen regülasyonu yoluyla artışıdır. Gerek inflamatuvar medyatörlerin TRPV1 aktivasyonunu tetiklemesi, gerekse hücre zarlarındaki kanal sayısının artması; Ca^{+2} hücre içi akışını artırır, bunun sonucu membran depolarizasyonu ve efferent kolinerjik refleksin meydana gelmesidir. TRPV1'in solunum yollarındaki varlığı ve etkisi CAP uygulaması sonrasında artan öksürük refleksiyle de gösterilmiştir (67) (Tablo 1).

TRPV1 antagonistleri de, araştırmacılar tarafından denenmekte ve yeni tedavi yaklaşımı olarak kullanılması önerilmektedir (74). Preklinik çalışmalarda TRPV1 antagonistleri inflamasyon, osteoartrit ve kansere bağlı ağrılarda antihiperalezik olarak denenmiş ve çoğunlukla olumlu sonuçlara ulaşılmıştır. Agonist ve antagonistlerle klinik deneyler de yapılmaya başlanmıştır. Antagonistler ayrıca başta diş ağrısı olmak üzere migren, rektal ağrı ve hiperaktif mesane tedavilerinde oral olarak denenmektedir.

Klinikte denenilen bu ilaçlar çoğunlukla faz II veya faz III aşamasındadır. Tüm bu klinik modellerde ağrı skorlarında büyük çoğunlukla düşüş görülmüştür, ancak antagonistlerin hipertermi oluşturmak gibi önemli bir yan etkileri bulunmaktadır ve kullanımlarını kısıtlamaktadır (47,64,75).

Sonuç

Ağrı, vücutta patolojik durumları gösteren sinyaller olarak olumlu işlevlere sahiptir, ama aynı zamanda yaşam kalitesini düşüren rahatsız edici ve tedavi edilmesi gereken bir durumdur. Ağrının fizyopatolojisi oldukça karmaşıktır, ağrının nedeninin belirlenmesi, doğru tedavi yaklaşımlarının bulunması ve uygulanan tedavilerin etkin bir şekilde sürdürülebilmesinde de zorluklar yaşanmaktadır. TRPV1'in ağrının belirlenmesi ve modülasyonundaki önemli rolleri nedeniyle, bu kanalların ağrı tedavisinde yeni ve etkili hedefler olabileceği öngörülmekte ve çok sayıda araştırmacıyı bu konuya yönlendirmektedir.

KAYNAKLAR

- Kim E, Susan M, Scott B, Heddwen L. Ganong'un Review of Medical Physiology. 23rded, New York: McGraw-Hill, 2011: 416-18.
- Ozgül C, Naziroglu M. Role of TRPM2 cation channels on molecular pathways in neurological cells. Journal of Experimental and Clinical Medicine 2010; 27: 144-51.

Spesifik TRPV1 agonist ve antagonistlerinin geliştirilmesi ve genetiği değiştirilmiş farelerle yapılan çalışmalar bu kanalların fonksiyonlarının araştırılmasında büyük katkılar sağlamıştır. Günümüze dek yapılan çalışmalarla bu kanalları hedef alan preklinik ve klinik tedavi modellerinde elde edilen veriler, TRPV1 kanallarının gerek rahatsız edici iç ve dış etkenlere bağlı olan ağrılarda, gerekse inflamatuvar ve nörojenik yangı sonucu oluşan ağrılarda etkili sonuçlar elde edildiğini göstermiştir. TRPV1 kanalını aktive eden faktörlerin daha detaylı olarak belirlenmesi, bu kanalların etkili bir şekilde modüle edilmesi, tedavi edici etkinliği güçlü yeni ajanlar geliştirilmesi veya geliştirilen ajanların güçlendirilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kalsiyum homeostazının bozulması önemli hücrel yolakların işlevlerinin değişmesine ve nekrotik ya da apoptotik hücre ölümü ya da tümoral oluşumlar ile sonuçlanan birçok hastalığa neden olmaktadır. TRPV1 kanallarının ve tüm TRP üst ailesinin fizyolojik olmayan durumlarda aktive olduğu ve özellikle Ca^{+2} hücre içi akışına neden olarak dengenin bozulmasına yol açtığı göz önüne alındığında bu kanalların daha fazla araştırılması gerektiği açıkça görülmektedir.

Tablo 1. TRPV1 Agonist ve Antagonistleri

<u>Agonistlerin Etki Mekanizması</u>	<u>Endikasyonlar</u>	<u>Referans</u>
Kanalda de sentizasyon yoluyla analjezi oluşturma	Artrit	
	Diyabetik nöropati	(73)
	Sistivte hiperaktif mesane	(76-78)
	Deri tümörü tedavisi ve kansere bağlı ağrılar	(79-81)
	Migren	(82, 83)
		(47)
<u>Antagonistlerin Etki Mekanizması</u>		
Kanal inhibisyonu	Allerjik ve nonallerjik rininit	
	Mekanik hiperalezi	(84, 85)
	Inflamatuvar venöropatik ağrı	(86, 87)
	Kansere bağlı ağrı	(88, 89)
	Kronik öksürük	(60-90)
	İrritabl bağırsak sendromu	(91)
	Diş ağrısı – orbital ağrı	(92)
		(93)

- Feng Z, Pearce LV, Xu X, et al. Structural Insight into Tetrameric hTRPV1 from Homology Modeling, Molecular Docking, Molecular Dynamics Simulation, Virtual Screening, and Bioassay Validations. Journal of chemical information and modeling 2015; 55: 572-88.
- Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. Science 2000; 288: 306-13.

5. Szallasi A, Blumberg PM. Resiniferatoxin and its analogs provide novel insights into the pharmacology of the vanilloid (capsaicin) receptor. *Life sciences* 1990; 47: 1399-08.
6. Cui M, Honore P, Zhong C, et al. TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2006; 26: 9385-93.
7. Summ O, Holland PR, Akerman S, Goadsby PJ. TRPV1 receptor blockade is ineffective in different in vivo models of migraine. *Cephalalgia : an international journal of headache* 2011; 31: 172-80.
8. Bevan S, Quallo T, Andersson DA. TRPV1. *Handbook of experimental pharmacology* 2014; 222: 207-45.
9. Ghazizadeh V, Naziroglu M. Electromagnetic radiation (Wi-Fi) and epilepsy induce calcium entry and apoptosis through activation of TRPV1 channel in hippocampus and dorsal root ganglion of rats. *Metab Brain Dis* 2014; 29: 787-99.
10. Cig B, Naziroglu M. Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via TRPV1 channels induced by mobile phones and Wi-Fi in breast cancer cells. *Biochimica et biophysica acta* 2015. [Epub ahead of print]
11. Kose SA, Naziroglu M. Selenium Reduces Oxidative Stress and Calcium Entry Through TRPV1 Channels in the Neutrophils of Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Biol Trace Elem Res* 2014; 158: 136-42.
12. De Petrocellis L, Harrison S, Bisogno T, et al. The vanilloid receptor (VR1)-mediated effects of anandamide are potently enhanced by the cAMP-dependent protein kinase. *J Neurochem* 2001; 77: 1660-63.
13. Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, et al. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 1998; 21: 531-43.
14. Steenland HW, Ko SW, Wu LJ, Zhuo M. Hot receptors in the brain. *Molecular pain* 2006; 2:34.
15. Kobayashi K, Fukuoka T, Obata K, et al. 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: 596-06.
16. Feng NH, Lee HH, Shiang JC, Ma MC. Transient receptor potential vanilloid type 1 channels act as mechanoreceptors and cause substance P release and sensory activation in rat kidneys. *American journal of physiology Renal physiology* 2008; 294: 316-25.
17. Ichikawa H, Sugimoto T. The co-expression of VR1 and VRL-1 in the rat vagal sensory ganglia. *Brain research* 2003; 980: 293-96.
18. Palazzo E, Luongo L, de Novellis V, Berrino L, Rossi F, Maione S. Moving towards supraspinal TRPV1 receptors for chronic pain relief. *Molecular pain* 2010; 6:66.
19. Karai LJ, Russell JT, Iadarola MJ, Olah Z. Vanilloid receptor 1 regulates multiple calcium compartments and contributes to Ca2+-induced Ca2+ release in sensory neurons. *The Journal of biological chemistry* 2004; 279: 16377-87.
20. Poonyachoti S, Kulkarni-Narla A, Brown DR. Chemical coding of neurons expressing delta- and kappa-opioid receptor and type I vanilloid receptor immunoreactivities in the porcine ileum. *Cell and tissue research* 2002; 307: 23-33.
21. Ward SM, Bayguinov J, Won KJ, Grundy D, Berthoud HR. Distribution of the vanilloid receptor (VR1) in the gastrointestinal tract. *The Journal of comparative neurology* 2003; 465: 121-35.
22. Anavi-Goffer S, Coutts AA. Cellular distribution of vanilloid VR1 receptor immunoreactivity in the guinea-pig myenteric plexus. *European journal of pharmacology* 2003; 458: 61-71.
23. Zhang Y, Xiang B, Li YM, et al. Expression and characteristics of vanilloid receptor 1 in the rabbit submandibular gland. *Biochemical and biophysical research communications* 2006; 345: 467-73.
24. McIntyre P, McLatchie LM, Chambers A, et al. Pharmacological differences between the human and rat vanilloid receptor 1 (VR1). *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1084-94.
25. Gunthorpe MJ, Chizh BA. Clinical development of TRPV1 antagonists: targeting a pivotal point in the pain pathway. *Drug discovery today* 2009; 14: 56-67.
26. 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.
27. Gavva NR, Klionsky L, Qu Y, et al. Molecular determinants of vanilloid sensitivity in TRPV1. *The Journal of biological chemistry* 2004; 279: 20283-95.
28. Yao J, Liu B, Qin F. Modular thermal sensors in temperature-gated transient receptor potential (TRP) channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108: 11109-14.
29. Grandl J, Kim SE, Uzzell V, et al. Temperature-induced opening of TRPV1 ion channel is stabilized by the pore domain. *Nature neuroscience* 2010; 13: 708-14.
30. Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, et al. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature* 2000; 405: 183-87.
31. De-la-Rosa V, Rangel-Yescas GE, Ladron-de-Guevara E, Rosenbaum T, Islas LD. Coarse architecture of the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) ion channel determined by fluorescence resonance energy transfer. *The Journal of biological chemistry* 2013; 288: 29506-17.
32. Di Marzo V, Blumberg PM, Szallasi A. Endovanilloid signaling in pain. *Current opinion in neurobiology* 2002; 12: 372-79.
33. Szolcsanyi J, Sandor Z. Multisteric TRPV1 nociceptor: a target for analgesics. *Trends in pharmacological sciences* 2012; 33: 646-55.
34. Gavva NR. Body-temperature maintenance as the predominant function of the vanilloid receptor TRPV1. *Trends in pharmacological sciences* 2008; 29: 550-57.
35. Srinivasan K. Biological Activities of Red Pepper (*Capsicum annum*) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. *Critical reviews in food science and nutrition* 2013. [Epub ahead of print]
36. Bohlen CJ, Julius D. Receptor-targeting mechanisms of pain-causing toxins: How ow? *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology* 2012; 60: 254-64.
37. Lieben L, Carmeliet G. The Involvement of TRP Channels in Bone Homeostasis. *Frontiers in endocrinology* 2012; 3 :99.
38. Yoo S, Han S, Park YS, Lee JH, Oh U, Hwang SW. Lipoxygenase inhibitors suppressed carrageenan-induced Fos-expression and inflammatory pain responses in the rat. *Molecules and cells* 2009; 27: 417-22.
39. Palazzo E, Luongo L, de Novellis V, Rossi F, Marabese I, Maione S. Transient receptor potential vanilloid type 1 and pain development. *Current opinion in pharmacology* 2012; 12: 9-17.
40. Ahluwalia J, Urban L, Capogna M, Bevan S, Nagy I. Cannabinoid 1 receptors are expressed in nociceptive primary sensory neurons. *Neuroscience* 2000; 100: 685-88.

41. Rathee PK, Distler C, Obreja O, et al. PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2002; 22: 4740-45.
42. Srinivasan R, Wolfe D, Goss J, et al. Protein kinase C epsilon contributes to basal and sensitizing responses of TRPV1 to capsaicin in rat dorsal root ganglion neurons. *The European journal of neuroscience* 2008; 28: 1241-54.
43. Zhang X, Li L, McNaughton PA. Proinflammatory mediators modulate the heat-activated ion channel TRPV1 via the scaffolding protein AKAP79/150. *Neuron* 2008; 59: 450-61.
44. Vellani V, Kinsey AM, Prandini M, et al. Protease activated receptors 1 and 4 sensitize TRPV1 in nociceptive neurones. *Molecular pain* 2010; 6: 61.
45. Bhawe 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: 721-31.
46. Moriyama T, Iida T, Kobayashi K, et al. Possible involvement of P2Y2 metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2003; 23: 6058-62.
47. Meents JE, Neeb L, Reuter U. TRPV1 in migraine pathophysiology. *Trends in molecular medicine* 2010; 16: 153-59.
48. Li Y, Cai J, Han Y, et al. Enhanced function of TRPV1 via up-regulation by insulin-like growth factor-1 in a rat model of bone cancer pain. *European journal of pain* 2014; 18: 774-84.
49. Novakova-Tousova K, Vyklicky L, Susankova K, et al. Functional changes in the vanilloid receptor subtype 1 channel during and after acute desensitization. *Neuroscience* 2007; 149: 144-54.
50. Lishko PV, Procko E, Jin X, Phelps CB, Gaudet R. The ankyrin repeats of TRPV1 bind multiple ligands and modulate channel sensitivity. *Neuron* 2007; 54: 905-18.
51. Yee JR, Kenkel W, Caccaviello JC, et al. Identifying the integrated neural networks involved in capsaicin-induced pain using fMRI in awake TRPV1 knockout and wild-type rats. *Frontiers in systems neuroscience* 2015; 9: 15.
52. Moylan Governo RJ, Morris PG, Prior MJ, Marsden CA, Chapman V. Capsaicin-evoked brain activation and central sensitization in anaesthetised rats: a functional magnetic resonance imaging study. *Pain* 2006; 126: 35-45.
53. Starowicz K, Maione S, Cristino L, et al. Tonic endovanilloid facilitation of glutamate release in brainstem descending antinociceptive pathways. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2007; 27: 13739-49.
54. Palazzo E, Rossi F, Maione S. Role of TRPV1 receptors in descending modulation of pain. *Molecular and cellular endocrinology* 2008; 286: 79-83.
55. Spicarova D, Adamek P, Kalynovska N, Mrozkova P, Palecek J. TRPV1 receptor inhibition decreases CCL2-induced hyperalgesia. *Neuropharmacology* 2014; 81: 75-84.
56. Keeble J, Russell F, Curtis B, Starr A, Pinter E, Brain SD. Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 in the vascular and hyperalgesic components of joint inflammation. *Arthritis and rheumatism* 2005; 52: 3248-56.
57. Li HY, Lee BK, Kim JS, Jung SJ, Oh SB. Eugenol Inhibits ATP-induced P2X Currents in Trigeminal Ganglion Neurons. *The Korean journal of physiology & pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology* 2008; 12: 315-21.
58. Nakanishi M, Hata K, Nagayama T, et al. Acid activation of Trpv1 leads to an up-regulation of calcitonin gene-related peptide expression in dorsal root ganglion neurons via the CaMK-CREB cascade: a potential mechanism of inflammatory pain. *Molecular biology of the cell* 2010; 21: 2568-77.
59. Yoneda T, Hiasa M, Nagata Y, Okui T, White F. Contribution of acidic extracellular microenvironment of cancer-colonized bone to bone pain. *Biochimica et biophysica acta* 2015. [Epub ahead of print]
60. Niiyama Y, Kawamata T, Yamamoto J, Furuse S, Namiki A. SB366791, a TRPV1 antagonist, potentiates analgesic effects of systemic morphine in a murine model of bone cancer pain. *British journal of anaesthesia* 2009; 102: 251-58.
61. Koh WU, Choi SS, Lee JH, et al. Perineural pretreatment of bee venom attenuated the development of allodynia in the spinal nerve ligation injured neuropathic pain model; an experimental study. *BMC complementary and alternative medicine* 2014; 14: 431.
62. Palazzo E, de Novellis V, Marabese I, et al. Interaction between vanilloid and glutamate receptors in the central modulation of nociception. *Eur J Pharmacol* 2002; 439: 69-75.
63. Negri L, Lattanzi R, Giannini E, et al. Impaired nociception and inflammatory pain sensation in mice lacking the prokineticin receptor PKR1: focus on interaction between PKR1 and the capsaicin receptor TRPV1 in pain behavior. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2006; 26: 6716-27.
64. Wong GY, Gavva NR. Therapeutic potential of vanilloid receptor TRPV1 agonists and antagonists as analgesics: Recent advances and setbacks. *Brain research reviews* 2009; 60: 267-77.
65. Ciura S, Liedtke W, Bourque CW. Hypertonicity sensing in organum vasculosum lamina terminalis neurons: a mechanical process involving TRPV1 but not TRPV4. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2011; 31: 14669-76.
66. Sun FJ, Guo W, Zheng DH, et al. Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci* 2013; 49: 182-93.
67. Khairatkar-Joshi N, Szallasi A. TRPV1 antagonists: the challenges for therapeutic targeting. *Trends in molecular medicine* 2009; 15: 14-22.
68. Shang JJ, Yuan JY, Xu H, Tang RZ, Dong YB, Xie JQ. Shugan-decoction relieves visceral hyperalgesia and reduces TRPV1 and SP colon expression. *World journal of gastroenterology : WJG* 2013; 19: 8071-77.
69. Szolcsanyi J, Mozsik G. Effects of capsaicin on the development of gastric mucosal damage by different necrotizing agents and of gastric cytoprotection by PGI2 atropine and cimetidine on rats. *Acta physiologica Hungarica* 1984; 64: 287-91.
70. Satyanarayana MN. Capsaicin and gastric ulcers. *Critical reviews in food science and nutrition* 2006; 46: 275-28.
71. Knotkova H, Pappagallo M, Szallasi A. Capsaicin (TRPV1 Agonist) therapy for pain relief: farewell or revival? *The Clinical journal of pain* 2008; 24: 142-54.
72. Nagy I, Santha P, Jancso G, Urban L. The role of the vanilloid (capsaicin) receptor (TRPV1) in physiology and pathology. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 351-69.
73. Szallasi A, Cruz F, Geppetti P. TRPV1: a therapeutic target for novel analgesic drugs? *Trends in molecular medicine* 2006; 12: 545-54.

74. Gavva NR, Bannon AW, Hovland DN, et al. Repeated administration of vanilloid receptor TRPV1 antagonists attenuates hyperthermia elicited by TRPV1 blockade. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2007; 323: 128-37.
75. Brederson JD, Kym PR, Szallasi A. Targeting TRP channels for pain relief. *Eur J Pharmacol* 2013; 716 : 61-76.
76. Maihofner CG, Heskamp ML. Treatment of peripheral neuropathic pain by topical capsaicin: Impact of pre-existing pain in the QUEPP-study. *European journal of pain* 2014; 18: 671-79.
77. Maihofner C, Heskamp ML. Prospective, non-interventional study on the tolerability and analgesic effectiveness over 12 weeks after a single application of capsaicin 8% cutaneous patch in 1044 patients with peripheral neuropathic pain: first results of the QUEPP study. *Current medical research and opinion* 2013; 29: 673-83.
78. Rostron RJ, Chao Y, Roberts G, Horrocks BR. Simultaneous photocharging and luminescence intermittency in silicon nanocrystals. *Journal of physics Condensed matter : an Institute of Physics journal* 2009; 21: 235301-08.
79. Apostolidis A, Gonzales GE, Fowler CJ. Effect of intravesical Resiniferatoxin (RTX) on lower urinary tract symptoms, urodynamic parameters, and quality of life of patients with urodynamic increased bladder sensation. *European urology* 2006; 50: 1299-05.
80. Guo C, Yang B, Gu W, et al. Intravesical resiniferatoxin for the treatment of storage lower urinary tract symptoms in patients with either interstitial cystitis or detrusor overactivity: a meta-analysis. *Plos One* 2013; 8: 82591.
81. Peng CH, Kuo HC. Multiple intravesical instillations of low-dose resiniferatoxin in the treatment of refractory interstitial cystitis. *Urologia internationalis* 2007; 78: 78-81.
82. Iadarola MJ, Mannes AJ. The vanilloid agonist resiniferatoxin for interventional-based pain control. *Current topics in medicinal chemistry* 2011; 11: 2171-79.
83. Brown DC, Agnello K, Iadarola MJ. Intrathecal resiniferatoxin in a dog model: Efficacy in bone cancer pain. *Pain* 2015. [Epub ahead of print]
84. Murdoch RD, Bareille P, Denyer J, et al. TRPV1 inhibition does not prevent cold dry air-elicited symptoms in non-allergic rhinitis. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* 2014; 52: 267-76.
85. Bareille P, Murdoch RD, Denyer J, et al. The effects of a TRPV1 antagonist, SB-705498, in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* 2013; 51: 576-84.
86. Gunthorpe MJ, Rami HK, Jerman JC, et al. Identification and characterisation of SB-366791, a potent and selective vanilloid receptor (VR1/TRPV1) antagonist. *Neuropharmacology* 2004; 46: 133-49.
87. El Kouhen R, Surowy CS, Bianchi BR, et al. A-425619 [1-isoquinolin-5-yl-3-(4-trifluoromethyl-benzyl)-urea], a novel and selective transient receptor potential type V1 receptor antagonist, blocks channel activation by vanilloids, heat, and acid. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2005; 314: 400-09.
88. Rami HK, Thompson M, Stemp G, et al. Discovery of SB-705498: a potent, selective and orally bioavailable TRPV1 antagonist suitable for clinical development. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2006; 16: 3287-91.
89. Garcia-Martinez C, Fernandez-Carvajal A, Valenzuela B, et al. Design and characterization of a noncompetitive antagonist of the transient receptor potential vanilloid subunit 1 channel with in vivo analgesic and anti-inflammatory activity. *The journal of pain: official journal of the American Pain Society* 2006; 7: 735-46.
90. Ghilardi JR, Rohrich H, Lindsay TH, et al. Selective blockade of the capsaicin receptor TRPV1 attenuates bone cancer pain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2005; 25: 3126-31.
91. Khalid S, Murdoch R, Newlands A, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) antagonism in patients with refractory chronic cough: a double-blind randomized controlled trial. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2014; 134: 56-62.
92. Balestra B, Vicini R, Cremon C, et al. Colonic mucosal mediators from patients with irritable bowel syndrome excite enteric cholinergic motor neurons. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012; 24: 1118-70.
93. Chen X, Sun W, Gianaris NG, et al. Furanocoumarins are a novel class of modulators for the transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channel. *The Journal of biological chemistry* 2014; 289: 9600-10.