



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA SİGARA VE EGZERSİZİN CGRP DÜZEYİNE
ETKİLERİ**

Hilal ŞAMANDAR AYDAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şerif DEMİR

DÜZCE, 2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

26.11.2019

Hilal ŞAMANDAR AYDAŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her konuda destek olan Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı başkanı saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Şerif DEMİR'e, tez çalışmam süresince her aşamada yardımlarını gördüğüm Fizyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK'e, laboratuvar çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Vet. Hek. Ali GÖK'e, merkez çalışanlarına ve yüksek lisans arkadaşım Fzt. Mustafa BALIK'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Düzce Üniversitesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali SUNGUR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olduklarını hissettiğim Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli hocaları Dr. Öğr. Üyesi Tayfun GÖKTAŞ'a, Dr. Öğr. Üyesi Burcu KÖKSAL'a ve Arş. Gör. Safiye Beyza ÜNAL'a, çalışmalarım boyunca manevi olarak destek veren Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma görevlisi arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, başarılarımda büyük bir paya sahip olan, sevgili annem Süheyla ŞAMANDAR'a ve babam Prof. Dr. Ayhan ŞAMANDAR'a, tezimin her aşamasında destek ve yardımlarıyla yanımda olan sevgili eşim Arş. Gör. Bahadır AYDAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından DÜ BAYBP-2018.04.01.876 numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmaya sağlamış oldukları maddi destekten dolayı DÜBAP komisyonuna teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR ve SİMGELER	
iv	
ŞEKİLLER LİSTESİ	
v	
RESİMLER LİSTESİ	
vi	
TABLolar LİSTESİ	
vii	
ÖZET	
1	
ABSTRACT	
2	
1. GİRİŞ ve AMAÇ	
3	
2. GENEL BİLGİLER	
6	
2.1. Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptid (CGRP)	
6	
2.1.1. Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP)	
6	
2.1.2. CGRP reseptörleri	
7	
2.1.3. CGRP reseptörü aracılı hücre içi sinyalleşme yolları	
8	
2.1.4. CGRP'nin dağılımı ve lokalizasyonu	
10	
2.1.5. CGRP'nin fizyolojik etkileri	
10	

2.2. Geçici Reseptör Potansiyel Kanalları (TRP Kanalları)	12
2.2.1. Geçici reseptör potansiyel ankirin 1 kanalı (TRPA1)	13
2.2.2. Geçici reseptör potansiyel vanilloid 1 kanalı (TRPV1)	14
2.2.3. Geçici reseptör potansiyel vanilloid 4 kanalı (TRPV4)	14
2.2.4. Geçici reseptör potansiyel kanonikal kanalı (TRPC)	15
2.2.5. Geçici reseptör potansiyel melastatin 8 kanalı (TRPM8)	15
2.2.6. Geçici reseptör potansiyel mukolipin kanalı (TRPML)	15
2.3. Sigara Kullanımı	17
2.3.1. Sigara dumanı	18
2.3.2. CGRP ve sigara arasındaki ilişki.....	18
2.4. Fiziksel Aktivite ve Egzersiz Türleri	19
2.4.1. Egzersizin enerji metabolizması	20
2.4.2. Aerobik egzersiz	21
2.4.3. Anaerobik egzersiz ve anaerobik eşik (Laktat eşiği)	22
2.4.4. Egzersizin fizyolojik etkileri	22
2.4.5. CGRP ve egzersiz arasındaki ilişki	23

2.5. Sigara ve Egzersiz Arasındaki İlişki	24
2.6. CGRP ve Cinsiyet Hormonları Arasındaki İlişki	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	26
3.2. Deney Grupları ve Uygulanan İşlemler	26
3.3. Sıçanların Egzersize Hazırlanması	27
3.4. Egzersiz Uygulama Prosedürü	27
3.5. Sigara Dumanının Uygulanması	28
3.6. Deneyin Sonlandırılması ve Kan Örneklerinin Alınması	29
3.7. ELISA Testi Prosedürü	30
3.7.1. ELISA kit içeriği	30
3.7.2. ELISA uygulama prosedürü	30
3.8. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Egzersiz ve Sigara Uygulamalarının Sıçanlarda Ağırlık Değişimi Üzerine Etkisi	33
4.2. Egzersiz ve Sigara Uygulamalarının Sıçanlarda Serum CGRP Seviyeleri Üzerine Etkisi	36
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
6. KAYNAKLAR	42
7. ÖZGEÇMİŞ	49

KISALTMALAR ve SİMGELER

AC	Adenilat Siklaz
ACh	Asetilkolin
AChR	Asetilkolin Reseptörü
ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
ATP-PCr	Fosfojen-Kreatin Sistemi
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CGRP	Kalsitonin Geni ile İlişkili Peptid
CLR	Kalsitonin Benzeri Reseptör
DAG	Diaçilgliserol
DRG	Dorsal Kök Gangliyonu
GPCR	G Protein Bağlı Reseptörler
IP3	İnositol Trifosfat
i-CGRP	İmmünoreaktif CGRP
K _{ATP} Kanalları	Potasyum Duyarlı ATP Kanalları
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PKA	Protein Kinaz A

RAMP1	Reseptör Aktivitesini Değiştirici Protein 1
RCP	Reseptör Bileşen Proteini
SP	P Maddesi
TG	Trigeminal Gangliyon
TRP	Geçici Reseptör Potansiyel Kanalı
TRPA	Geçici Reseptör Potansiyel Ankirin Kanalı
TRPC	Geçici Reseptör Potansiyel Kanonikal Kanalı
TRPM	Geçici Reseptör Potansiyel Melastatin Kanalı
TRPML	Geçici Reseptör Potansiyel Mukolipin Kanalı
TRPP	Geçici Reseptör Potansiyel Polisistin Kanalı
TRPV	Geçici Reseptör Potansiyel Vanilloid Kanalı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. CLR, RAMP1 ve RCP'den oluşan CGRP reseptör kompleksi	8
Şekil 2.2. CGRP reseptörü aracılı hücre içi sinyalleşme yolları	9
Şekil 2.3. Duyusal sinirler, deri ve arteriyoller arasındaki etkileşim	11
Şekil 2.4. TRP kanallarının 6 alt ailesi	13
Şekil 2.5. Farklı memeli organlarında kimyasal duyarlı veya duyusal TRP kanalı ekspresyonunun şematik genel görünümü	16
Şekil 2.6. Kemosensör özellikli TRP kanal ekspresyonunun genel sayıları ve alt tipleri.....	16
Şekil 4.1. Erkek sıçan gruplarının uygulamalar öncesi ve sonrası ağırlık değişim grafiği	35
Şekil 4.2. Dişi sıçan gruplarının uygulamalar öncesi ve sonrası ağırlık değişim grafiği	35
Şekil 4.3. Erkek sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği	37

Şekil 4.4. Dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği	37
Şekil 4.5. Erkek ve dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği	38

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa No
3.1. Deneyde kullanılan May TME 9805 Treadmill Exerciser marka dört kulvarlı deney hayvanı koşu bandı	
27	
3.2. Sıçanlara koşu bandı egzersizinin uygulanması	
28	
3.3. Sıçanları sigara dumanına maruz bırakma düzeneği	
29	
3.4. Çalışmamızda kullanılan ELISA Microplate Reader	
31	

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1. Erkek ve dişi sıçan gruplarının deneyler başlamadan önceki ağırlık değerleri istatistik tablosu	
33	
Tablo 4.2. Erkek ve dişi sıçan gruplarının deneyler sonlandırıldıktan sonraki ağırlık değerleri istatistik tablo	
34	
Tablo 4.3. Erkek ve dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri istatistik tablosu	
36	



ÖZET

SIÇANLARDA SİĞARA VE EGZERSİZİN CGRP DÜZEYİNE ETKİLERİ

Hilal ŞAMANDAR AYDAŞ
Yüksek Lisans Tezi Fizyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı Prof. Dr. Şerif DEMİR
Kasım 2019, 49 Sayfa

Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), 37 amino asitli bir nöropeptittir. CGRP santral ve periferik sinir sisteminin bütününe dağılmış haldedir. CGRP'nin bilinen en önemli etkisi, sistemik ve pulmoner damarlarda vazodilatasyona sebep olmasıdır. CGRP aynı zamanda kan basıncının düzenlenmesinde, inflamasyonda ve ağrı mekanizmasında rol almaktadır. Aerobik egzersiz CGRP üretimini artırmakta ve bu da kollateral dolaşımı geliştirmektedir. Sigara dumanı trakeal CGRP salınımını aktive etmekte ve CGRP hem trakea hem de bronşiolde vazodilatasyona neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı, sigara ve egzersizin etkilerinin CGRP ile arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Bu çalışmada 2-3 aylık 56 adet Wistar cinsi erkek ve dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar; kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz grupları olmak üzere dört farklı gruba ayrıldı. Aynı gruplandırma dişi ve erkek sıçanlar için ayrı ayrı yapıldı ve toplamda sekiz adet grup oluşturuldu. Egzersiz gruplarına 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk, 15 m/dk hızla koşu bandı egzersizi yaptırıldı. Sigara grupları 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk sigara dumanına maruz bırakıldı. Çalışmanın sonunda sıçanlardan kan örnekleri alınarak, serumda CGRP seviyeleri ELISA metodu ile belirlendi. Bu çalışmanın sonucunda; kontrol ve uygulama grupları arasındaki serum CGRP seviyeleri farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak erkek sıçan gruplarının serum CGRP seviyeleri dişi sıçan gruplarının serum CGRP seviyelerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0,001$).

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Kalsitonin geni ile ilişkili peptid, Koşu bandı, Sigara dumanı, Wistar tipi sıçan

ABSTRACT

EFFECTS OF SMOKING AND EXERCISE ON CGRP LEVEL IN RATS

Hilal ŞAMANDAR AYDAŞ
Master of Science Thesis Department of Physiology
Thesis Advisor Prof. Dr. Şerif DEMİR
November 2019, 49 Pages

Calcitonin gene related peptide (CGRP) is a neuropeptide which has 37 amino acids. CGRP is distributed throughout the central and peripheral nervous system. The most important known effect of CGRP is causes vasodilation in systemic and pulmonary vessels. CGRP is also involved in regulation of blood pressure, inflammation and pain mechanism. Aerobic exercise is increases the CGRP production and that is improves collateral circulation. Cigarette smoke activates tracheal CGRP releasing and CGRP causes vasodilatation in both trachea and bronchial. The aim of this study was to investigate the relationship between effects of smoking and exercise, and CGRP. A total of 56 male and female Wistar type rats were used in this study. Rats; control, smoking, exercise, smoking+exercise groups were divided into four groups. The same grouping was done separately for male and female rats and a total of eight groups were formed. Treadmill exercise were given to exercise groups for 6 weeks, 5 days a week, 30 min/day and 15 m/min. The cigarette groups of rats were exposed to cigarette smoke for 6 weeks, 5 days per week, 30 minutes per day. At the end of the study, blood samples were collected and serum CGRP levels were determined by ELISA method. As a result of this study; the difference of serum CGRP levels between control and practice groups was not statistically significant. However, the serum CGRP levels of male rats were significantly higher than the serum CGRP levels of the female rats ($p = 0.001$).

Keywords: Calcitonin gene related peptide, Cigarette smoke, Exercise, Treadmill, Wistar type rat

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), alfa-CGRP ve beta-CGRP olmak üzere iki formu bulunan 37 amino asitli bir nöropeptittir. Sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem boyunca yaygın şekilde dağılmıştır ¹. CGRP, bugüne kadar tanımlanan en güçlü vazodilatörlerden biridir. CGRP esas olarak dorsal kök gangliyonundaki (DRG) duyuşal nöronların hücre gövdesinde sentezlenir ve depolanmak üzere aksoplazmik taşıma ile periferik sinir uçlarına taşınır ².

İlk olarak, CGRP'nin serebral dolaşımında salındığı ve aktif olduğu bulunmuştur. İkinci olarak da CGRP'nin sadece güçlü bir vazodilatör değil aynı zamanda periferdeki sempatik sinir sistemi ile yakın, karşılıklı bir etkileşime sahip olduğu bulunmuştur. CGRP'nin inflamasyonda rolü olduğu gibi, duruma bağılı olarak hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar bir rol oynadığı gösterilmiştir ³.

Dolaşımdaki CGRP seviyesinin; tiroid bezi, periferik kan mononükleer hücreler, yağ dokusu, motor sinirler ve periferik sinir sistemi de dahil olmak üzere bazı dokulardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir ¹.

CGRP hem periferik hem de merkezi nöronlarda üretilir. Trigeminal vasküler sistemde, trigeminal gangliyondaki (TG) hücre gövdeleri, CGRP'nin ana kaynağıdır. CGRP'nin vazodilatasyon ve ağrı iletiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Aynı zamanda CGRP'nin, yaralanma sonrası sinir dokusunun yenilenmesine de katkı sağlayabileceği gösterilmiştir. CGRP'nin kardiyovasküler homeostaz ve nosisepsiyonda rol oynadığı düşünülmektedir ⁴.

Primer afferent nöronların merkezinden CGRP salınması, spinal dorsal boynuzda doğrudan nosiseptif bir etkiye neden olur ve bu da ağrı iletiminin kolaylaşmasını sağlar ¹. Miyelinli A-beta lifleri, sinaptik veziküllerden uyarıcı amino asitler gibi transmitterlerin sinaptik salınımına aracılık eder. Bununla birlikte, miyelinli A-delta ve miyelinsiz C lifleri vasıtasıyla sinyallerin yavaş aktarılması; CGRP, P maddesi (SP), nörokinin A ve glutamat salgılanmasına neden olur. CGRP ve SP, inflamatuvar ağrının ana araçları olarak görev yapar ve veziküllerden salınır ⁵.

Kapsaisin, bradikinin, düşük pH ve laktik asit gibi birçok uyarının etkisiyle primer duyuşal sinir uçlarından CGRP salınması, küçük kan damarlarının vazodilatasyonuna, plazma eksüdasyonunun artmasına ve iltihaplı hücrelerin infiltrasyonunun

kolaylaşmasına sebep olur. Sonuç olarak; iltihaplı dokularda hiperemi, inflamatuvar hiperaljezi, ödem ve ağrıya yol açar ¹.

Spencer ve ark. CGRP'nin, spinal afferent aksonların aksonal ve terminal seviyesinde seçici bir şekilde eksprese edildiğini ve böylece bu peptidin visseral ağrı iletimi sırasında merkezi rolünü güçlendirdiğini göstermiştir. Bu nedenle aktive primer duyuşal nöronlar, CGRP'yi periferde projekte olan sinir uçlarından üretir ve salıverir. CGRP daha sonra inflamatuvar yanıtı, vazodilatasyonu, immün hücre aktivasyonunu uyararak CGRP reseptörlerine bağlanır ve onları aktive eder. Migren atakları sırasında, artmış CGRP konsantrasyonları tanımlanmıştır. Bir çok endojen molekül, CGRP'nin sentezini düzenleyebilir. Örneğin, sinir büyüme faktörü (NGF) hasarlı nöronlarda veya dokularda CGRP salınımını teşvik edebilir ve uyarabilir ⁴.

Sigara içmek bağımlılık yapan bir davranıştır. Bağışıklık ve inflamatuvar fonksiyonlardaki değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir ⁶. Sigara içmek, periferik vasküler endotel disfonksiyonuna neden olur ve bu nedenle, sigara içenlerde bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon görülür ⁷. Sigara içmek, çoğu akciğer kanseri, kalp krizi ve felç gibi ölümcül olan sayısız hastalıkla ilişkilidir ⁸.

Dünyada önlenabilir ölümlerin en önemli nedeni sigara dumanına maruz kalmak olarak görülmektedir. Sigara dumanına maruz kalmak yılda 6 milyondan fazla ölümden sorumludur ve bazı tahminlere göre, 2020'de yılda 10 milyondan fazla ölüme neden olacaktır. Kardiyovasküler sistemde, sigara dumanına maruz kalmak; ateroskleroz, endotel disfonksiyonu, akut koroner sendromlar ve ani ölümlerde bilinen bir risk faktörüdür ⁹. Sigara dumanına maruz kalmak hava yollarında lezyonlara neden olur ve kan akışındaki inflamatuvar mediatörlerin seviyesini artırır ⁸.

Pasif sigara içilmesi, sigara dumanının istemsiz solunmasıdır. Sigara dumanı, yan akım dumanı ve ekshale edilmiş ana akım dumanını içerir. Hem ana akım sigara dumanı hem de sigara dumanı, yanan tütünle üretilen çok sayıda farmakolojik olarak aktif, toksik ve mutajenik kimyasallar (örneğin, nikotin, karbon monoksit, katran, amonyak ve parçacık) içerir ¹⁰.

Sigara dumanının etkilerinin aksine, egzersiz, tüm nedenlere bağlı ölümlere karşı koruma sağlar ve olumlu immün ve inflamatuvar etkiler yaratır. Egzersiz, kronik hastalıkla ilişkili risk faktörlerini düzenler ve terapötik bir müdahale olarak giderek daha popüler hale gelmiştir ¹¹.

Sigara içenler, sigara içmeyenler ile karşılaştırıldığında daha düşük egzersiz kapasitesine sahiptir. Bu durum, fiziksel aktivite seviyelerinden ya da yaygın kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsızdır. Ayrıca, egzersiz kapasitesi sigarayı bıraktıktan kısa bir süre sonra artar. Bu da egzersiz kapasitesinin azalmasında sigara içmenin doğrudan bir rolü olduğunu gösterir ⁷.

Egzersiz pulmoner hastalıklar ve sistemik akciğer hastalıklarında etkili bir farmakolojik olmayan tedavi stratejisi olduğu gösterilmiştir. Düzenli egzersizin hastaların gücünü, dayanıklılık kapasitesini, yaşam kalitesini arttırdığı gösterilmiştir. Egzersiz ayrıca, lokal ve sistemik antioksidan kapasiteyi ve kaslardaki anabolik metabolizmayı artırır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, düzenli ve orta düzeydeki egzersizin, anti-inflamatuar etkilerinden dolayı, duman kaynaklı akciğer hastalıklarına karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir ¹².

Literatürde CGRP'nin vazodilatasyon, ağrı oluşumu, yara iyileşmesi, proinflamatuar ve antiinflamatuar gibi çok çeşitli fizyolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Endojen ve ekzojen uyaranlar ile CGRP'nin vücutta salınımının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Çalışmamızın amacı; sigara ve egzersizin etkileri ile CGRP arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Deney hayvanı olarak erkek ve dişi Wistar tipi rat kullanılmıştır. Böylelikle, aynı zamanda cinsiyet ile CGRP arasındaki ilişki de incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptid (CGRP)

2.1.1. Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP)

Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) ilk olarak 1982'de tanımlanmıştır ¹³. Nöromüsküler kavşaktaki motor nöronlardan ve omuriliğin duyuşal nöronlarından salınan 37 amino asitli bir nöropeptiddir. CGRP; adrenomedullin, amilin, kalsitonin, intermedin ve kalsitonin reseptör uyarıcı peptidi de içeren nöropeptidlerin kalsitonin ailesine aittir. Kalp, kan damarları, hipofiz, tiroid, akciğer ve gastrointestinal sistemde yaygın şekilde eksprese edilir. Vazodilatasyon, nöromodülasyon, kemik büyümesi, kardiyak kontraktilite ve memeli gelişimi de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik etkileri vardır ¹⁴. CGRP, güçlü bir periferik vazodilatördür ¹⁵.

Yapıları ve biyolojik aktiviteleri benzer olan ancak ayrı genlerden oluşan iki ana CGRP izoformu vardır ¹⁶. CGRP'nin iki izoformu α CGRP ve β CGRP, diğer yandan CGRP I ve CGRP II olarak da bilinir. İnsanda, kromozom 11 üzerinde farklı bölgelerdeki iki ayrı genden sentezlenir ³. CALCI geni, kalsitonin veya CGRP üretmek için alternatif birleşmeye uğrayabilir. β CGRP'nin kendini CALCII geninden kopyaladığı bilinmektedir. α CGRP ve β CGRP %90'dan fazla homolojiye sahiptir ve insanda sadece üç amino asitle farklılık gösterir. Bu nedenle, biyolojik aktiviteleri benzerdir. α CGRP, merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunurken, β CGRP ise özellikle enterik sinir sisteminde bulunmaktadır ³.

Adenilat siklaz (AC) stimülasyonu ve hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) oluşumu açısından α CGRP ve β CGRP arasındaki etkilerde önemli bir fark bulunamamıştır ¹⁴. CGRP'nin duyuşal nöronlarla, özellikle miyelinsiz C lifleri ve ince miyelinli A δ lifleri ile birincil ilişkisi açıktır ³. Duyuşal nöronlarda, genellikle SP ile ortak lokalize olur ¹⁵. CGRP ayrıca motor nöronlarda asetilkolin (ACh) ile birlikte eksprese edilir ve asetilkolin reseptörü sentezinde rol oynayabilir ¹⁷.

Kalsitonin ve CGRP mRNA ekspresyonu dokuya özgüdür. CGRP mRNA, ilk üç eksonu CALCA'nın beşinci ve altıncı ekzonlarına ekleyerek üretilir ¹³.

Periferik sistemde, duysal-motor sinirlerde CGRP, adenozin trifosfat (ATP) ve SP salınımı birlikte olur¹⁸. CGRP sentezi temel olarak DRG'de meydana gelir¹⁶. CGRP immünoreaktif hücreler, DRG nöronlarının % 40-50'sini oluşturur¹⁹.

Sentezden sonra, CGRP duysal sinir terminalinde büyük, yoğun çekirdekli veziküllerde depolanır. Nöronal depolarizasyonun ardından CGRP, SNARE protein ailesinin üyelerini içeren klasik ekzositotik yolların aracılık ettiği kalsiyum bağımlı ekzositoz yoluyla terminalden salınır³.

2.1.2. CGRP reseptörleri

CGRP reseptörü, G proteinine bağlı reseptördür. Kalsitonin benzeri reseptör (CLR), reseptör aktivitesini değiştirici protein 1 (RAMP1) ve reseptör bileşen proteini (RCP) olmak üzere üç alt birimden oluşur²⁰ (Şekil 2.1).

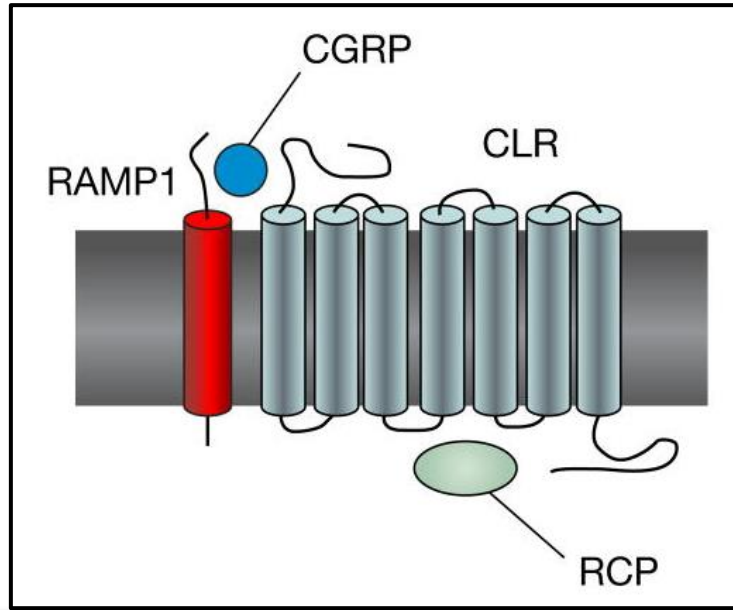
CLR olarak adlandırılan ligand bağlayıcı protein, yedi transmembran reseptörünün stereotip yapısına sahiptir. CLR, işlev için iki ek aksesuar proteini gerektirir; RAMP1, bir moleküler şaperon görevi görür ve CLR'nin hücre yüzeyine ve ayrıca farmakolojik spesifikliğe yönlendirilmesi için gereklidir. RCP, reseptörü hücresel sinyal iletim yoluna bağlamak için gereklidir²¹.

CLR, kalsitonin, vazoaaktif intestinal polipeptit, hipofiz adenilat siklaz aktiveleştirici polipeptit ve paratiroid hormonu için reseptörleri içeren B sınıfı "sekretin benzeri" G protein bağlı reseptörler (GPCR'ler) ailesine aittir³.

RAMP protein ailesi, RAMP1, RAMP2 ve RAMP3 olmak üzere üç üyeden oluşur. Her biri <math>< 30</math> dizi homolojisine sahiptir ancak benzer bir yapı paylaşırlar³.

CLR, RAMP protein ailesinin her biriyle ortak olabilir. CLR, spesifik bir RAMP ile etkileşime girebilir ve ligand özgüllüğü sağlar. CLR ile RAMP1, CGRP reseptörü oluştururken, CLR ile RAMP2 adrenomedullin AM1 reseptörü ve CLR ile RAMP3 adrenomedullin AM2 reseptörlerini oluşturur²². RAMP'lar ayrıca, RAMP1, RAMP2 ve RAMP3'e bağlandığında sırasıyla AMY1, AMY2 ve AMY3 amilin reseptörlerini oluşturan kalsitonin reseptörü ile heteromerler oluşturabilir²².

CGRP reseptörü genellikle gen ekspresyonunu, reseptör ve iyon kanalı aktivitesini düzenlemek için bir cAMP sinyalleme yolunu aktive eder²⁰. Şekil 2.1'de CGRP reseptör yapısı gösterilmiştir²³.



Şekil 2.1. CLR, RAMP1 ve RCP'den oluşan CGRP reseptör kompleksinin şeması. Raddant ve ark.²³'dan alınmıştır.

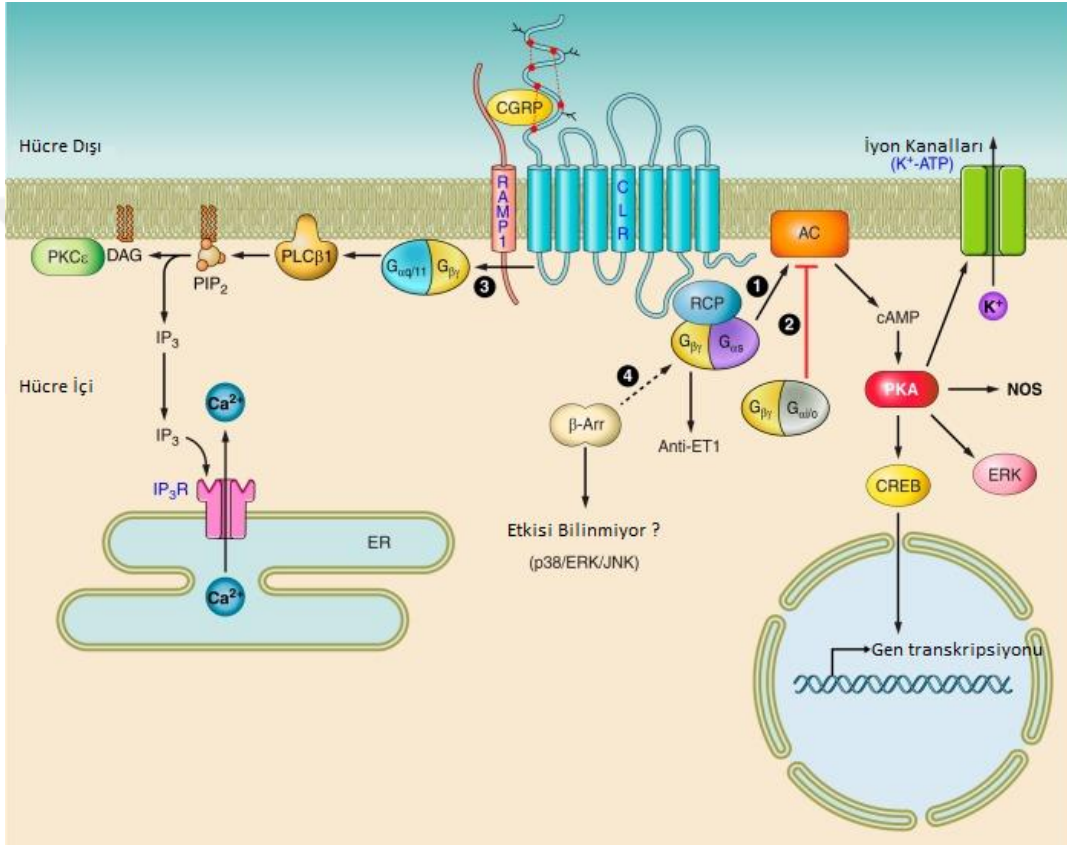
2.1.3. CGRP reseptörü aracılı hücre içi sinyalleşme yolları

CGRP ligandının CLR/RAMP1 reseptörüne bağlanması, birçok sinyal yolunun aktivasyonuna neden olur. $G\alpha_s$ ile AC'nin aktive edilmesi, hücre içi cAMP yükselmesine neden olur böylece protein kinaz A (PKA) aktivasyonu olur, çoklu alt hedeflerin fosforilasyonu ile sonuçlanır. Bu hedefler; potasyum duyarlı ATP kanallarını (K_{ATP} kanalları), hücre dışı sinyale bağlı kinazları veya cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein gibi transkripsiyon faktörlerini içerebilir. Hücre içi cAMP'nin artması; CGRP'nin damar sistemi üzerindeki etkisiyle, özellikle damar düz kasında ve nöronal hücrelerde ve ayrıca lenfositler de dahil olmak üzere çok çeşitli diğer hücrelerle doğrudan bağlantılıdır³. CGRP kaynaklı cAMP'nin artışı, PKA'nın aktivasyonuna ve bazı durumlarda vazodilatasyona yol açan önemli bir yol olduğu düşünülen K_{ATP} kanallarının açılmasına neden olmaktadır²⁴.

Alternatif olarak, CGRP reseptörü $G\alpha_{i/o}$ bağlanabilir, böylece AC aktivitesini ve hücre içi cAMP'yi azaltabilir, bu da PKA aktivitesinin düşmesiyle sonuçlanır³.

Osteoblastlarda, PLC- β 1'in aktivasyonunu içeren $G\alpha_{q/11}$ aracılı sinyalleşmenin, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfatın; inositol trisfosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşturduğu gösterilmiştir³.

IP₃, endoplazmik retikulum üzerindeki IP₃ reseptörüne bağlanır, kalsiyum salınmasına neden olur ve böylece sitoplazmik konsantrasyonları yükseltir. DAG, proteinleri fosforlayan PKC_ε'yi aktive edebilir (Şekil 2.2). CGRP'nin, CGRP aktivasyonunu takiben bazı dokularda fosforile olan mitojenle aktifleştirilen protein kinazları (MAPK) aktive ettiği gösterilmiştir³. CGRP, proliferasyon ve apoptoz yollarında yer alan MAPK'lerin aktivasyonu yoluyla vasküler düz kas hücrelerinde oksidatif stres kaynaklı apoptozisi önleyebilir²⁵.



Şekil 2.2. CGRP reseptörü aracılı hücre içi sinyalleşme yolları şeması. Russell ve ark.^{3,3}dan çevrilerek alınmıştır. Düz oklar bilinen yolları ve çizikli oklar potansiyel yeni yolları temsil etmektedir. Kısaltmalar: CGRP, kalsitonin geni ile ilişkili peptid; CLR, kalsitonin benzeri reseptörü; RAMP1, reseptör aktivite değiştirici protein 1; RCP, reseptör bileşen proteini; PIP₂, Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfat; CREB, yanıt elemanı bağlayıcı protein; ERK, hücre dışı sinyale bağlı kinaz.

2.1.4. CGRP'nin dağılımı ve lokalizasyonu

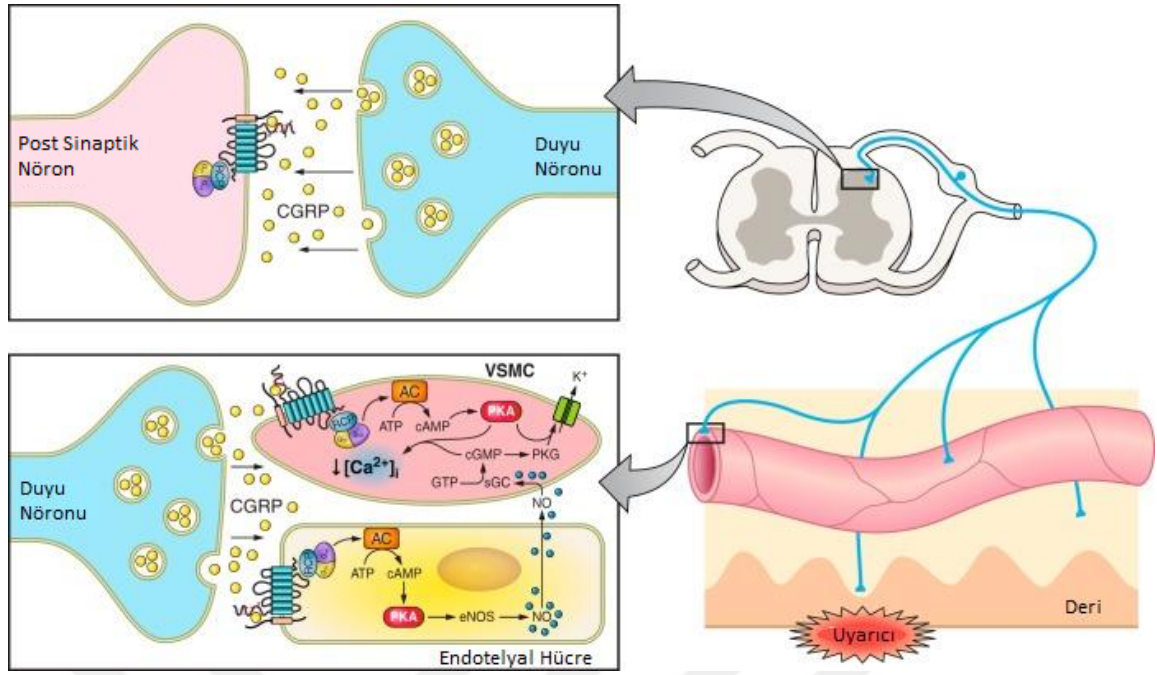
CGRP ve reseptörleri vasküler sistemde yaygın olarak dağılmıştır ²⁶.

CGRP; büyük ve küçük arterler, venler ve kılcal damarlar dahil olmak üzere tüm kan damarlarının endotelinde, kalp kası hücreleri ve endokardiyumda, akciğer alveoler kılcal damarlar üzerinde, sindirim sistemi içerisinde, parotis bezinin salgı kanallarını kaplayan hücreler üzerinde, midenin fundik bezlerinin epitelinde, böbrek jukstaglomerüler arterlerinde, glomerüler kılcal damarlarında, endokrin organlarda, langerhans adacıklarında, dalak trabeküler ven ve sinüslerde bulunmaktadır ²⁷.

2.1.5. CGRP'nin fizyolojik etkileri

Bir mikrovasküler vazodilatör olarak CGRP, en güçlü prostaglandinlerden 10 kat daha yüksek ve ACh ve SP gibi diğer vazodilatörlerden 10 ile 100 kat daha büyük bir potansiyele sahiptir. Bu yüzden CGRP şu anda bilinen en güçlü mikrovasküler vazodilatördür ³. Yüksek potansiyele sahip olmasının yanı sıra, CGRP'nin vazodilatör etkileri diğer vazodilatörlerden daha kalıcı görünmektedir ²⁸.

CGRP'nin oluşturduğu vasküler cevaplar endotele bağımlı ve endotelden bağımsız mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Endotele bağımlı yolda CGRP, AC'yi aktive eder. Böylece cAMP seviyelerinde artış olur ve bu artış nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini aktive eder. Böylece nitrik oksit (NO) seviyesi artar ²⁹. NO'nun düz kas hücresine difüzyonu, guanilat siklazının aktivasyonuna neden olarak siklik guanozin monofosfat'ın üretilmesine ve sonuçta gevşemeye neden olur ³⁰. Endotelden bağımsız yolda, CGRP düz kas hücrelerindeki CGRP reseptörlerine direkt olarak bağlanır, AC'yi aktive eder. Sonuçta; cAMP düzeyleri artar ve vasküler gevşeme gerçekleşir ²⁹ (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Duyusal sinirler, deri ve arteriyoller arasındaki etkileşimi temsil eden bir şema. Russell ve ark.³'dan çevrilerek alınmıştır.

CGRP; 1) vasküler düz kaslar üzerindeki reseptörlerini doğrudan aktive ederek ve G_{α_s} yoluyla gevşemeye aracılık eder. 2) Endotel hücrelerinde reseptörlerin aktivasyonu ile NO aktivitesinin artmasına sebep olur. (NO; Guanilil siklaz (GC) aktivasyonu yoluyla vazodilatasyona aracılık etmek için vasküler düz kaslara yayılabilir.) 3) Ayrıca, merkezi sensitizasyonda rol oynayabileceği DRG nöronlarının merkezi projeksiyonlarından serbest bırakılır³. Kısaltmalar; AC, adenilat siklaz; eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz; GC, guanilil siklaz; cGMP, siklik guanozin monofosfat; NO, nitrik oksit; PKA, protein kinaz A; PKG, protein kinaz G; VSMC, vasküler düz kas hücresi.

İskelet kasında, CGRP'nin kas kasılmasını güçlendirdiği, asetilkolin reseptörü (AChR) duyarsızlaştırma oranını arttırdığı, AChR sayılarını arttırdığı, asetilkolinesteraz (AChE) seviyelerini düşürdüğü ve kas kasılmasını takiben kan akış hızını lokal olarak arttırdığı gösterilmiştir²¹.

CGRP immünoreaktif yapılar, beyinde geniş ölçüde dağılmıştır. Bu da peptidin çeşitli beyin fonksiyonlarında, özellikle de belirli duysal, motor ve bütünleştirici sistemlerde etkili olduğunu belirtir¹⁹.

CGRP sinir lifleri, kardiyovasküler sistemde yaygın şekilde dağılmıştır. CGRP; koroner damarı önemli ölçüde genişletir, koroner damar direncini azaltır ve koroner arter kan akışını artırır. Miyokard üzerinde pozitif inotropik ve kronotropik etkiye sahiptir, böylece kalp debisini artırır². Çok güçlü bir vazodilatör olan aCGRP, sağlıklı gönüllülere intravenöz olarak uygulandığında kan basıncında bir düşüşe ve kalp atış hızında bir artışa neden olur³¹.

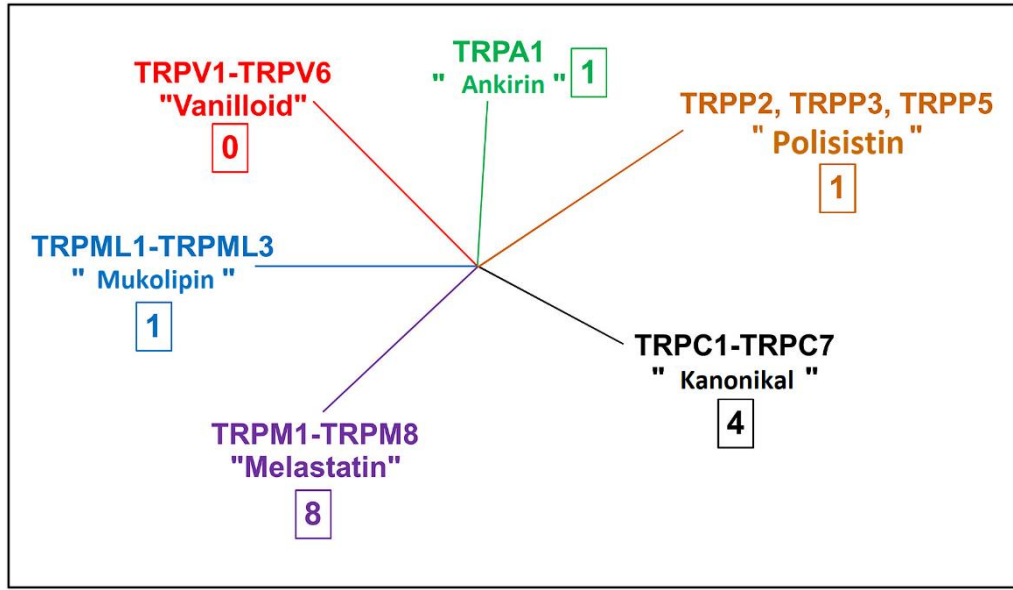
CGRP'nin, azalmış nikotinamid-adenin dinükleotit fosfat oksidazın inhibisyonu yoluyla oksidatif stresi azaltan, artan NO üretimi yoluyla antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. CGRP'nin, güçlü bir sitoprotektif antiinflamatuvar ajan olan prostasiklinin endotel hücre üretiminin uyarılması yoluyla; karaciğerde, böbrekte, bağırsakta ve kalpte iskemi/reperfüzyon hasarına karşı inflamatuvar yanıtı, önemli ölçüde azalttığı da gösterilmiştir³².

2.2. Geçici Reseptör Potansiyel Kanalları (TRP Kanalları)

TRP kanalları geniş bir iyon kanalı protein ailesidir. Memeli TRP iyon kanalı ailesi, amino asit dizisi homolojisine dayanarak; TRPC 1-7 (kanonikal), TRPV1-6 (vanilloid), TRPM1-8 (melastatin), TRPP1-3 (polisistin), TRPML1-3 (mukolipin) ve TRPA1 (ankirin)'den oluşan en az 28 üyelik altı alt aileye ayrılmıştır³³ (Şekil 2.4).

TRP kanalları tek değerlikli Na^+ , K^+ ve iki değerlikli Ca^{+2} veya Mg^{+2} katyonlarına karşı geçirgendir³⁴. TRP kanalları, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla etkinleştirilir ve düzenlenirler. Sıcaklık, pH, ozmolarite, feromonlar, tat ve bitki bileşikleri gibi çevresel uyarıcılara ve Ca^{+2} ve fosfatidilinositol sinyal iletim yolları gibi hücre içi uyarıcılara cevap verirler³⁵.

Bu kanalların aktivasyonu, Na^+ ve Ca^{+2} katyon girişi nedeniyle depolarizasyona sebep olur. Bu da voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktivasyonuna yol açarak Ca^{+2} girişi ve nörotransmitterin serbest kalmasını sağlar³⁶. TRP kanalları hücre içi Ca^{+2} ve Na^+ konsantrasyonlarını yükseltir ve hücreyi depolarize eder³⁷. TRP kanallarının aktivasyonu, CGRP'nin duyuşal sinir uçlarından salınmasını teşvik eder³⁸.



Şekil 2.4. TRP kanallarının 6 alt ailesini gösteren şema. Her bir alt ailenin üyeleri için S. Mansoni genlerinin sayısı kutuda belirtilmiştir. Bais ve ark. ³⁹'dan çevrilerek alınmıştır.

2.2.1. Geçici reseptör potansiyel ankirin 1 kanalı (TRPA1)

Bu kanal, proteinde çok sayıda N-terminal ankirin tekrarının mevcudiyeti nedeniyle ANKTM1 olarak adlandırılmış, ancak daha sonra TRPA alt ailesinin tek üyesi olarak yeniden adlandırılmıştır ⁴⁰.

TRPA1 kanalları geniş bir endojen ve ekzojen uyaran tarafından aktive edilir. Bunlar arasında reaktif oksijen ve azot türevleri, reaktif prostaglandinler ve klor, formaldehit, sigara dumanı ve akrolein gibi birçok çevresel tahriş edici bulunur ³⁸.

TRPA1; genellikle TRPV1 ile duyuşal nöronlarda birlikte eksprese edilir ve TRPV1 gibi aktivasyonu P ve CGRP maddesinin salınımını destekleyebilir ⁴⁰. TRPA1, ilk olarak insan fetal akciğer fibroblastlarından klonlanmıştır. Memelilerde; epiderma hücrelerinde, pankreasta, kalpte, beyinde, keratinositlerde, idrar kesesinde, prostatta, arterlerde, enterokromafin hücrelerinde, odontoblastlarda ve diş pulpasında, sinovyal fibroblastlarda ve solunum yollarının ve akciğerin epitelyal ve düz kas hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilirler ⁴¹.

2.2.2. Geçici reseptör potansiyel vanilloid 1 kanalı (TRPV1)

TRPV ailesi altı üyeden oluşur. TRPV kanalları termal, nosiseptif ve inflamatuvar sinyaller iletirler³⁹. Birincil duyuşal nöronlar, TRPV ailesinin altı alt üyesinden dördü dahil olmak üzere farklı TRP kanallarını ifade eder⁴¹.

TRPV1, sıcaklığa duyarlı bir katyon kanalıdır. Asit (H⁺) ve 43 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarla aktive edilirler⁴². TRPV1 kanalı ayrıca, anandamid, araşidonik asit metabolitleri ve ATP, bradikinin, prostaglandinler ve NGF gibi inflamasyon sırasında yüksek konsantrasyonlarda bulunan endojen ligandlar tarafından aktive veya modüle edilir³⁶. Aynı zamanda; TRPV1 acı biberlerdeki birincil etken madde olan kapsaisin reseptörüdür³⁹. TRPV1, DRG ve TG'deki miyelinsiz C ve A δ liflerinden bolca eksprese edilir³⁶. CGRP'nin sentezi veya salıverilmesi, fonksiyonu ağrı iletimi ile yakından ilgili olan bazı iyon kanallarının aktivasyonu ile düzenlenebilir. Bununla ilgili olarak, vücudumuzda en bol bulunan iki endokannabinoidten biri olan anandamid tarafından TRPV1'in uyarılması ile uyarılan nosiseptif cevabın, CGRP sentezindeki artışa aracılık ettiği görülmektedir. TRPV1 kanallarının anandamide bağımlı aktivasyonu, mezenter de dahil olmak üzere yaralı dokularda vazodilatasyona ve bağışıklık hücrelerinin sızmasına neden olan CGRP sentezini ve salınımını artırır⁴.

2.2.3. Geçici reseptör potansiyel vanilloid 4 kanalı (TRPV4)

TRPV4 kanalı, ozmolaritedeki değişiklikler ve hücre zarı üzerine uygulanan mekanik kuvvetler dahil olmak üzere bir dizi uyarana yanıt verir. Bu da kanalın, mekanik sensör kompleksinin bir parçası olarak görev yaptığını gösterir³⁸. Hücre içi kalsiyumun aşırı yüklenmesi, zayıflamış sinir eksitabilitesine neden olur ve nörovasküler birleştirme mekanizması ile kan akışının yeniden dağıtılmasıyla sonuçlanır. TRPV4 kanalı, hücre içi kalsiyum iyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Esas olarak hipokampus, serebral korteks, talamus ve serebellumda bulunur. Hücre şişmesi ve araşidonik asit metabolitlerinin kimyasal stimülasyonu gibi mekanik stimülasyonlar TRPV4 kanalını aktive edebilir⁴³.

2.2.4. Geçici reseptör potansiyel kanonikal kanalı (TRPC)

TRPC kanalları, diğer sinyallerin yanı sıra fosfolipaz C kaskadı tarafından aktive edilir. Ayrıca, mekanik gerilmeyi ve Ca^{2+} depo tükenmesini de algılayabilir³⁹.

2.2.5. Geçici reseptör potansiyel melastatin 8 kanalı (TRPM8)

TRPM kanalları, tat ve sıcaklık (soğuk algısı) dahil olmak üzere çeşitli duyuşal sinyalleri iletirler³⁹. TRPM ailesi sekiz üyeye (TRPM1-8) sahiptir. TRPM8 mentol ve düşük sıcaklıklar (<25 °C) ile aktive edilir⁴¹.

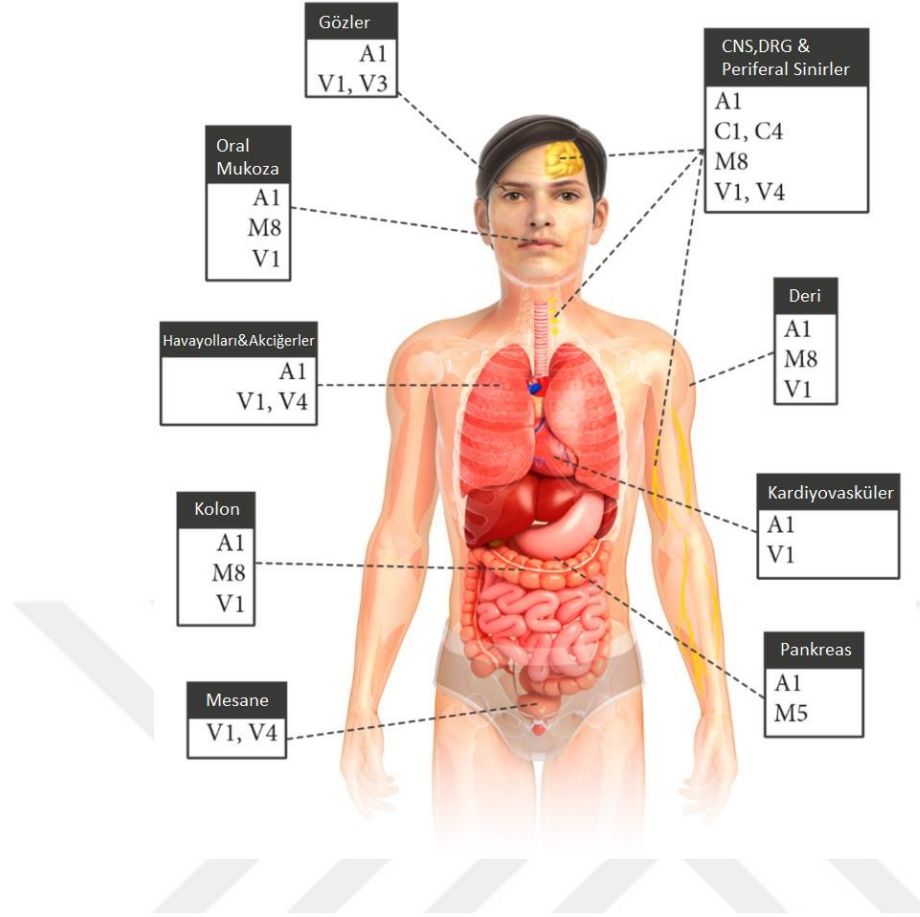
TRPM8 soğuk ve mentol reseptörü olarak sınıflandırılır ve trigeminal duyuşal nöronları içeren çeşitli dokularda eksprese edilir³⁶. Bu iyon kanalı, esas olarak, DRG ve TG'den duyuşal nöronlarda eksprese edilir⁴⁴. Termal stimülasyona ek olarak, mentol gibi soğutma ajanları TRPM8'i aktive edebilir³³. TRPM8 aktivasyonu, kalsiyum iyonlarının nöronlara akmasını sağlar, membran potansiyelini değiştirir ve zararlı sinyallerin iletilmesine neden olur⁴⁴.

TRPM8 eksikliği olan fareler, zararlı soğuk uyarılara cevap vermekte başarısız olmakta ve soğuk analjeziden faydalanamamaktadır³³.

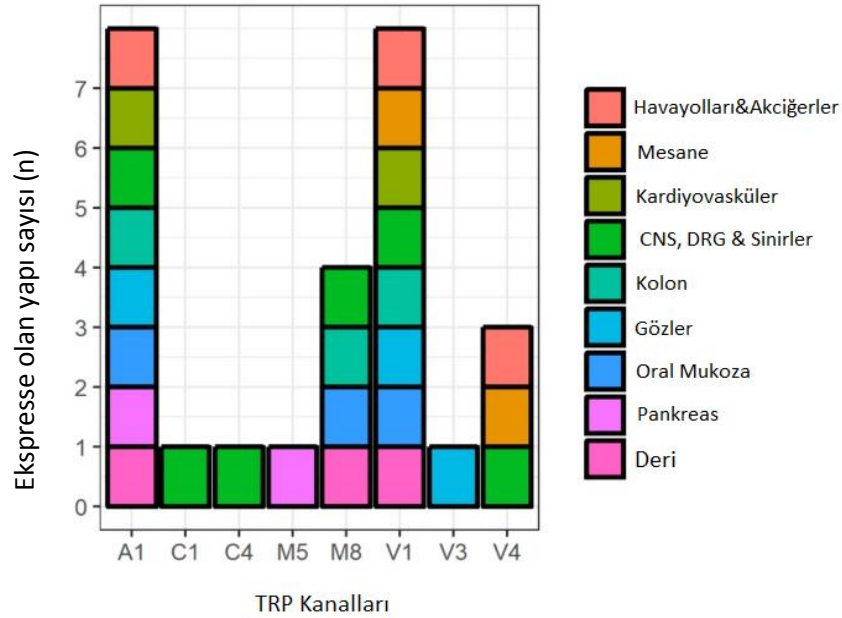
2.2.6. Geçici reseptör potansiyel mukolipin kanalı (TRPML)

TRPML kanalları, endolizozomal veziküllerde bulunan hücre içi kanallardır³⁹. Üç TRPML üyesinden TRPML1 yaygın olarak ifade edilir. Fazla asitlenmeyi engelleyen endozom/lizozomun H^+ sensörü olarak tanımlanmıştır⁴¹.

TRPA1, TRPM8 ve TRPV1 en bol bulunan kanallardır ve çoğu organda birlikte eksprese edilir³⁴ (Şekil 2.5 ve Şekil 2.6).



Şekil 2.5. Farklı memeli organlarında kimyasal duyarlı veya duyuşal TRP kanalı ekspresyonunun şematik genel görünümü. Steinritz ve ark.³⁴ dan çevrilerek alınmıştır.



Şekil 2.6. Kemosensör özellikli TRP kanal ekspresyonunun genel sayıları ve alt tipleri. Renkler organlarla ilgili ekspresyonu temsil eder. Steinritz ve ark.³⁴ dan çevrilerek alınmıştır.

2.3. Sigara Kullanımı

Tütün kullanımı, dünyanın şimdiye kadar karşılaştığı en büyük halk sağlığı tehditlerinden biridir. Her yıl 8 milyondan fazla ölümden tütün kullanımı sorumludur. Bu ölümlerin 7 milyondan fazlası doğrudan tütün kullanımının sonucudur. Yaklaşık 1,2 milyonu da sigara içmeyenlerin sigara dumanına maruz kalmasının sonucudur. Çocukların neredeyse yarısı halka açık yerlerde tütün dumanı ile kirlenen havayı düzenli olarak solumaktadır. Pasif sigara dumanı, yılda 1,2 milyondan fazla erken ölüme neden olmaktadır. Her yıl 65.000 çocuk, sigara dumanına maruz kalma sebebiyle ortaya çıkan hastalıklardan ölmektedir⁴⁵

2005 yılında dünyada sigaraya bağlı hastalıklardan yaklaşık 5 milyon kişi, ülkemizde ise 100 bin kişi hayatını kaybetmiştir. Bu sayının 2030 yılına kadar her yıl dünyada 10 milyon kişiye, ülkemizde ise 240 bin kişiye yükseleceği tahmin edilmektedir⁴⁶.

Küresel olarak, 1,1 milyondan fazla insan sigara kullanmaktadır ve bu sayı halen artmaktadır. Sigara kullanmaya bağlı yüksek sağlık komplikasyonları da artmakta olup, on kardiyovasküler ölüm vakasından biri (tüm ölümlerin%54'ü) sigara kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Sigara kullanımının neden olduğu kardiyovasküler ölüm, 35-69 yaş arasındaki erkeklerde ölümlerin %28'ini ve kadınlarda ölümlerin %13'ünü oluşturmaktadır⁴⁷.

Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal vardır; bunların en az 250'sinin zararlı olduğu ve 50'den fazlasının kansere neden olduğu bilinmektedir. Sigara kullanmayanlar; restoranlar, ofisler, alışveriş merkezleri, toplu taşıma araçları, parklar, okullar ve günlük bakım merkezleri gibi halka açık yerlerde pasif sigara dumanına maruz kalabilirler⁴⁸. Sigara dumanına maruz kalmak; yetişkinlerde, koroner kalp hastalığı ve akciğer kanseri de dahil olmak üzere ciddi kardiyovasküler ve solunumla ilgili hastalıklara neden olmaktadır. Bebeklerde; ani bebek ölümü sendromu riskini artırmaktadır. Gebe kadınlarda ise gebelik komplikasyonlarına ve düşük doğum ağırlığına neden olmaktadır⁴⁵.

Epidemiyolojik çalışmalar, hem erkeklerde hem de kadınlarda sigara kullanmanın, miyokard infarktüsü (MI) ve ölümcül koroner arter hastalığı insidansını artırdığını desteklemektedir. Düşük katranlı sigara ve dumansız tütünün bile sigara kullanmayanlara kıyasla kardiyovasküler hastalık riskini artırdığı gösterilmiştir⁴⁹.

Hem aktif hem de pasif (çevresel) sigara dumanına maruz kalma, kardiyovasküler olaylara neden olur. Klinik ve deneysel çalışmalar, aktif veya pasif olarak sigara dumanına maruz kalmanın, çoklu vasküler yataklarda; vazomotor disfonksiyonuna, aterogeneze ve tromboza sebep olduğunu gösterir ⁴⁹.

2.3.1. Sigara dumanı

Yanan bir sigara iki şekilde duman oluşturur, birincisi sigara içen kişinin üflediği sigara dumanı ki buna ana akım dumanı denir. İkincisi ise sigaranın yanması sonucu oluşan dumandır, buna ise yanal akım dumanı denir. Çevresel sigara dumanı; ana akım dumanı ve yanal akım dumanının karışımı ile oluşmaktadır ⁵⁰. Bu dumanın solunması, genellikle pasif içicilik olarak adlandırılır ⁴⁸.

Sigara dumanı; akciğer kanseri, kronik bronşit, pulmoner amfizem, tekrarlayan enfeksiyonlar, pulmoner ödem ve kardiyovasküler hastalıkları içeren diğer kronik hastalıklar ve bozukluklarla ilişkilidir. Aktif sigara kullanımının insan sağlığına yönelik riskleri kabul edilirken, son yıllarda çevresel sigara dumanına istemsiz maruz kalmanın risklerini ortaya koyan çalışmalar vardır ⁵¹.

Yanal akım sigara dumanının kimyasal bileşimi nitel olarak ana akım sigara dumanına benzer, ancak bireysel bileşenlerin seviyelerine göre niceliksel olarak farklılık gösterir. Ayrıca, yanal akım sigara dumanının ortalama partikül büyüklüğü ana akım sigara dumanından daha küçükken, yanal akım sigara dumanının pH'ı ana akım sigara dumanından daha yüksektir ⁵¹.

Çevresel sigara dumanı, daha seyreltilmiş halde solunduğu halde ana akım dumanı kadar toksiktir. Karbon monoksit, nitrozaminler ve amonyak içerir ⁴⁸. Çevresel sigara dumanının solunması, kan ve kan damarları üzerinde olumsuz etkilere neden olarak kalp krizi geçirme riskini artırabilir ⁴⁸. Çevresel sigara dumanı, pasif içicilerde; akciğer kanseri gelişimi, değişmiş akciğer fonksiyonu ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olarak kabul edilmektedir ⁵¹.

2.3.2. CGRP ve sigara arasındaki ilişki

Modern dünyada sigara kullanmak, insan vücudunun hemen hemen tüm organlarını veya sistemlerini etkileyen başlıca çevresel risk faktörlerinden biridir. Sigara, son

yüzyılda ciddi bir sağlık sorunu ve toplumsal sorun haline gelmiştir. Organlarda ve organ fonksiyonlarında sayısız sorunlara neden olabilir. Solunum, kardiyovasküler, serebral ve periferik damar hastalıkları ve özellikle kanser gibi farklı hastalıklara neden olabilir⁵².

Solunum yolunun tamamı, yaklaşık %75'i miyelinsiz C lifleri olan vagal afferent liflerle innerve edilir. Bu bronkopulmoner C lif afferentleri, sigara dumanı dahil olmak üzere çeşitli inhale tahriş edicilere karşı son derece hassastır. Ayrıca son alışmalar CGRP-immünoreaktif afferent sonlanmaların hava yolu mukozasında geniş ölçüde innervasyonunu göstermiştir. Taşikininler ve CGRP; nodoz, juguler ve DRG'deki duyuşal nöronların hücre gövdelerinde sentezlenir, daha sonra periferik sinir terminallerine taşınır ve depolanır. Bronkopulmoner C lif sonlanmaları aktive edildiğinde, uyarılar bu nöropeptitlerin salınımını tetikler ve bu da solunum yollarında nörojenik iltihaplanmaya neden olabilir⁵³.

Akciğer; SP, nörokininler ve CGRP gibi peptitleri içeren yoğun bir vagal sinir duyuşal C lifleri ağı ile innerve edilir. Bu duyuşal sinirler, akciğerin bir akson refleksi yoluyla nöropeptitlerin salınması ve hava yollarındaki zararlı uyarılara tepki vermesini sağlayan etkili bir nosiseptör sistemini temsil eder. Nöropeptitlerin serbestlenmesinin artışı, hava yolunda; hiperemi, mikrovasküler aşırı geçirgenlik, mukus salgılanması ve bronkokonstrüksiyona yol açan nörojenik inflamatuvar yanıtların gelişimini tetikleyebilir. Artan nöropeptid salınımı nedeniyle hava yollarındaki nörojenik inflamasyon; duman inhalasyon hasarı ve diğer bazı hastalık süreçlerini ierir⁵⁴.

2.4. Fiziksel Aktivite ve Egzersiz Türleri

'Fiziksel aktivite' ve 'egzersiz' terimleri çoğu zaman literatürde birbirinin yerine kullanılmaktadır. Fakat, bu terimlerin iki farklı kavramı ifade ettiği öne sürülmektedir. Fiziksel aktivite, enerji harcanmasıyla sonuçlanan ve çok çeşitli iş, eğlence ve günlük aktiviteler içeren iskelet kaslarının kasılmasıyla oluşun herhangi bir bedensel hareketi ifade eder. Egzersiz ise aerobik egzersiz, direnç egzersizi veya kombine aerobik ve direnç egzersizi olabilen, bir amaçla gerçekleştirilen planlı veya yapılandırılmış fiziksel aktivite anlamına gelir⁵⁵.

Kas kasılmaları hem mekanik hem de metabolik etkilere sahiptir. Mekanik sınıflandırma, kas kasılmasının uzuvda hareket oluşturup oluşturumamasını göre

değerlendirir. Uzunlukta hareket görülmez ise statik egzersiz, uzunlukta hareket görülür ise dinamik (izokinetik) egzersiz denir. Bir kas kasılması, konsantrik (kas liflerinin kısalması) veya eksantrik (kas liflerinin uzaması) kasılma şeklinde olabilir.

Metabolik sınıflandırma, enerjiyi dönüştürmek için kullanılan metabolik yollara göre yapılır. Bu açıdan egzersiz, genellikle aerobik (oksijen varlığında) veya anaerobik (oksijen yokluğunda) olarak sınıflandırılır⁵⁶. Her şiddetteki egzersizde hem aerobik hem de anaerobik enerji kaynağı kullanılır. Egzersiz süresi uzayıp şiddeti azaldıkça aerobik enerji kullanımı artar⁵⁷.

2.4.1. Egzersizin enerji metabolizması

Egzersizde ihtiyaç duyulan enerjiyi sağlamak için; ATP-PCr (Fosfojen-Kreatin Sistemi), Glikoliz (aerobik ve anaerobik) ve oksidatif fosforilasyon olmak üzere üç ana metabolik yol vardır⁵⁸.

Kısa süreli ve yüksek yoğunluktaki kas kontraksiyonlarında ATP-PCr ve glikolitik sistemler üzerinden ATP sağlanırken, düşük/orta yoğunluktaki egzersizlerde oksidatif fosforilasyon sistemi enerji üretiminde daha fazla rol oynamaktadır. Bu enerji sistemleri birbirlerinden bağımsız değildir ve tüm egzersiz koşullarında ATP oluşumuna değişken oranlarda katkı sağlarlar⁵⁸.

İstirahat halinde, mitokondrideki ATP'nin bir kısmı fosfatlarını kreatine aktarır. Bu sayede kreatin fosfat deposunun dolması sağlanır. Egzersiz sırasında ise kreatin fosfat, adenozin difosfat'tan (ADP) ATP oluşturmak için miyozin başları ile aktin arasındaki kavşakta hidrolize olur ve böylece kasılmanın devam etmesi sağlanır⁵⁹.

ATP-PCr sistemi enerji sistemlerinin en basitidir. Bu sistem substrat metabolizması olarak kabul edilir. İskelet kası hücre sitozolünde, yüksek enerjili bir fosfat molekülü olan kreatin fosfat ve az miktarda ATP depolar. Yoğun kas kasılmaları başlangıcında depolanmış olan ATP; ADP, inorganik fosfat ve hidrojen iyonuna (H⁺) hidrolize olur. Aynı zamanda, depolanmış olan kreatin fosfat, en hızlı yol kabul edilen kreatin kinaz reaksiyonu üzerinden ADP'ye bir fosfat grubu vererek ATP oluşumunu sağlar. ATP-PCr sistemi, egzersizin başlangıcında, kısa mesafe koşusu ve direnç egzersizleri gibi yoğun kas kasılmaları sırasında aktive olur. ATP ihtiyacını 5-10 saniyelik bir süre için karşılar⁵⁸. Böylelikle, ATP-PCr sisteminden oluşan enerji kısa süreli patlayıcı kas gücü için kullanılmış olur⁶⁰.

Bir diğerk enerji sistemi olan glikoliz ise, glikoz molekülünün yıkımı ile ATP üretme işlemidir. Glikoz veya glikojen bu reaksiyonu başlatabilir ve sırasıyla iki veya üç ATP açığa çıkar. Glikoz, hafif veya orta şiddetli egzersizlerde reaksiyonlar için ana madde olarak kullanılırken; glikojen, daha yoğun egzersizlerde ana madde olarak kullanılır. Glikolitik yol, oksijen varlığında veya yokluğunda ATP üretebilen tek besin-bağımlı enerji sistemi olduğundan aerobik ve anaerobik glikoliz / glikojenoliz olarak ikiye ayrılır⁵⁸.

Glikoliz sürecinin ilk basamağı oksijen kullanmadan gerçekleştiği için anaerobik metabolizma olarak adlandırılır⁶⁰. Anaerobik glikoliz ve glikojenoliz kas hücresinin sitozolünde meydana gelir. Her iki molekül de iki piruvat, iki veya üç ATP açığa çıkarır. Anaerobik koşullarda iki piruvat molekülü iki laktat molekülüne indirgenir. Anaerobik glikolitik sistemde reaksiyonlar çok hızlı gerçekleşir ve sadece birkaç dakikalık enerji üretimi sağlayabilir⁵⁸.

Aerobik glikoliz ve glikojenoliz bir karbonhidrat molekülünün tam oksidasyonu ile gerçekleşir. Bu sistemde piruvat laktata indirgenmez ise mitokondriye girer. Piruvatın mitokondriyal matrister bulunan dehidrojenaz kompleksine girmesiyle de asetil-CoA'ya dönüşümü katalize edilir. Sonrasında asetil-CoA da trikarboksilik asit döngüsüne girer⁵⁸.

Üçüncü enerji sistemi olan oksidatif fosforilasyon yolu aerobiktir ve mitokondrilerde karbonhidrat ve yağın yıkılması sonucu ATP üretimini sağlar. Oksidatif fosforilasyon sistemi, elektron ve proton transferinden depolanan enerjii ADP'yi ATP'ye fosforile etmek için kullanır. Bu sistemde enerji üretim oranı ATP-PCr ve glikolitik sistemlere kıyasla çok daha yavaş olmasına rağmen toplamda oluşan ATP miktarı çok daha fazladır⁵⁸.

Böylece; ATP-PCr sistemi ani birkaç saniye süren aktivitelerde (sıçrama, çok kısa süreli depar gibi), glikolitik sistem orta mesafe koşularında, oksidatif sistem ise uzun atletik aktivitelerde enerji üretimi sağlar^{60,58}.

2.4.2. Aerobik egzersiz

Aerobik egzersiz, aktif kasın oksijen gereksinimlerini karşılamak için kalp atış hızı ve solunum hacmini artıran herhangi bir fiziksel aktivite biçimi olarak tanımlanır⁶¹. Aerobik egzersiz, dinamik aktivitelerde büyük kas gruplarıyla gerçekleşir, kalp hızı ve

enerji harcamalarında önemli artışlara neden olur⁵⁶. Aerobik egzersiz, tempolu koşu, koşma ve bisiklet gibi kardiyorespiratuar dayanıklılık egzersizlerini içerir⁵⁵. Aerobik egzersizlerin düzenli olarak yapılması, kardiyovasküler sistem ve iskelet kaslarının işlevinde iyileşmelere neden olarak dayanıklılık performansında artışa yol açan merkezi ve periferik adaptasyonlara sebep olur⁵⁶. Aerobik egzersiz sırasında arteriyel basınçtaki değişiklikler hafif ve orta derecede nispeten stabil olma eğilimindedir⁶².

2.4.3. Anaerobik egzersiz ve anaerobik eşik (Laktat eşiği)

Anaerobik egzersiz, sağlanan enerjinin çoğunluğu için glikojen ve fosfokreatin depolarını kullanan çok yüksek yoğunluklu egzersizleri içerir. Direnç egzersizleri ise, direnci değiştirerek kas gücünü ve dayanıklılığını artırmak için tasarlanmış bir anaerobik antrenmandır. Direnç egzersizleri, direncin tek bir egzersiz setinde hareket ettirilme sayısı, yapılan setlerin sayısı ve setler arasındaki dinlenme aralığından oluşur⁵⁶.

Direnç egzersizleri, arteriyel kan basıncındaki büyük ve hızlı salınımların ve kalp atım hızındaki artışın eşlik ettiği aralıklı, çoğunlukla dinamik egzersizlerdir⁶².

Şiddeti kademeli olarak artan egzersizler esnasında, vücut artan oranlarda ATP üretmek için egzersizin talebini karşılamaya çalışır. Genel olarak kan laktatı, bireyin maksimal oksijen alımı değerinin yaklaşık %50-60'ını geçinceye kadar kısmen değişmeden kalır. Daha yüksek egzersiz yoğunluklarında ATP üretim hızı glikolizin daha çok kullanılmasına ve bu da piruvat üretim oranının artmasına sebep olur. Piruvat üretim oranı asetil-CoA ve Krebs döngüsünde kullanılan orandan yüksek olduğundan, piruvat laktata dönüştürülür. Artmış glikoliz hızı ve ATP'nin parçalanmasıyla H⁺ üretilir. Oluşan laktat ve H⁺ iskelet kası hücrelerinden kana geçer. Böylelikle, egzersiz sırasında kan laktatında doğrusal olmayan artış görülür. Artışın ortaya çıktığı noktaya anaerobik eşik ya da laktat eşiği denir. Aynı zamanda bu kan laktat birikiminin başlangıç noktasıdır⁵⁸.

2.4.4. Egzersizin fizyolojik etkileri

Fiziksel aktivite, en az otuz beş farklı kronik durumun primer önlenmesinde en temel faktördür. Bununla birlikte, son yirmi yılda birkaç kronik hastalıkta birinci basamak

tedavi yöntemi olarak egzersizin önemi vurgulanmıştır. Fiziksel egzersizlerin, kardiyovasküler hastalık, fibromiyalji, multiple skleroz, zihinsel bozukluklar, kanser ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı dahil olmak üzere kronik hastalığı olan kişilerde anksiyete semptomlarını azalttığı sonucuna varılmıştır. Fiziksel aktivitenin, genel olarak kilo alımını önlemek ve ayrıca kilo kaybını takiben vücut ağırlığını korumak için önemli olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar fiziksel aktivitenin hiperlipidemiye önlediğini göstermektedir. Büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar düzenli fiziksel egzersiz ve/veya kondisyonun hipertansiyonu önlediğini veya kan basıncını düşürdüğünü göstermektedir. Birkaç meta-analiz, fiziksel egzersizin hem normotansif hem de hipertansif vakalarda kan basıncı üzerinde olumlu bir etkisi olduğu sonucuna varmıştır. Egzersiz, proinflamatuvar sitokinlerin ve indüklenbilir NOS'un lokal ekspresyonunun azalmasına neden olan ve insülin benzeri büyüme faktörünü artıran kas sitokrom C oksidaz aktivitesini uyarır. Böylece egzersiz kalp yetmezliği hastalarında katabolik süreçleri engelleyebilir ve kas atrofisini önleyebilir. Çalışmalar aerobik egzersizin kemik mineral yoğunluğunu artırabildiğini gösterirken, direnç ve denge egzersizleri kombinasyonunun yaşlı insanlarda düşme ve kırık riskini azalttığını gösterir. Fiziksel olarak aktif bir yaşam tarzının kolon kanseri, meme kanseri, endometriyum kanseri ve prostat kanseri gelişimine karşı koruduğunu gösteren epidemiyolojik çalışmalar vardır ⁶³.

Dünya çapında, yetişkinlerin yaklaşık %30'u yeterince aktif değildir. Bu, kardiyovasküler hastalıklarda ve tüm nedenlere bağlı ölümlerde; sigara içmekten, yüksek kolesterolden ve yüksek tansiyondan daha yüksek bir risk faktörüdür ⁶⁴. Sedanter yaşam tarzı; obezite, tip 2 diyabetes mellitus, hipertansiyon, koroner arter hastalığı gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilir ⁶⁴.

Düzenli fiziksel egzersizin genel sağlık üzerinde birçok yararlı etkisi vardır. Düzenli fiziksel egzersizin; istirahat kalp atış hızını, kan basıncını, kalp yetmezliği riskini, aterosklerotik belirteçleri, inflamasyon belirteçlerini azalttığı, metabolik sağlığı ve fizyolojik kardiyak hipertrofiyi artırdığı gösterilmiştir. Fiziksel egzersiz, kalp ve damar sisteminde adaptasyonlar yaparak kardiyovasküler fonksiyonları geliştirebilir ⁶⁵.

2.4.5. CGRP ve egzersiz arasındaki ilişki

Egzersiz, kardiyovasküler, nöroendokrin, solunum ve kas-iskelet sistemi gibi birçok sistemi olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Epidemiyolojik veriler, fiziksel hareketsizliğin; koroner arter hastalığı, inme, tip 2 diyabetes mellitus, osteoporoz ve bazı kanserler gibi kronik hastalıkların göreceli riskini belirgin şekilde artırdığını açıkça göstermektedir. Ek olarak, fiziksel hareketsizlik yaşlılarda düşme, depresyon, anksiyete ve obezite artışı ile ilişkilidir. Yaşam boyu süren fiziksel aktivite, ortalama yaşam ömrünün artmasını sağlayabilir⁶⁶.

Egzersiz; yağ dokusu kütesini azaltır, glisemik kontrolü iyileştirir ve obezite, metabolik sendrom, tip 2 diyabetes mellitus ve kalp hastalığı olan hastalarda tüm vücut oksijen alım kapasitesini artırır. Egzersizin, bazı kanserlerin tekrarını ve kanser hastalarında kalp-damar hastalıkları riskini azaltmada etkili olabileceği gösterilmiştir. Düzenli egzersizin, birçok hastalığın başlangıcını önleyebileceği veya tedavisinde yardımcı olabileceği kabul edilmektedir⁶⁶.

Yapılan çalışmalar egzersizin kardiyoprotektif etkisinde, CGRP'nin önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir². Ayrıca aerobik egzersizin, artan CGRP üretimi ile kollateral dolaşımın gelişmesi yoluyla miyokardiyal iskemiye azaltabileceği gösterilmektedir. Bu nedenle, CGRP kollateral dolaşımın gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır⁶⁷.

2.5. Sigara ve Egzersiz Arasındaki İlişki

Deneysel hayvan çalışmaları, sigara dumanına maruz kaldıktan veya astım indüksiyonundan sonra aerobik egzersizin akciğer iltihabını ve akciğerin yeniden şekillenmesini azalttığını göstermiştir. Özellikle egzersizin, dumana maruz kalan farelerin akciğerlerinde Th1 yanıtını artırdığı ve Th2 sitokin seviyelerini baskıladığı gösterilmiştir. Buna paralel olarak, egzersiz antioksidan savunmayı arttırmış ve oksidatif stres belirteçlerini azaltmıştır¹².

Düzenli egzersizin, sigaraya maruz bırakılan farelerin kanındaki birkaç inflamatuvar, kemoatraktan ve pıhtılaştırıcı faktörlerin seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Düzenli ve orta dereceli egzersizin, anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle, duman kaynaklı akciğer hastalıklarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir¹².

2.6. CGRP ve Cinsiyet Hormonları Arasındaki İlişki

CGRP'nin fonksiyonu östrojenik benzeri bileşiklerle de düzenlenir⁴. Östrojenler, damar duvarındaki anandamid etkilerinin pozitif modülatörleridir. Çünkü anandamidin insan endotel hücrelerinden salınmasını uyarırlar ve aynı zamanda sıçan mezenterik damarlardaki CGRP'nin biyolojik etkilerini artırarak anandamid kaynaklı vazodilatasyonu güçlendirirler⁶⁸.

Kadın cinsiyet hormonları ve CGRP arasındaki ilişkiyi keşfeden ilk klinik çalışmalardan biri 1986 yılında Stevenson ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, sağlıklı kontrollerde, normal hamilelik boyunca ve doğum sonrası subakut dönemde, plazma immünoreaktif CGRP (i-CGRP) konsantrasyonları ölçülmüştür. i-CGRP konsantrasyonları hamilelik boyunca belirgin bir şekilde artmış, en yüksek konsantrasyonlar bu dönemde bulunmuştur. CGRP seviyelerindeki bu artış doğumdan sonraki ilk günlerde kontrollere benzer şekilde azalmıştır⁶⁹. Bu, hamilelik sırasında kardiyovasküler adaptasyon sürecinin bir parçası olarak artan sistemik CGRP seviyeleri ile ilişkilendirebilir⁷⁰. Menopozda veya yaşlı kadınlarda, CGRP seviyeleri önemli ölçüde azalır⁴.

Valdemarsson ve ark. plazma i-CGRP seviyelerinin her iki cinsiyet arasında farklı olduğunu ortaya koymuştur. Sağlıklı deneklerde i-CGRP seviyelerinin kadınlarda erkeklere göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve kombine kontraseptif ilaç kullanımının plazmada daha yüksek i-CGRP seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁷¹.

Bir araştırma, sıçan medulla ve TG'de, CGRP'nin mRNA seviyelerinde ve CGRP reseptörünün üç bileşeninde (CLR, RAMP1 ve RCP) cinsiyete göre farklılıklar olduğunu göstermiştir. Dişi sıçanların dokularında erkek sıçanların dokularına kıyasla; medullada CGRP seviyeleri daha yüksek ve RAMP1, CLR ve RCP kodlayan mRNA ekspresyonu daha düşüktür⁷⁰.

17 β -estradiolün CGRP salınımını artırabildiği ve bu nedenle ağrı transdüksiyonunda cinsiyet hormonlarının kilit rol oynadığı gösterilmiştir⁴.

Dalgalı gonadal hormonlar, trigeminovasküler sistemde CGRP reseptör sentezini, ekspresyonunu veya salınımını düzenleyebilir. Progesteron salgılanması; trigeminal çekirdekteki CGRP içeriğini azaltırken, DRG ve plazmada CGRP seviyesini artırmıştır⁷⁰. Östrojenlerin trigeminal CGRP yolağının uyarılabilirliğini ve duyarlılığını düzenlediği gösterilse de, deneysel veriler yeterli değildir⁷⁰.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Sunulan çalışma için Düzce Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan etik onay alındı (Karar no: 2019/5/2). Çalışmada, 2-3 aylık ve 230±30 gr ağırlığında 28 adet Wistar cinsi erkek ve 28 adet Wistar cinsi dişi olmak üzere toplamda 56 adet sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan sıçanlar, Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar çalışma süresince laboratuvarında 23°C oda ısısında, %60±5 nem ve 12:12 aydınlık-karanlık döngüsünde optimal değerlerde tutuldu, besin ve su alımları serbest olacak şekilde beslenmeleri sağlandı. Sıçanların kafesleri haftada iki defa değiştirildi. Sıçanların vücut ağırlıkları çalışmanın başında ve sonunda ölçülerek kaydedildi.

3.2. Deney Grupları ve Uygulanan İşlemler

Sıçanlar erkek (28 adet) ve dişi (28 adet) olmak üzere iki ana grubu ayrıldı. Daha sonra bu ana gruplar da kendi içerisinde her grupta 7 adet sıçan olacak şekilde; kontrol grubu, sigara grubu, egzersiz grubu ve sigara+egzersiz grubu olmak üzere 4 alt gruba ayrıldı. Toplamda 8 adet grup oluşturuldu. Erkek egzersiz grubundaki sıçanlardan bir tanesi çalışmanın ikinci haftasında deney dışı bırakıldı. Çalışmaya toplamda 55 adet sıçanla devam edildi.

Deney grupları, sıçanlar rasgele seçilmek suretiyle aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

Grup 1. Erkek Kontrol Grubu: Çalışma süresince herhangi bir uygulama yapılmadı (n=7).

Grup 2. Erkek Sigara Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk sigara dumanına maruz bırakıldı (n=7).

Grup 3. Erkek Egzersiz Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk 15m/dk (0,9 km/sa) hızla koşu bandında koşturuldu (n=6) .

Grup 4. Erkek Sigara+Egzersiz Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk sigara dumanına maruz bırakılmanın ardından 30 dk egzersiz protokolü uygulandı (n=7).

Grup 5. Dişi Kontrol Grubu: Çalışma süresince herhangi bir uygulama yapılmadı. (n=7)

Grup 6. Dişi Sigara Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk sigara dumanına maruz bırakıldı (n=7).

Grup 7. Dişi Egzersiz Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk 15m/dk (0,9 km/sa) hızla koşu bandında koşturuldu (n=7).

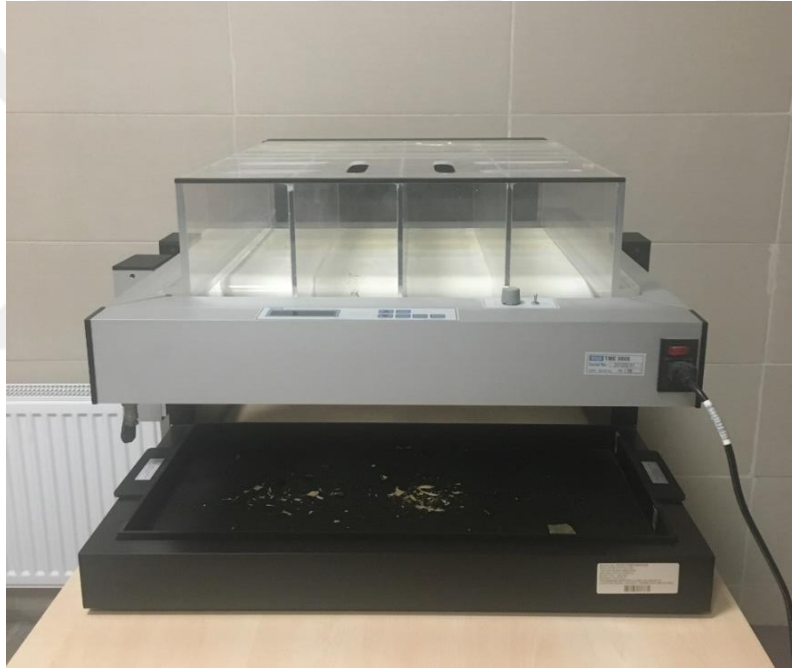
Grup 8. Dişi Sigara+Egzersiz Grubu: 6 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 30 dk sigara

maruz

dk

(n=7).

3.3.



dumanına
bırakılmanın
ardından 30
egzersiz
protokolü
uygulandı

**Sıçanların
Egzersize**

Hazırlanması

Tüm sıçanların düzgün bir şekilde koşmayı öğrenmesi için çalışma başlamadan önce koşu bandında alıştırma uygulaması yapıldı.

Sıçanlar koşu bandında artan hız ve sürelerde 5 günlük süre boyunca koşturularak egzersize alıştırıldı.

Resim 3.1. Deneyde kullanılan May TME 9805 Treadmill Exerciser marka dört kulvarlı deney hayvanı koşu bandı.

3.4. Egzersiz Uygulama Prosedürü

Uygulanan tüm egzersiz programlarında May TME 9805 Treadmill Exerciser marka dört kulvarlı küçük deney hayvanı koşu bandı kullanıldı (Resim 3.1.). Kronik egzersiz uygulaması; 6 hafta boyunca, haftada 5 gün (hafta içi Pazartesi-Cuma), günde 30 dk ve 15 m/dk hızla gerçekleştirildi ⁷² (Resim 3.2.). Egzersizler 6 hafta süresince saat 09:30-14:00 arasında yaptırıldı. Sıçanların her gün aynı saatlerde egzersiz yapmaları sağlandı. Sıçanların hızı koşu bandının hızının altına düştüğü zamanlarda sürekli koşmayı teşvik etmek için sıçanların kuyruklarına nadiren hafif manuel uyarı verilerek egzersizin devamlılığı sağlandı.

Resim 3.2. Sıçanlara koşu bandı egzersizinin uygulanması.



3.5. Sigara Dumanının Uygulanması

Bu çalışma için kullanılan deney hayvanlarını sigara dumanına maruz bırakma düzeniği tarafımızdan özel olarak hazırlandı. Bu düzenek için cam malzemeden 2 adet oda yapıldı. Ebatları 60x40x40 cm olan büyük oda sigaraya maruz bırakma odası olarak ve ebatları 30x25x15 cm olan küçük oda ise sigara dumanının oluşturulduğu oda olarak hazırlandı. Deney hayvanları kendi standart kafesleriyle birlikte büyük odaya yerleştirildi. Sigaraların inhalasyonu sırasında oral yolla nikotin alımının engellenmesi ve yemlerin kokusunun değişmemesi için sigara grupları ve sigara+egzersiz gruplarının kafeslerindeki yemler ve sular sigara uygulaması süresince alındı. Sıçanlara solutulacak sigara zifir:10 mg, nikotin:0.8 mg ve CO:10 mg olacak şekilde seçildi. Küçük odada oluşturulan sigara dumanı, cam odadaki fanlar yardımı ile aspire edilerek 2 adet boru vasıtasıyla büyük odada bulunan sıçanlara verildi (Resim 3.3). Fanlar çalıştıkça sigaralar yandı. Borulardan biri yakılan sigaralardan çekilen ana akım dumanını büyük odaya verirken diğer boru da yanan sigaralardan çıkan yanak akım dumanlarını çekerek büyük odaya verdi. Sıçanlar cam odada 6 hafta boyunca, haftada 5 gün (hafta içi

Pazartesi-Cuma), günde 30 dk her bir sıçan için 1 adet sigara olacak şekilde sigara dumanına maruz bırakıldı. Tüm gruplar günde 30 dakikalık süre boyunca 7 adet sigaranın dumanına maruz bırakılmış oldu.



Resim 3.3. Sıçanları sigara dumanına maruz bırakma düzeneği.

3.6. Deneyin Sonlandırılması ve Kan Örneklerinin Alınması

Uygulamaların bitiminde tüm sıçanlar tartıldı ve ağırlıkları kaydedildi. 6 hafta süren egzersiz ve sigara dumanı uygulamalarının akut etkilerinin ortadan kalkması için son uygulamalardan 24 saat sonra eter anestezisi altında kalp içi kan örnekleri analizler için toplandı. Toplanan kan örnekleri 15 dk 4000 devir/dk santrifuj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri ilgili parametrelerin ölçümleri yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı.

3.7. ELISA Testi Prosedürü

Çalışmamızda SunRed marka CGRP ELISA kiti kullanılmıştır.

3.7.1. ELISA kit içeriği:

1. 96 kuyucuklu mikroplate
2. Standart (320 ng/L)
3. Standart dilüsyon
4. Streptavidin-HRP konjugat reaktif
5. Biotin – CGRP antikör
6. Kromojen solüsyon A
7. Kromojen solüsyon B
8. Plate kapatma zarı
9. Stop solüsyonu
10. Yıkama solüsyonu (30X konsantre)

3.7.2. ELISA uygulama prosedürü:

- Çalışmaya başlamadan önce, CGRP kiti ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- Kit içerisinde bulunan standartların dilüsyonu için 5 adet ependorf hazır hale getirildi. Ependorflara 1 den 5 e kadar numaralar verildi. Tüm ependorflara 120 µL standart dilüsyon solüsyonu konuldu. Daha sonra 1. ependrofdaki 120 µL standart dilüsyonun üzerine 120 µL orijinal standart eklendi. Pipetleme yapılarak ilk tüpten ikincisine hazırlanan karışımdan 120 µL aktarım yapıldı. Aynı şekilde her basamakta bir önceki tüpten alınan 120 µL karışım bir sonraki tüpe pipetleme yapılarak aktarıldı. Böylece tüm solüsyonlar seyreltilmiş oldu. Sonuçta 5 adet standart elde edildi.
- 1.kuyucuk boş kalacak şekilde alt alta ilk 5 kuyucuğa sırasıyla 50 µL standart konuldu. Ardından aynı kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP eklendi.
- Standart kuyucuklar hazırlandıktan sonra diğer kuyucuklara serum örnekleri 40 µL olacak şekilde konuldu. Ardından bu kuyucuklara 10 µL CGRP antikörü ve 50 µL Streptavidin- HRP eklendi.
- Plate, inkübasyon sırasında oluşabilecek buharlaşma riskine karşı bant ile kapatılarak hafifçe çalkalandı ve 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon bitiminde plate üzerindeki bant dikkatli bir şekilde çıkarıldı.
- Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat seyreltildi ve plate 5 kere yıkandı.
- Yıkama sonrası boş kuyucuk dahil tüm kuyucuklara, 50 µL kromojen solüsyon A ve 50 µL kromojen solüsyon B eklendi. Plate yavaş ve dikkatlice çalkalandı. Plate'in üzeri ışık almayacak şekilde kapatıldı ve 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon bitiminde boş kuyucuk dahil tüm kuyucuklara, 50 µL stop solüsyonu eklendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Kuyucuklarda mavi rengin hızlıca sarı renge dönüşümü gözlemlendi.
- Plate 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda okutuldu ve optik yoğunluk değerleri belirlendi (Resim 3.4)



Resim 3.4. Çalışmamızda kullanılan Elisa Microplate Reader.

3.8. İstatistiksel Analiz

Deney gruplarından elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 22.0 ile yapıldı. Bütün verilerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Gruplar arası farklılıklar İki Yönlü Faktöriyel Varyans Analizi ve Üç Yönlü Tekrarlanan Ölçümlü Faktöriyel Varyans Analizi ile belirlendi. $P \leq 0.05$ düzeyindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Egzersiz ve Sigara Uygulamalarının Sıçanlarda Ağırlık Değişimi Üzerine Etkisi

Kontrol grupları ve uygulama yapılan gruplarda deney başlamadan önce ve deney sonlandırıldıktan sonra yapılan ağırlık ölçümünün istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.1, tablo 4.2 ve şekil 4.1, şekil 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Erkek ve dişi sıçan gruplarının deneyler başlamadan önce ağırlık değerleri istatistik tablosu.

Tanımlayıcı İstatistikler					
	Gruplar	Cinsiyet	Ortalama	Standart Sapma	N
Deney Öncesi Ağırlık (gr)	Kontrol	Erkek	364,2857	27,45126	7
		Dişi	235,8571	30,47638	7
		Total	300,0714	72,22983	14
	Sigara	Erkek	354,1429	14,89327	7
		Dişi	231,7143	25,95968	7
		Total	292,9286	66,69963	14
	Egzersiz	Erkek	374,8333	50,36831	6
		Dişi	240,5714	9,71008	7
		Total	302,5385	77,18443	13
	Sigara + Egzersiz	Erkek	325,8571	14,15896	7
		Dişi	243,4286	19,72188	7
		Total	284,6429	45,84020	14
	Total	Erkek	354,0370	33,18304	27
		Dişi	237,8929	22,00730	28
		Total	294,9091	64,85376	55

Tablo 4.2. Erkek ve dişi sıçan gruplarının deneyler sonlandırıldıktan sonra ağırlık değerleri istatistik tablosu.

Tanımlayıcı İstatistikler					
	Grup	Cinsiyet	Ortalama	Standart Sapma	N
Deney Sonrası Ağırlık (gr)	Kontrol	Erkek	395,8571	34,22683	7
		Dişi	250,4286	33,39589	7
		Total	323,1429	82,15544	14
	Sigara	Erkek	400,2857	24,70300	7
		Dişi	246,1429	26,07316	7
		Total	323,2143	83,62018	14
	Egzersiz	Erkek	389,1667	64,52416	6
		Dişi	254,7143	10,14420	7
		Total	316,7692	81,56710	13
	Sigara+Egzersiz	Erkek	336,0000	23,60085	7
		Dişi	264,4286	23,55743	7
		Total	300,2143	43,50098	14
	Total	Erkek	380,0000	45,38129	27
		Dişi	253,9286	24,34616	28
		Total	315,8182	73,03223	55

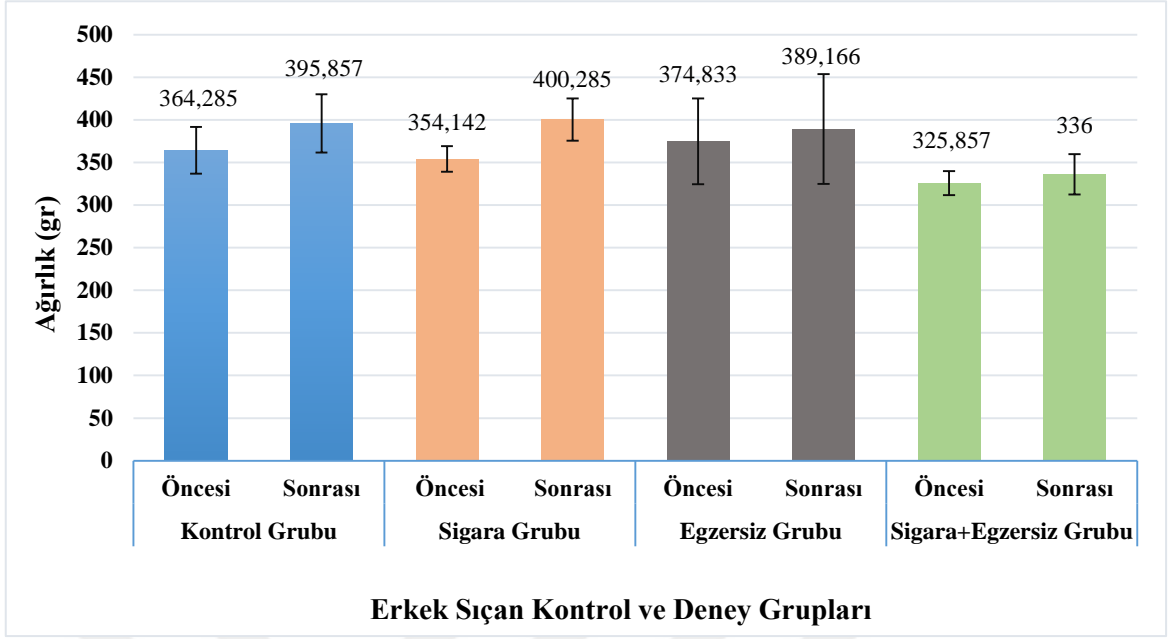
Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, her iki cinsiyette deney öncesi ve deney sonrası kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz grupları arasındaki ağırlık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmadı ($p=0,430$).

Deney öncesi ve deney sonrası cinsiyetler arasındaki ağırlık değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmadı ($p=0,333$).

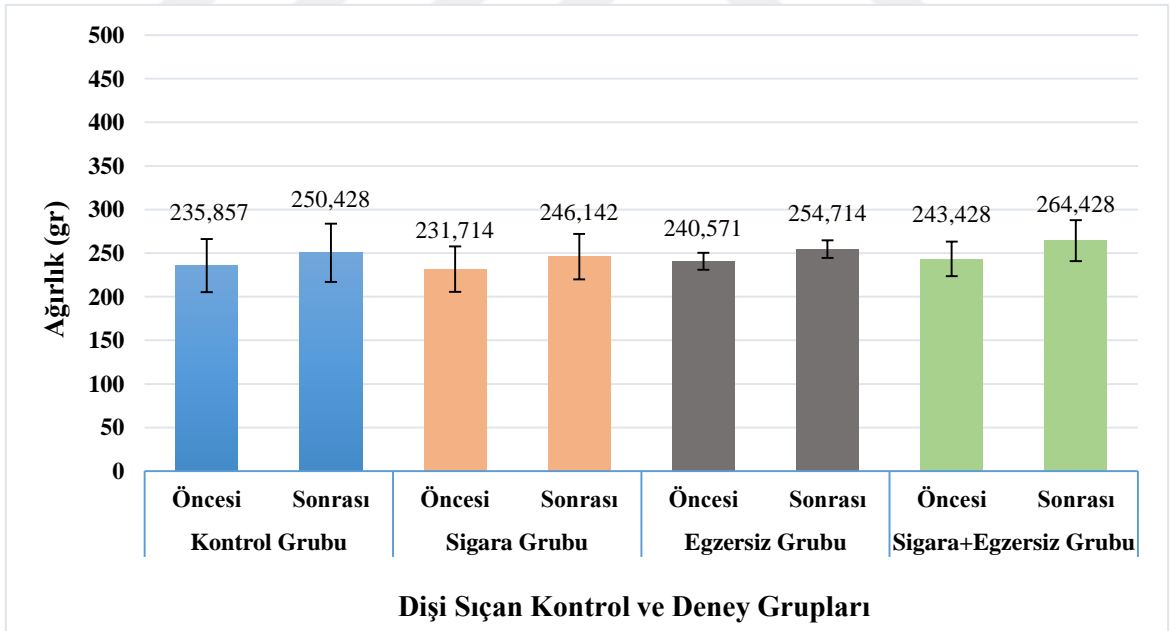
Kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz gruplarının deney öncesi ve deney sonrası ağırlık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,629$).

Uygulamalar sonrasında, kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz gruplarının ağırlık değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,072$).

Uygulamalar sonrasında, erkek kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz gruplarının ağırlık değerleri dişi gruplarının ağırlık değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$).



Şekil 4.1. Erkek sıçan gruplarının uygulamalar öncesi ve sonrası ağırlık değişim grafiği.



Şekil 4.2. Dişi sıçan gruplarının uygulamalar öncesi ve sonrası ağırlık değişim grafiği.

4.2. Egzersiz ve Sigara Uygulamasının Sıçanlarda Serum CGRP Seviyeleri Üzerine Etkisi

Kontrol grupları ve uygulama yapılan gruplarda serum CGRP seviyelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.3 ve şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5'te verilmiştir.

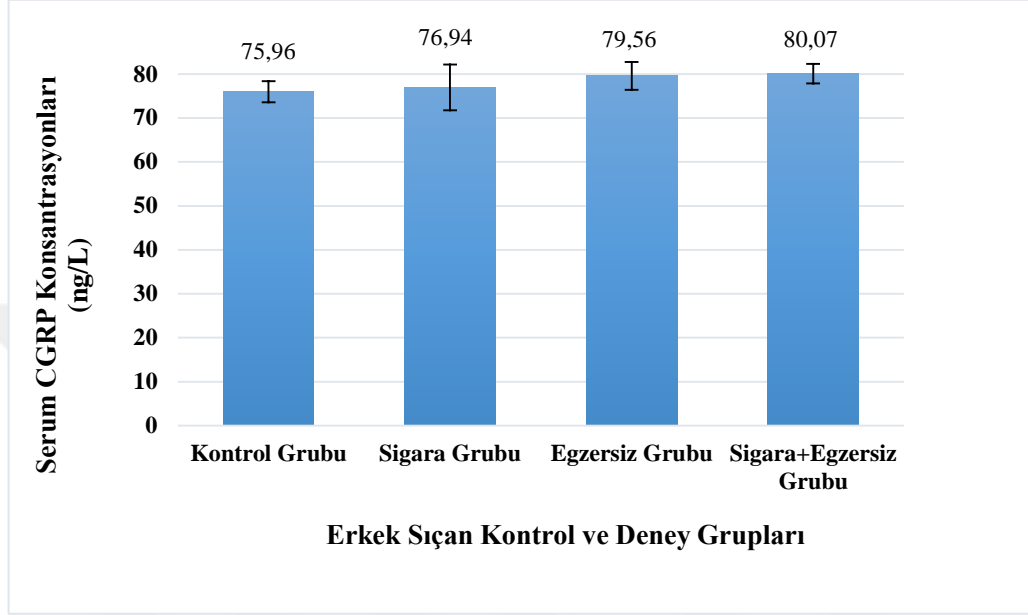
Tablo 4.3. Erkek ve dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri istatistik tablosu.

Tanımlayıcı İstatistikler				
Bağımlı Değişken: ELISA (CGRP) (ng/L)				
Gruplar	Cinsiyet	Ortalama	Standart Sapma	N
Kontrol Grubu	Erkek	75,962143	2,4308399	7
	Dişi	74,624429	3,7565426	7
	Total	75,293286	3,1180214	14
Sigara Grubu	Erkek	76,940286	5,1824340	7
	Dişi	73,620857	4,3194710	7
	Total	75,280571	4,8962924	14
Egzersiz Grubu	Erkek	79,560167	3,1966458	6
	Dişi	74,778571	3,9595485	7
	Total	76,985462	4,2722755	13
Sigara+Egzersiz Grubu	Erkek	80,079286	2,2441796	7
	Dişi	75,885143	3,0493575	7
	Total	77,982214	3,3692896	14
Total	Erkek	78,082704	3,7185887	27
	Dişi	74,727250	3,6743479	28
	Total	76,374473	4,0341343	55

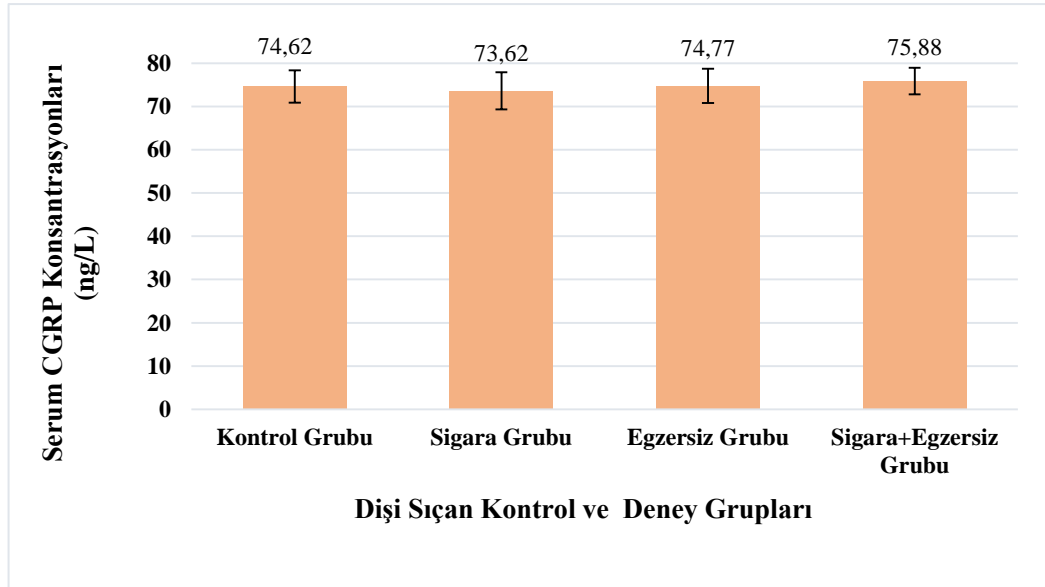
Yapılan istatistiksel analizler sonucunda; erkek kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz grupları arasındaki serum CGRP seviyeleri değişimleri ile dişi kontrol, sigara, egzersiz, sigara+egzersiz grupları arasındaki serum CGRP seviyeleri değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark olmadığı bulundu($p=0,628$).

Uygulamalar sonrasında yapılan analizlerde; erkek kontrol grubuna göre erkek sigara, egzersiz ve sigara+egzersiz gruplarında serum CGRP seviyelerinde artış gözlemlendi. Aynı şekilde dişi kontrol grubuna göre dişi egzersiz ve sigara+egzersiz gruplarında serum CGRP seviyelerinde artış gözlemlendi. Fakat bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,136$).

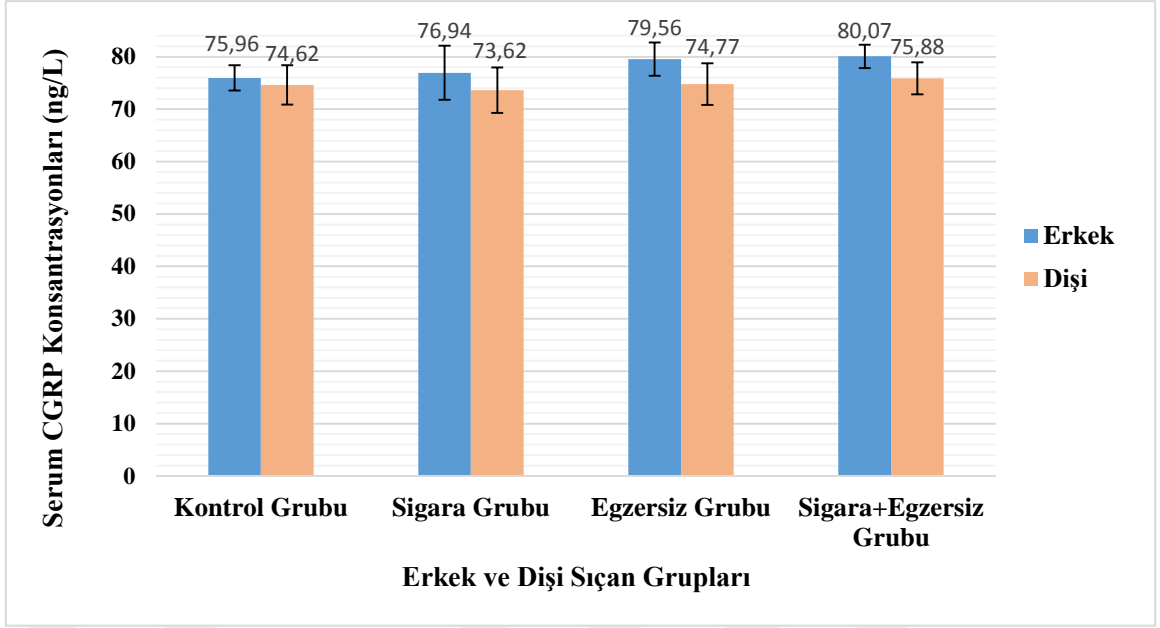
Erkek sigara grubunun serum CGRP seviyeleri dişi sigara grubunun serum CGRP seviyelerinden, erkek egzersiz grubunun serum CGRP seviyeleri dişi egzersiz grubunun serum CGRP seviyelerinden, erkek sigara+egzersiz grubunun serum CGRP seviyeleri dişi sigara+egzersiz grubunun serum CGRP seviyelerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0,001$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.3. Erkek sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği.



Şekil 4.4. Dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği.



Şekil 4.5. Erkek ve dişi sıçan gruplarının uygulamalar sonrası serum CGRP seviyeleri grafiği.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Fiziksel egzersizin; kardiyovasküler sistem, nöroendokrin sistem, solunum sistemi ve kas-iskelet sistemi gibi çeşitli sistemlerde ve genel sağlık üzerinde bir çok yararlı etkisinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Düzenli yapılan egzersizin, koroner arter hastalıkları, inme, tip 2 diyabetes mellitus, obezite, metabolik sendrom ve osteoporoz gibi birçok hastalığının göreceli riskini azalttığı veya tedavisinde yardımcı olabileceği kabul edilmektedir. Düzenli fiziksel egzersiz; metabolik sağlığın artması, kardiyovasküler fonksiyonların iyileşmesi, glisemik kontrolün iyileşmesi ve ortalama yaşam ömrünün artması ile ilişkilendirilir ^{65,66}.

Son yüzyılda ciddi bir sağlık sorunu ve toplumsal sorun haline gelen ve başlıca çevresel risk faktörü sayılan sigara, insan vücudunun hemen hemen tüm organlarını veya sistemlerini etkilemektedir. Buna karşılık egzersizin antiinflamatuvar etkilerinin duman kaynaklı akciğer hastalıklarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca egzersizin antioksidan savunmayı artırdığı ve oksidatif stres belirteçlerini azalttığı gösterilmiştir ^{12,52}.

Çalışmamızda 6 hafta boyunca sigara dumanına maruz bırakılan ve koşu bandı egzersizi yaptırılan sıçanların serum CGRP seviyeleri değerlendirildi. Dişi ve erkek sıçanlar sigara dumanına maruz bırakıldı ve sonrasında koşu bandı egzersizi yaptırıldı. Sigara ve egzersizin ortak etkileri ile serum CGRP seviyeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi çalışmamızın orijinal yönünü oluşturmaktadır.

Dolaşımdaki CGRP artışının sebebi, periferik kaynaklara veya merkezi sinir sistemine bağlanmaktadır. Periferik kompartmanlardaki CGRP'nin esas olarak tiroid, iskelet kası ve yağ dokusundan kaynaklandığı düşünülmektedir. İskelet kası, egzersiz sırasında dolaşımdaki CGRP'ye katkıda bulunmaktadır ⁷³.

Egzersiz ve CGRP arasındaki ilişki için Sun ve ark. erkek sıçanlara uyguladıkları 3 haftalık egzersiz ön koşullamanın; DRG'de CGRP sentezini, serumda CGRP seviyelerini ve kalpte CGRP ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığını göstermişlerdir. Bu çalışma, egzersiz ön koşullamanın DRG'de CGRP sentezini, kanda ve kalpte CGRP seviyelerini artırdığını, CGRP'nin periferde birikmesini ve salınmasını teşvik ettiğini göstermektedir. Aynı zamanda egzersizin kardiyoprotektif etkisinde CGRP'nin önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır ². Başka bir çalışmada Aveseh ve ark. sıçanlara 12 hafta boyunca kademeli olarak artan egzersiz programı uygulamıştır. Akut egzersize

cevap olarak, serum ve beyin omurilik sıvısındaki CGRP konsantrasyonunun; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında egzersiz grubunda anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir ⁷³. Wang ve ark. çalışmalarında sıçanları 36°C'de korunan ılık suda 4 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 40 dk yüzdürmüştür. Çalışma sonucunda; serum ve sol ventrikül dokularındaki CGRP düzeylerinin, miyokard infarktüsü (MI) gruplarında MI+egzersiz gruplarına kıyasla önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir ⁶⁷. Başka bir çalışmada Parnow ve ark. Wistar tipi sıçanlara dayanıklılık ve direnç egzersizi yaptırmıştır. Egzersiz gruplarında soleus ve tibialis anterior kaslarının CGRP içeriğinin sedanter gruba göre önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir ⁷⁴.

Sigara ve CGRP arasındaki ilişki için Kichko ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada; sigara dumanının toplam partikül maddesinin TRPA1 reseptörleri yoluyla trakeal CGRP salınımını aktive ettiği gösterilmiştir ⁷⁵. Benzer şekilde Topsakal ve ark. yaptığı bir çalışmada, sigaraya maruz kalmanın; apoptotik aktivitede, TNF- α ve CGRP ekspresyonunda bir artışa yol açtığını göstermişlerdir ⁵².

Yapılan klinik çalışmalarda, CGRP'nin vazodilatör etkisinin hipertansiyon, kalp yetmezliği ve Raynaud hastalığında yararlı etkileri olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca CGRP'nin proanjiyojenik aktivite sergilediği gösterilmiştir ⁶⁷.

Cinsiyet ve CGRP arasındaki ilişki için yapılan çalışmalar; merkezi sinir sisteminde östrojen eksikliğinin; orta beyin periakuaduktal gri cevherinde, hipotalamusun medial preoptik çekirdeğinde ve lomber DRG'de CGRP seviyelerini artırdığını göstermiştir. Östrojen tedavisinden sonra DRG'de ve trigeminal kaudat nukleusta CGRP ekspresyonu düşmüştür.

Androjen reseptörlerinde olduğu gibi, az sayıda çalışma progesteron tarafından CGRP modülasyonuna odaklanmıştır ⁷⁰. Progesteronun salgılanması trigeminal çekirdekdeki CGRP içeriğini azaltırken ⁷⁶, DRG'de ve plazmada i-CGRP'yi artırdığı görülmektedir ⁷⁷. Bu hormonlarla yapılan çalışmalar çok sınırlı olduğundan, androjen ve progesteron reseptörlerinin trigeminovasküler sistemde CGRP düzenlemedeki rolü henüz belirlenmemiştir ⁷⁰.

Yukarıda verilen deneysel ve klinik çalışmalarda tespit edilen bulgular model olarak farklı olsa da CGRP seviyeleri açısından sunulan çalışma ile paralellik göstermektedir. Sunulan çalışmada, Wistar tipi sıçanlarda 6 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 30 dk, sigara dumanına maruz bırakma ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 30 dk, 15m/dk

hızla koşu bandı egzersizi uygulandı. Sigara ve egzersizin serum CGRP seviyeleri üzerine etkisi araştırıldı.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre erkek sigara, egzersiz ve sigara+egzersiz gruplarında erkek kontrol grubuna göre, serum CGRP seviyelerinde artış gözlemlendi. Dişi egzersiz ve sigara+egzersiz gruplarında dişi kontrol grubuna göre serum CGRP seviyelerinde artış gözlemlendi. Fakat bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Kontrol ve deney grupları cinsiyet değişkenine bağlı olarak değerlendirildiğinde ise tüm gruplarda erkek sıçanların serum CGRP seviyeleri, dişi sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Bunun sebebinin erkek sıçanlardaki düşük östrojen seviyesi olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda bu sonuç serum CGRP düzeylerinde cinsiyet farkının göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermekte ve CGRP'nin kardiyoprotektif etkisinin erkeklerde dişilere göre daha etkin olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmaya ilave olarak ileri çalışmalarda, egzersiz uygulama süresi ve yoğunluğunun artırılması önerilmektedir. Cinsiyet hormonları ile CGRP düzeyi arasındaki ilişki için daha ileri düzey çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Daneshyar S, Gharakhanlou R, Nikooie R, Forutan Y. The Effect of High-Fat Diet and Streptozotocin-Induced Diabetes and Endurance Training on Plasma Levels of Calcitonin Gene-Related Peptide and Lactate in Rats. *Can J Diabetes*. 2014;38(6):461-465.
2. Sun XJ, Pan SS. Role of calcitonin gene-related peptide in cardioprotection of short-term and long-term exercise preconditioning. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014;64(1):53-59.
3. Russell FA, King R, Smillie S-J, Kodji X, Brain SD. Calcitonin Gene-Related Peptide: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev*. 2014;94(4):1099-1142.
4. Pota V, Quagliariello V, Armenia E, et al. CGRP and Visceral Pain: The Role of Sex Hormones in In Vitro Experiment. *J Cell Biochem*. 2017;118(3):510-517.
5. Meng J, Wang J, Lawrence G, Dolly JO. Synaptobrevin I mediates exocytosis of CGRP from sensory neurons and inhibition by botulinum toxins reflects their anti-nociceptive potential. *J Cell Sci*. 2007;120(16):2864-2874.
6. Hartmann T, Marino F, Duffield R. Tobacco smoking and acute exercise on immune-inflammatory responses among relative short and longer smoking histories. *Cytokine*. 2019;123(March):154754.
7. Kevin S. Heffernan, PhD1, 2, Richard H. Karas, MD PhD1, 2, Eshan A. Patvardhan, MBBS1, and Jeffrey T. Kuvin MF the VFSG. Endothelium-dependent vasodilation is associated with exercise capacity in smokers and non-smokers. *Vasc Med* . 2009.
8. Huf F, Bandiera S, Müller CB, et al. Comparative study on the effects of cigarette smoke exposure, ethanol consumption and association: Behavioral parameters, apoptosis, glial fibrillary acid protein and S100 β immunoreactivity in different regions of the rat hippocampus. *Alcohol*. 2019;77:101-112.
9. Lourenço MAM, Braz MG, Aun AG, et al. Spondias mombin supplementation attenuated cardiac remodelling process induced by tobacco smoke. *J Cell Mol Med*. 2018;22(8):3996-4004.
10. Fujinami Y, Fukui T, Nakano K, et al. The effects of cigarette exposure on rat salivary proteins and salivary glands. *Oral Dis*. 2009;15(7):466-471.
11. Hartmann T, Marino F, Duffield R. Tobacco smoking and acute exercise on

- immune-inflammatory responses among relative short and longer smoking histories. *Cytokine*. 2019;123(March):154754.
12. Madani A, Alack K, Richter MJ, Krüger K. Immune-regulating effects of exercise on cigarette smoke-induced inflammation. *J Inflamm Res*. 2018;11:155-167.
 13. Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature*. 1982;298(5871):240-244.
 14. Ghatta S, Nimmagadda D. Calcitonin gene-related peptide: Understanding its role. *Indian J Pharmacol*. 2004;36(5):277-283.
 15. Gibbins IL, Furness JB, Costa M, MacIntyre I, Hillyard CJ, Girgis S. Co-localization of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity with substance P in cutaneous, vascular and visceral sensory neurons of guinea pigs. *Neurosci Lett*. 1985;57(2):125-130.
 16. Kee Z, Kodji X, Brain SD. The role of calcitonin gene related peptide (CGRP) in neurogenic vasodilation and its cardioprotective effects. *Front Physiol*. 2018;9(SEP):1-13.
 17. New Helen V.; Mudge Anne W. Calcitonin Gene-Related Peptide Regulates Muscle Acetylcholine Receptor Synthesis. *Nat Publ Gr*. 1986.
 18. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhatsky A, Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci*. 2009;32(1):19-29.
 19. Rossuma D Van, Hanisch U-K, Quirion R. Neuroanatomical Localization , Pharmacological and Functions of CGRP , Related. *Neurosci Biobehav Rev*. 1997;21(2):649-678.
 20. Russo AF, City I, City I, City I. Calcitonin Gene-Related Peptide: A New Target for Migraine. 2016:533-552.
 21. Rossi SG, Dickerson IM, Rotundo RL. Localization of the Calcitonin Gene-related Peptide Receptor Complex at the Vertebrate Neuromuscular Junction and Its Role in Regulating Acetylcholinesterase Expression. *J Biol Chem*. 2003;278(27):24994-25000.
 22. Hargreaves R, Olesen J. Calcitonin Gene-Related Peptide Modulators – The History and Renaissance of a New Migraine Drug Class. *Headache*. 2019:1-20.

23. Raddant AC, Russo AF. Calcitonin gene-related peptide in migraine: intersection of peripheral inflammation and central modulation. *Expert Rev Mol Med.* 2011;13(November):1-18.
24. Nelson MT, Huang Y, Brayden JE, Hescheler J, Standen NB. Arterial dilations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of K⁺ channels. *Nature.* 1990;344(6268):770-773.
25. Schaeffer C, Vandroux D, Thomassin L, Athias P, Rochette L, Connat JL. Calcitonin gene-related peptide partly protects cultured smooth muscle cells from apoptosis induced by an oxidative stress via activation of ERK1/2 MAPK. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2003;1643(1-3):65-73.
26. Wimalawansa SJ. Blood Pressure and Cardiovascular Tone: Role of CGRP Family of Peptides. *Sci World J.* 2005;1:32-32.
27. Hagner S, Stahl U, Knoblauch B, McGregor G, Lang R. Calcitonin receptor-like receptor: Identification and distribution in human peripheral tissues. *Cell Tissue Res.* 2002;310(1):41-50. d
28. Brain SD, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I, Williams TJ. Potent vasodilator activity of calcitonin gene-related peptide in human skin. *J Invest Dermatol.* 1986;87(4):533-536.
29. Wimalawansa SJ. Calcitonin Gene-Related Peptide and Its Receptors: Molecular Genetics, Physiology, Pathophysiology,. 1996;17(5).
30. Gray DW, Marshall I. Human α - calcitonin gene- related peptide stimulates adenylate cyclase and guanylate cyclase and relaxes rat thoracic aorta by releasing nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 1992;107(3):691-696.
31. Hasbak P, Lundby C, Olsen NV, Schifter S, Kanstrup IL. Calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin release in humans: Effects of exercise and hypoxia. *Regul Pept.* 2002;108(2-3):89-95.
32. Li J, Carnevale KA, DiPette DJ, Supowit SC. Renal protective effects of α - calcitonin gene-related peptide in deoxycorticosterone-salt hypertension. *Am J Physiol Physiol.* 2013;304(7):F1000-F1008.
33. Ruterjg J, Ilmer M, Recio A, et al. TRPM8 on mucosal sensory nerves regulates colitogenic responses by innate immune cells via CGRP. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;5(6):1-8.
34. Steinritz D, Stenger B, Dietrich A, Gudermann T, Popp T. TRPs in Tox:

- Involvement of Transient Receptor Potential-Channels in Chemical-Induced Organ Toxicity—A Structured Review. *Cells*. 2018;7(8):98.
35. Wu L, Sweet T, Clapham DE. Current Progress in the Mammalian TRP Ion Channel Family. *Pharmacol Rev*. 2010;62(3):381-404.
 36. Oxford GS. The Role of TRP Channels in Migraine. *Open Pain J*. 2013;6(1):37-49.
 37. Flockerzi V. An introduction on TRP channels. *Handb Exp Pharmacol*. 2007;179(2):1-19.
 38. Benemei S, Dussor G. TRP Channels and Migraine: Recent Developments and New Therapeutic Opportunities. *Pharmaceuticals*. 2019;12(2):54.
 39. Bais S, Greenberg RM. TRP channels as potential targets for antischistosomes. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist*. 2018;8(3):511-517.
 40. Dussor G, Yan J, Xie JY, Ossipov MH, Dodick DW, Porreca F. Targeting TRP channels for novel migraine therapeutics. *ACS Chem Neurosci*. 2014;5(11):1085-1096.
 41. Benemei S, De Cesaris F, Fusi C, Rossi E, Lupi C, Geppetti P. TRPA1 and other TRP channels in migraine. *J Headache Pain*. 2013;14(1):1.
 42. Utsumi D, Matsumoto K, Tsukahara T, Amagase K, Tominaga M, Kato S. Transient receptor potential vanilloid 1 and transient receptor potential ankyrin 1 contribute to the progression of colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice: Links to calcitonin gene-related peptide and substance P. *J Pharmacol Sci*. 2018;136(3):121-132.
 43. Huang X, Hu Y, Zhao L, et al. TRPV4 plays an important role in rat prefrontal cortex changes induced by acute hypoxic exercise. *Saudi J Biol Sci*. 2019;1-13.
 44. González-Ramírez R, Chen Y, Liedtke WB et al. TRP Channels and Pain. In: *Neurobiology of TRP Channels*. ; 2017.
 45. World Health Organization. Tobacco Fact Sheet. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>. Published 2019.
 46. Sağlık Bakanlığı. T.C. Sağlık Bakanlığı Ulusal Tütün Kontrol Programı ve Eylem Planı. 2008.
 47. Sumartiningsih S, Lin H-F, Lin J-C. Cigarette Smoking Blunts Exercise-Induced Heart Rate Response among Young Adult Male Smokers. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(6):1032.

48. Naeem Z. Second-Hand Smoke : Ignored Implications. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2016;9(2):v-vi.
49. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: An update. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(10):1731-1737.
50. Aslan D, Bilir N. Çevresel Sigara Dumanından Etkilenim ve Çocuklar. *Sürekli Tıp Eğitimi Derg*. 2006;15(5):75-78.
51. Bhalla DK, Hirata F, Rishi AK, Gairola CG. Cigarette smoke, inflammation, and lung injury: A mechanistic perspective. *J Toxicol Environ Heal - Part B Crit Rev*. 2009;12(1):45-64.
52. Topsakal S, Ozmen O, Aslankoc R, Aydemir DH. Pancreatic damage induced by cigarette smoke: The specific pathological effects of cigarette smoke in the rat model. *Toxicol Res (Camb)*. 2016;5(3):938-945.
53. Kwong K, Wu ZX, Kashon ML, Krajnak KM, Wise PM, Lee LY. Chronic smoking enhances tachykinin synthesis and airway responsiveness in guinea pigs. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;25(3):299-305.
54. Lange M, Enkhbaatar P, Traber DL, et al. Role of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in ovine burn and smoke inhalation injury. *J Appl Physiol*. 2009;107(1):176-184.
55. Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sport Med*. 2014;44(2):211-221.
56. Mosenzon. Quality assessment and improvement in diabetes care-an issue now and for the future. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;26(6):446-447.
57. Çolakoğlu M. Dayanıklılık Gelişiminin Metabolik ve Fizyolojik Temelleri-1. *CBÜ Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi*.1995.
58. Ehrman JK, Kerrigan DJ, Keteyian SJ. *İleri Egzersiz Fizyolojisi: Temel Kavramlar ve Uygulamalar*. 2018.
59. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong's Review of Medical Physiology, 25. Edition*. 2018.
60. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 13. Edition*. 2016.
61. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):1-8.
62. Romero SA, Minson CT, Halliwill JR. The cardiovascular system after exercise.

- J Appl Physiol* 2017; 122: 925–932.
63. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - Evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sport*. 2015;25:1-72.
 64. de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, de Andrade RV, Simões HG. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport Med*. 2017;47(2):277-293.
 65. Pinckard K, Baskin KK, Stanford KI. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. *Front Cardiovasc Med*. 2019;6.
 66. Russell AP, Foletta VC, Snow RJ, Wadley GD. Skeletal muscle mitochondria: A major player in exercise, health and disease. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj*. 2014;1840(4):1276-1284.
 67. Wang YH, Zhang L, Jia L, et al. Calcitonin gene-related peptide in aerobic exercise induces collateral circulation development in rat ischemia myocardium. *Biomed Pharmacother*. 2016;82:561-567.
 68. Peroni RN, Abramoff T, Neuman I, Podestá EJ, Adler-Graschinsky E. Phytoestrogens enhance the vascular actions of the endocannabinoid anandamide in mesenteric beds of female rats. *Int J Hypertens*. 2012;2012.
 69. Warren RC. Increased concentration of circulating calcitonin gene related peptide during normal human pregnancy. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;293(6558):1329-1330.
 70. Labastida-Ramírez A, Rubio-Beltrán E, Villalón CM, MaassenVanDenBrink A. Gender aspects of CGRP in migraine. *Cephalalgia*. 2019;39(3):435-444.
 71. Jansen I, Valdemarsson S, Hedner P, Ekman R, Edvinsson L. Influence of sex hormones on calcitonin gene-related peptide in man: Effects of sex difference, contraceptive pills and pregnancy. *Cephalalgia*. 1991;11(SUPPL. 11):48-49.
 72. Pinto PR, da Silva KS, Iborra RT, et al. Exercise training favorably modulates gene and protein expression that regulate arterial cholesterol content in CETP transgenic mice. *Front Physiol*. 2018;9(MAY):1-11.
 73. Aveseh M, Koushkie-Jahromi M, Nemati J, Esmaeili-Mahani S. Serum calcitonin gene-related peptide facilitates adipose tissue lipolysis during exercise via PIPLC/IP3 pathways. *Endocrine*. 2018;61(3):462-472.
 74. Parnow A, Gharakhanlou R, Gorginkaraji Z, et al. Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related peptide and acetylcholine receptor

- at slow and fast twitch skeletal muscles and sciatic nerve in male wistar rats. *Int J Pept.* 2012;2012.
75. Kichko TI, Kobal G, Reeh PW. Cigarette smoke has sensory effects through nicotinic and TRPA1 but not TRPV1 receptors on the isolated mouse trachea and larynx. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2015:ajplung.00164.2015.
76. Moussaoui S, Duval P, Lenoir V, Garret C, Kerdelhue B. CGRP in the trigeminal nucleus, spinal cord and hypothalamus: Effect of gonadal steroids. *Neuropeptides.* 1996;30(6):546-550.
77. Gangula PRR, Chauhan M, Reed L, Yallampalli C. Age-related changes in dorsal root ganglia, circulating and vascular calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentrations in female rats: Effect of female sex steroid hormones. *Neurosci Lett.* 2009;454(2):118-123.

7. ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Düzce’de doğdu. 2011 yılında Düzce Anadolu Öğretmen Lisesi’nden mezun oldu. Lisans eğitimini 2011-2015 yılları arasında İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümünde tamamladı. 2015-2018 yılları arasında özel bir kurumda pediatrik fizyoterapi alanında fizyoterapist olarak çalıştı. 2016 yılında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2018 yılı Mayıs ayında Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaya başladı ve halen görevine devam etmektedir.

