

T.C. KOCAELI ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**S GARA KULLANIMININ SERUM BDNF DÜZEYLERİ
VE OKSİJEN-ANTİOKSİJEN SİSTEMİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Ümit BİLGE

BİLİM YAKINAKA ANABİLİM DALI

Kocaeli 2013

T.C. KOCAELI ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**SİGARA KULLANIMININ SERUM BDNF DÜZEYLERİ
VE OKSİDAN-ANTİOKSİDAN SİSTEMİLE İLİŞKİSİ**

Dr. Ümit BİLGE

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Sevinç KURBAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hale MARAL KIR

Kocaeli 2013

Etik Kurul Onay Tarihi: 20.10.2011

Proje No: 2011/126

TE EKKÜR

Uzmanlık e itimim süresince yeti memde bana destek olan, bu tezin tamamlanmasında yardımını hiç esirgemeyen ve ileriki ya amımda da kendime sosyal ve profesyonel anlamda örnek almaktan onur duyacağım kıymetli hocam Doç.Dr. Hale Maral KIR'a;

Mesleki hayatımda bana rehberlik edecek beceri ve bilgiyi kazanmamda çok büyük emekleri olan de erli bölüm başkanımız Prof.Dr. Sevinç KU KAY'a ve de erli hocalarımız Prof.Dr.Mustafa Baki ÇEKMEN, Prof.Dr. Meltem Özden D LL O LUG L ve Yrd.Doç.Dr. F. Ceyla ERALDEM R'e;

Uzmanlık e itimim süresince her konuda yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Ar .Gör. Do a ÖZSOY'a, Ar .Gör. M.Mert MUSUL'a ve Ar .Gör.Berrin ÖZTA 'a;

Yıllarca beraber çalış tığımız ve bu geçen zaman süresince beraber olmaktan keyif aldığım sevgili laboratuvar çalış anı arkadaşlarıma;

Her zaman yanımda olan ve beni her anlamda destekleyen sonsuz bir sevgiyle ba lı olduğum her eyim A LEM'e;

sonsuz te ekkür ederim.

Dr. Ümit B LG L

Ç NDEK LER.....Sayfa

Ç NDEK LER D Z N	1
S MGELER VE KISALTMALAR D Z N	3
EK LLER D Z N	5
TABLolar D Z N	6
1. AMAÇ VE KAPSAM.....	7
2.GENEL B LG	8
2.1.Sigara kullanımı ve genel özellikleri.....	8
2.1.1.Sigara dumanının bile enleri.....	9
2.1.1.1. Sigara dumanı gaz fazı radikalleri.....	10
2.1.1.2. Sigara dumanı tar fazı radikalleri.....	11
2.2. Oksidatif Stres.....	13
2.2.1 Reaktif Oksijen Türleri.....	15
2.2.2 Lipid peroksidasyonu.....	18
2.3. Antioksidanlar.....	19
2.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar.....	20
2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz.....	20
2.3.1.2. Katalaz.....	21
2.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz.....	22
2.3.1.4. Glutasyon Redüktaz.....	22
2.3.1.5. Sitokrom Oksidaz:.....	23
2.3.1.6. Glutasyon Transferaz.....	23
2.3.2 Enzim Olmayan Antioksidanlar.....	23
2.3.2.1. E Vitamini.....	23
2.3.2.2. C Vitamini.....	24
2.3.2.3. Karotenoidler.....	24
2.3.2.4. Flavonoidler.....	24
2.3.2.5. Glutasyon (GSH).....	25
2.3.2.6. Melatonin.....	25
2.3.2.7. Ubikinonlar.....	25
2.3.2.8. Di er Antioksidanlar.....	25

2.4.Nörotrofinler.....	25
2.4.1. BDNF Geni ve Düzenlenmesi.....	26
2.4.2. BDNF reseptörleri.....	29
2.4.3. Santral Sinir Sisteminde BDNF Da ılımı.....	29
2.4.4. Sinyal iletimi.....	29
2.4.5. BDNF'nin Fonksiyonları.....	30
2.4.6. BDNF ve Sosyal Ortam; Stres ve Zengin Çevre.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	33
3.1. Olguların Seçimi ve Örneklerin Toplanması.....	33
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	33
3.3. Lipit Peroksidasyon ndeksi (MDA) ölçümü.....	34
3.4. Eritrosit GSH Düzeyi Ölçümü.....	35
3.5. BDNF Düzeyi Ölçümleri.....	37
3.6. NO Düzeyi Ölçümleri.....	37
3.7. SOD Düzeyi Ölçümleri.....	37
3.8. statistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR.....	39
5. TARTI MA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNER LER.....	55
7.ÖZET.....	56
8. ABSTRACT.....	57
9. KAYNAKLAR.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACT(aqueous cigarette tar) : Sigara Tarının Sudaki Ekstreleri

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor

CaRE: Calcium-Response Element

CREB: cAMP/Ca⁺⁺ Response Element Binding

cNOS: Yapısal Nitrik Oksit Sentaz

ÇDYA: Çoklu Doymamı Ya Asidi

DM: Diabetes Mellitus

DTNB: 5-5'-Ditiyobis 2-Nitrobenzoik asit

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

ESR: Elektron Spin Rezonansında

eNOS: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz

GABA: Gamma Amino Bütirik Asit

GSH: Glutasyon

GS[•]: Glutasyon Radikali

GSSG: Yükseltgenmi Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

HOCl: Hipoklorik Asit

HO₂[•]: Hidroperoksil

H₂O₂: Peroksit

IARC: International Agency for Research on Cancer

iNOS : İndüklenebilir NOS

KAH: Kronik Arter Hastalığı

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

L[•]: Lipid Radikali

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LO[•]: Alkoksil Radikali

LOOH: Lipid Hidroperoksit

MDA: Malondialdehit

NMDA: N-Metil D-Aspartat

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz
NO²: Nitrojen Dioksite
nNOS: Nöronal NOS
NRSE: Neuron-Restrictive Silencer Element
NT: Nörotrofin
O₂[•]: Süperoksit Radikali
OH[•]: Hidroksil Radikali
ONOO⁻: Peroksinitrit
ONOO[•]: Peroksinitriti
ONOOH: Peroksinitroz Asit
ppm : Parts Per Million
ROT: Reaktif Oksijen Türleri
sit.P450: Sitokrom P-450
SOD: Süperoksit Dismutaz
SSS: Santral Sinir Sistemin
TBA: Tiyobarbitürik Asit
TCA: Trikloro Asetik Asit
Trk: Tropomiyosine-Related Kinase
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

EK LER D Z N

ekil 1: Sigara Dumanı: Fazların Tanımı

ekil 2: Sigara Dumanı Gaz Fazı Radikalleri ve Akci erle li kişi

ekil 3: Sigara tar fazı bile ikleri ve DNA ile etkile imleri

ekil 4: BDNF geninin yapısı

ekil 5: BDNF gen transkripsiyonunu düzenleyen Ca⁺⁺'nin aktive etti i sinyal yolu

ekil 6: BDNF Sinyal Sistemi

ekil 7: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum BDNF düzeyleri

ekil 8: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum SOD düzeyleri

ekil 9: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum NO düzeyleri

ekil 10: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki plazma MDA düzeyleri

ekil 11: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki eritrosit GSH düzeyleri

TABLULAR D Z N

Tablo 1: GSH ölçümü için izlenecek prosedürler

Tablo 2: Sigara içen ve içmeyen gruplarda BDNF, SOD, NO, GSH ve MDA düzeyleri

Tablo 3: Sigara içen ve içmeyen kadınlarda BDNF, SOD, NO, GSH ve MDA düzeyleri

Tablo 4: Sigara içen ve içmeyen erkeklerde BDNF, SOD, NO, GSH ve MDA düzeyleri



1. AMAÇ VE KAPSAM

Sigara, yaygın ve en güçlü ba ımlılık yapıcı alı kanlıklardandır. Geli mekte olan dünyada hızla yaygınla makta ve gelecekte dünya sa lı ı için en büyük tehditlerden birini olu turaca ı dü ünülmektedir. Sigara kullanımıyla beyin hücrelerinin ölümü, hafıza zayıflı ı, ö renme bozuklu u ve erken bunamanın görüldü ü bilinmektedir (1).

Nörotropinler ise sinir sisteminin geli mesinde önemli rol oynarlar. Nörotropinlerden olan Brain Derived Nörotrofik Faktör (BDNF) ya amın erken döneminde santral sinir sistemin (SSS)'de nöronal geli imin hemen hemen tüm safhalarını etkiler. Bunlar arasında; nöronal proliferasyon, migrasyon, nöronal ya am ve korunma, nörogenez, morfogenetik ve kemotrofik etkiler, aksonal dallanma, dendritik büyüme ve dallanma, sinaps formasyonu, sinaptik ileti, nöronal uyarılma, plastisite, eksitator ve inhibitör sinapsların modülasyonu, N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin modülasyonu, nörotransmitter ve nöropeptid sentezinin uyarılması, salıverilmesi sayılabilir (2). BDNF seviyeleri postnatal geli im sırasında aktivite ba ımlı mekanizmalarla düzenlenir. BDNF düzeyleri genetik olarak sıkı bir kontrol altında olmakla birlikte fiziksel aktivite, sigara ve patolojik bazı durumlarda serum düzeylerinin de i ti ini gösteren bazı çalı malar bulunmaktadır (3, 4, 5).

Bu çalı madaki amacımız sigara kullanımının serum BDNF düzeyleri üzerindeki etkisini ara tırıp, bu düzeylerle oksidan-antioksidan parametreler olan Malondialdehit (MDA), Glutasyon (GSH), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Nitrik Oksit (NO) düzeyleri arasında ili ki olup olmadı ını saptamaktı.

2. GENEL B LG

2.1. Sigara kullanımı ve genel özellikleri

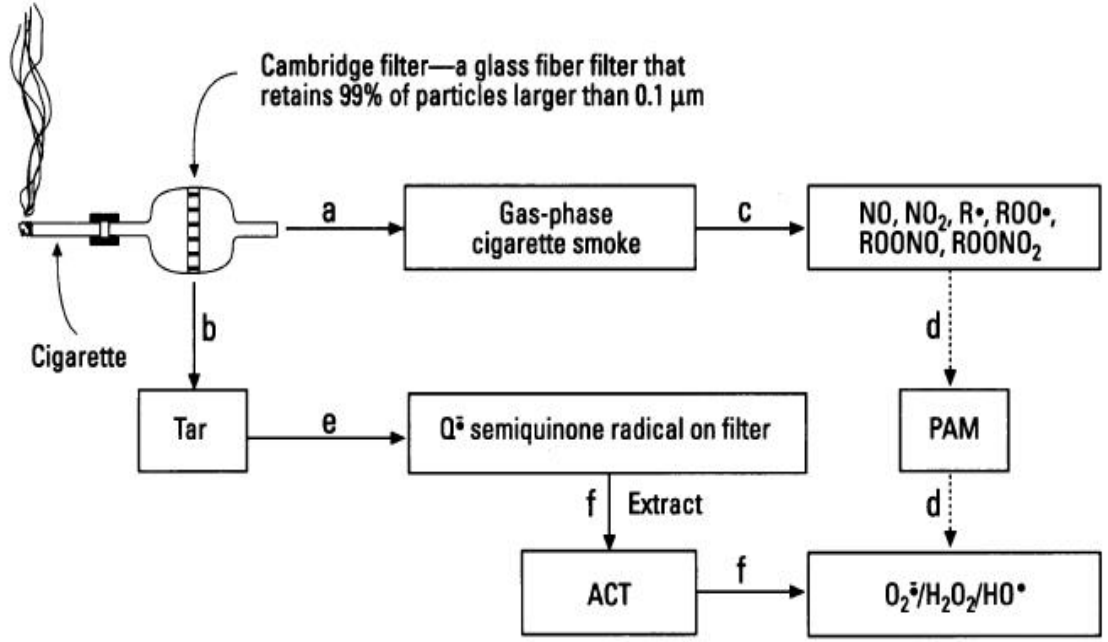
Sigaranın, Avrupalı ka iflerin Kuzey Amerika'ya gidip, oranın yerli halkıyla barı çubu u tütürmesine kadar uzanan çok eski bir tarihçesi vardır. Sigara geli mekte olan dünyada hızla yaygınla maktadır ve gelecekte dünya sa lı ı için en büyük tehditlerden birini olu turaca ı dü ünülmektedir (1). Yüksek gelirli bazı ülkelerde erkekler arasında kullanım prevelansında dü ü e ilimi görülmektedir, ancak genç nüfus ve kadınlar arasındaki kullanımı halen yaygınla maktadır (6). Sigara, tütün kullanımının en yaygın biçimidir. Günümüzde ortalama olarak erkeklerin % 47,5'i ve kadınların % 10,3'ü sigara ba ımlısıdır (7). Tütün, dünyada ikinci en sık ölüm nedenidir. Dünya Sa lık Örgütü'nün (WHO) verdi i rakamlara göre dünyada her on üç saniyede bir ki i sigara yüzünden hayatını kaybetmektedir, bu rakama ölmeden önce yıllarca acı çeken insanlar dahil de ildir. u anki e ilimler devam etti i takdirde 2030 yılı itibariyle her yıl 9 milyondan fazla insanın ölümüne yol açaca ı tahmin edilmektedir. Sigaradan ölümlerde en fazla artı üçüncü dünya ülkelerinde gözlenmektedir (7). 45-64 ya ı arası sigara içen bireyler içmeyenlere göre 3 kat fazla mortalite oranına sahiptir, 65-84 ya ı arası ise bu oran 2 kat olarak belirlenmiştir (8). Sigara çe itli organ sistemlerini etkileyerek 'tütün ile ili kili hastalıklar' olarak adlandırılan bir grup hastalı a yol açar. Kanser, kalp ve akci er hastalıkları ile ili kisi iyi tanımlanmıştır. Sigara ile ili kili hastalıklardan ölen her bir ki iye kar ılık, yirmi ki i sigara ile ili kili ciddi bir hastalıkla kar ı kar ıya kalmaktadır (9). Ateroskleroz ve Kronik Obstrüktif Akci er Hastalı ı (KOAH) gibi yaygın bir grup sistemik hastalıkla sigaranın ili kisini ortaya koyan çalı malar olmasına ra men, sigaranın sistemik etkilerini tam olarak nasıl gerçekle tirdi i kesinlik kazanmamıştır (10).

2.1.1. Sigara dumanının bile enleri

Sigara dumanı insan biyolojik sistemleriyle karmaşık reaksiyonlara giren 4000'in üzerinde biyoaktif madde içerir. Her bir inhalasyonda ortalama 10^{17} oksidan moleküle maruz kalındığı bilinmektedir (11). Dolayısıyla sağlıklı üzerine istenmeyen etkilerinden sorumlu bir yolak oksidatif strese maruziyet olarak karımıza çıkar (12). Bile enleri boyutta hasar oksidanların endojen oluşumu sonucu inflamatuvar ve immun sistemlerin etkilenmesiyle ortaya çıkar. Oluşan oksidatif stres, hedef moleküllerde oksidatif stresin etkilerinin gösterilmesi veya oksidatif strese yanıtın ortaya konmasıyla gösterilebilir (13).

Sigara dumanının kimyasal yapısı tütünün kimyasal yapısıyla aynı değildir, zira tütünün yanmasıyla yeni bileşikler açığa çıkar. Bu sebepten dolayı sigara dumanıyla ilgili lenmi /yanmamı tütünün yapıları ayrı ayrı değerlendirilmelidir (14). Yanmamı tütün yaklaşık 2500 adet kimyasal madde içermektedir. Tütünün yanması sonucu ana akım ve yan akım denilen iki tür duman meydana gelir. Ana akım sigara içicisi dumanı içine çektiğinde yanan sigara bölümünde açığa çıkar; yan akım ise sigara kendiliğinden yanarken yayılan sigara dumanıdır. Bir sigaradan ortama saçılan dumanın büyük çoğunluğu yan akımdan ibarettir. Bazı kanserojen maddelerin miktarı yan akım dumanında ana akıma göre 10-200 kat daha fazladır. International Agency for Research on Cancer (IARC) 2004'e göre 4000 kadar ana akım bileşeni tanımlanmış ve bu bileşiklerin kalitatif özellikleri ana akım ve yan akımda yaklaşık olarak aynı gözlenmiştir. Sigara dumanındaki kanserle ilişkili bazı maddeler; Arsenik, Benzen, Krom, Nikel, Vinilklorür, 4-aminobifenil, Benzopiren, Kadmiyum, Formaldehit, N-Nitrozodietilamin, N-Nitrozodimetilamin, Asetaldehidbenzopiren, Parakrezol, N-Nitrozometiletilamin, N-Nitrozonornikotin, N-Nitrozopiperidin, N-Nitrozopirrolidin, Orto-toluidin'dir (15).

Sigara dumanı bir filtre yardımıyla -tipik olarak Cambridge cam filtresi; 0,1 µm'den büyük partiküllerin % 99,9'u filtrede kalır- taze ve gaz fazı olmak üzere iki faza ayrılabilir. Bir sigara içicisi gaz fazını olduğu kadar filtreye penetre olan partikülleri de inhale eder. Her iki faz da ileri düzeyde oksidandır (14).

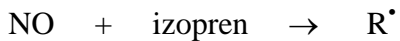
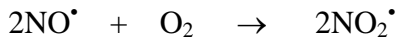


ekil 1: Sigara Dumanı: Fazların Tanımı

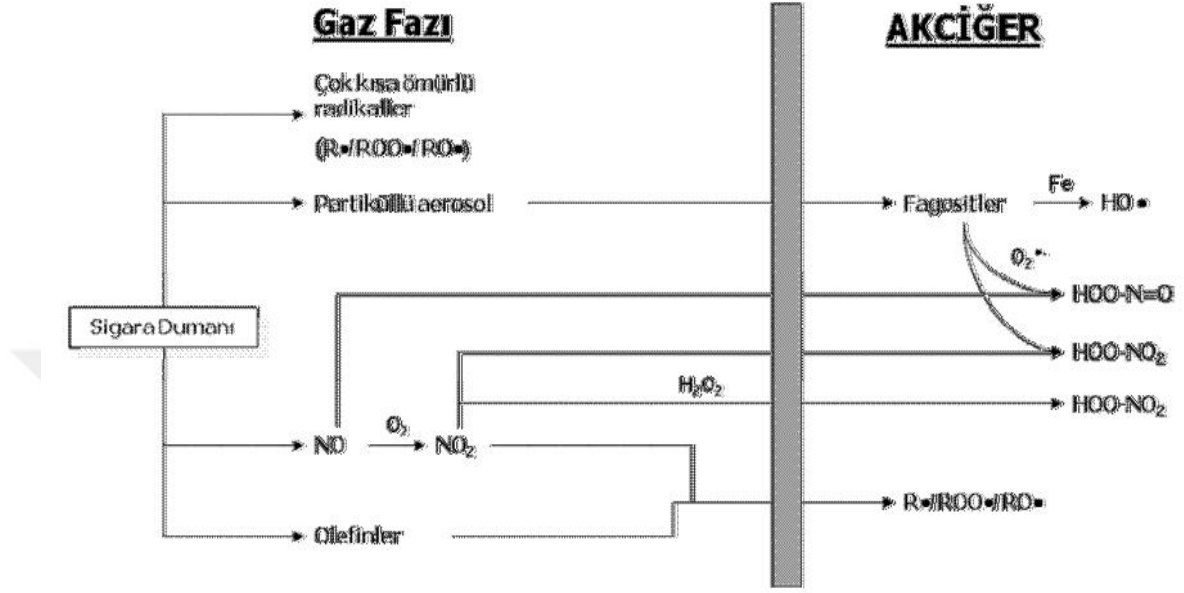
2.1.1.1. Sigara dumanı gaz fazı radikalleri

Gaz fazı her bir inhalasyonda, 10^{14} ün üzerinde düşük molekül ağırlıklı ve 1 saniyeden kısa süreli etkili olabilen karbon ve oksijen merkezli radikallere maruziyete yol açar (16). Ek olarak 500 parts per million (ppm) NO içerir ve bu da yavaşça nitrojen dioksit (NO_2^\bullet) okside olur; her iki gaz da radikaldir. Gaz fazındaki radikaller direkt elektron spin rezonansında (ESR) saptanamayacak kadar kısa ömürlüdürler; ancak indirekt spin trap metoduyla ölçülebilirler (17). Kısa ömürlü olan sigara dumanının gaz fazındaki radikal konsantrasyonları 10 dakikadan fazla süreyle yüksek konsantrasyonda kalabilir. Bu paradoks NO'nun kimyasıyla açıklanmıştır. Mekanizma NO'nun yavaşça nitrojen dioksit okside olması ve sonrasında izopren gibi duman bileşenleriyle karbon merkezli radikaller oluştuğunda açıklanır (18).

Reaksiyonlar aşağıdaki gibidir:



Gaz fazı, karbon ve oksijen merkezli radikaller ve yüksek konsantrasyonlarda nitrik oksit içerdiği için alkil peroksinitrit ve peroksinitrat esterleri de oluşabilir (16).



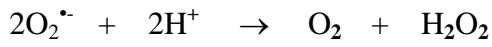
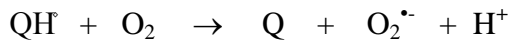
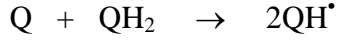
ekil 2: Sigara Dumanı Gaz Fazı Radikalleri ve Akci erle li kişi

2.1.1.2. Sigara dumanı tar fazı radikalleri

Gaz fazındaki radikallerin tersine tar fazındaki radikal uzun ömürlü semikinondur ve direkt olarak ESR yoluyla analiz edilebilir. Sigara tarının sudaki ekstreleri (aqueous cigarette tar-ACT) düşük molekül a ırlıklı semikinon kinon-hidrokinon- sistemi içerir ($Q^{\cdot-}QH_2^{\cdot+}QH^{\cdot+}$). Bunlar bir grup pro-oksidan bile iktir. Semikinon; kinon ve hidrokinonlarla denge halindedir (16). Sigara tar semikinon radikali, böyle radikallerde tipik olarak görüldü ü üzere oksijeni redükleyerek süperoksit olu umuna yol açabilir. Süperoksit mitokondriyel membranları hasarlayarak sitoplazmaya sızar; sitoplazmada hidrojen peroksit ve hidroksil radikaline dönü ebilir. Tar radikalinin aksine süperoksit ve hidroksil radikalleri çok kısa ömürlü ve çok reaktiftirler. Dolayısıyla direkt ESR ile gözlenemezler. Ancak tarın sudaki ekstreleri süperoksit, hidrojenperoksit ve hidroksil radikali ürettiklerinden potent oksidanlara dönü ürler. Bu ACT solüsyonları lipid

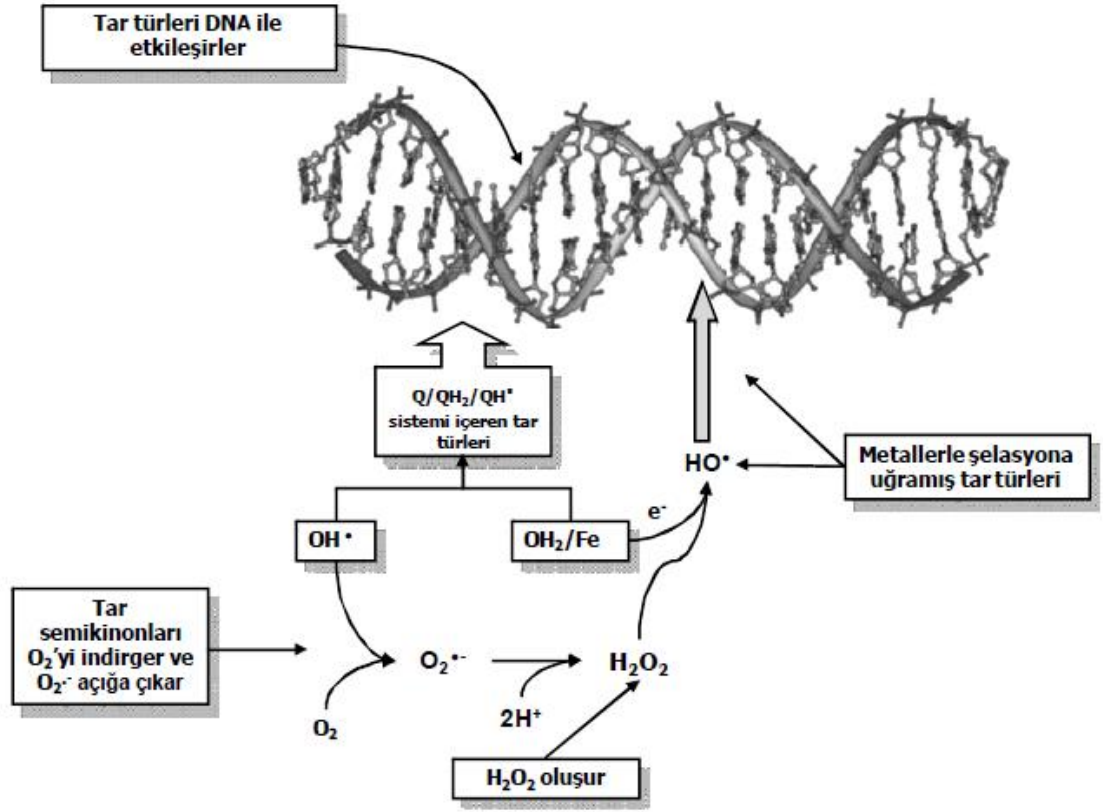
peroksidasyonunu ba latabilir, antiproteinaz ve 1 proteaz inhibitörü gibi proteinleri okside edebilir.

Bu reaksiyonlar a a ıdaki ekilde özetlenebilir.



Bunun dı ında tar fazının içerdi i polihidroksiaromatikler deoksiribonükleik asit(DNA)'e ba lanarak bölgeye spesifik de i iklikler olu turabilir. Kinon-hidrokinon-semikinon sistemi canlı memeli hücrelerine girebilir. Tar radikalince DNA'da olu turulan hasarların onarılması çok basamaklı bir süreçtir ve hataya açıktır. DNA'da tar radikallerinin ba lanmasına daha yatkın bölgelerin varlı ı öne sürülmü tür ve bu bölgeler satüre oldu unda radikal ba lanmasının azaldı ını gösteren çalı malar mevcuttur (19).

Katalazın tar kinonlarına kar ı belirgin koruyucu etkileri oldu u gösterilmi tir. Glutasyonun da benzer ekilde belirgin koruyucu etkileri gösterilmi tir (20).



ekil 3: Sigara tar fazı bileşikleri ve DNA ile etkileşimleri

Sigara içiminin istenmeyen etkilerinden sorumlu ana yollardan biri oksidatif strese yol açmasıdır. Sigara kullanıcıları çok sayıda toksik maddeyi inhale etmeleri sebebiyle oksidatif stresin in vivo etkilerini incelemek için uygun bir popülasyondurlar (20).

2.2. Oksidatif Stres

Orijinal olarak tanımlandığı üzere oksidatif stres hücre, doku veya organ sistemleri düzeyinde oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıdır (21). Oksidatif hasar ise bu denge bozukluğunun bir sonucudur ve hücresel makromoleküllerin oksidatif modifikasyonu, apoptozis veya nekroz yoluyla hücre ölümünün indüksiyonu ve yapısal doku hasarı ile sonuçlanabilir (22). Kimyasal olarak bakıldığında oksidanlar hedef molekülleri okside edebilen moleküllerdir (23).

Bu üç yolla gerçekleşebilir:

1. Molekülden hidrojen çıkarılması
2. Molekülden elektron çıkarılması
3. Moleküle oksijen eklenmesi

Oksidan ajanlar molekülleri direkt ve indirekt olarak hasarlayabilirler. Aerobik koullarda yaayan tüm hücreler çeşitli dış ve iç kaynaklardan köken alan çok sayıda oksidana sürekli olarak maruz kalırlar. Ancak sağlıklı bir organizmada reaktif oksijen türleri (ROT) ile enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Ancak eritrositler gibi bazı hücreler oksidatif süreçlere diğerlerinden daha açık olabilirler. Eritrositlerin sürekli olarak yüksek oksijene maruz kalmaları, hemoglobinin otooksidasyona açık olması ve bir oksidaz/peroksidaz gibi davranabilmesi eritrositleri oksidatif ortama açık hale getirir. Ayrıca eritrositler hasarlı bileşenlerini yeniden sentez ederek onarma yeteneğinden yoksundurlar. Dolayısıyla eritrositler 120 günlük yaşam süreleri zarfında antioksidan bileşenlerine bağımlıdırlar (23).

Oksidanlar ayrıca apoptozis ve inflamasyon gibi ana kaskadların kontrolünde yer alan endojen sinyal molekülleri olarak da görev alırlar (22). Biyolojik sistemlerdeki en önemli oksidanlar çoğunlukla reaktif oksijen türleri olarak bilinirler. Nitrojen ve sülfürden türeyen reaktif nitrojen/sülfür türleri de mevcuttur. Bu moleküllerin bazıları (hidroksil radikali) büyük reaktivite gösterirler. Diğerlerinin biyolojik önemi ise hidroksil radikale kolayca dönüşebilmelerinden kaynaklanır. Bu durum özellikle demir varlığında gerçekleşir (24, 25, 26).

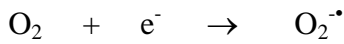
Oksidatif Stresin Rol Oynadığı Düzenlenen Süreçler:

- Nörodejeneratif hastalıklar
- Katarakt
- Sistemik amiloidoz
- Musküler distrofiler
- Romatoid artrit
- Respiratuar distress sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar

- Atreoskleroz
- Diyabetes mellitus
- Multiple skleroz
- Ya lanma
- Gastrik ülser
- Sigara içimiyle ili kili hastalıklar (24, 25, 26)

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijenin indirgenme sürecinin tam olarak tamamlanamamasıyla veya elektron düzeninde olu an de i ikliklerle reaktif oksijen türleri olu ur (19). Bunlar aynı zamanda, son yörüngesinde bir veya daha fazla e lenmemi elektron bulunan atom ya da molekül olduklarından serbest radikal olarak da adlandırılırlar (27). Serbest radikaller çok reaktif maddelerdir. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), yüksek derecede reaktivite gösteren ancak radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen, hipoklorik asit ($HOCl$), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), lipid hidroperoksit ($LOOH$), nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) reaktif oksijen türlerindedir (19). Moleküler oksijen dı yörüngesinde e lenmemi 2 elektron içerdi i için bir diradikaldir. Bu iki elektron paralel iki farklı spinde bulunur. Oksijen kararlı duruma geçmek için suya dönü mek amacıyla elektron almak ister; oksijen molekülündeki elektronların da ılımlı spinin uyumlu bir elektron çifti almasına engeldir. Bu sebeple elektronları teker teker alır ve süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir (27, 28).



O_2 : 16 proton, 16 elektrona sahip nötr bir diradikal

$O_2^{\cdot-}$: 16 proton, 17 elektronu olan negatif yüklü süperoksit anyon radikalidir.

Süperoksit anyon radikali ba lıca elektron transport zincirindeki kaçak elektronlardan kaynaklanır (28). Ayrıca;

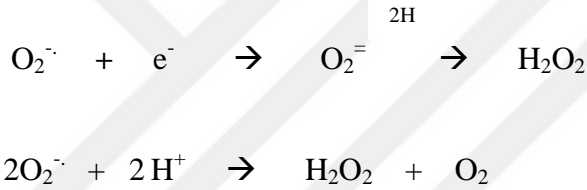
-NADPH'ın NADPH oksidaz tarafından oksitlenmesiyle,

-ksantin ve hipoksantin ksantin oksidaz ile oksitlenmesiyle,

-geçi metalleri varlı ında hemoglobin, flavinler ve monoaminlerin otooksidasyonuyla

-moleküler oksijenin sitokrom P-450 (sit.P450) sisteminde tek elektronla indirgenmesiyle oluşabilir (29, 30, 31).

Her moleküler oksijene 2 elektron eklenirse hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Biyolojik sistemlerde bu genellikle süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği veya 2 süperoksit molekülünün kendili inden girdi i reaksiyonla gerçekleşir.



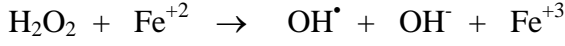
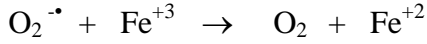
Bu reaksiyon dismutasyon reaksiyonudur. Burada iki süperoksit anyon radikalinden biri yükseltgeyici biri indirgeyici olarak görev yapar. Sit.P-450, D-aminoasit oksidaz, asetil koenzim A oksidaz ve ürik asit oksidaz enzimleri de moleküler oksijene 2 elektron ta ınmasına yol açarak H_2O_2 oluşumunu sağlar. Hidrojen peroksit bir radikal değildir; ancak kararsız bir yapıdır, geçi metallerinden (ferröz demir, küprük bakır gibi) ya da süperoksit radikalinden bir elektron alarak hidroksil radikali oluşur (28).

Haber- Weiss reaksiyonu



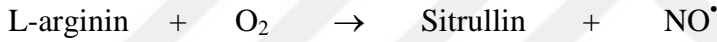
Reaksiyon kendili inden gerçekleşebilir de geçi metalleri ortamda mevcutsa daha hızlı olur.

Fenton reaksiyonu



Hidroksil radikali yarı ömrü çok kısa fakat hasarlayıcı bir moleküldür. Birçok organik molekülü oksitleme kapasitesine sahiptir (32). Moleküler oksijende e lenmemi ancak paralel spinlerde bulunan elektronların spinlerinin anti paralel duruma gelmesiyle daha kararsız bir tür olan singlet oksijen meydana gelir. Singlet oksijen de bir diradikaldir.

Nitrik oksit; azot monoksit veya nitrojen monoksit olarak da adlandırılır. Bazik bir aminoasit olan L-arginini ve moleküler oksijeni kullanan, nitrik oksit sentaz yardımıyla sentezlenir (33).



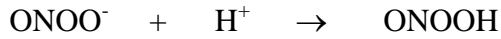
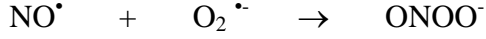
Nitrik oksit sentazın (NOS) üç ana izoformu vardır;

- 1) Nöronlarda (beyin, non adrenerjik non kolinerjik periferik sinirler) ve di er bazı dokularda (akci er, pankreas, mide, uterus) bulunan nöronal nNOS olarak adlandırılan tip I NOS
- 2) mmunolojik uyarılar sonucu indüklenen ve neredeyse tüm çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenebilir iNOS yani tip II NOS
- 3) Endotel hücrelerinde bulunan endotelial eNOS yani tip III NOS

eNOS ve nNOS beraber yapısal NOS (cNOS) olarak da adlandırılırlar (33). NO ve NO₂ iki nitrojen serbest radikalidir. NO e lenmemi bir elektron içerdi i için oksijen, süperoksit radikalleri, demir, bakır, kobalt, manganez gibi geçi metalleriyle hızla reaksiyona girmektedir. Çok kısa yarı ömre sahip olması oksijen ve süperoksitle girdi i reaksiyona ba lanmaktadır. Nitrik oksit radikali süperoksit radikali veya hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek onlardan daha oksidan bir ajan olan peroksinitriti (ONOO⁻) meydana getirir (24). Peroksinitrit bir serbest radikal

de ildir ancak reaktif bir moleküldür. Peroksinitritin protonlanması sonucu peroksinitroz asit (ONOOH) olur; bu molekül de güçlü bir oksidandır.

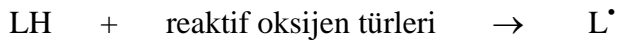
Reaksiyonlar aşağıdaki gibi gerçekleşir:



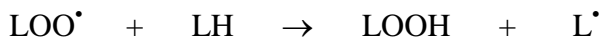
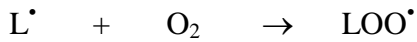
2.2.2. Lipid peroksidasyonu

Reaktif oksijen türleri çoklu doymamı yağ asidi (ÇDYA) molekülünden bir hidrojen atomu çıkardığı zaman bir lipid radikali (L^\bullet) meydana gelir. Bu lipid radikaline bir oksijen molekülü katılırsa lipid peroksil radikali olur. Oluşan lipid peroksil radikali bir ÇDYA'dan bir hidrojen atomu alıp kendisi lipid hidroperoksite dönüşür. Bu arada yeni bir lipid radikali olur. Lipid hidroperoksit bölünerek lipid alkoksil radikali (LO^\bullet) haline gelir. Bir dizi ilerleme ve yıkım evresi sonucunda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA olur. Bu reaksiyonlar antioksidan ajanların fenolik hidrojenini vermesi veya iki peroksil radikalinin birleşmesiyle sona erer (34).

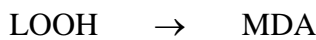
Başlama:



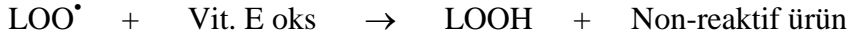
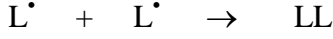
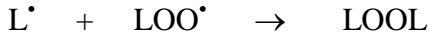
İlerleme:



Yıkım:



Sonlanma:



Oksidanların endojen kaynakları çok çeşitlidir. Mitokondrideki solunum zinciri, immün reaksiyonlar, ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimler ve geçi metalleri aracılı oksidasyon yoluyla birçok oksidan açığa çıkar. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli ekzojen kaynakları total oksidan yüküne direkt veya indirekt olarak katkıda bulunur. Bunlar iyonize ve non-iyonize radyasyon, hava kirliliği, ozon gibi doğal toksik gazlar, kimyasallar ve toksinlerdir. Antioksidanlardan fakir yetersiz bir diyet de hücrel savunma mekanizmalarını bozarak indirekt olarak oksidatif strese yol açabilir. Oksidatif stresin sebeplerinden biri de sigara kullanımınıdır. Sigara içen bireyler artmış ekzojen oksidatif strese maruz kalmalarından ötürü oksidatif stresin etkilerini araştırmak için elverişlidir (22).

2.3. Antioksidanlar

Yükseltgenebilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karıştırdığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (35). İkinci bir tanıma göre; diyetel antioksidanlar normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanırlar (36). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmi ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (37).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini;

1. Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
2. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu minimumda tutarak,
3. Hasarlı hedef molekülleri onararak,
4. Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
5. Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek gösterebilirler (38).

Antioksidanlar; intrasellüler veya ekstrasellüler yerleşimli olanlar, enzim veya enzim olmayanlar, endojen veya eksojen olanlar, suda veya yağda çözünenler olmak üzere çeşitli gruplara ayrılabilirler.

Ayrıca iki geniş sınıfta toplanacak olursa antioksidanlar,

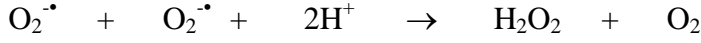
1. Koruyucu antioksidanlar
 - Metalleri deaktif edenler (transferrin, ferritin)
 - Hidroperoksidleri ayıranlar (katalaz, glutatyon peroksidaz)
 - Singlet oksijeni temizleyenler (α -karoten, likopen)
2. Zincir Kırıcı Antioksidanlar
 - Genellikle peroksil radikaliyle reaksiyon verenler (tokoferol, askorbat, ürik asit) olarak görev yaparlar (39).

2.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar

2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümü reaksiyonu katalizleyen enzimdir (28). SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler, ancak Mn-SOD pH:7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken

Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH: 5.5-10 aralı ında de i mez. Ayrıca demir içeren formu ökaryotlarda bulunmaz (27, 40).

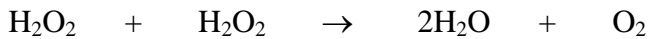


Bu reaksiyon SOD enziminin süperoksit anyon radikallerinden birini kullanarak di erini yükseltgemesi esasına dayanır. Enzim, hücre yapılarını süperoksitin hasarlayıcı etkilerine kar ı koruma amaçlı çalı maktadır. Bu reaksiyon SOD enzimi tarafından katalizlendi inde kendili inden oluşmasına kıyasla yaklaşık 4000 kat hızlı olur. Dolayısıyla SOD enzimi antioksidan savunmada oldukça önemli bir enzimdir. Oksijen kullanımını yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır ancak ekstrasellüler sıvılarda aktivitesi oldukça dü üktür (27, 40).

2.3.1.2. Katalaz

Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildi i reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiş ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalazın etkisi de SOD'a benzerdir. 2 hidrojen peroksit molekülünü kullanarak di erini oksitler. (27, 40).

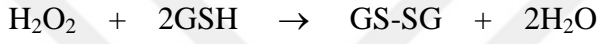
Reaksiyon a a ıdaki gibi gerçekleşir



Bu reaksiyon hidrojen peroksit konsantrasyonları yükseldi inde önem kazanırken dü ük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında di er peroksidazlar hidroperoksitlerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrekte ve karaci erde ayrıca mukoz membranlarda bulunur (35).

2.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) bir hidroperoksidazdır. Hidroperoksidazların substratı hidrojen peroksit veya organik peroksitlerdir. Glutasyon peroksidaz sitoplazmada yerle ik bir enzimdir. Tetramer yapılıdır. Aktif bölgesinde dört adet selenyum bulunur. Eritrositlerde ve di er dokularda redükte glutasyon kullanarak hidrojenperoksit ve lipid peroksitlerin parçalanmasında rol alır. Lipid peroksidasyonunu engelleyerek membran lipitlerini ve hemoglobini peroksitler aracılı ıyla olu abilecek oksidasyona kar ı korur (40). Rol aldı ı reaksiyonlar a a ıdaki ekildedir.



GSH-Px'in iki substratından biri olan peroksitler alkole indirgenirken di er substrat olan glutasyon (GSH) yükseltgenir. Ortaya çıkan yükseltgenmi glutasyon (GSSG) glutasyon redüktaz enzimince katalizlenen ba ka bir reaksiyon ile tekrar indirgenmi glutasyona çevrilir.

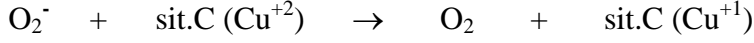
2.3.1.4. Glutasyon Redüktaz

Hidrojen peroksitin indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutasyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılı ı için okside glutasyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH ba ımlı bir flavoproteindir.



2.3.1.5. Sitokrom Oksidaz:

Süperoksit anyonunun suya dönüşümü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.



2.3.1.6. Glutasyon Transferaz

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



2.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.3.2.1. E Vitamini

Yalnızca bitkilerde sentezlenen tokoferol ve tokotrienollerin bir karışımıdır. Ya da çözünürler. Alfa tokoferol içlerinde en yüksek antioksidan güce sahip olanlarıdır. Bitkisel yağlar ve tohumlar E vitamininden zengindir. İnsanda diyetel yağlarla birlikte ince bağırsağın proksimalinden emilir. Ya da çözünen en güçlü antioksidandır. ÇDYA'dan türeyen lipid hidroperoksitlerin oluşumunu önler. Yüksek yoğunluklu lipoproteini (LDL) oksidasyona karşı korur, peroksinitritten türeyen serbest radikalleri temizler. Öte yandan özellikle ortamda C vitamini yoksa prooksidan özellik gösterebileceğine dair kanıtlar da mevcuttur. Ancak fizyolojik koşullarda bu durumun nasıl gerçekleştiğini netlik kazanmamıştır (41).

2.3.2.2. C Vitamini

C vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli (42), biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir anti-oksidadır. Süperoksit, hidroperoksil radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Fizyolojik rolü çok güçlü redoks potansiyeli ve glutatyon, NAD ve NADP gibi hücre içi antioksidanlarca rejenere edilebilmesi sebebiyle önemlidir. Ek olarak C vitamini alfa tokoferol ve glutatyon gibi diğer önemli antioksidan molekülleri dönüştürebilir (43).

2.3.2.3. Karotenoidler

Karotenoidler bitkilerde, diğer fotosentetik organizmalarda ayrıca non-fotosentetik bakteriler ve mayalarda sentezlenebilen tetraterpenoidlerdir (44). Karotenoidler, singlet oksijen ve peroksil radikalini temizlerler. Ayrıca serbest radikal ve singlet oksijen oluşumuna yol açan ekzite molekülleri inaktive ederler (45).

Ek olarak karotenoidler peroksil radikalini de temizlerler ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlarlar. Özel bazı durumlarda pro-oksidadan olarak davrandıkları da bilinmektedir. Ancak bunun yüksek dozlarda suplementasyon durumlarında gerçekleştirildiği düşünülmektedir. E vitamini, C vitamini ve β -karoten tek başlarına gösterdikleri antioksidan aktivite ile karşılaştırıldığında özellikle reaktif nitrojen türlerini toplamada kooperatif sinerjistik etkiler gösterirler (46).

2.3.2.4. Flavonoidler

Doğada bulunan düşük molekül ağırlıklı fenollerdir. *In vivo* biyoaktivitelerini reaktif oksijen ve nitrojen türlerini direkt toplayıcı etkilerinden çok enzim ve protein fonksiyonlarının düzenlenmesi, hücre içi sinyalizasyon ve reseptör aktivitelerinin modülasyonu ile gerçekleştirdiklerine dair çalışmalar vardır (47).

2.3.2.5. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bile iktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kayna ı N- asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve -ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutasyon radikali (GS[•]) bir prooksidandır. Ancak iki GS[•] birle erek okside glutasyonu (GSSG) olu tururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Do rudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücresel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkile ime girer (48).

2.3.2.6. Melatonin

En potent radikallerden olan hidroksil radikalini ortadan kaldırabilen güçlü bir antioksidandır. Lipofilik özellik gösterir.

2.3.2.7. Ubikinonlar

Ubikinon 10 (Koenzim Q) insanlarda bulunan temel ubikinondur. Elektron ta ıma zincirinde görev alır, ayrıca E vitamininin rejenerasyonunu sa lar.

2.3.2.8. Di er Antioksidanlar

Bilirubin, seruloplazmin, albumin, ferritin, ürik asit, mannitol, transferrin, hemopeksin, haptoglobin, arjinin, sitrullin, glisin, taurin, polifenollerdir (48).

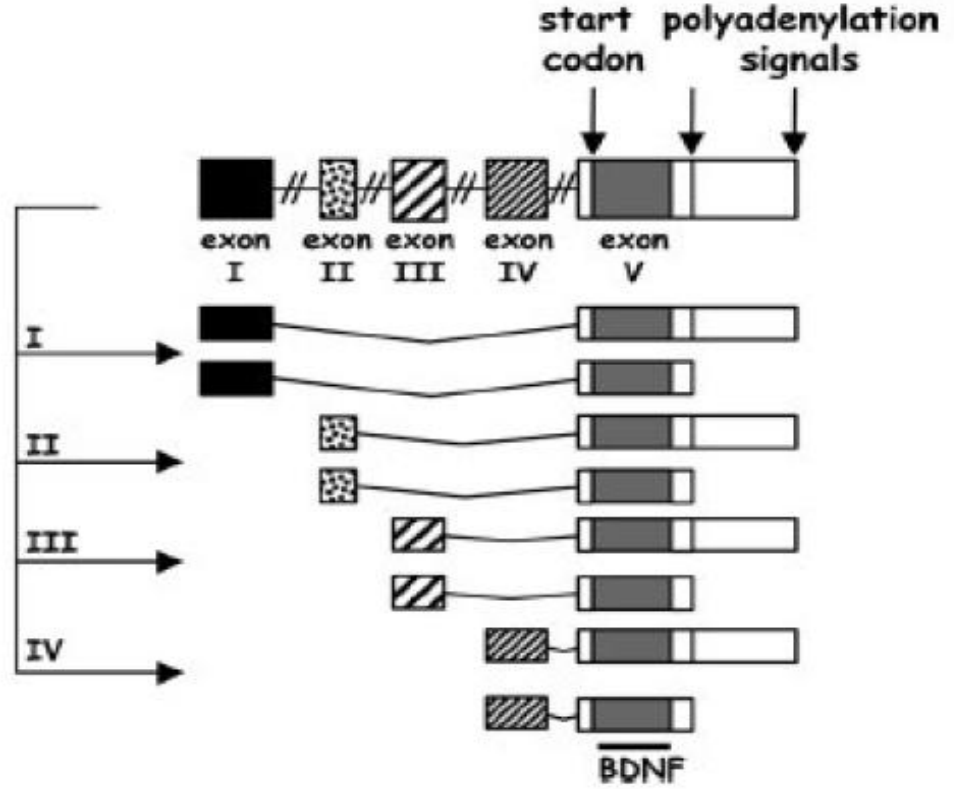
2.4. Nörotrofinler

Nörotrofin ailesinin prototipi olarak kabul edilen “sinir büyüme faktörü”nün (nerve growth factor) 1950’li yıllarda saptanmasıyla birlikte bu alandaki çalı malar yo unla mı tır (49). çlerinde brain derived norotrophic factor (BDNF), nörotrofin

(NT) -3 ve NT-4/5'in de yer aldığı nörotrofinler 30-35 kDA prekürsör proteinlerden ya da pronörotrofinlerden sentezlenir (50, 51). Tüm nörotrofinler temel ortak yapıya sahip olup promotor bölgenin içerdiği farklı domainlerin sayesinde spesifik reseptörlerine bağlanırlar ve biyolojik yanıtlar oluştururlar (50, 52). Bu bağlamda hepsi p75NGFR (p75 nerve growth factor receptor) reseptörüne bağlanırlar ama her birinin ayrıca yüksek ilgi ile bağlandıkları tropomiyosine-related kinase (Trk) ailesinden spesifik reseptörleri vardır (53, 54). Örneğin, BDNF için bu TrkB reseptörüdür (54). Nörotrofin ailesinin beyinde en yoğun bulunan üyesi BDNF, nöronların gelişiminde ve yaşamlarını sürdürmesinde, sinaptik plastisitede olduğu kadar organizmanın çevresi ile olan davranışsal etkileşiminde de büyük rol oynar (55).

2.4.1. BDNF Geni ve Düzenlenmesi

BDNF geninin farklı promoterler içeren dört kısa 5' eksonu (non-coding exon I-IV), olgun (matür) BDNF proteinini kodlayan bir 3' eksonu (exon V) ve pek çok düzenleyici elementi ile kompleks bir yapısı vardır. Promoterlerin alternatif kullanımları ve farklı bağlanımlar 8 farklı BDNF messenger RNA (mRNA) oluşmasına neden olur (56).

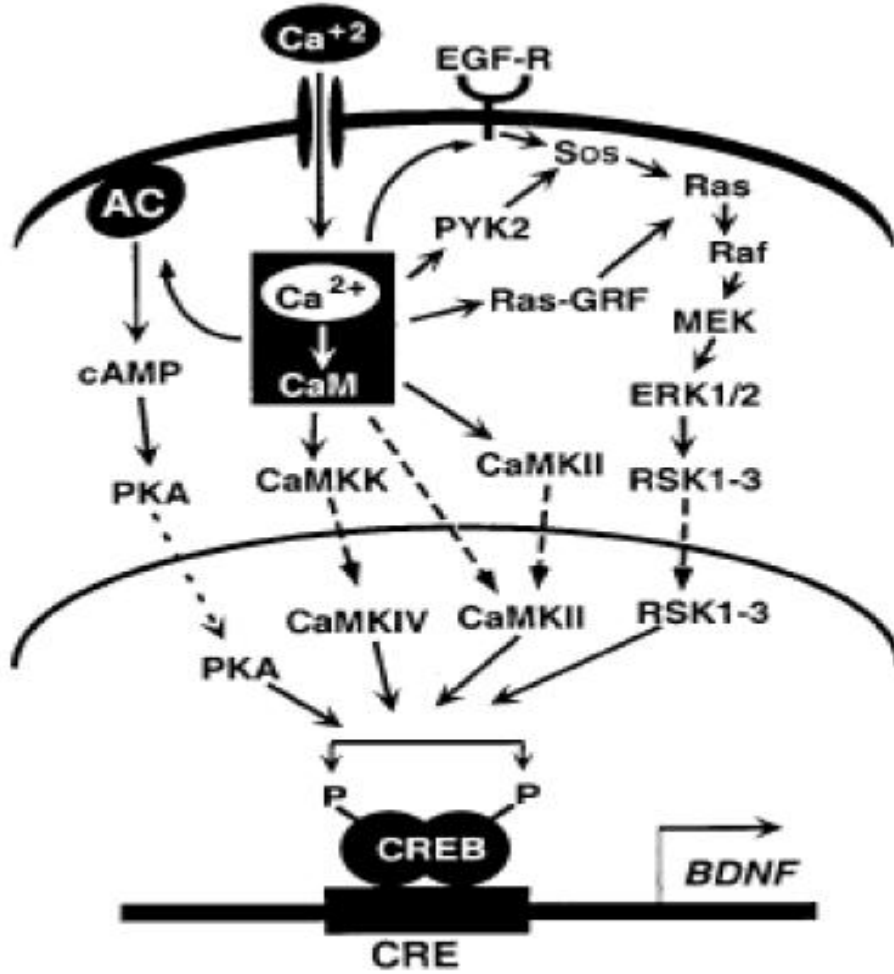


ekil 4: BDNF geninin yapısı

Sonuçta aynı BDNF proteinini kodlayan bu farklı BDNF mRNA'ların varolu sebepleri tartışılmakla birlikte dokuya/bölgeye spesifik bazal BDNF ekspresyonunu ve stimülusun uyardı ı regülasyonu sa ladıkları dü ünülmektedir. Bu ba lamda mRNA içeren I, II ve III eksonlar a ırlıklı olarak beyinde, promoter IV ise periferik dokularda aktiftir. Beyinde çeşitli BDNF mRNA'lar diurnal ritim, iskemi, egzersiz, aktivite, antidepresan tedavi, stres gibi fizyolojik ve patolojik uyarılara yanıt olarak farklı biçimde regüle edilirler (57). BDNF geninin regülasyonu da düzenleyici elementlerin yer almasından ötürü oldukça karma ık bir yapıdadır (56). Bu düzenleyici elementler arasında neuron-restrictive silencer element (NRSE), “putative estrogen-response element” ve calcium-response element (CaRE) sayılabilir (56, 57).

BDNF geninin aktivite-ba ımlı kalsiyum ilintili düzenlenmesinde bir dizi i lemde ilk adım sitoplazmaya kalsiyum giri idir (69). Böylece BDNF ekson III

ekspresyonunun induksiyonu seçici olarak aktiflenir. Ancak bu aktivasyon için cAMP/Ca⁺⁺ response element binding (CREB) protein gerekli olmakla birlikte yeterli değildir (67). Aktivasyon için CREB'in Serin-133 bölgesinden cAMP bağımlı protein kinaz, kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz IV ya da mitojen aktive edilen protein kinaz tarafından fosforilasyonu gerekmektedir (58, 59).



ekil 5: BDNF gen transkripsiyonunu düzenleyen Ca⁺⁺'nin aktive ettiği sinyal yolu

SSS'nde aktivite bağımlı BDNF regülasyonu klasik nörotransmitterlerden etkilenmekte, BDNF mRNA glutamat, asetilkolin ve serotonin ile "up-regüle", gama amino bütirik asit (GABA) ile "down-regüle" olmaktadır (56). Diğer yandan, BDNF'nin III ve IV transkriptlerinin nöronal aktivasyona ya da elektriksel stimulusa yanıt olarak "early gene" olarak yeni protein sentezine gereksinim olmadan hızla indüklenebildikleri de gösterilmiştir (56, 58).

2.4.2. BDNF reseptörleri

BDNF nöronal etkilerini TrkB reseptörlerine yüksek affinite ile bağlanarak göstermektedir. Bu bağlanma reseptör dimerizasyonunu, fosforilasyonu ve tirozin kinaz bölgesinin aktivasyonunu sağlayıp, çeşitli kompleks sinyal sistemlerini bağlanarak biyolojik yanıtların oluşmasını gerçekleştirir (56). Beyinde trkB mRNA ekspresyonunun veya protein miktarının gelişim, yaş, kognitif performans, stres, beyin hasarı, antidepresan tedavi gibi çeşitli çevresel ve fizyolojik koşullardan etkilendiği ifade edilmektedir (56).

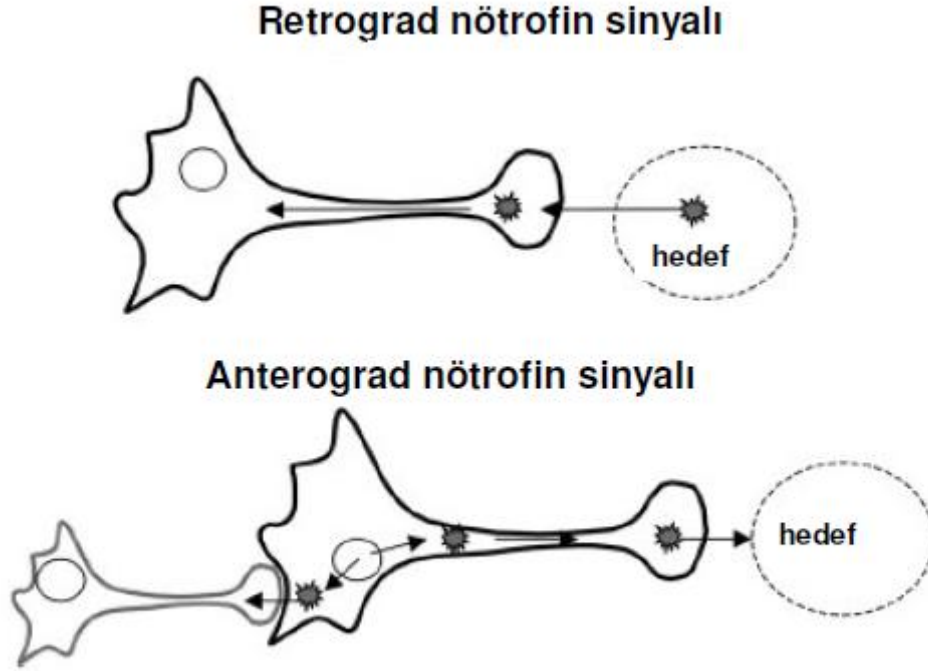
2.4.3. Santral Sinir Sisteminde BDNF Dağılımı

Erişkin sıçan beyinde BDNF mRNA hipokampus, septum, hipotalamus, korteks ve adrenerjik beyin sapı çekirdeklerinde yaygın olarak bulunur (56). BDNF immünoreaktivite ise soma, dendrit ve liflerde lokalize olarak serebral korteks, hipokampus, bazal ön beyin, striatum, hipotalamus, beyin sapı ve serebellumda saptanmıştır (56). Ayrıca, bu immünoreaktivitenin bazı kortikal, hipokampal bölgelerde ve amigdalada soma çekirdeklerinde saptanması BDNF'nin nöron çekirdeğine girerek doğrudan transkripsiyonu etkilediğinin göstergesi olarak öne sürülmektedir. BDNF reseptörü TrkB'nin de BDNF ile benzer dağılım gösterdiği, nöron gövdesinde, aksonlarda ve dendritlerde lokalize olduğu gösterilmiştir. İçinç olarak BDNF ve reseptörünün hipokampal ve kortikal nöronlarda birlikte ekspresyonu BDNF'nin SSS'deki etkilerini otokrin ya da parakrin mekanizmalarla gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir (56).

2.4.4. Sinyal iletimi

Nörotrofinlerin ortak özelliği santral ve periferik sinir sistemlerinde retrograd olarak taşınmalarıdır (56). Nörotrofin reseptörleri Trk'lar hızlı sinyal taşıyıcı görevi yaparlar. Nöron tarafından alınan nörotrofin etki edeceği hücre gövdesine retrograd olarak taşınır. Son yıllarda BDNF ve NT-3'ün anterograd olarak da taşındıklarına ilişkin raporlar yayınlanmaya başlanmıştır. Anterograd taşıma, BDNF'nin klasik

nörotransmitterlerde aranan özelliklerini – örne in; presinaptik sentez, veziküler depolanma, depolarizasyonun uyardı ı salıverilme, post-sinaptik TrkB lokalizasyonu, inaktivasyonu- ta ıması açısından önemlidir (60).



ekil 6: BDNF Sinyal Sistemi

2.4.5. BDNF'nin Fonksiyonları

BDNF ya amın erken döneminde SSS'de nöronal gelişimin hemen hemen tüm safhalarını etkiler. Bunlar arasında; nöronal proliferasyon, migrasyon, nöronal yaşam ve korunma, nörogenez, morfogenetik ve kemotrofik etkiler, aksonal dallanma, dendritik büyüme ve dallanma, sinaps formasyonu, sinaptik ileti, nöronal uyarılma, plastisite, eksitator ve inhibitör sinapsların modülasyonu, N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinin modülasyonu, nörotransmitter ve nöropeptid sentezinin uyarılması, salıverilmesi vb. sayılabilir (56).

Nörotrofinler morfolojik ve sinaptik plastisitenin moleküler mediatörleri olarak kabul edilirler (61).

Memeli beyinde “dentate gyrus”da nörogenezin varlığının gösterilmesi ile birlikte nöronların replikasyona refraktör olduğu da ması yıkılmış, nöronal stem (kök) hücrelerinin erken beyinde “dentate gyrus” bölgesinde ve supraventriküler zon’da yaygın boyunca varlıklarını sürdürdükleri gösterilmiştir (56, 62, 63). Burada, BDNF mRNA’yı düzenleyen fizyolojik koşullar ve faktörlerin nörogenezini de modifiye etmeleri BDNF ile nörogenez arasında nedensel bir bağlantı olasılığını düşündürmektedir. Örneğin, zengin çevrede yaşamayan hem hipokampusta yeni nöron oluşumuna neden olmakta hem de BDNF mRNA ekspresyonunu artırmaktadır (56, 64). Ayrıca stres “dentate gyrus”da hem yeni oluşum hücre sayısını hem de BDNF mRNA miktarını azaltmaktadır. Diğer bir faktör olarak kronik antidepresan tedavisi sıçan hipokampusunda nörogenezin ve BDNF mRNA düzeyinin artmasına neden olmaktadır (56, 65, 66).

2.4.6. BDNF ve Sosyal Ortam; Stres ve Zengin Çevre

Yaşamın erken dönemlerinde, çevre koşullarının erken dönemde davranışları ve fizyolojik fonksiyonları etkilediği, bu anlamda sosyal ve biyolojik açıdan büyük önem taşıdığı bilinmektedir (67). Davranış ve fizyolojik fonksiyonlarda ortaya çıkan değişikliklerin altında yatan mekanizmalar bilinmemekle birlikte, sosyal çevrenin hipokampal BDNF ve nörogenezini modüle ettiği kabul gören bir görüştür (68, 69). Hayvanlarda da doğum sonrası yetiştirildikleri çevresel koşulların onların uyum yeteneklerini şekillendirmede etkili olduğu öne sürülmektedir (67). Bu bağlamda sosyal izolasyon, ayak oku, yüzme, maternal deprivasyon gibi çeşitli stres tiplerinin hipokampusta BDNF ekspresyonunu azalttığına ilişkin pek çok çalışma bulunmaktadır (59). Yapılan çalışmalarda, tek yaşamda tekrarlanan immobilizasyon stresinin ya da eksojen kortikosteron uygulamasının hipokampusta BDNF mRNA ve protein miktarını düşürdüğü (70), adrenaletominin ise artırdığı (71) gösterilmiştir.

Ancak, immobilizasyonun hipokampal BDNF üzerine etkisi zaman bağımlı olarak gözükmektedir. öyle ki; kısa süreli stres 15 dakika sonra hipokampusta

BDNF mRNA düzeyini artırmakta, 60 dakika sonra bu artış maksimuma ulaşmaktadır. Olasılıkla, hipokampus bu kısa süreli-zararlı olmayan stresin neden olduğu değişiklikleri belleğe kaydetmekte, yeni ya da tekrarlayan strese yanıt için kendini hazırlamaktadır (2, 71). Stresin hipokampusta BDNF ekspresyonunu hangi mekanizma ile azalttığı tam olarak bilinmemekle birlikte kortikosteron, serotonin, GABA ve interlökinlerin katkısı olduğu düşünülmektedir (59).

Öte yandan, aşırı stres ve baskıdan uzak, hazırlayıcı olan, stabil bir atmosferden oluşan zengin ortam cansız ve sosyal uyarıların bir kombinasyonu olarak tanımlanır (72). Bu ortam olumlu sosyal etkileşimin gerçekleşmesine, ilgi ve becerilerin gelişimine olanak sağlar (73). Sıçan ve farelerle yapılan çalışmalarda zengin ortam kafese sıklıkla değiştirilen renkli objeler, oyuncaklar vb. konularak oluşturulmaktadır (67, 74). Bu bağlamda çevrenin zenginleştirilmesi ya da hayatlarının ilk iki haftasında elde tutulması gibi anne-yavru etkileşimini doğrudan etkileyen postnatal manipülasyonlar (67) prenatal stresin neden olduğu duygusal reaktiviteyi geri çevirmektedir (73). Ayrıca, zengin ortamın hipokampal sinaps ve işlevsel yapılarının yoğunluğunu arttırdığı, uzaysal öğrenme performansını artırması ile hipokampal endotelial hücre çoğalmasını uyarmasına ek olarak hipokampal potansiyalizasyonu güçlendirdiği ve prenatal stres ya da doğum sonrası dönemde genç ve yaşlı yavrularda immatür nöron sayısı ve yeni oluşan hücrelerin doğum oranlarına etkisi gösterilmiştir (75, 76).

Zenginleştirilmiş ortamın hangi mekanizmalarla bu etkileri gerçekleştirdiği tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, zengin ortamların hücre çoğalmasını ve yeniden hipokampal nöronların doğumunu arttıran nörotrofik faktörlerin yapımını uyularak bu işlevleri gerçekleştirdiği kabul gören bir görüşür (77).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulunun 2011/126 sayılı tarihli onayı ile gerçekleştirildi.

3.1. Olguların Seçimi ve Örneklerin Toplanması

Çalışmaya 01/11/2011 ve 01/05/2013 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Merkez Laboratuvarına başvuran toplam 240 kişi dahil edildi. Denekler akut enfeksiyonu, psikiyatrik, nörolojik veya kronik arter hastalığı (KAH), diabetes mellitus (DM), Böbrek yetmezliği, KOAH vb gibi herhangi bir kronik hastalığı ve kronik ilaç kullanımı olmayan, 18-50 (ya ortalaması $32,98 \pm 7,71$) yaş arası gönüllü bireylerden seçildi. Sigara içen 60 kadın (ya ortalaması $=33,43 \pm 7,94$) ve 60 erkek (ya ortalaması $=32,53 \pm 8,26$) ile sigara içmeyen 78 kadın (ya ortalaması $=32,66 \pm 8,52$) ve 42 erkek (ya ortalaması $=31 \pm 9,17$) olmak üzere 120'er kişilik 2 grup halinde toplamda 240 kişiden kan numuneleri alınmıştır. Sigara içen 120 hastanın günlük sigara kullanma sıklığı, kaç yıl sigara kullandığı kaydedildi.

Hastaların demografik özellikleri kaydedildi. Venöz kandan alınan numuneler biyokimya tüpü ve etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)'li hemogram tüplerine alındı. Tam kandan proteinsizleştirme yapılarak süpernatantları alındı, numunelerin serum ve plazmaları ayrılarak -40°C 'de saklandı. Her iki grubun BDNF, NO, MDA, SOD ve GSH düzeyleri tespit edildi.

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Derin dondurucu -40°C	Uçur UDD 400 SK
Spektrofotometre	HITACHI U-1800
Santrifüj	Nüve NF 800 R
Vortex	Nüve NM 110
Hassas terazi	Sartorius BL 2105
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR 301

Su banyosu	Nüve BM402
Tiyobarbitürük asit	Merck UV 550480
Trikloro asetik asit	Merck K 22475010
n-Butanol	Merck K 35977190
Glasiyel meta fosforik asit	Sigma M-5043
Bisodyum EDTA	Sigma E-9884
NaCl	Sigma M-5043
Na ₂ HPO ₄	Sigma S-7907
Sodyum sitrat	Merck K22028732
GSH kalibratörü	Sigma G4251
5-5' – Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)	Sigma D-8130

3.3. Lipit Peroksidasyon ndeksi (MDA) ölçümü

Çalı ma Prensibi

Lipid peroksidasyon ürünü olan bir molekül malondialdehitin, iki molekül tiyobarbitürük asit (TBA) ile pH 2-3 arasında 95-100 °C 'de reaksiyona girmesi sonucunda olu an pembe renkli kromojenin n-butil alkol ile ekstrakte edilmesi ile elde edilen organik fazın 535 nm'de okunması esasına dayanır.

EDTA'lı plazmada ölçüm yapıldı.

TBA: 0,67 gr TBA 100 ml. bidistile su içinde ısıtılarak eritildi. Stabilitesi çok az oldu u için günlük olarak hazırlandı.

% 20 TCA: 20 gr TCA 100 ml bidistile suda eritilerek hazırlandı.

n-butanol: orijinal i esinden kullanıldı.

Alınan örnekler, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrılan plazmadan 0,5 ml alındı, 2,5 ml %20 TCA ile bir tüpe konarak karı tırıldı. Üzerine 1 ml % 0,67'lik tiyobarbitürük asit eklendi ve karı tırıldı. 30 dakika kaynatıldı. Oda ısısına gelinceye kadar so utulduktan sonra üzerine 4 ml n-butanol ekleyip karı tırıldı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Butanol fazı alınarak 535 nm'de absorbansları okutuldu. Ayıraç kökü olarak e it miktarlarda alınan distile su ve TBA karı ımı kullanıldı (78).

MDA düzeyleri molar absorpsiyon katsayısı (ϵ : $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar nmol MDA/ml plazma olarak ifade edildi.

3.4. Eritrosit GSH Düzeyi Ölçümü

Çalışma Prensipleri

Eritrositlerin nonprotein sülfidril gruplarının tümü redükte glutatyon formundadır. 5-5' - Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) disülfid bir kromojendir ve sülfidril grubu içeren bileşiklerle kolayca redükte olarak koyu sarı renkli bileşik oluşur.

Bu redükte kromojenin 412 nm'de ölçülen absorpsiyonu GSH konsantrasyonu ile direkt orantılıdır.

Kan EDTA'lı tüplere alındı.

Ayırıcılar:

1- Çöktürme solüsyonu:

1.67 gr glasiyel meta fosforik asit,
0.20 gr disodyum EDTA,
30 gr NaCl,

Yukarıdaki maddeler 100 ml'lik balon jöle içerisinde distile su ile eritilerek hazırlandı. Stabilitesi 4°C 'de 3 haftadır.

2- Disodyum fosfat solüsyonu:

1 litrelik balon jöle içerisinde 42,59 gr Na_2HPO_4 deiyonize su ile eritilerek hazırlandı. Stabilitesi 4°C 'dedir. Eğer kristalize olursa ısıtılarak çözündürülür.

3- DTNB Ayırıcı:

100 ml'lik bir balon jöle içerisinde 40 mg DTNB, sodyum sitrat (1 gr/dl) solüsyonu eklenerek hazırlandı. Stabilitesi 4°C 'de 13 haftadır.

4- GSH kalibratörleri:

100 mg GSH 100 ml deiyonize su ile çözüldü. 50 mg/dl ve 10 mg/dl'lik kalibratörler hazırlandı. Kalibratörler stabil olmadığı için taze hazırlandı.

Çalışma Yöntemi:

- 1- 0,2 ml tam kan, 10 ml test tüpüne pipetlendi. 1,8 ml distile su eklendi. Karı tırılarak hemoliz edildi.
- 2- 3 ml çöktürme solüsyonu eklendi ve karı tırıldı.
- 3- 5 dakika oda ısısında bekletilip filtre kağıdı ile süzüldü.
- 4- Küvetler a a ıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 1: GSH ölçümü için izlenecek prosedürler

AYIRAÇ (ml)	KÖR	ÖRNEK	STANDART
Filtrat	-	2,0	-
Presipitat Ayırıcı	1,2	-	-
Distile Su	0,8	-	-
Na ₂ HPO ₄	8,0	8,0	8,0
DTNB solüsyonu	1,0	1,0	1,0
GSH kalibratörü	-	-	-

- 5- Küvetler kapatılıp 3 kez ters çevrilerek karı tırıldı.
- 6- Küvetler hazırlandıktan sonra 4 dakika içinde 412 nm'de absorbanları okundu.
- 7- Tam kan örneğinin hemotokrit (Htc)'i ölçüldü.
- 8- Filtrasyon basamağı atlanarak, GSH kalibratörleri çalışıldı.

9- Kalibratör e risi hazırlandı. Grafikten kan örne inin GSH konsantrasyonu elde edildi.

10- GSH konsantrasyonu hesaplandı (79).

$GSH (mg/dl RBCs) = GSH \text{ Konsantrasyonu} / \text{Hemotokrit}$

Referans de eri : 47 -100 mg/dl RBCs

3.5. BDNF Düzeyi Ölçümü :

Serum BDNF düzeyleri; Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez laboratuvarında, Millipore marka (ABD) Chemikine BDNF EL SA Kiti kullanılarak Alisei Quality System Seac Radin Company cihazıyla, EL SA yöntemiyle çalı ılmı tır.

3.6. NO Düzeyi Ölçümü :

NO düzeyleri; Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında Cayman Chemical marka (ABD) Nitrite/Nitrate Colorimetric Assay Kiti kullanılarak, Alisei Quality System Seac Radin Company cihazıyla EL SA yöntemiyle çalı ılmı tır.

3.7. SOD Düzeyi Ölçümü :

SOD düzeyleri; Kocaeli üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez laboratuvarında Almanya'da üretilen Sigma-Aldrich marka SOD Assay Kiti kullanılarak Alisei Quality System Seac Radin Company cihazıyla EL SA yöntemiyle çalı ılmı tır.

3.8. statistiksel Analiz

statistiksel verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 16.0 paket programı kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma, minimum ve maksimum olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırma Student-T testi kullanıldı. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Tablo 2: Sigara içen ve içmeyen gruplarda serum BDNF, SOD, NO, eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri

Grup Parametre	Sigara çenler (n=120)		Sigara çmeyenler (n=120)		P de eri
	Ort. ± SD	Min.- Max.	Ort. ± SD	Min.- Max.	
BDNF (pg/ml)	780,26±135,23	458,0- 1014,1	825,643± 179,35*	436,0- 1190,6	p=0.028
SOD (U/ml)	19,80±10,47**	3,83- 63,01	11,05±5,49	1,24- 37,56	P<0.000
NO (µM)	10,89±7,62	0,56- 41,00	13,87±11,55*	0,54- 70,00	p=0.019
GSH (mg/dl RBCs)	49,54±7,55	33,10- 73,86	48,01±6,95	34,05- 76,25	p=0.103
MDA (nmol/ml)	0,63±0,16**	0,48- 1,22	0,57±0,08	0,39- 1,80	P<0.000

* P<0.05

** p<0.000

Serum BDNF düzeyleri sigara içmeyen grupta sigara içen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 825.643 ± 179.35, 780.26 ± 135.23, p=0.028).

Serum SOD düzeyleri sigara içen grupta sigara içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 19.80 ± 10.47 , 11.05 ± 5.49 , $p<0.000$).

Serum NO düzeyleri sigara içmeyen grupta, sigara içen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 13.7 ± 11.55 , 10.89 ± 7.62 , $p=0.019$).

GSH düzeyleri kar ıla tırıldı nda sigara içen grup ile sigara içmeyen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla, 49.54 ± 7.55 , 48.01 ± 6.95 , $p=0.103$).

Plazma MDA düzeyleri sigara içen grupta sigara içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 0.63 ± 0.16 , 0.57 ± 0.08 , $p<0.000$).

Tablo 3: Sigara içen ve içmeyen kadınlarda serum BDNF, SOD, NO, eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri

Grup Parametre	Sigara çen Kadınlar (n=60)		Sigara çmeyen Kadınlar(n=78)		P de eri
	Ort. ± SD	Min.- max.	Ort. ± SD	Min.- max.	
BDNF (pg/ml)	788,95 ± 125,96	511,7- 1002,1	846,40 ± 187,20*	436,0- 1190,6	p=0.033
SOD (U/ml)	21,00±10,65**	3,83- 63,01	11,23±4,98	3,31- 32,13	p<0.000
NO (µM)	8,91±6,10	0,56- 41,00	13,47±12,62*	0,96- 70,00	p=0.006
GSH (mg/dl RBCs)	53,87±6,93*	42,80- 73,86	50,64±6,67	40,27- 76,25	p=0.007
MDA (nmol/ml)	0,63±0,18*	0,48- 1,22	0,57±0,09	0,40- 0,80	p=0.023

* P<0.05

** p<0.000

Serum BDNF düzeyleri sigara içmeyen kadınlarda sigara içen kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 846.40 ± 187.20, 788.95 ± 125.96, p=0.033).

Serum SOD düzeyleri sigara içen kadınlarda, sigara içmeyen kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 21.00 ± 10.65, 11.23 ± 4.98, p<0.000).

Serum NO düzeyleri sigara içmeyen kadınlarda, sigara içen kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 13.47 ± 12.62 , 8.91 ± 6.10 , $p=0.006$).

GSH düzeyleri sigara içen kadınlarda, sigara içmeyen kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 53.87 ± 6.93 , 50.64 ± 6.67 , $p=0.007$).

Plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında sigara içen kadınlarda, sigara içmeyen kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 0.63 ± 0.18 , 0.57 ± 0.09 , $p = 0.023$).



Tablo 4: Sigara içen ve içmeyen erkeklerde serum BDNF, SOD, NO, eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri

Grup Parametre	Sigara içen Erkekler (n=60)		Sigara içmeyen Erkekler (n=42)		P değeri
	Ort. ± SD	Min.-max.	Ort. ± SD	Min.-Max.	
BDNF (pg/ml)	771,57 ± 144,45	458,0-1014,1	787,09 ± 158,77	480,0-1075,3	p=0.616
SOD (U/ml)	18,48±10,19**	4,34-58,52	10,70±6,42	1,24-37,56	p<0.000
NO (µM)	12,86±8,48	2,02-39,58	14,61±9,35	0,54-56,06	p=0.337
GSH (mg/dl RBCs)	45,22±5,37*	33,10-62,87	43,12±4,34	34,05-52,11	p=0.032
MDA(nmol/ml)	0,63±0,15*	0,48-0,98	0,56±0,08	0,39-0,74	p=0.008

* P<0.05

** p<0.000

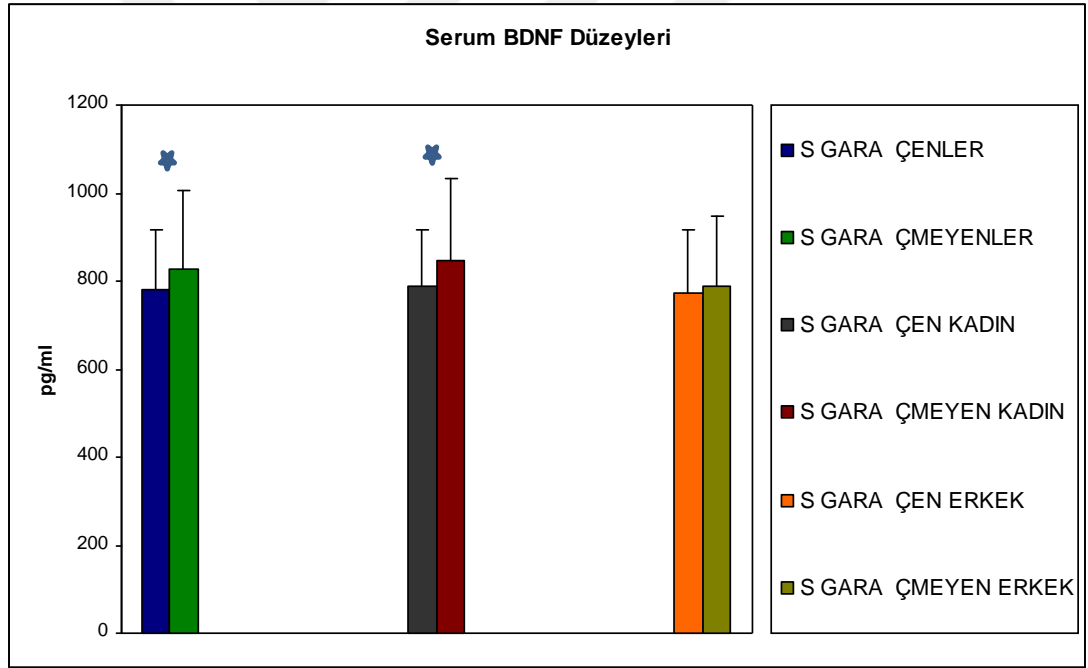
Serum BDNF düzeyleri sigara içmeyen erkeklerle sigara içen erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla, 787.09 ± 158.77, 771.57 ± 144.45, p = 0.616).

Serum SOD düzeyleri sigara içen erkeklerde sigara içmeyen erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 18.48 ± 10.19, 10.70 ± 6.42, p<0.000).

Serum NO düzeyleri karılaştırıldı ında sigara içen erkekler ile sigara içmeyen erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla, 12.86 ± 8.48 , 14.61 ± 9.35 , $p=0.337$).

GSH düzeyleri sigara içen erkeklerde sigara içmeyen erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 45.22 ± 5.37 , 43.12 ± 4.34 , $p=0.032$).

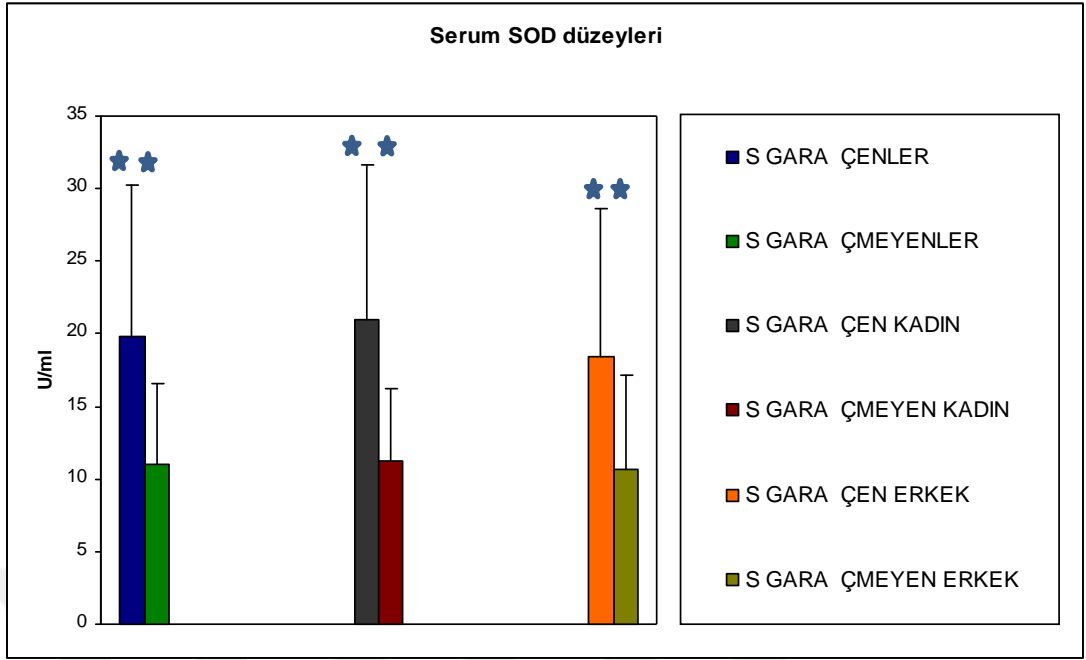
Plazma MDA düzeyleri sigara içen erkeklerde sigara içmeyen erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 0.63 ± 0.15 , 0.56 ± 0.08 , $p=0.008$).



ekil 7: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum BDNF düzeyleri

★ : $p < 0.05$

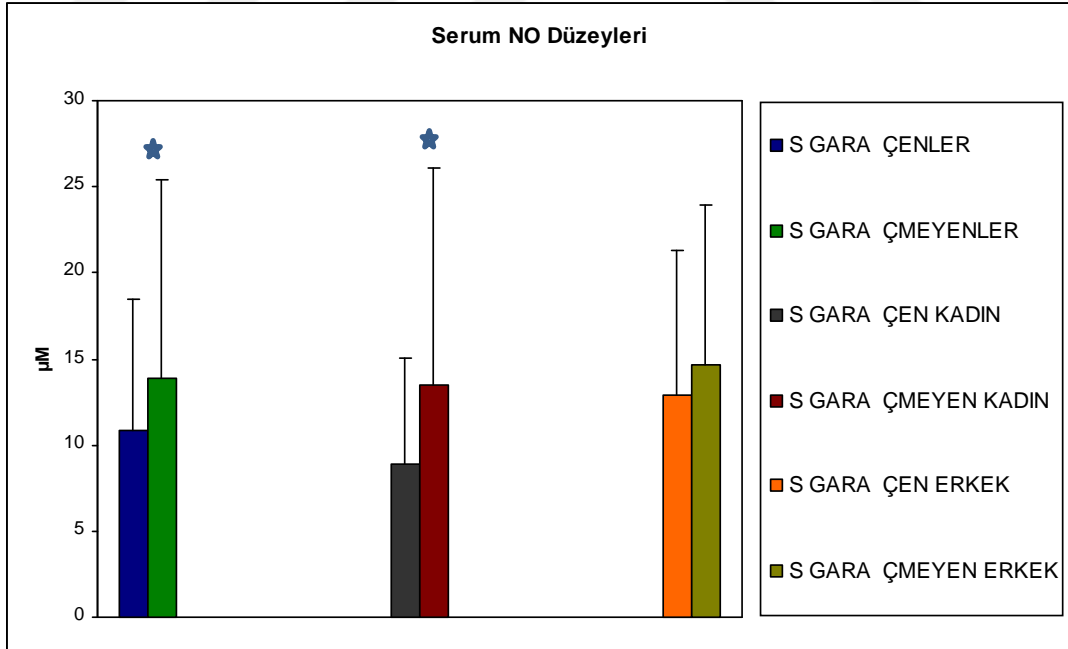
★★ : $p < 0.000$



ekil 8: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum SOD düzeyleri

*: $p < 0.05$

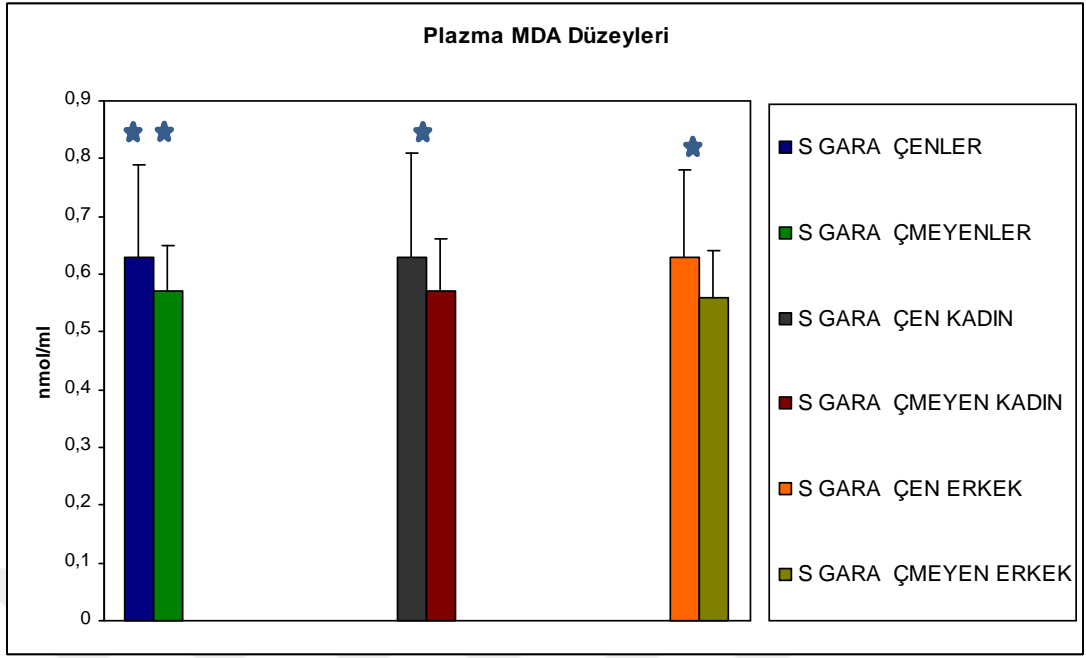
* *: $p < 0.000$



ekil 9: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki serum NO düzeyleri

*: $p < 0.05$

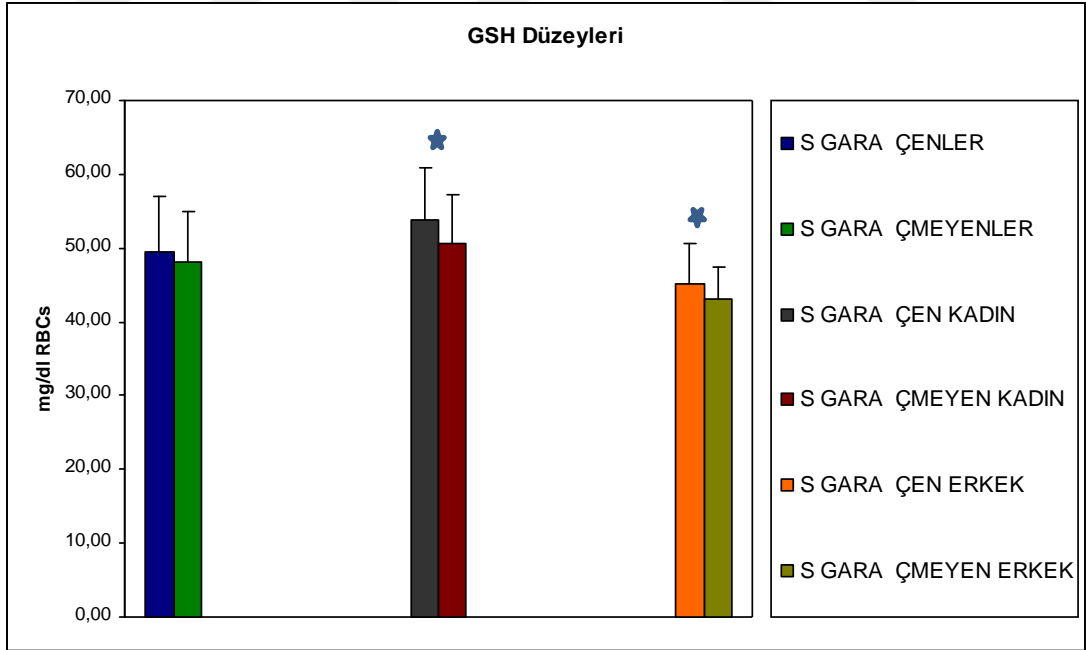
* *: $p < 0.000$



ekil 10: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki plazma MDA düzeyleri

★: $p < 0.05$

★ ★: $p < 0.000$



ekil 11: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasındaki eritrosit GSH düzeyleri

★: $p < 0.05$

★ ★: $p < 0.000$

5. TARTI MA

Oksidanlar ile antioksidanlar arasında denge bozuklu una oksidatif stres denir (21). Sigara dumanındaki serbest radikallere maruziyet kronik oksidatif stresin en önemli sebeplerinden biridir. Sigara hem reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak hem de antioksidan savunma mekanizmalarını bozarak oksidatif stresi tetikler. Oksidasyonun hedefleri; lipidler, proteinler ve DNA'dır (24).

Oksidatif stres göstergesi olarak yaygın kullanılan MDA düzeyleri ile sigara ili kisini gösteren birçok çalı ma vardır. Nielsen ve ark. çalı malarında 213 olguyu incelemi ve sigara içenlerde plazma MDA düzeylerini sigara içmeyenlere göre daha yüksek olarak bulmu lardır. Sigara içimine ba lı olarak polimorf nüveli lökositlerde serbest radikallerin olu tu unu böylece peroksidasyonu arttırarak MDA artı na neden oldu unu dü ünmü lerdir (80).

I ik ve ark. 30 sigara içen ve 30 içmeyen sa lıklı birey ile yaptıkları bir çalı mada yine sigara içenlerin serumlarında içmeyenlere göre MDA düzeylerini anlamlı yüksek bulmu lardır (81).

Petruzelli 1990 yılında yaptı ı çalı masında MDA düzeylerini sigara içenlerde içmeyenlere göre daha yüksek olarak bulmu tur. Bu sonuçlar ile sigara içiminin alveolar makrofajlarda oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna neden oldu unu belirtmi tir (82).

Kim ve ark. sigara içenlerde yaptıkları bir çalı mada, MDA düzeyini yüksek, Vitamin C, beta-karoten, alfa-tokoferol düzeylerini ise dü ük bulmu lardır ve antioksidan tedavi sonrasında oksidan düzeylerinde dü me tespit etmi lerdir. Sigaranın oksidatif dengeyi bozarak MDA'yı arttırdı nı ve antioksidan tedaviyle oksidan-antioksidan denge bozuklu unun düzelebilece ini belirtmi lerdir (83).

Harats ve ark. bekleme plazmada, sigara içenlerle içmeyenler arasında MDA düzeyleri açısından önemli fark bulamamı lardır (84). Bununla beraber sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma MDA düzeylerini anlamlı olarak yüksek saptayan bir çok çalı ma bulunmaktadır (85, 86).

Solak ve ark. de i ik miktarlarda sigara içen ve sigara içmeyen gruplardan olu an toplam 98 ki ide yaptıkları bir çalı mada MDA düzeylerini sigara içen

gruplarda sigara içmeyen kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmu lardır. Eritrosit GSH-Px aktivitelerinde ise sigara içenlerde içmeyen gruba göre anlamlı azalma saptanmı tır. MDA'daki bu artı ın nedenini, sigara içmeyle olu an oksidatif stres sonucu sigaranın antioksidan enzim aktivitelerini dü ürmesine ba lı olarak lipid peroksidasyonunu artırması ile ili kili olarak açıklamı lardır (87).

Benzer ekilde ekero lu ve ark. tarafından, sigara içenlerde kontrol grubuna göre serum ve eritrosit MDA düzeylerinin yüksek, eritrosit SOD aktivitesinin ise önemli miktarda dü ük bulundu u rapor edilmi tir (88).

Orhan ve ark.'nın 17 sigara içen ve 17 sigara içmeyen bireyde yaptıkları bir çalı mada, eritrosit antioksidan aktivitelerinin sigara içimiyle dü ü gösterdi i tespit edilmi tir. Eritrosit SOD ve GSH-Px aktivitelerinin sigara içenlerde kontrollere göre daha dü ük oldu u saptanmı tır. Ortalama eritrosit membran lipid peroksidasyonu beklenen ekilde sigara içenlerde yüksek bulunmu tur. Sonuçlar eritrositlerin, sigaraya maruziyetin indükledi i oksidatif strese dirençli olmadı ını göstermi tir (89).

Genç eri kin sigara içenler üzerinde yapılan bir ba ka çalı mada; MDA, SOD ve glutatyon peroksidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre fark bulunamamı tır (90).

Codandabany ve ark. 30 sigara içen ve 30 sigara içmeyen eri kin erkek bireylerde yaptı ı çalı mada, lipid peroksidasyonunu sigara içen grupta içmeyenlere göre anlamlı olarak yüksek bulmu lardır. Ayrıca sigara içen bireylerde sigara içmeyenlere göre eritrosit SOD ve GSH-Px aktivitelerinde % 20-30 oranında dü ü tespit etmi lerdir. SOD aktivitesinin sigara içenlerde dü ük olu u sigara dumanı tarafından açı a çıkarılan aktif oksijen radikallerine ba lanmı tır. Sigara içen grupta gözlenen dü ük eritrosit GSH-Px aktivitesinin lipid peroksitlerde artı ve buna ba lı lipid peroksit temizlenmesi ihtiyacındaki artı a ba lı oldu u sonucuna varmı lardır (23).

Zhau ve ark. yaptıkları çalı mada sigara içen bireylerde plazma lipid peroksidaz ve NO düzeylerinin arttı ını, plazma Vit C, Vit E, beta-karoten ve SOD düzeylerinin azaldı ını göstermi lerdir. Sigaranın bırakılmasından bir yıl sonra ise sayılan bu antioksidan-oksidan dengenin, sigara içmeyen olgularla e it düzeye geldi i bulunmu tur. Bu sonuçları, "sigara içimine ba lı olarak polimorf nüveli

lökositlerdeki serbest radikaller ortaya çıkmakta bu da lipid peroksidasyonunu arttırmakta ve MDA artışı na neden olmaktadır” şeklinde açıklamı lardır (91).

Yapılan çalı maların büyük ço unlu unda MDA düzeylerinin artışı gösterilmiştir. Bizim çalı mamızda plazma MDA düzeyleri sigara içen grupta sigara içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Sigara içen-içmeyen erkekler ve sigara içen-içmeyen kadınlar karşı laştırıldı ında da benzer şekilde sigara içen gruplarda plazma MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. (ekil.10). Bu sonuçların, sigaranın serbest radikalleri ortaya çıkararak lipid peroksidasyonunu artırıcı etkisine ba lı oldu unu dü ünülmektedir.

Sigara kullanımı sonucu olu an oksidatif stresin plazma antioksidan savunmada bazı de işiklikler yapması beklenebilir (92).

Yukarıda belirtti mi gibi, Codandabany ve ark. yaptıkları çalı mada SOD ve GSH-Px düzeylerini de karşı laştırmı lardır. Sigara içen bireylerde, içmeyenlere göre eritrositlerde SOD ve GSH-Px düzeylerinde %20-30 oranında düşüklük bulmu lardır. SOD aktivitesinin sigara içenlerde düşüklüğü sigara dumanı tarafından açığa çıkarılan aktif oksijen radikallerine ba lanmıştır. Sigara içen grupta gözlenen düşük eritrosit GSH-Px aktivitesinin lipid peroksidasyonundaki hızlanmaya ve buna ba lı lipid peroksit temizlenmesi ihtiyacındaki artışa ba lı oldu u sonucuna varmı lardır (23).

Zhou ve ark. yaptıkları çalı mada sigara içen bireylerde plazma NO düzeyinin arttığını ve SOD düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir (92). Cotgreave ve ark.’da, sigara kullanımının akci erde GSH düzeylerini azaltmasının ve MDA’nın yükselmesinin sigaranın zarar verici etkisinden sorumlu olabilece ini bildirmişlerdir (93).

Benzer çalı malarda, sigara içen bireylerde hem serum eritrosit, hem de bronkoalveoler lavaj SOD seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olarak bulunmuştur (23, 87). Bu sonuçlar artmış oksidanların antioksidan defansı arttırdığını, ancak bu artışın oksidan-antioksidan dengedeki de işiklikler nedeniyle serum de erlerine antioksidanlarda dü me olarak yansıdığını göstermektedir.

Solak ve ark. eritrosit GSH-Px aktivitelerinde sigara içenlerde içmeyenlere göre anlamlı azalma saptamı lardır (87).

Hulea ve ark. eritrosit GSH-Px düzeylerini sigara içenlerde, içmeyenlere göre anlamlı düşük bulmuşlardır. Bu düşükün nedenini; artmış oksidatif stresin, GSH gibi peptidlerin ve proteinlerin peroksidasyonunu arttırmasına bağlamışlardır (94).

Bu çalışmaların aksine sigaranın eritrosit GSH düzeyini arttırdığını (95) veya değiştirmedini (96, 97) gösteren çalışmalarda vardır.

Sigara kullanımının oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; antioksidan savunmanın göstergesi olarak toplam sülfidril gruplarının plazma konsantrasyonları (özellikle GSH) incelenmiş ve kontrol grubu ve sigara kullananların değerlerinde farklılıklar anlamlı bulunmamıştır (98).

Leonard ve ark. sigara içenlerde SOD ve glutatyon peroksidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre fark bulamamışlardır (90).

Yaptığımız çalışmada, GSH değerleri sigara içmeyen grupta içenlere göre yüksek ama istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kadın ve erkeklerin ayrı ayrı değerlendirilmesinde sigara içenlerde istatistiksel olarak anlamlı yüksek düzeyler tespit edilmiştir (ekil.11). Çalışmamızda, SOD düzeylerini de sigara içen grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulduk. GSH ve SOD düzeylerinde ki bu artışın, sigara kullanımı sonucu oluşan lipid peroksidasyonuna karşı adaptasyon mekanizması olarak geliştiğini düşünmekteyiz.

Kardiyovasküler sistemin tek katlı endotel hücreleri devamlı olarak nitrik oksit (NO) salgırlar (99).

Sigaranın neden olduğu endotel fonksiyon bozukluğunu incelemek için yapılan birtakım çalışmalarda NO aktivitesinde belirgin azalma olduğu ve kalp damar hastalıklarına neden olduğu gösterilmiştir (100, 101, 102, 103, 104). NO'nun başlıca kaynağı endoteldir ve yarı ömrü birkaç saniye olan kararsız bir molekül olup, hızla nitrit ve nitrate okside olur (105). Bu sebeple NO düzeyini belirlemek için NO'nun kararlı son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin ölçümlerinden yararlanılır (105, 106).

Higman ve ark. sigara içen hastalarda endotel hücreleri tarafından sentezlenen NO düzeyinin sigara içmeyenlere göre azalmış olduğunu saptamışlardır (107). Ayrıca Kiowski ve ark. (108) da kronik sigara içenlerde vasküler tonusdaki artışın NO sentezindeki yetersizlikten kaynaklandığını sonucuna varmıştır. Mc Veugh ve ark. (109) kronik sigara içenlerde NO aktivitesinin azalmış olduğunu ve bu nedenle

NO'nin aracılık ettiği bazal vazodilatasyonun da baskılanmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca yapılan birçok çalışmada (108, 110, 111) da kronik sigara içiminin NO seviyesini azaltarak vasküler tonusta artışa neden olduğunu gösterilmektedir.

Nade ve ark. 1997 yılında yaptıkları çalışmada; sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre serum NO seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğunu ve günlük sigara içme miktarı arttıkça NO seviyesindeki düşüşün fazlaştığını bulmuşlardır (112).

Vargas ve ark. 2013 yılında 150 sigara içen ve 191 sigara içmeyen birey üzerinde yaptığı çalışmada NO düzeylerini sigara içen grupta istatistiksel olarak yüksek bulmuşlardır. Bu yükseklik oksidatif strese bağlı olabileceğini önermişlerdir (113).

Çalışmamızda yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak sigara içen sağlıklı bireylerde serum NO düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğunu tespit ettik. Sigara içen-içmeyen erkekler ve sigara içen-içmeyen kadınlar karşılaştırıldığında da benzer şekilde sigara içen gruplarda serum NO düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğunu tespit ettik (ekil.9). NO, hem trombosit adezyonunu ve agregasyonunu baskılar hem de vasküler tonusu ve kan basıncını düzenler (99). Ikeda ve ark. uzun süreli sigara içilmesi sonucu trombosit içindeki L-arjinin yolunun etkilenerek trombositlerden salınan NO'nun da azaldığını belirtmektedir (114). Sigara içilmesi endotel hücrelerinde fonksiyon bozukluğuna neden olarak NO aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır (99). Kalp damar hastalıklarının nedenlerinden biri nikotinin direkt toksik etkisi ile endotel hasarı olarak NO aktivitesinde azalma yapmasıdır (115, 116). Bizde bulduğumuz düşük düzeylerin, nikotinin direkt toksik etkisi ile endotel hasarına yol açması ve sonucunda endotel hücrelerinde fonksiyon bozukluğu oluşması ve en sonunda hem endotel kaynaklı hem de trombositlerce sentezlenen NO miktarının azalmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Nörotropinler sinir sisteminin gelişmesinde önemli rol oynarlar. Nörotropinlerden olan BDNF ya da amın erken döneminde santral sinir sisteminde nöronal gelişimin hemen hemen tüm safhalarını etkiler (2). Sigara kullanımının ise beyin hücrelerinde hasar, hafıza zayıflığı, öğrenme bozukluğu ve erken bunama gibi santral sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri vardır (1). Bunun yanında nikotin

ba ımlılı ı her geçen gün yaygınla maktadır. Bu alı mada sigara içenlerde oksidatif stres parametrelerinin yanısıra BDNF ile sigara kullanımı arasındaki ili kiyi ara tırdık. Literatür taramalarımız sırasında; bu ili kiyi u ana kadar net olarak açıklayan bir çalı maya rastlayamadık.

Zalabany ve ark. 2010 yılında Mısır'da yaptıkları çalı mada sigara ile BDNF düzeyleri arasındaki ili kiyi incelemi lerdir. Bu alı maya alerji, kronik fiziksel hastalık, düzenli ilaç kullanımı ve psikiyatrik hastalık öyküsü bulunmayan 88 hasta dahil edilmi tir. Yapılan kar ıla tırma sonucu BDNF düzeyleri ile sigara kullanımı arasında ili ki saptanmamı tir. Yalnızca sigara kullanımına erken ya ta ba layanlarda BDNF düzeyleri yüksek bulunmu tur. Çalı manın sonucunda Zalabany ve ark. "BDNF'nin fonksiyonları dü ünüldü ünde, bu bulgu kronik sigara içicilerinde BDNF fonksiyonlarının azaldı mı ve endojen nöroprotektif mekanizmaların yıkıldı mı göstermektedir" demi lerdir (117). Buna benzer ekilde Kenny ve ark. yaptıkları çalı mada sigaranın kronik kullanımında BDNF düzeylerinde bir artı tespit etmi lerdir (118).

Kim ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalı mada kronik sigara kullanan, sigarayı bırakan ve hiç kullanmayan ki ilerinin kan BDNF düzeylerini ara tırmı lardır (119). Nikotin ba ımlılı mı de erlendirmek için Fagestrom Nikotin Ba ımlılık testi kullanıldı mı tir. Sigara kullanan grupta sigaraya ba lama ya ı, kullanım süresi, günlük sigara kullanım sayısı, sigara bırakma sıklı ı, sigara bırakıp kullanmadı ı maksimum süre ve Fagestrom skoru kayıt edilmi ve BDNF düzeyleri ile ili kisi kar ıla tırıldı mı tir. Bu alı mada plazma BDNF düzeylerinin sigara içen grupta dü ük oldu u açıklanmı tir. Çalı mayı tamamlayan 12 ki inin BDNF düzeyleri sigarayı bıraktıkları iki ayın sonunda anlamlı olarak yüksek bulunmu ve yine bu de er sigara içmeyen grupla kar ıla tırıldı ında da istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmu tur. Bhang ve ark. yaptıkları çalı mada, sigara içen ve içmeyen ki ilerinin BDNF düzeylerini incelemi ; toplam 45 sigara içen ki inin sonuçları ile 66 sigara içmeyen ki inin sonuçlarını kar ıla tırmı lardır. Sigara içen 45 ki iden 12'si Varenicline, 21 tanesi nikotin bandı ve di er 12 ki i ise hiçbir ey kullanmadan sigara bırakmı . 4. ve 12. hafta kan BDNF düzeylerine bakıldı mı tir. BDNF düzeylerini sigara içenlerde içmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı dü ük bulmu lardır. Bunun yanında 4. hafta kontrolde BDNF düzeylerinde artı , 4-12 hafta

arasında da azalma e ilimi oldu u bildirilmi tir (120). Önce yükselip sonra dü me e ilimi nöronal plastisitenin yeniden homeostazı teorisiyle açıklanmı tır. Sigara bırakan 3 ayı grubun BDNF düzeyleri arasında fark saptanmamı tır. Benzer ekilde Umene-Nakano ve ark. yaptıkları çalı mada sa lıklı Japonlarda BDNF düzeylerini sigara içenlerde içmeyenlere oranla dü ük bulmu lardır (121).

Kenny ve ark. nikotinin rat hipokampusundaki etkilerini inceledi i hayvan çalı masında, akut nikotin kullanımı sonucu BDNF düzeylerinde azalma, kronik kullanımda ise BDNF düzeylerinde artma tespit etmi lerdir (118).

Sigara kullanımının yapısal beyin hasarına yol açtı nı bildiren çalı malar mevcuttur. Nikotine maruz kalan ratlarda serebral korteks, hipokampus, orta beyin ve serebellumda hücre sayılarında azalma, apoptozis i aretlerinde artı ve sinaptik aktivitede de i iklik bildirilmi tir (3, 4, 5). Gallinat ve ark. yaptıkları çalı mada manyetik rezonans görüntülenme ile frontal bölge, occipital lob ve temporal lobta sigara içenlerde içmeyenlere göre gri madde miktarının ve dansitesinin azaldı nı tespit etmi lerdir (122). Bu bulgudan yola çıkarak nöron kaybına ba lı olarak nörotrofinlerin sigara içenlerde azalabilece ini dü ünülmekteyiz. Pan ve ark.'nın yaptı ı çalı maya göre BDNF kan beyin bariyerini geçebilmektedir Serum BDNF düzeyleri ile beyin BDNF düzeyleri paralellik göstermektedir (123).

Zhang ve ark. izofren hastalarda nikotin ba ımlılı ının BDNF düzeylerine etkisini ara tırdı ı çalı malarında, BDNF düzeylerinin sigara içenlerde içmeyenlere oranla yüksek oldu unu bildirmi lerdir (124). Çalı maya alınan 139 hastanın tamamı erkek ve izofren tanılı hastalar idi. Sigara içen 102 hastanın BDNF düzeyleri içmeyen 37 hastanın sonuçları ile kar ıla tırıldı ında anlamlı olarak yüksek bulundu.

Nikotin ba ımlılı ı olan hastalarda izofreninin negatif semptomları ile BDNF düzeyleri arasında korelasyon oldu u, özellikle çok sayıda sigara içen izofren hastalarda azalmı negatif semptom ve yüksek BDNF düzeyi bulunmu tur. Literatürde BDNF düzeylerini etkileyen ana faktörün izofreni mi yoksa sigara kullanımını mı oldu u net de ildir.

BDNF'nin orta beyin dopaminerjik sistemin farklılaşması, nöronal onarım ve ya am süresi üzerine oynadı ı rol ile sigara bırakıldıktan sonra BDNF düzeylerinin yükselmesi, nöroprotektif sürecin hızlanması ile ilintili olabilir.

Çalı mamızda sigara içen grupta BDNF düzeylerini d k tespit ettik; ancak sigaraya ba lama ya ı, kullanım sıklı ı ve süresi ile BDNF düzeyleri arasında bir ili ki bulamadık. Bu d kl n sebebinin, sigaranın direk toksik etkileri yanısıra nöronlar üzerindeki oksidatif stresi artırması sonucu nöronlarda olu an hasar ile BDNF sentezindeki azalmaya, ya da nöroprotektif amaçlı BDNF'nin a ırı kullanımına ba lı olabilece ini d nmekteyiz. BDNF miktarının azalması uzun vadede nöronal onarımı azaltacak belki de kalıcı hasara neden olabilecektir. Sigara kullanımını ile beyin hücrelerinin oksidatif strese maruz kalmasının yanında BDNF'nin azalması nöroprotektif süreci de geciktirebilir.

BDNF d kl nn sebepleri ve etkilerini daha geni açıklayabilmek amacıyla ileri çalı maların devam etmesinin gerekli oldu unu d nmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNER LER

1. Çalı mamızda, plazma MDA düzeylerini sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak tespit ettik. Sigara içiminin lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA'yı artırması, sigaranın oksidatif strese neden oldu unu dü ündürmektedir.

2. Eritrosit SOD aktivitesini sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak tespit ettik. SOD düzeylerinin, sigaranın olu turdu u oksidatif strese kar ı bir adaptasyon mekanizması olarak arttı ını dü ünmekteyiz.

3. GSH aktivitesini sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak tespit ettik. GSH seviyelerinin, sigaranın olu turdu u oksidatif strese kar ı bir adaptasyon mekanizması olarak arttı ını dü ünmekteyiz.

4. Çalı mamızda, serum NO de erlerini sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı dü ük olarak tespit ettik. Bu dü ü ün sigaranın NOs enzimini baskılamasına ve endotel hücre hasarına ba lı oldu unu dü ünmekteyiz.

5. BDNF düzeylerini ise sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı dü ük olarak tespit ettik. Bu sonuç bize sigaranın beyinde yaptı ı hasarı hızlandırabilece ini dü ündürmektedir.

BDNF düzeylerinin azalmasının ve BDNF'nin azalmasıyla meydana gelen hastalıkların anla ılabilmesi için, BDNF ile ilgili daha ileri çalı malar yapmaya gerek oldu u kanısındayız. Ayrıca, sigara içimiyle ba lantılı hastalıkların patogenezinde antioksidan-oksidan sistemin ve nörotrofinlerin etkisini daha net ortaya koyabilmek için daha ileri çalı malar yapılması gerekti ini dü ünmekteyiz.

Sigara kullanımı ve BDNF arasında kurulabilecek bir ili ki, nikotin ba ımlılı ının önüne geçmek için yeni çalı maların önünü açabilir.

Bu sonuçlarla ortaya konulmu tur ki, sigaranın sa lı ımıza çok ciddi olumsuz etkileri vardır ve nikotin ba ımlılı ı her geçen gün yaygınla maktadır. Dolayısıyla sigara içimini azaltmaya yönelik hatta sigaraya ba lamayı engelleyici yasal ve e itici önlemlerin alınması hayati önem ta ımaktadır. Sigaranın zararları hakkında e itici faaliyetlere küçük ya lardan itibaren ba lanması ve sigara kullanım alanlarının kısıtlanması, birey hatta toplum sa lı ı açısından çok önemlidir.

7. ÖZET

Sigara kullanımının serum BDNF düzeyleri ve oksidan-antioksidan sistem ile ili kisi

Bu çalı mada, sigara içen ve içmeyen 18-50 ya arası sa lıklı bireylerin oksidan-antioksidan durumlarının ve serum BDNF düzeylerinin ara tırılması amaçlanmı tır.

Bu çalı maya Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin Merkez Laboratuvarına ba vuran toplam 240 ki i dahil edildi. Denekler akut enfeksiyonu, psikiyatrik, nörolojik veya kronik arter hastalı ı (KAH), diabetes mellitus (DM), Böbrek yetmezli i, KOAH vb. gibi herhangi bir kronik hastalı ı ve kronik ilaç kullanımı olmayan, 18-50 (ya ortalaması $32,98\pm 7,71$) ya arası gönüllü bireylerden seçildi. Sigara içen 60 kadın (ya ortalaması= $33,43\pm 7,94$) ve 60 erkek (ya ortlaması= $32,53\pm 8,26$) ile sigara içmeyen 78 kadın (ya ortalaması= $32,66\pm 8,52$) ve 42 erkek (ya ortalaması= $31,0\pm 9,17$) olmak üzere 120' er ki ilik 2 grup halinde toplamda 240 ki iden kan numuneleri alınmı tır. Gönüllülerin serumlarından BDNF, NO, SOD, plazmalarından MDA ve deproteinize edilmi tam kan örneklerinden GSH düzeyleri analiz edilmi tır.

Plazma MDA düzeyleri, eritrosit SOD aktivitesi ve GSH aktivitesi sigara içen grupta içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak bulunmu tur. Serum NO ve BDNF düzeyleri ise sigara içen grupta, içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı dü ük olarak bulunmu tur.

Çalı manın sonuçlarına göre, sigara gerek oksidan-antioksidan dengeyi bozarak gerekse nöroprotektif etkili oldu u bilinen BDNF'yi azaltarak zararlı etkilerini nöronlarda da göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sigara, BDNF, oksidan-antioksidan parametreler

8. ABSTRACT

The relationship between smoking and serum BDNF levels and oxidant-antioxidant system

The objective of this study was to examine the oxidant-antioxidant status and serum BDNF levels of healthy smoker and non-smoker individuals between the ages of 18-50.

A total of 240 people who applied to Kocaeli University Medical Faculty Hospital Central Laboratory were included in the study. The subjects were selected from among volunteers between the ages of 18-50 (age average= $32,98\pm 7,71$) who did not have chronic drug use or chronic diseases such as acute infection, psychiatric, neurologic or chronic artery disease (CAD), diabetes mellitus (DM), renal failure, COPD etc.. Blood samples were taken from a total of 240 people from 2 groups of 120 people consisting of 60 smoking females (age average= $33,43\pm 7,94$) and 60 smoking males (age average= $32,53\pm 8,26$) along with 78 non-smoking females (age average= $32,66\pm 8,52$) and 42 non-smoking males (age average= $31,0\pm 9,17$). BDNF, NO, SOD were analyzed from the serum of the volunteers whereas MDA was analyzed from their plasma and GSH levels were analyzed from their deproteinized blood samples.

The plasma MDA levels, erythrocyte SOD activity and GSH activity of the smoking group was determined to be at a statistically significant higher level in comparison with the non-smoking group. Whereas the serum NO and BDNF levels were determined to be lower at a statistically significant level for the smoking group in comparison with the non-smoking group.

Study results indicate that smoking shows its damaging effects on neurons as well by both disrupting the oxidant-antioxidant balance and decreasing BDNF which is known to have a neuro-protective effect.

Keywords: Smoking, BDNF, oxidant-antioxidant parameters

9. KAYNAKLAR

1. Edwards R. The problem of tobacco smoking *BMJ*. 2004, **328**: 217-219.
2. Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol*. 2004; **25**(2):77-107.
3. W.J. Chen, R.B. Edwards, R.D. Romero, S.E. Parnell, R.J. Monk, Longterm nicotine exposure reduces Purkinje cell number in the adult rat cerebellar vermis, *Neurotoxicol. Teratol*. **25**(2003) 329–334.
4. J.A. Trauth, E.C. McCook, F.J. Seidler, T.A. Slotkin, Modeling adolescent nicotine exposure: effects on cholinergic systems in rat brain regions, *Brain Res*. **873** (2000) 18–25.
5. Z. Xu, F.J. Seidler, S.F. Ali, W. Slikker Jr, T.A. Slotkin, Fetal and adolescent nicotine administration: effects on CNS serotonergic systems, *Brain Res*. **914** (2001) 166–178.
6. Tobacco control: country profiles. Atlanta, GA. American Cancer Society, 2000.
7. *World Health Report 2002: reducing risks promoting healthy life*. Geneva, Switzerland: 2002, World Health Organization.
8. *United Nations World Population Prospects*. United Nations 1991, p: 226-31.
9. Crofton J, Bjartveit J. Smoking as a risk factor for chronic airways disease. *Chest* 1989;**96** (3 suppl) :307s-312s
10. Yanbaeva D G. Systemic effects of smoking. *Chest*. 2007; **131**:1557-1566.
11. Alberg AJ, Chen JC, Zhao H, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2000, **72**: 1576-82
12. Cross CE, Traber M, Eiserich J, van der Vliet A. Micronutrient antioxidants and smoking. *Br Med Bull* . 1999;**55**: 691-704.
13. Mac Nee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;**2**: 50-6011
14. Church DF, Pryor WA. The oxidative stress placed on the lung by cigarette smoke. *The lung 2* . New York: Raven Press, 1991.

15. Smith CJ, Perfetti TA, Garg R and Hansch C. IARC Carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and the calculated log p values. *Food Chem Toxicol.* 2003; **41**(6): 807-817.
16. Pryor WA. Oxidant in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxyacetyl nitrate and peroxyacetyl nitrite. *Ann ny acad sci.* 1993; **686**:12-27.
17. Pryor WA, Church DF, Evans MD, Rice WY, Hayes JR. A comparison of free radical chemistry of tobacco burning cigarettes and cigarettes that only heat tobacco. *Free radic biol med .* 1990; **8**:275-279.
18. Pryor WA. Biological effects of cigarette smoke, wood smoke and smoke from plastics: the use of electron spin resonance. *Free radic biol med.* 1992; **13**: 659.
19. Stone KK, Bermudez E, Pryor WA. Aqueous extracts of cigarette tar containing the tar free radical cause DNA nicks in mammalian cells. *Environ health perspect.* 1994; **102**: 173-178.
20. Nothrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clin Chim Acta.* 2007; **377**: 14-38
21. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1986; **25**: 1058-1071.
22. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin Chim Acta.* 2007; **380**:50-58
23. Codandabany U. Erythrocyte lipid peroxidation and antioxidants in cigarette smokers. *Cell Biochem Funct.* 2000; **18**: 99-102.
24. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996; **20**: 707-727
25. Omar BA, Mc Cord JM. Interstitial equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1991; **23**: 149-159
26. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette Smoking induces an increase in oxidative damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; **18**: 1763-1766

27. Stone KK, Bermudez E, Pryor WA. Aqueous extracts of cigarette tar containing the tar free radical cause DNA nicks in mammalian cells. *Environ health perspect.* 1994; 102:173-178.
28. Mc Cord JM. The evolution of free radicals and oxidative stres. *Am J Med.* 2000; **108**: 652-659.
29. Gilbert DL. Fifty years of radical ideas. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 899: 1-14.
30. Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.* 2001; **85**(S2); S67-S74.
31. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann NY Acad Sci.* 1999; 893: 13-18.
32. Benzie IFF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur J Nutr.* 2000; **39**: 53-61.
33. Kawashima S. The two faces of endothelial nitric oxide sythase in the pathophysiology of atherosclerosis. *Endothelium.* 2004; **11**: 99-107.
34. Esterbauer H, Wag G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherogenesis. *Br Med Bull.* 1993; **49**: 566-576.
35. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996; **25**: 439-54
36. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C,vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommitees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington D. C . : National Academy Press; 2000. p.1-506.
37. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 1999; **37**: 949-62
38. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press, 1994.
39. Buettner GR, Schafer FQ. Free radicals, oxidants and antioxidants. *Teratology.* 2000; **62**: 234-234.
40. Akku . *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.* Konya: Mimoza Yayınları, 1995.

41. Stocker R. The ambivalence of vitamin E in atherogenesis trends. *Biochem sci.* 1999; **24**: 219-223.
42. Barry Halliwell. Vitamin C & genomic stability. *Mutat Res.* 2001; **475**: 29-35.
43. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford: Oxford University Press, 1999.
44. Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids *Biochimica et Biophysica Acta.* 2005; **1740**:101-107.
45. Young A.J, Lowe G.M. Antioxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys.* 2001; **385**: 20-27.
46. F.Bohm, R, Edge, D.J. Mc Garvey, T.G. Truscott, Beta carotene and alphanatocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem, Biophys.* 1992; **297**: 184-187.
47. Rice-Evans CA, Miller NS and Paganda G Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology & Medicine.*1996; **7**(20): 993-956.
48. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 2002; **18**: 872-879.
49. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choveiri T. Exercise, free radicals and oxidative stres. *Biochem Soc Trans.* 2002; **30**(2): 280-5.
50. Laursen PB. Free radicals and antioxidant vitamins: optimizing the health of the athlete. *Strength Cond J.* 2001; **23**(2): 17-25.
51. Dimeo S, Vendetti P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stres. *Biol Signals Recept.* 2001; **10**: 125-40.
52. Leewenburgh C, Hansen PA, Holloszy Jo. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol Med.* 1999; **27**(1-2): 186-92.
53. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stres and ageing. *Biochim Biophys Acta.* 1998; **1366**(1-2): 53-67.
54. Sjodin B, Hellsten Westing Y. Biochemical mechanism for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med.* 1990; **10**: 236-54.
55. Ji, L.L. Antioxidants and oxidative stres in exercise *Experimental Biology and Medicine.* 1999; **222**: 283-292.

56. Nair A, Vadodaria KC, Banerjee SB, Benekareddy M, Dias BG, Duman RS, Vaidya VA. Stressor-specific regulation of distinct brain-derived neurotrophic factor transcripts and cyclic AMP response element-binding protein expression in the postnatal and adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 2007; **32**(7):1504-19.
57. West AE, Chen WG, Dalva MB, Dolmetsch RE, Kornhauser JM, Shaywitz AJ, Takasu MA, Tao X, Greenberg ME. Calcium regulation of neuronal gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; **98**(20):11024-31.
58. Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron*. 1998; **20**(4):709-26.
59. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006; **59**(12):1116-27.
60. Poo M-M. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat. Rev. Neurosci*. 2001; **2**: 24- 32.
61. Aimone JB, Wiles J, Gage FH. Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories. *Nat Neurosci*. 2006; **9**(6):723-7.
62. Gould E, Gross CG. Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems. *J Neurosci*. 2002; **22**(3):619-23.
63. Falkenberg T, Mohammed AK, Henriksson B, Persson H, Winblad B, Lindfors N. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus is associated with improved spatial memory and enriched environment. *Neurosci Lett*. 1992; **138**(1):153-6.
64. Yashmin J.G. Karten, Ana Olariu and Heather A. Cameron. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood *Trends in Neurosciences*, 2005; Volume **28**: 4, Pages 171-172.
65. Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM. Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNA's in the hippocampus. *J Neurosci* 1995; **15**: 1766-1777.

66. Molteni R, Calabrese F, Bedogni F, Tongiorgi E, Fumagalli F, Racagni G, Andrea Riva M. Chronic treatment with fluoxetine up-regulates cellular BDNF mRNA expression in rat dopaminergic regions. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2005; 1–11.
67. Morley-Fletcher S, Rea M, Maccari S, Laviola G. Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur J Neurosci.* 2003; **18**(12):3367-74
68. Branchi I, D'Andrea I, Sietzema J, Fiore M, Di Fausto V, Aloe L, Alleva E. Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BrdU-positive cells while increasing anxiety- and "depression"-like behavior. *J Neurosci Res.* 2006; **83**(6):965-73.
69. Branchi I, D'Andrea I, Fiore M, Di Fausto V, Aloe L, Alleva E. Early social enrichment shapes social behavior and nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor levels in the adult mouse brain. *Biol Psychiatry.* 2006; **60**(7):690-6.
70. Schaaf MJ, de Jong J, de Kloet ER, Vreugdenhil E. Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone. *Brain Res.* 1998; **813**:112–120.
71. Ueyama T, Kawai Y, Nemoto K, Sekimoto M, Toné S, Senba E. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. *Neurosci Res.* 1997; **28**(2):103-10.
72. Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci.* 2000; **1**(3):191-8.
73. Chapillon P, Patin V, Roy V, Vincent A, Caston J. Effects of pre- and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: a review. *Dev Psychobiol.* 2002; **41**(4):373-87.
74. Bredy TW, Zhang TY, Grant RJ, Diorio J, Meaney MJ. Peripubertal environmental enrichment reverses the effects of maternal care on hippocampal development and glutamate receptor subunit expression. *Eur J Neurosci.* 2004; **20**(5):1355-62.

75. Lemaire V, Lamarque S, Le Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry*. 2006; **59**(9):786-92
76. Yang J, Li W, Liu X, Li Z, Li H, Yang G, Xu L, Li L. Enriched environment treatment counteracts enhanced addictive and depressive-like behavior induced by prenatal chronic stress. *Brain Res*. 2006; **1125**(1):132-7.
77. Pham TM, Winblad B, Granholm AC, Mohammed AH. Environmental influences on brain neurotrophins in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002; **73**: 167–75.
78. Tamatsu Y, Kyoya K, Tashia S, Malika M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood 1979.
79. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood. *Biochemical Aspect Of Hematology in: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.A. Saunders Company. 2nd edition. P:1990.
80. Nielsen F, Nielsen J, Mikkelsen BB, Andersen HR Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chem* 1997; **43**(7): 1209-14.
81. I ik B, Ceylan A, I ik R. Oxidative stres in smokers and non smokers. *Inhal Toxicol*. 2007; **19**: 767-769.
82. Petruzzelli S, Hietanen E, Bartsch H, Camus AM et al. Pulmonary lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; **98**: 931-5.
83. Kim HS, Lee BM. Protective effects of antioxidant supplementation on plasma lipid peroxidation in smokers. *J Toxicol Environ Health* 2001; **24**: 583-98.
84. Harats D, Ben - Naim M, Dabach Y. et all. Cigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages. *Atherosclerosis* 1989; **79**: 245 - 52.
85. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K. Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers int *J Exp Pathol* 1991; **72**: 1-7.
86. Bridges AB, Scott NA, Parry GJ. et all. Age, Sex, cigarette smoking and indices of free radical activity in healty humans. *Eur J Med* 1993; **2**: 205-8

87. Solak ZA, Kabaro lu C, Cok G, Parıldar Z, Bayındır U, Ozmen P, Bayındır O. Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paroxonase 1 activity in healthy people. *Clin Gxp Med.* 2005; **5**: 99-105.
88. ekero lu MR, Aslan R, Tarakçio lu M. Sigara içenlerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *Tüberküloz ve Toraks* 1997;**45**(2):105-9.
89. Orhan H, Evelo CTA, ahin G. Erythrocyte antioxidant defense response against cigarette smoking in humans-the glutathione S-transferase vulnerability. *J Biochem Mol Toxic.* 2005; **19**: 226-233.
90. Leonard MB, Lawton K, watson ID, et all. Free radical activity in young adult cigarette smokers. *J Clin Pathol* 1995; **48** (4): 385-7.
91. Zhau JF, Yan XF, Guo FZ, Sun NF, Qian ZY. Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomed Environ Sci* 2000; **13**(1): 44-55.
92. Ryfeldt A, Bannenberg G, Moldeus P. Free radical and lung disease. *British med. Bull*,1993, **49**(3):588-603.
93. Cotgreave IA, Johansson U, Moldéus P, Brattsand R The effect of acute cigarette smoke inhalation on pulmonary and systemic cysteine and glutathione redox states in the rat. *Toxicology.* 1987 aug;**45**(2):203-12.
94. Hulea SA, Olinescu R, Nitas. Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stres: a case control study. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1995; **14**: 173-180.
95. Duthie GG, Arthur Jr, James WPT, Vint HM. Antioxidant status of smokers and nonsmokers. Effect of vitamin E supplementation. *Ann NY Acad Sci.* 1989, **570**:435-438.
96. Duthie GG, Arthur Jr, James WPT. Effects of smoking and vit E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr*, 1991, **53**(4 suppl):1061-1063.
97. Jendryczko A, Szyrko G,Gruszczynski J, Korowich M. Cigarette smoke exposure of school chidren effect of passive smoking and vitamin E supplementation on blood antioxidant status, *Neoplasma*, 1993, **40**(3):199-203.
98. Demir S, Özkurt S, Köseo lu M ve ark. Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu. *Solunum* 2001;**3**: 57-59. 23.

99. Çelik O, Erbetçio lu MB. Otoloji ve nöro-otolojide öykü, muayene ve de erlendirme. Çelik O (Ed.). Kulak Burun Bo az Hastalıkları ve Ba Boyun Cerrahisi. Turgut Yayıncılık stanbul, 2002: 1-29.
100. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; **329**: 2002-12
101. Flavahan NA, Vanhoutte PM: Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens.* 1995; **8**: 285-415
102. Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M: Cigarette smoke extract contracts isolated porcine coronary arteries by super oxide anion-mediated degradation of EDRF. *Am J Physiol* 1994; **266**: 874-80
103. Moncada S: The L-arginin: Nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; **145**: 201-27
104. Soejima K, McGuire R, Snyder N 4th et al: The effect of inducible nitric oxide synthase (iNOS) inhibition on smoke inhalation injury in sheep. *Shock* 2000; **13**: 261-6
105. Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PLM: Nitrite and nitrate determinations in plasma. A critical evaluation. *Clin Chem* 1995; **41**: 904-7
106. Jungersten L, Edlund A, Petersson AS et al: Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man. Analysis of kinetics and confounding factors. *Clin Physiol* 1996; **16**: 366-79
107. Higman DJ, Strachan AMJ, BATTERY L et al: Smoking impairs the activity of endothelial nitric oxide synthase in saphenous vein. *Arteriosclerosis Trombosis and Vascular Biology* 1996; **16**: 546-52
108. Kiowski W, Linder L, Stoschitzky K et al: Diminished vascular response to inhibition of endothelium derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. *Circulation* 1994; **90**: 27-34
109. McWeugh GE, Lemay L, Morgon D, Cohn JN: Effects of long term smoking on endothelium dependent responses in humans. *Am J Cardiol* 1996; **78**: 668-72
110. Hutchison SJ, Reitz MS, Sudhir K et al: Chronic dietary L-arginine prevents endothelial dysfunction secondary to environmental tobacco smoke in normocholesterolemic rabbits. *Hypertension* 1997; **29**: 1186-91

111. Zhu B, Sun Y, Sievers RE et al: L-arginine decreases infarct size in rats exposed to environmental tobacco smoke. *Am Heart J* 1996; **132**: 91-100
112. Node K, Kitakaze M, Yoshikawa H: Reversible reduction in plasma concentration of nitric oxide induced by cigarette smoking in young adults. *Am J Cardiol* 1997; **79**: 1538-41
113. Vargas-Perez, H, Ting-A-Kee, R, Walton, CH, Hansen, DM, Razavi, R, Clarke, L, Bufalino, MR, Allison, DW, Steffensen, SC and van der Kooy, D. (2009). Ventral tegmental area BDNF induces an opiate-dependent-like reward state in naïve rats. *Science* May 28 [Epub ahead of print] [doi: 10.1126/science.1168501].
114. Ikeda H, Takajo Y, Murohara T et al: Platelet-derived nitric oxide and coronary risk factors. *Hypertension* 2000; **35**: 904-7
115. Chalon SVH, Moreno H Jr, Benowitz NL, Hoffman BB, Blaschke TF: Nicotine impairs endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Clin Pharmacol Ther* 2000; **67**: 391-7
116. Miller VM, Lewis DA, Rud KS, Offord KP, Croghan IT, Hurt RD: Plasma nitric oxide before and after smoking cessation with nicotine nasal spray. *J Clin Pharmacol* 1998; **38**: 22-7
117. Laila M El Zalabany, Doaa A El Morsi, Sahar A EL Dakroory, Alyaa Aba El-Hassan, Amany Ragab Yousef. Smoking and brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum. *Journal of Dento Medical Science & Research* 2013; 1(1)
118. PJ Kenny, SE File, M Rattray. Molecular brain research Acute nicotine decreases, and chronic nicotine increases the expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus, *Molecular Brain Research* Volume **85**, December 2000: 234–238.
119. Kim TS, Kim DJ, Lee H, Kim YK. Increased plasma brain-derived neurotrophic factor levels in chronic smokers following unaided smoking cessation, *Neuroscience Letters* 2007; **423**(1): 53-57
120. Bhang SY, Choi SW, Ahn JH. Changes in plasma brain-derived neurotrophic factor levels in smokers after smoking cessation, *Neuroscience Letters*; 468(1);7-11

121. Umene-Nakano W, Yoshimura R, Yoshii C, Hoshuyama T, Hayashi K, Hori H, Katsuki A, Ikenouchi-Sugita A, Nakamura J (2010) Varenicline does not increase serum BDNF levels in patients with nicotine dependence. *Hum Psychopharmacol* **25**: 276–279
122. J. Gallinat, E. Meisenzahl, L.K. Jacobsen, P. Kalus, J. Bierbrauer, T. Kienast, H. Witthaus, K. Leopold, F. Seifert, F. Schubert, M. Staedtgen, Smoking and structural brain deficits: a volumetric MR investigation, *Eur. J. Neurosci.* **24** (2006) 1744–1750.
123. Weihong Pan, William A Banks, Melita B Fasold, Jonathan Bluth, Abba J Kastin. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood–brain barrier. *Neuropharmacology.* **37**(1998):1553–1561
124. Zhang, X. Y.; Xiu, M. H.; Chen, D. C.; De Yang, F.; Wu, G. Y.; Lu, L.; Kosten, T. A. and Kosten, T. R.: "Nicotine dependence and serum BDNF levels in male patients with schizophrenia". *Psychopharmacology (Berl)* 2010.