



T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**6 AY- 3 YAŞ ARASI VİTAMİN B₁₂ EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA
SERUM NEUDESİN VE BDNF DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Serpil MERİÇ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emel TORUN

TEMMUZ 2023



T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**6 AY- 3 YAŞ ARASI VİTAMİN B₁₂ EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA
SERUM NEUDESİN VE BDNF DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Serpil MERİÇ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Emel TORUN

**Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 20230215 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2023



ÖNSÖZ

Tez hazırlanma sürecimin her aşamasında ve dört yıllık eğitim sürecimde değerli katkılarını esirgemeyen, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Emel TORUN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimimiz için üstün çaba gösteren ve iyi bir hekim olarak yetişmemde büyük emeği olan Sayın Prof. Dr. Erkan ÇAKIR'a,

Bilgi ve deneyimlerini aktarmaya çalışan, hekimliği ve hocalığı ile bana yol gösteren ve bu mesleği sevdiren değerli hocalarım Prof. Dr. Fatma Betül ÇAKIR, Prof. Dr. Dilara Füsun İÇAĞASIOĞLU, Prof. Dr. İlker Tolga ÖZGEN, Doç. Dr. Ufuk ERENBERK, Doç. Dr. Ayşegül DOĞAN DEMİR, Doç. Dr. Güzide DOĞAN ve Doç. Dr. Feyza USTABAŞ KAHRAMAN'a,

Bilgi, deneyim, hekimliği ile eğitimime büyük katkısı olan, iyi bir çocuk hekiminin nasıl olması gerektiğini öğreten ve her zaman her konuda yol gösteren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Selçuk UZUNER'e,

Çalışmanın verilerinin oluşturulmasında özveri ile yardımcı olan Dr. Şirin SÖNMEZ'e, tez süreci boyunca laboratuvarında örneklerin saklanmasında ve incelenmesinde emek veren Zeynep ÖZMAN'a,

Birlikte çalışma imkânı bulduğum, büyük bir özveriyle çalışan çocuk kliniğinin tüm hocalarına, uzmanlarına, asistanlarına, hemşirelerine ve klinik personeline,

Asistanlık sürecimde hem meslektaşım hem de arkadaşım olarak yanımda olmalarından büyük mutluluk duyduğum, onları tanıdığım için kendimi şanslı hissettiğim eş kıdemlerim Dr. Aslı Yeter BAŞ CAN, Dr. Aslınur Meryem KARAGÜVEN ve Dr. Hanife Buşra KÜÇÜK BİLİCİ'ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yardımcı olup yanımda olan, desteğini esirgemeyen, tanımaktan büyük mutluluk duyduğum anabilim dalı sekreterimiz Yeşim BALÇIN'a,

Bugüne gelmemde emeği çok büyük olan, hayatımın her aşamasında desteklerini ve sevgilerini asla esirgemeyen canım annem Hülya MERİÇ, babam Köksal MERİÇ, ablam Merve Meriç YILMAZ, kardeşim Sude MERİÇ ve Mehmet Alican YILMAZ'a,

Her zaman yanımda olan, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, hayatımı daima kolaylaştıran hem en yakın arkadaşım hem yol arkadaşım Fatih TOPRAK'a,

Tez çalışmamı 20230215 numaralı proje ile destekleyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2023

Dr. Serpil MERİÇ

BEYAN

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

Dr. Serpil MERİÇ



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	III
BEYAN	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
KISALTMALAR	VII
SEMBOLLER	IX
TABLO LİSTESİ	X
ŞEKİL LİSTESİ	XI
ÖZET.....	XI
SUMMARY	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. VİTAMİN B ₁₂	4
2.1.1. Vitamin B ₁₂ 'nin Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri:.....	4
2.1.2. Vitamin B ₁₂ 'nin Besinsel Kaynakları.....	6
2.1.3. Vitamin B ₁₂ 'nin Emilimi.....	7
2.1.4. Vitamin B ₁₂ Metabolizması.....	9
2.1.4.1. Remetilasyon Yolu:	9
2.1.4.2. Deoksidasyon Yolu:.....	10
2.1.5. Vitamin B ₁₂ 'nin Fizyolojik Önemi	11
2.1.6. Vitamin B ₁₂ Eksikliği Etiyolojisi.....	12
2.1.6.1. Yetersiz B ₁₂ Vitamini Alımı:	12
2.1.6.2. Vitamin B ₁₂ 'nin Emilim Bozukluğu:	12
2.1.6.3. Vitamin B ₁₂ 'nin Transport Defektleri:	13
2.1.6.4. Kobalamin Metabolizmasının Konjenital Bozuklukları:	13
2.1.7. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Klinik Belirti ve Bulguları	16
2.1.7.1. Makrositik Anemi:.....	16
2.1.7.2. Gastrointestinal Belirtiler:.....	17
2.1.7.3. Nörolojik Belirti ve Bulgular:.....	17
2.1.8. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Laboratuvar Bulguları	18
2.1.9. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Tanısı.....	19

2.1.10. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Tedavisi.....	20
2.2. NEUDESİN	21
2.2.1. Neudesinin Tanımı	21
2.2.2. Neudesinin Yapısı.....	24
2.2.3. Neudesinin Aktivitesi ve Etki Mekanizması.....	24
2.2.4. Neudesinin Fonksiyonları.....	25
2.3. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFIN FAKTÖR (BDNF)	28
2.3.1. BDNF'nin Tanımı	28
2.3.2. BDNF'nin Yapısı ve Sentezi.....	28
2.3.3. BDNF Reseptörleri ve Etki Mekanizmaları	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. ÇALIŞMANIN ÖRNEKLEMİ	33
3.2. NUMUNELERİN TOPLANMASI VE ANALIZI.....	33
3.3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. EKLER.....	53
8. KAYNAKLAR	59

KISALTMALAR

AdoCbl	: Adenozilkobalamin
AKT	: ProteinKinaz B
AMN proteini:	Amnionless proteini
ATP	: Adenozin trifosfat
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
CAM kinaz	: Ca/kalmoduline bağımlı protein kinaz
cAMP	: Siklik adenozin 3',5'-monofosfat
Cbl	: Kobalamin
CNCbl	: Siyanokobalamin
CREB	: Siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein
Cub	: Kubulin
DAG	: Diasilgliserolün
DMB	: Dimetilbenzimidazol
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ERK	: Hücre dışı sinyalle regüle edilen kinaz
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GI	: Gastrointestinal
GTP	: Guanozin trifosfat
HC	: Haptokorrin
HIFD	: Kalıtsal intrinsik faktör eksikliği
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
IF	: İntrinsik faktör
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
InsP3	: İnositol-1,4,5-trifosfat
KoA	: Koenzim A
LTP	: Uzun vadeli güçlenme
MAP-2	: Mikrotübülle ilişkili protein - 2
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz

MAPR ailesi	: Membran ilişkili progesteron reseptör ailesi
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MeCbl	: Metilkobalamin
MEK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz
MMA	: Metil malonik asit
mRNA	: Mesajcı RNA
MRP1	: Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1
MS	: metiyonin sentaz
NENF	: Nörondan türetilmiş nörotrofik faktör
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NMDA	: N- metil D-aspartat
NT	: Nörotrofin
OHcbl	: Hidroksikobalamin
PGRMC	: progesteron reseptör membran komponent
PI3K	: fosfatidilinositol-3 kinaz
PKA	: Protein kinaz A
PLCγ1	: Fosfolipaz C gama-1
PTB	: Polipirimidin yolu bağlayıcı protein
PTX	: Boğmaca toksini
RBC	: Kırmızı kan hücresi
RNA	: Ribonükleik asit
SAH	: S-adenozil homosistein
SAM	: S-Adenozil Metiyonin
SH-2	: Src homoloji domaini 2
siRNA	: small interfering RNA
TC	: Transkobalamin
THF	: Tetrahidrofolat
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TRK	: Tropomiyosin ile ilişkili kinaz
TRKB	: Tropomiyosin ile ilişkili kinaz reseptörü tip B
B₁₂	: Vitamin B ₁₂

SEMBOLLER

Ca	: Kalsiyum
Co	: Kobalt
kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
ng	: Nanogram
pg	: Pikogram
µg	: Mikrogram
pH	: Hidrojen potansiyeli

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: Vitamin B ₁₂ eksikliğinin nedenleri.....	15
Tablo 2: Neudesinin nöral fonksiyonlar, enerji metabolizması ve tümörgenezdeki aktivitesi ve rolleri.	27
Tablo 3: Neudesin için standart çözeltilerin seyreltilmesi.....	35
Tablo 4: BDNF için standart çözeltilerin seyreltilmesi.	35
Tablo 5: Tüm Hastaların Demografik, Antropometrik Özellikleri ve B12 Düzeyleri....	39
Tablo 6: B12 Vitamini Düzeyi Düşük (<300 ng/L) ve Normal (≥300 ng/L) Olan Hastaların Özelliklerinin Kıyaslanması.	40
Tablo 7: B12 Vitamini Düzeyi Düşük (<300 ng/L) ve Normal (≥300 ng/L) Olan Hastaların Özelliklerinin Kıyaslanması.	43
Tablo 8: Tüm Hastalar, B12 Düzeyi Düşük ve Normal Hastalarda Neudesin ve BDNF Değerlerinin Laboratuvar ve Antropometrik Değerlerle İlişkisi.	44

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: B ₁₂ vitamininin kimyasal yapısı.	5
Şekil 2: Vitamin B ₁₂ 'nin emilimi ve hücre içine alınması.	8
Şekil 3: Vitamin B ₁₂ bağımlı metiyonin sentaz enzimi ile metiyonin oluşumu.	10
Şekil 4: Metilmalonil KoA'dan süksinil KoA oluşumu.	11
Şekil 5: Neudesin'in (A) amino asit dizisi ve MAPR ailesindeki heme/steroid bağlayıcı alanların (B) karşılaştırılması.	23
Şekil 6: Nöronlarda BDNF sentezi, paketlemesi ve salgılanması.	29
Şekil 7: BDNF-TrkB ve BDNF-p75 ^{NTR} sinyal yolları.	30
Şekil 9: Kuyucuklara 50 µL durdurma solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin sarı renge dönüşümü.	36
Şekil 8: Kuyucuklara substrat A ve B eklendikten sonra konsantrasyonları oranında mavi renge dönüşümleri.	36
Şekil 10: Neudesin kalibrasyon eğrisi.	37
Şekil 11: BDNF kalibrasyon eğrisi.	37

6 AY- 3 YAŞ ARASI VİTAMİN B₁₂ EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA SERUM NEUDESİN VE BDNF DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Giriş ve Amaç

Vitamin B₁₂ (B₁₂) hücre bölünmesi ve büyümesi için gerekli olan, santral sinir sisteminin gelişiminde, DNA ve RNA sentezinde ve miyelinizasyonda kritik bir rol oynayan esansiyel bir vitamindir. Özellikle beyin gelişiminin devam ettiği ilk 3 yaşta vitamin B₁₂ eksikliği olması nörokognitif fonksiyonlarda bozukluklara neden olur. Neudesin (neuron-derived neurotrophic factor; NENF), başlıca santral sinir sisteminden salgılanan, nöron farklılaşması ve sağ kalımında rol oynayan, membran ilişkili progesteron reseptör (MAPR) ailesine ait bir nörotrofik faktördür. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), kongnitif fonksiyonlar ve hafıza üzerinde kritik rol oynayan, nöron ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolünü sağlayan ve nöroproteksiyonda fonksiyonu olan, düzenleyen nörotrofin ailesine ait bir proteindir. Birçok çalışma, NENF'in ve BDNF'nin nöronal gelişim ve fonksiyon için kritik bir faktör olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın amacı vitamin B₁₂ eksikliği olan ve normal vitamin B₁₂ düzeyine sahip çocuklar arasında serum neudesin ve BDNF düzeylerini karşılaştırarak, santral ve periferik sinir sisteminin gelişmesinde ve sürdürülmesinde etkili olan neudesin ve BDNF ile vitamin B₁₂ arasında ilişki olup olmadığını incelemektir.

Materyal ve Metot

Bu çalışmaya araştırma grubu olarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne 01.03.2023-01.06.2023 tarihleri arasında başvuran 6 ay – 3 yaş arası vitamin B₁₂ eksikliği (<300 ng/L) saptanan 26 çocuk dahil edildi. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş normal düzeyde serum vitamin B₁₂ düzeyine (≥300 ng/L) sahip 26 çocuktan oluşturuldu. Herhangi bir kronik hastalığı olan (malabsorbsiyon, Çölyak Hastalığı, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı, metabolik hastalıklar vb.) ve 6 ay- 3 yaş aralığında olmayan çocuklar çalışmaya alınmadı. Ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışma ve kontrol grubundan biyokimya tüplerine alınan venöz kan numuneleri neudesin ve BDNF analizleri için temin edilen kitlerin protokolüne göre Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda çalışıldı. İstatistik analizler R yazılımı (versiyon 4.2.0) ile yapıldı.

Bulgular

B12 vitamin düzeyi düşük olan hastaların neudesin ve BDNF ortalaması ile B12 vitamin düzeyi normal olan hastaların neudesin ve BDNF ortalaması arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.604, p=0.266). Tüm hastalar için değerlendirildiğinde yaş ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon (r=-0.41, p<0.05), düşük B12 vitamini düzeyi olan hastalar için değerlendirildiğinde yaş ile BDNF arasında negatif yönlü orta seviyede korelasyon (r=-0.52, p<0.05), ağırlık persentili ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.41, p<0.05) saptandı.

Sonuç

Literatürde neudesin ve BDNF'nin nöronlar üzerindeki etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ancak çocukluk çağında vitamin B12 ile ilişkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışma vitamin B12 eksikliğinin serum neudesin ve BDNF düzeylerini önemli ölçüde etkilemediğini ve kontrollerden farklı olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte bu nörotrofinlerin fizyolojik rolleri ve terapötik strateji için potansiyel ajan olmaları nedeni ile klinik uygulamalarda daha yoğun çalışmalar gerektirmektedir. Çalışmamız bu anlamda daha geniş katılımlı yeni çalışmalar açısından öncü olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Vitamin B₁₂, neudesin, BDNF, nörotrofik faktör



EVALUATION OF SERUM NEUDESIN AND BDNF LEVELS IN CHILDREN BETWEEN 6 MONTHS AND 3 YEARS WITH VITAMIN B₁₂ DEFICIENCY

SUMMARY

Introduction and Objectives

Vitamin B₁₂ (B₁₂) is an essential vitamin required for cell division and growth, and plays a critical role in the development of the central nervous system, DNA and RNA synthesis, and myelination. Vitamin B₁₂ deficiency causes disorders in neurocognitive functions especially in the first 3 years of age, when brain development continues. Neudesin (neuron-derived neurotrophic factor; NDNF) is a neurotrophic factor belonging to the membrane-associated progesterone receptor (MAPR) family, which is primarily secreted from the central nervous system and plays a role in neuron differentiation and survival. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a protein belonging to the neurotrophin family, which plays a critical role in cognitive functions and memory, controls the development of neurons and glial cells, and has a function in neuroprotection. Many studies show that NDNF and BDNF are critical factors for neuronal development and function. The aim of this study is to compare serum neudesin and BDNF levels between children with vitamin B₁₂ deficiency and normal vitamin B₁₂ levels and to examine whether there is a relationship between vitamin B₁₂ and neudesin and BDNF, which are both effective in the development and maintenance of the central and peripheral nervous system.

Material and Method

As the study group, 26 children aged between 6 months and 3 years with vitamin B₁₂ deficiency (<300 ng/L) who applied to Bezmialem Vakıf University Child Health and Diseases Clinic between 01.03.2023 and 01.06.2023 were included. The control group consisted of 26 age- and sex-matched children with normal serum vitamin B₁₂ levels (≥300 ng/L). Children with any chronic disease (malabsorption, Celiac Disease, Inflammatory Bowel Disease, metabolic diseases, etc.) and who were not between 6 months and 3 years of age were excluded from the study. Written informed consent was taken from the parents. Venous blood samples taken into biochemistry tubes from the study and control groups were studied in the Medical Biochemistry Research Laboratory according to the protocol of the neudesin and BDNF kits. Statistical analyzes were performed with R software (version 4.2.0).

Results

No significant difference was found between the mean neudesin and BDNF levels of patients with low vitamin B₁₂ levels and the mean neudesin and BDNF levels of patients with normal vitamin B₁₂ levels (p=0.604, p=0.266). When evaluated for all patients, a weak negative correlation was found between age and BDNF (r=-0.41, p<0.05). When evaluated for patients with low vitamin B₁₂ levels, a moderate negative correlation was found between age and BDNF (r=-0.52, p<0.05). There was a weak positive correlation between weight percentile and BDNF (r=0.41, p<0.05).

Conclusion

There are various studies in the literature examining the effect of neudesin and BDNF on neurons. However, there is no study showing whether there is a relationship between vitamin B12 and these neurotrophins in childhood. Our findings suggest that vitamin B12 deficiency does not significantly affect serum neudesin and BDNF levels and is not different from controls. However, due to the physiological roles of these neurotrophins and their potential agents for therapeutic strategy, more intensive studies are required in clinical practice. In this sense, our study will be a pioneer in terms of new studies with wider participation.

Key words: Vitamin B₁₂, neudesin, BDNF, neurotrophic factor



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vitamin B₁₂ (B₁₂), moleküler yapısının merkezine kobalt atomu yerleşir ve korin halkalarını meydana getirir. Bu sayede suda çözünebilme özelliği de kazanan B₁₂; kobalamin ismiyle de adlandırılabilir. Yine B₁₂, santral sinir sistemi gelişiminde, başta kan hücrelerinde olmak üzere DNA ve RNA sentezinde ve nöronların miyelinizasyonunda kritik bir rol oynayan esansiyel bir vitamindir. B₁₂'nin temel kaynağı diğer suda çözünen vitaminlerin aksine hayvansal kaynaklı gıdalardır [5, 6]. Sığır karaciğeri ve böbreği, kırmızı et, süt, peynir ve yoğurt gibi hayvansal gıdalarda bol miktarda bulunur [7]. Gıdalarla alınan B₁₂, ince bağırsakta aktif transport ile terminal ileumdan emilir ve bunun büyük bir kısmı karaciğerde depolanır. B₁₂, vücuttan başlıca safra yoluyla atılır; ancak bir miktar idrar yoluyla da atılabilir [8].

Kobalamin eksikliğinin nedenleri yetersiz diyetel alım, kusurlu emilim, kusurlu taşıma ve kusurlu metabolizma olacak şekilde dört kategoride incelenebilir [9, 10]. Çocukluk ve ergenlik döneminde daha çok diyetel alımda yetersizlik görülür. Günümüzde beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, vegan diyet tercihi ve düşük sosyoekonomik bölgelerde hayvansal besinlere ulaşımın zor olmasından dolayı B₁₂ eksikliği görülme sıklığı artmıştır [11].

Hayvansal gıdalarda bolca bulunan B₁₂, insan vücudunda hücrelerde metabolik süreçlerde kofaktör olarak kullanılır. B₁₂'nin, hidroskobalamin (OHCbl), siyanokobalamin (CNCbl), metilkobalamin (MeCbl) ve adenosilkobalamin (AdoCbl) olmak üzere dört farklı formu bulunmaktadır [2]. MeCbl ve AdoCbl aktif metabolitlerdir. Bu aktif metabolitler, remetilasyon ve deoksidasyon enzim sistemi yoluyla kofaktör olarak görev alırlar. Bu yollar; MeCbl'nin kofaktör olduğu metiyonin sentaz (MS) enzimi ile homosisteinin metiyonine dönüşümü ve AdoCbl'nin kofaktör olduğu metilmalonil koenzim A mutaz enzimi ile metil malonil koenzimA'nın süksinil koenzimA'ya dönüşümüdür [12, 13].

Metiyonin sentaz, pürinlerin ve pirimidinlerin sentezi için gerekli bir enzimdir. Vitamin B₁₂ eksikliği olan insanlarda bu yolak etkilenir. Sonuç olarak hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA sentezinde bozukluk meydana gelir. Dolayısıyla, B₁₂ eksikliği olan insanlarda görülen megaloblastik anemi gibi hematolojik hastalıkların etyopatogenezinde rol oynar. AdoCbl eksikliğinde metilmalonil CoA birikir ve bu durum B₁₂ eksikliğinde görülen nörolojik etkilerin ortaya çıkmasından

sorumludur [13]. eksikliğinde metilmalonil CoA birikir ve bu durum vitamin B₁₂ eksikliğinde görülen nörolojik etkilerin ortaya çıkmasından sorumludur [13]. MeCbl ve AdoCbl gibi her iki kofaktörün eksikliği miyelin oluşumunu etkileyebilir. Miyelin, aksonun çevresini saran ve onu koruyan, sinirlerin iletim hızını etkileyen, santral ve periferik sinir sisteminin yaşamsal bir kompotentidir. B₁₂ eksikliğinde nörolojik semptom ve bulguların gelişmesindeki temel mekanizma miyelin yapısının bozulmasıdır. [14, 15].

Bebeklik, çocukluk ve ergenlik, B₁₂'ye olan talebin yüksek olduğu ve B₁₂ durumunun belirgin değişikliklere uğradığı hızlı büyüme dönemleridir. İlk üç yaş beyin ve sinir gelişiminin en hızlı olduğu dönemdir ve bu dönemdeki eksiklik büyüme ve gelişme geriliğine, nörogelişimsel gecikmelere ve kalıcı nörolojik hasarlara neden olabilir. Bu nedenle eksikliğin erken saptanması ve erken tedavi verilmesi çocuk sağlığı izleminde büyük önem taşımaktadır [16, 17].

Neudesin (NENF (nörondan türetilmiş nörotrofik faktör) veya aday onkogen GIG47), nöron farklılaşması ve sağ kalımında rol oynayan, protein reseptör membran ilişkili progesteron reseptör (MAPR) ailesine ait, sitokrom 5 benzeri hem/ steroid bağlanma alanına sahip 172 amino asitten oluşan bir nörotrofik faktördür [18]. Neudesin, nöronlarda nörotrofik aktivite ile salgılanan bir sinyali kodlar. Çoğu nörotrofik faktör gibi neudesin de nöral hücre proliferasyonu ve/veya farklılaşmasında rol oynar [19]. Neudesin, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K) yollarını aktive eder ve nörotrofik aktivitesini bu yollar üzerinden gösterir. Neudesinin merkezi sinir sistemindeki fizyolojik fonksiyonları ile ilgili olarak bugüne kadar, neudesinin postnatal olgun nöronlarda nörotrofik bir faktör olarak hareket ettiği, nöronal sağkalımı arttırdığı ve embriyonik aşamadaki farklılaşmamış nöral progenitör hücrelerde hücre proliferasyonunu ve nörogenezi teşvik ettiği bildirilmiştir [20, 21].

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), hemen hemen tüm kortikal ve subkortikal alanlarda ve omurilik bölgelerinde yaygın olarak bulunan, kongnitif fonksiyonlar ve hafıza üzerinde kritik rol oynayan, nöron ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolünü sağlayan, nöroproteksiyonda fonksiyonu olan, hem kısa hem de uzun süreli sinaptik etkileşimleri ve akson ve dendrit dallanmaları düzenleyen bir nörotrofindir [22].

BDNF, tropomiyosin ile ilişkili kinaz (TRK) ailesinin tirozin kinaz reseptörü olan tropomiyosin ile ilişkili kinaz reseptörü tip B (TRKB) ve tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailenin bir üyesi olan p75 reseptörü olmak üzere iki farklı reseptöre bağlanır [23, 24]. TRKB ağırlıklı olarak hücre dışı sinyalle regüle edilen kinazlar (ERK'ler), mitojenle aktive olan protein kinazlar (MEK'ler), AKT (protein kinaz B) ve siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein (CREB) dahil olmak üzere birçok fonksiyonel genin nöronal hayatta kalmasını ve ekspresyonunu destekler [25]. MEK-ERK sinyali, sinaptik plastisiteyi ve nöronal yapıyı ve işlevi desteklerken, PI3K aktivasyonu hücre sağkalımını artırır [26]. BDNF'nin hafıza ve biliş için kritik olan sinaptik yapının regülasyonu ve sürdürülmesi ve nöronal ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolü gibi çok sayıda nörofizyolojik sürece dahil olduğu gösterilmiştir. BDNF'nin nörotrofik işlevleri, öğrenme, hafıza, uyku ve nöronal hayatta kalma ile ilişkilendirilmektedir [27].

Hem BDNF hem neudesin sinir sisteminin gelişmesinde ve sürdürülmesinde rol oynayan nörotrofik faktörlerdir ve bugüne kadar bu faktörlerle ilgili sınırlı sayıda çalışmalar mevcuttur. Fizyolojik rolleri gereği terapötik strateji için potansiyel olarak değerli bir araç olarak görülmektedirler. Bu nörotrofinlerin klinik uygulamaları için daha fazla çalışma gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı vitamin B₁₂ eksikliği olan araştırma grubundaki çocuklar ve normal vitamin B₁₂ düzeyine sahip kontrol grubundaki çocuklar arasında serum neudesin ve BDNF düzeylerini karşılaştırarak, nörokognitif gelişim üzerinde etkili olan neudesin ve BDNF ile vitamin B₁₂ arasında ilişki olup olmadığını incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vitamin B12

Vitamin B₁₂, suda çözünen, 1355.42 dalton molekül ağırlığında olan, yapısında kobalt (Co) içeren, insan vücudunda sentezlenmeyip dışarıdan alınması zorunlu olan, metalloprotein özelliğine sahip bir vitamindir.

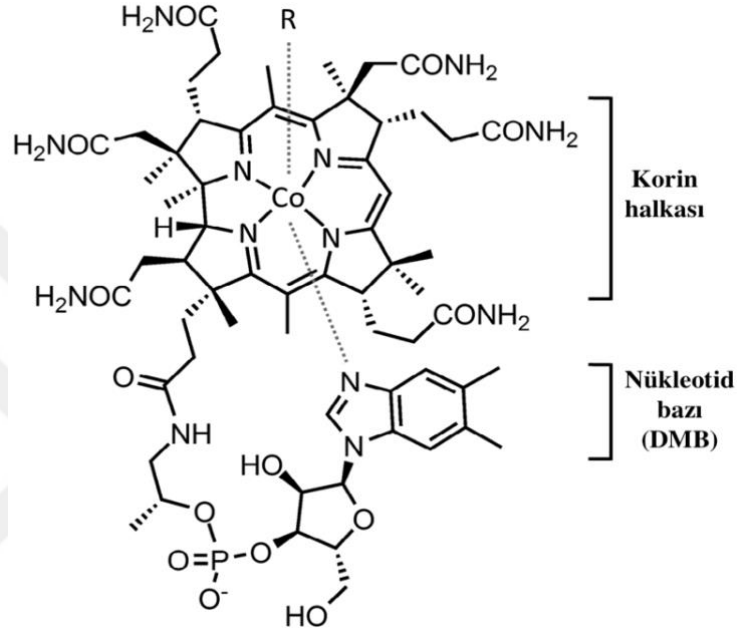
İlk olarak 19. yüzyıl ortalarında Thomas Addison, vücutta çok az kırmızı kan hücresi üretilmesine neden olan bir hastalık olarak pernisiyöz anemiyi tanımlanmıştır [28]. 1926'da Harvard Üniversitesi'nden bir doktor ekibi, her gün yarım kilo karaciğer yemenin çoğu hastada zararlı anemiyi önlediğini keşfetmiştir. Bu noktadan itibaren, dünya çapındaki araştırmacılar, kansızlığı önleyen maddeyi karaciğerden izole etmeye çalışmışlardır. 1948'de Folkers ve ekibi, küçük, parlak kırmızı kristaller olarak bu maddeyi izole etmişlerdir ve bunu B₁₂ vitamini olarak adlandırmışlardır [29, 30].

Vitamin B₁₂ diğer suda çözünen vitaminlerin aksine hayvansal kaynaklarda bol miktarda bulunurken, bitkiler tarafından sentezlenmez. Vitamin B₁₂ açısından en zengin gıda kaynakları; sığır karaciğeri ve böbreğidir. Et, süt, peynir, yoğurt gibi gıdalar da orta zenginlikte vitamin B₁₂ kaynaklarıdır [7]. Vitamin B₁₂ vücutta bütün hücreler için gereklidir ve önemli biyokimyasal tepkimelerde kofaktör olarak kullanılır. B₁₂ vitamini nörolojik fonksiyonlar, kırmızı kan hücresi üretimi ve DNA sentezi için kritik role sahiptir [5]. Günlük vitamin B₁₂ ihtiyacı 2,5-3 mikrogram (µg) kadardır. Gıdalarla alınan B₁₂ vitamini aktif transport ile ince bağırsakta terminal ileumdan emilir. Büyük bir kısmı karaciğerde depolanır. Böbrek, kalp, dalak ve beyin diğer depo organlarıdır. B₁₂ vitamin depolarının yaklaşık %0,1-0,2'si her gün tüketilir. Başlıca safra yoluyla olmak üzere bir miktar da idrar yolu ile atılır [8].

2.1.1. Vitamin B₁₂'nin Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri:

Vitamin B₁₂ yapısında bir adet korin halkası, bir adet nükleotid bazı (5,6-dimetilbenzimidazol) ve bir radikal grubu içerir (Şekil 1). Korin halka yapısı bir adet kobalt (Co) atomu ve onu çevreleyen indirgenmiş 4 adet pirol halkasından oluşan çekirdek kısmıdır. Pirol halkalarının tepe noktasında bulunan 4 adet azot atomu, 90

derecelik bağlarla ortadaki kobalta bağlanmıştır. Pirel halkaları aynı düzlem üzerindedir. Kobalt atomu, düzlemin altında kalan düşük eksenle biridimetilbenzimidazol nükleotidine ait azot atomu ile beşinci kimyasal bağı oluşturur [2, 31]. Biridimetilbenzimidazol nükleotidi tipik bir nükleotid değildir. N-glikozidik bağı ile riboza bağlanmış bazik bir madde olarak 5,6- dimetilbenzimidazol içerir.



Şekil 1: B₁₂ vitamininin kimyasal yapısı.

Merkezde kobalt atomu bulunmaktadır. Kobalt atomu beş azot atomu ile kimyasal bağ oluşturur. Bunlardan biri dimetilbenzimidazol (DMB) nükleotididir. R, adenosil, metil, glutatyonil, hidroksil ve siyanid dahil olmak üzere çeşitli üst aksenal ligandları temsil eder [2].

Düzlemin üstüne radikal grup yer alır ve kobalt atomunun altıncı kimyasal bağı radikal grup ile oluşturulur. B₁₂ vitamininin isimlendirilmesi bu radikal gruba göre yapılmaktadır. Bu radikal gruplara göre vitamin B₁₂ dört farklı formda bulunmaktadır. Bu formlar; hidrosikobalamin (OHCbl), siyanokobalamin (CNCbl), metilkobalamin (MeCbl) ve adenzilkobalamin (AdoCbl)'dir [2]. R grubuna siyanid (–CN) bağlanması ile siyanokobalamin, hidroksil (–OH) grubunun bağlanması ile hidrosikobalamin, –5'-deoksiadenozin bağlanması ile adenzilkobalamin, metil (–CH₃) grubunun bağlanması ile metilkobalamin oluşmaktadır.

Siyanokobalamin ve hidrokobalamin stabil bileşiklerdir. Siyanokobalamin bu bileşikler içinde en dayanıklı olanıdır ve ticari B₁₂ vitamin preparatları bu bileşiği içermektedir [32]. Hidrokobalamin ise besinlerde bulunur. Siyanokobalamin ve hidrokobalamin dokularda hücre sitoplazmasında metilkobalamin ve mitokondride deoksiadenozinkobalaminine dönüştürülür.

Deoksiadenozilkobalamin ve metilkobalamin ise vitamin B₁₂'nin dokulardaki aktif metabolitleridir. Vitamin B₁₂ plazmada çoğunlukla metilkobalamin şeklinde bulunur ve transkobalaminlere bağlıdır. Kobalaminin vücut içerisinde gereken bölgeye taşınması transkobalamin (TC-II) isimli taşıyıcı protein ile gerçekleştirilir. Kobalaminin TC-II ile birleşmesi ile oluşan molekül holotranskobalamin olarak adlandırılır [33, 34]. Kobalaminin aktif metabolitleri iki enzim sistemi yolağında kofaktör olarak görev alırlar. Bunlar; homosisteinden metiyonin dönüşümünü sağlayan metiyonin sentaz (MS) enzimi ile remetilasyon yolu ve metil malonil koenzim A'nın süksinil koenzim A'ya dönüşümünü sağlayan metilmalonil koenzim A mutaz enzimi ile deoksidasyon yoludur. Remetilasyon yolundan metilkobalamin, deoksidasyon yolundan adenzilkobalamin sorumludur [12, 13]. Metiyonin sentaz, pürinlerin ve pirimidinlerin sentezi için gereklidir. Vitamin B₁₂ eksikliği olan insanlarda hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA sentezinde bozukluk ve megaloblastik anemi görülmektedir. Adenzilkobalamin eksikliğinde metilmalonil CoA birikir ve bu durum vitamin B₁₂ eksikliğinde görülen nörolojik etkilerin ortaya çıkmasından sorumludur [13].

2.1.2. Vitamin B₁₂'nin Besinsel Kaynakları

Vitamin B₁₂, insan organizması tarafından üretilemez. Sadece hayvanların gastrointestinal sistemlerinde bulunan bazı bakteriler tarafından sentezlenir. Bitkiler tarafından da sentezlenemediği için vitamin B₁₂ ihtiyacını karşılamak için hayvansal gıda tüketimi gereklidir. B₁₂ vitamini için en önemli kaynaklar, geviş getiren hayvanlardan elde edilen gıdalardır, bu nedenle süt ürünleri ve et ürünleri, tavsiye edilen günlük 3,0 mikrogram B₁₂ alımını karşılamada önemli bir rol oynar [35].

Vitamin konsantrasyonları, geviş getiren hayvanlardan elde edilen gıdalar arasında değişiklik gösterir ve en yüksek konsantrasyonlar karaciğer ve böbrek gibi sakatatta bulunur. Buna karşılık, süt ürünlerinde vitamin miktarı çok daha düşüktür [13, 36]. Sığır sütünde B₁₂ konsantrasyonu; cins, yem, mevsim ve laktasyon aşamasına göre sabittir; ancak etlerdeki B₁₂ miktarı hayvanın beslenmesine, yetiştirilmesine, seçilen etin

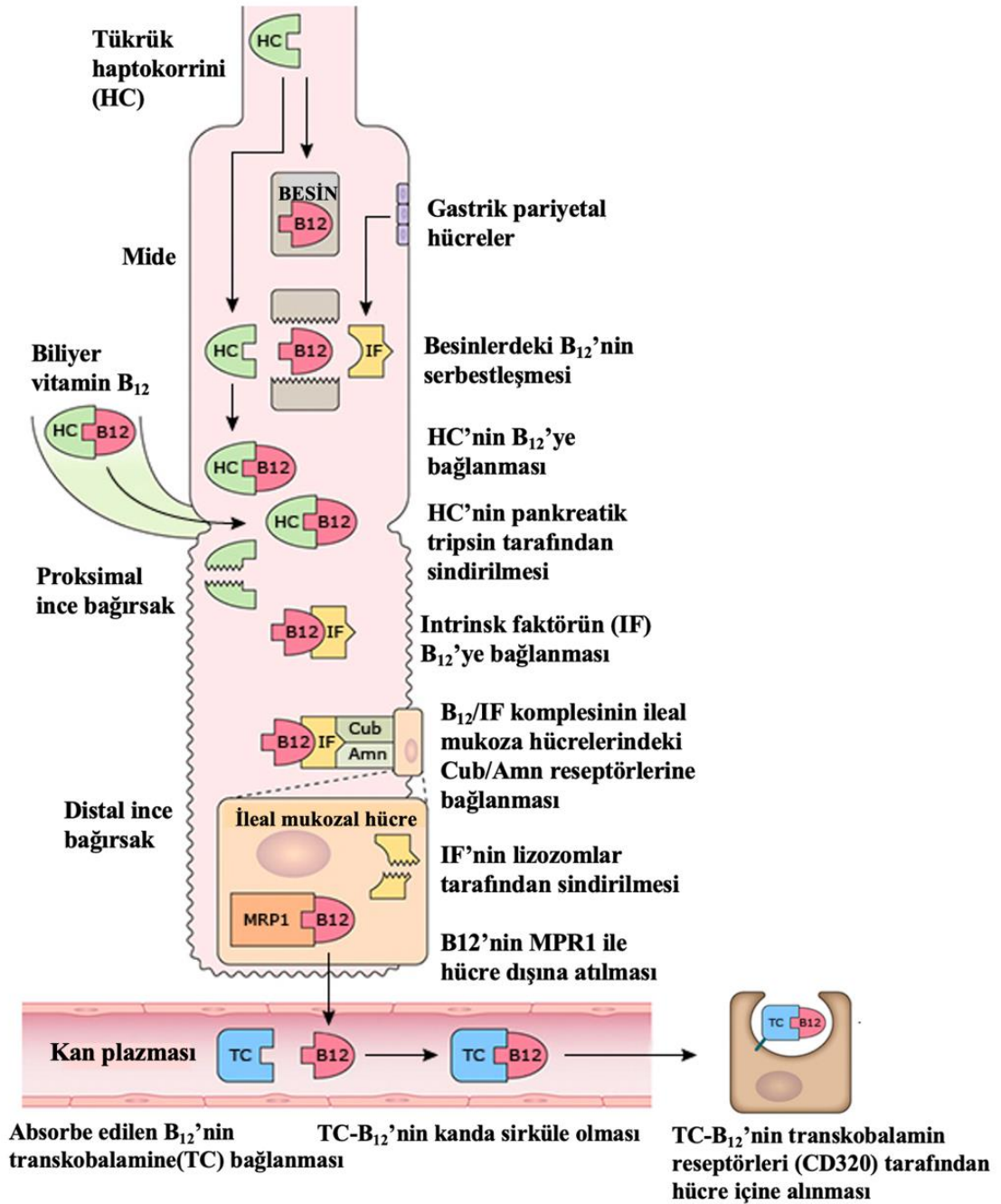
kesimi ve hazırlanmasına bağılı olarak değişebilir. Besinlerin işlenmesi, konservesi ve depolanması gibi şartlarda belirgin B₁₂ kaybı meydana gelmektedir [36].

Mikroorganizmalarda B₁₂ bileşiklerinin biyosentezi, hem aerobik hem de anaerobik yollarla gerçekleşebilir. B₁₂'nin de novo sentezi (yeniden oluşturma) bakterilerde aerobik, arkebakterilerde ise anaerobik yolla gerçekleşir. Anaerobik mikroorganizmalar, 5,6-dimetilbenzimidazol dışındaki bazı taşıyan korrinoidleri sentezleyebilir. Bazı bakteriler de novo yolağının yanı sıra salvage (kurtarma) yolağını kullanır ve korrinoidlerin geri emilimini sağlayarak kobalamin sentezleyebilir [36].

2.1.3. Vitamin B₁₂'nin Emilimi

Besinlerle alınan B₁₂ vitamini vücuda alındıktan sonra çeşitli proteinlere bağlanır ve bu proteinler aracılığı ile emilir (Şekil 2). Daha sonra midenin asit ortamında aktifleşen pepsin enzimi yardımıyla gıdalardan ayrıştırılır. R-faktörü veya haptokorrinler (HC) olarak bilinen B₁₂ vitamini bağlayıcı proteinler tükürük bezlerinden salgılanır ve midede B₁₂ vitaminine bağlanır. Gastrik parietal hücreleri tarafından intrinsik faktör (IF) üretilir. Daha yüksek pH'lı duodenuma salgılanan pankreatik proteazlar, R-faktörünü vitamin B₁₂'den ayırır ve vitamin B₁₂ duodenuma geçmiş intrinsik faktör ile birleşir. B₁₂ vitamini-intrinsik faktör kompleksi, ileumdaki mukozal reseptörler tarafından alınır [1]. Bu reseptör cubilin ve amnionless (AMN) proteinlerden oluşmaktadır ve bu bileşenleri yansıması nedeniyle "cubam" olarak adlandırılmıştır [37, 38]. Cubilin proteininin ince bağırsaklar ve böbrekte IF'nin tanınması ve kompleksin endositozunun başlatılması ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir. AMN alt biriminin işlevi henüz aydınlatılmamıştır [38]. İleum mukozal reseptörler tarafından hücre içine alınan B₁₂ vitamini-intrinsik faktör kompleksinden, IF'nin hücre içinde lizozomlarca sindirilmesi ile vitamin B₁₂ ayrılmış olur [39]. İleal mukoza hücresinde bulunan bir ATP bağlayıcı kaset proteini olan çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1 (multi drug resistance protein 1, MRP1) B₁₂ molekülünü mukoza hücresinden kan dolaşımına aktarır. Kan dolaşımına geçen B₁₂, transkobalamine bağlanır. Transkobalamine bağılı B₁₂ vitamini holotranskobalamin olarak adlandırılır. Holotranskobalamin, reseptör aracılı endositoz ile vücuttaki diğer hücreler tarafından alınır. Bu alım, hücre yüzeylerinde bulunan CD320 diğer adıyla transkobalamin-II reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirilir [40]. B₁₂'nin yüzde birinden daha az bir kısmı da pasif difüzyonla emilebilir. Bu, pernisiyöz anemide yüksek doz oral B₁₂ vitamini

kullanımının altında yatan nedendir [41]. Hücre içi B₁₂, adenosilkobalamin veya metilkobalamin'e metabolize edilir. B₁₂ vitamininin toplam vücut depoları 2 ile 5 mg aralığındadır ve bunun yaklaşık yarısı karaciğerde depolanır. B₁₂ vitamini alımı veya emilimi durursa; eksiklik tipik olarak en az bir ile iki yıl, bazen daha uzun süre gelişmez.



Şekil 2: Vitamin B₁₂'nin emilimi ve hücre içine alınması [1].

2.1.4. Vitamin B₁₂ Metabolizması

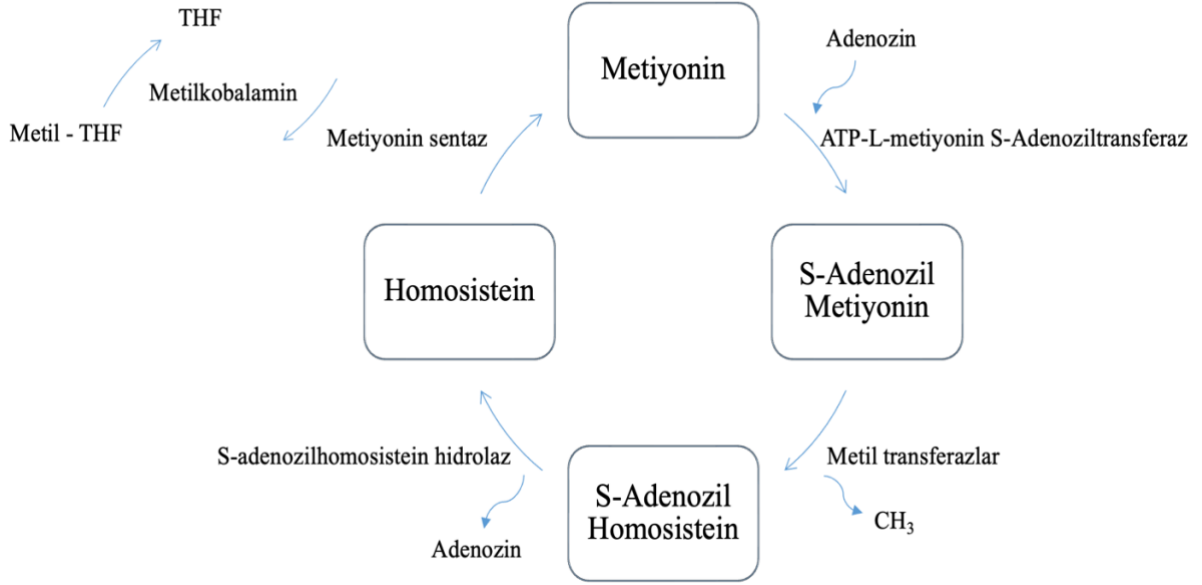
Vitamin B₁₂ hücre içine alındıktan sonra merkezindeki kobalt atomu +3 değerlik durumundan +1 veya +2 değerlik durumuna indirgenir ve aktif metabolitler oluşur. Adenozilkobalamin ve metilkobalamin aktif metabolitler olup vücutta başlıca iki önemli enzim yolağında kofaktör olarak görev yaparlar:

1. Remetilasyon yolu: Homosisteinden metiyonin sentaz enzimi ile metiyonin elde edilmesi,
2. Deoksidasyon yolu: Mitokondride metilmalonil KoA'nın metilmalonil KoA mutaz enzimi ile süksinil KoA'ya dönüşümüdür [8, 32].

2.1.4.1. Remetilasyon Yolu:

Remetilasyon yolunda homosistein metionin sentaz enzimi aracılığı ile metiyonine dönüşür. Metiyonin yapısında kükürt ve metil grubu içeren esansiyel bir aminoasittir ve insanlarda metiyoninin tekrar sentezi için ana yol bu reaksiyondur. Remetilasyon yolu bozulduğunda metiyoninin plazma seviyeleri düşer ve bunun sonucunda da DNA, RNA sentezi başta olmak üzere metiyonin ile ilgili metabolik işlevlerde aksaklıklar görülür [10, 42].

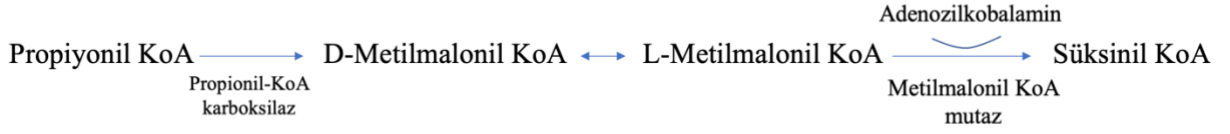
Remetilasyon yolunda betain-homosistein metil transferaz enzimi ve metiyonin sentaz enzimi görev alır. Betain-homosistein metil transferaz enzimi çoğunlukla karaciğerde bulunur. Betain-homosistein metil transferaz enzimi metil vericisi olarak betaini kullanırken, metiyonin sentaz enzimi ise metil vericisi olarak folik asit metaboliti olan 5-metil tetrahidrofolatı kullanmaktadır [42, 43]. Metiyonin sentaz enziminin kofaktörü vitamin B₁₂'nin aktif metabolitlerinden biri olan metilkobalamindir. Metiyonin sentaz enzimi aracılığı ile 5-metil tetrahidrofolattan elde edilen bir metil grubu homosisteine aktararak metiyonin oluşur. Bu reaksiyon gerçekleşirken 5-metil tetrahidrofolattan (Metil - THF) da tetrahidrofolat (THF) meydana gelmiş olur. Metiyonin daha sonra ATP-L-Metiyonin S-Adenoziltransferaz enzimi aracılığı ile adenozinleşerek S-Adenozil Metiyonin (SAM) molekülünü oluşturur (Şekil 3). SAM birçok reaksiyonda metil verici olarak görev alır ve DNA, RNA sentezinde aynı zamanda katekolamin, myelin, melatonin ve glutatyon sentezinde rol oynar. Metil grubunu veren SAM, S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. SAH'ın S-adenozilhomosistein hidrolaz enzimi tarafından hidrolizi sonucu homosistein ve adenozin oluşur [44].



Şekil 3: Vitamin B₁₂ bağımlı metiyonin sentaz enzimi ile metiyonin oluşumu.

2.1.4.2. Deoksidasyon Yolu:

Yağ asidi β - oksidasyon yolu olarak da bilinen deoksidasyon yolunda, metil malonil KoA'dan metilmalonyl KoA mutaz enzimi aracılığı ile süksinil KoA sentezlenir. Bu enzim kofaktör olarak B₁₂'nin diğer aktif metaboliti olan adenozilkobalamini kullanır [45]. Bu tepkime mitokondride gerçekleşir. Bu yolun ilk basamağında propionil-KoA, propionil-KoA karboksilaz enzimi ile D-metilmalonyl-KoA'ya dönüştürülür. Bu enzim biyotin bağımlı bir enzimdir. D-metilmalonyl-KoA L-metilmalonyl-KoA'ya çevrilir ve L-metilmalonyl-KoA'dan metilmalonyl KoA mutaz enzimi ile süksinil KoA oluşur (Şekil 4). Süksinil KoA sitrik asit döngüsünün önemli bir ara ürünüdür ve glukoneogenezde, krebs siklus oksidasyonunda ve hem sentezinde rol oynar [45, 46]. B₁₂ eksikliğinde metilmalonyl koenzim A, süksinil koenzim A'ya dönüşemez ve artan metilmalonyl koenzim A, metil malonik asite (MMA) dönüştürülür. MMA seviyeleri artar ve buna bağlı asidoz, hiperglisemi gibi yan etkiler görülür. Anormal yağ asitleri birikimi artar ve bu durum özellikle miyelin yapısının bozulmasına sebep olur. Bunun sonucunda da nörolojik bulgular ortaya çıkar [15].



Şekil 4: Metilmalonil KoA'dan süksinil KoA oluşumu.

2.1.5. Vitamin B₁₂'nin Fizyolojik Önemi

B₁₂, hem DNA hem RNA sentezinde kritik bir rol oynar. Bu nedenle B₁₂ eksikliği DNA sentezini bozabilir. Bu da hücre döngüsünün DNA sentezi (S) fazında durmasına, DNA replikasyon hataları yapmasına ve/veya apoptotik ölüme maruz kalmasına neden olabilir [1]. B₁₂ vitamininin temel rolü, 5-metil-tetrahidrofolatı daha sonra tek karbon donörü olarak işlev görebilen formlara dönüştürülebilen tetrahidrofolata (THF) dönüştüren reaksiyonda bir kofaktör olarak görev yapmasıdır. THF ve formları DNA sentezi için gereklidir. B₁₂ vitamini eksikliği, folatın 5-metil-THF formunda (metil-THF tuzak hipotezi) hapsolmesine neden olabilir [44, 47]. Ek olarak, B₁₂ vitamini eksikliği, tek karbon donörü olarak da kullanılan SAM'ın öncüsü olan metiyonin eksikliğine neden olabilir.

Tek karbon metabolizması, DNA'nın yapı taşlarını yapmak için gereken pürin ve pirimidin sentezi gibi çeşitli reaksiyonlarda kullanılır [48]. SAM'ın S-adenosilhomosistein'e (SAH) dönüştürülmesi sırasında üretilen metil grupları, DNA metilasyonu ve miyelin metilasyonu da dahil olmak üzere başka işlemlerde de kullanılır. Nöronal lipidlerin ve miyelinin temel proteini gibi nöronal proteinlerin azalmış metilasyonunun bazı nörolojik bozukluklarda rol oynadığı varsayılmıştır. Miyelin temel proteini, miyelinin yaklaşık üçte birini oluşturur ve B₁₂ vitamini eksikliğinde gelişen demiyelinizasyon durumu, nörolojik bulguların çoğunu açıklayabilir [49].

Hematopoetik öncü hücreler, vücutta en hızlı bölünen hücreler arasındadır ve bu nedenle B₁₂ vitamini eksikliğinin neden olduğu anormal DNA sentezine en duyarlı hücre tiplerinden biridir. B₁₂ eksikliğinin hematopoez üzerinde megaloblastik değişiklik ve inefektif eritropoez olmak üzere iki ana etkisi vardır [47]. Kusurlu DNA onarımının tekrarlayan döngüleri, DNA sarmalının kırılmasına ve parçalanmasına neden olabilir. Normal sitoplazmik olgunlaşma ortamındaki S-fazı gecikmesine nükleer-sitoplazmik

uyumsuzluk denir ve bu, kemik iliğindeki megaloblastik değişikliklerin temelini oluşturur. Apoptotik hücre ölümü, etkisiz eritropoezin temelini oluşturur [47, 50].

2.1.6. **Vitamin B₁₂ Eksikliği Etiyolojisi**

Kobalamin eksikliğinin etiyolojisi yetersiz alım, kusurlu emilim, kusurlu taşıma ve kusurlu metabolizma olacak şekilde dört kategoride incelenir [9, 10]. B₁₂ vitamini eksikliğinin nedenleri Tablo 1’de listelenmiştir [51].

2.1.6.1. **Yetersiz B₁₂ Vitamini Alımı:**

Bebeklerde B₁₂ eksikliği çoğunlukla annesel nedenlidir ve B₁₂ eksikliği olan annelerin anne sütündeki düşük Cbl seviyelerinden kaynaklanır. İlişkili megaloblastik anemi genellikle yaşamın 1. yılında ortaya çıkar. Düşük depolarla doğan bu infantlarda B₁₂ replasmanı genellikle hızlı bir iyileşme ile sonuçlanır, ancak eksiklik süresi ne kadar uzun olursa, kalıcı sakatlık olasılığı o kadar artar [9].

Çocukluk veya ergenlik döneminde diyetsel eksiklik görülür. Yüksek gelirli ülkelerde, beslenme eksikliği nadirdir, ancak yetişkinlerde olduğu gibi, katı vejetaryen veya vegan diyetinden kaynaklanabilir. Günümüzde beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerden dolayı çocuklarda da görülme sıklığı artmıştır [11]. Günlük B₁₂ vitamini gereksinimi 0,4-2,4 µg aralığındadır.

2.1.6.2. **Vitamin B₁₂’nin Emilim Bozukluğu:**

Gastrik cerrahi veya gastrik asit sekresyonunu bozan ilaçlar IF eksikliğine neden olarak B₁₂ vitamini emiliminin azalmasına neden olabilir [9]. Ayrıca pankreas yetmezliği de bozulmuş IF kompleksi oluşumuna neden olarak Cbl eksikliğine yol açabilir [9, 52]. Neonatal nekrotizan enterokolit, inflamatuvar barsak hastalığı, çölyak hastalığı veya terminal ileumun cerrahi olarak çıkarılması da vitamin B₁₂ emilim bozukluğuna neden olur. Bağırsak bakterilerinin aşırı çoğalması (ince bağırsak divertikülü, kör bağırsak sendromu, anastomozlar) vitamin tüketimi (veya rekabeti) yoluyla IF’nin IF- vitamin B₁₂ kompleksinden ayrılmasına neden olarak B₁₂ vitamini eksikliğine yol açabilir [9].

Kalıtsal intrinsik faktör eksikliği (HIFD), IF genindeki çeşitli mutasyonların neden olduğu gastrik IF üretilememesi veya fonksiyonel olarak anormal bir IF üretilmesi ile sonuçlanan nadir görülen otozomal resesif bir hastalıktır. Semptomlar erken yaşta (6-24 ay) ortaya çıkar. Anemi şiddetli hale geldikçe halsizlik, irritabilite,

iştahsızlık ortaya çıkar. Nörolojik belirtiler arasında ataksi, pareteziler, hiporefleksi, pozitif babinski yanıtları ve klonus yer alır. Oral vitamin B₁₂ genellikle etkisizdir ve emilim kusurunu atlamak için ömür boyu parenteral (Intramuskuler) Cbl kullanılmalıdır [9, 10, 53].

Imerslund-Grasbeck sendromu, ileumda seçici vitamin B₁₂ malabsorbsiyonu ve bunun sonucunda vitamin B₁₂ eksikliği ile sonuçlanan, nadir görülen, resesif kalıtılan bir hastalıktır. Genellikle yaşamın ilk 6 yılı içinde klinik olarak belirgin hale gelir. Hastalarda megaloblastik anemiye ek olarak nörolojik defektler (hipotoni, gelişimsel gecikme, beyin atrofisi, hareket bozuklukları ve demans gibi) ve/veya proteinüri görülebilir. Intramuskuler Cbl ile erken tanı ve tedavi, hematolojik ve nörolojik anormallikleri tersine çevirebilir [10, 54].

Klasik pernisiyöz anemi (otoimmün gastrit) genellikle erişkinlerde görülür, ancak nadiren çocukları da etkileyebilir. Bu bozukluk (juvenil pernisiyöz anemi) genellikle adolesan dönemde ortaya çıkar. Hastalık, gastrik paryetal hücrelerde IF ve hidrojen potasyum adenzin trifosfaz proton pompasına karşı oluşan antikörlerle ilişkilidir. Bu çocuklarda ek immünolojik anormallikler olabilir [55, 56].

2.1.6.3. Vitamin B₁₂'nin Transport Defektleri:

Transkobalamin (TC) eksikliği, megaloblastik aneminin nadir bir nedenidir. Otozomal resesif olarak kalıtılır. B₁₂ vitamininin emiliminde ve taşınmasında oluşan bozuklukla sonuçlanır. Bu bozukluk genellikle yaşamın ilk haftalarında kendini gösterir. Karakteristik olarak gelişme geriliği, ishal, kusma, glossit, nörolojik anormallikler ve megaloblastik anemi görülür [9].

2.1.6.4. Kobalamin Metabolizmasının Konjenital Bozuklukları:

Cbl'nin MeCbl ve AdoCbl'ne dönüştürülmesi birkaç basamak içerir. Doğuştan kobalamin kullanım hataları olan hastalar, tek başına veya kombinasyon halinde metilmalonik asidemi ve hiperhomosisteinemi ile kendini gösterir. [57]. Metilmalonik asidüriye neden olan bu bozukluklar, kanda, idrarda ve beyin omurilik sıvısında büyük miktarlarda metilmalonik asit birikimi ile şiddetli metabolik asidoz ile karakterize edilir. Tüm kobalamin metabolizması bozuklukları otozomal resesif kalıtılır [51].

CblE ve CblG'de N5-metiltetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz kusurludur ve MeCbl üretilemez. Hastalar bebeklik döneminde megaloblastik anemi, kusma ve zeka geriliği ile başvururlar ve bu hastalarda homosistinüri ve hiperhomosisteinemi görülür. CNCbl'e iyi yanıt verirler [9, 57].

CblC (en sık görülen konjenital kobalamin metabolizma bozukluğu), CblD ve CblF'de hem AdoCbl hem MeCbl etkilenir. Erken bebeklik döneminden ergenliğe kadar ortaya çıkabilir. Yenidoğanlarda letarji, büyüme gelişme geriliği ve nörolojik problemler vardır. Daha büyük çocuklar nörolojik güçlükler, demans ve psikolojik sorunlarla başvurabilir. Hem idrarda hem de kanda homosistein ve metilmalonik asit yüksek saptanır. Etkilenen bireyler kısmen OHCbl veya CNCbl'e yanıt verir [9, 57, 58].

AdoCbl eksikliği (CblA, CblB), metilmalonik asidüri ve çeşitli ciddi semptomlarla ilişkilidir, ancak megaloblastik anemi görülmez [9].

Tablo 1: Vitamin B₁₂ eksikliğinin nedenleri [51].

Yetersiz B₁₂ vitamini alımı
<ol style="list-style-type: none">1. Diyet (<2 mg/gün): lakto-ovo vejetaryenlik, düşük hayvan kaynaklı gıda alımı, veganizm, yetersiz beslenme ve kötü kontrollü fenilketonüri diyeti2. Anne sütünde B₁₂ eksikliğine yol açan maternal eksiklik
Kusurlu vitamin B₁₂ absorpsiyonu
<ol style="list-style-type: none">1. Konjenital intrinsik faktör eksikliği (mide mukozası normal)2. Jüvenil pernisiyöz anemi (otoimmün)3. Gastrik mukozal hastalık, gastrit, gastrik atrofi (<i>Helicobacter pylori</i>), gastrektomi4. İnce bağırsağın emilim kusuru5. Spesifik vitamin B₁₂ malabsorpsiyonu6. Enterositler tarafından kusurlu kobalamin taşınması (Imerslund Grasbeck sendromu)7. Bağırsak yetmezliği/rezeksiyonu; malabsorpsiyona neden olan bağırsak hastalığı8. Çölyak hastalığı (gluten enteropati), tropikal sprue9. Enfeksiyon: HIV enfeksiyonu, parazitler (<i>Giardia lamblia</i>, <i>Diphyllobothrium latum</i>, <i>Plasmodium falciparum</i> ve <i>Strongyloides stercoralis</i>)10. B₁₂ vitamini için rekabet11. İnce bağırsakta bakteriyel çoğalma (örneğin, ince bağırsak divertikülozu, anastomozlar ve fistüller, kör halkalar ve keseler, çoklu darlıklar, skleroderma, aklorhidri ve gastrik trikobezoar)
Kusurlu vitamin B₁₂ transportu
<ol style="list-style-type: none">1. Konjenital TC II eksikliği2. Parsiyel TC I eksikliği, haptokorrin eksikliği
Vitamin B₁₂ metabolizmasının bozuklukları
Konjenital
<ol style="list-style-type: none">1. Adenozilkobalamin eksikliği, CblA ve CblB hastalıkları2. Metilmalonil-CoA mutaz eksikliği3. Metilkobalamin eksikliği CblE ve CblG hastalıkları4. Kombine adenozilkobalamin, metilkobalamin eksiklikleri: CblC, CblD, CblF hastalıkları
Edinilmiş
<ol style="list-style-type: none">I. Karaciğer hastalıklarıII. Protein malnutrisyonu (Kwashior, marasmus)III. B₁₂ vitamini emiliminde ve/veya kullanımında bozulma ile ilişkili ilaçlar (örn., p-aminosalisilik asit, kolşisin, neomisin, etanol, oral kontraseptif ajanlar ve metformin)

2.1.7. Vitamin B₁₂ Eksikliğinin Klinik Belirti ve Bulguları

Bebeklik, çocukluk ve ergenlik, B₁₂'ye olan talebin yüksek olduğu ve B₁₂ durumunun belirgin değişikliklere uğradığı hızlı büyüme dönemleridir. Annenin düşük B₁₂ vitaminine sahip olması, uzun süreli emzirme ve süttten kesimden sonra düşük hayvansal gıda alımı, B₁₂ eksikliği için başlıca risk faktörleridir [16, 59].

Cbl eksikliği olan çocuklar genellikle halsizlik, letarji, beslenme güçlükleri, gelişememe ve irritabilite gibi spesifik olmayan belirtiler gösterirler. Diğer yaygın bulgular solukluk, glossit, kusma, ishal ve sarılığı içerir. Nörolojik semptomlar parestezi, duyu kusurları, hipotoni, nöbetler, gelişimsel gecikme, gelişimsel gerileme ve nöropsikiyatrik değişiklikleri içerebilir. B₁₂ vitamini eksikliğinden kaynaklanan nörolojik problemler, herhangi bir hematolojik anormallik olmadığında da ortaya çıkabilir [9, 16].

B₁₂ vitamini eksikliği ile ilişkili klasik bulgular, kötüleşen makrositik anemi, sararmış cilt (kombine anemi ve sarılığın neden olduğu) ve değişken nörolojik anormallikleri (bilişsel yavaşlama ve nöropati) içerir.

2.1.7.1. Makrositik Anemi:

Vitamin B₁₂'ye bağlı aneminin sebebi, kemik iliğindeki kırmızı kan hücresi (RBC) öncüllerinin hızla bölünmesi ve dolayısıyla bu vitaminler eksik olduğunda ortaya çıkan nükleik asit eksikliğine duyarlı olmalarıdır [60].

Aneminin sebep olduğu semptomlar, eksikliğin gelişme hızına, eksikliğin ciddiyetine, hemoglobinin düzeyine ve kişinin genel sağlığına bağlıdır. B₁₂ vitamini eksikliğinde anemi gelişimi tipik olarak yavaştır ve kademeli olarak artar. B₁₂ vitamini eksikliği olan birçok kişi, muhtemelen anemiden kaynaklanabilecek belirsiz veya spesifik olmayan semptomlara (örn. yorgunluk, irritabilite, bilişsel gerileme) sahiptir. Anemi şiddetliyse ve/veya kişide altta yatan iskemik kalp hastalığı varsa, doku hipoksisi ve organ iskemisine bağlı semptomlar (örneğin, göğüs ağrısı, nefes darlığı) ortaya çıkabilir. Yine şiddetli anemiye bağlı kalp yetmezliği görülebilir [9, 10, 61].

Tam kan sayımında anemi ve makrositik bulgular (artmış ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve artmış ortalama eritrosit hemoglobini (MCH)) görülür. Makrositik anemiye nötropeni ve trombositopeni de eşlik edebilir. Periferik yaymada; makrositik eritrositler ve hipersegmente nötrofiller görülür ve kemik iliği hipersellülerdir [16].

2.1.7.2. Gastrointestinal Belirtiler:

B₁₂ vitamini eksikliği glossite neden olabilir (dilde ağrı, şişme, hassasiyet, papilla kaybı ve/veya dilde hiperpigmentasyon). Süt çocuğu döneminde iştahsızlık, beslenmede zorlanma, regürjitasyon, kabızlık, hafif kilo kaybı, bulantı, periyodik ishal görülebilir. Bunun nedeni, gastrointestinal sistemdeki hücrelerin hızla bölünmesi ve dolayısıyla vitamin B₁₂ eksik olduğunda ortaya çıkan nükleik asit eksikliğine duyarlı olmalarıdır [56].

2.1.7.3. Nörolojik Belirti ve Bulgular:

Vitamin B₁₂, santral sinir sistemi gelişiminde önemli bir role sahiptir. Eksikliğinde nörogelişimin etkilendiği ve kalıcı nörolojik hasarların ortaya çıktığı bilinmektedir [17].

Vitamin B₁₂ eksikliğinde nörolojik semptom ve bulguların gelişmesindeki temel mekanizma miyelin yapısının bozulmasıdır. Miyelin, aksonun çevresini saran ve onu koruyan, santral ve periferik sinir sisteminin yaşamsal bir kompotentidir. Miyelin yapısının bozulması nöronal işlevlerinin bozulmasına neden olur. B₁₂ vitamininin aktif iki formu olan adenzilkobalamin ve metilkobalamin, biri veya her ikisi birden miyelin oluşumunu etkileyebilen iki enzimatik reaksiyonda yardımcı faktörlerdir [14, 15].

Adenzilkobalamin eksikliğinde metilmalonil KoA süksinil KoA'ya dönüştürülemez. Bu da öncü molekül olan propiyonil KoA'nın ve metilmalonil KoA'nın artması ile sonuçlanır. Metilmalonil KoA, yağ asidi sentezinde görevli olan malonil KoA'nın kompetitif inhibitörüdür. Yağ asidi sentezinde malonil KoA yerine, metilmalonil KoA geçmesinin sonucunda aşırı miktarda anormal dallı zincirli yağ asitleri sentezlenir ve bu durum anormal yapıli miyelinizasyon ile sonuçlanır [11, 62].

Metilkobalamin eksikliğinde plazma homosistein düzeyi yükselir. Artan homosistein seviyesi, N-metil-D aspartat reseptörlerinin nörotoksitesitesi ve aşırı uyarılmasıyla ilişkili bir dizi nörodejeneratif hastalıkla ilişkilidir [63]. Folat geri dönüştürülemediğinden SAM azalır. SAM azalması ile DNA sentezi ve hücre geri dönüşümü etkilenir. SAM aynı zamanda myelinin bir parçası olan fosfotidilkolinin üretimi için de gereklidir [63, 64]. Ek olarak, nörolojik komplikasyonlar inflamasyon, oksidatif stres ve hiperhomosisteinemi ile ilişkili mikrovasküler hastalığa bağılı olabilir [65].

Hücre ve hayvan modellerinde vitamin B₁₂ eksikliği protein fosfataz 2A, sinir büyüme faktörü (NGF) ve nörotoksik etkili tümör nekroz faktörünün (TNF- α) ekspresyonunun artmasına ve epidermal büyüme faktörünün (EGF) ekspresyonunun azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu değişiklikler, B₁₂ eksikliğinin miyelin homeostazı üzerindeki etkisiyle tutarlıdır. Bu mekanizma da vitamin B₁₂ eksikliğinin nörolojik etkileri oluşturduğunu gösteren bir başka bir mekanizma olarak halen araştırılmaktadır [11].

Sonuç olarak fiziksel ve nörolojik gelişimin hızlı olduğu çocukluk çağında vitamin B₁₂ eksikliği gelişmesi santral ve periferik sinir sistemini etkiler ve nörolojik bulgular ve nörogelişimsel sorunlar ortaya çıkar.

Nörolojik değişiklikler hematolojik anormallik olmaksızın meydana gelebilir. Çocukluk çağındaki B₁₂ eksikliğinin belirti ve bulguları çocuğun yaşına, eksikliğin ciddiyetine ve eksikliğin süresine bağlıdır. İnfantlarda gelişimsel gecikme, kazanılmış gelişim basamaklarının kaybı (özellikle motor gelişim (baş tutma, oturma)), güçsüzlük, irritabilite, atetoid hareketler, hipotoni ve refleks kaybı görülebilir. Daha büyük çocuklarda spinal kordda subakut kombine dejenerasyon gelişebilir, bu da ilgili periferik sinir kaybıyla birlikte posterior ve lateral kolonların dejenerasyonunun sebep olduğu belirti ve bulgulara yol açar. Ataksik yürüyüş, pozitif Romberg testi, vibrasyon ve pozisyon duyularında kayıp, periferik nöropatiye bağlı olarak ellerde veya ayaklarda parestezi, yürümede ve/veya elleri kullanmada zorluk meydana gelebilir [51, 66]. Manyetik rezonans görüntüleme bulguları, spinal kordun T2 ağırlıklı görüntülerinde artan sinyalleri, beyin atrofisini ve gecikmiş miyelinasyonu içerir [51, 67]

2.1.8. Vitamin B12 Eksikliğinin Laboratuvar Bulguları

Vitamin B₁₂ eksikliğinden kaynaklanan anemi makrositerdir. Periferik yaymada makrositer ve makroovalositer RBC'ler, gözyaşı hücreleri, Cabot halkalarının varlığı, Howell Jolly cisimcikleri ve noktalı bazofili ile belirgin anizositoz ve poikilositoz izlenir. Nötrofiller büyük ve hipersegmente olabilir. İlerlemiş vakalarda, aplastik anemi veya lösemiye simüle eden nötropeni ve trombositopeni meydana gelebilir. Kemik iliği megaloblastik görünümündedir ve eritroid progenitör hücreler üzerinde etkili olan eritropoietin düzeylerinin artması nedeniyle hiperplastiktir [9, 51].

Artmış laktat dehidrogenaz aktivitesi, indirekt bilirubin, ferritin, serum demir ve transferin doyumluğu ve düşük serum haptoglobin seviyeleri görülür. Bunlar

programlanmış hücre ölümü veya olgunlaşma sırasında megaloblastik hücrelerin apoptozu nedeniyle meydana gelen inefektif eritropoezin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Serum vitamin B₁₂ seviyeleri düşüktür ve metilmalonik asit ve homosisteinin serum konsantrasyonları genellikle yükselir. İdrarda aşırı metilmalonik asit atılımı (normal, 0-3,5 mg/24 saat), B₁₂ vitamini eksikliğinin güvenilir ve hassas bir göstergesidir [51].

Vitamin B₁₂ eksikliğini göstermede vitamin B₁₂ ölçümü en hassas tanı testi değildir. Ancak kolay bulunabilir ve düşük maliyetli olması nedeni ile en sık kullanılan tanı yöntemidir. Normal serum vitamin B₁₂ değerleri 200- 800 pg/mL arasındadır. Düzeyin 80 pg/mL altında olması neredeyse her zaman B₁₂ vitamini eksikliğini gösterir [51, 68]. Vitamin B₁₂ eksikliğini tanımlamadaki sınır düzeyler tam olarak netleştirilememiştir. Yapılan çalışmalarda 300 pg/mL'den düşük değerlere sahip hastalarda açıklanamayan nöropsikiyatrik veya hematolojik anormallikler saptanmıştır. Bu nedenle de vitamin B₁₂ seviyeleri düşük (201 pg/mL'nin altında), orta (201 ile 300 pg/mL arasında) veya normal (300 pg/mL'nin üzerinde) olarak tanımlanabilmektedir [69, 70].

2.1.9. Vitamin B₁₂ Eksikliğinin Tanısı

Vitamin B₁₂ eksikliğinden klinik olarak şüpheleniliyorsa, ayrıntılı bir diyet öyküsü ve gastrointestinal (GI) öyküsü alınmalıdır. Klinik semptomlar, diyet öyküsü, mevcut hastalıklar, ameliyat öyküsü veya ilaç kullanımı ile ilgili bilgiler önemli ipuçları sağlayabilir. Laboratuvar değerlendirmeleri, henüz elde edilmemişse serum B₁₂ ve folat seviyelerine ek olarak serum metilmalonik asit ve homosistein değerlendirmesini içermelidir. Ayrıca idrarda aşırı metilmalonik asit atılımı B₁₂ vitamini eksikliğinin hassas bir göstergesidir. Diyet etiyolojileri dışlanırsa (yani yetersiz B₁₂ vitamini alınımına dair kanıt yoksa), klinik öykü ve sunuma dayalı olarak bir GI ve/veya metabolizma uzmanı tarafından ek değerlendirmeler yapılabilir. GI değerlendirmesi, parietal hücre antikolları ve/veya endoskopik değerlendirmeyi içerebilir. Anti-IF antikolları ve anti-parietal hücre antikolları pernisiyöz aneminin teşhisinde faydalıdır. Daha az yaygın bozukluklar için IF ölçümü ve daha uzmanlaşmış laboratuvarlardan yardım gerekebilir. Geçmişte Schilling testi (idrara atılımı ile hem IF varlığını hem de B₁₂ vitamininin bağırsak emilimini ölçen bir test) vitamin B₁₂ eksikliği tanısında altın standarttı ancak artık bu test artık mevcut değildir [9, 51].

2.1.10. Vitamin B₁₂ Eksikliğinin Tedavisi

Vitamin B₁₂ eksikliğinin tedavisi eksikliğin nedenine bağlıdır. Hafif, asemptomatik eksiklikte, diyetin değiştirilmesi veya altta yatan bir durumun d¼zeltilmesi uygun olabilir, ancak çoğu durumda B₁₂ vitamini verilmesi gereklidir [67]. B₁₂ vitamini eksikliği gelişme riskinin olduğu durumlarda (örn. otoimm¼n gastrit, ileal rezeksiyon gibi), profilaktik B₁₂ vitamini reğete edilmelidir [51]. B₁₂ vitamini için fizyolojik gereksinim yaklaşık 1-3 µg/g¼n'd¼r [9].

Tanı doğrulandıktan sonra ve aneminin ciddiyetine bağlı olarak, oral, intramuskuler veya derin subkutan siyanokobalamin g¼nl¼k doz 25- 100 µg olacak şekilde başlangığ tedavisi olarak kullanılabilir. Bir haftalık g¼nl¼k doz uygulamasından sonra haftalık doz ve ardından aylık dozlara geğilebilir [51]. şiddetli anemisi olan ęocuklarda tedaviye sekonder hipopotasemi riski olması nedeni ile d¼ř¼k siyanokobalamin dozları (0,2 µg/kg, subkutan, 2 g¼n) ile tedaviye başlanması ve potasyum takviyelerinin tedaviye eklenmesi önerilir. Başlangığ dozunu takiben 2-7 g¼n boyunca subkutan 1000 µg/g¼n ve ardından bir ay boyunca haftalık 100 µg dozlar kullanılır [10].

B₁₂ vitamini eksikliğinin malabsorbif nedenleri için genellikle uzun s¼reli tedavi gereklidir. Bu hastalar ayda bir subkutan enjekte edilen 100 µg B₁₂'ye yanıt verecektir [10, 51]. B₁₂ vitamini taşınmasında ve metabolizmasında kusurları olan ęocuklar genellikle y¼ksek dozlarda kobalamin ve ek tedavi biğimleri gerektirir [67].

B₁₂ vitamini eksikliğinde oral folik asit kullanımı kontrendikedir. Folik asit takviyesi ile hematolojik bulgular gerileyebilir, ancak n¼rolojik belirti ve bulgular ¼zerinde hiçbir etkisi yoktur. Aksine n¼rolojik belirti ve bulguların daha hızlı gelişmesine ve ilerlemesine neden olur [51].

Megaloblastik aneminin tedaviye yanıtında retik¼lositler ¼ę¼nc¼ veya d¼rd¼nc¼ g¼nlerde artmaya başlar, altıncı ve sekizinci g¼nlerde maksimuma ęıkar ve yaklaşık 3 haftada kademeli olarak normale d¼ner. Demir eksikliğinde olduğu gibi retik¼losit sayısındaki artış aneminin derecesi ile ters orantılıdır. Kemik iliğinin megaloblastikten normoblastik h¼crelere d¼n¼řmesi hızla geręekleřir ve genellikle 3 g¼n içinde tamamlanır [16, 51].

Vitamin B₁₂ eksikliğinin uzun d¼nem prognozu, eksikliğin şiddeti ve s¼resi ile ilişkilidir ve erken tanı ve tedavi prognoz için önemlidir. Tedavi çoğu hastada dramatik bir klinik ve laboratuvar yanıtıyla sonuğlansa da n¼rolojik hasar devam edebilir [71].

İnfanlarda gelişimsel gecikmelerde bir miktar iyileşme görülebilse de sıklıkla kalıcı nörolojik sekel ortaya çıkar [16, 71].

2.2. NEUDESİN

2.2.1. Neudesinin Tanımı

Neudesin, nöron farklılaşması ve sağ kalımında rol oynayan, NENF (nörondan türetilmiş nörotrofik faktör) ya da aday onkogen GIG47 olarak da isimlendirilen bir nörotrofik faktördür [18]. Fare embriyolarından salgılanan nörotrofik aktiviteye sahip bir protein olarak Kimura ve arkadaşları tarafından 2005 yılında tanımlanmıştır [21].

Nörotrofik faktörler, sinir sisteminin gelişmesinde ve sürdürülmesinde önemli roller oynar. Bu faktörler, nöronların hayatta kalmasını destekler ve potansiyel olarak nöronal yaralanmayı veya nörodejeneratif hastalık ile ilişkili nöronal dejenerasyonu önler [72].

Sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofik aktiviteye sahip proteinlerin ilki olarak tanımlanmıştır. Ayrıca; beyinden türetilen nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT3) ve nörotrofin-4/5 (NT4/5), in vitro olarak embriyonik nöronların hayatta kalmasını ve işlevini sürdürme yeteneklerine dayalı olarak tanımlanan nörotrofik faktörlerdir. NGF, yapısal ve işlevsel olarak birbirleriyle ilişkili üç büyüme faktörü olan BDNF, NT3 ve NT4/5 ile birlikte nörotrofin protein ailesini oluşturur [72, 73]. Nörotrofik faktörler için hedef hücreler, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklardan etkilenen birçok nöronu içerir. Bu nedenle bu nörotrofik faktörlerin, nörodejeneratif hastalıklar için terapötik ajanlar olarak potansiyel fayda sağlamaları beklenmektedir [74]. Ek olarak, nörotrofik faktörler sinaptik plastisitede önemli roller oynar [72, 73]. Nörotrofinlerin yanı sıra, fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörleri (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) dahil olmak üzere bazı salgılanan proteinler nörotrofik aktiviteye sahiptir [73].

Neudesin, Kimura ve arkadaşları tarafından 2005 yılında birincil kültürlenmiş fare nöronlarında nörotrofik aktivite gösteren, fareler tarafından salgılanan yeni bir protein olarak tanımlanmıştır. 172 amino asitlik fare neudesini, bilinen herhangi bir proteinle birincil yapısal benzerliğe sahip değildir; bu, neudesinin, nörotrofik aktiviteye sahip benzersiz bir salgılanmış protein olduğunu gösterir [21].

Neudesin molekülü, sitokrom 5 benzeri hem/ steroid bağlanma alanına sahip 172 amino asitten oluşan bir proteindir. NENF geni, kromozom 1p33 üzerinde yer almaktadır [21]. İlk 31 amino asitlik bölümü sinyal peptididir. 44-129 amino asitlik kısım ise bir sitokrom 5 benzeri hem/steroid bağlanma bölgesi ile korunmaktadır ve bu bölge ile heme bağlanmaktadır. Bu bölge neudesinin aktivitesi için gereklidir [21, 75].

Neudesin, protein reseptör membran ilişkili progesteron reseptör (MAPR) ailesine aittir. MAPR ailesi, yapısal açıdan benzer özelliklerde sitokrom b5 benzeri heme / steroid bağlayıcı alana sahip dört adet proteinden oluşur (Şekil 5). Bu proteinler; progesteron reseptör membran komponent 1 (PGRMC1), PGRMC2, neuferrisin ve neudesindir [76]. PGRMC1 başlangıçta progesteron için bir reseptör olarak tanımlanmış olsa da; aslında progesteronu değil, heme bağlar [77]. PGRMC1 ve PGRMC2 başlıca endoplazmik retikulumda bulunur [78]. PGRMC1 ekspresyonu kanser hücrelerinde artmıştır [79]. PGRMC1 kanser hücrelerinde hücre sağ kalımını ve hücre hasar direncini destekler. Aynı zamanda karaciğer, lipid, hormon ve ilaç metabolizmasında rol oynar, beyinde nöroprotektif etkisi vardır. Neuferrisin, nöral prekürsör hücrelerde nörogenezi destekleyen bir proteindir. Neuferrisin ayrıca sitokrom P450 aktivitelerini ve HeLa hücrelerinin büyümesini ve hayatta kalmasını artırır [80]

A	1	60
Neudesin	<u>MVGPAPRRRLRPLAALALV LALAPGLPTARAGQTPRPAERGPPVRLFTEEELARYGGE</u>	
	* *	120
	<u>DQPIYLAVKGVVFDVTS GKEFYGRGAPYNALTGKDSTRGVAKMSLDPADLTHDTTGLTAK</u>	
		172
	<u>ELEALDEVFTKVYKAKYPIVGYTARRILNEDGSPNLDFKPEDQPHFDIKDEF</u>	
B		
PGRMC1	FTP AELRRFDG-VQDPRI LMAINGKVF DVTKGRKFYGP EG--PYGVFAGRDASRGLATFCLDKE	
	* ** ** **** ***** ***** * *****	
PGRMC2	FSLEQLRQYDG-SRNPRI LLAVNGKVF DVTKGSKFYGPAG--PYGIFAGRDASRGLATFCLDKD	
	* * * * * * * * * * * * * * * * * * *	
Neudesin	FTEEELARYGGEEDQPIYLAVKGVVFDVTS GKEFYGRGA--PYNALTGKDSTRGVAKMSLDPA	
	* * * * * * * * * * * * * * * * * *	
Neuferricin	FIP EELSRYRGGPGDPLGLYLALLGRVYDVSSGRRHYEPGS--HYSGFAGRDASRAFVTGDCSEA	
	ALKDEYDDLSDLTAAQQETLSD-WESQFTFKYHHVGKLL	
	** ***** * * ** ** ** ** **	
	ALRDEYDDLSDLNAVQMESVRE-WEMQFKEKYDYVGRLL	
	* * * * * * ** **	
	DL---THDTTGLTAKELEALDEVFTKVYKAKYPIVGYTA	
	* * * * * * * **	
	GL---VDDVSDLSAAEMLTLHN-WLSFYEKNYVCVGRVT	

Şekil 5: Neudesin'in (A) amino asit dizisi ve MAPR ailesindeki heme/steroid bağlayıcı alanların (B) karşılaştırılması.

- A.** Altı çizgi kısımlar, bölünebilmek üzere salgılanan bir sinyal dizisini ve korunmuş heme/steroid bağlama alanını gösterir. Yıldız işaretleri, heme bağlanması için gerekli olan, korunmuş iki tirozin kalıntısı olan 82 ve 88'i gösterir. Sayılar amino asit pozisyonlarını ifade eder.
- B.** Çizgiler, dizileri hizalamak için eklenen boşlukları gösterir. Yıldız işaretleri, dizilerdeki aynı amino asit kalıntılarını gösterir. Altı çizili olanlar, MAPR ailesinde heme bağlanması için gerekli olan korunmuş iki tirozin kalıntısını gösterir [4].

2.2.2. Neudesinin Yapısı

Neudesin'in amino asit dizisi, omurgalılarda yüksek oranda korunur [76]. Nükleer manyetik rezonans analizi, NENF'in bir α -heliks/ β -iplikli yapısına sahip olduğunu ve bunun β 1- α 1- β 2- β 3- α 2- β 4- α 3- α 4- β 5- β 6 topolojide olduğunu göstermiştir. Hem/steroid bağlanma alanı α 2- β 4- α 3 topolojisinde bulunur. Hem/steroid bağlayıcı hidrofobik cep, α 2 ve α 3 heliksleri arasında görünür. Bu cepteki 82 ve 88 numaralı tirozin kalıntıları, hem bağlaması için gereklidir [81].

Neudesin, farelerde embriyonik aşamalarda özellikle beyinde ve spinal kordda gösterilmiştir, ancak yetişkin farelerde beyin (özellikle nöronlar), yağ dokusu, kalp, akciğer ve böbrek dahil olmak üzere çeşitli dokularda yaygın olarak üretildiği gösterilmiştir. Beyinde çoğu nöronda gösterilmiştir, ancak glial hücrelerde, serebral korteks, hipokampus, talamus ve hipotalamusta gösterilmemiştir [21].

2.2.3. Neudesinin Aktivitesi ve Etki Mekanizması

Neudesin, nöronlarda nörotrofik aktivite ile salgılanan bir sinyali kodlar. Çoğu nörotrofik faktör, nöral hücre proliferasyonu ve/veya farklılaşmasında yer alır [19]. Ancak neudesinin nöral gelişimdeki rolü henüz aydınlatılmamıştır. Neudesin embriyonik serebral korteks gelişiminin erken döneminde eksprese edilir. Ekspresyonu, çoğunlukla postmitotik nöral hücrelerin bulunduğu ön plakada gözlenir. Neudesinin mRNA'sı, nöronların ortaya çıkmasından önce nöral prekürsör hücrelerde görüldüğünden, neudesinin nöral gelişimdeki rolleri prekürsör hücreler kullanılarak incelenmiştir [20].

Neudesin'in korunmuş sitokrom 5 benzeri heme/steroid bağlama alanının heme bağlandığı gösterilmiştir ve bu bağlanma invitro aktivitesi için gereklidir [20, 75]. Neudesin, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K) yollarını aktive eder ve nörotrofik aktivitesini bu yollar üzerinden gösterir. Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK)1/2'nin neudesin tarafından fosforilasyonu, bir Gi/Go proteini inhibitörü olan boğmaca toksini (PTX) tarafından inhibe edilir, ancak tirozin kinaz reseptör inhibitörleri tarafından inhibe edilmez. Bu da bir Gi/Go protein bağlı reseptörün aktivasyonunun neudesinin aktivitesine aracılık edebileceğini gösterir [21].

Neudesin ayrıca, nöral öncü hücrelerde ERK, Akt ve cAMP yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (CREB) fosforilasyonunu da destekler; ancak neudesinin bu etkisi, birincil nöronlardaki durumun aksine PTX tarafından inhibe edilmez. Ek olarak, neudesin, nöral prekürsör hücrelerde cAMP seviyelerini arttırdığından, Gs protein-bağlı reseptörün, MAPK, protein kinaz A (PKA) ve PI-3K sinyal yollarının neudesin tarafından aktivasyonunda yer alabileceği düşünülmektedir [20].

Rekombinant neudesin, apoptozu azaltarak primer kültürlenmiş fare nöronlarının hayatta kalmasını artırarak nörotrofik aktivite sergiler, ancak primer kültürlenmiş fare astrositlerinde mitojenik aktivite göstermez, bu da onun bir nörotrofik faktör olduğunu gösterir [4].

Neudesin farelerde nöronlardan önce nöral öncü hücrelerde gösterilmiştir. Bu da neudesinin nöral gelişimdeki potansiyel rolünü gösterir. Neudesin nöronal farklılaşmayı önemli ölçüde destekler. Bunu kültürlenmiş nöral öncü hücrelerde protein kinaz A (PKA) ve PI3K yollarının aktivasyonu yolu ile gerçekleştirir [20].

2.2.4. Neudesinin Fonksiyonları

Neudesinin merkezi sinir sistemindeki fizyolojik fonksiyonları ile ilgili olarak bugüne kadar, neudesinin postnatal olgun nöronlarda nörotrofik bir faktör olarak hareket ettiği, nöronal sağkalımı arttırdığı ve embriyonik aşamadaki farklılaşmamış nöral progenitör hücrelerde hücre proliferasyonunu ve nörogenezi teşvik ettiği bildirilmiştir [20, 21].

Fare birincil kültürlü serebral korteks nöronlarında, rekombinant neudesin, apoptozu azaltarak nöronal sağkalımı önemli ölçüde artırırken, fare birincil kültürlü serebral korteks astrositlerinde hiçbir hücre çoğalma aktivitesi olmadığı gösterilmiştir [21]. Bu, nöronlardan salgılanan neudesinin astrositler üzerinde etkili olmadığını ancak komşu nöronlar üzerinde etkili olduğunu göstermektedir [21].

Beyin gelişimi sırasında, rekombinant neudesin, nöral öncü hücrelerin PI-3K ve PKA yolları üzerinden mikrotübülle ilişkili protein 2 (MAP-2)- pozitif nöronlara farklılaşmasını indükleyerek nöron sayılarını doğrudan artırır. MAPK ve PKA yolları üzerinden de bölünen nöral öncü hücrelerin çoğalmasını geçici olarak teşvik ederek dolaylı olarak nöron sayılarını arttırmış olur [20]. Benzer şekilde, Neuro2a hücrelerinde (fare nöroblastom hücreleri), farklılaşmamış bir nöral hücre hattı, hücre sağkalımı ve proliferasyonu, endojen neudesinin siRNA aracılı yıkımı ile önemli ölçüde

baskılanmıştır (Tablo 2) [75]. Ayrıca, bir neudesin-hemin kompleksi, birincil kültürlenmiş nöronlarda tek başına neudesin'den daha güçlü nöroprotektif aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir. Bu da neudesine heme bağlanmasının, neudesinin biyoaktivitesi için gerekli olduğunu göstermektedir. Ancak hem'in neudesinin etkilerine hangi mekanizma ile katkıda bulunduğu hala net değildir. Hem demirinin yükünün, neudesinin reseptörüne bağlanmasında veya neudesin ile diğer proteinler arasındaki etkileşimlerde rol oynadığı düşünülmektedir [18, 75].

Hipotalamustaki neudesinin iştahı modüle ettiği rapor edilmiştir. Hipotalamik neudesin mRNA'sı, iştahın önemli bir düzenleyicisi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) sinyali ile regüle edilmektedir. Ayrıca, interaserebroventriküler bir kanül yoluyla uygulanan rekombinant neudesin, hipotalamik Pomc ve Mc4r mRNA ekspresyonunu artırarak melanokortin sinyal aktivasyonu yoluyla gıda alımını ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir. Bu, neudesinin in vivo bir fizyolojik fonksiyonunun olduğu ilk rapordur [82]. Yukarıda bahsedildiği gibi, neudesin, merkezi sinir sisteminde yüksek oranda bulunmakta ve in vitro olarak MAPK ve PI-3K yollarını aktive ederek nöronal farklılaşmayı ve hayatta kalmayı düzenleyen bir nörotrofik faktör olarak işlev görmektedirken aynı zamanda hipotalamusta bir anoreksijenik faktör olarak in vivo işlev görmektedir [18].

Neudesinin, meme karsinomları, uterus, serviks, kolon, akciğer, deri karsinomları, malign lenfoma, lösemi ve MCF-7 meme kanseri hücreleri dahil olmak üzere birçok kanser hücresinde aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir. Neudesinin MCF7 hücrelerinde ektopik olarak eksprese edilmesi in vitro olarak tümörün invazivliğini ve in vivo olarak tümörigenezi arttırdığı gösterilmiştir (Tablo 2). Tümör oluşumunun altında yatan mekanizmaya, MAPK ve PI3K yollarının aktivasyonu aracılık edebileceği düşünülmektedir. Bu bulgular neudesinin tümör oluşumunda yer aldığını ve kanserlerin tedavisi için yeni bir hedef olabileceğini göstermektedir [18].

Neudesinin nöral fonksiyonlar, enerji metabolizması ve tümörgenezdeki aktivitesi ve rolleri tablo 2'de özetlenmiştir [4]. Sonuç olarak; MAPR ailesinin bir üyesi olan neudesin, korunmuş bir sitokrom 5 benzeri heme/steroid bağlama alanına sahip bir proteindir. Nöral fonksiyonlarda, enerji metabolizmasında ve tümörögenizde çok işlevli roller oynar. Kültürlenmiş nöral hücreler üzerindeki etkileri, neudesinin merkezi sinir sisteminin gelişimi ve sürdürülmesinde çok önemli roller oynayabileceğini düşündürür.

Tablo 2: Neudesinin nöral fonksiyonlar, enerji metabolizması ve tümörgezezdeki aktivitesi ve rolleri [4].

Neudesin fonksiyonu	Fonksiyon kaybı	Fonksiyon yeri	Referanslar
Nöral Fonksiyonlar			
Nörotrofik aktivite		Kültürleşmiş nöronal hücreler	Kimura et al., 2005 [21]
Farklılaşma aktivitesi		Kültürleşmiş nöronal prekürsör hücreler	
Hücre proliferasyon aktivitesi		Kültürleşmiş nöronal prekürsör hücreler	Kimura et al., 2006 [20]
	Hücre proliferasyonunun ve sağkalımının inhibisyonu	Kültürleşmiş Neuro2a hücreleri	Kimura et al., 2008 [75]
Azalmış gıda alımı		Fareler	Byerly et al., 2013 [82]
	Anksiyöz benzeri davranış	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
Enerji Metabolizması			
Adipogenez inhibisyonu		Kültürleşmiş 3T3-L1 hücreleri	Kimura et al., 2009 [84]
	Adipogenezin teşviki	Kültürleşmiş 3T3-L1 hücreleri	Kimura et al., 2009 [84]
	HFD kaynaklı obezite/metabolik disfonksiyona direnç	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
	Sempatik aktivite artışı	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
	Artan enerji tüketimi	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
	Kahverengi yağ dokuda artan ısı üretimi/yağ asidi oksidasyonu	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
	Beyaz yağ dokuda artan lipoliz	Fareler	Ohta et al., 2015 [83]
Tümörgezeze			
İnvazivlik aktivitesi		Kültürleşmiş MCF hücreleri	Han et al., 2012 [81]
Tümör gelişimi		Kültürleşmiş MCF hücreleri	Han et al., 2012 [81]
	Hücre büyümesinin inhibisyonu	Kültürleşmiş kanser hücreleri	Stefanska et al., 2014 [85]
	İnvazyonun inhibisyonu	Kültürleşmiş kanser hücreleri	Stefanska et al., 2014 [85]

2.3. Beyin Kaynaklı Nörotrofin Faktör (BDNF)

2.3.1. BDNF'nin Tanımı

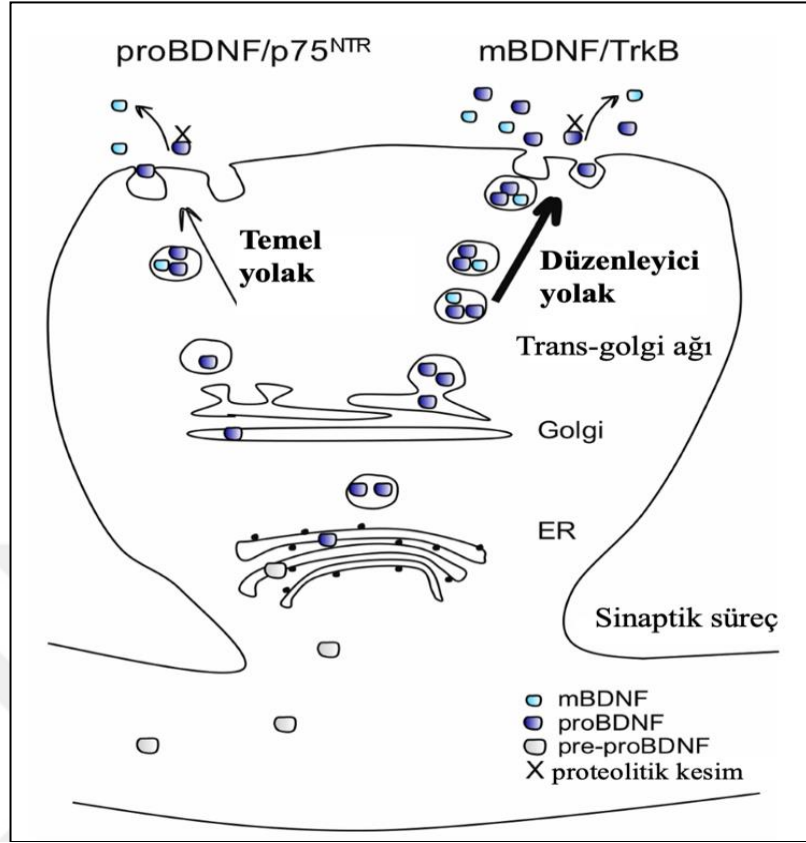
Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), kongnitif fonksiyonlar ve hafıza üzerinde kritik rol oynayan nöron ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolünü sağlayan, nöroproteksiyonda fonksiyonu olan, hem kısa hem de uzun süreli sinaptik etkileşimleri ve akson ve dendrit dallanmaları düzenleyen bir nörotrofindir [22].

Nörotrofinler, hem periferik hem de merkezi sinir sistemlerinde (MSS) çok çeşitli nöronların gelişimi, hayatta kalması ve işlevinde önemli roller oynar [86]. İlk keşfedilen nörotrofin, sinir büyüme faktörü (NGF)'dür. Rita Levi-Montalcini ve Viktor Hamburger tarafından fare sarkoma kültürlerini in vitro incelerken şans eseri keşfedilmiştir. O zamandan beri yaklaşık 50 sinir sistemi büyüme faktörü tanımlanmıştır. BDNF, ilk olarak 1982 yılında Yves Barde ve Hans Thoenen tarafından domuz beyninden saflaştırılmıştır [87]. NGF'den sonra nörotrofin büyüme faktörleri ailesinin ikinci üyesi olarak sınıflandırılmıştır. Nörotrofinler yapılarındaki benzerliklere göre farklı ailelere ayrılırlar. Klasik nörotrofin ailesi NGF, BDNF, nörotrofin 3 (NT3) ve NT4'ten oluşur [26].

2.3.2. BDNF'nin Yapısı ve Sentezi

BDNF molekülünü kodlayan gen 11. kromozomun üzerinde yer almaktadır. Bu gen 3' kodlayıcı ekzona eklenmiş alternatif bir 5' kodlanmayan ekzon içeren 24 transkriptin transkripsiyonunu başlatabilen 9 promotörden oluşmaktadır [88].

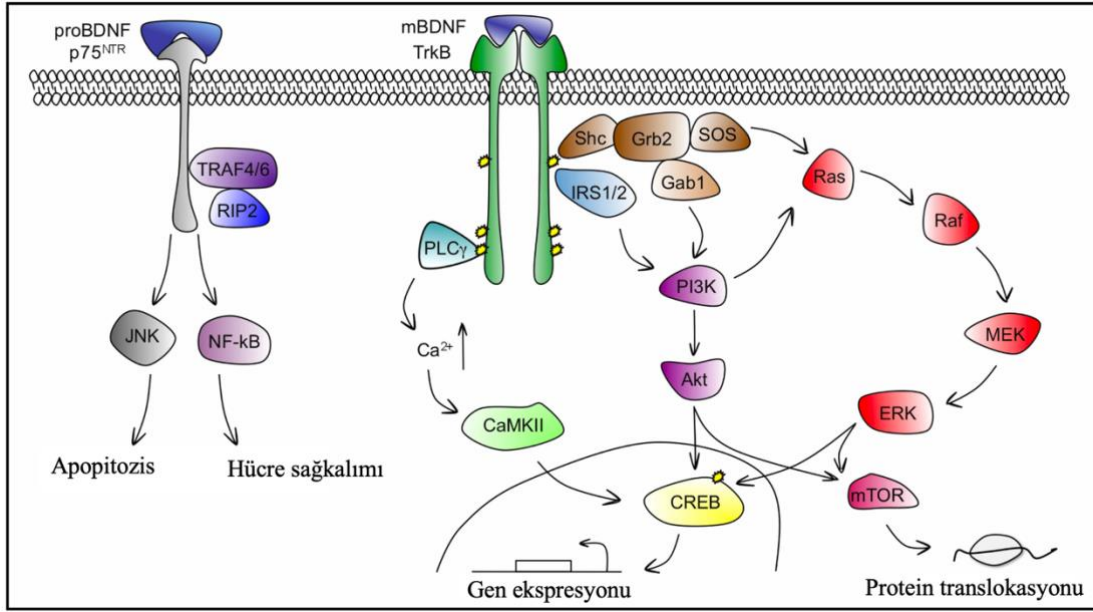
BDNF, nörotrofin ailesinin diğer üyeleri gibi 247 amino asitten oluşan pre-pro formda sentezlenir [89]. Pre-pro BDNF endoplazmik retikulumda öncül dizisinden kesilir ve 32 kDa'lık pro-BDNF oluşur. Pro-BDNF, salgı vezikülleri içinde paketlenir. Pro-BDNF, golgi aparatı yoluyla, iki tür salgı vezikülünün üretildiği trans-Golgi ağına hareket eder ve yapısal salgılama veya aktiviteye bağlı salgı yoluyla nörondan salınır. Her iki vezikül tipinde paketlenen proBDNF, ya proteolitik olarak bölünür ve 14-kDa mBDNF olarak salgılanır ya da proBDNF olarak salgılanır ve hücre dışı proteazlar tarafından bölünür [3]. Nöronlarda BDNF'nin sentezi, paketlenmesi ve salgılanması şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6: Nöronlarda BDNF sentezi, paketlenmesi ve salgılanması [3].

2.3.3. BDNF Reseptörleri ve Etki Mekanizmaları

BDNF proteini, yetişkin beyninde hemen hemen tüm kortikal ve subkortikal alanlarda ve omurilik bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır. BDNF, farklı sınıflardan iki reseptöre bağlanır. Bunlar; tropomiyosin ile ilişkili kinaz (TRK) ailesinin tirozin kinaz reseptörü olan tropomiyosin ile ilişkili kinaz reseptörü tip B (TRKB) ve tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin bir üyesi olan p75 reseptörü'dür [23, 24]. TRKB, geniş ekspresyon paterni ve BDNF'ye p75'ten daha yüksek bağlanma afinitesi nedeniyle yetişkin beyninde BDNF için anahtar reseptördür [26]. BDNF izoformlarının reseptör bağlanma afiniteleri şekil 7'de gösterilmiştir [3].



Şekil 7: BDNF-TrkB ve BDNF-p75^{NTR} sinyal yolları [3].

BDNF gibi, TRKB de korteks, hipokampus ve çok sayıda beyin sapı ve spinal kord çekirdeği dahil olmak üzere yetişkin beyninin tamamında yaygın olarak ifade edilir. Ancak p75 esas olarak yetişkinlikte bazal ön beyin kolinerjik nöronlarda ve nispeten az sayıda kortikal nöronlarda sınırlıdır. Olgun BDNF, TRKB'ye en büyük afinite ile bağlanırken; pro-BDNF p75'e daha yüksek afinite ile bağlanır. BDNF izoform bağlanmasındaki bu ayrım önemlidir çünkü; TRKB ağırlıklı olarak hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK'ler), mitojenle aktive olan protein kinaz kinazlar (MEK'ler), AKT ve siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein (CREB) dahil olmak üzere birçok fonksiyonel genin nöronal hayatta kalmasını ve ekspresyonunu destekler [25]. Aksine, p75 aktivasyonu, pro-apoptotik sinyalleşme ile sonuçlanır. Benzer şekilde, TRKA veya TRKC'ye bağlanan ancak TRKB'ye bağlanmayan nörotrofin, belirli koşullar altında nöronal ölümü teşvik edebilir.

BDNF'nin transmembran TRKB'ye bağlanması, sitoplazmik karboksi-terminal alanıyla birleşen tirozin kısımlarının dimerizasyonuna ve otofosforilasyonuna yol açar; bu da polipirimidin yolu bağlayıcı protein (PTB) ve Src homoloji domaini 2 (SH-2)'yi de içeren birkaç adaptör proteini etkinleştirir [90]. PTB ve SH2'nin aktivasyonu,

fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), MEK-ERK, fosfolipaz C gama-1 (PLC γ 1) ve CREB'nin fosforilasyonuna yol açar [91]. MEK-ERK yolu, gelişim sırasında nörit büyümesinin, hücrel farklılaşmanın ve nöronal hayatta kalmanın sürdürülmesinde rol oynar. MEK-ERK sinyali, yetişkin beyninde sinaptik plastisiteyi ve nöronal yapıyı ve işlevi desteklemeye devam eder. PI3K aktivasyonu AKT'yi uyarır, böylece hücre sağkalımını artırır. PLC γ 1'in aktivasyonu, inositol-1,4,5-trifosfat (InsP3) ve diasilgliserolün (DAG) oluşumuyla sonuçlanır, bu da kalsiyum depolarının mobilizasyonu ve sinaptik plastisiteyi etkileyen kalsiyuma bağımlı protein kinazların aktivasyonu ile sonuçlanır [26].

Nörotrofin sinyalinin başka bir mekanizması da tanımlanmıştır: Nörotrofinler, TRK reseptörlerine bağlanabilir ve klatrin aracılı endositoz aracılığıyla bir "sinyal gönderen endozom" oluşturur [92]. Sinyal endozomu, fosforlanmış reseptörü ve ilişkili sinyal moleküllerini içerir ve sinaps bağlantıları gibi fonksiyonları etkileyebileceği hücre gövdesine taşınır. Son olarak, BDNF'nin lokal salınımı, iyon kanallarının değiştirilmesi yoluyla sinapslarda hızlı etkilere neden olabilir. Çeşitli kanıtlar, BDNF'nin normal, bozulmamış yetişkin beyninin fizyolojik süreçlerini sürdürmede gerekli olduğunu göstermektedir [93, 94]. BDNF, dendritik dallanma ve dendritik omurga morfolojisinin yanı sıra sinaptik plastisite ve uzun vadeli güçlenmenin (LTP) modüle edilmesinde bir role sahiptir [95]. Bu şekilde, BDNF öğrenmeyi ve hafızayı etkiler.

Özet olarak, BDNF'nin beyindeki çok sayıda fizyolojik sürecin düzenlenmesindeki spesifik rolü, izoformlarının farklı reseptör tipleri ile etkileşiminin bir sonucudur. BDNF; PI3K/Akt yolağı üzerinden, anti apoptotik aktiviteyi, N- metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin sinaptik plastisitesinin modülasyonunu, dentritik büyüme ve dallanmanın arttırılmasını, MAP kinaz yolağı üzerinden sinyal kaskadını düzenleyen proteinlerin sentezini, ERK/CREB yolağının aktivasyonunu, erken yanıt genlerinin ekspresyonunun aktivasyonunu, dentritik büyüme ve dallanmanın aktivasyonunu, PLC-y yolağı üzerinden Ca/kalmoduline bağımlı protein kinaz (CAM kinaz) ve fosfokinaz C 2'nin aktivasyonunu, DAG ve Ca iyonu konsantrasyonunun artışı, sinaptik plastisitenin artmasını, ayrıca GTPaz yolağı üzerinden aktin ve mikrotübül sentezinin stimülasyonunu ve nöronal fiberlerin büyümesini sağlamaktadır [22].

BDNF, periferik sinir sisteminde düşük seviyelerde ve merkezi sinir sisteminde çok daha yüksek seviyelerde bulunur. BDNF protein düzeyleri hipokampus, striatum, septum, amigdala, prefrontal serebral korteks, hipotalamus, neokorteks, serebellum, talamus ve olfaktör bulbus bölgelerinde tespit edilmiştir [96]. BDNF, en yüksek oranda uzun süreli hafıza oluşumunun etkilendiği hipokampus, frontal korteks ve amigdalada bulunur. BDNF'nin ayrıca prefrontal kortekste hafıza işlemede önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Beyin gelişim döneminde en yüksek düzeyde bulunurken daha düşük seviyelerde de olsa yetişkin beyninde gösterilmiştir. Yapılan kemirgen çalışmalarında, çoklu beyin bölgelerinde, doğum sonrası gelişimin ilk ayında BDNF düzeylerinin önemli ölçüde arttığını ve bunu yetişkinliğe doğru hafif bir düşüş izleyebileceğini gösterilmiştir [97]. BDNF beyin gelişim döneminde nöronların büyümesini, farklılaşmasını ve nöronların hayatta kalmasını sağlar. BDNF, dendritik dallanmayı modüle etmesinin yanı sıra sinaptik plastisite ve uzun vadeli güçlenmeyi (LTP) modüle etmede de bir role sahiptir. Bu şekilde, BDNF öğrenmeyi ve hafızayı etkiler [3].

Büyük ve sürekli büyüyen bir kanıt grubu, BDNF'nin çok sayıda nörofizyolojik sürece dahil olduğunu göstermektedir. Genel olarak, bu nörotrofinin işlevleri, hafıza ve biliş için kritik olan sinaptik yapının regülasyonu ve sürdürülmesi ve nöronal ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolü ile ilgilidir. BDNF'nin nörotrofik işlevleri, öğrenme, hafıza, uyku ve nöronal hayatta kalma ile ilişkilendirilmektedir [27]. BDNF'nin fizyolojik rolü, onu birçok terapötik strateji için potansiyel olarak değerli bir araç haline getirir. Bununla birlikte, bu nörotrofinin klinik uygulamaları daha fazla yoğun çalışma gerektirir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın konusu Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Akademik Kurulu tarafından 09.12.2022 tarihinde tez konusu olarak uygun bulunmuştur.

Çalışmaya Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından 17.01.2023 tarih ve E-92992 sayılı karar ile onay verilmiştir (Ek-1). Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 20230215 proje numarası ile desteklenmiştir (Ek-2).

3.1. Çalışmanın Örnekleme

Bu çalışmaya araştırma grubu olarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne 01.03.2023-01.06.2023 tarihleri arasında başvuran 6 ay – 3 yaş arası vitamin B₁₂ eksikliği saptanan 26 çocuk dahil edildi. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş normal düzeyde serum vitamin B₁₂ düzeyine sahip 26 çocuktan oluşturuldu. Vitamin B₁₂ değeri 300 ng/L'nin altında olması vitamin B₁₂ eksikliği, ≥ 300 ng/L olması normal vitamin B₁₂ değeri olarak kabul edildi. Herhangi bir kronik hastalığı olan (malabsorbsiyon, Çölyak Hastalığı, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı, metabolik hastalıklar vb.) ve 6 ay- 3 yaş aralığında olmayan çocuklar çalışmaya alınmadı.

Ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onam alınarak çalışmaya katılmayı kabul etmeyen veya kan örneği vermeyi kabul etmeyen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Bilgilendirilmiş gönüllü olur onam formu ektedir (Ek-3).

3.2. Numunelerin Toplanması ve Analizi

Kan örnekleri, ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra bu iş için ayrılmış ve temizlenmiş bir odada, deneyimli hemşireler tarafından ön kol veninden ilgi deri kısmı etil alkol ile silinerek tek kullanımlık vakumlu iğne uçları ile biyokimya tüplerine en az 2 ml olacak şekilde alındı.

Çalışma ve kontrol grubundan biyokimya tüplerine alınan venöz kan numuneleri aynı gün içerisinde biyokimya laboratuvarına getirildi ve 3000 x g 'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj ile elde edilen serum örnekleri analizlerin yapılacağı güne

kadar -80 derecede saklandı. B₁₂ vitamin düzeyleri için rutin biyokimya laboratuvarından hizmet alımı gerçekleştirildi. Neudesin ve BDNF parametrelerinin analizleri için ise enzim bağımlı immüno sorbent deneyi (ELISA) kitleri ticari olarak satın alındı. Neudesin ve BDNF analizleri temin edilen kitlerin protokolüne göre Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda çalışıldı.

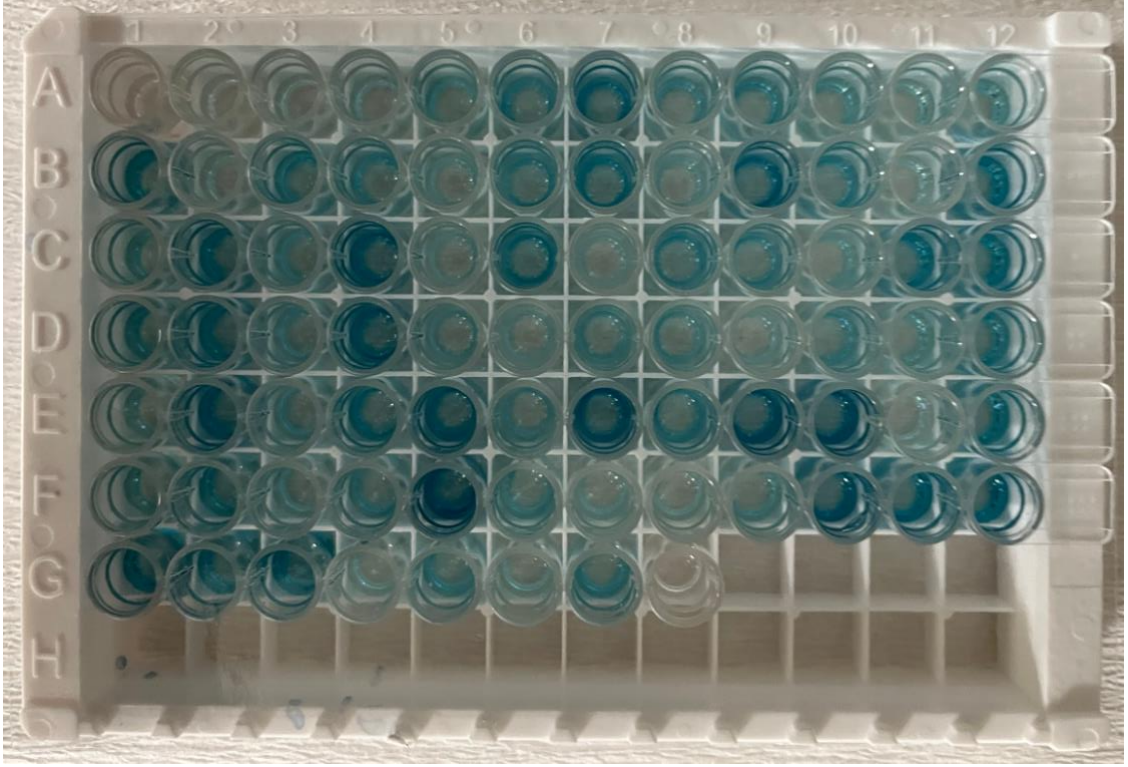
Tüm çözeltiler ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Standartlar neudesin ve BDNF kit protokolünde belirtildiği gibi kalibrasyon eğrisi için seri dilüsyonla hazırlandı (Tablo 3, Tablo 4). Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi. Numune kuyucuklarına serum örnekleri 40 µL alınarak eklendi. Üzerine 10 µL antikor eklendi. Son aşamada 50 µL streptavidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) eklenerek kuyucukların üstü kapatıldı. 60 dakika 37°C de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 350 µL yıkama tamponu ile 5 defa 30 saniye yıkama yapıldı. Kuyucuklara 50 µL substrat solüsyonu A ve B eklendi. Böylece kuyucuklar, konsantrasyonları oranında mavi renk aldı (Şekil 8). Karanlık ortamda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 50 µL durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Böylece plaka üzerindeki kuyucuklardaki mavi renk, sarı renge dönüştü (Şekil 9). Hazırlanan plaka cihaza yerleştirildi. Hem serum neudesin hem serum BDNF için ayrı ayrı cihaz aplikasyonu yapıldı. Standart solüsyon konsantrasyonları cihaza girildi. Protokolde belirtilen 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. Her ölçüm kiti için verilen standart konsantrasyonlarından kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 10, Şekil 11). Serum neudesin ve BDNF düzeyleri bu kalibrasyon eğrisinden hesaplandı.

Tablo 3: Neudesin için standart çözeltilerin seyreltilmesi.

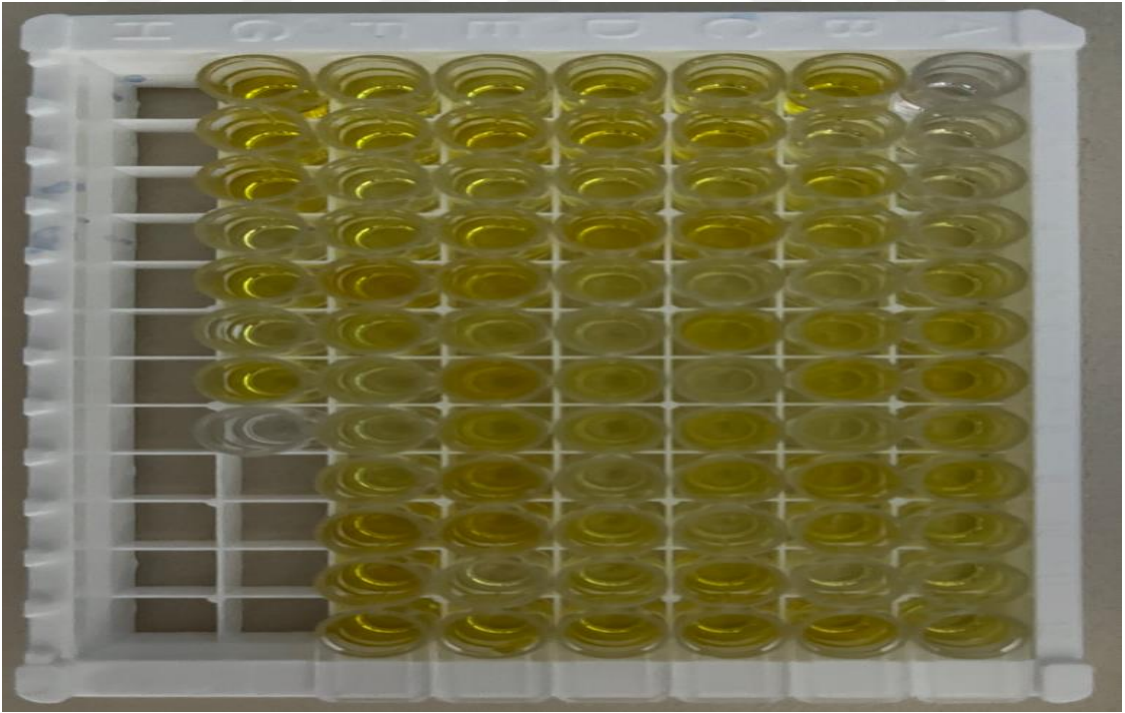
12.5 ng/ml	Standart No.5	120 ul orijinal standart + 120 ul Standard seyreltici
6.25 ng/ml	Standart No.4	120 ul Standart No.5 + 120 ul Standard seyreltici
3.125 ng/ml	Standart No.3	120ul Standart No.4 + 120 ul Standard seyreltici
1.5625 ng/ml	Standart No.2	120ul Standart No.3 + 120 ul Standard seyreltici
0.78125 ng/ml	Standart No.1	120ul Standart No.2 + 120 ul Standard seyreltici

Tablo 4: BDNF için standart çözeltilerin seyreltilmesi.

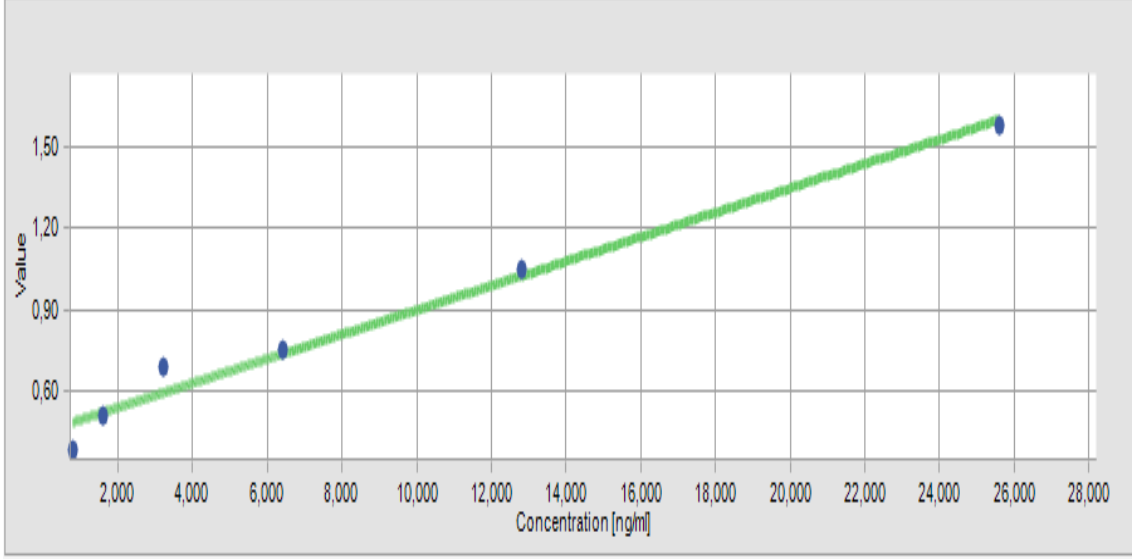
6 ng/ml	Standart No.5	120 ul orijinal standart + 120 ul Standard seyreltici
3 ng/ml	Standart No.4	120 ul Standart No.5 + 120 ul Standard seyreltici
1.5 ng/ml	Standart No.3	120ul Standart No.4 + 120 ul Standard seyreltici
0.75 ng/ml	Standart No.2	120ul Standart No.3 + 120 ul Standard seyreltici
0.375 ng/ml	Standart No.1	120ul Standart No.2 + 120 ul Standard seyreltici



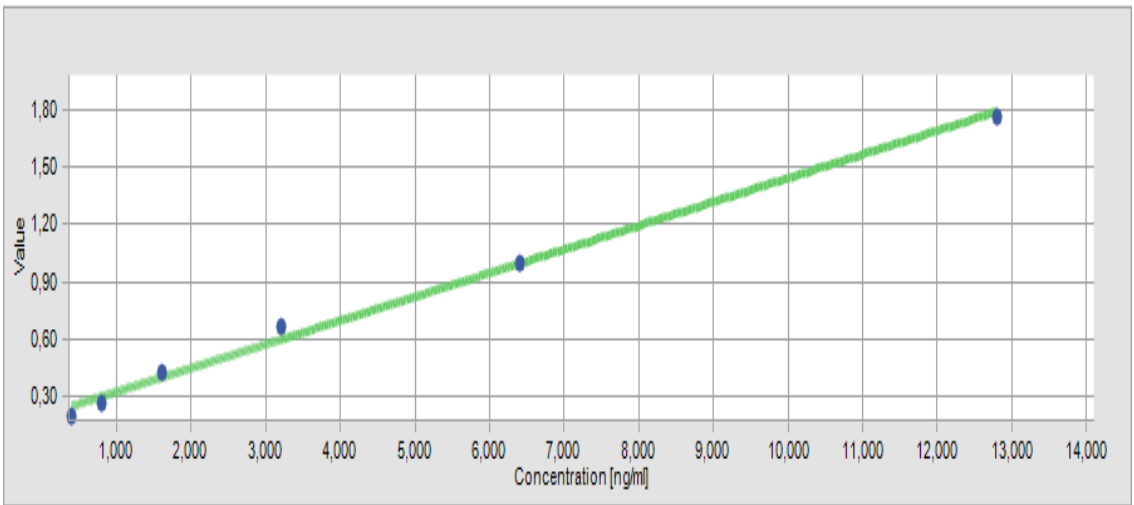
Şekil 9: Kuyucuklara substrat A ve B eklendikten sonra konsantrasyonları oranında mavi renge dönüşümleri.



Şekil 8: Kuyucuklara 50 μ L durdurma solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin sarı renge dönüşümü.



Şekil 10: Neudesin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 11: BDNF kalibrasyon eğrisi.

3.3. İstatistiksel Yöntem

Daha önceki çalışmalar referans alınarak ortalamalar arasındaki fark 0.28, standart sapma 0.48 olarak alındığında %95 güven düzeyinde %80 güç için minimum örneklem sayısı $n_1=n_2=24$, toplam 48 olarak bulunmuştur.

İstatistik analizler R yazılımı (versiyon 4.2.0) ile yapıldı (R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Available online: <http://www.r-project.org/>). Genel istatistik analizlerde gtssummary v1.6.0 ve rstatix v0.7.0 paketlerinden yararlanıldı [98, 99]. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile Q-Q plot ve histogram grafikleri ile denetlendi. Sürekli değişkenler ortanca (min-maks veya 25.-75. çeyrek) ve ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) ile gösterildi. Sürekli verilerin analizi, normal dağılmadığında Mann Whitney U testi ile normal dağıldığında bağımsız gruplarda t-testi (varyansların homojenliği sağlanmadığında Welch t-testi) ile yapıldı. Kategorik veriler gözlem sayıları yeterli olduğunda Pearson Ki-kare testi ile, yetersiz olduğunda Fisher'in kesin testi ile değerlendirildi. Sürekli verilerin aralarındaki ilişki Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi. Yapılan tüm analizler için $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 52 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 17 ± 10 ay, ortancası 14 (9-24) ay idi. 24 (%46) hasta erkek, 28 (%54) hasta kadındı. Hastaların ağırlık persentil ortalaması 44 ± 27 , ortancası 41 (25-61) idi. 7 (%13) hastanın ağırlık persentili düşük (<10p), 43 (%83) hastanın normal (10p-90p), 2 (%3.8) hastanın yüksekti(>90p). Hastaların boy persentil ortalaması 55 ± 26 , ortancası 55 (38-77) idi. 4 (%7.7) hastanın boy persentili düşük (<10p), 41 (%79) hastanın normal (10p-90p), 7 (%13) hastanın yüksekti(>90p). Hastaların B₁₂ vitamin düzeyi ortalaması 415 ± 300 ng/L, ortancası 301 (245-519) ng/L idi. 26 (%50) hastanın B₁₂ vitamini düzeyi düşük (<300 ng/L), 26 (%50) hastanın normaldi (≥ 300 ng/L) (Tablo 5).

Tablo 5: Tüm Hastaların Demografik, Antropometrik Özellikleri ve B₁₂ Düzeyleri.

	Tüm Hastalar
Özellikler	N = 52
Yaş, ay	
Ortalama \pm ss	17 ± 10
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	14 (9-24)
Cinsiyet, n (%)	
Erkek	24 (46)
Kadın	28 (54)
Ağırlık persentili	
Ortalama \pm ss	44 ± 27
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	41 (25-61)
Ağırlık persentili, n (%)	
Düşük	7 (13)
Normal	43 (83)
Yüksek	2 (3.8)
Boy persentili	
Ortalama \pm ss	55 ± 26
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	55 (38-77)
Boy persentili, n (%)	
Düşük	4 (7.7)
Normal	41 (79)
Yüksek	7 (13)
B12 Vitamini, ng/L	
Ortalama \pm ss	415 ± 300
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	301 (245-519)
B12 vitamin düzeyi, n (%)	
Düşük	26 (50)
Normal	26 (50)

Tablo 6: B₁₂ Vitamini Düzeyi Düşük (<300 ng/L) ve Normal (≥300 ng/L) Olan Hastaların Özelliklerinin Kıyaslanması.

B ₁₂ Vitamini			
Özellikler	Düşük, N = 26 ¹	Normal, N = 26 ¹	p-değeri
Yaş, ay	12 (8-24)	15 (11-24)	0.275 ²
Cinsiyet			0.578 ³
Erkek	11 (42)	13 (50)	
Kadın	15 (58)	13 (50)	
Ağırlık persentili	39 ± 30	48 ± 24	0.216 ⁴
Ağırlık persentili			0.099 ⁵
Düşük	6 (23)	1 (3.8)	
Normal	19 (73)	24 (92)	
Yüksek	1 (3.8)	1 (3.8)	
Boy persentili	51 ± 26	59 ± 26	0.287 ⁶
Boy persentili			>0.999 ⁵
Düşük	2 (7.7)	2 (7.7)	
Normal	21 (81)	20 (77)	
Yüksek	3 (12)	4 (15)	
Hemoglobin, g/dL	10.97 ± 1.25	11.42 ± 1.29	0.212 ⁶
Hemoglobin			0.773 ³
Düşük	10 (38)	9 (35)	
Normal	16 (62)	17 (65)	
Hematokrit, %	33.5 ± 3.0	34.1 ± 3.0	0.460 ⁶
Hematokrit			0.773 ³
Düşük	9 (35)	10 (38)	
Normal	17 (65)	16 (62)	
MCV, fL	77 (75-80)	76 (74-78)	0.385 ²
WBC, 10³/μL	9.23 ± 2.86	8.98 ± 1.99	0.712 ⁴
Ferritin, ng/mL	16 (10-30)	21 (15-31)	0.143 ²
Ferritin			0.760 ³
Düşük	18 (69)	19 (73)	
Normal	8 (31)	7 (27)	
Demir, mg/dL	38 (25-54)	52 (28-82)	0.276 ²
Demir			0.560 ³
Düşük	10 (38)	8 (31)	
Normal	16 (62)	18 (69)	
Albumin g/dL	4.25 ± 0.23	4.42 ± 0.30	0.029⁴
Üre, mg/dL	19.1 ± 6.1	20.2 ± 7.9	0.560 ⁴
Kreatinin, mg/dL	0.27 ± 0.05	0.32 ± 0.06	0.007⁴
AST, IU/L	38 (28-44)	42 (34-51)	0.045²
ALT, IU/L	18 (13-22)	21 (17-24)	0.119 ²
Glukoz, mg/dL	84 (78-89)	89 (81-97)	0.133 ²
Sodyum, mEq/L	138.0 (137.0-139.0)	137.5 (137.0-138.0)	0.417 ²
Potasyum, mEq/L	4.53 ± 0.35	4.52 ± 0.37	0.905 ⁴
TSH, mU/L	2.48 (1.94-3.17)	2.69 (1.59-3.82)	0.487 ²
Serbest T₄, pg/mL	14.26 (13.46-15.45)	14.73 (13.86-16.06)	0.470 ²

¹Ortanca (25.-75. çeyrekler); n(%); Ortalama ± ss

²Mann-Whitney U testi

³Pearson Ki-kare testi

⁴Bağımsız gruplarda t-testi

⁵Fisher'in kesin testi

⁶Welch t-testi

Tablo 6’de B₁₂ düzeyi düşük (< 300 ng/L) ve normal (≥ 300 ng/L) olan hastaların özellikleri karşılaştırılmıştır. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların yaş ortancası 12 (8-24) ay, normal olan hastaların 15 (11-24) aydı ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.275). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 15 (%58) vaka kadın, 11 (%42) vaka erkek iken, normal olan 13 (%50) vaka kadın, 13 (%50) erkekti ve iki grup arasında cinsiyet dağılımı açısından fark anlamlı değildi (p=0.578).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların ağırlık persentili ortalaması 39 ± 30, normal olan hastaların 48 ± 24 idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.216). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 6 (%23) vakanın ağırlık persentili düşük, 19 (%73) vakanın normal, 1 (%3.8) vakanın yüksek iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 1 (%3.8) vakanın ağırlık persentili düşük, 24 (%92) vakanın normal, 1 (%3.8) vakanın yüksekti ve iki grup arasında gebelik yaşına göre doğum ağırlığı dağılımı açısından fark anlamlı değildi (p=0.099). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların boy persentili ortalaması 51 ± 26, normal olan hastaların 59 ± 26 idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.287). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 2 (%7.7) vakanın boy persentili düşük, 21 (%81) vakanın normal, 3 (%12) vakanın yüksek iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 2 (%7.7) vakanın boy persentili düşük, 20 (%77) vakanın normal, 4 (%15) vakanın yüksekti ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p>0.999).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların hemoglobin ortalaması 10.97 ± 1.25 g/dL, normal olan hastaların 11.42 ± 1.29 g/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.212). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 10 (%38) vakanın hemoglobini düşük (<11 g/dL), 16 (%62) vakanın normal (≥11 g/dL) iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 9 (%35) vakanın hemoglobini düşük, 17 (%65) vakanın normaldi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.773). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların hematokrit ortalaması 33.5 ± 3.0, normal olan hastaların %34.1 ± 3.0 idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.460). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 9 (%35) vakanın hematokriti (<%33) düşük, 17 (%65) vakanın normal (≥%33) iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 10 (%38) vakanın hematokriti düşük, 16 (%62) vakanın normaldi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.773). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların MCV ortancası 77 (75-80) fL, normal olan hastaların 76 (74-78) fL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.385). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların WBC ortalaması 9.23 ± 2.86 10³/μL, normal olan hastaların 8.98 ± 1.99 10³/μL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.712).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların ferritin ortancası 16 (10-30) ng/mL, normal olan hastaların 21 (15-31) ng/mL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.143). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 18 (%69) vakanın ferritini düşük (<30 ng/mL), 8 (%31) vakanın normal (≥30 ng/mL) iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 19 (%73) vakanın ferritini düşük, 7 (%27) vakanın normaldi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.760). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların demir ortancası 38 (25-54) mg/dL, normal olan hastaların 52 (28-82) mg/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.276). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 10 (%38) vakanın demiri düşük (<30 mg/dL), 16 (%62) vakanın normal (≥30 mg/dL) iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan 8 (%31) vakanın demiri düşük, 18 (%69) vakanın normaldi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.560).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların albumin ortalaması 4.25 ± 0.23 g/dL, normal olan hastaların 4.42 ± 0.30 g/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlıydı (p=0.029). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların üre ortalaması 19.1 ± 6.1 mg/dL, normal olan hastaların 20.2 ± 7.9 mg/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.560). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların kreatinin ortalaması 0.27 ± 0.05 mg/dL, normal olan hastaların 0.32 ± 0.06 mg/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlıydı (p=0.007).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların AST ortancası 38 (28-44) IU/L, normal olan hastaların 42 (34-51) IU/L idi ve iki grup arasında fark anlamlıydı (p=0.045). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların ALT ortancası 18 (13-22) IU/L, normal olan hastaların 21 (17-24) IU/L idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.119).

B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların glukoz ortancası 84 (78-89) mg/dL, normal olan hastaların 89 (81-97) mg/dL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.133). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların sodyum ortancası 138.0 (137.0-139.0) mEq/L, normal olan hastaların 137.5 (137.0-138.0) mEq/L idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.417). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların potasyum ortalaması 4.53 ± 0.35 mEq/L, normal olan hastaların 4.52 ± 0.37 mEq/L idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.905). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların TSH ortancası 2.48 (1.94-3.17) mU/L, normal olan hastaların 2.69 (1.59-3.82) mU/L idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.487). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların serbest T₄ ortancası 14.26 (13.46-15.45) ng/mL, normal olan

hastaların 14.73 (13.86-16.06) ng/mL idi ve iki grup arasında fark anlamlı değildi (p=0.470).

Tablo 7’te B₁₂ düzeyi düşük (<300 ng/L) ve normal (≥300 ng/L) olan hastaların neudesin ve BDNF düzeyleri karşılaştırılmıştır. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların neudesin ortalaması 5.78 ± 2.87 ng/mL, ortancası 5.35 (3.24-8.24) ng/mL iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan hastaların neudesin ortalaması 5.42 ± 2.05 ng/mL, ortancası 4.79 (3.96-6.77) ng/mL idi ve aradaki fark anlamlı değildi (p=0.604). B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların BDNF ortalaması 8.8 ± 5.7 ng/mL, ortancası 7.1 (4.3-13.2) ng/mL iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan hastaların BDNF ortalaması 7.3 ± 3.9 ng/mL, ortancası 6.2 (4.5-10.2) ng/mL idi ve aradaki fark anlamlı değildi (p=0.266).

Tablo 7: B₁₂ Vitamini Düzeyi Düşük (<300 ng/L) ve Normal (≥300 ng/L) Olan Hastaların Özelliklerinin Kıyaslanması.

Özellikler	B ₁₂ Vitamini		p-değeri
	Düşük, N = 26	Normal, N = 26	
Neudesin, ng/mL			0.604 ¹
Ortalama ± ss	5.78 ± 2.87	5.42 ± 2.05	
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	5.35 (3.24-8.24)	4.79 (3.96-6.77)	
BDNF, ng/mL			0.266 ²
Ortalama ± ss	8.8 ± 5.7	7.3 ± 3.9	
Ortanca (25.-75. çeyrekler)	7.1 (4.3-13.2)	6.2 (4.5-10.2)	

¹Welch t-testi

²Bağımsız gruplarda t-testi

Tablo 8: Tüm Hastalar, B₁₂ Düzeyi Düşük ve Normal Hastalarda Neudesin ve BDNF Değerlerinin Laboratuvar ve Antropometrik Değerlerle İlişkisi.

Parametreler	Tüm hastalar		Düşük		Normal	
	Neudesin	BDNF	Neudesin	BDNF	Neudesin	BDNF
Yaş	-0.27	-0.41*	-0.3	-0.52*	-0.16	-0.14
Ağırlık persentili	0.12	0.12	0.29	0.41*	-0.1	-0.21
Boy persentili	0.24	0.21	0.3	0.29	0.16	0.19
Hemoglobin	-0.032	-0.2	0.017	-0.2	-0.16	-0.16
Hematokrit	-0.11	-0.29*	-0.054	-0.26	-0.28	-0.3
MCV	0.28*	0.14	0.21	0.023	0.35	0.27
WBC	-0.2	-0.081	-0.31	-0.002	-0.13	-0.27
Ferritin	0.24	0.15	0.3	0.071	0.14	0.26
Demir	-0.016	-0.23	0.064	-0.28	-0.075	-0.086
Albumin	-0.054	0.16	0.002	0.32	-0.11	0.071
Üre	-0.065	-0.25	-0.11	-0.42*	0.01	-0.029
Kreatinin	-0.017	-0.081	0.045	-0.11	0.025	0.1
AST	0.29*	0.29*	0.26	0.22	0.4*	0.49*
ALT	0.39*	0.29*	0.44*	0.27	0.35	0.33
Glukoz	0.1	0.12	0.33	0.35	-0.23	-0.12
Sodyum	-0.017	-0.12	0.12	-0.075	-0.21	-0.3
Potasyum	0.1	0.16	0.044	0.042	0.28	0.32
TSH	0.11	0.14	-0.018	-0.014	0.31	0.4*
Serbest T4	-0.48**	-0.36*	-0.73**	-0.59*	-0.18	-0.1
Vitamin B₁₂	-0.11	-0.15	-0.2	-0.071	-0.17	-0.24

Spearman Korelasyon (<0.25 çok zayıf ilişki; 0.26-0.49 zayıf ilişki; 0.50-0.69 orta ilişki; 0.70-0.89 yüksek ilişki; 0.90-1.0 çok yüksek ilişki)

*p<0.05

**p<0.001

Tablo 8’te neudesin ve BDNF düzeylerinin sayısal parametreler ile korelasyonu tüm hastalar, düşük B₁₂ vitamini düzeyi (<300 ng/L) olan hastalar ve normal B₁₂ vitamini düzeyi (≥300 ng/L) olan hastalar için değerlendirildi. Tüm hastalar için değerlendirildiğinde; yaş ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon (r=-0.41, p<0.05), hematokrit ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon (r=-0.29, p<0.05), MCV ile neudesin arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.28, p<0.05), AST ile neudesin arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.29, p<0.05), AST ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.29, p<0.05), ALT ile neudesin arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.39, p<0.05), ALT ile BDNF arasında

pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.29$, $p<0.05$), serbest T₄ ile neudesin arasında negatif yönlü zayıf korelasyon ($r=-0.48$, $p<0.001$), serbest T₄ ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon ($r=-0.36$, $p<0.05$) tespit edildi.

Düşük B₁₂ vitamini düzeyi olan hastalar için değerlendirildiğinde; yaş ile BDNF arasında negatif yönlü orta seviyede korelasyon ($r=-0.52$, $p<0.05$), ağırlık persentili ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.41$, $p<0.05$), üre ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon ($r=-0.42$, $p<0.05$), ALT ile neudesin arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.44$, $p<0.05$), serbest T₄ ile neudesin arasında negatif yönlü yüksek korelasyon ($r=-0.73$, $p<0.001$), serbest T₄ ile BDNF arasında negatif yönlü orta derecede korelasyon ($r=-0.59$, $p<0.05$) tespit edildi. Normal B₁₂ vitamini düzeyi olan hastalar için değerlendirildiğinde: AST ile neudesin arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.40$, $p<0.05$), AST ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.49$, $p<0.05$), TSH ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon ($r=0.40$, $p<0.05$) tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmaya 26 hastanın vitamin B₁₂ düzeyi düşük (<300 ng/L) ve 26 hastanın vitamin B₁₂ düzeyi normal (≥300 ng/L) olacak şekilde 6 ay – 3 yaş arası 52 hasta dahil edildi. Her iki grup arasında antropometrik özellikleriyle birlikte tam kan sayımı, bazı biyokimyasal parametreler ve serum neudesin ve BDNF düzeylerinin karşılaştırması yapıldı.

B₁₂ vitamini, merkezi sinir sistemi başta olmak üzere vücuttaki çeşitli sistemleri etkileyen temel vitaminlerden biridir. B₁₂ vitamini sinir sisteminin metabolizmasında önemli bir rol oynar, ancak patolojik durumlardaki rolü tam olarak anlaşılamamıştır [64]. Adenosilkobalamin ve metilkobalamin vitamin B₁₂'nin aktif iki formudur ve miyelin oluşumunu etkileyebilen iki enzimatik reaksiyonda yardımcı faktörlerdir. Vitamin B₁₂'nin kofaktör olduğu bu enzimatik reaksiyonlar sinir sisteminin birçok bölümünde çok önemli olduğundan, eksikliği çok çeşitli nörolojik tablolara yol açar. İritabilite, apati, gelişme geriliği, ataksi, parestezi, hiporefleksi, hipotoni, tremor, nöbetler, kazanılmış motor yeteneklerin kaybı gibi nörolojik belirti ve bulgular görülebilir. Vitamin B₁₂'nin neden olduğu nöropati şiddetli ve geri dönüşümsüz olabilir [100]. Vitamin B₁₂ eksikliği ciddi nörolojik bulgulara neden olduğu için erken tanı ve tedavisi önemlidir. Demir ve arkadaşlarının 2013 yılında 41 ağır vitamin B₁₂ eksikliğine sahip (Vitamin B₁₂< 100 pg/mL) 6-18 ay arası çocukla yaptığı çalışmada tedavi öncesi hastalarda büyüme geriliği, ciltte hiperpigmentasyon, kusma, ishal, konvülsiyon, güçsüzlük, iritabilite ve tremor saptanmış ve tedavi sonrası tüm hastalarda iyileşme görülmüştür [17].

Çocuklarda B₁₂ vitamini eksikliği erişkinlere göre daha nadir görülür. Gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere oranla daha sık görülmesine rağmen günümüzde beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerden dolayı gelişmiş ülkelerdeki çocuklarda da görülme sıklığı artmıştır. Guatemala'da 2021 yılında 6-59 ay aralığında olan 1246 çocuk ile yapılan bir çalışmada vitamin B₁₂ eksikliği (Vitamin B₁₂ <148 pmol/L) %22,5, sınırda vitamin B₁₂ eksikliği (Vitamin B₁₂: 148-221 pmol/L) %27,5 saptanmıştır [101]. 2016 yılında Nepal'de 6-23 ay arası 2640 çocuk vitamin B₁₂ eksikliği açısından incelenmiş ve %30,2 oranında vitamin B₁₂ eksikliği (Vitamin B₁₂ <150 pmol/L) tespit edilmiştir [102]. Ülkemizde de vitamin B₁₂ eksikliği prevelansı

için yapılan çalışmalar mevcuttur. Öncel ve arkadaşlarının Diyarbakır'da 12-22 yaş arası 889 çocuk ile yaptığı araştırmada B₁₂ vitamin düzeyleri çocukların %2,2'sinde yetersiz (Vitamin B₁₂ < 200 pg/mL), %14,4'ünde sınırda (Vitamin B₁₂: 200-240 pg/mL) bulunmuştur [103]. Ankara'da 2013-2015 tarihleri arasında herhangi bir nedenden dolayı kan alınması gereken 12-17 yaş arası 515 adolesan ile yapılan çalışmada vitamin B₁₂ eksikliği prevalansı (Vitamin B₁₂<200 pg/mL) %28,9 olarak bulunmuştur [104]. Tüm bu çalışmalar vitamin B₁₂ eksikliğinin yaygın görülen bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir.

Vitamin B₁₂ eksikliği etiyojisi arasında yetersiz alım, anormal emilim, antikor aracılı intrinsik faktör eksikliği ve doğuştan gelen taşıma ve metabolizma hataları yer alır. Bebeklerde B₁₂ eksikliği çoğunlukla anne sütündeki düşük kobalamin seviyesinden kaynaklanırken çocukluk veya ergenlik döneminde diyetsel eksiklik görülür. Koç ve arkadaşları Şanlıurfa'da 180 gebe kadın ile yaptıkları çalışmada anne serumu ve bebek kord kanı vitamin B₁₂ düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptamıştır [105]. Infantlar, çocuklar ve adolesanlar da B₁₂ içeren hayvansal kaynaklı gıdaların diyetle alımının kısıtlandığı popülasyonlarda yüksek eksiklik riski altındadır [11].

B₁₂ vitamini, hücrel bölünme ve büyüme için gereklidir ve eksikliğinde veya uzamış, sınırda eksikliklerinde çocuklarda fiziksel büyüme gelişme üzerine olumsuz etkileri olabilir. Demir ve arkadaşlarının ağır vitamin B₁₂ eksikliğine sahip (Vitamin B₁₂<100 pg/mL). 41 çocukla yaptığı çalışmada en sık görülen semptom büyüme geriliği olarak saptanmıştır [17]. Zengin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada maternal vitamin B₁₂ eksikliği ve aynı zamanda laboratuvar olarak kanıtlanmış vitamin B₁₂ eksikliği olan 28 infant incelenmiştir. %63 hastada büyüme gelişme geriliği, %59,3 hastada motor retardasyon, %66,7 hastada hipotoni olduğu ve vitamin B₁₂ tedavisi sonrası hastaların motor ve mental gelişme gösterdikleri saptanmıştır [106]. Biz çalışmamızda büyüme gelişme geriliğini incelemek için vitamin B₁₂ eksikliği olan ve olmayan iki grup arasında ağırlık ve boy persentillerini karşılaştırdık. Her iki grup arasında ağırlık ve boy persentili ortalaması karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı. Düşük B₁₂ vitamini düzeyi olan hastalar için değerlendirildiğinde ağırlık persentili ile BDNF arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon (r=0.41, p<0.05) saptandı. Vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı tam kan sayımında anemi ve makrositik bulgular görülür. Çalışmamızda vitamin B₁₂ eksikliği olan hastaların %38'i anemikti. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların MCV ortancası 77 (75-80) fL, normal olan hastaların 76 (74-78) fL idi ve iki grup

arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Andres ve arkadaşlarının 201 vitamin B₁₂ eksikliğine sahip hastayla yaptığı çalışmada %37 hastada anemi ve %54 hastada makrositoz saptanmıştır [107]. Ancak vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı gelişen anemide MCV her zaman yol gösterici değildir. Megaloblastik anemiyle birlikte talasemi taşıyıcılığı, demir eksikliği anemisi, infeksiyon veya inflamatuvar bir hastalık bulunması halinde MCV artmayabilir. Lindenbaum ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vitamin B₁₂ eksikliği olan 141 çocuktan 40'ında (%28) MCV değerini normal saptanmıştır [108]. Literatürle farklı olarak bizim çalışmamızda da vitamin B₁₂ düzeyi ile MCV arasında anlamlı bir korelasyon yoktu. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan 18 (%69) vakanın ferritini de düşük saptandı. Vitamin B₁₂ eksikliğine demir eksikliğinin eşlik etmesi nedeniyle MCV değerinde yeterli artış saptanmadığı düşünüldü.

Nörotrofik faktörler hem merkezi hem de periferik sinir sisteminde nöronların hayatta kalmasını, gelişmesini ve fizyolojik fonksiyonlarını düzenleyen salgılanan proteinlerdir. Bu faktörler normal nöronal aktivite için gerekli olduğu gibi aynı zamanda nöronal yaralanma ve nörodejenerasyonda da rol oynarlar [109]. Neudesin sitokrom 5 benzeri hem/ steroid bağlanma alanına sahip 172 amino asitten oluşan MAPR ailesine ait nörotrofik aktiviteye sahip benzersiz bir salgılanmış proteindir [21]. BDNF nörotrofin ailesine ait nöron ve glial hücrelerin gelişiminin kontrolünü sağlayan nöroproteksiyonda fonksiyonu olan sinaptik etkileşimleri düzenleyen bir nörotrofindir [22]. Yapılan çalışmalar nörotrofik faktörlerin nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını uyararak bunların çeşitli hastalıklarda (nörodejeneratif hastalıklar) tedavi seçeneği olarak kullanılmasını önermektedir [110]. Lin ve arkadaşları 2013'te yaptıkları bir çalışmada Alzheimer hastalığının tedavisinde nörotrofinlerin etkili bir tedavi seçeneği olduğunu göstermişlerdir [111]. Alzheimer ve Parkinson hastalığı olan hastalarda 1990'larda İsveçli bilim adamları tarafından çeşitli klinik deneyler yapılmıştır. Sonuçlarında nörotrofik faktör olan NGF'nin uygulamasından sonra kortikal kan akışında artış, yavaş dalga EEG aktivitesinde progresif azalma ve sözel epizodik bellek testlerinde gelişme gibi kısmi yararlı etkiler gösterilmiştir [112]. Yine yapılan bazı çalışmalar sonucunda depresyon gibi mental bozuklukların, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların ve bazı beyin tümörlerinin (glioblastom) patofizyolojisinde BDNF sinyalinin katkısı bulunmuştur [113]. BDNF ve neudesin gibi nörotrofik faktörler birçok nörofizyolojik sürece dahil olmaktadır ve birçok terapötik strateji için potansiyel ajanlardır.

BDNF, merkezi sinir sistemi (CNS) ve nöronların hayatta kalması, farklılaşması ve büyümesinde kritik rolleri olan bir tür nörotrofindir. Yapılan çalışmalarda yüksek BDNF seviyelerinin daha iyi bilişsel performans ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir. 2021 yılında Esnafoğlu ve Adıgüzel'in yaptığı bir çalışmada 33 sendromik olmayan zeka geriliğine sahip hasta ile normal gelişim gösteren 30 çocuk karşılaştırılmıştır ve hasta grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BDNF düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur [114]. Dinç ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada spesifik öğrenme bozukluğu tanısı almış 7-12 yaş arası 30 çocuk ile yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş 30 sağlıklı çocuğun serum BDNF düzeyleri karşılaştırılmış. Çalışmada çocuklar Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi, Wechsler Çocuklar İçin Zekâ Ölçeği (WISC-R), Öğretmen Bilgi Formu ve Özgül Öğrenme Bozukluğu Klinik Gözlem Bataryası testleri ile test edilip sınıflandırılmıştır. Spesifik öğrenme bozukluğu ile serum BDNF düzeyleri arasında bir ilişki saptanmamıştır [115]. Hansen ve arkadaşları BDNF'nin egzersiz ve beslenme kaynaklı nöral plastisitenin bir aracısı olduğunu göstermek amacıyla nöromusküler eksiklikler ve hareket bozukluğu, düşük fiziksel aktivite seviyeleri ve kötü beslenme durumlarına neden olan Serebral Palsi tanılı hastalar ile çalışmışlardır. Bu çalışmada 31 hafif Serebral Palsili, 14 ağır Serebral Palsili ve 22 sağlıklı çocuğu incelemişlerdir. Ağır Serebral Palsili çocuklarda azalmış plazma BDNF konsantrasyonları gözlemlemişlerdir. Bu da BDNF'nin optimal nöral büyüme ve plastisite için önemli olabileceğini göstermektedir [116].

Vitamin B₁₂'nin de bilişsel fonksiyonlara katkı sağladığı bilinmektedir. Literatürde vitamin B₁₂'nin BDNF ekspresyonunu arttırdığı ve nörokognitif fonksiyonlarda iyileşme sağladığını gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Akbari ve arkadaşları 2023 yılında vitamin B₁₂ ile tedavinin farelerde etanolün neden olduğu komplikasyonları davranışsal ve biyokimyasal yöntemlerle önleyip önleyemeyeceğini araştırmıştır. Farklı fare grupları, etanol, etanol+vitamin B₁₂, tek başına vitamin B₁₂ almış ve ardından öğrenme ve hafıza işlevleri, Morris su labirenti (MWM) ve Pasif Kaçınma (PA) testleri ile değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, etanol alımının oksidatif stresi şiddetlendirerek öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını bozduğunu ve vitamin B₁₂ tedavisinin MSS'de oksidan/antioksidan dengesini yeniden kurarak bu komplikasyonları iyileştirdiğini göstermiştir. Ayrıca, vitamin B₁₂'nin etanol kaynaklı BDNF azalmasını önlediğini bulmuşlardır [117].

Li ve arkadaşları serebral palsili sıçanlarda vitamin B₁ ve vitamin B₁₂ tedavisi verilmesinin motor ve hafıza fonksiyonlarını iyileştirdiğini ve nöron hasarını iyileştirdiğini göstermişlerdir. B₁ ve B₁₂ vitaminlerinin, MALAT1/miR-1 yolu yoluyla BDNF ekspresyonunu arttırdığını ve nöron apoptozunu baskıladığını bulmuşlardır [118].

Rathod ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada B₁₂ vitamini ve omega-3 yağ asidi takviyesinin beyin nörotrofinleri ve biliş üzerindeki yararlı etkilerini göstermişlerdir. Çalışmalarında sıçanları yetersiz vitamin B₁₂ diyeti, omega-3 yağ asidi verilmiş yetersiz B₁₂ diyeti, vitamin B₁₂ ile desteklenmiş diyet ve omega-3 yağ asidi+vitamin B₁₂ ile desteklenmiş diyet olacak şekilde dört farklı diyet grubuna ayırmışlardır. Yetersiz B₁₂ diyeti alan grupta beyin korteksinde daha düşük NGF düzeyleri saptamışlardır. BDNF düzeylerini kortekste yetersiz B₁₂ diyeti alan grupta anlamlı düşük saptamamış olsalar da B₁₂ vitamini takviyesinin hipokampusta BDNF seviyelerini arttırdığını göstermişlerdir [119].

Yapılan bu araştırmalar ışığında biz de çalışmamızda vitamin B₁₂ eksikliği olan nöron gelişiminin en hızlı olduğu 6 ay-3 yaş arası çocuklarda serum BDNF düzeylerini inceledik. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların BDNF ortalaması 8.8 ± 5.7 ng/mL iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan hastaların BDNF ortalaması 7.3 ± 3.9 ng/mL saptandı ve aradaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.266$).

Çalışmamızda tüm hastalar için değerlendirildiğinde yaş ile BDNF arasında negatif yönlü zayıf korelasyon ($r=-0.41$, $p<0.05$), vitamin B₁₂ eksikliği olan hastalar kendi içinde değerlendirildiğinde yaş ile BDNF arasında negatif yönlü orta seviyede korelasyon ($r=-0.52$, $p<0.05$) saptanmıştır. Robinson-Agramonte ve arkadaşları 5-15 yaş arası hafif ile orta dereceli Otistik Spektrum Bozukluğu olan çocuklarla sağlıklı çocukları karşılaştırarak serum BDNF, proBDNF ve IGF-1 immünoreaktif proteinlerini ölçmüşlerdir. Bu araştırmada kontrol grubu (sağlıklı çocuklar) kendi içerisinde karşılaştırıldığında serum BDNF düzeyi ile yaş arasında negatif yönlü korelasyon ($r_s = -0.436$, $p = 0.018$, $n = 29$), serum proBDNF düzeyi ile yaş arasında pozitif yönlü korelasyon (Spearman's correlation $r_s = 0.516$, $p = 0.005$, $n = 28$) saptamışlardır

Neudesin nöronal farklılaşma ve hayatta kalmayı sağlayan merkezi sinir sisteminde bol miktarda eksprese edilen bir diğer nörotrofik faktördür. Birçok çalışmada neudesinin nöronal gelişim için kritik bir faktör olduğu gösterilmiştir. Literatürde vitamin B₁₂ ile neudesin ilişkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak

neudesinin nöronlar üzerindeki etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır [120]. Neudesin ilk olarak Kimura ve arkadaşları tarafından 2005 yılında başlıca santral sinir sisteminden salgılanan ve nörotrofik aktiviteye sahip yeni bir molekül olarak tanımlanmıştır [21]. Byerly ve arkadaşları 2013 yılında neudesini nöron türevli nörotrofik faktör (NENF) ve aday onkojen GIG47 olarak da adlandırmışlardır [82]. Neudesin nörotrofik aktivitesini mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K) yollarını aktive ederek göstermektedir. Bu yollar üzerinde bölünen nöral prekürsör hücrelerinin proliferasyonunu artırmaktadır [20, 21].

Kimura ve arkadaşları 2006 yılında fare embriyonik serebral korteksinde ve kültürlenmiş fare nöral öncü hücrelerinde neudesin ekspresyonunu ve bunun nöral gelişimdeki rollerini incelemiştir. Neudesinin gelişimin erken dönemlerinde embriyonik serebral kortekste eksprese edildiğini ve ekspresyonu çoğunlukla postmitotik nöral hücrelerin bulunduğu ön plakada olduğunu gözlemlemişlerdir. Fare nöral öncü hücrelerinde nöral hücre proliferasyonunu ve nöronal farklılaşmayı teşvik etmektedir. Mevcut bulgularla nöral hücre proliferasyonu ve nöronal farklılaşmada neudesinin yeni potansiyel rollerini ortaya çıkarmışlardır [20]. Novais ve arkadaşları 2013 yılında neudesin-null farelerin kapsamlı bir davranışsal karakterizasyonunu (motor, duygusal ve bilişsel boyutlar) belirlemişlerdir. Neudesin yokluğunun yapılan çeşitli testlerle değerlendirildiğinde farelerde anksiyöz benzeri bir davranışa yol açtığı gösterilmiştir [121].

Çalışmamızda vitamin B₁₂ eksikliği olan çocuklarda neudesin düzeyinde değişiklik olup olmayacağını inceledik. B₁₂ vitamini düzeyi düşük olan hastaların neudesin ortalaması 5.78 ± 2.87 ng/mL, iken, B₁₂ vitamini düzeyi normal olan hastaların neudesin ortalaması 5.42 ± 2.05 ng/mL idi ve aralarında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.604$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde neudesin ve BDNF ile yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Çalışmamız vitamin B₁₂ ile neudesin ve BDNF ilişkisi üzerine yapılan ilk çalışmadır. Bu çalışmamızda B₁₂ eksikliği olan çocuklar ile B₁₂ düzeyi normal olan çocuklar arasındaki neudesin ve BDNF düzeylerini karşılaştırdık.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular vitamin B₁₂ eksikliğinin serum neudesin ve BDNF düzeylerini önemli ölçüde etkilemediğini ve kontrollerden farklı olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte yaş arttıkça BDNF düzeyinin düştüğü saptanmıştır.

Nörotrofinlerin fizyolojik rolleri ve terapötik strateji için potansiyel ajan olmaları nedeni ile klinik uygulamalarda daha yoğun çalışmalar gerektirmektedir. Çalışmamız bu anlamda daha geniş katımlı yeni çalışmalar açısından yol gösterici olacaktır.

7. EKLER

Ek-1: Etik kurul karar belgesi

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı/Tarih ve Sayı: 17.01.2023-E.92992

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	6 Ay – 3 Yaş Arası Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Serum Neudesin ve BDNF Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Topkapı Mahallesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi) 34093 Fatih/İstanbul
	TELEFON	(0212) 523 22 88 – 3238 – 3538
	FAKS	(0212) 533 23 26
	E-POSTA	etikkurul@bezmialem.edu.tr

BAŐYURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Emel TORUN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Dığer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEğERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Dığer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Dığer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Dığer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŐÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Dığer <input type="checkbox"/>

Sayfa 1 / 3

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMAN

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.Evrak sorgulaması
<https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&eD=BSU4H774Z4&eS=92992> adresinden yapılabilir.

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	6 Ay – 3 Yaş Arası Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Serum Neudesin ve BDNF Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	01.12.2019 tarihli, 05.01.2023 imza tarihli
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	<p>Klinik Araştırma Başvuru Formu (01.12.2019)</p> <p>- Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacılara ait özgeçmiş formları</p> <p>- Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU' ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname</p> <p>- Araştırma ile ilgili yayınlar</p>
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 01/2	Tarih: 11.01.2023	
	<p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler; araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.</p> <p>İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.</p>		

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	6 Ay – 3 Yaş Arası Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Serum Neudesin ve BDNF Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU								
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu						
BAŐKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Özcan KARAMAN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *	İmza
Prof. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Selahattin TUĞRUL	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Alper YENİGÜN	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ali Akçahan GEPDİREMEN	Tıbbi Farmakoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Atilla AKDEMİR	Farmakoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Emel TORUN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ahmet ÖZAYDIN	Tıbbi Genetik	İstanbul Üniversitesi-CerrahpaŐa CerrahpaŐa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Meltem BAKKAL	Pedodonti	Bezmialem Vakıf Üniversitesi DiŐ Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gözde ERKANLI ŐENTÜRK	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Üniversitesi-CerrahpaŐa CerrahpaŐa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Ebru HACIOSMANOĞLU	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Özge PASIN	Biyostatistik ve Tıp BiliŐimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Avukat Őevkiye KARAHAN	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Muhammet Ali ERDOĞAN	Sağlık Meslek Mensubu Olmayan Üye	-	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Karar: Onaylandı Reddedildi

Sayfa 3 / 3

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMANBu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.Evrak sorgulaması
<https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&eD=BSU4H774Z4&eS=92992> adresinden yapılabilir.

Ek-2: Bilimsel araştırma projesi onay belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 12.04.2023-103745



T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Teknoloji Transfer Ofisi
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

Sayı : E-18245212-108.99-103745
Konu : BAP Değerlendirme/ 20230215-Prof. Dr.
Emel Torun

12.04.2023

Sayın Prof.Dr. Emel TORUN
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

16.03.2023 tarihinde gerçekleştirilen Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Kurulu toplantısında "6 ay - 3 Yaş Arası Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Serum Neudesin ve BDNF Düzeylerinin İncelenmesi" isimli ve 20230215 numaralı projeniz değerlendirilmiş olup, desteklenmesine karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Mehmet BİLGİN
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Kurulu Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu :BSS4M4MTYP Pin Kodu :82203

Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&cD=BSS4M4MTYP&cS=103745>

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi)

Fatih/İstanbul

Telefon No:0 (212) 523 22 88 Faks No:0 (212) 533 23 26

e-Posta:info@bezmialem.edu.tr İnternet Adresi:info@bezmialem.edu.tr

Bilgi için: Buket TAN

Unvan: Sekreter



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek-3: Bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				
Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-DD-13	01.12.2019		00	1/2

BİLİMSEL ARAŞTIRMA AMAÇLI KAN ÖRNEĞİ ALINAN KİŞİLER İÇİN;

Araştırmanın adı:

6 ay - 3 Yaş Arası Vitamin B₁₂ Eksikliği Olan Çocuklarda Serum Neudesin ve BDNF Düzeylerinin İncelenmesi

Araştırmanın konusu, amacı, kullanılacak yöntem, süre ve süreç:

Çalışmamız uzmanlık tezi nedeniyle düzenlenmiştir. Çalışmamızın amacı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne rutin kontrol nedeniyle başvuran çocuklarda beyin gelişiminde önemli role sahip olan vitamin B₁₂, neudesin ve BDNF düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığının gösterilmesidir. Çalışmamızda kan tahlili alınarak alınan örneklerde neudesin ve BDNF miktarı çalışılacaktır.

Çalışmamızın 5 ay sürmesi planlanmaktadır. Çalışmaya araştırma grubu olarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne 01.01.2023/01.06.2023 tarihleri arasında başvuran 6 ay – 3 yaş arası vitamin B₁₂ eksikliği saptanan 40 çocuk ve kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş normal serum vitamin B₁₂ düzeyine sahip 40 çocuk dahil edilecektir. Bunun için normalde polikliniklerde rutin istenen testlerin yanında kan alınırken 2 tüp fazladan kan alınacaktır.

Kan alınması haricinde çalışmayla alakalı herhangi başka bir girişim planlanmamaktadır. Çalışmamız genelinde dahil olacak gönüllüler için herhangi bir risk bulunmamaktadır. Dolayısıyla bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırmaya katılım gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmadan ayrılmanız veya araştırmayı yürütenler tarafından herhangi bir aşamada çalışmadan çıkarılmanız, tedavinizin seyrini ve takibinizi etkilemeyecektir.

Araştırmamız yalnızca bilimsel araştırma olup bu aşamada gönüllünün doğrudan yarar görmesi ya da tedavi seyrinin değişmesi beklenmemektedir.

Kan alma işlemi sırasında acı-ğrı duyma, nadiren bayılma, morarma, nadiren iğnenin giriş yerinde enfeksiyon, pıhtılaşma veya kanamanın uzaması olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızca alınacaktır. Kan alma işlemi sonrasında istenmeyen durumlarda Dr. Serpil Meriç'e ulaşabilirsiniz.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilir ya da herhangi bir aşamada vazgeçebilirsiniz. Bu talebiniz/kararınız gelecekteki takip ve tedaviniz üzerinde olumsuz bir etkisi olmayacaktır.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				
Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-DD-13	01.12.2019		00	2/2

BİLİMSEL ARAŞTIRMA AMAÇLI KAN ÖRNEĞİ ALINAN KİŞİLER İÇİN;

Gönüllü onamı:

A. Benden alınan kan örneğinin yukarıda belirtilen bilimsel çalışmada kullanılmasını

Kabul ediyorum

Kabul etmiyorum

B. Yukarıda adı belirtilen çalışma ve örneklemin kullanıldığı diğer çalışmalarda tespit edilen benimle ilgili bulguları öğrenmek

İstiyorum

İstemiyorum

Yukarıdaki bilgileri ilgili araştırmacı ile ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesinin okudum ve anladım. Bu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Araştırmacı, saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

(Bu belge 2 sayfadan oluşmaktadır)

NOT:

Çocuklar için bu belge velisi veya vasisi tarafından doldurulacaktır. Kararınızdan önce bilgileriniz lütfen okuyunuz.

Formu Okuyup İmzalayan Kişinin;

Adı Ve Soyadı:

Hastaya Yakınlık Derecesi:

İletişim bilgileri:

Tarih:

İmza

Görüşme tanığı;

Adı ve Soyadı:

Tarih:

İmza:

Bilgilendiren Kişinin;

Adı ve Soyadı: Dr. Serpil Meriç

Telefon:

Tarih:

İmza:

8. KAYNAKLAR

1. Green, R., *Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist*. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 2017. **129**(19): p. 2603-2611.
2. Froese, D.S., B. Fowler, and M.R. Baumgartner, *Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle—biochemistry, pathways, and regulation*. Journal of inherited metabolic disease, 2019. **42**(4): p. 673-685.
3. Cunha, C., R. Brambilla, and K.L. Thomas, *A simple role for BDNF in learning and memory?* Front Mol Neurosci, 2010. **3**: p. 1.
4. Ohta, H., et al., *Neudesin as a unique secreted protein with multi-functional roles in neural functions, energy metabolism, and tumorigenesis*. Front Mol Biosci, 2015. **2**: p. 24.
5. Sezgin, Y., *Vitamin B12 Yetersizliğine Yaklaşım*. Konuralp Medical Journal, 2019. **11**(3): p. 482-488.
6. Langan, R.C. and A.J. Goodbred, *Vitamin B12 deficiency: recognition and management*. American family physician, 2017. **96**(6): p. 384-389.
7. KOÇI, E.N. and Z.G. KONUŞKAN, *B12 VİTAMİNİ: KAYNAKLARI, METABOLİZMASI VE EKSİKLİĞİ*. Sağlık & Bilim 2022: Medikal Araştırmalar-1: p. 145.
8. Murray, R.K., et al., *Harper's illustrated biochemistry*. 2003.
9. Kliegman, R.M., et al., *Nelson Textbook of Pediatrics*. Megaloblastic anemias, ed. R.E. Behrman. Vol. 20. 2016.
10. Whitehead, V., D. Rosenblatt, and B. Cooper, *Megaloblastic anemia*. Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998: p. 385-422.
11. Green, R., et al., *Vitamin B12 deficiency*. Nature reviews Disease primers, 2017. **3**(1): p. 1-20.
12. Schneider, Z. and A. Stroiński, *Chemistry of cobalamin and related compounds*. Comprehensive B12, 1987: p. 17-86.
13. O'Leary, F. and S. Samman, *Vitamin B12 in health and disease*. Nutrients, 2010. **2**(3): p. 299-316.
14. Wintrobe, M., et al., *Nutritional factors in the production and function of erythrocytes*, in *Clinical hematology*. 1981, Lea & Febiger, Philadelphia, PA USA. p. 136-170.
15. Rosenberg, L.E., *The inherited methylmalonic acidemias*. Progress in clinical and biological research, 1982. **103**: p. 187-209.
16. Stabler, S.P., *Vitamin B12 deficiency*. New England Journal of Medicine, 2013. **368**(2): p. 149-160.
17. Demir, N., et al., *Clinical and neurological findings of severe vitamin B12 deficiency in infancy and importance of early diagnosis and treatment*. Journal of paediatrics and child health, 2013. **49**(10): p. 820-824.
18. Kimura, I., et al., *Neurotrophic effects of neudesin in the central nervous system*. Frontiers in neuroscience, 2013. **7**: p. 111.
19. Johe, K.K., et al., *Single factors direct the differentiation of stem cells from the fetal and adult central nervous system*. Genes & development, 1996. **10**(24): p. 3129-3140.

20. Kimura, I., et al., *Neudesin, a secreted factor, promotes neural cell proliferation and neuronal differentiation in mouse neural precursor cells*. J Neurosci Res, 2006. **83**(8): p. 1415-24.
21. Kimura, I., et al., *Neudesin, a novel secreted protein with a unique primary structure and neurotrophic activity*. J Neurosci Res, 2005. **79**(3): p. 287-94.
22. Kowiański, P., et al., *BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity*. Cellular and molecular neurobiology, 2018. **38**: p. 579-593.
23. Carter, B.D., et al., *Selective activation of NF- κ B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75*. Science, 1996. **272**(5261): p. 542-545.
24. Soppet, D., et al., *The neurotrophic factors brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 are ligands for the trkB tyrosine kinase receptor*. Cell, 1991. **65**(5): p. 895-903.
25. Song, M., K. Martinowich, and F. Lee, *BDNF at the synapse: why location matters*. Molecular psychiatry, 2017. **22**(10): p. 1370-1375.
26. Nagahara, A.H. and M.H. Tuszynski, *Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders*. Nature reviews Drug discovery, 2011. **10**(3): p. 209-219.
27. Miranda, M., et al., *Brain-derived neurotrophic factor: a key molecule for memory in the healthy and the pathological brain*. Frontiers in cellular neuroscience, 2019: p. 363.
28. Strauss, M.B., *Vitamin B12 and pernicious anemia*. New England Journal of Medicine, 1950. **243**(5): p. 187-194.
29. Minot, G.R. and W.P. Murphy, *Treatment of pernicious anemia by a special diet*. Journal of the American Medical Association, 1926. **87**(7): p. 470-476.
30. Shils, M.E., J.A. Olson, and M. Shike, *Modern nutrition in health and disease*. 1994.
31. Stabler, S.P., *Vitamin B12*, in *Present knowledge in nutrition*. 2020, Elsevier. p. 257-271.
32. Obeid, R., S.N. Fedosov, and E. Nexo, *Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyano-and hydroxyl-cobalamin in prevention or treatment of cobalamin deficiency*. Molecular nutrition & food research, 2015. **59**(7): p. 1364-1372.
33. Brink, C., et al., *Structure of vitamin B 12: X-ray crystallographic evidence on the structure of vitamin B 12*. Nature, 1954. **174**: p. 1169-1171.
34. Smith, J. and D. Coman, *Vitamin B12 deficiency: an update for the general paediatrician*. Pediat Therapeut, 2014. **4**(188): p. 2161-0665.1000188.
35. Gille, D. and A. Schmid, *Vitamin B12 in meat and dairy products*. Nutrition reviews, 2015. **73**(2): p. 106-115.
36. Watanabe, F. and T. Bito, *Vitamin B12 sources and microbial interaction*. Experimental Biology and Medicine, 2018. **243**(2): p. 148-158.
37. Moestrup, S.K., *New insights into carrier binding and epithelial uptake of the erythropoietic nutrients cobalamin and folate*. Current opinion in hematology, 2006. **13**(3): p. 119-123.
38. He, Q., et al., *Amnionless function is required for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin (vitamin B12) absorption in vivo*. Blood, 2005. **106**(4): p. 1447-1453.
39. Andersen, C.B.F., et al., *Structural basis for receptor recognition of vitamin-B12–intrinsic factor complexes*. Nature, 2010. **464**(7287): p. 445-448.

40. Beedholm-Ebsen, R., et al., *Identification of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) as a molecular gate for cellular export of cobalamin*. *Blood*, The Journal of the American Society of Hematology, 2010. **115**(8): p. 1632-1639.
41. Chan, C.Q.H., L.L. Low, and K.H. Lee, *Oral vitamin B12 replacement for the treatment of pernicious anemia*. *Frontiers in medicine*, 2016. **3**: p. 38.
42. Zhou, S., Z. Zhang, and G. Xu, *Notable epigenetic role of hyperhomocysteinemia in atherogenesis*. *Lipids in health and disease*, 2014. **13**(1): p. 1-8.
43. Parkhitko, A.A., et al., *Methionine metabolism and methyltransferases in the regulation of aging and lifespan extension across species*. *Aging cell*, 2019. **18**(6): p. e13034.
44. Fish, J.D., J.M. Lipton, and P. Lanzkowsky, *SPEC–Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 12-Month Access, eBook*. 2021: academic press.
45. Wolffenbuttel, B., et al., *Association of vitamin B12, methylmalonic acid, and functional parameters*. *Neth J Med*, 2020. **78**(1): p. 10-24.
46. Takahashi-Iñiguez, T., et al., *Role of vitamin B 12 on methylmalonyl-CoA mutase activity*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2012. **13**: p. 423-437.
47. Koury, M.J. and P. Ponka, *New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12, and iron*. *Annu. Rev. Nutr.*, 2004. **24**: p. 105-131.
48. Tefferi, A. and R.K. Pruthi. *The biochemical basis of cobalamin deficiency*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1994. Elsevier.
49. Scott, J.M., *Folate and vitamin B12*. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1999. **58**(2): p. 441-448.
50. Friso, S., et al., *One-carbon metabolism and epigenetics*. *Molecular aspects of medicine*, 2017. **54**: p. 28-36.
51. LANZKOWSKY, P., *Manual of pediatric hematology and oncology*. 7 ed. 2022: Academic Press. 780.
52. Guéant, J.-L., et al., *Malabsorption of vitamin B12 in pancreatic insufficiency of the adult and of the child*. *Pancreas*, 1990. **5**(5): p. 559-567.
53. Carmel, R., *Gastric juice in congenital pernicious anemia contains no immunoreactive intrinsic factor molecule: study of three kindreds with variable ages at presentation, including a patient first diagnosed in adulthood*. *American Journal of Human Genetics*, 1983. **35**(1): p. 67.
54. Gräsbeck, R., *Selective cobalamin malabsorption and the cobalamin-intrinsic factor receptor*. *Acta Biochimica Polonica*, 1997. **44**(4): p. 725-733.
55. Toh, B.-H., I.R. van Driel, and P.A. Gleeson, *Pernicious anemia*. *New England Journal of Medicine*, 1997. **337**(20): p. 1441-1448.
56. Devalia, V., et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders*. *British journal of haematology*, 2014. **166**(4): p. 496-513.
57. Lee, G., *Inherited and drug-induced megaloblastic anemia*. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 1999. **10**.
58. Rosenblatt, D.S. and V.M. Whitehead. *Cobalamin and folate deficiency: acquired and hereditary disorders in children*. in *Seminars in hematology*. 1999.
59. Allen, L.H., *Vitamin B 12 metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy*. *Nutrient regulation during pregnancy, lactation, and infant growth*, 1994: p. 173-186.

60. Wickramasinghe, S.N., *I Morphology, biology and biochemistry of cobalamin- and folate-deficient bone marrow cells*. Bailliere's clinical haematology, 1995. **8**(3): p. 441-459.
61. Ross, A.C., et al., *Modern nutrition in health and disease*. 2020: Jones & Bartlett Learning.
62. Green, R. and L.J. Kinsella, *Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency*. Neurology, 1995. **45**(8): p. 1435-1440.
63. Dobrozi, S., et al., *Vitamin B12 deficiency: the great masquerader*. Pediatric Blood & Cancer, 2014. **61**(4): p. 753-755.
64. Serin, H.M. and E.A. Arslan, *Neurological symptoms of vitamin B12 deficiency: analysis of pediatric patients*. Acta Clinica Croatica, 2019. **58**(2): p. 295.
65. Troen, A.M., et al., *B-vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008. **105**(34): p. 12474-12479.
66. Monagle, P. and G. Tauro, *Infantile megaloblastosis secondary to maternal vitamin B12 deficiency*. Clinical & Laboratory Haematology, 1997. **19**(1): p. 23-25.
67. Rasmussen, S.A., P.M. Fernhoff, and K.S. Scanlon, *Vitamin B12 deficiency in children and adolescents*. The Journal of pediatrics, 2001. **138**(1): p. 10-17.
68. Carmel, R., et al., *Update on cobalamin, folate, and homocysteine*. ASH Education Program Book, 2003. **2003**(1): p. 62-81.
69. Lindenbaum, J., et al., *Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations*. American journal of hematology, 1990. **34**(2): p. 99-107.
70. Solomon, L.R., *Cobalamin-responsive disorders in the ambulatory care setting: unreliability of cobalamin, methylmalonic acid, and homocysteine testing*. Blood, 2005. **105**(3): p. 978-985.
71. von Schenck, U., C. Bender-Götze, and B. Koletzko, *Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B-12 deficiency in infancy*. Archives of disease in childhood, 1997. **77**(2): p. 137-139.
72. Dechant, G. and H. Neumann, *Neurotrophins*. Molecular and Cellular Biology of Neuroprotection in the CNS, 2002: p. 303-334.
73. Lessmann, V., K. Gottmann, and M. Malcangio, *Neurotrophin secretion: current facts and future prospects*. Progress in neurobiology, 2003. **69**(5): p. 341-374.
74. Dawbarn, D. and S. Allen, *Neurotrophins and neurodegeneration*. Neuropathology and applied neurobiology, 2003. **29**(3): p. 211-230.
75. Kimura, I., et al., *Neurotrophic activity of neudesin, a novel extracellular heme-binding protein, is dependent on the binding of heme to its cytochrome b5-like heme/steroid-binding domain*. J Biol Chem, 2008. **283**(7): p. 4323-31.
76. Ohta, H. and N. Itoh, *The membrane-associated progesterone receptor (MAPR) protein family*. Curr. Top. Biochem. Res, 2012. **14**: p. 11-16.
77. Meyer, C., et al., *Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site(s) from porcine liver membranes*. Eur J Biochem, 1996. **239**(3): p. 726-31.
78. Chen, C., et al., *Cloning, mapping and molecular characterization of porcine progesterone receptor membrane component 2 (PGRMC2) gene*. Genet Mol Biol, 2010. **33**(3): p. 471-4.

79. Intlekofer, K.A. and S.L. Petersen, *Distribution of mRNAs encoding classical progesterin receptor, progesterone membrane components 1 and 2, serpine mRNA binding protein 1, and progesterin and ADIPOQ receptor family members 7 and 8 in rat forebrain*. Neuroscience, 2011. **172**: p. 55-65.
80. Kimura, I., et al., *Neuferricin, a novel extracellular heme-binding protein, promotes neurogenesis*. J Neurochem, 2010. **112**(5): p. 1156-67.
81. Han, K.H., et al., *The functional and structural characterization of a novel oncogene GIG47 involved in the breast tumorigenesis*. BMC Cancer, 2012. **12**: p. 274.
82. Byerly, M.S., et al., *Identification of hypothalamic neuron-derived neurotrophic factor as a novel factor modulating appetite*. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2013. **304**(12): p. R1085-R1095.
83. Ohta, H., et al., *Deletion of the Neurotrophic Factor neudesin Prevents Diet-induced Obesity by Increased Sympathetic Activity*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 10049.
84. Kimura, I., et al., *Neudesin, an extracellular heme-binding protein, suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells via the MAPK cascade*. Biochemical and biophysical research communications, 2009. **381**(1): p. 75-80.
85. Stefanska, B., et al., *Genome-Wide Study of Hypomethylated and Induced Genes in Patients with Liver Cancer Unravels Novel Anticancer Targets Hypomethylated and Induced Genes as Anticancer Drug Targets*. Clinical Cancer Research, 2014. **20**(12): p. 3118-3132.
86. Mowla, S.J., et al., *Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor*. Journal of Biological Chemistry, 2001. **276**(16): p. 12660-12666.
87. Barde, Y.A., D. Edgar, and H. Thoenen, *Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain*. EMBO J, 1982. **1**(5): p. 549-53.
88. Palasz, E., et al., *BDNF as a promising therapeutic agent in Parkinson's disease*. International journal of molecular sciences, 2020. **21**(3): p. 1170.
89. Mowla, S.J., et al., *Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor*. J Biol Chem, 2001. **276**(16): p. 12660-6.
90. Kaplan, D.R. and F.D. Miller, *Neurotrophin signal transduction in the nervous system*. Current opinion in neurobiology, 2000. **10**(3): p. 381-391.
91. Huang, E.J. and L.F. Reichardt, *Trk receptors: roles in neuronal signal transduction*. Annual review of biochemistry, 2003. **72**(1): p. 609-642.
92. Zheng, J., et al., *Clathrin-dependent endocytosis is required for TrkB-dependent Akt-mediated neuronal protection and dendritic growth*. Journal of Biological Chemistry, 2008. **283**(19): p. 13280-13288.
93. Tanaka, J.-i., et al., *Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines*. Science, 2008. **319**(5870): p. 1683-1687.
94. Horch, H.W. and L.C. Katz, *BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons*. Nature neuroscience, 2002. **5**(11): p. 1177-1184.
95. Kang, H. and E.M. Schuman, *Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus*. Science, 1995. **267**(5204): p. 1658-1662.
96. Dincheva, I., N.B. Lynch, and F.S. Lee, *The role of BDNF in the development of fear learning*. Depression and anxiety, 2016. **33**(10): p. 907-916.

97. Huang, E.J. and L.F. Reichardt, *Neurotrophins: roles in neuronal development and function*. Annual review of neuroscience, 2001. **24**(1): p. 677-736.
98. Daniel, d.S., et al., *Reproducible summary tables with the gtssummary package*. The R Journal, 2021. **13**(1): p. 570-580.
99. Kassambara, A., *rstatix: Pipe-friendly framework for basic statistical tests. R package version 0.7. 0*. 2021.
100. Graham, S.M., O.M. Arvela, and G.A. Wise, *Long-term neurologic consequences of nutritional vitamin B12 deficiency in infants*. The Journal of pediatrics, 1992. **121**(5): p. 710-714.
101. Wong, E., et al., *Prevalence and Disparities in Folate and Vitamin B12 Deficiency Among Preschool Children in Guatemala*. Maternal and child health journal, 2022: p. 1-12.
102. Ng'eno, B.N., et al., *High prevalence of vitamin B12 deficiency and no folate deficiency in young children in Nepal*. Nutrients, 2017. **9**(1): p. 72.
103. Öncel, K., et al., *Diyarbakır ilindeki çocuklarda ve adölesanlarda B12 vitamin ve folik asit düzeyleri*. Dicle Tıp Dergisi, 2006. **33**(3): p. 163-169.
104. ÇETİN, F., Z. YALAKİ, and B. ALİOĞLU, *Adolesanlarda Anemi*. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi. **54**(2): p. 224-231.
105. Koc, A., et al., *High frequency of maternal vitamin B 12 deficiency as an important cause of infantile vitamin B 12 deficiency in Sanliurfa province of Turkey*. European journal of nutrition, 2006. **45**: p. 291-297.
106. Zengin, E., N. Sarper, and S. Çakı Kılıç, *Clinical manifestations of infants with nutritional vitamin B12 deficiency due to maternal dietary deficiency*. Acta paediatrica, 2009. **98**(1): p. 98-102.
107. Andrès, E., et al., *Current hematological findings in cobalamin deficiency. A study of 201 consecutive patients with documented cobalamin deficiency*. Clinical & Laboratory Haematology, 2006. **28**(1): p. 50-56.
108. Lindenbaum, J., et al., *Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis*. New England journal of medicine, 1988. **318**(26): p. 1720-1728.
109. Severini, C., *Neurotrophic Factors in Health and Disease*. 2022, MDPI. p. 47.
110. Holtzman, D.M. and W.C. Mobley, *Neurotrophic factors and neurologic disease*. Western journal of medicine, 1994. **161**(3): p. 246.
111. Lin, L.-F., et al., *Combination of Aβ clearance and neurotrophic factors as a potential treatment for Alzheimer's disease*. Neuroscience bulletin, 2013. **29**: p. 111-120.
112. Rocco, M.L., et al., *Nerve growth factor: early studies and recent clinical trials*. Current neuropharmacology, 2018. **16**(10): p. 1455-1465.
113. Colucci-D'Amato, L., L. Speranza, and F. Volpicelli, *Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer*. International journal of molecular sciences, 2020. **21**(20): p. 7777.
114. Esnafoglu, E. and Ö. Adıgüzel, *Association of BDNF levels with IQ: comparison of S100B and BDNF levels in typically developing children and subjects with neurologically normal nonsyndromic intellectual disability*. Journal of Intellectual Disability Research, 2021. **65**(12): p. 1073-1084.
115. Dinç, G.Ş., et al., *Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Level in Children with Specific Learning Disabilities*. Turk Psikiyatri Dergisi, 2020. **31**(3): p. 185.

116. Hansen, S.L., et al., *Suboptimal nutrition and low physical activity are observed together with reduced plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentration in children with severe cerebral palsy (CP)*. *Nutrients*, 2019. **11**(3): p. 620.
117. Akbari, E., et al., *Vitamin B12 administration prevents ethanol-induced learning and memory impairment through re-establishment of the brain oxidant/antioxidant balance, enhancement of BDNF and suppression of GFAP*. *Behavioural Brain Research*, 2023. **438**: p. 114156.
118. Li, E.-Y., et al., *Vitamin B1 and B12 mitigates neuron apoptosis in cerebral palsy by augmenting BDNF expression through MALAT1/miR-1 axis*. *Cell cycle*, 2019. **18**(21): p. 2849-2859.
119. Rathod, R.S., et al., *Effect of vitamin B12 and omega-3 fatty acid supplementation on brain neurotrophins and cognition in rats: A multigeneration study*. *Biochimie*, 2016. **128**: p. 201-208.
120. Robinson-Agramonte, M.d.l.A., et al., *BDNF, proBDNF and IGF-1 serum levels in naïve and medicated subjects with autism*. *Scientific Reports*, 2022. **12**(1): p. 13768.
121. Novais, A., et al., *Neudesin is involved in anxiety behavior: structural and neurochemical correlates*. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2013. **7**: p. 119.