



## Genç ve İleri Yaş Gebeliklerde Görülen Aneminin Plasental BDNF ve NGF Düzeylerine Etkileri

### Effects of Anemia in Adolescent and Advanced Pregnancies on Placental BDNF and NGF Levels

Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ <sup>1\*</sup>, Seren Gülşen GÜRGEN <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Histoloji ve Embriyoloji, Manisa, Türkiye

\*Sorumlu yazar: [sarsmaznisa@gmail.com](mailto:sarsmaznisa@gmail.com)

### ÖZ

Son yıllarda adölesan ve ileri yaş gebelikler artmış ve önemli bir sosyal konu haline almıştır. Bu gebeliklerin maternal ve perinatal sonuçları konusunda tartışılmalı sonuçlar mevcuttur. Maternal anemi yenidoğan merkezi sinir sistemini etkileyen faktörlerden biridir. BDNF, fetal gelişim sırasında düşük seviyelerde olup, doğum sonrasında arttığı, NGF'nin ise, embriyonik ve postnatal hayatta dorsal kök gangliyon ve sempatik hücrelerin yaşamını ve gelişimini düzenlediği bilinmektedir. Bu çalışmada, genç ve ileri yaş gebeliklerde maternal aneminin plasentadaki beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) düzeylerine etkisi incelenmiştir. Çalışma grubunu 18 yaş altı ve 35 yaş üstü anemik gebeler, kontrol grubunu 18 yaş altı ve 35 yaş üstü anemik olmayan gebeler oluşturmaktadır (sırasıyla n:30, n:36, n:30, n:39). BDNF immün boyamasında, 18 yaş altı anemik ve anemik olmayan grupta zayıf-orta şiddette reaksiyon, 35 yaş üstü anemik grupta da zayıf-orta şiddette reaksiyon ve 35 yaş üstü anemik olmayan grupta kuvvetli reaksiyon görüldü. NGF immün boyamasında, 18 yaş altı anemik grupta zayıf reaksiyon, 18 yaş altı anemik olmayan grupta kuvvetli immün reaksiyon, 35 yaş üstü anemik grupta orta-kuvvetli şiddette reaksiyon ve 35 yaş üstü anemik olmayan grupta oldukça kuvvetli reaksiyon görüldü. 18 yaş altı anemik gebelerde BDNF reaksiyonu daha yüksek iken NGF reaksiyonu düşük saptanmıştır. Anemisi olmayan ileri yaş grup gebelerde nörotrofinler (BDNF ve NGF) daha yüksek iken, ileri yaş anemik gebelerde düşüktür. Aneminin ileri yaş gruplarında plasentadaki nörotrofinleri baskıladığı saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Anemi, Genç gebe, İleri yaş gebe, Beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF), Sinir büyüme faktörü (NGF), Placenta

### ABSTRACT

Recently, number of adolescent and advanced age pregnancies increased and became an important social issue. There are conflicting results on maternal and perinatal outcomes of those pregnancies. Maternal anemia is one of the factors affecting the newborn central nervous system. It is known that BDNF is at low levels during fetal development and increases after birth, while NGF regulates the life and development of dorsal root ganglion and sympathetic cells in embryonic and postnatal life. In this study, the effect of maternal anemia on placental brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) levels in young and older pregnancies was examined. The study group consists of anemic pregnant women under 18 years of age and over 35 years of age, and the control group consists of non-anemic pregnant women under 18 years of age and over 35 years of age (n:30, n:36, n:30, n:39, respectively). In BDNF immunostaining, a weak-moderate reaction was observed in the anemic and non-anemic groups under 18 years of age, a weak-moderate reaction in the anemic group over 35 years of age, and a strong reaction in the non-anemic group over 35 years of age. In NGF immunostaining, a weak reaction was observed in the anemic group under the age of 18, a strong immune reaction in the non-anemic group under the age of 18, a moderate-strong reaction in the anemic group over the age of 35, and a very strong reaction in the non-anemic group over the age of 35. While the BDNF reaction was higher in anemic pregnant women under the age of 18, the NGF reaction was found to be lower. While neurotrophins (BDNF and NGF) are higher in older age pregnant women without anemia, they are lower in older anemic pregnant women. It has been determined that anemia suppresses neurotrophins in the placenta in older age groups.

**Anahtar Kelimeler:** Stres Anemia, Adolescent pregnancy, Advanced age pregnancy, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), Nerve growth factor (NGF), Placenta

## GİRİŞ

Yaşa özel doğurganlık hızı, belli bir yaş grubunda bin kadın başına düşen ortalama canlı doğan çocuk sayısını ifade etmektedir. Yaş grubuna göre doğurganlık hızı incelendiğinde, 2001 yılında en yüksek yaşa özel doğurganlık hızı binde 144 ile 20-24 yaş grubunda iken 2020 yılında binde 115 ile 25-29 yaş grubunda görülmüştür. Bu durum, doğurganlığın kadının daha ileri yaşlarında gerçekleştiğini göstermiştir (1). Son yıllarda iki riskli yaş grubundaki “18 yaş altı ve 35 yaş üstü” gebeliklerde yaşanan sorunlar sıkça gözlemlenmektedir. Bu gebeliklerin hem maternal hem de yenidoğan sonuçları tartışmaya açıktır.

Anemi ise, dolaşımdaki eritrositlerin sayısında azalma ve dolayısıyla oksijen taşıma kapasitelerinin fizyolojik ihtiyaçları karşılama yetersiz kaldığı bir durum olarak tanımlanır (2). Bu durum, gebelikte ortaya çıkan en yaygın hematolojik defekt olup gebeliğin en sık görülen komplikasyonlarından birisidir (3-5). Özellikle bu iki riskli yaş gruplarında “genç ve ileri yaşta” gebenin anemik olması, gebelik sürecini oldukça zorladığı görüldüğü, yeni doğan sağlığı açısından da önlem almayı gerekli kılmaktadır. Gebelikteki fizyolojik farklılıklar, hemoglobini (Hb) etkilemekte ve hemoglobinde mutlak bir düşüşe neden olmaktadır. Aneminin sadece bebeğin gelişmesinde değil, bununla beraber plasentanın ağırlığı ve yenidoğanın doğum kilosunda da etkili olduğu bilinmektedir (4). Bedenin gebeliğe uyumu zamanında hematolojik yapıda bazı değişiklikler olur. Bu değişiklikler gebeliğin erken periyotlarında henüz daha plasenta meydana gelmeden gelişir. Bu durum fetoplental birime yeterince kan takviyesinin sağlanması ve kanama benzeri yan etkilerden annenin korunması için zorunludur (6, 7).

Nörotrofin üzerine yapılmış çalışmalarda; nörotrofinin embriyonik gelişim sürecinde nöronal progenitörlerin hayatta kalması, çoğalması ve farklılaşması ile ilgili olduğu ve bunun yanında merkezi sinir sistemi gelişiminde gerekli olduğu gösterilmiştir (8). BDNF (Beyin-türevli nörotrofik faktör); sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin 3 (NT3) ve nörotrofin 4 (NT4)'ü de içeren nörotrofin ailesinin bir üyesidir (9). BDNF, merkezi sinir sisteminde en çok çalışılan nörotrofin olup, 1982 yılında domuz beyninden saflaştırılmış ve dorsal kök ganglion nöronlarının bir alt popülasyonunun hayatta kalmasını desteklediği gösterilmiştir (10). BDNF plasenta gelişimini ve fetal büyümeyi düzenlerken, nöronal aktiviteye yanıt olarak pro-BDNF (öncü), olgun BDNF'yi oluşturmak üzere salgı yolu yoluyla taşınır ve işlenir (11). NGF ise, 1950'lerde tanımlanan ilk nörotrofin ailesi üyesidir (12). Olgun NGF pro-NGF (öncü)lünün bölünmesi ve farklılaşması ile üretilir (13). NGF, sinir hücrelerinin büyümesini, farklılaşmasını ve fonksiyonunu ve nöronların korunmasını destekler (14).

Bu çalışmada, genç ve ileri yaş maternal anemik gebelerin plasenta dokusunda, beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF) ve sinir büyüme faktörünün (NGF) ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Araştırmanın yeri ve zamanı ve Etik Onay

Araştırma, T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Kamu Hastaneler Kurumu, Balıkesir İli Kamu Hastaneler Birliği Genel Sekreterliğine bağlı Ayvalık Devlet Hastanesi Doğum Salonu biriminde Eylül-Ekim 2020-2021 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada “G. Power-3.1.9.2” programı kullanılarak, %80 güven düzeyinde örneklem büyüklüğü veri toplama aşamasından önce hesaplanmıştır. Literatürde benzer bir çalışma olmadığı için effect size için Cohen d tarafından standardize edilmiş etki büyüklükleri kullanılmıştır. Araştırmada gebe olan hastaların 18 yaş altı ve 35 yaş üstü gebelerde anemi olanlar ve olmayanlar arasındaki immünohistokimyasal ve histopatolojik değerler araştırılmıştır. Bunun F testi yapılması öngörülmüştür. Buna göre çalışmanın etki büyüklüğü 0,40 (büyük etki büyüklüğü); alfa değeri 0,05 ve teorik güç 0,80 alınarak minimum örnek sayısı 76 olarak belirlenmiştir. Veriler, doğum süreci sorunsuz ilerleyen ve normal doğum yapan, gönüllü onamları alınarak plasenta dokuları alınabilen gebeler ile yüz yüze yöntemi uygulanarak araştırmacı tarafından toplanmıştır.

N sayısı en az 30 olacak şekilde dört grupta da ulaşılabilecek azami sayıda katılımcıya ulaşılarak, ayrı ayrı genç ve ileri yaş gebeliklerde görülen anemik olan ve olmayan, toplamda 135 katılımcı ile çalışılmıştır. Çalışma gruplarımızdaki anemik olan katılımcıları hb<110 g/L ve anemik olmayanları hb>110 g/L olacak şekilde ayrılmıştır. Araştırmadaki veriler, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 16.09.2020 tarih ve 20.478.486 sayılı kararı ile araştırmanın yürütüldüğü Balıkesir İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı Ayvalık Devlet Hastanesi'nden 07.04.2021 tarihinde E.36576434-799-8 sayılı yazılı izinler alındıktan sonra, araştırmaya katılan bireylerden yazılı onam alınarak toplanmıştır. Ayrıca bu çalışma 2021-001 numaralı MCBÜ BAP proje komisyonu tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir. Tüm katılımcılara veri toplamaya başlamadan önce araştırmanın amacı ve araştırma süreci ile ilgili araştırmacı tarafından bilgi verilmiştir. Araştırmanın başlangıcında Clinical trials kaydı yapılmış, kayıt numarası (NCT03893084) alınmıştır.

### **Deney Protokolü**

Araştırma kapsamındaki gebelerin, anemi (kansızlık) durumlarına göre; “anemik olan katılımcıları hb<110 g/L ve anemik olmayanları hb>110 g/L” olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır.

- 1- 18 yaş altı anemik gebeler (çalışma grubu) (n: 30),
- 2- 35 yaş üstü anemik gebeler (çalışma grubu) (n: 36),
- 3- 18 yaş altı anemik olmayan gebeler (kontrol grubu) (n: 30),
- 4- 35 yaş üstü anemik olmayan gebeler (kontrol grubu) (n: 39), Alınan plasenta dokuları immünohistokimya tekniği uygulaması için %10 formaline alınmış ve fiksasyonu gerçekleştirilmiştir.

### **Histolojik analiz**

#### **İmmünohistokimyasal Yöntem**

Plasenta doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda 48 saat bekletildi ve daha sonra rutin protokollere uygun olarak parafin bloklara gömüldü. Mikrotom ile 5 µm'lik kesitler alınıp immünohistokimyasal yöntem kullanılarak boyandı.

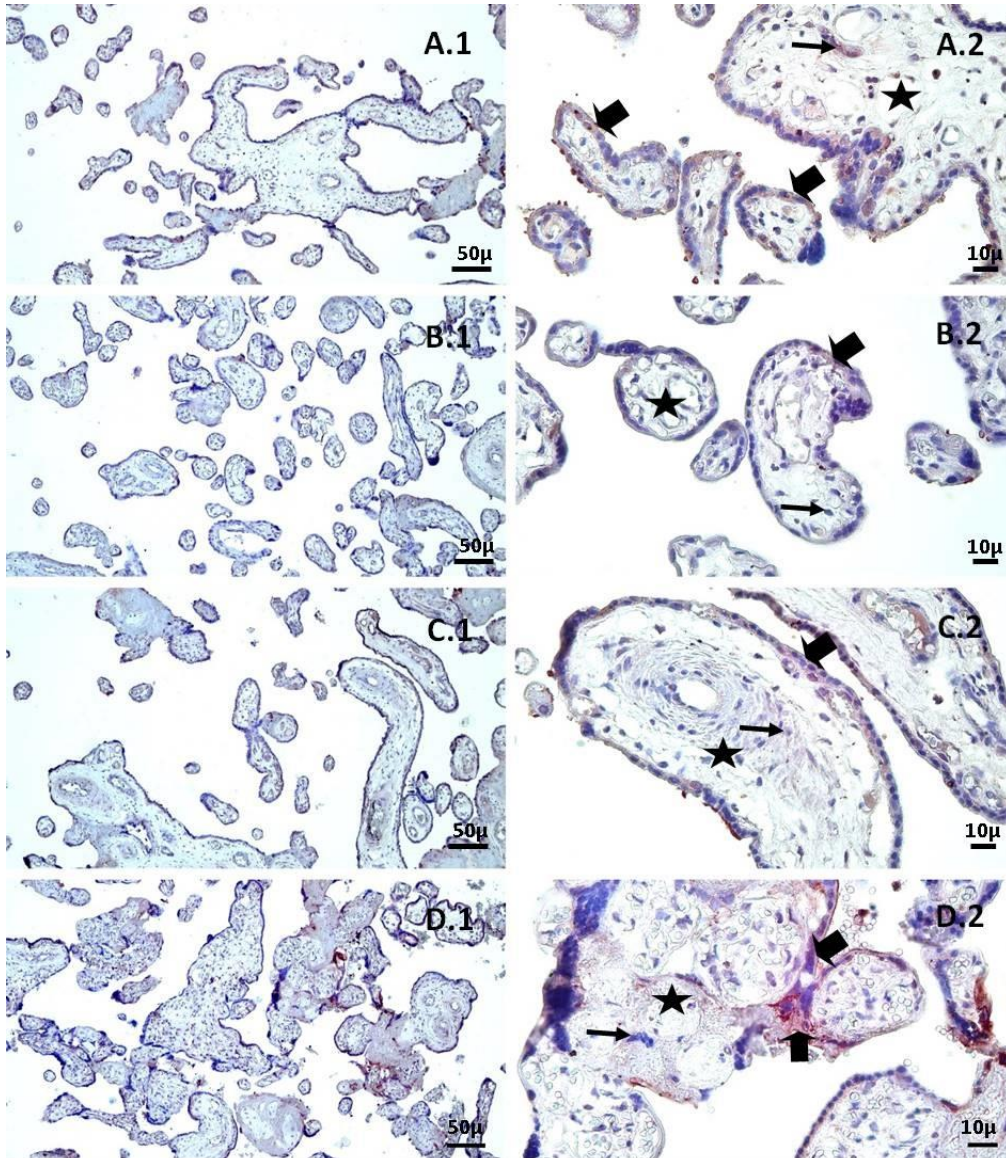
Boyama prosedürü; Anemik olan ve olmayan gebelerden alınan plasenta doku kesitleri bir gece 60 °C' lik etüve konuldu. Daha sonra, iki kez değiştirilmiş olmak üzere 30'ar dakika ksilen ile şeffaflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Ardından %95' ten %60'a azalan dereceli alkol serileri ile dehidratasyon sağlanarak distile suda 10 dakika kadar bekletilmiştir. Pap pen ile sınırlandırılan kesitler hemen ardından %0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika bırakılmıştır. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük Hidrojen peroksit uygulandı. Üç defa 5' er dakika PBS ile yıkanan kesitler 10 dakika bloklama solüsyonu ile muamele edildi. Bloklama solüsyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar BDNF (Thermo Fisher, MA USA), ve NGF (Thermo Fisher, MA USA), ile bir gece inkübe edilen kesitler ertesi gün PBS ile üç defa yıkandı. Kesitler önce anti- mouserabbit biotinlenmiş sekonder antikorda 30 dk tutulup 3 kez 5'er dk PBS ile yıkandı. Ardından syreptavidin peroksidaz ile 30 dk muamele edildi ve yine 3 kez 5'er dk PBS ile yıkandı. İmmünohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla kesitler aminoethyl carbazole (AEC) ile 5 dakika boyandı, çekirdek boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanılıp, boyanan kesitler ultramount kullanılarak lamelle kapatıldı. Kesitler, Olympus CX31 mikroskobuyla incelenerek fotoğraflandı(15). Fotoğraflarda Leica Q Win Plus analiz sistemi kullanılarak sayımlar yapıldı. Boyamalarda her bir preparatta X400 büyültmede rastgele beş alan seçilerek hücrelerde boyanan pozitif hücre tutulumların yoğunluğuna ve tutulum miktar yüzdesine göre H skoru hesaplandı. Tutulum yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0, tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ +, orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak skorlandı. Tutulum miktar yüzdesi immünreaktivitenin bulunduğu hücre/yapıların toplam hücre/yapılara oranlanması ile; 1 (%0–10 arası, fokal), 2 (%11–50 arası, bölgesel) ve 3 (%51-100 arası, diffüz) olarak skorlandı. Her kesit için IHC boyanma skorlaması, HistoSCORE = ΣPi (i+ 1) (i: boyanma derecesi, Pi: tutulum miktar yüzdesi) formülüyle her kesit için tek bir sonuç hesaplandı. Elde edilen veriler deney ve kontrol grupları

arasında karşılaştırmalı olarak tabloya kaydedildi ve ardından SPSS programına aktarılarak istatistiksel analizleri yapıldı.

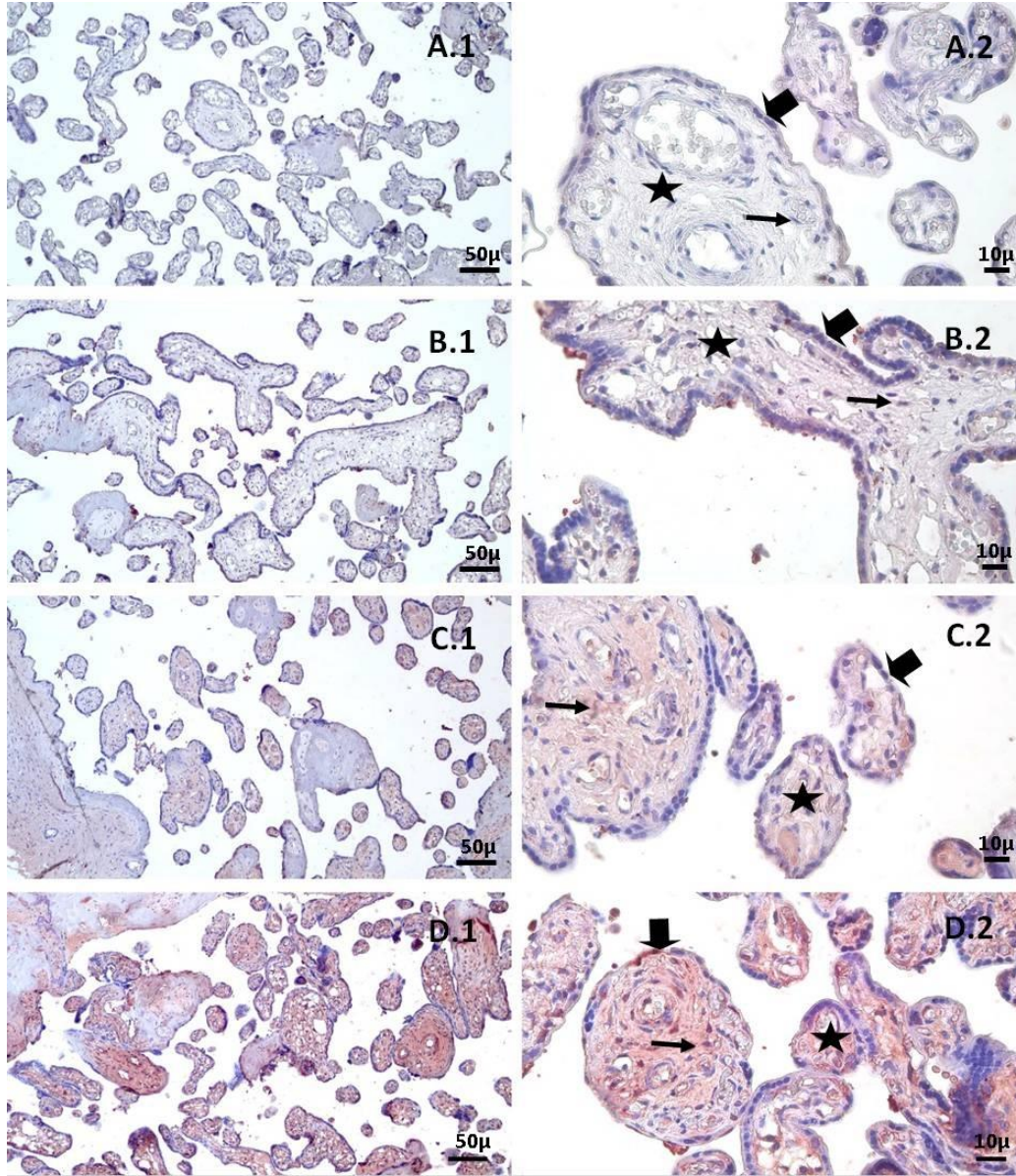
## BULGULAR

BDNF immün boyamasında 18 yaş altı anemik ve anemik olmayan grupların plasenta terminal villuslarında, sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerde zayıftan ortaya değişen reaksiyon izlendi (Figür 1 A1,A2,B1,B2). 35 yaş üstü anemik grupta da zayıftan ortaya değişen ekspresyon gözlenirken (Figür 1 C1,C2), 35 yaş üstü anemik olmayan grupta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerde kuvvetli reaksiyon dikkati çekti (Figür 1 D1,D2).

NGF immün boyamasında 18 yaş altı anemik grubun plasenta terminal villuslarında, sinsityotrofoblast hücrelerinde zayıf reaksiyon izlenirken, 18 yaş altı anemik olmayan grupta sinsityotrofoblast hücrelerde ve stromada kuvvetli immün reaksiyon tespit edildi (Figür 2 A1,A2,B1,B2). 35 yaş üstü anemik grupta ortadan kuvvetliye değişen reaksiyon izlenirken (Figür 2 C1,C2), 35 yaş üstü anemik olmayan grupta sinsityotrofoblast hücrelerde ve stromada oldukça kuvvetli ekspresyon dikkati çekti (Figür 2 D1,D2).



**Figür 1:** Term plasenta villuslarında BDNF immün boyanması. 18 altı anemik (A1,A2), 18 altı anemik olmayan (B1,B2), 35 üstü anemik (C1,C2), 35 üstü anemik olmayan (D1,D2). ➡: Villöz sinsityotrofoblast hücreler, →: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar. (A1,B1,C1,D1) X100 OB Bar=50µm, (A2,B2,C2,D2) X400 OB Bar= 10µm.



**Figür 2:** Term plasenta villuslarında NGF immün boyanması. 18 altı anemik (A1,A2), 18 altı anemik olmayan (B1,B2), 35 üstü anemik (C1,C2), 35 üstü anemik olmayan (D1,D2). ▶:Villöz sinsityotroblast hücreler, →: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar. (A1,B1,C1,D1) X100 Bar = 50µm, (A2,B2,C2,D2) X400 OB Bar = 10µm.

### İstatistiksel analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 23.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Verilerin analizinde “ortalama±SS” değerlerine odaklanıldı. Sayısal veriler normal dağılıma uygun olduğu için ANOVA testi kullanıldı. P değeri 0.05’ten küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Farklılığın hangi gruptan olduğunu anlayabilmek için post hoc çoklu karşılaştırma testi (tukey) uygulandı.

**Tablo 1.** Gruplar arasında BDNF, NGF immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±sd değerleri.

Anova	Gruplar	N	Mean	Std. Deviation	F	P
<b>BDNF</b>	18 yaş altı anemik	30	196,0000	3,52332	5176,958531	0.000*
	18 yaş altı anemik olmayan	30	187,400000	3,811055		
	35 yaş üzeri anemik	36	180,416667	3,580702		
	35 yaş üzeri anemik olmayan	39	284,717949	5,170507		
<b>NGF</b>	18 yaş altı anemik	30	95,500000	3,530654	27413,373822	0.000*
	18 yaş altı anemik olmayan	30	212,100000	3,679861		
	35 yaş üzeri anemik	36	160,805556	4,055469		
	35 yaş üzeri anemik olmayan	39	365,589744	4,945588		

(\*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.

**Tablo 2:** Gruplar arasında BDNF, NGF immünohistokimya boyama sonuçları açısından çoklu grup karşılaştırmaları. Veriler p değerleridir.

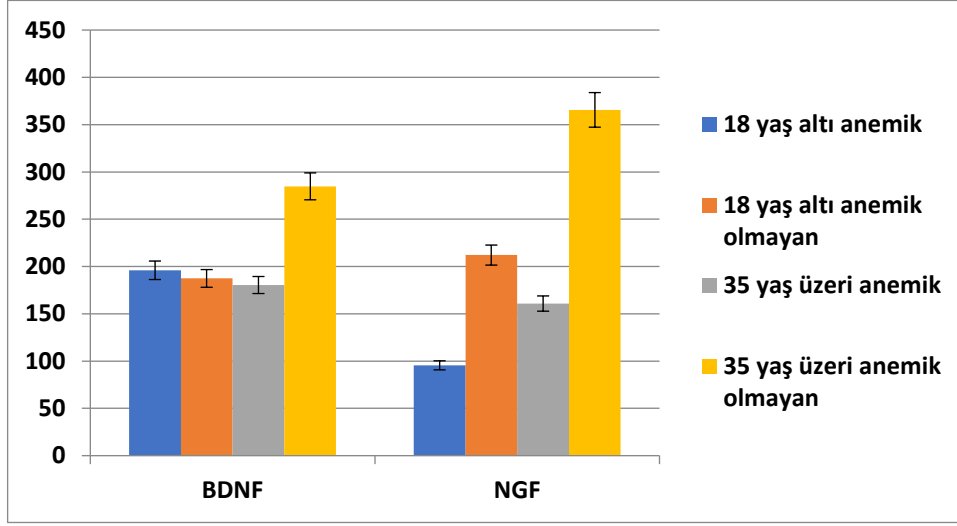
Gruplar arasında çoklu karşılaştırma P Value Posthoc/Tukey	BDNF	NGF
18 yaş altı anemik vs. 18 yaş altı anemik olmayan	0.000*	0.000*
18 yaş altı anemik vs. 35 yaş üzeri anemik	0.000*	0.000*
18 yaş altı anemik olmayan vs. 35 yaş üzeri anemik olmayan	0.000*	0.000*
35 yaş üzeri anemik vs. 35 yaş üzeri anemik olmayan	0.000*	0.000*

\*p<0,00 (Anova), Pairwise Comparisons, (\*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.

BDNF immünohistokimyasal boyanma açısından tüm gruplar arasında farkın anlamlı olduğu gösterilmiştir (P<0.05). Çalışma grubu olan 18 yaş altı anemik, kontrol grubu olan 18 yaş altı anemik olmayan grubuna göre sinsityotrofoblast ve stromal hücreler daha kuvvetli boyanma göstermesinin yanı sıra, diğer çalışma grubumuz olan 35 yaş üstü anemik gebe grubuna göre de sinsityotrofoblast ve stromal hücreler kuvvetli boyanma göstermektedir (Tablo 1) (Grafik 1) (Figür 1).

NGF immünohistokimya boyama yoğunluk açısından da yine tüm gruplar arasında farkın anlamlı olduğu görülmektedir (p<0.05). Bu boyamalarda da 18 yaş altı anemik, kontrol grubu olan 18 yaş altı anemik olmayan grubuna ve 35 yaş üstü anemik gebe grubuna göre, sinsityotrofoblast ve stromal hücreler daha zayıf boyanma göstermektedir. Hatta 35 yaş üstü anemik olmayan gebelerin olduğu gruptakilere göre de sinsityotrofoblast ve stromal hücreler zayıf boyanma göstermektedir. Bu grupta en kuvvetli NGF boyanması 35 yaş üstü anemik olmayan gebe grubunda görülmektedir (Tablo1) (Grafik 1) (Figür 2).

Post hoc (Tukey) karşılaştırmalı analiz sonucuna göre boyama  $p$  değerleri açısından 0.05 den küçük olanlar anlamlı kabul edilmektedir ( $p<0.05$ ). Bu dört grup için çoklu karşılaştırmaya (tukey) bakıldığında, BDNF ve NGF immünohistokimyasal boyanma açısından tüm gruplar arasında farkın anlamlı olduğu gösterilmiştir ( $p<0.05$ ) (Tablo 2).



**Grafik 1:** Gruplar Arasında BDNF, NGF İmmünohistokimya Boyama Sonuçları İçin Morfometrik Veriler. Veriler Ortalama±SD'dir.

## TARTIŞMA

Son yıllarda genç veya ileri yaş gebelikler artmış ve önemli bir sosyal konu haline almıştır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde bütün gebeliklerin %15-20'sini genç gebeler, %14'ünü 35 yaş üstü gebeler oluşturmaktadır (16).

Aneminin varlığı dünya çapında yaklaşık 32 milyon gebe kadını etkilemekte olup tahmini küresel prevalansı %38 olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (17). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), gebelikte aneminin varlığını kritik oranda fetal ve maternal sonuçlar doğurabilecek sorun olarak kabul etmiştir (18). Anemi; küresel olarak, ortalama hemoglobin konsantrasyonu 11,1 g/dL ve gebe olmayan kadınlarda 12,6 g/dL, gebe kadınlar için de 11,4 g/dL tespit edilmiştir. 15-49 yaş arası gebe kadınların %28'inde hb 11 g/dL'nin altında ve %0,3'ünde hb 7,0 g/dL'nin altında saptanmıştır (19).

Daha önceki çalışmalar ile gençlerde gebelik esnasında anemi prevalansının daha yüksek olduğu ortaya konulmuş olup, bunun yanında olumsuz doğum sonuçları açısından yüksek risk altında oldukları gösterilmiştir (20-22). Gebenin yaşı, gebelik izlemi ve doğum prognozu açısından oldukça önemli bir faktördür. Hem genç hem de ileri yaş gebeliklerin, erken doğum riskinin artması yaş ile bağıntılı kabul edilmektedir (23).

Bu çalışma, Ayvalık Devlet Hastanesi doğum salonuna başvuran gebe kadınlardan alınan plasenta dokularının hepsini histopatolojik olarak inceleyebilmek için, örneklem sayısı en az 30 olacak şekilde 18 yaş altı anemik (n:30), 18 yaş altı anemik olmayan (n: 30), 35 yaş ve üzeri anemik (n:36) ve 35 yaş üzeri anemik olmayan (n:39) olarak 4 gruba ayrılmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu iki parametrenin literatürde birlikte araştırılmadığı gözlemlenmiştir. Biz bu çalışmamızda birçok fetal ve maternal komplikasyonu beraberinde getiren ve küresel bir sağlık sorunu olan gebelikte aneminin plasental etkilerini gözlemleyebilmek için nörotrofin ailesi üyesi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) etkilerini incelemeyi konu aldık.

BDNF, merkezi sinir sisteminde en çok çalışılan nörotrofindir. 1982 yılında domuz beyininden saflaştırılmış ve dorsal kök ganglion nöronlarının bir alt popülasyonunun hayatta kalmasını desteklediği gösterilmiştir (10). Nöronal aktiviteye yanıt olarak pro-BDNF (öncü), olgun BDNF'yi oluşturmak üzere salgı yolu yoluyla taşınır ve işlenir (11). BDNF, yüksek afiniteli reseptörü trkB'ye bağlanarak rolüne aracılık eder (24) ve görsel korteksin gelişimine, nöronların hayatta kalmasına ve büyümesine ve beyin gelişimine yardımcı olur (25). Fiziksel aktivite ve egzersizin BDNF seviyeleri üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde tartışılmış ve egzersizin BDNF seviyelerini arttırmak için kullanılabileceği öne sürülmüştür (26). Yakın zamanda yapılan bir inceleme, BDNF'nin üç izoformunu ve bunların insan davranışını, yani depresyonu, hiperfajiyi, hafızayı ve kaygıyı etkileyebilecek nöronal aktivite üzerindeki etkilerini tanımlamaktadır (27).

BDNF plasenta gelişimini ve fetal büyümeyi düzenler. Granitzer ve arkadaşlarını 2023'te yaptıkları bir çalışmada, BDNF ve KISS-1 konsantrasyonlarının plasenta ve göbek kordonu düzeylerini belirleyebilmek için maternal serumu bir öngörü olup olamayacağını araştırmışlardır. Çalışmaya göre, doğum öncesi kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd) maruziyetinin ve annenin demir durumunun BDNF ve KISS-1 düzeyleri üzerindeki etkisi açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu Granitzer ve çalışma arkadaşları için endişe verici olarak yorumlanmıştır. Bunun üzerine 65 "anne ve yeni doğan" ile yapılan kesitsel bir çalışmada, epidemiyolojik analizin ana bulgularını doğrulamak için insan primer trofoblast hücrelerini (hTC'ler) ve BeWo hücrelerini kullanarak bir dizi in vitro deney gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, anne serumundaki Pro-BDNF, olgun BDNF ve KISS-1 seviyeleri, göbek kord serumu ve plasental immünoboyanmaya karşılık gelen seviyeler arasında güçlü ve tutarlı korelasyon göstermiştir. Maternal kırmızı kan hücresi Pb seviyeleri serum ve plasental KISS-1 seviyeleri ile ters orantılı bulunmuştur. Annenin düşük demir seviyesi, düşük BDNF düzeyleriyle pozitif olarak ilişkili bulunmuştur(28). Ayrıca Granitzer ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada, sonuçların netliği açısından daha büyük bir örneklem grubu ile çalışılması sonucuna da ulaşılmıştır (28). Basu ve arkadaşlarının 2018'de yapmış oldukları bir başka çalışmada; Perinatal demir eksikliğinin fetal sinir gelişimi üzerinde zararlı sonuçları olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu çalışma, annede demir eksikliği anemisinin (IDA) fetal hipokampal morfogenez ve (BDNF) üretimi üzerine etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışmanın sonucuna göre; kord kanındaki BDNF konsantrasyonu maternal aneminin şiddetine göre artış göstermiştir. Yani maternal IDA, hipokampal morfogenez ve BDNF'nin fetal üretimini olumsuz yönde etkiler. Etkinin derecesi annedeki aneminin şiddeti ile orantılıdır (29). Bizim çalışmamızda; yaş faktörleri açısından değişkenliği baz alınarak anemik olan ve olmayan genç ve ileri yaş gebelikte plasenta dokusunda BDNF ve NGF seviyeleri incelenmiştir. BDNF düzeyi anemik olan gebelerde ileri yaşta ciddi oranda baskılanmaktadır. Bu da bize ileri yaş gebelikte annenin anemiye sahip olması plasental BDNF faktörünü baskıladığı için fetal beyin gelişimi etkileyebileceğini göstermektedir.

NGF, 1950'lerde tanımlanan ilk nörotrofin ailesi üyesidir (12). Olgun NGF pro-NGF (öncü)lünün bölünmesi ve farklılaşması ile üretilir (13). NGF, sinir hücrelerinin büyümesini, farklılaşmasını ve fonksiyonunu ve nöronların korunmasını destekler (14). NGF'nin hücre yüzeyindeki etkisi ise, yüksek afiniteli katalitik aktif reseptörü, trkA reseptörüne bağlanarak etki eder (30). NGF'nin trkA'ya bağlanması, Ras-mitojenle aktifleştirilen protein kinaz, fosfolipaz C, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) gibi sitozolik/endozomal yolları aktive eder (31). NGF, depresyon (32), şizofreni (33) ve otizm (34) gibi birçok beyin bozukluğuyla ilişkilendirilmiştir. Ancak son birkaç yılda NGF'nin pleiotropik rollere sahip olduğu da gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, deneysel ve insan pulmoner hipertansiyonunda NGF ekspresyonunun arttığını bildirmektedir; burada vasküler hücre çoğalmasını ve göçünü, proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını ve pulmoner arteriyel hiperaktiviteyi teşvik etmektedir (35). NGF'nin apoptoz (36), inflamasyon (37) ve nöronal anjiyogenez (38) gibi çeşitli süreçlere dahil olduğu gösterilmiştir.



Kubota ve arkadaşlarının 2022 yılında yapmış oldukları bir çalışmada; japon bitkisel ilacı olan Ninjinyoeito (NYT)'nin uykusuzluk, anemi, amnezi ve nevroz hastalarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanıldığını ifade etmişlerdir. Özellikle Alzheimer hastalığında etkisi çok konuşulmuştur. Bu ilacın etkisini inceleyebilmek için astrosit besleyici mikro adalarında tek bir nörondan oluşan bir optik kültür sistemi kullanmışlardır. Bu çalışmada, Beta-amiloide (A beta) (25-35) maruz bırakılan kültürlenmiş optik nöronlardan oluşan bir nörodejenerasyon modelinde NYT'nin etkilerini araştırmışlar ve NGF ve BDNF gen ekspresyonu, ters transkripsiyon polikromatik zincir reaksiyonu (RT-PCR) kullanılarak primer ortak kültürü astrositlerde ve nöronlarda incelemişlerdir. Bu çalışma, NYT'nin sinir büyüme faktörü ekspresyonunu indükleyerek A beta (25-35) kaynaklı nöronal hasara karşı koruduğunu göstermektedir. Bu bulgular Alzheimer hastalığının NYT ile tedavisi için mekanik bir temel sağlar (39). Nagamatsu ve arkadaşlarının 2024 yılında yayınlanan bir çalışmasında, bitkisel bir ilaç olan kamikihito (KKT)'in anoreksiya, depresyon ve anemi gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığını ifade etmişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmada kültür ortamı oluşturmuşlar ve NGF, BDNF, Neurotrophin-3 (NT-3) ekspresyonlarının düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre; kamikihito (KKT) kullanılan grupta artış gözlenmiştir. Bu da akson hasarının tedavisinde iyi sonuçlar verdiğinin kanıtı olarak gösterilmektedir (39). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada anemik olan ve olmayan gebelerin özellikle yaş faktörlerine göre, NGF düzeylerin incelenmesi amaçlanmıştır. NGF ekspresyon düzeyi anemik olmayan genç ve ileri yaş gebeliklerde daha fazla çıkmıştır. Bu da bize aneminin plasental NGF'yi baskıladığı sonucuna götürmektedir.

## SONUÇ

Bu araştırmada, riskli yaş grupları olarak görülen genç (18 yaş altı) ve ileri yaş (35 yaş üstü) anemisi olan veya olmayan gebelerin doğum sonrası plasenta dokularında immunohistokimyasal olarak BDNF ve NGF ekspresyonlarının seviyeleri incelenmiştir. Plasentada BDNF ekspresyon düzeyi anemisi olan genç gebelerde daha yüksek etkili iken, NGF ekspresyon düzeyi anemisi olan genç gebelerde düşük olduğu görülmüştür. Anemisi olmayan ileri yaş grup gebelerde nörotrofinler (BDNF ve NGF) daha yüksek iken, ileri yaş anemik gebelerde düşüktür. İleri yaş gruplarda aneminin plasentadaki nörotrofinleri baskıladığı görülmektedir. Maternal anemi yenidoğan merkezi sinir sisteminde etkilidir. Toplum sağlığı açısından, gebelik öncesi dönemde anne adayları olacakların anemi rahatsızlığı sorunuyla karşılaşmamak için, aneminin ortaya çıkışının sıklıkla optimal zaman aralığının çok kısa olması sebebiyle doğurganlık çağındaki bireylerin bebeklik döneminden itibaren planlı beslenme programına dahil edilmesi dönemsel olarak kan değerleri ölçümlerinin yapılması gereklidir. Ayrıca gebe kadınlarda özellikle demir başta olmak üzere gerekli vitamin takviyesinin yapılması bu çalışmamızın da bize söylediği en önemli sonuçtur.

**Teşekkür:** Bu araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeleri Otomasyonu tarafından 2021-001 proje numarası ile desteklenmiştir. Bu araştırma, NCT03893084 Clinical trials numarası ile kaydedilmiştir.

**Etik Kurul Onayı:** Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu (16.09.2020 / 20.478.486 / 542) karar no ile çalışma başlatılmıştır.

## KAYNAKÇA

1. Türkiye İstatistik Kurumu. Türkiye'de İstatistikler. 2020. [cited 2021 Jul 1].
2. Topcuoğlu S, et al. Adölesan veya İleri Anne Yaşı: Yenidoğan İçin Risk midir?: Tek Bir Merkezin Retrospektif Sonuçları. Zeynep Kamil Tıp Bülteni. 2014;45(3):131-5.
3. Breymann C. Iron deficiency anemia in pregnancy. Semin Hematol. 2015.
4. Chowdhury S, Rahman M, Moniruddin A. Anemia in pregnancy. J Med Today. 2014;26(1):49-52.
5. Sifakis S, Pharmakides G. Anemia in pregnancy. Ann N Y Acad Sci. 2000;900(1):125-36.
6. Balik G, et al. The prevalence of anemia at term-pregnant women and the analysis of some hematological parameters in the East Black Sea Region. Medeniyet Med J. 2015.
7. Chapman AB, et al. Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy. Kidney Int. 1998;54(6):2056-63.

8. Anand SK, Mondal AC. Neuroanatomical distribution and functions of brain-derived neurotrophic factor in zebrafish (*Danio rerio*) brain. *J Neurosci Res*. 2020;98(5):754–63.
9. Kowiański P, et al. BDNF: A key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell Mol Neurobiol*. 2018;38(3):579–93.
10. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J*. 1982;1(5):549–53.
11. Benarroch EE. Brain-derived neurotrophic factor: Regulation, effects, and potential clinical relevance. *Neurology*. 2015;84(16):1693–704.
12. Gatzinsky KP, et al. p75 and TrkA receptors are both required for uptake of NGF in adult sympathetic neurons: use of a novel fluorescent NGF conjugate. *Brain Res*. 2001;920(1–2):226–38.
13. Wang H, et al. The nerve growth factor signaling and its potential as therapeutic target for glaucoma. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
14. Toti P, et al. Human placenta and fetal membranes express nerve growth factor mRNA and protein. *J Endocrinol Invest*. 2006;29:337–41.
15. Losi L, et al. Can immunohistochemistry improve the pathological diagnosis of placenta accreta spectrum (PAS) disorders? *Arch Gynecol Obstet*. 2024;309(6):2605–12.
16. Chedraui P, et al. Knowledge and practice of family planning and HIV-prevention behaviour among just delivered adolescents in Ecuador: the problem of adolescent pregnancies. *Arch Gynecol Obstet*. 2007;276(2):139–44.
17. Juul SE, Derman RJ, Auerbach M. Perinatal iron deficiency: implications for mothers and infants. *Neonatology*. 2019;115(3):269–74.
18. Daru J, et al. Risk of maternal mortality in women with severe anaemia during pregnancy and postpartum: a multilevel analysis. *Lancet Glob Health*. 2018;6(5):e548–54.
19. Karami M, et al. Global prevalence of anemia in pregnant women: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Matern Child Health J*. 2022;26(7):1473–87.
20. Oğul Z. Adölesan ve Gençlerde Cinsel Sağlık Üreme Sağlığı: Etkileyen Faktörler ve Sorunlar. *Kadın Sağlığı Hemşireliği Dergisi*. 2021;7(2):149–65.
21. Nkhoma DE, et al. Girls' empowerment and adolescent pregnancy: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(5):1664.
22. Parlaz EA, et al. Ergenlik dönemi: fiziksel büyüme, psikolojik ve sosyal gelişim süreci. *Turk Fam Physician*. 2012;3(2):10–6.
23. Korenčan S, et al. The outcomes of pregnancy and childbirth in adolescents in Slovenia. *Slov J Public Health*. 2017;56(4):268–75.
24. Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol*. 1994;25(11):1386–403.
25. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*. 2004;22(3):123.
26. Szuhany KL, Bugatti M, Otto MW. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J Psychiatr Res*. 2015;60:56–64.
27. Hempstead BL. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2015;126:9.
28. Granitzer S, et al. BDNF and KISS-1 levels in maternal serum, umbilical cord, and placenta: The potential role of maternal levels as effect biomarker. *Expo Health*. 2023:1–17.
29. Basu S, et al. Effect of maternal iron deficiency anemia on fetal neural development. *J Perinatol*. 2018;38(3):233–9.
30. Vera C, et al. Role of nerve growth factor and its TRKA receptor in normal ovarian and epithelial ovarian cancer angiogenesis. *J Ovarian Res*. 2014;7(1):1–8.
31. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361(1473):1545–64.
32. Wiener CD, et al. Serum levels of nerve growth factor (NGF) in patients with major depression disorder and suicide risk. *J Affect Disord*. 2015;184:245–8.
33. Ajami A, et al. Changes in serum levels of brain derived neurotrophic factor and nerve growth factor-beta in schizophrenic patients before and after treatment. *Scand J Immunol*. 2014;80(1):36–42.
34. Li Q, et al. Transplantation of umbilical cord blood mononuclear cells increases levels of nerve growth factor in the cerebrospinal fluid of patients with autism. *Genet Mol Res*. 2015;14(3):8725–32.
35. Coste F, et al. Reversal of experimental severe pulmonary hypertension by NGF inhibition. *Rev Mal Respir*. 2015;32(3):325.
36. la Sala A, et al. Ligand activation of nerve growth factor receptor TrkA protects monocytes from apoptosis. *J Leukoc Biol*. 2000;68(1):104–10.
37. Prencipe G, et al. Nerve growth factor downregulates inflammatory response in human monocytes through TrkA. *J Immunol*. 2014;192(7):3345–54.
38. Calzà L, et al. Nerve growth factor control of neuronal expression of angiogenetic and vasoactive factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(7):4160–5.
39. Kubota K, et al. Njinyoeito reduces  $\beta$ -amyloid25–35-induced axon damage via nerve growth factor. *Tradit Kampo Med*. 2022;9(2):89-97.