



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI KLİNİĞİ

B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA OKSİDAN VE
ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Rabia Meral

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2018



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA OKSİDAN VE
ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Rabia Meral

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Bülent Alioğlu
(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

ANKARA/2018

TEŞEKKÜR

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ndeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli klinik şeflerimiz Doç. Dr. Arife USLU GÖKCEOĞLU ve Uzm. Dr. Arzu YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Bülent ALİOĞLU ve Uzm. Dr. Gülnihan KIRBAŞ'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince hekimliğine, sabrına ve bilgeliğine imrendiğim ve örnek aldığım, çok değerli hocam Doç. Dr. Medine Ayşin TAŞAR'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmaları esnasında sonsuz yardımlarından dolayı AÜTF Biyokimya A.D. değerli hocaları Prof. Dr. İlker DURAK, Uzm. Dr. Zahide Esra DURAK, Uzm. Dr. Bilal AYTAÇ ve Dr. Hikmet Can ÇUBUKÇU'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımındaki destek ve istatistik yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Sefa ÇİFTÇİ'ye ayrıca teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm uzmanlarıma, değerli asistan arkadaşlarıma, hastanemizin hemşire ve yardımcı personeline teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, maddi manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim, asistanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen anneme, babama ve varlıklarından güç aldığım kardeşlerime teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Rabia MERAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ANEMİ.....	3
2.1.1. Megaloblastik Anemi	3
2.2. B12 VİTAMİNİ (KOBALAMİNLER).....	3
2.2.1. B12 Vitamininin Tanımı, Tarihi ve Yapısı	3
2.2.2. Vitamin B12 Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu	4
2.2.3. Vitamin B12'nin Biyokimyasal Özellikleri	4
2.2.4. Homosistein ve Metabolizması	5
2.2.5. Vitamin B12 Emilimi, Taşınması ve Metabolizması.....	5
2.2.6. Besinsel Kaynaklar.....	6
2.2.7. Vitamin B12 Gereksinimi	6
2.2.8. B12 Vitamin Eksikliği Nedenleri	7
2.2.9. Vitamin B12 Eksikliğinin Bulguları	8
2.2.10. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısı.....	8
2.2.11. B12 Eksikliği Tedavisi	9
2.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ.....	10
2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	10
2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	11
2.3.3. Serbest Radikallerinin Hedef Organları	12
2.4. ANTİOKSİDAN SİSTEMLER.....	12
2.4.1. Katalaz.....	13
2.4.3. Total Antioksidan Kapasite	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ	15
3.2. ARAÇ – GEREÇ VE LABORATUAR YÖNTEMLERİ	16
3.2.1. Serum Nitrik Oksit Seviyeleri ve Nitrik Oksit Sentaz Aktiviteleri.....	16
3.2.2.Total Serum Antioksidan Kapasiteleri	16
3.2.3. Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi:	17
3.2.4. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	17
3.2.5. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi.....	17
3.2.6. Ksantin Oksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi.....	17
3.2.7.Vitamin B12 Düzeyi Ölçüm Yöntemi.....	17
3.2.8. Homosistein Düzeyi Ölçüm Yöntemi	18
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	18
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇLAR	30
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	38
EKLER.....	39
EK 1. EPK	39
EK 2. Hasta Formu.....	43

KISALTMALAR LİSTESİ

DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil
ECLIA	: Elektro-kemilüminesans İmmünojenik Testi
EDTA	: Ethan-1,2-diyldinitrilo tetraasetik asit
Fe-S	: Demir-Sülfür
GSH	: Glutasyon
GSH-PX	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Glutasyon disülfid
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO⁻	: Hidroksil radikali
İF	: İntresik faktör
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MMA	: Metilmalonik asit
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OEH	: Ortalama eritrosit hacmi
OEHb	: Ortalama eritrosit hemoglobini
RNA	: Ribonükleik asit
TAK	: Total antioksidan kapasite
tHcy	: Homosistein

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Günlük vitamin B12 gereksinimi.....	7
Tablo 2. Vitamin B12 eksikliği sebepleri	7
Tablo 3. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet açısından karşılaştırılması.....	19
Tablo 4. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun sosyoekonomik düzey açısından karşılaştırılması.....	19
Tablo 5. Çalışmaya alınan olguların başvuru şikâyet yüzdeleri	20
Tablo 6. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun vitamin B12 ile homosistein düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	20
Tablo 7. Cinsiyetler arası parametrelerin karşılaştırılması	22
Tablo 8. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun total antioksidan kapasite, oksidan ve antioksidan parametreler açısından karşılaştırılması.....	22
Tablo 9. Parametrelerin korelasyon sonuçları.....	24

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.** Serbest oksijen radikallerinin hücreye zararlı etkileri 12
- Şekil 2.** Serbest oksijen radikallerinin kaynakları 14
- Şekil 3.** Hasta grup ve kontrol grubundaki çocukların vitamin B12 düzeyleri..... 20
- Şekil 4.** Hasta grup ve kontrol grubundaki çocukların homosistein düzeyleri 21
- Şekil 5.** Hasta ve kontrol grubunun oksidan-antioksidan parametreleri dağılımları..... 23



ÖZET

B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Oksidan Ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi

Vitamin B12 suda eriyen, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve çeşitli türevleri bulunan bir vitamindir. İnsan kalın bağırsağında bakteriler tarafından sentez edilebilir ancak emilen miktar çok az ve yetersizdir. Vitamin B12 besinlerden, özellikle hayvansal gıdalardaki kobalaminlerden elde edilir. Diyetle yetersiz alımı vitamin B12 eksikliğinin önemli bir sebebidir. Vitamin B12 eksikliğinin; santral ve periferik sinir sistemi, gastrointestinal sistem, kardiovasküler sistem, kas-iskelet sistemi, hematolojik ve immünolojik sistemler üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir. Vitamin B12 eksikliği insidansı toplumdaki topluma, değişik yaş guruplarına, sosyoekonomik düzeye ve beslenme alışkanlıklarına göre farklılık gösterir.

Yayınlarında çocukluk çağı vitamin B12 eksikliğinde oksidan ve antioksidan denge belirteçlerini değerlendiren çalışma sayısı çok azdır. Bu çalışmada çocuklarda vitamin B12 eksikliğinin oksidan – antioksidan parametreler üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Araştırmaya kliniğimizde Ocak 2016 – Ocak 2017 tarihleri arasında, 12-18 yaş aralığında vitamin B12 eksikliği tanısı almış; vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml altında ve homosistein düzeyi 15 µmol/L üstünde olan 40 çocuk ile sağlıklı 40 çocuk olmak üzere toplam 80 çocuk alındı. Kan örneklerinden; malondialdehit, nitrik oksit, nitrik oksit sentaz, ksantin oksidaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, total antioksidan kapasite düzeyleri çalışıldı.

Çalışmada hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sosyoekonomik düzey açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Vitamin B12 ile homosistein arasında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli zıt korelasyon saptandı. Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında total antioksidan kapasite ile antioksidan göstergeler olan; katalaz, glutatyon peroksidaz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında oksidatif stres göstergesi olan; malondialdehit, nitrik oksit, ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak çalışmamızda çocukluk çağında vitamin B12 eksikliğinin oksidan parametreler ile antioksidan parametreler üzerine etkisi olduğu gösterilememiştir. Olgu sayısı artırılarak, farklı yaş grupları ve daha düşük vitamin B12 seviyeleri ile tedavi sonrası da değerlendirilerek farklı çalışmalara gereksinim duymaktayız.

Anahtar kelimeler: Vitamin B12 eksikliği, oksidatif stres, oksidan parametreler, total antioksidan kapasite.



ABSTRACT

Assessment of Oxidant and Antioxidant Parameters in Children with B12 Deficiency

Vitamin B12 is a water-soluble vitamin, which is synthesized mainly by microorganisms and has various derivatives. Vitamin B12 can be synthesized by bacteria in the human large intestine but the amount absorbed is very small and insufficient. Vitamin B12 is derived from foods, especially from cobalamin in food of animal origin. Inadequate intake by diet is an important cause of vitamin B12 deficiency. It has been reported that Vitamin B12 deficiency influences on central and peripheral nervous system, gastrointestinal system, cardiovascular system, musculoskeletal system, hematological and immunological systems negatively. The incidence of vitamin B12 deficiency varies from community collection, to different age groups, socio-economic level, and dietary habits.

There are very few studies presented in publications evaluating oxidant and antioxidant balance markers in childhood vitamin B12 deficiency. In this study, it was aimed to evaluate the effects of vitamin B12 deficiency on oxidant - antioxidant parameters in children. A total of 80 children were taken into the research in our clinic between January 2016 and January 2017; 40 children with vitamin B12 levels below 200 pg / mL, homocysteine levels above 15 $\mu\text{mol} / \text{L}$ and 40 healthy children. Malondialdehyde, nitric oxide, nitric oxide synthase, xanthine oxidase, glutathione peroxidase, catalase, total antioxidant capacity levels were studied on blood samples.

There was no statistically significant difference in socioeconomic level between the patient group and the control group in study. There was a statistically significant strong opposite correlation between vitamin B12 and homocysteine. When the patient group and control group were compared, were not found statistically significant in total antioxidant capacity and antioxidant indicators, i.e. catalase, glutathione peroxidase. When the patient group and control group were compared, were not found statistically significant in oxidative stress indicators, i.e. malondialdehyde, nitric oxide, xanthine oxidase, nitric oxide synthase.

In conclusion, our study did not show the effect of vitamin B12 deficiency on oxidant parameters and antioxidant parameters in childhood. We need different studies

by increasing the number of cases and evaluating them after treatment with different age groups and lower vitamin B12 levels.

Key words: Vitamin B12 deficiency, oxidative stress, oxidant parameters, total antioxidant capacity.



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vitamin B12 suda eriyen, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve çeşitli türevleri bulunan bir vitamindir. İnsan, ihtiyacı olan B12 vitaminini sentez edemez. B12 vitamini besinlerdeki, özellikle hayvansal gıdalardaki kobalaminlerden elde edilir. Vitamin B12 hayvansal gıdaların çoğunda yeterli miktarda bulunduğundan, normal beslenenlerde diyeter eksiklik nadirdir ancak diyetle yetersiz alımı vitamin B12 eksikliğinin önemli bir sebebidir [1].

Vitamin B12, yaşamın erken dönemlerinde merkezi sinir sisteminin gelişimi ve miyelinizasyonu için gereklidir. Vitamin B12; metilmalonik asidin süksinil koenzim A'ya ve homosisteinin (tHcy) metiyonine çevrilmesinde rol oynadığı için, B12 vitamini eksikliğinde, metilmalonik asit ve tHcy birikir ve buna bağlı olarak geri dönüşümlü kemik iliği yetmezliği ve demiyelinizan merkezi sinir sistemi bozukluğuna ait bulgular ortaya çıkabilir [2, 3].

Vitamin B12'nin en önemli fonksiyonu, hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA sentezini sağlamaktır. Eksikliğinde, özellikle hızlı büyüyen ve hücre yenilenmesi hızlı olan dokular etkilenir. İnsan organizmasının büyüme ve gelişmesinin en hızlı olduğu çocukluk çağında bu eksikliğe bağlı sorunların daha ciddi olacağı da aşikârdır [1].

Vitamin B12 eksikliği çocuklarda halsizlik, yorgunluk, stomatit, ishal veya irritabilite gibi spesifik olmayan klinik bulgular ile seyredildiği gibi; geç tanı konulmuş vakalarda ağır anemi ile birlikte gelişme geriliği, mental ve motor gerilik, ataksi, pareteziler, hiporefleksi, klonus, kazanılmış mental ve motor fonksiyonların (yürüme, oturma, konuşma, gülme gibi) kaybı ve ileri dönemde koma görülebilir. Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği düşünülmesi, tanısının konulması ve tedavi edilmesi önemlidir [1, 4].

Vitamin B12 eksikliği olan hastaların %25'ten daha fazlasında hematolojik bulgu olmadan nörolojik bulgular ortaya çıkabilir [5].

Ayrıca vitamin B12'nin kendisinin oksidan veya antioksidan özelliği konusunda güçlü deliller bulunmamakla beraber, indirek olarak homosistein düzeyini düşürerek antioksidan etki göstermektedir. Vitamin B12 eksikliğinin, çocuk yaş

grubunda oksidan-antioksidan sistem üzerine etkileriyle ilgili çalışmalar sınırlıdır [6, 7].

Dünyanın yoksul bölgelerinde, özellikle kırsal bölge çocuklarında beslenme yetersizliğine bağlı vitamin B12 eksikliği sıklığının % 22-66 gibi yüksek bir oranda olduğu bilinmektedir [8, 9]. Amerika gibi gelişmiş ülkelerde bile vitamin B12 eksikliği sıklığı 18/1225 olarak bildirilmiştir [10].

Türkiye genelinde yapılmış bir çalışma olmasa da bölgesel olarak yapılmış çalışmalar vardır. Açıktur ve arkadaşları [11], İzmit ve İstanbul'da anne adaylarında vitamin B12 eksikliğini gebeliğin 13-17. haftasında %49, 28-32. haftasında %81, doğum sonrası 13-17. haftalarda %60 oranında saptamıştır.

Koç ve arkadaşları [12], Şanlıurfa'da çocuk hematoloji kliniğine başvuran 9 ay-12 yaş arası 203 çocukta %10,8 oranında vitamin B12 eksikliği saptamıştır.

Şanlıurfa'da yapılan bir çalışmada, vitamin B12 eksikliği sıklığı doğumdan hemen önceki günlerde gebe kadınlarda % 72,38 ve yenidoğan bebeklerde % 41,24 olarak bulunmuş, ayrıca anne ve bebek serum vitamin B12 düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır [13].

Uludağ Üniversitesi'nde yapılan çalışmada 2005-2006 yılları arasında değişik nedenler ile hematoloji polikliniğine başvuran 3980 olgunun 15'inde anamnez, klinik ve laboratuvar bulgular eşliğinde vitamin B12 eksikliği düşünülmüş, olguların %80'inin düşük sosyoekonomik düzeyli aileler olduğu ve vitamin B12'den fakir beslendiği saptanmıştır [14].

Ülkemiz ve gelişmekte olan ülkelerde vitamin B12 eksikliği önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çalışmamızda; Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde Ocak 2016- Ocak 2017 tarihleri arasında bir yıllık dönemde vitamin B12 eksikliği tanısıyla takip ve tedavi edilen hastalarımızın sosyoekonomik durum, klinik ve laboratuvar özelliklerinin incelenmesi, oksidan-antioksidan sistemler üzerine olan etkilerinin kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANEMİ

Eritrosit kitlesinin veya hemoglobin düzeyinin yaşa ve cinse göre normal değerlerin alt sınırlarının altına düşmesi anemi olarak tanımlanır [15].

2.1.1. Megaloblastik Anemi

Megaloblastik anemiler deoksiribonükleik asit sentezinde bozulma sonucu ortaya çıkan, periferik kanda makrositik anemi, kemik iliğinde inefektif hematopoez ve megaloblastik değişikliklerle karakterize bir grup hastalıktır. Çekirdek olgunlaşmasında ve hücre bölünmesinde gecikme nedeniyle vücut genelinde, özellikle hızlı büyüyen ve hücre yenilenmesi hızlı olan dokular etkilenir. Hematolojik bozukluklar (makrositik anemi, nötropeni, trombositopeni), sindirim sistemi mukozası bozuklukları, nörolojik bozukluklar ve büyüme – gelişme geriliğine yol açabilir (16).

Çocukluk çağındaki megaloblastik anemilerin %95'ten fazlası vitamin B12, folik asit veya ikisinin birlikte eksikliğine bağlıdır. Bu iki vitamin birlikte homosisteinin metioninine dönüştürülmesi, protein biyosentezi, metilasyon reaksiyonları ve nükleoproteinlerin sentezi için gerekli olan kofaktörlerdir. Eksiklikleri DNA sentezinde bozulmaya neden olur [16].

2.2. B12 VİTAMİNİ (KOBALAMİNLER)

2.2.1. B12 Vitamininin Tanımı, Tarihçesi ve Yapısı

Vitamin B12 suda eriyen, 1355,42 dalton moleküler ağırlığı olan, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen kırmızı renkli ve çeşitli türevleri bulunan bir vitamindir. Yapısında korrin halkası ve merkezde kobalt iyonu vardır. Tüm vitaminler içerisinde en büyük ve kompleks yapıya sahip olandır. Çok düşük dozlarda bile etki yapması yönünden en güçlü etkinlik gösteren vitamin olarak kabul edilir [17, 18]. Hematolojik bir terim olarak kobalamin ve vitamin B12 birbirlerinin yerine kullanılabilir. Siyanokobalamin, hidrosikobalamin ve glutatyonilkobalamin biyolojik olarak aktif olan metilkobalamin ve adenzilkobalamin için prekürsör görevi görürler [19].

Bu aktif koenzimler metabolik reaksiyonlara katılırlar. Siyanokobalamin bu grupta bulunan bileşikler içinde en dayanıklı formdur ve genellikle ticari olarak satılan vitamin B12 preparatları da bu bileşiği içermektedir [20, 21].

2.2.2. Vitamin B12 Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu

Vitamin B12'nin en önemli fonksiyonu hücrelerin bölünmesi için gerekli olan DNA yapımını sağlamaktır. Bu nedenle vitamin B12 eksikliğine en duyarlı olan sistemler hücre çoğalma hızının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemlerdir. İkinci önemli etkisi, santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemindeki bazı nöronların normal yapı ve fonksiyonlarını sürdürmelerini sağlamasıdır. Hematolojik ve nörolojik etkilerin birbirinden bağımsız olduğu düşünülmektedir.

Vitamin B12 eksikliğinde; folat kofaktörleri siklusu ve ona kenetli DNA sentezine yönelik reaksiyonlar yavaşlar veya durur. Bu durum kemik iliğindeki megaloblastik değişikliğin temelini teşkil eder. Eritrosit prekürsörü ana hücrelerde çekirdeklerin bölünmesi yavaşlarsa da sitoplazmanın olgunlaşma hızı bozulmaz. Sonuçta anormal yapılı büyük hücreler oluşur ve normoblastların yerini alır (megaloblastik eritropoez). Bu arada bazı hücreler parçalanır ve ölür (inefektif eritropoez) [18, 22].

Vitamin B12 eksikliğinde folat eksikliğinde olduğu gibi DNA içinde urasil birikimi ve yanlış yapılanma, bunun sonucunda kromozom hasarı oluşmaktadır [23]. Oluşan kromozom hasarının homosistein yüksekliği ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir.

2.2.3. Vitamin B12'nin Biyokimyasal Özellikleri

Koenzim olarak fonksiyon gösteren vitamin B12 bileşiklerinin hücre içinde sentezi için birkaç enzimatik reaksiyon gereklidir [24]. Vitamin B12 insanlarda iki reaksiyonda koenzim görevi görür.

I. Reaksiyon: Vitamin B12 bağımlı metiyonin sentaz enzimiyle metiyonin ve tetrahidrofolat oluşumu [1]. Reaksiyon zincirinde oluşan S-adenozilmetionin: Birçok reaksiyonda metil grup vericisidir, DNA ve RNA sentezinde fonksiyon görür.

II. Reaksiyon: Propiyonat katabolizmasında bir basamaktır. Vitamin B12 eksikliğine bağlı bu yolun hasarlanması ile plazmada ve idrarda metilmalonik asit seviyeleri artar.

Vitamin B12 bağımlı her iki reaksiyon iki tane toksik materyalin plazma seviyelerini düşürür. Bunlar: Homosistein ve metilmalonil CoA'dır [1].

2.2.4. Homosistein ve Metabolizması

Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında oluşan ve sülfür içeren bir aminoasittir [25]. Hiperhomosisteinemi sonucunda birçok patolojik durumun olduğu gösterilmiştir. Bunlardan bazıları apopitoz artışı, serebrovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, arteriol damarlarda intima kalınlaşması, aterotrombotik ve endotel fonksiyon bozuklukları ve oksidatif hasardır [26-29]. Bir çalışmada artan homosistein düzeyinin psikoz, ataksi, nöropati ve demanslı hastalarda güç fark edilen vitamin B12 eksikliğinin önemli bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür [30].

2.2.5. Vitamin B12 Emilimi, Taşınması ve Metabolizması

İnsanlar vitamin B12 prekürsörlerini gıdalarla almak zorundadırlar [31, 32]. Normal bir diyet günde ortalama 5-15 µg kadar B12 vitamini içermektedir. İnsanlarda ortalama olarak depo edilen vitamin B12 miktarı yaklaşık 2 mg kadar olup bunun önemli kısmı karaciğerde depo edilmektedir, günlük kayıp ise depo edilen miktarın % 0,1'i kadardır [32].

Majör emilim yolu olan aktif mekanizma ise, hayvansal gıdalarda bulunan vitamin B12'nin proteinlere bağlı olarak mideye alınması ile başlar. Vitamin B12, protein kısmından ayrılarak midede serbest hale geçer [21, 33]. Serbest haldeki vitamin B12'nin büyük bir kısmı, tükürük ve midenin parietal hücrelerinden salgılanan kobalofiline bağlanır ve geriye kalan az miktar ise intrinsik faktöre bağlanır [34].

Kobalamin pankreatik proteazların yardımıyla intestinal lümende serbest hale gelir. Serbest haldeki kobalamin, pankreatik sıvıda bulunan bikarbonatın pH değerini değiştirmesinin de etkisiyle intrinsik faktöre bağlanır [21, 34]. Bu yüzden pankreasın bikarbonat salgılanmasını etkileyen durumlar, vitamin B12 eksikliğinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [34]. Vitamin B12-IF kompleksi ileumun distal 80 cm'lik kısmına kadar parçalanmadan gelir. Distal ileuma geldiğinde ise B12 vitamini mukoza

epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan kubilin adı verilen spesifik reseptörüne bağlanır [35, 36].

Vitamin B12 enterohepatik dolaşımı intrinsik faktöre bağlıdır, intrinsik faktör yokluğunda B12 vitamininin tamamı feçesle atılır. Bu yüzden pernisiyöz anemili kişilerde vitamin B12 eksikliğinin gelişimi hızlıdır. İnsanda böbrek ve safra ile kayıp total vücut deposunun %0,1-0,2'dir. Bu miktar günlük diyet ile karşılanmaktadır [37].

2.2.6. Besinsel Kaynaklar

İnsan ince bağırsağında da bakteriler tarafından bir miktar vitamin B12 sentez edilir ve emilebilir. Buna rağmen sentez edilen ve emilen miktar değişen intestinal floraya bağlı olarak çok az ve yetersizdir. İnsanlar için vitamin B12 en önemli kaynakları karaciğer, glandüler dokular, kırmızı et, yumurta, peynir ve süt gibi hayvansal gıdalardır. Deniz ürünlerinde de vitamin B12 bulunmaktadır. Baklagiller hariç, bitkisel besinlerde normal olarak vitamin B12 bulunmaz [38]. Gıdaların çoğunda vitamin B12 ısıya dayanıklıdır ve besinin ısıtılması sonucu fazla kaybolmaz. İlaç olarak kullanılan vitamin B12 "Streptomyces Griseus" türü mantar kültürlerinden izolasyon yoluyla elde edilir [39].

İnsan için gerekli olan vitamin B12'nin hepsi hayvansal gıdalardan sağlandığından, diyetle yetersiz alımı eksikliğinin önemli bir sebebidir [40].

2.2.7. Vitamin B12 Gereksinimi

Vitamin B12 için alınması gereken günlük miktarlar yaş gruplarına göre Tablo 1'de verildi. Komplike pernisiyöz anemisi olmayan hastalara, vitamin B12 0,1 µg/gün kadar çok az miktarı bile parenteral verildiğinde minimal hematopoetik cevap oluşacaktır. Bu miktar eksikliğin bütün bulgu ve semptomlarını önler ve normal sınırlar içinde vitamin B12 serum seviyelerinin devamını sağlar. Fakat 0,1 µg'ın emilimini garanti altına almak için ağız yoluyla daha fazla vitamin B12 alımı gereklidir [40].

Tablo 1. Günlük vitamin B12 gereksinimi

Yaş grupları	Yaş	µg/gün
İnfant	0-6 ay	0,4
	7-12 ay	0,5
Çocuk	1-3 yaş	0,9
	4-8 yaş	1,2
	9-13 yaş	1,2
Adolesan	14-18 yaş	2,4

Bu konsantrasyonlar için önerilen temel alımlara ilaveten 2 µg günlük vitamin B12 alınması gerekir.

2.2.8. B12 Vitamin Eksikliği Nedenleri

Vitamin B12 eksikliği sebepleri üç ana başlık altında incelenebilir (Tablo 2) [15, 41].

Tablo 2. Vitamin B12 eksikliği sebepleri

A. Yetersiz B12 vitamini alımı Yeterli hayvansal gıda almama, vejeteryan beslenme alışkanlıkları B12 vitamini içeriği düşük gıdaların seçilmesi Özel diyet mamalarıyla beslenme Gebelik ve süt verme dönemlerinde annelerdeki eksiklik
B. Emilim defektleri İntrinsik Faktör yokluğu veya anormallığı Midenin cerrahi olarak çıkarılması Pernisiyöz anemi Konjenital İntrinsik Faktör yokluğu veya anormallığı Otoimmün poliglanduler sendrom tip I B12 vitamininin besinlerden salınımında yetersizlik Mide asit salgısı eksikliği: Asit salgısını engelleyen ilaçların kullanımı, Cerrahi rezeksiyon, Helicobakter Pylori enfeksiyonu Pankreas yetersizliği Bağırsak parazitleri: konakla yarışma veya inflamasyonla eksikliğe yol açarlar İnce bağırsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma: konakla yarışma yoluyla eksikliğe yol açarlar B12 vitamini emilimini azaltan ilaçların alınması Bağırsak mukozası bozuklukları (Crohn hastalığı, gluten enteropatisi, tropikal sprue) İleumun bir parçasının cerrahi olarak çıkarılması İmmerslund-Grasbeck sendromu
C. B12 vitamini taşınma ve metabolizmasında doğuştan bozukluklar Taşınma defektleri: Transkobalamin II eksikliği Haptokorrinlerin eksikliği Hücrel kobalamin kullanım defektleri: Adenosil kobalamin sentezindeki bozukluklar Metilkobalamin sentezindeki bozukluklar Her iki kofaktörün sentezinde bozukluklar

2.2.9. Vitamin B12 Eksikliğinin Bulguları

Çocuklarda vitamin B12 eksikliği halsizlik, yorgunluk, stomatit, gelişme geriliği veya irritabilite gibi spesifik olmayan klinik bulgular ile ortaya çıkar. En fazla etkilenen dokular, hızlı proliferasyon yapan hematolojik ve intestinal sistemlerdir. Ayrıca nörolojik semptomlar da sık görülür [15].

Hematolojik bulgular: Genellikle nötropeni ve trombositopeninin eşlik ettiği şiddetli makrositik anemi oluşur. Ortalama eritrosit hacmi (OEH) ve ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb) artmıştır, periferik yaymada hipersegmente nötrofiller ve oval makrositler mevcut olup, kemik iliği hiperselülerdir. Aneminin başlangıcı gizli ve yavaştır. Çoğunlukla halsizlik, zayıflama ve iştahsızlık dışında asemptomatiktir. Anemiye bağlı kalp yetmezliği ortaya çıkabilir [15, 42].

Gastrointestinal bulgular: İştahsızlık (%14-65), hafif kilo kaybı (%5-10), bulantı, kabızlık, periyodik ishal (%7-50), glossit ve pamukçuktan oluşur. Değişik yayınlarda pernisiyöz anemili hastaların yaklaşık %50'sinde kırmızı, ağrılı anormal dil olduğu ve anemi olmasa da bu semptomların oluşabileceği bildirilmiştir [15, 43].

Nörolojik bulgular: Nörolojik semptom ve bulguların ana nedeni sinir hücrelerindeki ilerleyici demiyelinizasyondur [41]. Bu durum mental ve motor gelişme geriliğine, baş tutma, gülümseme, konuşma, oturma ve yürüme gibi kazanılmış mental ve motor fonksiyonların kaybına, konvülziyona ve ileri dönemde komaya neden olur [4, 44]. Eğer B12 vitamin eksikliği tedavi edilmez ise nörolojik hastalık ilerleyicidir [15].

2.2.10. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısı

Anamnezde bebeğin beslenme şekli, ek gıdaya başlama zamanı ve annenin beslenme şekli öğrenilmeli, ayrıca cerrahi müdahale, hastalık ve parazit olup olmadığı araştırılmalıdır. Tam kan sayımı, kemik iliği incelemesi, serum vitamin B12 düzeyi, total homosistein düzeyi ve metilmalonik asit düzeyi ile vitamin B12 eksikliği tanısı konulduktan sonra etiyolojisine yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

Periferik yaymada anizositoz, poikilositoz ve fragmentasyonlu oval makrositik eritrositler ve hipersegmente nötrofiller görülür. Howell-Jolly cisimcikleri ve normoblastlar görülebilir [1].

Kemik iliği incelemesinde kemik iliği hiperselülerdir ve genellikle her üç seri elemanlarında megaloblastik değişiklikler görülür. Eritroid seride hiperplazi ve geç dönemde nükleuslu megaloblastik eritrositler, dev metamyelositler ve bantlar, artmış hipersegmente ve büyük megakaryositler bulunur [1].

Biyokimyasal bulgularda inefektif eritropoezin yansıması olarak artmış transferin saturasyonu, artmış laktat dehidrogenaz, bilirubin ve demir seviyeleri tespit edilir. Serum kolesterol, lipit, alkalen fosfataz, potasyum ve immünglobülin seviyeleri azalmış olabilir. Bu değişiklikler vitamin B12 eksikliğine spesifik değildir. Fakat vitamin B12 tedavisinden sonra düzelmeleri vitamin B12 yetersizliğine bağlı olduğunu gösterir [1].

Vitamin B12 serum düzeyinde vitamin B12 eksikliğinin direkt delili düşük serum vitamin B12 seviyesidir. Kullanılan metot ve laboratuvara bağlı olarak serum ve plazma vitamin B12 düzeyi değişebilir. Genellikle normal serum düzeyi aralığı 200-900 pg/ml'dir ve 200 pg/ml altındaki seviyeler hemen daima vitamin B12 yetersizliğini gösterir. Vitamin B12 yetersizliğinin tanısı, fonksiyonel vitamin B12 yetersizliğinin kanıtı olan artmış serum metilmalonik asit ve total homosistein seviyeleri ile doğrulanabilir [45].

2.2.11. B12 Eksikliği Tedavisi

Çocuklarda vitamin B12 eksikliğinin tedavisinde net bir protokol olmamakla birlikte, Whitehead ve arkadaşlarının [46] önerdiği tedavi şekli; çocuklar için siyanokobalamin önce iki gün süre ile 0,2 mcg/kg/gün verilip takibinde 1 hafta boyunca 1000 mcg/gün dozunda kas içi olarak verilir. Vücuttaki vitamin B12 depolarını doldurmak için devamında 100 mcg/hafta dozunda bir ay boyunca verilir.

Ağır anemisi olan hastalarda yüksek doz kobalamin kullanımı sonucu büyük olasılıkla şiddetli hipokalemi oluşur. Kobalamin başlangıçta 10 µg/gün 2-3 gün subkutan verilirse dahi hipokalemi olasılığına karşı dikkatli olunmalı ve potasyum desteği sağlanmalıdır [1, 41, 43].

Kliniğimizde uygulanan tedavi siyanokobalamin 5 yaş altındaki çocuklarda 100 µgr/doz, 5 yaş üstündeki çocuklarda 250 µgr/doz; 1 hafta boyunca her gün, 4 hafta boyunca haftada 1 kez, devamında ayda bir kez, toplamda en az 6 ay süreyle intramüsküler uygulama şeklindedir.

Vitamin B12 eksikliğinde prognoz; eksikliğin şiddetine ve süresine bağlıdır. Bu nedenle olabildiğince erken tanı konulup tedaviye başlanmalıdır.

2.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörüngede çiftler halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. İşte diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere radikal, serbest radikal veya oksidan moleküller denir [47].

2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında olduğu gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapıları olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir [48]. Dokuda artan bu metabolitler, bunların oluşturduğu lipid peroksidasyonu, protein ve deoksiribonükleik asit (DNA)'in oksidasyonu hücre membranının geçirgenliğinde artış ve hücre ölümü ile sonuçlanır [49].

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir [50]. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler.

Serbest radikaller ve toksik oksidanların insan vücudunda birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda rol aldığı çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.

Toksik etkisi olan bazı kimyasal ajanların karaciğer parankimi üzerine olan etkilerinde (etil alkol ve karbon tetra klorürün karaciğer üzerine, ozon, sigara dumanı ve hava kirliliğinin akciğer üzerine olduğu gibi), bleomisin, streptozotosin gibi ilaçların farmakokinetik süreçlerinde, hiperbarik oksijene maruz kalınan durumlarda,

iskemi-reperfüzyon hasarında, transplante organ veya deri fleplerinin reddinde, akut tübüler nekrozda, bazı enflamatuar hastalıklarda, yaşlanma, diabetes mellitus, ateroskleroz ve hipovolemik şok gibi birçok olayda serbest oksijen radikalleri rol alır [51]. En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır: O_2^- radikali (süperoksit), H_2O_2 (hidrojen peroksit), HO^- (hidroksil radikali).

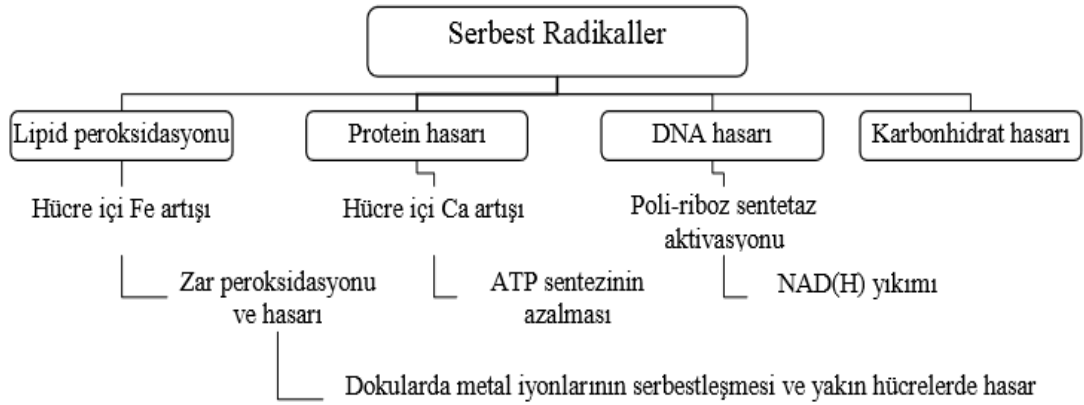
2.3.1.1.Malondialdehit: Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Malondialdehit bu özeliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir [52].

2.3.1.2.Ksantin Oksidaz: Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. reperfüzyon sırasında iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit ve süperoksit radikali oluşur. Ksantin oksidazın özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir [53].

2.3.1.3.Nitrik Oksit: Hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. L-argininden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla oluşmaktadır. Nitrik oksit; Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziste rol oynar [53].

2.3.2.Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücrenin; lipit, protein ve DNA'sında çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir (53) (Şekil 1).



Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin hücreye zararlı etkileri

2.3.3. Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır [53-55]. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal ve immün sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca; erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır [53-55].

2.4 ANTIOKSİDAN SİSTEMLER

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları vardır [56]. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim

olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz (GSH-PX), katalaz, glutatyon transferaz, glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir.

2.4.1. Katalaz

Peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırmaktadır. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Bulunduğu hücreye karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir [57, 58].

2.4.2. Glutatyon Peroksidaz

Pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde süperoksit dismutaz tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır [53].

2.4.3. Total Antioksidan Kapasite

En büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır [59, 60].

Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir. Bu yüzden kanın antioksidan stresini saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır [61] (şekil 2).

ROS molekülü	Başlıca kaynakları	Enzimatik savunma sistemleri	Ürünler
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	1- Elektron taşıma zincirinden elektronların kaçması 2- Aktive olan fagositler 3- Ksantin oksidaz 4- Flavoenzimler	Süperoksit dismutaz (SOD)	$H_2O_2 + O_2$
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	1- SOD aracılığıyla $O_2^{\cdot-}$ 2- NADPH-oksidad 3- Glikoz oksidaz 4- Ksantin oksidaz	Glutatyon peroksidad (GPx) Katalaz (CAT)	$H_2O + GSSG$ $H_2O + O_2$
Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	1- Geçiş metalleri (Fe, Cu) aracılığıyla $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2		
Nitrik oksit (NO)	Nitrik oksit sentezi	Glutatyon	GSNO (S-nitrozo glutatyon)

Şekil 2. Serbest oksijen radikallerinin kaynakları

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ

Çalışmaya Ocak 2016- Ocak 2017 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde vitamin B12 eksikliği tanısı konulup hastaneye yatırılarak ya da ayaktan tedavi edilen, süregelen ya da başka hastalığı olmayan çocuklar seçildi.

Çalışmaya; serum vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml altında ve homosistein düzeyi için oldukça duyarlı olarak bulunan 15 µmol/L üstünde olan çocuklar alındı [1, 62, 63].

Altta yatan herhangi bir kronik hastalığı olmayan, aktif enfeksiyonu, sigara veya herhangi bir madde bağımlılığı ve kronik ilaç kullanımı bulunmayan, daha önce vitamin B12 tedavisi almayan olgular çalışmaya alındı.

Vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml altında olan 96 çocuğun 2'si çalışmaya dahil olmak istemediği için, 2'si ailesel hiperkolesterolemi ve Hashimoto tiroiditi tanısı aldığı için, 52 çocuk serum vitamin B12 eksikliği olmasına karşın homosistein değerinin 15 µmol/L altında olması nedeniyle çıkarıldı. Kalan 40 çocuk çalışma kapsamına alındı ve sonuçları değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak Çocuk Polikliniği'ne rutin kontrol amacıyla başvuran, vitamin B12 eksikliği ve kronik hastalığı olmayan, homosistein düzeyi 15 µmol/L altında olan 40 çocuk dahil edildi.

Çalışmaya alınan tüm hasta ve kontrol grubu prospektif olarak incelendi.

Tüm olguların araştırma için özel hazırlanmış formlara ayrıntılı anamnezleri, geliş şikayetleri, tanı konulmuş bir hastalığı ya da sürekli kullandığı bir ilaç olup olmadığı, sosyoekonomik düzeyi sorgulanıp kaydedildi.

Vitamin B12 eksikliği olan hastalara tedavi verildi. Vitamin B12 eksikliği tanısı alan çocuklarda etyolojiye yönelik ileri tetkikleri için yapılan testler sırasında (çölyak hastalığı, Helicobacter Pylori vs.) hastalardan antioksidan kapasite ölçümü için 4 ml tam kan alındı. Hastadan antioksidan kapasite ölçümü için yeniden kan örneği almak amacıyla damara kesinlikle girilmedi. Kontrol grubundan da 4 ml tam kan serum ayırdıktan sonra 4000 devirde 5 dakika santrifüj edildi, -80°C de saklandı ve

çalışma olduğu gün soğuk zincire uyarak çalışılacak laboratuvara –Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı -iletildi.

3.2. ARAÇ – GEREÇ VE LABORATUAR YÖNTEMLERİ

Cihazlar

B. Braun Melsungen marka homojenizatör

Heraus marka Labofur 200 model marka soğutmalı santrifüj

Spektrofotometre; Unicam marka, Helios model

Ayarlanabilir ve sabit otomatik pipetler, cam pipetler

Vestel marka derin dondurucu (-20 C) ve Arçelik marka soğutucu (+4 C)

Hassas elektronik tartı (Sartorius Basic Marka)

Roche Modular Oto Analizör

Vitamin B12 eksikliği tanısı için tüm tetkikler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda, oksidan ve antioksidan kapasite ölçümü için yapılan tetkikler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışıldı.

3.2.1. Serum Nitrik Oksit Seviyeleri ve Nitrik Oksit Sentaz Aktiviteleri

Griess yöntemi ile ölçülmüştür. Nitrik oksit, L-argininden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla oluşmaktadır. Bu deneyin prensibi, L-argininden oluşan nitrik oksitin asidik ortamda sülfanilik asidin diazotizasyonu ve naftiletilediamin ile reaksiyona girmesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyonda oluşan renkli çözeltinin absorbansı spektrofotometrede, 540 nm dalga boyunda okunur. Bulunan değer nitrik oksit konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Birim zamanda oluşan nitrik oksit miktarı üzerinden nitrik oksit sentaz aktivitesi hesaplanır.

3.2.2.Total Serum Antioksidan Kapasiteleri

2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) serbest radikal temizleme aktivitesi ölçülerek değerlendirildi. Test, serumun asetonitril ile deproteinizasyonu sonrasında gerçekleştirildi. 2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil toplam antioksidan kapasitesi ölçütüdür, 517 nm'de absorbans azalması; DPPH tükenmesinin % 'sine tekabül eder.

3.2.3. Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi:

Dahle'nin spektrofotometrik yönteminin temeli MDA ile tiyobarbiturik asidin oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanır.

3.2.4. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Bu yöntem hidrojen peroksitin 240 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerinin katalaz enziminin katalizlediği reaksiyon sırasında azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır. Absorbanstaki dakikalık düşme hızı enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır.

3.2.5. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Bu yöntem indirgenmiş glutasyon (GSH) ve hidrojen peroksit'in, GSH-PX enziminin etkisiyle su ve yükseltgenmiş glutasyon'a (GSSG) dönüşümünü izleyen basamakta GSH redüktaz enziminin NADPH oksidasyonunu, oluşan GSSG miktarına bağlı olarak gerçekleştirmesine dayanır. Bu reaksiyonda GSSG ürünü oluştuğunda NADPH yükseltgenerek NADP'ye dönüşecektir. Spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADPH absorbansının düşmesinin izlenmesiyle glutasyon peroksidaz aktivitesi belirlenir.

3.2.6. Ksantin Oksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Bu yöntemin ilkesi ksantinden ürik asit oluşumunun 293 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Oluşan ürik asidin absorbansı ksantin oksidaz aktivitesiyle doğru orantılıdır.

3.2.7. Vitamin B12 Düzeyi Ölçüm Yöntemi

Hastanemiz merkez laboratuvarında, standart tüplere alınan iki mililitre venöz kandan serum elde edilerek; Roche cobas e 601 ve e 602 ile Elektrokemilüminesans İmmünolojik Testi (ECLIA) yöntemiyle çalışıldı.

3.2.8. Homosistein Düzeyi Ölçüm Yöntemi

Dış laboratuvarında, EDTA'lı tüpe alınan 1 ml venöz kandan serum elde edilerek soğuk ortamda gönderildi, ECLIA yöntemiyle çalışıldı.

Çalışmamızın yapıldığı 2016-2017 tarihleri arasında TÜRK-İŞ verilerine göre dört kişilik ailenin açlık sınırı 1370,00 TL, net asgari ücret ise 1300,00 TL olarak tespit edildi. Sosyoekonomik düzey; ailenin aylık geliri asgari ücret veya altında ve asgari ücret üstünde olanlar olmak üzere sınıflandırıldı [64].

Bu çalışma S.B.Ü. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama ve Koordinasyon Kurulu'nun (EPK) 04.05.2016 tarihli, 639 numaralı toplantısında 5374 numaralı kararı ile alınan onay doğrultusunda yürütüldü (Ek 1).

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 20.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler ile (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı analizler ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verildi. Sayısal veriler için normal dağılım gösterenlerde Bağımsız Örnek T test, normal dağılımda olmayanlar için ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin sıklık oranları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Pearson's Ki-kare ve Fisher's uygunluk testleri kullanıldı. Ölçümler arasındaki korelasyonlar Pearson ve Spearman Korelasyon Testleri ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan 80 hastadan 40'ı (%50'si) hasta grubunu, 40'ı (%50'si) kontrol grubunu oluşturmaktaydı.

Hastaların yaşları 12-18 yaş arasında idi. Hastaların 15'i (%37,5) erkek ve 25'i (%62,5) kız idi. Kontrol grubunun yaşları 12-18 yaş arasında ve 8'i (%20) erkek, 32'si (%80) kız idi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet açısından karşılaştırılması

Özellikler*	Hasta grup (n= 40)	Kontrol grubu (n= 40)	P
Yaş (yıl)	16,08 ± 1,29	15,38 ± 1,73	0,076
Cinsiyet Kız/Erkek	25/15	32/8	0,084

*Veriler ortalama ± standart sapma ve sayı olarak sunuldu. $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.

Sosyoekonomik düzey; Türkiye İşçi Sendikaları Konfederasyonu (TÜRK-İŞ) verilerine göre ailenin aylık geliri asgari ücret veya altında olanlar ve asgari ücret üstünde olanlar olmak üzere sınıflandırıldı. Çalışmaya alınan 80 olgunun 32'sinin (%40) aylık geliri asgari ücret ve altında saptandı. Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sosyoekonomik düzey açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P=0,648$) (Tablo 4).

Tablo 4. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun sosyoekonomik düzey açısından karşılaştırılması

Sosyoekonomik Düzey*	Hasta grup (n= 40)	Kontrol grubu (n= 40)	P
Asgari ücret üstü (n, %)	23 (%57,5)	25 (%62,5)	0,648
Asgari ücret veya altı (n, %)	17 (%42,5)	15 (%37,5)	

* $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.

Çalışmaya alınan hasta grup şikayetleri açısından değerlendirildi. Hasta grubunun %45'ine aile isteği üzerine vitamin B12 düzeyine bakıldı, %22,5'i halsizlik, %15'i unutkanlık, %5'i çok uyuma, %5'i dikkat eksikliği, %5'i ellerde titreme, %2,5'i senkop şikayetleriyle başvurdu (Tablo 5).

Tablo 5. Çalışmaya alınan olguların başvuru şikâyet yüzdeleri

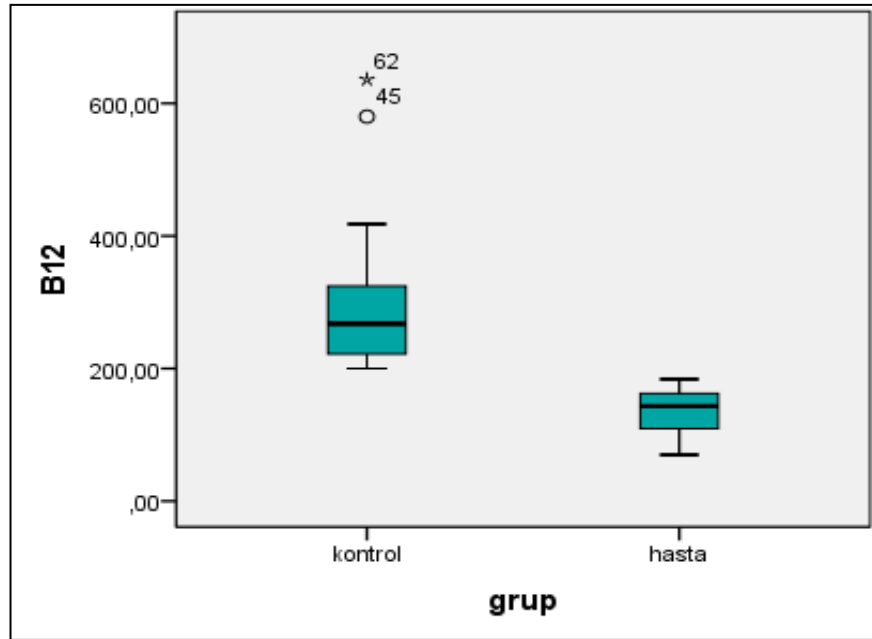
Özellik*	Çok uyuma	Dikkat eksikliği	Ellerde titreme	Halsizlik	Senkop	Unutkanlık	Aile isteği
Hasta grup (n, %)	2 %5	2 %5	2 %5	9 %22,5	1 %2,5	6 %15	18 %45

Hasta ile kontrol grubu serum vitamin B12 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında hasta grubundaki olguların serum vitamin B12 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptandı (Hasta grubunda serum vitamin B12 düzeyi $137,47 \pm 31,32$ pg/ml ve kontrol grubunda serum vitamin B12 düzeyi $290,35 \pm 94,67$ pg/ml, $P < 0,001$) (Tablo 6, Şekil 3).

Tablo 6. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun vitamin B12 ile homosistein düzeyleri açısından karşılaştırılması

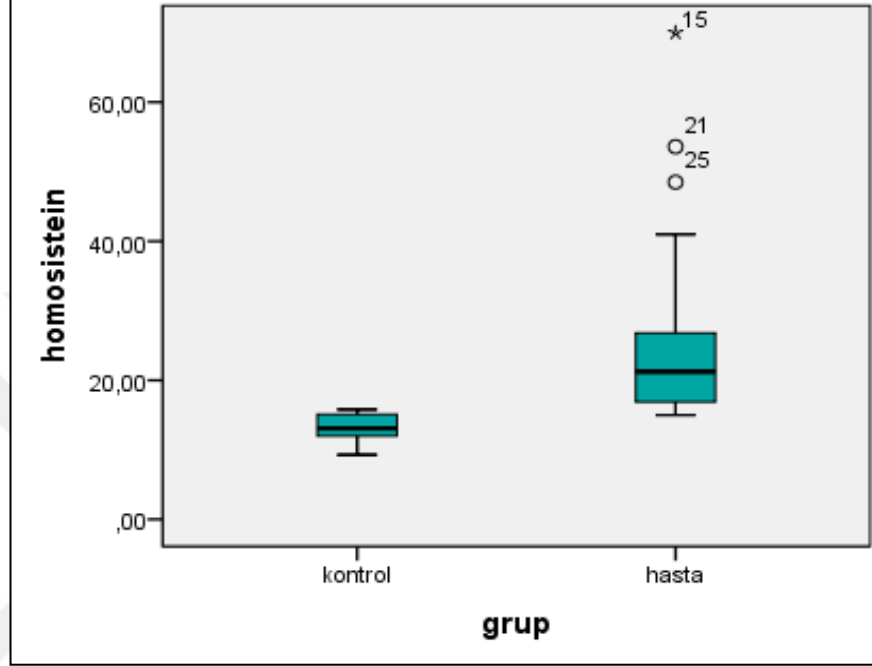
Özellik*	Hasta grup (n= 40)	Kontrol grubu (n= 40)	P
Vitamin B12 düzeyi (pg/ml)	$137,47 \pm 31,32$	$290,35 \pm 94,67$	$<0,001$
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	$24,72 \pm 11,92$	$13,14 \pm 1,82$	$<0,001$

*Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.



Şekil 3. Hasta grup ve kontrol grubundaki çocukların vitamin B12 düzeyleri

Hasta ile kontrol grubu homosistein düzeyleri açısından karşılaştırıldığında hasta grubundaki olguların homosistein düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (Hasta grubunda homosistein düzeyi $24,72 \pm 11,92 \mu\text{mol/L}$ ve kontrol grubunda homosistein düzeyi $13,14 \pm 1,82 \mu\text{mol/L}$, $P < 0,001$) (Tablo 6, Şekil 4).



Şekil 4. Hasta grup ve kontrol grubundaki çocukların homosistein düzeyleri

Cinsiyetler serum vitamin B12 düzeyi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P > 0,05$) (Tablo 7). Erkek ve kız cinsiyet homosistein düzeyi açısından karşılaştırıldığında erkek cinsiyette homosistein düzeyinin kız cinsiyete göre daha yüksek olduğu saptandı (Kız cinsiyette $16,99 \pm 7,43 \mu\text{mol/L}$ ve erkek cinsiyette $23,74 \pm 14,32 \mu\text{mol/L}$, $P = 0,014$).

Tablo 7. Cinsiyetler arası parametrelerin karşılaştırılması

Özellik*	Kız (n= 57)	Erkek (n= 23)	P
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	16,99 \pm 7,43	23,74 \pm 14,32	0,014
Vitamin B12 (pg/ml)	220,79 \pm 105,03	196,87 \pm 101,82	0,281

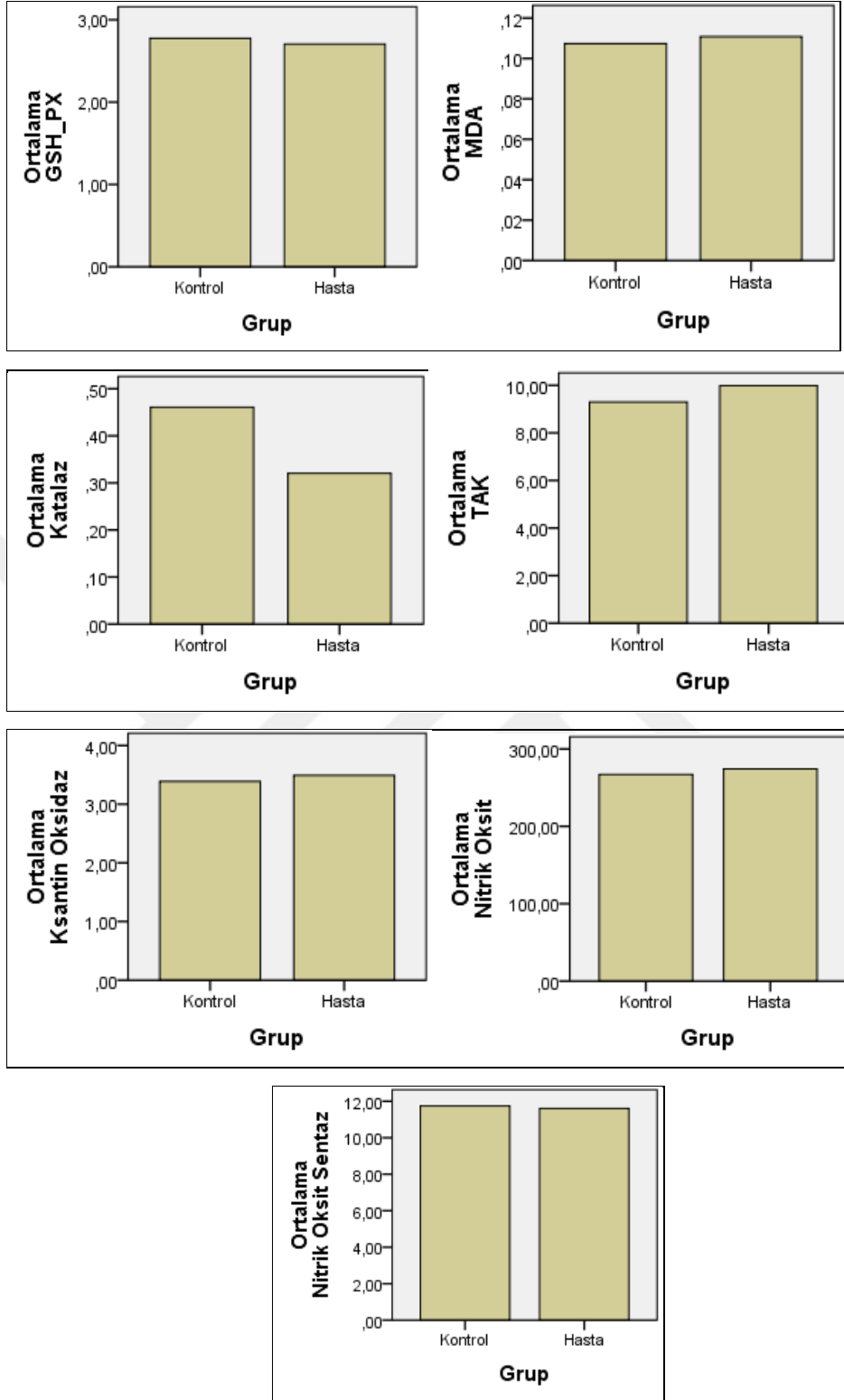
*Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.

Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında total antioksidan kapasite düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P > 0,05$) (Tablo 8, Şekil 5). Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında oksidatif stres göstergesi olan; malondialdehit, ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz, nitrik oksit düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P > 0,05$). Hasta grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında antioksidan göstergeler olan; katalaz, glutatyon peroksidaz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P > 0,05$) (Tablo 8, Şekil 5).

Tablo 8. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun total antioksidan kapasite, oksidan ve antioksidan parametreler açısından karşılaştırılması

Özellik*	Hasta grup (n= 40)	Kontrol grubu (n= 40)	P
TAK (%redüksiyon)	9,9 \pm 4,15	9,3 \pm 4,46	0,273
MDA (nmol/mg)	0,11 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,455
Katalaz (IU/mg)	0,32 \pm 0,18	0,46 \pm 0,41	0,077
Ksantin oksidaz (mIU/g)	3,49 \pm 0,88	3,38 \pm 1,19	0,603
Nitrik oksit sentaz (IU/ml)	11,6 \pm 2,37	11,74 \pm 1,70	0,765
Nitrik oksit (μM)	274,20 \pm 42,73	266,97 \pm 39,48	0,434
GSH-PX (IU/g)	2,70 \pm 0,69	2,77 \pm 0,66	0,649

*Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. GSH-PX: glutatyon peroksidaz, MDA: malondialdehit, TAK: total antioksidan kapasite. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.



Şekil 5. Hasta ve kontrol grubunun oksidan-antioksidan parametreleri dağılımları

Parametreler arasında korelasyonlar incelendiğinde; vitamin B12 ile homosistein arasında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli zıt korelasyon saptandı ($P<0,001$) (Tablo 9). Vitamin B12 ile glutatyon peroksidaz, malondialdehit, katalaz, total antioksidan kapasite, ksantin oksidaz, nitrik oksit, nitrik oksit sentaz arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($P>0,05$) (Tablo 9). Homosistein ile glutatyon peroksidaz, malondialdehit, katalaz, total antioksidan kapasite, ksantin oksidaz, nitrik oksit, nitrik oksit sentaz arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($P>0,05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Parametrelerin korelasyon sonuçları

Correlations										
Spearman's rho*		B12	Homosistein	GSH-PX	MDA	Katalaz	TAK	Ksantin oksidaz	Nitrik oksit	Nitrik oksit sentaz
B12	r	1,000	-,709**	-,002	-,056	,156	-,093	-,015	-,151	-,036
	P	.	,000	,982	,621	,167	,413	,897	,181	,749
Homosistein	r	-,709**	1,000	-,031	-,012	-,106	,215	,059	,198	,151
	P	,000	.	,786	,917	,352	,055	,601	,078	,180

*r=korelasyon katsayısı. GSH-PX: glutatyon peroksidaz, MDA: malondialdehit, TAK: total antioksidan kapasite. $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark var.

Korelasyon katsayısı (r); 0-0,29=zayıf, 0,3-0,49=düşük, 0,5-0,69=orta, 0,7-0,89=kuvvetli ve 0,9-1=çok kuvvetli ilişki olarak kabul edildi.

5. TARTIŞMA

Vitamin B12 eksikliği ilk kez 1962 yılında Jadhav ve ark. [65] tarafından tanımlandıktan sonra, araştırmacıların ilgisi B12 vitamini eksiklik nedenleri ve eksiklik durumunda görülen klinik bulgulara yönelmiştir.

Vitamin B12 başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve çeşitli türevleri bulunan bir vitamindir. İnsan, ihtiyacı olan B12 vitaminini sentez edemez. Diyetle yetersiz alımı vitamin B12 eksikliğinin önemli bir sebebidir [1].

Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği düşünülmesi, tanısının konulması ve tedavi edilmesi önemlidir. Tedavi maliyeti oldukça düşük olmasına karşın, tedavide gecikme derin anemi, gastrointestinal semptomlar, geri dönüşümsüz nörolojik hasar gibi oldukça ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir [1, 38, 66-69].

Dünyada sosyoekonomik düzeyi düşük bölgelerde yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliği %22-65 arasında bulunmuştur [70-73]. Türkiye’de vitamin B12 eksikliği sıklığı ile ilgili yapılan çalışmalar vardır. Wetherilt ve arkadaşlarının [74] 1992 yılında yaptığı çalışmada 7-17 yaş grubunda 960 çocukta vitamin B12 eksikliği %5,9 oranında saptanmıştır. Şanlıurfa’da çocuklarda bu oran %10,8 [12], Açıktur ve arkadaşlarının [11] çalışmasında İstanbul-İzmit’teki gebelerde %48,8 olarak bulunmuş, anne ve bebek serum vitamin B12 düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. Şanlıurfa’da 180 gebe ve bebeklerinden yapılan çalışmada; gebelerde %72, bu annelerin bebeklerinde ise %41 olarak saptanmıştır [13]. Çalışmamızda ise hasta grup ve kontrol grubu arasında sosyoekonomik düzey-aylık gelir açısından anlamlı fark bulunmadı.

Homosistein; metiyonin metabolizmasının ara bir ürünü olan ve sülfidril içeren bir aminoasittir [1]. Vitamin B12; metilmalonik asidin süksinil koenzim A’ya ve homosisteinin metiyonine çevrilmesinde rol oynadığı için, vitamin B12 eksikliğinde metilmalonik asit ve homosistein birikir [2, 3]. İnsan plazmasında homosistein için 15 ($\mu\text{mol/L}$) ve altı düzeyler normal kabul edilmektedir [75-77].

Homosisteinin etkilerini oksidatif hasar yaratarak gösterdiğini ortaya koyan kanıtlar da giderek artmaktadır. Homosistein plazmaya katılınca hızlıca disülfid homosistein veya homosistein tiolactona okside olur. Bu reaksiyon sırasında hidrojen peroksit ve süperoksit radikali gibi reaktif oksijen ürünleri oluşur. Oluşan hidrojen

peroksit, damar endotelinde hasara neden olurken süperoksit radikalleri de hem endotel hem de LDL partiküllerini etkileyerek lipit peroksidasyonunu başlatır [78-80].

Normal endotel hücreleri, homosisteinin toksik etkilerini ortadan kaldırmak için homosisteini bağlayan nitrik oksit salgılar. Nitrik oksidin bu koruyucu etkisi, endotelin uzun dönemli hiperhomosisteinemiye maruz kalması sonucunda bozulur çünkü homosistein; lipit peroksidasyonuna neden olarak endotelial nitrik oksit sentaz salınımını azaltır. Sonuçta nitrik oksidin endotelial üretimindeki bozulma; endoteli homosistein kökenli oksidatif hasara maruz bırakır ve endotel fonksiyon bozukluğu ortaya çıkar [78, 79, 81].

Plazma homosistein konsantrasyonu ile yaş ve cinsiyetin yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Erkeklerde homosistein düzeyi kadınlara göre az da olsa yüksektir; bu etki kadınlarda östrojenin koruyucu etkisine bağlanmaktadır [63, 82].

Çalışmamızda kız cinsiyette homosistein düzeyinin erkeklere göre anlamlı düşük olması literatürü desteklemektedir.

Çalışmamızda hasta grubunu oluştururken vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml altında, homosistein düzeyi 15 µmol/L üstünde olan olgular seçildi. Literatüre bakıldığında; homosistein veya metilmalonik asit yüksekliğinin düşük vitamin B12 düzeyine eşlik etmesi tanıyı güçlendirmektedir [2, 3]. Savage ve arkadaşlarının [83] 406 olguluk çalışmalarında tek başına vitamin B12 düzeyi ile %10-26 yanlış tanı konulabileceği belirtilmiş, metilmalonik asit ve homosistein çalışılması ile duyarlılığın % 99,8 ulaşabileceği belirtilmiştir. Vitamin B12 eksikliğinde yükseldiği bilinen homosisteinin in vitro çeşitli hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda, özellikle yüksek konsantrasyonlarda apoptozise neden olduğu rapor edilmiştir. Homosisteinin bu etkisini pro-oksidan özelliği ile yaptığı ileri sürülmüştür [84, 85].

Yapılan bir diğer çalışmada farklı homosistein düzeylerinin insan lenfosit hücrelerinde apoptotik proteinler ve antioksidan sistem üzerine olan etkisinde anlamlı bir fark bulunamamıştır [86]. Bu bilgiler ışığında vitamin B12 eksikliğinin oksidan ve antioksidan parametrelere etkisini araştırdığımız çalışmamızda homosistein yüksekliği olan hastaların çalışmaya alınmasının daha doğru sonuçlar verebileceğini düşündük.

Vitamin B12 eksikliğinin DNA hasarı-oksidan-antioksidan etkisi üzerine yapılan bir çalışmada; hem çocuklar hem de anneleri için serum B12 vitamin seviyesinin 200 pg/ml'nin altında olması eksiklik olarak kabul edilmiş, 2 yaş altı-üstü,

120 pg/ml altı-üstü olmak üzere gruplandırılmış, tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılmış; eksiklik bulunan çocuklarda vitamin B12 tedavisi ile total antioksidan kapasite düzeyinde artma, total oksidan seviye ve lipid hidroperoksit düzeyinde azalma ve sonuçta oksidatif stres indeks değerinde belirgin düşme olduğu görülmüştür. Oksidatif stres üzerine B12 vitamininin direkt etkisi gösterilememiş. Çalışmada 2 yaş altında vitamin B12 eksikliği olanlarda antioksidan kapasite yüksek bulunmuş; bu da anne sütünün antioksidan özelliğinin olmasıyla ilişkilendirilmiştir [87].

Çalışmamızda da bu çalışma sonucuyla benzer olarak vitamin B12'nin oksidatif stres üzerine etkisinin olmadığı gösterildi. Tedavi sonrası oksidan-antioksidan kapasite açısından değerlendirmemiş, beslenme alışkanlığını detaylı sorgulamamış olmamız total antioksidan kapasite yorumunda bizi kısıtlamış olabilir.

Yapılan bir çalışmada vitamin B12 eksikliği olarak 211 pg/ml eşik değer olarak alınmış, vitamin B12 eksikliği olan 51 hasta ile 53 kontrol grubu karşılaştırılmış, plazma glutatyon ve total antioksidan kapasite düzeyi vitamin B12 eksikliği olan grupta anlamlı düşük, malondialdehit düzeyi anlamlı yüksek saptanmıştır [88].

Yapılan bu çalışmalarda vitamin B12 eksikliği tanımında sadece serum B12 düzeyi kullanılmış, çalışmadaki olguların homosistein düzeyine bakılmamıştır. Çalışmamızda vitamin B12 eksikliği tanısında homosistein düzeyini de referans olarak almamız yapılan çalışmalardan farklılık göstermektedir. Yine farklı olarak çalışmamızda hasta grup ve kontrol grubu arasında total antioksidan kapasite ve oksidatif stres parametreleri açısından anlamlı fark yoktu bunu hasta seçim kriterlerimizin farklı olmasıyla ilişkilendirdik.

Literatüre bakıldığında vitamin B12'nin güçlü antioksidan özelliği olan bir vitamin olduğuna dair güçlü deliller saptanmadı [89, 90] ancak homosistein üzerinden dolaylı çıkarım yapılan çalışmalar mevcuttur [75]. Araştırmalarda vitamin B12 eksikliğinin oksidatif etkilerinden homosisteinin sorumlu olduğu bildirilmiştir [25, 26, 78, 91].

Yüce ve ark. [92] periton içi homosistein verilen ratların plazma ve doku MDA değerleri incelendiğinde homosistein uygulanan ratların plazma malondialdehit değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığını; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz aktivitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bu sonuç artan homosistein miktarının, antioksidan enzimlerden biri olan glutatyon

peroksidazın aktivitesini azaltarak, lipit peroksidasyonunun oluşumuna neden olduğu görüşünü destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir.

Huang ve arkadaşlarının [93] yaptıkları çalışmaya göre, düşük folat içeriği ve bunu takiben yüksek plazma homosistein konsantrasyonları, ratlarda lipit peroksidatif hasarla beraber oksidatif stres yaratmıştır. Plazma homosistein düzeylerinin artması gibi güçlü bir oksidan etkinin varlığını veya hepatik antioksidan enzim fonksiyonlarının azalması ile hepatik antioksidan mekanizmanın gücünün de azalması ile oksidatif hasarın şiddetlenmesini göstermişlerdir.

Mosharov ve ark. [94] insan karaciğer hücresinde homosisteinin glutatyon sentezini azaltarak, glutatyon antioksidan savunma sisteminin intraselüler inaktivasyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Yine ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada homosistein verilen ratlarda, plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, homosistein grubunun eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur [95].

Yapılan çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda hasta grup ve kontrol grubu arasında oksidan antioksidan parametreler açısından anlamlı fark bulunmadı. Literatürde homosisteinin oksidan etkisini araştıran rat çalışmaları bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda homosistein 30 gün boyunca kilogram başına 1 mg verilerek oksidatif stres oluşturularak yapılmıştır.

Çalışmamızda rat çalışmalarından farklı olarak oksidan parametrelerden malondialdehit, ksantin oksidaz, nitrik oksit ve nitrik oksit sentaz ile antioksidan parametrelerden glutatyon peroksidaz ve total antioksidan kapasite gibi detaylı parametreler birlikte çalışılmıştır.

Erişkinde vejeteryanlarda vitamin B12, homosistein, antioksidan kapasite üzerine yapılan çalışmada serum homosistein düzeyinin vejeteryanlarda anlamlı olarak artmış (15 µmol/L üstü) olduğu, vitamin B12 ve folat düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadığı, vitamin B12 düzeyinin homosistein düzeyiyle zıt korelasyon; total antioksidan kapasiteyle pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışmada sadece 5 hastada vitamin B12 eksikliği saptanmıştır [7]. Çalışmada vitamin B12 eksikliğinin az sayıda hastada olması bize; vitamin B12 ile antioksidan kapasite arasında ilişki kurulmasında yetersiz kalacağını düşündürmüştür.

Vitamin B12 düzeyi ile homosistein arasında zıt korelasyonun gösterildiği birçok çalışma vardır [96-98]. Çalışmamızda benzer olarak vitamin B12 ile homosistein arasında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli zıt korelasyon saptandı.

Çalışmamızda çocukluk çağında vitamin B12 eksikliğinin oksidan parametreler ile antioksidan parametreler üzerine etkisi olduğu gösterilememiştir. Olgu sayısı arttırılarak, farklı yaş grupları ve daha düşük vitamin B12 seviyeleri ile tedavi sonrasında da değerlendirileceği farklı çalışmalara gereksinim duymaktayız.



6. SONUÇLAR

1- Çalışmamızda sosyoekonomik düzey ile vitamin B12 eksikliği arasında ilişki olmadığı saptandı.

2- Hasta grubu ile kontrol grubu arasında eksiklik olmayan çocuklar karşılaştırıldığında yaş ve cinsiyet açısından fark olmadığı saptandı.

3- Homosistein ve serum vitamin B12 düzeyi arasında kuvvetli zıt korelasyon olduğu saptandı.

4- Hasta grubu ile kontrol grubu arasında total antioksidan kapasite, oksidan ve antioksidan parametreler açısından fark olmadığı saptandı.

Sonuç olarak; olgu sayısı artırılarak, farklı yaş grupları ve daha düşük vitamin B12 seviyeleri ile tedavi sonrasında da değerlendirileceği farklı çalışmalara gereksinim duymaktayız.

KAYNAKLAR

1. Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D. Nathan and oski's hematology of infancy and childhood. 6 th ed. 2003, Philadelphia: W-B Saunders Comp. 385-415.
2. Stabler SP, Young NS, Gerson SL, High KA, eds. Megaloblastic anemias: pernicious anemia and folate deficiency. Clinical hematology. 2006, Philadelphia: Mosby. 242-251.
3. Stabler SP, Erdman Jr, John W, Ian A, Steven H. Present knowledge in nutrition: Vitamin B12. 10 th ed. 2012, New York: Wiley-Blackwell. 343-358.
4. Charles A Hall. Function of vitamin B12 in the central nervous system as revealed by congenital defects. American journal of hematology, 1990. 34(2): p. 121-127.
5. Heaton EB, Edward EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Lindenbaum J, et al., Neurologic aspects of cobalamin deficiency. Medicine, 1991. 70(4): p. 229-245.
6. Makarov VG, Makarova MN, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. Voprosy pitaniya, 2005. 74(1): p. 10-13.
7. Herrmann W, Schorr H, Purschwitz K, Rassoul F, Richter V. Total homocysteine, vitamin B12, and total antioxidant status in vegetarians. Clinical chemistry, 2001. 47(6): p. 1094-1101.
8. Allen LH, Rosado JL, Casterlin JE, Martinez H, Lopez P, Munoz E, et al., Vitamin B-12 deficiency and malabsorption are highly prevalent in rural Mexican communities. The American journal of clinical nutrition, 1995. 62(5): p. 1013-1019.
9. Siekmann JH, Allen LH, Bwibo NO, Demment MW, Murphy SP, Neumann CG, et al., Kenyan school children have multiple micronutrient deficiencies, but increased plasma vitamin B-12 is the only detectable micronutrient response to meat or milk supplementation. The Journal of nutrition, 2003. 133(11): p. 3972-3980.
10. Rasmussen SA, Fernhoff PM, Scanlon KS. Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. The Journal of pediatrics, 2001. 138(1): p. 10-17.
11. Ackurt F, Wetherilt H, Löker M, Hacibekiroğlu M. Biochemical assessment of nutritional status in pre-and post-natal Turkish women and outcome of pregnancy. European journal of clinical nutrition, 1995. 49(8): p. 613-622.
12. Koç A, Koçyiğit A, Ulukanlıgil M. Şanlıurfa yöresinde 9-12 yaş grubu çocuklarda B12 vitamini ve folik asit eksikliği sıklığı ile bağırsak solucanlarıyla ilişkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 2005. 48: p. 308-15.
13. Koc A, Kocyiğit A, Soran M, Demir N, Sevinc E, Erel O, et al., High frequency of maternal vitamin B12 deficiency as an important cause of infantile vitamin B12 deficiency in Sanliurfa province of Turkey. European journal of nutrition, 2006. 45(5): p. 291-297.

14. Baytan, B. Özdemir Ö, Erdemir G, Güneş A. Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği klinik bulgular ve tedavi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2007. 33 (2): p. 61-64.
15. Watkins D, Whiteheat VM, Rosenblatt DS, Orkin SH. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood: Megaloblastic anemia. 7 th ed. 2009, Philadelphia. 467-521.
16. Minnet C, Koc A, Aycicek A, Kocyigit A. Vitamin B12 treatment reduces mononuclear DNA damage. Pediatrics International, 2011. 53(6): p. 1023-1027.
17. Coskun T. B12 vitamini. Katkı Pediatri Dergisi, 2003. 25: p. 419-433.
18. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji: Megaloblastik anemilere karşı kullanılan ilaçlar. sekizinci basım. 1998, Hacettepe-tas kitapevi. 1580-8.
19. Aksoy A. Beslenme Biyokimyası. birinci basım. 2000, Ankara: Hatipoğlu Basım ve Yayım. 315-462.
20. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's Biyokimya: Vitaminler. ikinci basım. 1997, İstanbul: Nobel tıp kitabevleri. 319-42.
21. Miller SM, Mears M. Nutritional Status Assessment: Clinical Chemistry Concept and Applications. 2003, New York: Mc Graw Hill. 579-611.
22. Murray RK, Granner DK, Mayes PA. Harper's Biochemistry. 25 th ed. 2000, Appleton& Lange.
23. Wickramasinghe SN , Fida S. Bone marrow cells from B12 vitamini and folatedeficient patients misincorporate uracil into DNA Blood. 1994. 83: 1656-66.
24. Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The natural history of the inherited methylmalonic acidemias. New England Journal of Medicine, 1983. 308(15): p. 857-861.
25. Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase in vascular disease, neural tubedefects and colon cancer. Vol. Chapter 6. 1998, Europharma.
26. Fattal-Valevski A, Bassan H, Korman SH, Lerman-Sagie T, Gutman A, Harel S. Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: importance of early diagnosis. Journal of child neurology, 2000. 15(8): p. 543-4.
27. Engbersen AMT, Franken D, Boers GHJ. Methylenetetrahydrofolatereductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. Am J Hum Genet. 1995. 56: p. 142-50.
28. Hademenos GJ, Alberts MJ, Awad I, Mayberg M, Shephard T, Jagoda A, et al., Advances in the genetics of cerebrovascular disease and stroke. Neurology, 2001. 56(8): p. 997-1008.
29. Kostulas K, Crisby M, Huang WX, Lannfelt L, Hagenfeldt L, Eggertsen G, et al., A methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in ischaemic stroke and in carotid artery stenosis. European journal of clinical investigation, 1998. 28(4): p. 285-289.

30. Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. *Archives of Neurology*, 2000. 57(10): p. 1422-1427.
31. Leal N.A. B12 Metabolism in Humans. University of Florida, 2004; 1: p. 156.
32. Soysal T. Megaloblastik Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri: Anemiler Sempozyumu. 2001, İstanbul. p. 33-47.
33. Maralcan M, Ellidokuz E. Vitamin B12 eksikliği. *Güncel Gastroenteroloji*, 2004. 8(3): p. 199-204.
34. Bhagavan NV. Vitamin metabolism. *Medical biochemistry*. 4th ed. 2002, Florida: Academic press. 901-28.
35. Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic Anemias. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 12 ed. 1991, New York: McGraw Hill. 1523-9.
36. Kozyraki R, Fyfe J, Kristiansen M. The İntrinsic Factor- B12 vitamini Receptor, Cubillin, İs A High-Affinity Apolipoprotein A-1 Receptor Facilitating Endocytosis Of High Density Lipoprotein. *Nature Medicine*, 1999; 5: p. 656-61.
37. Türk Hematoloji Derneği .Vitamin B12 eksikliği tanı ve tedavi kılavuzu 1. bölüm. 2011. Available from:<http://www.thd.org.tr/thdData/Books/94/bolum-i-b12-vitamini-eksikligi-tani-ve-tedavi-kilavuzu.pdf>
38. KoçA. Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği. *Türkiye Klinikleri J Pediatri*, 2005; 1: p. 16-27.
39. Herbert V. Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assay. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1988. 48(3): p. 852-858.
40. Food IOM, Board N. Vitamin B12. *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. 1998, Washington: National Academy Press. p. 306-356.
41. CoskunT. B12 vitamin. *Katkı Pediatri Dergisi*, 2003; 25. 419-33.
42. Lanzkowsky P, Lipton JM, Fish JD. *Lanzkowsky's manual of pediatric hematology and oncology*. 2016, Academic Press.
43. Lee GR, Foerster J, Luken J. Pernicious anemia and other causes of B12 vitamini (cobalamin) deficiency. *Witrobe's clinical Hematology*. 10th ed. 1999.
44. Stollhoff K, Schulte F. Vitamin B 12 and brain development. *European journal of pediatrics*, 1987. 146(2): p. 201-205.
45. Mason MJB, Goldman L, Ausiello D. *Vitamins, trace minerals, and other micronutrients*. Cecil Medicine, 2007;23, Philadelphia. 237-239.

46. Whitehead VM, Rosenblatt DS, Cooper BA. Megaloblastic anemia. *Hematology of infancy and childhood*. 6. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2003: p. 419-455.
47. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 1993. 49(3): p. 481-493.
48. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology, in *Natural antioxidants in human health and disease*. 2012, Elsevier Inc.
49. Akarsu S, Yılmaz S, Ozan S, Kurt A, Benzer F, Gurgoze MK, et al., Effects of febrile and afebrile seizures on oxidant state in children. *Pediatric neurology*, 2007. 36(5): p. 307-311.
50. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *The Japanese journal of physiology*, 1996. 46(1): p. 15-32.
51. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and physics of lipids*, 1987. 45(2-4): p. 337-351.
52. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Açikgoz F, et al., Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 2004. 202(3): p. 227-235.
53. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1995; 32, Konya: Mimoza Yayınları.
54. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 2003. 666: p. 387-392.
55. Cirak B, Inci S, Palaoglu S, Bertan V. Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clinica chimica acta*, 2003. 327(1-2): p. 103-107.
56. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *General Pharmacology: The Vascular System*, 2000. 35(1): p. 17-20.
57. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in biochemical sciences*, 2000. 25(10): p. 502-508.
58. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends in biochemical sciences*, 2002. 27(9): p. 483-486.
59. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987. 235(4792): p. 1043-1046.
60. Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF, Kearney PJ. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *European journal of clinical nutrition*, 1999. 53(11): p. 861.
61. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. Profiles of antioxidants in human plasma, in *Bio-Assays for Oxidative Stress Status*. 2001, Elsevier. p. 229-235.

62. Soysal D, Savaş S, Susam I, Cevik C, Göldeli E, Sözmen E, et al., The association of plasma homocysteine, coronary risk factors and serum nitrite in patients with coronary artery disease, vascular syndrome x and healthy subjects. *Anadolu kardiyoloji dergisi: AKD= the Anatolian journal of cardiology*, 2003. 3(1): p. 26-34, AXVIII-AXIX.
63. Kang S-S, Wong PWK, Malinow MR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annual review of nutrition*, 1992. 12(1): p. 279-298.
64. TÜRK-İŞ açlık ve yoksulluk sınırı. Available from :<http://www.turkis.org.tr/TEMMUZ-2016-ACLİK-ve-YOKSULLUK-SINIRI-d1156>. Erişim tarihi (27.07.2016).
65. Jadhav M, Webb JKG, Vaishnava S, Baker SJ. Vitamin-B12 Deficiency in Indian Infants. A Clinical Syndrome. *Lancet*, 1962: p. 903-7.
66. Adkins Y, Lönnerdal B., Mechanisms of vitamin B12 absorption in breast-fed infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 2002. 35(2): p. 192-198.
67. Grattan-Smith P, Wilcken B, Procopis PG, Wise GA. The neurological syndrome of infantile cobalamin deficiency: developmental regression and involuntary movements. *Movement Disorders*, 1997. 12(1): p. 39-46.
68. Von Schenck U, Bender-Götze C, Koletzko B. Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B-12 deficiency in infancy. *Archives of disease in childhood*, 1997. 77(2): p. 137-139.
69. Brocadello F, Levedianos G, Piccione F, Manara R, Pesenti FF. Irreversible subacute sclerotic combined degeneration of the spinal cord in a vegan subject. *Nutrition*, 2007. 23(7): p. 622-624.
70. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu. Rev. Nutr.*, 2004. 24: p. 299-326.
71. Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, López P, Muñoz E, García OP, et al., Lack of hemoglobin response to iron supplementation in anemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies-. *The American journal of clinical nutrition*, 2000. 71(6): p. 1485-1494.
72. Chandra J, Jain V, Narayan S, Sharma S, Singh V, Kapoor AK, et al., Folate and cobalamin deficiency in megaloblastic anemia in children. 2002.
73. Wright JD, Bialostosky K, Gunter EW, Carroll MD, Najjar MF, Bowman BA, et al., Blood folate and vitamin B12: United States, 1988-94. *Vital and health statistics. Series 11, Data from the national health survey*, 1998(243): p. 1-78.
74. Wetherilt H, Ackurt F, Brubacher G, Okan B, Aktas S, Turdu S. Blood vitamin and mineral levels in 7-17 years old Turkish children. *International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift für Vitamin-und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition*, 1992. 62(1): p. 21-29.

75. Dudman N, Wilcken DEL, Wang J, Lynch JF, Macey D, Lundberg P. Disordered methionine/homocysteine metabolism in premature vascular disease. Its occurrence, cofactor therapy, and enzymology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1993. 13(9): p. 1253-1260.
76. Refsum H, Fiskerstrand T, Guttormsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *Journal of inherited metabolic disease*, 1997. 20(2): p. 286-294.
77. Utku U, Çelik Y. Serebrovasküler hastalıklar. 2002, Ankara: Güneş Kitapevi. 49-61.
78. Sucu M, Karadere A, Toprak N. Homosistein ve kardiyovasküler hastalıkları. *Türk Kardiyol Dern Ar.* 2001;29. 181-90.
79. McDowell IF, Lang D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *The Journal of nutrition*, 2000. 130(2): p. 369S-372S.
80. Hanratty CG, McGrath LT, McAuley DF, Young IS, Johnston GD. The effects of oral methionine and homocysteine on endothelial function. *Heart*, 2001. 85(3): p. 326-330.
81. Pullin CH, Wilson JF, Ashfield-Watt P, Clark ZE, Whiting JM, Lewis MJ, et al., Influence of methylenetetrahydrofolate reductase genotype, exercise and other risk factors on endothelial function in healthy individuals. *Clinical Science*, 2002. 102(1): p. 45-50.
82. Kang S-S, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *American journal of human genetics*, 1991. 48(3): p. 536.
83. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *The American journal of medicine*, 1994. 96(3): p. 239-246.
84. Bessede G, Miguet C, Gambert P, Neel D, Lizard G. Efficiency of homocysteine plus copper in inducing apoptosis is inversely proportional to γ -glutamyl transpeptidase activity. *The FASEB Journal*, 2001. 15(11): p. 1927-1940.
85. Kruman II, Culmsee C, Chan SL, Kruman Y, Guo Z, Penix L, et al., Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *Journal of Neuroscience*, 2000. 20(18): p. 6920-6926.
86. Mangiagalli A, Samuele A, Armentero MT, Bazzini E, Nappi G, Blandini F. Effects of homocysteine on apoptosis-related proteins and anti-oxidant systems in isolated human lymphocytes. *The FEBS Journal*, 2004. 271(9): p. 1671-1676.
87. Mınnet C, Koc A. Çocukluk Çağında B12 Vitamini Eksikliğinin Oksidan-Antioksidan Sistem ve DNA Hasarı İle İlişkisi. *Uzmanlık tezi.* 2006, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı.

88. Misra UK, Kalita J, Singh SK, Rahi SK. Oxidative stress markers in vitamin B12 deficiency. *Molecular neurobiology*, 2017. 54(2): p. 1278-1284.
89. Yılmaz İ. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 2010. 17(2).
90. Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutrition reviews*, 2002. 60(s5).
91. Girelli D, Friso S, Trabetti E, Olivieri O, Russo C, Pessotto R, et al., Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasma homocysteine, and folate in subjects from northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. *Blood*, 1998. 91(11): p. 4158-4163.
92. Yüce A, Aksakal M. Ratlarda homosisteinin oksidan-antioksidan sistem ve koroner damarlarda oluşturduğu değişiklikler üzerine melatoninin etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2006. 20(1): p. 51-59.
93. Huang R-FS, Hsu Y-C, Lin H-L, Yang FL. Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in rat livers. *The Journal of nutrition*, 2001. 131(1): p. 33-38.
94. Mosharov E, Cranford MR, Banerjee R. The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. *Biochemistry*, 2000. 39(42): p. 13005-13011.
95. Kaga E, Kahraman A. Homosisteinin İndüklediği oksidatif stres üzerine siyah üzüm suyunun koruyucu etkisi. 2007, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı.
96. Dülger, H, Reşber H, Şekeroğlu MR, Yılmaz C, Özcan S. Prematür bebeklerin annelerinde homosistein düzeylerinin araştırılması. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 2008. 6(1): p. 7-12.
97. Temel İ, Özerol E. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 2002. 9(2).
98. Delikan O, Balci BP, Ozer F, Akdağ G. The relationship between carotid intima-media thickness and homosysteine in ischemic stroke/İskemik inmede karotis intima media kalınlığı ve homosistein arasındaki ilişki. *Archives of Neuropsychiatry*, 2012. 49(1): p. 53-59.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Rabia MERAL

Doğum yeri ve tarihi : Ankara-12.01.1989

İletişim adresi ve telefonu : rabiamerall@gmail.com

05545125592 - Ankara SUAM Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi

Altındağ/ANKARA

Eğitimi

2014-2018	Ankara SUAM
2006-2013	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
2002-2005	Yozgat Şehitler Fen Lisesi
2000-2002	Sorgun Mehmet Akif Ersoy İÖO
1999-2000	Bakü Türk Dünyası Araştırmaları Vakfı İÖO
1994-1999	Eymir İÖO

Mesleki Deneyimi

2013 Akçaabat Devlet Hastanesi

EKLER

EK 1. EPK



T.C.
Sağlık Bakanlığı
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Eğitim, Planlama ve Koordinasyon Kurulu
Karar Defteri

Toplantı No: 0639

04.05.2016

BAŞKAN
Doç.Dr.Recep Pekcici
Başhekim

EPKK ASIL ÜYELERİ	EPKK YEDEK ÜYELERİ
Doç.Dr.Yalçın Aral Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Nadir Turgut Çavuşoğlu Genel Cerrahi Kliniği
Op.Dr.Firdevs Örnek Göz Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Ali Pekcan Demiröz Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
Doç.Dr.Hülya Başar Anestezi ve Reanimasyon Kliniği	Doç.Dr.Necmi Arslan KBB Hastalıkları Kliniği
Doç.Dr.Gürcan Aslan Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği	Doç.Dr.Meliha Korkmaz Nükleer Tıp Kliniği

KARAR:

5374.B12 eksikliği olan çocuklarda oksidan ve antioksidan parametrelerin değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği (Dr.Rabia Meral Sucu, Dr.Bilal Aytaç, Dr.Gülnehal Kırbas, Dr.Zahide Esra Durak, Prof.Dr.İlker Durak, Doç.Dr.Bülent Alioğlu, Dr.Hikmet Can Çubukçu) çalışması. Prospektif Çalışmasının protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden "TEKNİK" ve "ETİK" değerlendirmesinde "UYGUN" "OLDUĞUNA" / "ÖLMADIĞINA" "OYÇOKLUĞU" "OYBİRLİĞİ" ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen uygulama, tetkik ve girişimlerin araştırma gurubunca karşılanması kaydı ile çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin kullanılmasına "İZİN" "VERİLMİŞTİR" / "VERİLMEMİŞTİR", "ETİK KURUL ONAYI" "GEREKTİRİR" / "GEREKTİRMEZ".

Doç.Dr.Yalçın Aral

Op.Dr.Firdevs Örnek

Doç.Dr.Hülya Başar

Doç.Dr.Gürcan Aslan

Doç.Dr.Recep Pekcici
Başhekim



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA 1.BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
ANKARA EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU

26/04/2016

ARAŞTIRMA BAŞLIĞI:

B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi?

ARAŞTIRMANIN KONUSU:

Serbest radikaller üzerlerinde ortaklanmamış bir veya daha fazla elektron bulunduran atomik ya da moleküler yapılardır. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri de denmektedir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere de antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan antioksidanlar (enzimatik veya enzimatik olmayan) tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Antioksidan kapasiteyi aşan serbest radikal artışı oksidatif stress olarak adlandırılır ve hücresel düzeyde hasarla sonuçlanır.

B12 eksikliğinde Epidermal Büyüme Faktörü ve sitokin dengesinde bozukluklar rapor edilmiştir. Sitokin salınımı oksidatif stress belirteçleri ve antioksidanların dengesinden etkilenmektedir.

Bir çalışmada B12 Eksikliğinde oksidan ve antioksidanlardan plazma glutathionu (GSH) ve malondialdehyde (MDA) sonuçları ve nörofizyolojik bulgular değerlendirilmiştir.(1)

Başka bir çalışmada ise oksidatif stresle homosistein ilişkisi Down Sendromlu çocuklarda değerlendirilmiştir.(2)

1- Oxidative Stress Markers in Vitamin B12 Deficiency

Usha Kant Misra¹ & Jayantee Kalita¹ & Sandeep Kumar Singh¹ & Sushil Kumar Rahi¹

2- Homocysteine and oxidative stress in Egyptian children with Down syndrome

Nagwa A. Meguid a, Ahmed A. Dardir a, Eman M. El-Sayed b, Hanaa H. Ahmed c,ü,

Adel F. Hashish a, Afaf Ezzat b

3- Micronutrient Malnutrition, Infection, and Immunity: An Overview

Padbidri Bhaskaram, M.D.

Bunun yanında yayınlarda çocukluk çağı B12 eksikliğinde oksidan antioksidan denge parametrelerini değerlendiren bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada antioksidan sistem parametrelerinin (Paroksanaz, SOD, MDA, Katalaz, Peroksidaz, NO, NOS, vs.) değerlendirilmesi planlanmıştır.

ARAŞTIRMANIN YAPILACAĞI HASTANE ve KLİNİK:

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi - Çocuk Kliniği

ARAŞTIRMANIN YAPILACAĞI KLİNİK EĞİTİM SORUMLUSU ONAYI:

Doç. Dr. Bülent ALIOĞLU



ARAŞTIRMANIN TÜRÜ:

PROSPEKTİF

ARAŞTIRMANIN AMACI, GEREÇ ve YÖNTEM:

Hastanemiz Çocuk Kliniğine 2016-2017 başvuran hastalar çalışmaya kabul edilecektir. B12 vitamin eksikliği tanısı alan hastalarda etyolojiye yönelik ileri tetkikleri için yapılan testler sırasında (Çölyak Hastalığı, Helikobakter Piloni, vs) hastalardan antioksidan kapasite ölçümü için 4 ml tam kan alınacaktır.

6 ayın sonunda vitamin B12 tedavisi alan ve almayan 40 'ar çocuktan tedavi değerlendirmesi için alınan kontrol testler sırasında, ek girişim yapılmadan, 4 ml tam kan alınacaktır.

Alınan materyaller -80°C de saklanacak ve soğuk zincire uyarak çalışılacak laboratuvara iletilecektir.

Hastadan antioksidan kapasite ölçümü için yeniden kan örneği almak amacıyla damara kesinlikle girilmeyecektir. 4 ml tam kan serum ayrıldıktan sonra -80°C de saklanacak ve çalışma olduğu gün soğuk zincire uyarak çalışılacak laboratuvara iletilecektir.

ARAŞTIRMAYA ALINACAK OLGU SAYISI ve ÖZELLİKLERİ:

Altta yatan herhangi bir kronik hastalığı veya aktif enfeksiyonu bulunmayan, sigara veya herhangi bir madde bağımlılığı ve kronik ilaç kullanımı bulunmayan 40 çocuk çalışmamıza alınacaktır.

ÖNGÖRÜLEN ÇALIŞMA SÜRESİ: 1 Yıl (2016-2017)

Çalışma Helsinki Bildirgesi Son Versiyonuna ve İyi Klinik Uygulamalar Yönergesine uygun olarak yürütülecektir.

ARAŞTIRMA BÜTÇESİ: B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi

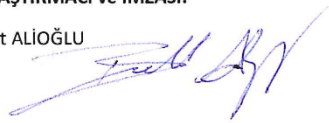
Çalışmayla ilgili uygulama tetkik ve girişimlerin bedelleri çalışma grubunca karşılanacaktır. Bu bedellerin ödenmesi hastaya, yakınlarına ve sosyal güvencesine yansıtılmayacaktır. Çalışmaya alınan hastaların Ad, Soyad ve TC. Kimlik numaraları liste halinde Eğitim Planlama ve Koordinasyon Kurulu Sekreteriyasına teslim edilecektir.

ARAŞTIRMANIN SONUCU:

Çalışma tamamlandığında rapor halinde arz edilecektir.

SORUMLU ARAŞTIRMACI ve İMZASI:

Doç. Dr. Bülent ALIOĞLU



DIĞER ARAŐTIRMACILAR (Yayınlanacak isim sırasıyla) ve İMZALARI:

Dr.Rabia Meral SUCU

Uzm. Dr. Bilal AYTAÇ

Uzm. Dr. Gülnihan KIRBAŞ

Uzm. Dr. Zahide Esra DURAK

Prof. Dr. İlker DURAK

Doç. Dr. Bülent ALIOĞLU

Dr.Hikmet Can ÇUBUKÇU

EPKK KARARI:

Yukarıda özellikleri belirlenmiş araştırmanın protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden "ETİK" değerlendirmesinde "UYGUN" "OLDUĞUNA" / "ĐEMADIĐINA" katılanların "ĐY-ÇÖKLUĐU" / "OY BİRLİĞİ" ile karar verilmiş, araştırma için belirlenen uygulama, tetkik ve girişimlerin araştırma gurubunca karşılanması ve hastalardan bilgilendirilmiş olur formu alınması kaydıyla çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin kullanılmasına Hastanemiz EPK Kurulunun ..04 / 05 / 2016... - 639.. tarih-numaralı toplantısında ..5394..... numaralı kararıyla "İZİN" "VERİLMİŞTİR / VERİLMEMİŞTİR".

Doç. Dr. M. Recep PEKÇİ
HASTANE YÖNETİCİSİ

EK 2. Hasta Formu

Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Oksidan Ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi

Tarih :

Telefon No:

Adı Soyadı:

Protokol No:

Yaş:

Cinsiyet:

Başvuru Şikayeti:

Kronik Hastalık:

İlaç kullanımı:

Aylık gelir:

Vitamin B12 (pg/ml)	Homosistein (μmol/L)	TAK (DPPH) (%redüksiyon)	MDA (nmol/mg)	GSH-PX (IU/g)	Katalaz (IU/mg)	NO (μM)	NOS (IU/ml)	XO (mIU/g)