



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

TÜRKİYE KAMU HASTANELER KURUMU

İSTANBUL İLİ (FATİH) KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ GENEL

SEKRETERLİĞİ

S.B.Ü. İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Esmâ GÜLDAL ALTUNOĞLU

Tez Danışmanı: Uzm. Dr. Fettah SAMETOĞLU

VÜCUTTA GERÇEK B12 EKSİKLİĞİNİN TESPİTİNDE SERUM METİLMALONİK ASİTİN ROLÜ

Dr. Könül AHMEDOVA

İç Hastalıkları Kliniği

Tıpta Uzmanlık Tezi

İSTANBUL- 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde bana katkılarıyla yol gösteren, yönlendiren, geliştiren, bilgi ve beceri ve tecrübelerini aktaran, ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, birlikte çalışmaktan sonsuz mutluluk duyduğum başta değerli şefim ve tez danışmanım Uzm. Dr. Fettah SAMETOĞLU olmak üzere tüm hocalarıma;

Tezimin fikir aşamasından yazımına kadar geçen tüm süreçte çok büyük katkıları olan Doç. Dr. Elif SUYANI' ye ;

Eğitimim süresince rotasyonlarımı tamamladığım ve yetişmemde katkıları olan İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Eğitim Görevlisi Uzm. Dr. Muzaffer FİNCANCI' ya, Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Görevlileri Doç. Dr. Güngör ÇAMSARI ve Doç. Dr. Mehmet Atilla UYSAL' a, Haseki Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Eğitim Görevlisi Doç. Dr. Mehmet Mustafa CAN' a;

Berber çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, Dahiliye Klinikleri, Koroner Yoğun Bakım hemşire, personel ve sekreterlerine;

Aynı klinikte sevgi ve saygıyla birlikte çalışmayı büyük şans saydığım Dr. Ahmet SARICI, Dr. Ozan Cemal İÇAÇAN, Dr. Murat BAYRAK, Dr. Burcu GÜLBAĞCI, Esma Nur SAĞLAM, Dr. Banu Betül KOCAMAN, Dr. Burçak KARA, Dr. Ufuk Süleyman TANNER'e ve ayrıca Könil CAFERLİ'ye tüm yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Tüm aileme desteklerini ve sabırları için şükranlarımı sunarım.

Dr. Könil AHMEDOVA

İstanbul 2017

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR.....	III
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
ÖZET	VI
SUMMARY.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Vitamin B12'nin Terminolojisi ve Tarihçesi	3
2.1.2. Vitamin B12 Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri.....	4
2.1.3. Besinsel Kaynaklar	6
2.1.4 Vitamin B12 Gereksinimi.....	7
2.1.6. Vitamini B12'nin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu.....	10
2.1.7. Vitamin B12 Bağlayıcı Proteinler	12
2.1.8. Vitamin B12'nin Emilimi.....	13
2.1.9. Vitamin B12'nin Dokuya Taşınması.....	14
2.2 Vitamin B12 Eksikliği.....	15
2.2.1. Vitamin B12 eksiklik Nedenleri	15
2.2.2. B12 Vitamin Eksikliğinde Görülen Klinik Semptom ve Bulgular.....	18
2.2.3 VİTAMİN B12 DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	21
2.2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Tedavisi	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA	39
6. KAYNAKLAR	46

KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribo nükleik asit
IF	: İnrinsik faktör
PTH	: Parathormon
SSS	: Santral sinir sistemi
MMA	: Metilmalonik asit
tHcy	: Total homosistein
THF	: Tetrahidrofolat
RNA	: Ribo nükleik asit
SAM	: S-adenizil metionin
SAH	: S-adenizil homosistein
MeCbl	: Metilkobalamin
CNCbl	: Siyanokobalamin
AdoCbl	: Adenozilkobalamin
OHCbl	: Hidroksikobalamin
TCII	: Transkobalamin II
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
WBC	: Beyaz küre sayısı
HBG/HCT	: Hemoglobin/Hemotokrit
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
PLT	: Trombosit
RDW	: Kırmızı kan hücreleri dağılım genişliği
AST/ALT	: Aspartat aminotransferaz/ Alanin aminotransferaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
NEU	: Nötrofil

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Günlük olarak önerilen vitamin B12 alım miktarı	7
Tablo 2: Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri	17
Tablo 3: Vitamin B12 eksikliğinde görülen major klinik belirtiler.....	20
Tablo 4: Vitamin B12 eksikliği: tanı ve alt sınıflandırma testleri	25
Tablo 5: Vitamin B12 eksikliği tedavisi	27
Tablo 6: Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri	31
Tablo 7: Çalışmaya Katılan Hastaların Yaş, Cinsiyet ve Kronik hastalık Ortalaması ...	32
Tablo 8: Hasta Alt Gruplarının Klinik Özellikleri.....	33
Tablo 9: Hasta Alt Grup Karşılaştırılması	35
Tablo 10: Tüm Hasta Gruplarında vitamin B12 ve serum MMA İlişkisi.....	36
Tablo 11: Hasta Alt Gruplarında vitamin B12 ve serum MMA İlişkisi	36
Tablo 12: Hasta Alt Gruplarında serum MMA ve beyaz küre sayısı(WBC), hemogloblin(HGB),tombosit sayısı(PLT), MCV İlişkisi	37
Tablo 13: Tüm Hasta Gruplarında serum MMA ve beyaz küre sayısı (WBC), hemogloblin(HGB), trombosit sayısı (PLT), MCV İlişkisi	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Korrin halka yapısı	4
Şekil 2: Vitamin B12'nin yapısı	6
Şekil 3: Vitamin B12 bağımlı metionin sentaz enzimiyle metionin ve TH4-folat oluşumu.....	8
Şekil 4: Propiyonil KoA'nın suksinil KoA'ya dönüşüm reaksiyonları.....	10
Şekil 5: Vitamin B12'nin absorpsiyonu.....	14

ÖZET

Amaç: DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12 özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin bütünlüğünün sağlanması için gereklidir. Uzun yıllardan beri serum kobalamin ölçümü, vitamin B12 eksikliğinin tanısında kullanılmaktadır. Ancak çoğu kişide düşük serum vitamin B12 ölçümü her zaman gerçek vitamin B12 eksikliğini göstermemektedir. Öyle ki, gerçek vitamin B12 eksiklik durumlarını doğrulamak için kobalaminin serum metilmalonik asit gibi bazı diğer metabolitlerinin ölçülmesi gerekmektedir. Yaptığımız bu çalışmada, serum vitamin B12 düzeyi düşük olan (<200pg/ml) 367 hastada serum metilmalonik asit düzeyini ölçerek ‘gerçek’ vitamin B12 eksikliği olan hastaları saptamaya çalıştık.

Gereç ve Yöntem: Klinik çalışmamız, 367 hastanın (238 kadın ve 129 erkek) hastane kayıtlarının retrospektif olarak taranması ile yapıldı. Serum vitamin B12 ve metilmalonik asit düzeylerinin yanısıra, hematolojik ve biokimyasal parametreler incelendi. Hastalar serum kobalamin değeri düzeylerine göre iki gruba bölündü. I grupta serum kobalamin düzeyi (0-126 pg/ml) ve II grupta ise (127-200 pg/ml) aralığındaydı. I grup yeniden iki alt gruba ayrıldı. Gerçek vitamin B12 eksikliğini tespit etmek için tüm hastaların serum vitamin B12 , serum metilmalonik asit, hemogram ve biokimya parametreleri incelenerek tarandı.

Bulgular: Grup I deki hastalarda serum MMA değeri grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). Grup I deki hastalarda folik asit değeri grup II den anlamlı olarak daha düşüktü($p<0.05$). Grup I ve grup II deki hastalarda lökosit(WBC) sayısı, hemoglobin(Hbg), hematokrit (HCT) , MCV,demir(Fe) , demir bağlama kapasitesi(FE BK) , üre , kreatinin , aspartat aminotransferaz(AST) , alanin amiotransferaz(ALT), total bilirubin,laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyleri anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Grup I de trombosit sayısı grup II den anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Grup I de RDW değeri grup II den anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup I ve grup II deki hastaların yaş dağılımı açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$) . Grup II de kadın hasta oranı grup I den anlamlı olarak daha

yüksekti ($p<0.05$). Grup I ve grup II de kronik hastalık oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$).Grup II deki hastaların %80'inde serum MMA normal saptanmış olup sadece %20'sinde yüksekti. Grup I de ise serum MMA hastaların %60,2 normal saptanmış olup %39,8'inde yüksekti.

Sonuç: Retrospektif olarak yapılan bu klinik çalışmada incelenen laboratuvar sonuçları nörolojik ve hematolojik semptomları olmayan ancak serum vitamin B12 düzeyi düşük saptanan hastalarda gerçek vitamin B12 eksikliğinin tespitinde serum metilmalonik asitin önemini ortaya koymuştur. Bu yüzden belli bireylerde gerçek vitamin B12 eksiklik tanısını koymada serum vitamin B12 düzeyi ölçümü her zaman yeterli olmayabilir. Serum vitamin B12'nin metaboliti olan serum metilmalonik asit güvenilir bir belirteç olarak ve serum vitamin B12 değeri düşük saptanan hastalarda 'gerçek' ve 'yalnış' vitamin B12 eksiklik durumlarını ayırt etmede kullanılabilir. Elde ettiğimiz sonuçların desteklenmesi için daha fazla sayıda hastayı kapsayan klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu ortadadır.

Anahtar Kelimeler: Vitamin B12 eksikliği, serum vitamin B12, serum metilmalonik asit

SUMMARY

Objective: Vitamin B12, functioning as a coenzyme in the synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA); play a key role in normal hematopoiesis and integrity of the nervous system. For many years, serum cobalamin measurements has been used for the diagnosis of clinical vitamin B12 deficiency. However, low level of measured serum vitamin B12 does not always indicate the diagnosis of 'true' deficiency of this vitamin in many individuals. Thus, in order to verify the 'true' cases of vitamin B12 deficiency; some other metabolites of cobalamin such as serum methylmalonic acid (MMA) has to be measured. In our study, we tried to determine the 'true' vitamin B12 deficiency patients by measuring serum level of methylmalonic acid in 367 individuals whose serum vitamin B12 levels were found to be low. (<200pg/ml).

Material and Methode: In our clinical study which was retrospective; we went through the hospital records of 367 (238 male and 129 female) patients. The hematologic and biochemistry parameters to gather with serum levels of vitamin B12 and methylmalonic acid (MMA) were investigated. All patients were, according to serum cobalamin levels, divided into two separate groups. The serum cobalamin concentration was (0-126 pg/ml) in group 1 and (127-200 pg/ml) in group 2 individuals. Group 1 patients again divided into two sub-groups. In order to detect 'true' vitamin B12 deficiency all patients were examined and scanned for their hemogram parameters, biochemistry, serum vitamin B12 and serum methylmalonic acid concentrations.

Results: Methylmalonic acid (MMA) values were significantly higher in Group 1 than Group 2 patients ($p < 0.05$). Folic acid values were significantly lower in Group 1 than group 2 patients ($p < 0.05$). Leucocytes counts, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), serum iron (Fe), total iron binding capacity (TIBC), urea, creatinin, lactate dehydrogenase (LDH), aspartat aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), total bilirubin values did not differ between both group patients ($p > 0.05$). Trombocyt count was found significantly lower in group 1 than in group 2 patients ($p < 0.05$). RDW value was found significantly lower in group 1 than in

group 2 patients($p < 0.05$). No significant difference in age distribution was found between two group individuals($p > 0.05$). Serum MMA was found normal in %80 of the patients in group 2 and only 20% of the patients have higher MMA values. Serum MMA values were normal in 60,2% and high in 39,8% of the group 1 patients.

Conclusion: The laboratory results obtained in this retrospective study again emphasised the importance of serum methylmalonic acid (MMA) determination in the diagnosis of ‘true’ vitamin B12 deficiency in those patients with no anemia and neuro-psychiatric symptoms but with low serum cobalamin concentrations. Therefore, measurement of serum vitamin B12 can not always be adequate for the diagnosis of ‘true’ vitamin B12 deficiency in certain individuals. As a metabolite of cobalamin serum methylmalonic acid (MMA) measurements can be utilised as a reliable marker and means of discrimination between ‘true’ or ‘false’ vitamin B12 deficiency states in many patients with low serum cobalamin values, There is a need for more clinical trials with higher number of patients to clarify our results.

Key words:

Vitamin B12 deficiency, serum vitamin B12, serum methylmalonic acid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12 özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin devamlılığının sağlanması için gereklidir (A).Esas homosisteininin metionine,metilmalonik asitin suksinil koenzim A'ya, 5 metiltetrahidrofolatın tetrahidrofolata dönüşmesini sağlayan 3 enzimatik süreçte rol alır (QQQQ).Vitamin B12 eksikliği toplumda yaklaşık (%3-40) oranında görülmektedir (BBBBB). Görülme sıklığı; ırksal, çevresel, sosyo-ekonomik düzey, yaş, cinsiyet ve beslenme alışkanlıklarına göre farklılıklar gösterir(WWWW-YYYY).İrksal farklılıkların vitamin B12 seviyeleri üzerine etkileri incelendiğinde, siyahların beyazlara göre daha yüksek değerlere sahip olduğu bildirilmektedir(ZZZZ). Siyahlarda yüksek serum vitamin B12 seviyelerinin transkobalamin (özellikle TC-II) seviyelerindeki yüksekliğe bağlı olduğu ileri sürülmektedir(AAAAA).Vitamin B12 eksikliğinde hızlı büyüyen ve hücre yenilenmesi hızlı olan dokular daha çok etkilenir. Bunun sonucunda başta nöropsikiyatrik, hematolojik ve gastrointestinal sistemlere ait bulgular ortaya çıkmaktadır.(BBBBB). Vitamin B12 değeri yaşanan bölgeye, beslenme şartlarına ve kullanılan laboratuvar metodlarına göre değişkenlik gösterebilmektedir.Ancak genel olarak serum vitamin B12 >300 pg/ml(>221pmol/L) normal değer, 200-300 pg/ml(148-221pmol/L) sınır değer (muhtemel eksiklik), <200 pg/ml (<148 pmol/L) ise vitamin B12 eksikliği olarak kabul edilmektedir(SSSS).

Uzun yıllardır serum kobalamin ölçümü, vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen hastaların değerlendirilmesinde köşe taşı olmuştur (LLL).Ancak bu yaklaşımın önemli sınırlamaları vardır. Serum vitamin B12 konsantrasyonları, direkt olarak bağlayıcı

protein konsantrasyonları ile değişir(NNN). Sınırlamaların sebeplerinden biri bu belirteçin %80'nin haptokorrine %20'sinin transkobalamine bağlı olarak dolaşan total vitamin B12 değerini göstermesidir. Diğer sınırlama sebebi ise hücre içi vitamin B12 durumunu da doğru olarak yansıtmamasıdır(PPP). Ayrıca vitamin B12 düzeylerinin yanlış yüksek ya da yanlış düşük ölçülmesi söz konusu olabilmektedir (QQQQ,RRRR,VVVV).

Tanımlanan güçlükler ve olası yalancı negatif sonuçların getireceği hatalı morbidite ve mortalite risk nedeniyle günümüzde alternatif olarak, kobalaminin metabolik fonksiyonlarını yansıtan diğer biyokimyasal belirteçler kullanılabilir (UUUU). Bunlardan serum metilmalonik asit, klinik olarak belirgin olan kobalamin eksikliği durumlarda %98 oranında artmış olarak saptanır (VVVV). Çalışmamıza serum kobalamin düzeyi 200 mg/dl'in altında bulunan ve metilmalonik asit düzeyi analiz edilen hastaları aldık. Çalışmaya alınan hastaların serum metilmalonik asit (MMA) düzeyi ve diğer hematolojik parametrelerin özelliklerine göre gerçek vitamin B12 eksikliğinin söz konusu olup olmadığına saptanmaya çalıştık. Böylece, düşük serum vitamin B12 düzeylerinin her zaman gerçek vitamin B12 eksikliğiyle beraber olmadığını, bu hastalarda elde edilen serum metilmalonik asit (MMA) seviyelerine göre karar verilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vitamin B12'nin Terminolojisi ve Tarihçesi

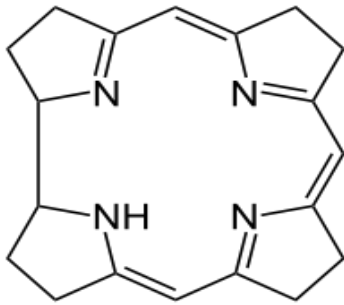
DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12 özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin devamlılığının sağlanması için gereklidir (A). 1925 yılında demir eksikliği olan köpeklerin besinlerine karaciğer eklenmesinin kan hücrelerinin oluşumuna yardımcı olduğu bulunmuştur. Bir yıl sonra ilk kez kırmızı kan hücrelerinin oluşumunu etkileyen bir hastalık olan pernisiyoz aneminin (PA) (Addison-Biermer hastalığı) diyetle karaciğer alınması ile başarılı bir şekilde tedavi edildiği saptanmıştır(B).1930'larda normal olarak mide sıvısında yer alan intrinsik faktör (IF) bulunmuş ve bu maddenin şiddetli anemisi olan hastaların midesinde bulunmadığı saptanmıştır. Bu hastalara düzenli olarak karaciğer yedirildiğinde iyileşme görüldüğünden IF'ün hayvanların karaciğerlerinde bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. 1948-1949'da yapılan çalışmalar ile sığır karaciğerinden kırmızı kristalize saf vitamin B12 elde edilmiş ve tanımlanmıştır. 1955 yılında da vitamin B12'nin kristal yapısı x-ışını kristallografisi kullanılarak gösterilmiştir(B,C,D) Vitamin B12 suda çözülen 8 adet B grubu vitaminden birisi olup ayrıca yapısında metal atomu ihtiva eden tek vitamindir(D,E). Vitamin B12 jenerik ismini taşıyan, bir grup fizyolojik olarak aktif bileşik kobalt atomu içermesinden dolayı kimyasal olarak kobalamin veya korrinoidler olarak sınıflandırılırlar(E,F,G,H). Vitamin B12 1355.42 dalton moleküller ağırlığı olan, başlıca mikroorganizmalar tarafından, farklı yirmi enzimatik basamak sonunda sentezlenebilen, kırmızı renkli ve çeşitli türevleri

bulunan bir vitamindir. Yapısında 2 karmaşık korrin halkası ve merkezde kobalt iyonu vardır. Tüm vitaminler içerisinde en büyük ve kompleks moleküler yapıya sahip olan ve çok küçük miktarda bile güçlü etkiye sahip bir vitamin olarak kabul edilir (I).

2.1.2. Vitamin B12 Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri

Vitamin B12 molekülü üç bölümden oluşur.

1. Korrin halka yapısı: Bir adet kobalt (Co) atomu ve onu çevreleyen indirgenmiş dört adet pirol halkasından oluşan çekirdek kısmıdır. Korrin adı verilen bu yapı hemoglobinin porfirin halka yapısına benzemektedir. Korrin halkasının merkezindeki kobalt +1 değerlikli ise koenzim yeşil renkli, kobalt +2 değerlikli ise koenzim pakal renkli ve kobalt +3 değerlikli ise koenzim kırmızı renklidir. Korrin kısmı 5-aminolevulinik asitten hemoglobindeki porfirinin sentezine benzer bir şekilde sentezlenmektedir. Simetrik ve karmaşık yapısı ile hemoglobini andırır. Hemoglobinde merkezde yer alan demir yerine vitamin B12'de iki korrin halkası arasında kobalt yer almaktadır (I).



Şekil 1: Korrin halka yapısı(J).

2. İkinci kısım düzlemin altında kalan hem kobalt atomuna ve hem de fosfatlı bir zincir aracılığı ile pirol halkalarından birine bağlı olan nükleotid grubudur. Bu grup tipik bir nükleotid değildir ve N-glikozidik bağı ile riboza bağlanmış bazik bir madde olarak 5,6- dimetilbenzimidazol içerir (I).

3. Düzlemin üstünde ise koordinasyon tipi bağlarla bağlanmış olan küçük bir ek (R) grubu bulunmaktadır. Ancak vitamin etkisi için bu son grup şart olmamakla beraber vitamin B12 isimlendirilmesi bu gruba göre yapılmaktadır. Bu gruptan yoksun olan kısma kobalaminler adı verilir. Bu sözcük giderek artan bir şekilde vitamin B12 ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır (I).

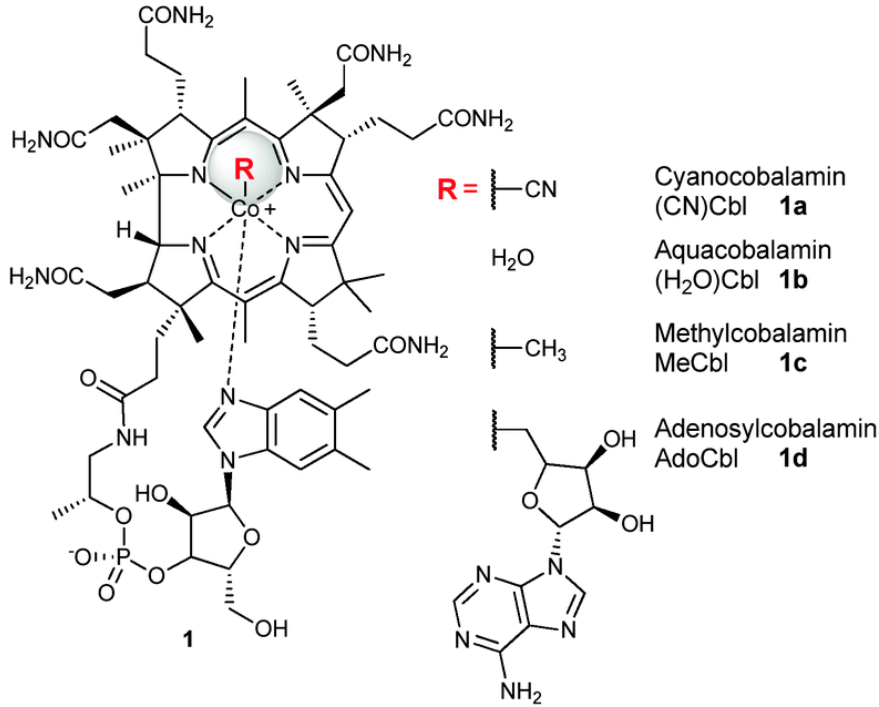
Vitamin B12 molekülünde bulunan son ek kısmına göre vitamin B12 dört gruba ayrılır:

a. Siyanokobalamin (CNCbl): R grubu olarak siyanür (CN) grubu içerir. İlk bulunan vitamin B12 türüdür. Vücut sıvılarında ve hücrelerde çok az bulunur. Stabil bir bileşik olduğundan ilaç olarak kullanılır ve vitamin B12'nin ticari preparatıdır.

b. Hidroksikobalamin (OHCbl): R grubu olarak hidroksil (OH) grubu içerir. Gıdalarda ve vücutta en fazla tutulan vitamin B12 türüdür. Fakat ilaç olarak kullanıldığında transkobalamin-hidroksikobalamin (TC-OHCbl) kompleksine karşı antikor geliştiği gösterilmiştir. Aktif koenzim türlerinin prekürsörüdür.

c. Adenozilkobalamin (AdoCbl): R grubu olarak 5'-deoksiadenozil grubu içerir. Hücrelerde aktif koenzim fonksiyonu görür.

d. Metilkobalamin (MeCbl): R grubu olarak metil (CH₃) grubu içerir. İnsan plazmasındaki vitaminin B12'nin %70'i MeCbl şeklindedir. AdoCbl gibi vücutta aktif koenzim fonksiyonu görür. (CNCbl) ve (OHCbl) hücre sitoplazmasında (MeCbl)'e ve mitokondrilerde AdoCbl'e kolaylıkla dönüşebilmektedir. Sitoplazmik redüktaz enzimi Cbl-Co⁺³'ün CblCo⁺²'ye ve mitokondrial kobalamin redüktaz enzimi Cbl-Co⁺²'nin, Cbl-Co⁺¹'e indirgenmesini sağlar (I, K).



Şekil 2: Vitamin B12'nin yapısı(A).

AdoCbl= Adenzilkobalamin, CH₃Cbl= Metilkobalamin, CNCbl= Siyanokobalamin

2.1.3. Besinsel Kaynaklar

Vitamin B12 insan kalın bağırsağında üretilen bakteriler tarafından sentez edilir. Fakat absorbe olamaz. İnsan ince bağırsağında da az miktarda üretilebilir ve emilebilir. Buna rağmen sentez edilen ve emilen miktar değişen intestinal flora'ya 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. Gıdalarda vitamin B12 konsantrasyonu en fazla karaciğer ve böbrekte bulunur. Her birinin 100 gramı 100 g vitamin B12 ihtiva eder. Deniz ürünlerinde de vitamin B12 bulunmaktadır. Baklagil türleri hariç, bitkisel besinlerde normal olarak vitamin B12 bulunmaz (L).

Gıdaların çoğunda vitamin B12 peptid bağları aracılığıyla proteinlere bağlı olup, nötral ve asidik ortamda ısıya dayanıklıdır ve besinin ısıtılması sonucu fazla kaybolmaz. İlaç olarak kullanılan vitamin B12 "Streptomyces griseus" türü mantar kültürlerinden izolasyon yoluyla elde edilmiştir (K).

Anne serumu ile anne sütündeki vitamin B12 düzeyleri arasında güçlü bir korelasyon vardır. Anne sütünde ortalama 0.2-1.0 g/L vitamin B12 bulunur. MeCbl anne serumunda olduğu gibi, benzer oranda anne sütünde en fazla bulunan temel kobalamindir. İnek sütünde en çok (AdoCbl) bulunur. Kurutulduktan sonra geriye sadece OHCbl kalır (M, N).

İnsan için gerekli olan vitamin B12'nin hepsi hayvansal gıdalardan sağlandığından, diyetle yetersiz alımı eksikliğinin önemli bir sebebidir. Farklı toplumlarda diyetle alınması gereken vitamin B12 miktarı ve diyete bağlı vitamin B12 eksikliği sıklığı çok iyi tespit edilememiştir. Birçok ülkede yetişkinlerde alınan vitamin B12 alımı 1 g/günden daha azdır (O).

2.1.4 Vitamin B12 Gereksinimi

Vitamin B12 için alınması gereken günlük miktarlar yaş gruplarına göre Tablo 1'de verilmiştir. Komplike pernisiyöz anemisi olmayan hastalara, vitamin B12 0.1 g/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 g'ın emilimini garanti altına almak için ağız yoluyla daha fazla vitamin B12 alımı gereklidir (O).

Tablo 1: Günlük olarak önerilen vitamin B12 alım miktarı (O).

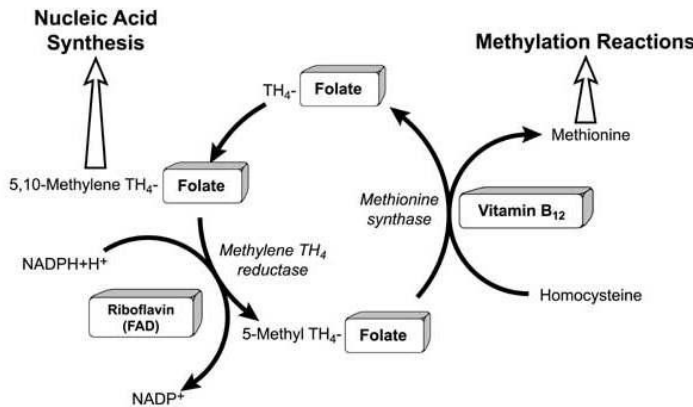
Yaş grupları	Yaş	µg/gün
Yenidoğan	0 – 6 ay	0,4
İnfant	7 – 12 ay	0,5
Çocuk	1 – 3 yaş	0,9
	4 – 8 yaş	1,2
	9 – 13 yaş	1,8
Adolesan	14 – 18 yaş	2,4
Yetişkin	19 – 50 yaş	2,4
	> 50 yaş	2,4
Emzirenlerde	Tüm yaşlar	2,6
Hamilelerde	Tüm yaşlar	2,8

Bu konsantrasyonlar için önerilen temel alımlara ilaveten 2 µg günlük vitamin B12 alınması gerekir. Plasebo kontrollü doz-cevap şeklindeki bir çalışmada genç erişkinlerde genomik stabilite için günlük folik asid alımının (700 µg/gün) ve vitamin B12 alımının (7 µg/gün) olması gerektiği gösterilmiştir (P). Bu da önerilen miktarların çok üzerindedir.

2.1.5. Vitamin B12'nin Biyokimyasal Özellikleri

Koenzim olarak fonksiyon gösteren vitamin B12 bileşiklerinin hücre içinde sentezi için birkaç enzimatik reaksiyon gereklidir (Q). Plazmadaki vitamin B12 bileşiklerinde kobalt atomu +3 değerlik durumunda ve stabildir. Kobalaminler aktif koenzim haline gelmeden önce labil olan +2 veya +1 değerlik durumuna indirgenmelidir. Bu intraselüler değişimin konjenital defektleri homosisteinüri ve metilmalonik asidüri'ye yol açar (I). Vitamin B12 insanlarda iki reaksiyonda koenzim görevi görür.

- I. Reaksiyon:** “Metionin sentaz” enzimi aracılığıyla homosisteinden metionin aminoasiti sentez edilir. Sitoplazmada gerçekleşen bu reaksiyon için koenzim olarak (MeCbl) gereklidir. Bu reaksiyonda aynı zamanda folat koenzimi 5-metiltetrahidrofolat da gereklidir (Şekil 3).

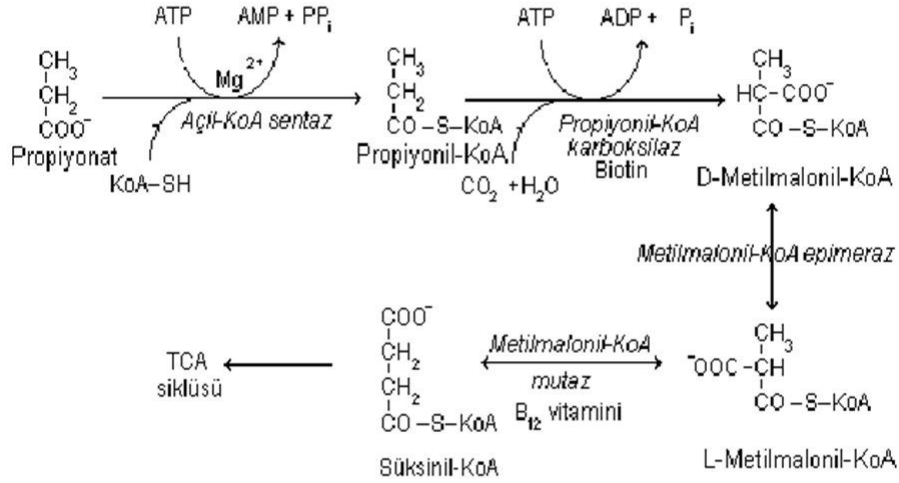


Şekil 3: Vitamin B12 bağımlı metionin sentaz enzimiyle metionin ve TH4-folat oluşumu (R).

Bu reaksiyon insanlarda metioninin tekrar sentezi için ana yoldur. Bu reaksiyon bozulduğu zaman metioninin plazma seviyeleri düşer ve buna bağlı olarak gelişme geriliği oluşur. Hem folat hem de vitamin B12 eksikliğinde bu reaksiyon kesintiye uğradığından megaloblastik anemi ile sonuçlanabilecek ciddi bozukluklar ortaya çıkar (R).

Plazmadaki metionin membran transporter sistemi aracılığıyla hücre içine ve serebrospinal sıvıya geçer. Hücresel metionin “Metionin ATP-L-metionin S-adenosiltransferaz” enzimi aracılığıyla adenozeinlenir ve S-adenozilmetionin (SAM) meydana gelir. S-adenozilmetionin, birçok reaksiyonda metil grubu vericisidir. Fosfatidilkolin, myelin, melatonin, katekolaminler, DNA ve RNA sentezinde fonksiyon görür. Metil grubu bırakıldıktan sonra S-adenozilhomosistein (SAH) oluşur . S-adenozilhomosistein, “S-adenozilhomosistein hidrolaz” enzimi tarafından homosistein ve adenozeine hidrolize edilir. Daha sonra homosistein; metionin sentaz enzimi tarafından tekrar metionine dönüştürülebilir (remetilasyon). Metionin sentaz enzim aktivitesi için bir koenzim olarak enzime bağlanan MeCbl gereklidir (R).

II. Reaksiyon: Propiyonat katabolizmasında bir basamaktır. Burada metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşümü gerçekleşir. Bu reaksiyonu “metilmalonil CoA mutaz” enzimi katalize eder ve 5-deoksi (AdoCbl) koenzim olarak gereklidir. Bu reaksiyon mitokondride gerçekleşir ve sadece (AdoCbl) koenzim fonksiyonu görür. Vitamin B12 eksikliğine bağlı bu yolun hasarlanması ile plazmada ve idrarda metilmalonik asit (MMA) seviyeleri artar (Şekil 4). MMA artışı vitamin B12 eksikliği için hassas ve özgül bir belirleyicidir (R).



Şekil 4: Propionil KoA'nın süksinil KoA'ya dönüşüm reaksiyonları(S).

Vitamin B12 bağımlı her iki reaksiyon sonrası iki toksik molekül olan homosistein ve metilmalonil CoA'nın plazma seviyelerini düşer (R).

2.1.6. Vitamini B12'nin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu

Vitamin B12'nin en önemli fonksiyonu hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA yapımını sağlamaktır. DNA yapımı üzerine etkisi tetrahydrofolat (TH4-folat) üzerinden olur. Vitamin B12 eksikliğine en duyarlı olan sistemler hücre çoğalma hızının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemleridir. 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. Bunu destekleyen başlıca bulgular; pernisiyöz anemi ve vitamin B12 eksikliğine bağlı megaloblastik anemi olgularında anemi ile birlikte her zaman nörolojik bozukluk bulunmaz. Nörolojik sendrom bazen belirgin hematolojik bozukluk olmadan da meydana gelebilir. Nitekim hematolojik ve nörolojik bozukluğun birlikte bulunduğu olgularda bunların şiddeti arasında genellikle bir paralellik yoktur. Ayrıca, kimi vitamin B12 eksikliğine bağlı

anemilerde, folik asit replazmanı ile hematolojik bozukluk düzelirken, nörolojik bozukluk genellikle düzelmez, hatta bazen kötüleşebilir (R).

Folik asidin etkin şekli olan tetrahidrofolattan (THF) hücre içinde sentez edilen THF türevleri, DNA sentezi ve purin ve pirimidin bazlarının sentezi için gerekli tek karbon ekleme reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Bu türevlerin sentezi, vitamin B12'nin aktif koenzim şekli olan MeCbl aracılığı ile yapılır. Metiltetrahidrofolat'ın tek karbon donörü olan diğer türevlere, diğer adıyla folat kofaktörlerine (5,10-metilentetrahidrofolat ve benzeri gibi) dönüşebilmesi için önce metil grubunu kaybederek tetrahidrofolat haline getirilmesi gerekir. Bu olay homosistenin'in metionine dönüştürülmesi olayına kenetli olarak gerçekleşir. Bu reaksiyona "metionin sentaz" reaksiyonu adı verilir. Folat kofaktörleri belirli bir düzene göre (folik asit kofaktörleri siklusu) birbirlerine ve sonunda THF'a dönüşürler. Bu siklus, DNA yapımı için gerekli timidilatın sentezi, DNA purin ve pirimidin bazlarının sentezi ve serinden glisin oluşumu reaksiyonlarına kenetlenmiş bir şekilde sürdürülür (R). Vitamin B12 eksikliğinde, folatın etkin formu olan THF hücre içinde azalırken, tetrahidrofolatın metilkobalamin tarafından metillenmesiyle oluşan ve yaşamsal önemi olan folat kofaktörlerine dönüşmeyen metiltetrahidrofolat formu ise hücre içinde birikir. Bu olaya "metilfolat tuzağı" adı verilir. Bunun sonucu 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 yapıya büyük hücreler oluşur ve normoblastların yerini alır (megaloblastik eritropoez). Bu arada bazı hücreler parçalanır ve ölür (inefektif eritropoez) (T).

Vitamin B12 eksikliği sonucunda metil TH4-metilen TH4 dönüşümü olmaması sonucu dUMP'nin dTMP'ye dönüşümü gerçekleşmemektedir. Bu da folat eksikliğinde olduğu gibi DNA içinde urasil birikimine ve yanlış yapılanmaya neden olmaktadır (V). Her iki vitamin eksikliğinde ise sinerjik olarak hasar artmaktadır (W). DNA'nın aksine RNA sentezi için timidilat'ın sentezi gerekli değildir (X).

2.1.7. Vitamin B12 Bağlayıcı Proteinler

1. İntrinsik Faktör (İF): İnsan mide fundus mukozasının pariyetal hücrelerinde sentez edilir. Isıya dayanaksız ve alkali ortamda stabil olan bir glikoproteindir. Özellikle vitamin B12'ye bağlanmadığı zaman asit PH'da peptik sindirime hassastır. Vitamin B12 varlığında monomer formundan dimer formuna geçer ve hızlı bir şekilde vitamin B12'yi bağlar. Her 1 mg'ı yaklaşık 30 g vitamin B12 bağlar. Günlük sekrete edilen miktar 40-80 g vitamin B12 bağlamak için yeterlidir. (Cbl-İF) kompleksi ince bağırsak lümeninde emilir. Geni de 11. kromozom üzerine lokalizedir (R).

2. Transkobalamin-II (TCII): İnce bağırsak hücrelerinden veya depolardan vitamin B12'yi alıp, kullanan dokulara taşımada hizmet eder. Fibroblastlar, makrofajlar, enterositler, hepatositler, dalak, kalp, böbrek hücreleri, mide mukozası ve endotelyum gibi farklı hücrelerde sentez edilen ve glikolize olmamış bir proteindir. Plazmada, serebrospinal ve seminal sıvılarda bulunur. Vitamin B12'ye bağlandığı zaman kendi kendine veya diğer proteinler ile polimerize olur. Plazma turnoveri (dönüşümü) çok hızlıdır. Vitamin B12 aktivitesi olmayan korrin analogları için afinitesi çok düşüktür. Plazmada TCII'ye hem MeCbl hem de AdCbl bağlanırken, TCI'e sadece MeCbl bağlanır (Y,Z).

3. Haptokorrinler: TCO, TCI, TCIII, R-bağlayıcı protein ve kobalofilin olarak adlandırılırlar. Haptokorrinler, farklı derecelerde glikozile olmuş, benzer yapıları glikoproteinlerdir. Bunlar myeloid hücreler ve olası diğer birçok hücre tarafından sentez edilir. En önemli kaynağı granülositlerdir. Haptokorrinler; plazma, safra, tükürük, gözyaşı, anne sütü, amnion sıvısı, seminal sıvı gibi bir çok sekresyonda ve granülositler, trombositler, tükürük bezleri ve hepatoma hücrelerinde mevcuttur. Plazmada vitamin B12'nin %70-90'ı haptokorrinlere bağlanır. Haptokorrinler vitamin B12 bağlayıcı proteinlerin tamamı arasında vitamin B12'ye en büyük afinitiyi gösterir. Ek olarak haptokorrinler vitamin B12 aktivitesinden yoksun diğer korrinlere bağlanma için daha yüksek afiniteye sahiptirler. Transkobalamin I çoğunlukla (MeCbl) olmak üzere vitamin B12 ile %80-90 doyunluk durumundadır. Plazmadaki vitamin B12'nin çoğundan kobalamin bağlayan TCI sorumludur (R,U).

Besin ile alınan aktif kobalaminler ve kobalamin analogları haptokorrinler tarafından sıkıca bağlanır ve en sonunda karaciğere taşınırlar. Bunların bir kısmı safra ile sekrete edilir. Gerçek kobalaminler İF'e bağlanarak bağırsaktan tekrar emilir, analogları ise atılır. Haptokorrinler aynı zamanda vitamin B12'nin üriner atılımını azaltarak depolama ve koruma fonksiyonuna hizmet eder (U, AA).

2.1.8. Vitamin B12'nin Emilimi

Gıdalardaki vitamin B12'nin emilimi ve sindirimi oldukça kompleks bir süreç sonunda gerçekleşir. Proteine bağlı olmayan vitamin B12 ağızda dilaltında emilebilir. Asıl besin kaynağı olan hayvansal gıdalarla alındığı zaman vitamin B12 proteine bağlıdır ve dilaltında emilemez.

Hayvansal gıdadaki vitamin B12'in emilimi beş basamakta tamamlanır (Z).

1. Gıdalardaki proteine bağlı vitamin B12 midede gastrik asit, pepsin ve proteazlar aracılığıyla serbestleşir. Bu süreç vitamin B12 emilimi için esastır. Atrofik gastritte vitamin serbestleşemez.

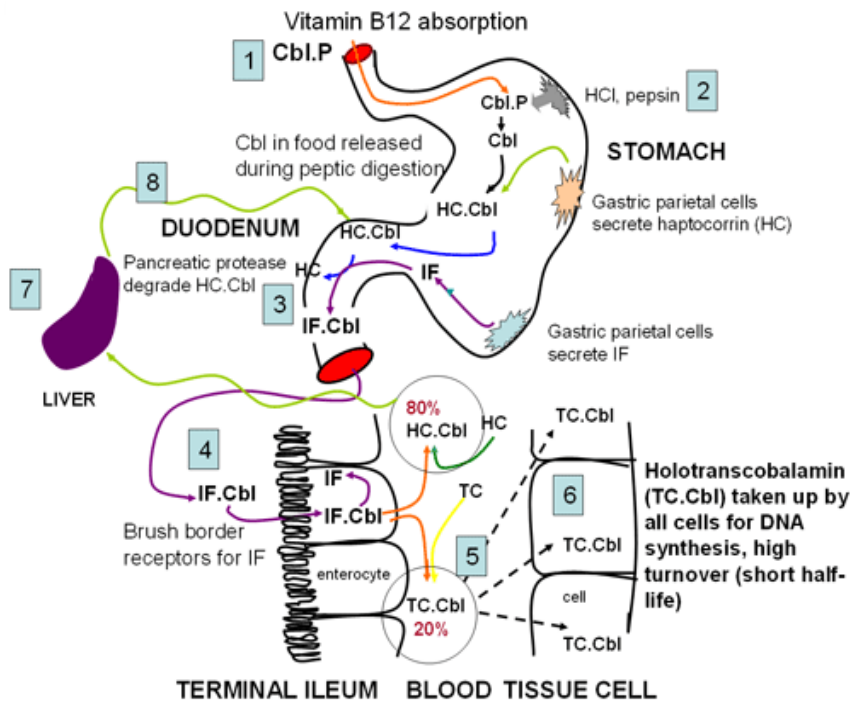
2. Mide ve tükürük sekresyonunda mevcut R-bağlayıcı protein serbest vitamin B12 ve analoglarını bağlar. Midede kobalamin-R-bağlayıcı protein kompleksi oluşur.

3. Kobalamin-R-bağlayıcı protein kompleksi doudenuma ulaştığında doudenumun alkali ortamında pankreatik enzimler aracılığıyla R-bağlayıcı protein sindirime uğratılır ve serbestleşen kobalamin (aktif kobalamin) gastrik glikoprotein olan İF'e bağlanır. İnaktif kobalamin analogları İF'e bağlanamaz.

4. Vitamin B12-İF kompleksi terminal ileumda mukozal hücrelerin mikrovillüs membranlarının üzerindeki spesifik İF-vitamin B12 reseptörlerine bağlanır. Bu reseptöre bağlanma sürecinde 6,4-8,4 arasında PH ve divalent katyonlar (kalsiyum) gereklidir.

5. Vitamin B12 -İF kompleksi endositoz ile hücre içine alınır, vitamin B12 bazal membrandan kan dolaşımına geçer ve TCII proteinine bağlanır. Kısmen bozulan İF ise

salınır. İleal İF-Cbl reseptörü dağılımı bireylerde değişiklik gösterir. İnce bağırsakta bir seferde reseptöre bağlanabilen İF-Cbl kompleksinin maksimum miktarı yaklaşık 1,5 g'dır. Kobalaminlerin fizyolojik emilimi için İF'e bağlanmaları gerekir. İF'e bağlandığı zaman diyetle alınan kobalaminlerin %70'i emilir. İF yokluğunda hastalara fazla miktarda vitamin B12 (100-1000 g) ağız yolundan verildiği zaman basit diffüzyon gibi olası spesifik olmayan mekanizma aracılığı ile düşük oranda (% 0.1-% 1) ince bağırsaktan emilir (R).



Şekil 5: Vitamin B12'nin absorpsiyonu.

2.1.9. Vitamin B12'nin Dokuya Taşınması

Plazmaya geçen vitamin B12 iki farklı proteine bağlanır. Bu taşıyıcı proteinlerden biri TCII'dir. TCII ince bağırsak hücrelerinden veya vücuttaki depolardan vitamin B12 gereksinimi olan dokulara vitamin B12 taşınmasını hızlı bir şekilde sağlar. Bu dokuların hücreleri "TCII-Cbl kompleksi" için reseptör taşır. Böylesi fizyolojik önemine rağmen TCII plazmada total vitamin B12 yalnızca yaklaşık %10-30'unu bağlar. Geriye kalan vitamin B12'ler haptokorrinlere, özellikle TCI'e bağlıdır (Z).

2.2 Vitamin B12 Eksikliği

2.2.1. Vitamin B12 eksiklik Nedenleri

Vitamin B12 eksikliği nedenleri üç gruba ayrılabilir; nutrisyonel eksiklik, malabsorpsiyon sendromları ve diğer gastrointestinal nedenler (BB). Normal bir batılının diyetinde gerekli olandan daha fazla vitamin B12 bulunur. Ayrıca insan ciddi malabsorpsiyon durumlarında bile iki ile beş yıl arasında yetebilecek kadar vitamin B12 deposuna sahiptir(BB). Sanayileşmiş ülkelerde sağlıklı insanlarda nutrisyonel vitamin B12 eksikliği çok nadir görülür. Yaşlılar, kronik alkolikler ve katı vejeteryanlar nutrisyonel eksiklik açısından risk altında olan kişilerdir.

Vitamin B12 eksikliğine bağlı gelişen pernisiyöz aneminin en sık nedeni malabsorpsiyondur(CC). Pernisiyöz anemi özellikle fundal mukoza hasarı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (DD). Vitiligo, tiroid bozuklukları, Addison hastalığı, Sjögren sendromu gibi birçok otoimmün hastalıkla ve artmış adenokarsinom, lenfoma ve karsinoid tümör gibi gastrik neoplazm sıklığı ile ilişkilidir (EE,FF,GG). Parietal hücre antikörlerinin varlığı pernisiyöz anemi için %85-90 duyarlıdır. Ancak parietal hücre antikör varlığı nonspesifik olup, diğer otoimmün hastalıklarda da görülebilir (HH).

İlk kez 1995 yılında Carmel tarafından tanımlanan besin-kobalamin malabsorpsiyon sendromu, kobalaminin besinden veya intestinal transport proteinlerinden ayrılmasındaki bozuklukla karakterize, daha çok hipoklorhidri durumlarında görülen ve bağlanmamış kobalaminin emiliminin normal olarak kaldığı bir bozukluktur (II). Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda bu sendrom, yeterli kobalamin alımı, negatif standart Schilling testi ve predispoze faktörler varlığında kobalamin eksikliğinin persiste etmesiyle tanımlanmıştır (.II,JJ,KK). Besin kobalamin malabsorpsiyonu ile ilişkili predispoze faktörler H. pylori enfeksiyonu, uzun süreli gastrik asit inhibitörü veya biguanid kullanımı, kronik alkolizm, intestinal mikrobiyal proliferasyon (antibiyotik kullanımına ikincil), parsiyel pankreatik ekzokrin yetmezlik,

geçirilmiş cerrahi veya gastrik rekonstruksiyon (obezite için yapılan bypass cerrahisi) ve Sjögren sendromudur (LL-UU).

Gastrektomi ve terminal ileumun cerrahi rezeksiyonu yaşlılarda önemli kobalamin malabsorpsiyon nedenlerinden biri iken bu tür operasyonların sıklığının azalması ile nadir hale gelmiştir (UU,VV). Total gastrektomi intrinsik faktörün tek kaynağını ortadan kaldırmakla birlikte gastrik asiditeyi de azaltır. Gastrik asidite yokluğunda kobalamin malabsorpsiyonu intraluminal mikrobiyal proliferasyona ikincil oluşur (UU).

İnce barsağın distal 80 cmlik kısmında hasara yol açan Crohn hastalığı, tüberküloz, lenfoma, amiloidoz, skleroderma, Whipple hastalığı, Çölyak hastalığı, Diphylobothrium enfeksiyonu, kolestramin veya kolşisin kullanımı vitamin B12 eksikliğinin diğer nadir görülen nedenleridir (PP,WW, BBB). Agamaglobulinemia, AIDS (beraberinde görülen mikrobiyal proliferasyon nedeniyle) de vitamin B12 eksikliğine neden olabilir (TT).

Hereditör kobalamin metabolizma hastalıkları, kubilin veya transkobalamin II eksikliğine neden olabilir. Nadir olarak metilasyon zincirinde rol alan intrasellüler enzimlerin eksiklikleri de vitamin B12 eksikliğine neden olabilir (TT,VV). Bu tür hereditör hastalıklar genelde yenidoğanlarda görülür.

Tablo 2: Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri (DDD).

<u>Bozulmuş gastrik absorbsiyon</u>	Pernisiyöz anemi Gastrektomi-parsiyel ve ya total Zollinger-Ellison sendromu
<u>Bozulmuş intestinal absorbsiyon</u>	İleal reseksiyon ve ya hastalık- Crohn hastalığı İnflamatuvar barsak hastalığı, Tuberküloz ileiti Kör lup sendromu Luminal rahatsızlık- Kronik pankreas hastalığı, Gastrinoma Parazitler- Giardiya, Bakteriyel aşırı çoğalma, Difilobotriyaz
<u>Pankreatik yetmezlik</u>	Kronik pankteatit
<u>Azalmış oral alım</u>	Malnutrisyon Azalmış hayvansal gıda alımı Sıkı vegeteryan diyeti
<u>Konjenital/İnherited</u>	İF reseptör yetmezliği/hasarı-Immerslund Grasbeck sendromu IF konjenital yetmezliği- ‘Juvenil’ pernisiyöz anemi Kobalamin mutasyonu (C-G-1 geni) Transkobalamin Eksikliği
<u>Artmış ihtiyaçlar</u>	Hemoliz HIV
<u>İlaçlar</u>	Alkol Nitrit oksit Proton pompa inhibitörleri H2 reseptör antagonistleri Metformin Kolşisin Kolestiramin

2.2.2. B12 Vitamin Eksikliğinde Görülen Klinik Semptom ve Bulgular

Vitamin B12 eksikliğinde hematolojik, nöropsikiyatrik, gastrointestinal belirti ve bulgular ortaya çıkmaktadır (A).

Hematolojik Semptom ve bulgular:

Vitamin B12 eksikliğinin hematolojik etkileri folat eksikliğindekilere benzer ve DNA sentezindeki bozulma sonucunda gelişir. Vitamin B12 eksikliğine bağlı hematolojik bulguları, folat eksikliğine bağlı hematolojik bulgulardan ayırmak oldukça zordur. En sık başvuru nedeni anemi ile ilgili semptomlardır. Vitamin B12 eksikliğinde polimorfonükleer lökositlerin hipersegmentasyonu, makrositik ve hiperkromik eritrositler, Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) artışı, Eritrositlerin İçerdiği Ortalama Hemoglobin Miktarı (MCH) artışı, Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyon Yüzdesi (MCHC) artışı, alyuvar sayısında azalma, cildin soluklaşması, çabuk yorulma, taşipne ve palpasyon semptomları gözlenir. Kemik iliği hücreleri etkilendiğinden nötropeni ve trombositopeni görülebilir. Megaloblastik anemi vitamin B12 eksikliğinin klasik bulgusudur. Fakat yapılan kimi çalışmalarda vitamin B12 eksikliği olan kişilerde, bazen de anemi ve makrositoz bulgusunun olmadığı bildirilmiştir. Vitamin B12 eksikliğine bağlı komplikasyonlar, vitamin verilmesi ile tamamen düzelir(EEE,FFF).

Nöropsikiyatrik Semptom ve Bulgular:

Vitamin B12 eksikliğine bağlı gelişen nörolojik belirtiler aneminin süresi ve derinliği ile ilişkisizdir ve ciddi anemisi olan hastalarda nörolojik belirtilerin ya hiç olmadığı ya da çok az olduğu gösterilmiştir(A,EEE). Nörolojik komplikasyonlar en endişe verici durumdur. Ayrıca ilerleyen olgularda tedaviden etkilenmeme riski de taşımaktadır(A). 60 yaşından büyük kimselerde sıkça nörolojik tablo ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliğinin, normal kemik iliği ve kan hücre değerlerine rağmen psikiyatrik bozukluk yapabileceği belirtilmiştir(GGG). Nöropsikiyatrik komplikasyonlar vitamin B12 eksikliği olan kişilerin %35'inde bulunur(HHH). Nörolojik semptomları bulunan hastaların %25-33'ünde tek klinik bulgu nöropatidir(EEE).

Vitamin B12 eksikliği çoğunlukla periferik sinirleri ve daha sonra spinal kordu etkiler(FFF,KKK). Erken periferik nöropati döneminde el ve ayaklarda pareteziler oluşur ve bu en erken nörolojik belirtidir(A,İİİ). Bunu güçsüzlük ve pozisyon duyusu bozukluğu izler. Duruş bozuklukları ortaya çıkabilir(A). Reflekslerde azalma ve ya artma özellikle Romberg ve Babinski belirtileri pozitif olabilir ve kas güçsüzlüğü saptanabilir(A,İİİ). Arka kordon tutulumu vibrasyon his kusuruna yol açar. Yan kordon tutulumuna bağlı olarak da spastisite, reflekslerde hiperaktivite ve ekstansör plantar yanıtlar görülebilir(A).

Psikiyatrik belirtiler arasında konfüzyon, ajitasyon, irritabilite, negativizm, hallusinasyon, somnolans, demans, konsantrasyon kaybı, bellek kayıpları, dikkat eksikliği ve apati gibi belirtiler sayılmaktadır. Mesane ve barsak sfinkterleri üzerinde kontrolün bozulması, uyku problemleri ve empotans gelişebilir(İİİ,FFF). Ayrıca olguların %0.5inde optik atrofi ve retrobulbar nörit, oftalmopleji gibi göz bozuklukları ve ortostatik hipotansiyon bildirilmiştir. Myelopati tek başına vakaların %12'sinde mevcut iken, kombine myelopati ve nöropati olguların %41'inde mevcuttur. Bilateral serebral disfonksiyon ise nörolojik semptomlu hastaların %8.1'inde bulunur(A,EEE,FFF).

Gastrointestinal Sistem Semptom ve Bulgular:

Vitamin B12 eksikliği olan hastalarda GİS bulgularına oldukça sık rastlanır. GİS epiteli aynı kemik iliğinde olduğu gibi sürekli yenilenme potansiyeline sahip ve artmış DNA sentezi nedeniyle vitamin B12 eksikliğine son derece hassastır(İİİ,JJJ). GİS belirtilerindeki sıklığın diğer bir nedeni de malabsorbsiyona neden olan GİS hastalıklarının çoğu zaman vitamin B12 eksikliğine de yol açmasıdır. Vitamin B12 eksikliğinin nörolojik komplikasyonları GİS'de otonomik disfonksiyona neden olabilir ve sonuçta motilite bozuklukları, anoreksi, meteorizm, kabızlık, diyare, iştahsızlık, glossite bağlı dilde ağrı, şişlik, kızarıklık, tat almama, Hunter dili (kırmızı-papillar atrofik dil) görülebilmektedir(İİİ,JJJ).

Bunun dışında saçlarda erken beyazlaşma,taşikardi,konjestif kalp yetmezliğine ait semptomlar görülebilir(LLN,NNN). Vajinal mukoza atrofisi, tekrarlayan düşükler, hipofertilite, venöz tromboembolizm ve anjina pektorisin vitamin B12 eksikliği ile ilişkisi halen araştırılmaktadır (OOO,RRR).

Tablo 3: Vitamin B12 eksikliğinde görülen major klinik belirtiler.

Sistem	Belirti
Hematolojik	Makrositoz, nötrofil hipersegmentasyonu, megaloblastik anemi, medüller megaloblastozis
	İzole trombositopeni, nötropeni, pansitopeni
	Hemolitik anemi, trombotik mikroanjyopati
Nöropsikiyatrik	Spinal kordun kombine sklerozu
	Polinöropati, ataksi, Babinski fenomeni
Nöropsikiyatrik	Kranial sinirleri etkileyen serebellar sendromlar; optik nörit, optik atrofi, üriner veya fekal inkontinans
	Demans, inme ve fonksiyonlardaki (hiperhomosisteinemi); ateroskleroz gibi ileri değişiklikler Parkinson sendromları;depresyon
Sindirim	Hunter glossiti, sarılık, laktat dehidrogenaz ve bilirubin yükselmesi (intramedüller yıkım)
	Dirençli veya rekürren mukokutanöz ülserler
	Karın ağrısı, dispepsi, bulantı, kusma, diyare ve barsak fonksiyonlarında değişiklikler
Jinekolojik	Vajinal mukoza atrofisi, vajinal ve üriner infeksiyonlar; hipofertilite ve tekrarlayan düşükler
Diğer	Venöz tromboembolizm, anjina pektoris

2.2.3. VİTAMİN B12 DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hali hazırda vitamin B12 eksikliğinin tanısında mükemmel sayılacak bir test yoktur. İkinci Doğrulamalı testler arasında yer alan serum metilmalonik asit(MMA) ölçümü, biokimyasal ve fonksiyonel eksikliklerde daha çok yardımcı olmaktadır. Ayrıca, yerel olarak alınan referans aralığı, uygulanan laboratuvar tekniğine bağlı gelişen sonuç farklılıkları göz önüne alındığında klinik uygulamada, vitamin B12'nin klinik ve ya subklinik eksikliğinin saptanmasında zorluklarla karşılaşmaktadır.

Total Serum Vitamin B12 düzeyi:

Serum kobalamin konsantrasyon ölçümü, vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen hastaların değerlendirilmesinde köşe taşı olmuştur (LLL). Klinik vitamin B12 eksikliğinde serum kobalamin konsantrasyon ölçümünün duyarlılığı %97'dir (MMM). Ancak bu yaklaşımla ilgili olarak önemli sınırlamalar vardır. Serum vitamin B12 konsantrasyonları, direkt olarak bağlayıcı protein konsantrasyonları ile değişir(NNN). Sınırlamaların sebeplerinden biri bu belirteçin %80'ni haptokorrine %20'si transkobalamine bağlı olan sirküle eden total vitamin B12 değerini göstermesidir. Diğer sınırlama sebebi ise hücreiçi vitamin B12 durumu doğru yansıtmamasıdır.(PPP) Yalancı düşük değerler, folat eksikliği, gebelik, multipl miyelom, oral kontraseptif ilaç kullanımı ve transkobalamin eksiklikleri ile birlikte görülebilir (NNN). Subklinik hastaların yaklaşık % 50'sinin serum vitamin B12 seviyelerinin normal olması, duyarlılığı düşük bir test olduğu için yalnızca serum vitamin B12 düzeyi ölçümüyle pek çok olgunun atlanabileceğini gösterir (OOO).

Kanda vitamin B12 seviyesi ölçümünün özgülüğü de çok yüksek değildir; 100 pg/ml değerinin altındaki ölçümler vitamin B12 eksikliğini göstermekte oldukça özgül iken, 100-400 pg/ml arasındaki değerlerde testin özgülüğü düşüktür (A). Özgülükteki sınırlamalar ve duyarlılıkla ilgili ciddi tartışmalara rağmen yerine geçebilecek evrensel olarak kabul edilmiş bir test yoktur (LLL).

Karışıklıklara neden olan ek bir nokta da tüm klinik laboratuvarlar ng/Lyi kullanırken literatürde kobalamin değerlerinin pmol/L olarak belirtilmesidir ($\text{ng} \times 0.738 = \text{pmol}$, bu yüzden $200 \text{ ng/L} = 148 \text{ pmol/L}$).

Test ucuz maliyet ve otomatik bir metodla yapılmasından yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik olarak, kobalamin için normal değeri için referans aralığı mevcut değil. Serum kobalaminin hangi değerinin subklinik eksikliği gösterdiği de net olarak anlaşılmamıştır(QQQ).

Serum Metilmalonik asit ve Total homosistein

Tanımlanan güçlükler ve olası yalancı negatif sonuçların getireceği morbidite ve mortalite riski nedeniyle günümüzde vitamin B12 eksikliğinin erken döneminde arttığı bilinen, metilmalonik asit (MMA) ve homosistein seviyelerinin kanda ölçülmesi en hassas tanı yöntemi olarak kabul edilmeye başlanmıştır (A,AAAA-CCCC).

Metilmalonik asitin suksinil-KoA'a dönüşmesi için kofaktör olarak vitamin B12 gereklidir o yüzden eğer vitamin B12 yeterli düzeyde değilse metilmalonik asit birikmesine neden oluyor. Yükselmiş serum MMA dokuda vitamin B12 eksikliğinin belirtecidir ve yerine konma tedavisi ile de birkaç gün daha bu yükseklik sürüyor.Serum MMA ölçümü vitamin B12 yetmezliğinin en karakteristik belirteci olabilir, çünkü yüksek serum metilmalonik asit düzeyi kobalamin yetmezliğine işaret ediyor(XXX).

Serum MMA ve homosistein ölçümlerinin serum vitamin B12 düzeyi ölçümüne göre daha pahalı olması, yaygın olarak kullanılmalarını engellemiştir. Klinik olarak saptanmış vitamin B12 eksikliği olup, tedavi ile düzelen anemi ve nöropsikiyatrik bozuklukları saptanan 406 hastadan oluşan büyük bir denek grubunda % 98,4 oranında serum MMA ve % 95,9 oranında serum homosistein seviyelerinde artış saptanmış, sadece bir hastada bu seviyelerin normal olması araştırmacıların serum MMA ve homosistein seviyeleri normal olanlarda klinik olarak belirgin vitamin B12 eksikliğinin ekarte edilebileceği yargısına varmalarına neden olmuştur (DDDD). 1990 yılında yapılan bir başka çalışmada ise, serum vitamin B12 seviyesi düşüken, serum MMA ve

homosistein düzeyleri normal olan hastaların klinik olarak vitamin B12 tedavisine cevap vermedikleri saptanmış olup, bu bulgular tedavinin prognozunu değerlendirebilmek için tek başına serum vitamin B12 düzeyi ölçmenin uygun olmayacağını, vitamin B12 ile birlikte serum MMA ve/veya homosistein düzeyi analizi daha doğru olacağını düşündürmektedir (EEEE). Serum metabolitleri ile nörolojik hastalık veya anemi arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Metabolitlerin hassas bir vitamin B12 eksikliği belirleyicisi olduğuna dair diğer kanıt hematolojik relaps sırasında vitamin B12 seviyeleri subnormal seviyelere düşmeden önce metabolit seviyelerinin artmasıdır. Bu nedenle sınırda veya düşük normal vitamin B12 seviyeleri olan veya nörolojik yakınmaları olan hastalarda, vitamin B12 eksikliğinin tanısı için MMA ve homosistein seviyelerinin kullanılması önerilmektedir. Çünkü en az bir metabolitin yükselmesi % 94 duyarlı, % 99 özgüldür (FFFF). Ancak kobalamin eksikliği, tüm total homosistein düzeyi yüksekliğinin az bir kısmını oluşturduğu ve böbrek yetmezliği, vitamin B6 eksikliğinde, folat eksikliği, hipotiroidizm, homosistein metabolizma bozuklukları gibi durumlarla birlikte olabileceği için sensitif olsa bile tek başına plazma homosistein ölçümünün özgüllüğü düşüktür (GGGG-JJJJ). Serum MMA ölçümünün tartışmalı yanları ise böbrek yetmezliği, volüm kontraksiyonu, ciddi enzim bozuklukları ve barsağın bakteriyel kontaminasyonu ile birlikte değişebilmesidir (KKKK,LLLL,OOOO). Ayrıca, maliyeti yüksek, bulunması zor ve gaz kromatografisi ve kütle spektrometri yoluyla ölçülen bir test olması dezavantajlarıdır. MMA idrarda da ölçülebilir, ancak yaygın olarak kullanılmamaktadır(MMMM,NNNN).

Tablo 4'te vitamin B12 eksikliği tanısı ve alt sınıflandırmasında kullanılan testler özetlenmiştir.

Holotranskobalamin

Holotranskobalamin vitamin B12 metabolik aktif formunun göstergesidir. Belirli laboratuvarlarda bireysel tahlillere bağlı olarak farklı referans aralığı mevcuttur. Ortaya çıkan kanıtlar vitamin B12 durumunu göstermede düşük holotranskobalamin düzeyinin serum vitamin B12'den daha güvenilir olduğuna işaret ediyor. Holotranskobalamin

erken evrede vitamin B12 eksikliğinin tanısında yardımcı ola bilir. Bu test giderek daha çok kabul görmeye başlamış olması rağmen, referans aralığı ile ilgili tutarsızlıklar devam etmektedir. Sensitivite ve spesifitesi ile ilgili yeterli veriler elde yoktur (XXX).

Periferik kan yaymasının tecrübeli personel tarafından incelenmesi ile birlikte tam kan sayımı, uzun zaman boyunca vitamin B12 eksikliği anemisinin değerlendirilmesinde geleneksel metot olmuştur. Metz ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada nötrofil hipersegmentasyonu kontrol grubunun sadece %4'ünde, vitamin B12 düzeyi düşük hastaların ise üçte ikisinde bulunduğu saptanmıştır (YYY). Nötrofil hipersegmentasyonu vitamin B12 eksikliği ile korele olan tek hematolojik değişiklik olarak görölmektedir. Tam kan sayımında ise makrositik anemi görülür. Genellikle makrositik anemiye nötropeni ve trombositopeni eşlik eder. Kemik iliği biopsisi ile nadiren, tanı konulamayan ve ya tedaviye yanıtız vakalarda yapılan tahlildir. (QQQ) Ortalama eritrosit hacminin (MCV) vitamin B12 eksikliğinin tanısında duyarlılığı düşüktür ve vitamin B12 düzeyi 200 ng/l nin altına düşmedikçe anlamlı olarak değişmez (YYY). Vitamin B12 eksikliğine bağlı anemi ile birlikte olan demir eksikliği anemili hastalarda demir eksikliği tedavi edilmediği sürece vitamin B12 eksikliğinin morfolojik özellikleri gelişmeye bilir. Talasemi hastalığı mevcut ise MCV'deki artış maskelenebilir. Ayrıca vitamin B12 eksikliğinin neden olduğu nörolojik problemleri olan hastalarda hematolojik bozukluk görölmeyebilir (ZZZ).

Pernisiyöz aneminin saptanması için önceleri kullanılan Schilling testi de, uygulanma güçlüğü dolayısıyla, yerini parietal hücre ve intrinsek faktöre karşı oluşan antikorların serolojik tespitine bırakmıştır (AAAA). Ancak adı geöen antikorların duyarlılık değerleri birer tarama testi olarak kullanılmalarına yetecek düzeyde değerdir.

Tablo 4: Vitamin B12 eksikliği: tanı ve alt sınıflandırma testleri

Prosedür	Kullanım sıklığı	Tanısal kullanılabilirliği	Maliyet
Tam kan sayımı(CBC)	Yüksek	Düşük	Düşük
Serum kobalamin düzeyi	Yüksek	Orta	Orta
İdrar MMA düzeyi	Düşük	Yüksek	Makul
Serum MMA düzeyi	Düşük	Yüksek	Makul
Serum homosistein düzeyi	Orta	Yüksek	Makul
Anti-parietal hücre antikoru	Düşük	Orta	Orta
Anti-intrinsik faktör antikoru	Düşük	Yüksek	Orta
Serum gastrin düzeyi	Düşük	Makul	Orta
Schilling testi	Düşük	Makul	Yüksek
Nötrofil lob sayımı	Nadir	Orta	Orta
Serum pepsinojen düzeyi	Nadir	Makul	Makul
Kemik iliği incelemesi	Düşük	Orta	Yüksek

2.2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Tedavisi

Günlük vitamin B12 ihtiyacı 2,4 mikrogram olarak belirlenmiştir. Ancak fazla tüketenlerde ve ya günlük multivitamin takviyesi alan kişilerde bu rakam 4-7 mikrogram/gün olarak görülmüştür. Vitamin B12 eksiklik tanısı konan kişilerde bir kaç gün içinde tedaviye başlamak gerekmektedir. Ancak nörolojik bulguları olan hastalarda tedavi hızlandırılmış şekilde başlanmalıdır.

Parenteral Vitamin B12 tedavisi

Parenteral tedavi için önerilen farklı programlar mevcuttur.(ADB’de siyanokobalamin, Avrupada ise hidroskobalamin diye isimlendiriliyor) . Enjekte

edilen dozun %10'u tutuluyor(1000 mikrogramın 100'ı),Klinik bulguları olan hastalar bir kaç hafta süreyle haftada bir kaç sefer olmakla parenteral 1000 rmikrogram dozunda vitamin B12 tedavisi almalı ve bu klinik iyileşme görülene kadar ayda bir kere olmakla tedavi devam ettirilmelidir. Tedaviyi takiben hematolojik yanıt hızlı geliyor, 1 hafta içinde retikulositoz ve 6-8 hafta içinde megaloblastik anemide iyileşme görülmeye başlıyor. Şiddetli anemisi ve kalp yetmezliği olan hastalara ertirosit süspansiyon ve diüretik tedavisi verilmeli ve elektrolit değerleri sıkı takip edilmelidir. Tedavi öncesi mevcut olan nörolojik bulguların şiddeti ve süresi tedavi sonrası durumun nihai derecesini belirliyor. Pernisiyöz anemi hayat boyu tedavi edilmelidir. Klinik iyileşme sonrası tedavisi sonlandırılan hastalarda nörolojik semptomlar yaklaşık 6 ay sonra,megaloblastik anemi ise bir kaç yıl sonra tekrar ediyor.

Oral vitamin B12 tedavisi

Siyanokobalamiin günlük 50-150 mikrogram dozunda oral preparatları verilebilir. Eksikliğin sebebine göre verilme süresi belirlenir. Eğer geridönüşümü olmayan bir hastalıksa, o zaman ömür boyu parenteral tedavi verilmelidir. Oral tedavi daha çok ılımlı ve subklinik eksikliklerde, klinik semptomlar olmayan durumlarda ve absorpsiyon ve uyum açısından pronlem teşkil etmeyen durumlarda tercih edilir. Ancak yapılan bazı çalışmalarda yüksek doz oral B12 vitamin tedavisinin (1000-2000 mcgr/gün) klinik iyileşme sağlamada intramüsküler tedavi kadar etkili olduğuna dair kanıtlar mevcuttur(PPPP).

Tablo 5: Vitamin B12 eksikliği tedavisi (PPPP).

Sebep	Tedavi	Takip
Şiddetli malabsorbsiyon		
Pernisiyöz anemi(otoimmün gastrit)	Parenteral siyanokobalamin 1000 mcgr dozunda 1 hafta boyunca hergün ve ya güneşarı sonraki 4-8 hafta boyunca haftada 1 kere sonrasında ömür boyu aylık 1000 mcgr dozunda ve ya günlük oral 1000-2000 mcgr dozunda ömür boyu kullanılır.	Özellikle barsak hastalığı olanlarda tam hemoglobin cevabı için gerekli olan folat ve demir replazmanı yapılmalı,pernisiyöz anemisi olanlar otoimmün hastalıklar (özellikle de tiroid hastalığı) açısından değerlendirilmeli,mide kanseri ve ya demir eksikliği semptomları olanlara gastroskopi yapılmalıdır.
Total ve ya parsiyel gastrektomi	Pernisiyöz anemi ile aynı	Pernisiyöz anemi ile aynı
Gastrik bypass ve ya diğer bariatrik cerrahi	Pernisiyöz anemi ile aynı	Pernisiyöz anemi ile aynı
İnflamatuvar barsak hastalığı,tropikal spru	Pernisiyöz anemi ile aynı	Pernisiyöz anemi ile aynı
İmmerslund-Grosbak ve ya diğer sendromlar	Pernisiyöz anemi ile aynı	Aile bireylerinde olası vitamin 12 eksikliği açısından genetik danışma yapılmalı
İleal rezeksiyon ve ya organ rekonstruktif cerrahi		Pernisiyöz anemi ile aynı
İlımlı malabsorbsiyon		
Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu	1 hafta boyunca siyanokobalamin 500-1000 mcgr/gün dozunda oral veya parenteral 1000 mcgr/gün ve ya güneşarı olacak şekilde sonraki 4-8 hafta haftada 1 sonrasında ömür boyu ayda bir	Demir eksikliği,kronik reanl yetmezlik, kronik inflamasyon gibi durumlar yaşlılarda sık rastlanır ve bu tedaviye yanıtı geciktirir ve daha ileri tedavi gerekebilir.
İlımlı atrofik gastrit	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde
Metformin kullanımı	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde
Mide asidini bloke eden ilaçlar	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde	Protein bağlı Vitamin B12 malabsorbsiyonu ile aynı şekilde
Diyetle alım eksikliği		
Vegeteryanlar ve etten fakir diyetle beslenenler		Genelde birlikte rastlanan demir eksikliği açısından testler yapılmalı
Nitrit oksit maruziyeti	Parenteral 1000 mcgr/gün dozunda siyanokobalamin tedavisi başlanmalı, pernisiyöz anemideki gibi devam edilmeli, pernisiyöz anemi mevcutsa ömür boyu devam edilmel	Vitamin B12 malabsorbsiyonu açısından araştırılmalı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye kliniğinde yatarak takip edilen ve polikliniğe başvuran hastaların dosya kayıtlarının retrospektif olarak taranması ile yapıldı. Serum kobalamin ve serum metilmalonik asit değeri tayin edilen hastaların dataları incelendi. Ayrıca folik asit eksikliği, böbrek yetmezliği ve hipovolemi, miyeloproliferatif hastalık ve oral kontraseptif ilaç kullanım öyküsü olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Serum vitamin B12 değerine göre ; serum kobalamin düzeyi (0-126 pg/ml) ve (127-200 pg/ml) olanları içerecek şekilde iki ayrı grupta incelendi. Birinci grup aynı zamanda serum vitamin B12 düzeyi (0-99 pg/ml) ve (100-126 pg/ml) olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Daha sonra bu grupların serum metilmalonik asit ve hemogram parametreleri incelenerek gerçek vitamin B12 eksikliği olup olmadıkları ortaya kondu. Çalışmaya toplamda 367 (238 kadın, 129 erkek) hasta katıldı. Tüm hastalarda tam kan sayımı, biyokimya testleri, demir, total demir bağlama kapasitesi(TDBK) , ferritin, serum vitamin B12, folik asit ve metilmalonik asit (MMA) tayini yapılmıştı.

Serum vitamin B12 düzeyi, Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak yapılan, insan serumu ve plazması (heparin) B12 vitamini seviyelerinin kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partikül bir kemilüminesans immünoanalizi testi ile bakıldı.

İstatistiksel yöntem: Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır.

Değişkenlerin dağılımı "Kolmogorov-Smirnov" test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde bağımsız örnekleme t testi, Mann-Whitney u testi kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları sağlanmadığında Fischer test kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman-Korelasyon analizi kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanılmıştır.



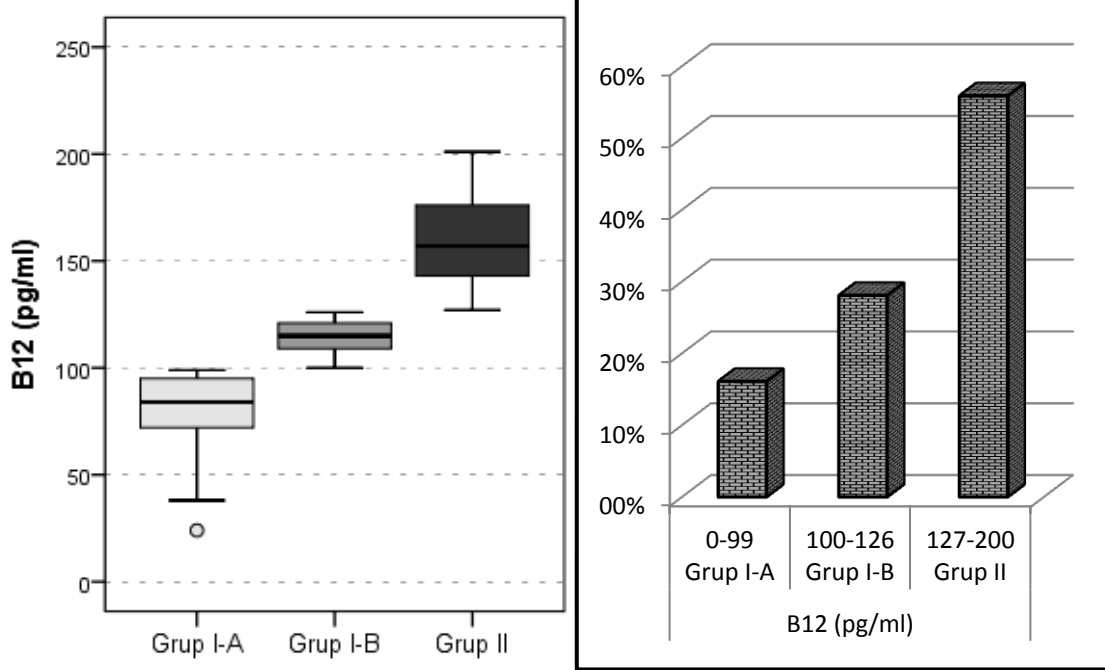
4. BULGULAR

Bu çalışma, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye kliniğinde yatarak takip edilen ve polikliniğe başvuran hastaların dosya kayıtlarının retrospektif olarak taranması ile yapıldı. Serum vitamin B12 ve serum metilmalonik asit değeri bakılan ayrıca folik asit eksikliği, böbrek yetmezliği, hipovolemi, miyeloproliferatif hastalık ve oral kontraseptif ilaç kullanım öyküsü olmayan bireyler çalışmaya dahil edildi. Serum vitamin B12 değerine göre; serum kobalamin düzeyi (0-126 pg/ml) ve (127-200 pg/ml) olanları içerecek şekilde iki ayrı grupta incelendi. İkinci grup aynı zamanda serum vitamin B12 düzeyi (0-99 pg/ml) ve (100-126 pg/ml) olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Daha sonra bu grupların serum metilmalonik asit ve hemogram parametreleri incelenerek gerçek vitamin B12 eksikliği olup olmadıkları incelendi. Çalışmaya 238'i kadın 129'u erkek olmak üzere toplam 367 hasta alındı.

Çalışma grubunun özellikleri Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6: Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri (DDD).

		Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s./n-%
Yaş		17 - 91	47	47.2 ± 16.1
Cinsiyet	Kadın			238 64.9%
	Erkek			129 35.1%
Kronik Hastalık	Yok			232 63.2%
	Var			135 36.8%
B12 (pg/ml)		24 - 201	132	134.3 ± 35.1
	0-99 Grup I-A			59 16.1%
	100-126 Grup I-B			103 28.1%
	127-200 Grup II			205 55.9%
MMA (ng/ml)		6.3 - 291	28	42.2 ± 42.1
Folik Asit (ng/ml)		2.9 - 30.4	6.7	7.5 ± 3.4
WBC (10 ⁹ /l)		2.7 - 19.7	6.8	7.2 ± 2.0
Hbg (g/dl)		5.7 - 18.0	12.9	12.8 ± 2.0
HCT (%)		16.6 - 52.3	39.2	38.7 ± 5.1
PLT (10 ⁹ /l)		18.0 - 517.0	251	255.6 ± 68.5
MCV (fl)		58.7 - 116.6	84.5	83.8 ± 6.5
RDW (%)		11.6 - 31.8	13.6	14.2 ± 2.0
NEU (10 ⁹ /l)		1.5 - 15.6	3.7	4.0 ± 1.6
Fe (myug/dl)		4 - 317	61	64.7 ± 36.7
Fe BK (myug/dl)		83 - 599	360	359.8 ± 66.4
Ferritin (ng/ml)		1.6 - 1055	22.9	41.1 ± 72.0
Üre(mg/dl)		2 - 64	27.0	28.0 ± 8.4
Kreatinin (mg/dl)		0.4 - 1.2	0.7	0.7 ± 0.2
AST (U/L)		9.0 - 72	19	20.7 ± 7.8
ALT (U/L)		1.0 - 82	16	18.6 ± 11.4
T.Bilüribin (mgdl)		0.2 - 5.3	0.5	0.6 ± 0.5
D.Bilüribin (mg/dl)		0.0 - 1.1	0.1	0.1 ± 0.1
LDH (U/L)		76 - 4176	173	206.5 ± 312.3



Grup I ve grup II de hastaların yaşları anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Grup II de kadın hasta oranı grup I den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Grup I ve grup II de kronik hastalık oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Tablo 7)

Tablo 7: Çalışmaya Katılan Hastaların Yaş, Cinsiyet ve Kronik hastalık Ortalaması

		Grup I		Grup II		p
		Ort.±s.s./n-%	Medyan	Ort.±s.s./n-%	Medyan	
Yaş		48.6 ± 18.0	50.0	46.2 ± 14.3	46.0	0.158 ^t
Cinsiyet	Kadın	89	54.9%	149	72.7%	0.000 ^{x²}
	Erkek	73	45.1%	56	27.3%	
Kronik Hastalık	Yok	103	63.6%	129	62.9%	0.897 ^{x²}
	Var	59	36.4%	76	37.1%	

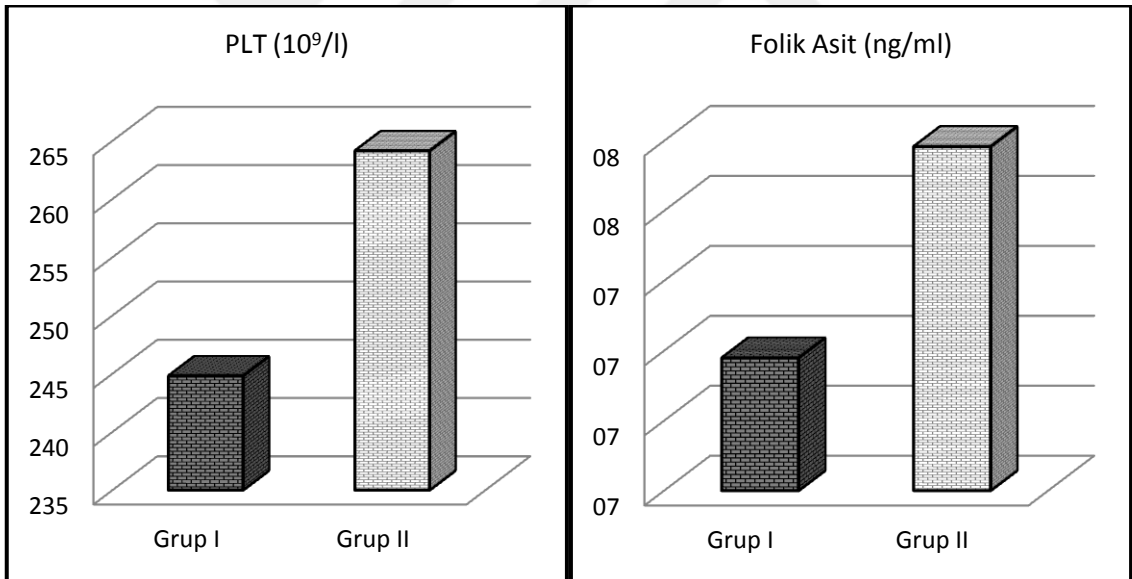
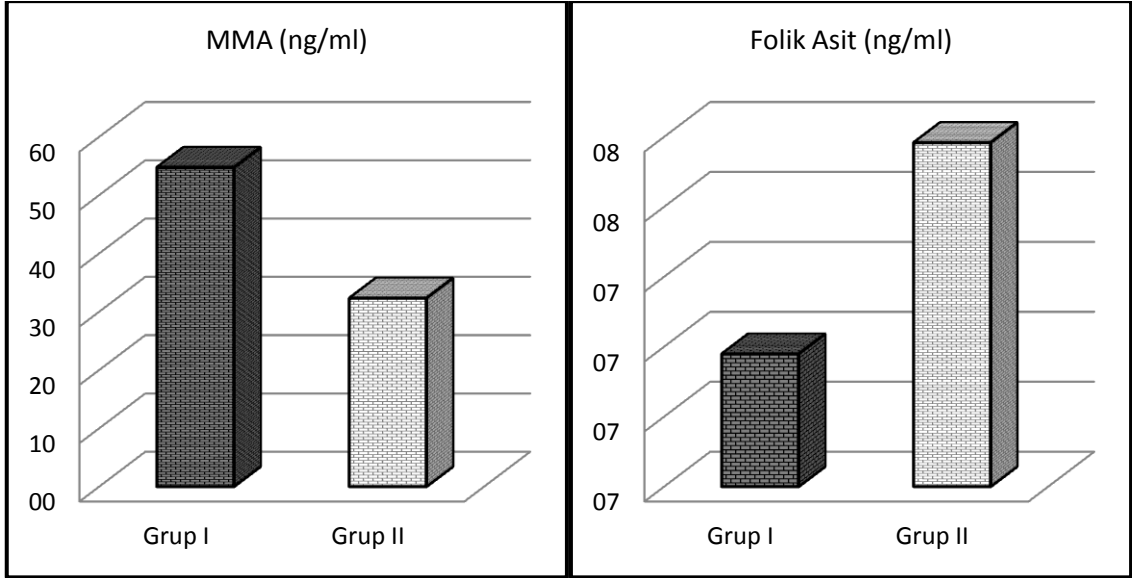
^tt test / / ^{x²} Ki-kare test

Grup I de serum MMA değeri grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Grup I de folik asit değeri grup II den anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0.05$). Grup I ve grup II de lökosit sayısı(WBC), hemoglobin(Hbg), hematokrit (HCT), MCV, nötrofil(NEU) , demir(Fe), demir bağlama kapasitesi(Fe BK), ferritin, üre, kreatinin, aspartat aminotransferaz(AST), alanin aminotransferaz(ALT), total bilirübin, direkt bilirübin, laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Grup I de trombosit(PLT) değeri grup II den anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0.05$). Grup I de RDW değeri grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). (Tablo 8)

Tablo 8: Hasta Alt Gruplarının Klinik Özellikleri

	Grup I			Grup II			p
	Ort.±s.s.	Med	(Min-Mak)	Ort.±s.s.	Med	(Min-Mak)	
Yaş	48.6 ± 18.0	50	18 - 91	46.2 ± 14.3	46	17 - 81	0.158 ^t
pg/ml)	102 ± 20	108	24 - 126	160 ± 21	157	127 - 201	0.000 ^m
MMA (ng/ml)	54.7 ± 51.9	38	7 - 291	32.3 ± 28.8	24	6 - 172	0.000 ^m
Folik Asit (ng/ml)	7.2 ± 3.5	6	3 - 30	7.8 ± 3.4	7	3 - 24	0.031 ^m
WBC (10 ⁹ /l)	7.1 ± 2.0	7	3 - 14	7.2 ± 2.1	7	4 - 20	0.844 ^m
Hbg (g/dl)	12.5 ± 2.2	13	6 - 17	13.0 ± 1.7	13	7 - 18	0.173 ^m
HCT (%)	37.9 ± 5.7	38	17 - 47	39.3 ± 4.4	39	25 - 52	0.135 ^m
PLT (10 ⁹ /l)	245 ± 73	244	18 - 441	264 ± 64	258	119 - 517	0.016 ^m
MCV (fl)	83.7 ± 7.5	85	59 - 117	83.8 ± 5.6	84	60 - 102	0.668 ^m
RDW (%)	14.6 ± 2.6	14	12 - 32	13.9 ± 1.3	14	12 - 19	0.025 ^m
NEU (10 ⁹ /l)	4.0 ± 1.6	3.7	1.5 - 11.0	4.1 ± 1.6	3.7	1.5 - 15.6	0.730 ^m
Fe (myug/dl)	63.8 ± 38.0	60	4 - 226	65.4 ± 35.6	62	7 - 317	0.532 ^m
Fe BK (myug/dl)	359 ± 72	359	168 - 599	361 ± 62	364	83 - 520	0.759 ^t
Ferritin (ng/ml)	42.8 ± 91.0	23	2 - 1055	39.8 ± 53.4	22	2 - 522	0.870 ^m
Üre(mg/dl)	28.7 ± 8.7	27	2 - 54	27.5 ± 8.2	26	10 - 64	0.173 ^m
Kreatinin (mg/dl)	0.7 ± 0.2	0.7	0.4 - 1.2	0.7 ± 0.2	0.7	0.4 - 1.2	0.401 ^m
AST (U/L)	21.4 ± 8.7	20	9 - 72	20.1 ± 6.9	19	10 - 63	0.128 ^m
ALT (U/L)	18.4 ± 12.0	15	1 - 74	18.8 ± 11.0	16	5 - 82	0.224 ^m
T.Biliribin (mgdl)	0.7 ± 0.6	0.6	0.2 - 5.3	0.6 ± 0.3	0.5	0.2 - 3.8	0.449 ^m
D.Biliribin (mg/dl)	0.1 ± 0.1	0.1	0.0 - 1.1	0.1 ± 0.1	0.1	0.0 - 0.7	0.453 ^m
LDH (U/L)	242 ± 461	174	101 - 4176	177 ± 37	172	76 - 392	0.770 ^m

^tt test / ^mMann-whitney u test



Grup I ve grup II de normal sınır dışında serum MMA, lökosit(WBC),hematokrit(HCT), MCV, RDW,nötrofil(NEU), Fe, Fe BK, ferritin, üre, kreatinin olan hasta oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Grup I de normal sınır dışında hemoglobinin olan hasta oranı grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Grup I de normal sınır dışında trombosit sayısı (PLT) olan hasta oranı grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). (Tablo 9)

Tablo 9: Hasta Alt Grup Karşılaştırılması

		Grup I		Grup II		p
		n	%	n	%	
Folik Asit (ng/ml)	< 3.1	2	1.4%	0	0.0%	0.190 ^{X²}
	≥ 3.1	136	98.6%	178	100.0%	
WBC (10 ⁹ /l)	< 4.23	5	3.1%	2	1.0%	0.142 ^{X²}
	≥ 4.23	157	96.9%	203	99.0%	
Hbg (g/dl)	< 12.2	62	38.3%	58	28.3%	0.043 ^{X²}
	≥ 12.2	100	61.7%	147	71.7%	
HCT (%)	< 37.7	70	43.2%	76	37.1%	0.233 ^{X²}
	≥ 37.7	92	56.8%	129	62.9%	
PLT (10 ⁹ /l)	< 142	9	5.6%	1	0.5%	0.003 ^{X²}
	≥ 142	153	94.4%	204	99.5%	
MCV (fl)	< 80	34	21.0%	41	20.0%	0.816 ^{X²}
	≥ 80	128	79.0%	164	80.0%	
RDW (%)	≤ 16	144	88.9%	193	94.1%	0.068 ^{X²}
	> 16	18	11.1%	12	5.9%	
NEU (10 ⁹ /l)	< 1.56	1	0.6%	1	0.5%	1.000 ^{X²}
	≥ 1.56	161	99.4%	204	99.5%	
Fe (myug/dl)	< 60	76	47.8%	92	46.5%	0.802 ^{X²}
	≥ 60	83	52.2%	106	53.5%	
Fe BK (myug/dl)	≤ 425	135	85.4%	176	88.9%	0.331 ^{X²}
	> 425	23	14.6%	22	11.1%	
Ferritin (ng/ml)	< 11	43	28.1%	55	27.5%	0.900 ^{X²}
	≥ 611	110	71.9%	145	72.5%	
Üre(mg/dl)	≤ 43	153	95.0%	199	97.1%	0.312 ^{X²}
	> 43	8	5.0%	6	2.9%	
Kreatinin (mg/dl)	≤ 0.95	146	90.1%	192	93.7%	0.213 ^{X²}
	> 0.95	16	9.9%	13	6.3%	

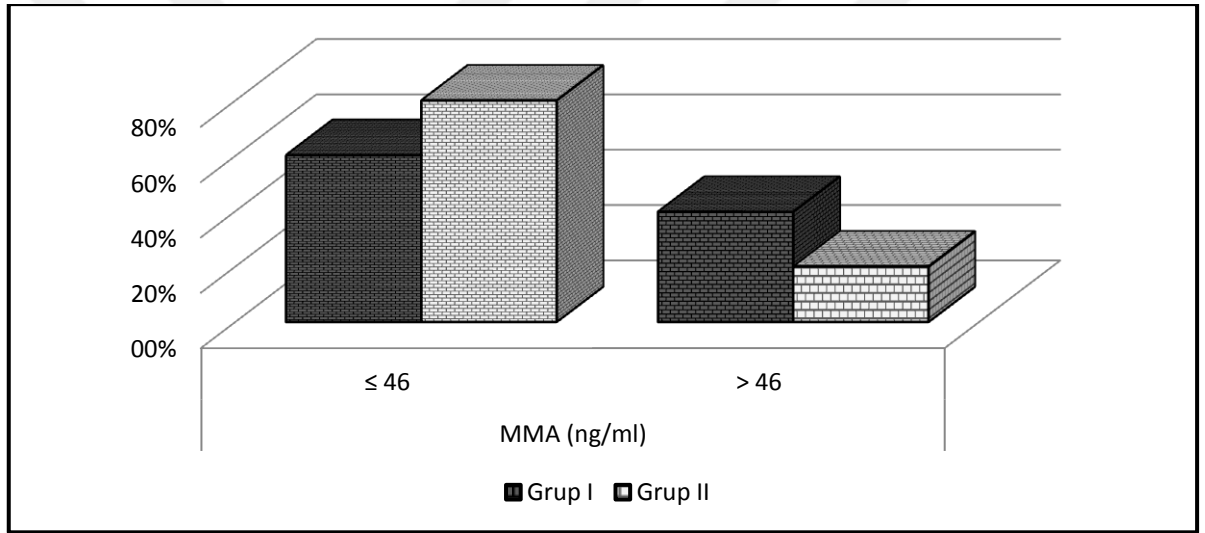
^{X²} Ki-kare test (Fischer test)

Grup I de normal sınır dışında serum MMA olan hasta oranı grup II den anlamlı olarak daha yüksekti (p < 0.05). (Tablo 10)

Tablo 10: Tüm Hasta Gruplarında vitamin B12 ve serum MMA İlişkisi

	MMA (ng/ml)	Grup I		Grup II		p
		n	%	n	%	
	≤ 46	97	60.2%	164	80.0%	0.000 ^{x²}
	> 46	64	39.8%	41	20.0%	

^{x²} Ki-kare test

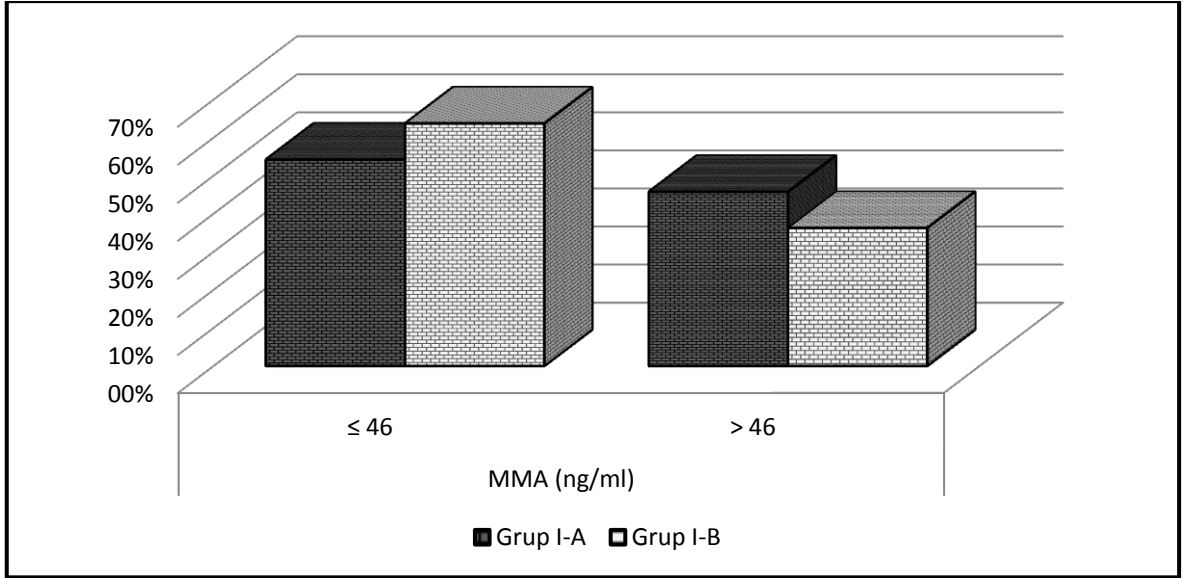


Grup I-A ve Grup I-B de normal sınır dışında saptanan serum MMA düzeyinde anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). (Tablo 11)

Tablo 11: Hasta Alt Gruplarında vitamin B12 ve serum MMA İlişkisi

	MMA (ng/ml)	Grup I-A		Grup I-B		p
		n	%	n	%	
	≤ 46	32	54.2%	65	63.7%	0.236 ^{x²}
	> 46	27	45.8%	37	36.3%	

^{x²} Ki-kare test



Tablo 12: Hasta Alt Gruplarında serum MMA ve beyaz küre sayısı(WBC), hemogloblin(HGB),tombosit sayısı(PLT), MCV ilişkisi

<i>B12 (pg/ml) ≤ 126 / MMA ≤ 46</i>	Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s./n-%	
WBC (10 ⁹ /l)	3.9 - 19.7	6.7	7.2 ± 2.1	
< 4.23			1	3.1%
≥ 4.23			31	96.9%
Hbg (g/dl)	7.1 - 18.0	12.9	13.0 ± 1.7	
< 12.2			11	34.4%
≥ 12.2			21	65.6%
PLT (10 ⁹ /l)	119 - 517	258.0	264.1 ± 63.7	
< 142			1	3.1%
≥ 142			31	96.9%
MCV (fl)	59 - 92	84.2	82.2 ± 7.3	
< 80			8	25.0%
≥ 80			24	75.0%

Tablo 13: Tüm Hasta Gruplarında serum MMA ve beyaz küre sayısı (WBC), hemoglobinin(HGB), trombosit sayısı (PLT), MCV ilişkisi

		MMA (ng/ml) ≤ 46		MMA (ng/ml) > 46		p
		n	%	n	%	
Grup I						
WBC (10 ⁹ /l)	< 4.23	2	2.1%	3	4.7%	0.387 ^{x2}
	≥ 4.23	95	97.9%	61	95.3%	
Hbg (g/dl)	< 12.2	36	37.1%	25	39.1%	0.803 ^{x2}
	≥ 12.2	61	62.9%	39	60.9%	
PLT (10 ⁹ /l)	< 142	2	2.1%	7	10.9%	0.016 ^{x2}
	≥ 142	95	97.9%	57	89.1%	
MCV (fl)	< 80	19	19.6%	14	21.9%	0.803 ^{x2}
	≥ 80	78	80.4%	50	78.1%	
Grup II						
WBC (10 ⁹ /l)	< 4.23	1	0.6%	1	2.4%	0.361 ^{x2}
	≥ 4.23	163	99.4%	40	97.6%	
Hbg (g/dl)	< 12.2	45	27.4%	13	31.7%	0.587 ^{x2}
	≥ 12.2	119	72.6%	28	68.3%	
PLT (10 ⁹ /l)	< 142	1	0.6%	0	0.0%	1.00 ^{x2}
	≥ 142	163	99.4%	41	100.0%	
MCV (fl)	< 80	35	21.3%	6	14.6%	0.587 ^{x2}
	≥ 80	129	78.7%	35	85.4%	

^{x2} Ki-kare test (Fischer test)

Grup I de serum MMA düzeyi(≤ 46ng/ml) olan ve (> 46ng/ml) olan grupta lökosit sayısında azalma, hemoglobinin(Hbg) düşüklüğü, MCV yüksekliği anlamlı farklılık göstermemiştir (p > 0.05). Serum MMA düzeyi (≤ 46ng/ml) olan grupta trombosit sayısında azalma, serum MMA(> 46ng/ml) olan gruptan anlamlı olarak daha yüksekti (p < 0.05). (Tablo 13)

Grup II de serum MMA düzeyi(≤ 46ng/ml) olan ve (> 46ng/ml) olan grupta lökosit (sayısında azalma,, hemoglobinin(Hbg) düşüklüğü, trombosit sayısında azalma, MCV yüksekliği anlamlı farklılık göstermemiştir (p > 0.05). (Tablo 13)

5. TARTIŞMA

DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12 özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin devamlılığının sağlanması için gereklidir (A). Vitamin B12 homosisteininin metionine, metilmalonik asitin suksinil koenzim A'ya, 5-metiltetrahidrofolatın tetrahidrofolata dönüşmesini sağlayan 3 enzimatik süreçte rol alır (QQQQ).

Serum vitamin B12 değeri insanları yaşadığı coğrafi bölgeye, beslenme şartlarına ve titrasyonda kullanılan laboratuvar metotlarına göre farklılık gösterebilmektedir. Ancak genel olarak $>300\text{pg/ml}$ ($>221\text{pmol/L}$) normal değer, $200\text{-}300\text{pg/ml}$ ($148\text{-}221\text{pmol/L}$) sınır değer (muhtemel eksiklik), $<200\text{pg/ml}$ ($<148\text{pmol/L}$) ise vitamin B12 eksikliği olarak kabul edilmektedir(SSSS). Uzun yıllardır serum kobalamin ölçümü, vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen hastaların değerlendirilmesinde köşe taşı olarak görülmüştür. (LLL). Ancak bu yaklaşımla ilgili olarak önemli sınırlamalar vardır. Serum vitamin B12 konsantrasyonları, direkt olarak bağlayıcı protein konsantrasyonları ile değişebilmektedir(NNN). Sınırlamaların sebeplerinden biri bu belirtecin %80'nin haptokorrine %20'sinin transkobalamine bağlı olarak dolaşan total vitamin B12 değerini göstermesidir. Diğer sınırlama sebebi ise hücre içi vitamin B12 durumunu da doğru olarak yansıtmamaktadır(PPP). Ayrıca vitamin B12 düzeylerinin yanlış yüksek ya da yanlış düşük ölçülmesi söz konusu olabilmektedir.(QQQQ,RRRR,VVVV). Tanımlanan güçlükler ve olası yalancı negatif sonuçların getireceği farklı morbidite ve mortalite oranları nedeniyle günümüzde alternatif olarak, kobalaminin metabolik fonksiyonlarını yansıtan diğer biyokimyasal

belirteçler de kullanılabilir (UUUU). Bunlardan serum metilmalonik asit (MMA), klinik olarak belirgin olan kobalamin eksikliğinde %98 oranında artmış olarak saptanır (VVVV).

Regan ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yayımlanan bir çalışmada Amerika Birleşik Devletlerinde genel toplumda besinde vitamin B12 miktarını ölçmek için serum vitamin B12 ve serum metilmalonik asit (MMA), homosistein değerleri kullanılmıştır. Çalışmaya 1999 ve 2004 yılları arasında 19 yaş üstü 12612 yetişkin alınmıştır. Çalışmada serum vitamin B12 ve serum MMA için farklı aralık değerleri kullanılarak farklı gruplar düzenlenmiştir. Sonuç olarak düşük vitamin B12 durumunu değerlendirmek için serum vitamin B12 ile serum MMA birlikte ele alınca, serum vitamin B12 değerlerinin aslında tek başına yeterli olmadığı gözlenmiştir. Şöyle ki, serum vitamin B12 (<148 pmol/L) ve serum MMA (≥ 271 nmol/L) kesim değeri olarak alınarak esas 3 metabolik profil oluşturulmuştur. Bunun sonucunda sadece %1 kişide düşük serum vitamin B12 ve yüksek MMA değeri saptanmıştır. %2 kişi de (daha çok genç kadın) ise düşük serum vitamin B12 değeri olmasına rağmen serum MMA normal aralıkta görüldü. %5 kişide ise serum vitamin B12 normal aralıkta olmasına rağmen serum MMA yüksek saptanmıştır (bunlarda daha çok vitamin B12 eksikliğinin erken dönemi gibi götüldü). Geriye kalan %92 lik grupta ise normal serum vitamin B12 ve normal serum MMA görüldü. Toplam %2,9 kişide serum vitamin B12 değeri < 148 pmol/L ve toplam %5,8 kişide ise serum MMA (≥ 271 nmol/L) olarak saptandı. Serum vitamin B12 değeri (< 148 pmol/L) olan kişilerin sadece %32 de serum MMA (≥ 271 nmol/L) olarak görüldü. Geriye kalan %68'lik kısımda ise serum MMA normal sınırlarda saptandı. Sonuç olarak, vitamin B12 eksiklik tanısı koymak için serum vitamin B12 düzeyinin yeterli veri olmadığı ve serum vitamin B12 düzeyinin referans aralığını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür (CCCCC).

Savage ve arkadaşları tarafından yapılan ve 1994 yılında yayınlanan bir çalışmada klinik olarak vitamin B12 eksikliği saptanmış olup, tedavi ile düzelen anemi ve nöropsikiyatrik bozuklukları saptanan 406 hastadan oluşan büyük bir denek grubunda % 98,4 oranında serum MMA ve % 95,9 oranında homosistein seviyelerinde

artış saptanmıştır. Sadece bir hastada bu seviyelerin normal olması araştırmacıların serum MMA ve homosistein seviyeleri normal olanlarda klinik olarak belirgin vitamin B12 eksikliğinin ekarte edilebileceği yargısına varmalarına neden olmuştur (DDDD).

1990 yılında Stanbel ve arkadaşları tarafından yapılan bir bařka çalıřmada ise, serum vitamin B12 seviyesi dűřűkken, serum MMA ve homosistein dűzeyleri normal olan hastaların klinik olarak vitamin B12 tedavisine cevap vermedikleri saptanmış, bu bulgular tedavinin prognozunu deđerlendirebilmek için tek bařına serum vitamin B12 dűzeyi ۆlmenin uygun olmayacađını, serum vitamin B12 ile birlikte serum MMA ve/veya homosistein dűzeyine bakmanın daha dođru olacađını dűřűndűrmektedir (EEEE). Richard ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayınlanan çalıřmada retrospektif olarak 192 intramuskűler kobalamin tedavisi alan hastalar incelenmiştir. Sadece 12 hastada objektif olarak hematolojik yanıtlar belgelenmiştir. Diđer 5 hastada ise, eřit olmayan hematolojik yanıtlar mevcuttu. Bir makul nűrolojik yanıt vardı. Bۆylece, 192 hastanın sadece 18'inde (% 9.4) klinik yanıtı destekleyen veriler mevcuttu. Bu 18 hastada bařlangıç serum vitamin B12 seviyesi ≤ 107 pg / ml ve sadece 3 hastada bařlangıçtaki serum metilmalonik asit dűzeyi ≥ 1.29 $\mu\text{mol} / \text{L}$ idi. Bu verilere dayanarak vitamin B12 tedavisinin bařlanmasında, sadece serum kobalamin deđerinin bakılmasının yeterli olmadıđına, sıra ile ۆnce serum kobalamin devamında da serum MMA bakılmasının dođru olacađını savundular(DDDDD).

2014 yılında İngiltere Komitesinin Hematoloji Standartları tarafından verilen talimatlarda, vitamin B12 eksikliğinin tansında birinci basamak testi olarak serum B12 vitamini kullanımını ve ikinci basamak testi olan serum MMA'nın kullanılması ۆnerilmiştir (EEEEE). Palacios ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yayımlanan diğer bir çalışmanın amacı vitamin B12 eksikliğinin tanısında tek bir ۆlüm yerine testler kombinasyonunu kullanarak bir tanı algoritması oluşturmaktı. Bunun için çalışmaya 218 vitamin B12 eksikliği tanısı olan (biyokimyasal, hematolojik ve morfolojik veriler kullanılarak tanısı konan) ve olmayan bireyler alındı. Sonuç olarak, vitamin B12 eksikliği tanısı konmada serum vitamin B12 dűzeyi gibi tek belirteçin kullanılmasının yeterli olmadığını bunun yanında en spesifik metabolit olarak serum metilmalonik asit

(MMA) kullanılması gerektiği kanıtlanmış oldu(FFFFF). Benzer çalışma Fedosov ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yayınlanmış olup bu çalışmada da vitamin B12 eksikliği tanısının konmasında serum vitamin B12, holotranskobalamin, serum metilmalonik asit (MMA)ve ya serum homosistein gibi en az iki biyolojik göstergenin kullanılması gerektiği sonucuna varmışlardır(GGGG). Normal böbrek fonksiyonlarına sahip tüm yaş gruplarında serum MMA vitamin B12 eksiklik durumunu göstermede en sensitif ve en spesifik test olmaya devam etmektedir(HHHHH). Bolan ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yayınlanan çalışmaya göre serum vitamin B12 tayini için genel pratisyen hekimden sevk edilen hastalar (n = 196; yaş aralığı, 17-87 yaş) alınmıştır.Hematolojik değişkenler, serum kobalamin, serum total homosistein (tHcy), serum ve eritrosit folatın yanı sıra, gastroskopi ve bulgular, yaş ve cinsiyetin kobalamin eksikliğini öngörmeye rolü araştırıldı.Vitamin B12 eksikliği tanısı kobalamin takviyesinden sonra en az % 50 azalma gösteren serum MMA> (0.26 mikromol/L) olması ile kondu. ROC ve lojistik regresyon analizleri kullanıldı. Sonuç olarak vitamin B12 eksikliği tanısının konmasında ilk olarak serum kobalamin düzeyinin bakılması gerektiği ancak kesin tanıya varılamadığı durumlarda serum MMA ve tHcy belirlenmesi ek ayırıcı bilgiler sağlayacağı ortaya kondu. Ancak serum MMA daha spesifik olduğu için, kobalamin durumunun değerlendirilmesi için tercih edilmesi tavsiye edilmiştir(İİİİ).

Herman ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayınlanan çalışmada da vitamin B12 eksikliğini saptamada serum vitamin B12 değerinin yeteri kadar spesifik ve sensitifiteye sahip olmadığı ve bu yüzden tek başına bakılmasının yeterli olmadığı gösterildi. Serum holotranskobalaminin ise eksikliğin erken döneminde yükseldiği, aynı zamanda serum MMA ve homosistein değerinin de vitamin B12 eksikliğinde yükseldiği gösterildi. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda kısıtlamalara rağmen, vitamin B12 eksikliği tanısında serum MMA ve homosisteinin konsantrasyonların bakılabilecek yararlı fonksiyonel belirteçler olduğu gözlenmiştir.Holotranskobalamin (HoloTC) ve serum MMA tayinlerinin kombine kullanımının, vücut kobalamin durumunu tek başına kullanılan total Hcy ve ya serum MMA tayinine nazaran daha kesin ortaya koyduğu saptanmıştır(JJJJ). Klee ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yayımlanan bir diğer

çalışmada vitamin B12 eksikliğinin tespitinde serum kobalamin ölçümünün kolay ve yaygın olarak kullanılmakta olmasına rağmen bu testin en duyarlı bir gösterge olmadığı belirtilmiştir. Serum homosistein ve serum metilmalonik asitin, vitamin B12'nin doku düzeyindeki eksikliğini daha iyi yansıtan metabolik göstergeleri olduğu ortaya çıkmıştır. Yalnız bu laboratuvar testlerin nispeten yüksek maliyet ve kalitesi göz önüne alınarak sağlık hizmeti verenlerin, vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen hastaların ve folatın erken değerlendirilmesinde serum metilmalonik asit ve homosistein'in tayininin avantajlı olabileceğini ireli sürmüşlerdir(KKKKK). Green ve arkadaşlarının da yaptığı bir çalışmada vitamin B12 durumunu göstermede yalnızca serum vitamin B12 ölçümünün yeterli olmadığı, bazı diğer biokimyasal belirteçlerin- örneğin; serum MMA düzeyi tayininin gerekli olduğu belirtilmiştir(MMMMM). Oberley ve arkadaşları tarafından 2013'te yayınlan bir yazıda da megaloblastik aneminin tanısında folik asit ve serum vitamin B12 düzeyinin tayininin tek başına yeterli olmadığı çünkü serum vitamin B12 değerinin gerçek vitamin düzeyini yansıtmadığı bildirildi. Bunun için metabolitlerin- serum metilmalonik asit, homosistein tayin edilmesi gerektiği vurgulandı(NNNNN).

Biz çalışmamıza serum kobalamin düzeyi 200 mg/dl'in altında olan ve serum metilmalonik asit düzeyi tayin edilen hastaları dahil ettik. Ayrıca, hastaların serum vitamin B12 düzeyi seviyesine göre gruplara ayırmayı planlandık. Hastaların serum metilmalonik asit düzeylerini inceleyerek gerçek vitamin B12 eksikliği olup olmadığını ve bunun tam kan sayımı üzerindeki yansımalarını irdelemeye çalıştık. Neticede vitamin B12 eksikliği tanısı için tek başına serum kobalamin değerinin düşüklüğünün saptanmasının yeterli olmadığını ve bir çok kez serum metilmalonik asit(MMA) düzeyi tayininin önem arz ettiğini gözlemledik.

Çalışmamıza serum vitamin B12 değeri < (200 pg/ml) olan toplam 367 hasta alınmış olup bu hastaların serum MMA değeri kıyaslandı. Serum vitamin B12 değerleri: (0-126 pg/ml) bulunan hastalar (162 hasta) I grup ve serum vitamin B12 değerleri: (127-200 pg/ml) arasında saptanan hastalar (205 hasta) II grup olarak ayrıldı. Grup I de serum MMA'nın medyan değeri: 38 ng/ml olarak saptanmış olup bu grupta

olan hastaların %39,8’de serum MMA(>46 ng/ml) olup geri kalan %60,2’sinde ise serum MMA değeri normal aralıkta saptandı. Grup II de ise serum MMA için medyan değer: 24 ng/ml olup bu gruptaki hastaların sadece %20’sinde serum MMA(>46 ng/ml) ve geride kalan %80’inde ise serum MMA normal sınırlar içinde saptandı. Yani Grup I de serum MMA değeri grup II den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Ayrıca, grup I’deki hastalar serum vitamin B12 değeri:(0-99 pg/ml) ve serum vitamin B12 değeri: (100-126 pg/ml) olarak grup I-A ve grup I-B diye 2 alt gruba bölündü. Burda da grup I-A daki hastaların %45,8’inde serum MMA değeri(>46 ng/ml) olarak saptanırken, %54,2’sinde serum MMA normal sınırlarda saptandı. Grup I-B deki hastaların ise %36,3’de serum MMA değeri(>46 ng/ml) ve %63,7’sinde normal aralıkda görüldü. Bunun dışında grup I ve grup II de hastaların yaşları anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$).Yaş için medyan değer grup I’de 50 , grup II’de ise 46 olarak saptandı. Grup II de kadın hasta oranı grup I den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Grup I ve grup II de kronik hastalık oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Ayrıca, hemogram değerlerinin karşılaştırılmasında Grup I de serum MMA(≤ 46 ng/ml) olan ve (>46ng/ml) olan grupta lökosit sayısı, hemoglobin(Hbg), MCV anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Serum MMA(≤ 46 ng/ml) olan grupta trombosit sayısı yüksekliği serum MMA (> 46ng/ml) olan gruptan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Grup II de serum MMA (≤ 46 ng/ml) olan ve (>46 ng/ml) olan grupta lökosit sayısı yüksekliği, hemoglobin(HBG),trombosit sayısı, MCV anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$).

Bizim yaptığımız çalışmada da , vitamin B12 eksikliğinin tanısında sadece serum vitamin B12 değerinin tayininin yeterli olmadığı saptanmış oldu. Şöyle ki, çalışma sonuçlarına göre, serum vitamin B12 değeri: (127-200 pg/ml) olan hasta grubunun %80’ninde serum MMA değeri normal sadece %20’sinde ise yüksek saptandı. Serum vitamin B12 değer(<127pg/ml) olan grupta sadece %39,8’inde serum MMA(>46ng/ml) olup, %60,2’sinde ise MMA normal aralıktaydı. Bu da vitamin B12 eksikliğı tanısı koymada sadece serum vitamin B12 değerinin analiz edilmesinin yeterli olmadığı bunun yanında karakteristik bir metabolit olan serum MMA’nın tayin edilmesi gerektiğini sonucuna varmamıza sebep oldu. Gerçek vitamin B12 eksikliğinin tanısında serum MMA tayininin önemi literatürdeki bir çok çalışmalarda

vurgulanmıştır.Klinik uygulama sırasında serum vitamin B12 değeri dūřuk saptandığında bunun mutlaka serum metilmalonik asit analiz edilerek teyyid edilmesi gerekmektedir.

Doğal olarak, çalışmamızda elde edilen sonuçların desteklenmesi için daha fazla sayıda hastayı kapsayan klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu ortadadır.



6. KAYNAKLAR

- A. Soysal T. Megaloblastik Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Anemiler Sempozyumu. İstanbul, 2001: 33-47.
- B. Leal. NA. B12 Metabolisms In Humans. Florida, University of Florida. 2004:1-156.
- C. Üstdal M, Karaca L, Testereci H, Kuş S, Paşaoğlu H, Türköz Y. Biyokimya, 1. Baskı, Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2005:841-898.
- D. <http://stu.inonu.edu.tr/~hcavdar/bgrubu.html>. Erişim Tarihi:01.10.2007
- E. Brody T. Nutritional Biochemistry. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1999:491-692. 14. <http://www.vegsoc.org/info/b12.html>. Erişim Tarihi:02.10.2007
- F. McCormick DB, Greene HL. Vitamins. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry. 3th ed. Philadelphia: Saunders,1999: 999-1028.
- G. Onat T. Vitaminler. Çeviri Editörü: Aslan D. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. Beşinci Baskıdan Çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık,2005: 543-567
- H. Miller SM, Mears M. Nutritional Status Assesment. In: Anderson SC, Cockayne S. Clinical Chemistry Concept and Applications. New York: Mc Graw Hill, 2003: 579-611.
- I. Whiteheat VM, Rosenblatt DS, Cooper BA. Megaloblastic Anemia. İn. Nathan DG, Orkin SH. Nathan and Oskis Hematology of Infancy and Chilhood. 6 th ed, W.B. Saunders Co, 2003: 419-455.
- J. <http://en.wikipedia.org/wiki/Corrin>. Erişim Tarihi:03.10.2007
- K. Herbert V. Vitamin B12; plant sources, requirements, and assay. Am J Clin Nutr 1988; 48: 852-858.
- L. Koç A. Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği. Türkiye Klinikleri J Pediatri 2005; 1: 16-27.
- M. Sandberg DP, Begely J, Hall CA. The content, binding, and forms of vitamin B12 in milk. Am J Clin Nutr 1981; 34: 1717.
- N. Trugo N, Sardinha F. Cobalamin and cobalamin-binding capacity in human milk. Nutr Res 1994; 14: 22-33.
- O. Food and Nutrition Board, I.O.M. Vitamin B12. Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington D.C.: National Academy Press, 1998: 306-356.

- P. Fenech M. The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat Res* 2001; 475: 57-67.
- Q. Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The natural history of the inherited methylmalonic acidemias. *N Engl J Med* 1983; 308: 857-861.
- R. Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 6 th ed. Philadelphia: W&B Saunders Comp, 2003: 385415.
- S. 30. <http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastalıkları/files/Dersler/71.pdf>. erişim tarihi: 04.10.2007
- T. Wickramasinghe SN, Fida S. Bone marrow cells from vitamin B12 and folate deficient patients misincorporate uracil into DNA. *Blood* 1994; 83: 1656-1666.
- U. Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and folate deficiency; Acquired and hereditary disorders in children. *Semin Hematol* 1999; 36: 19-34
- V. Fenech M, Perepetskaya G, and Mikhalevich L. A more comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations-experiences from the Chernobyl catastrophe. *Environ Mol Mutagen* 1997; 30: 112-118.
- W. Groff J, Gropper S. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Wadsworth 2000; 231-238.
- X. Quadros EV, Rothenberg SP, Pan YC, Stein S. Purification and molecular characterization of human transcobalamin II. *J Biol Chem* 1986; 26: 154-155.
- Y. Sonja AR, Paul MF, Kelley SS, Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. *J Pediatr* 2001; 138: 10-17.
- Z. Adkins Y, Lönnerdal B. Mechanisms of vitamin B12 absorption in breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 192-198.
- AA. Stabler SP, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Clinical spectrum, diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood* 1990; 76: 871881.
- BB.) Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. *Arch Intern Med* 1999;159:1289-1298.
- CC. Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997; 337:1441-1448.
- DD. Humbert P, Dupond JL. Multiple autoimmune syndromes. *Ann Med Interne (Paris)* 1988; 139:159-168

- EE. Genta RM. The gastritis connection: prevention and early detection of gastric neoplasms. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36:44-49.
- FF, Loukili NH, Noel E, Blaison G, Goichot B, Kaltenbach G, Rondeau M, Andres E. Update of pernicious anemia. A retrospective study of 49 cases. *Rev Med Interne* 2004; 25:556-561.
- GG. Pruthi RK, Tefferi A. Pernicious anemia revisited. *Mayo Clin Proc* 1994; 69:144-150.
- HH. Oh R, David LB. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2003; 67:979989
- II. Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. *Baillieres Clin Haematol.* 1995; 8:639-655
- JJ. Andrs E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F, et al. The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003; 14:221-226.
- KK. Andrs E, Noel E, Kaltenbach G, Perrin AE, Vinzio S, Goichot B, et al. Carences en vitamine B12 avec test de Schilling normal ou syndrome de nondissociation de la vitamine B12 de ses protines porteuses chez le sujet g. tude de 60 patients. *Rev Med Interne* 2003; 24:218-223.
- LL. Carmel R, Aurangzeb I, Ojan D. Associations of food-cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:63-70.
- MM. Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cetin T, Avcu F, Gulsen M, et al. *Helicobacter pylori* Is it a novel causative agent in Vitamin B12 deficiency? *Arch Intern Med* 2000; 160:1349-1353.
- NN. Bauman WA, Shaw S, Javatileke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000; 23:1227-1231.
- OO. Andrs E, Noel E, Goichot B. Metformin-associated vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2002; 162:2251-2252.
- PP. Howden CW. Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30:29-33.
- QQ. Andrs E, Noel E, Ben Abdelghani M. Vitamin B12 deficiency associated with chronic acid suppression therapy. *Ann Pharmacother* 2003; 37:1730.

- RR. Termanini B, Gibril F, Sutliff VE, Yu F, Venzon DJ, Jensen RT. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with ZollingerEllison syndrome. *Am J Med* 1998; 104:422-430.
- SS. Andrs E, Goichot B, Perrin AE, Vinzio S, Demangeat C, Schlienger JL. Sjögrens syndrome: a potential new cause of mild cobalamin deficiency. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:1196-1197.
- TT. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000; 51:357-375.
- UU. Andrs E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F, et al. The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003; 14:221-226.
- VV. Markle HV. Cobalamin. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996; 33:247-356.
- WW. Zittoun J. Biermer's disease. *Rev Prat* 2001; 51:1542-1546.
- XX. Andres E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Noblet-Dick M, Maloisel F, Schlienger JL, Blickle JF. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004; 171:251-259.
- YY. Andres E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F, Goichot B, Schlienger JL. The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003; 14:221-226.
- ZZ. Donaldson MS. Metabolic vitamin B12 status on a mostly raw vegan diet with follow-up using tablets, nutritional yeast, or probiotic supplements. *Ann Nutr Metab* 2000; 44:229-234.
- AAA. Lindstedt G. Nitrous oxide can cause cobalamin deficiency. Vitamin B12 is a simple and cheap remedy. *Lakartidningen* 1999; 96:4801-4805.
- BBB. Nilsson-Ehle H. Age-related changes in cobalamin (vitamin B12) handling. Implications for therapy. *Drugs Aging*. 1998; 12:277-292.
- CCC. Andrs E, Noel E, Maloisel F. Hematological findings in the syndrome of food-cobalamin malabsorption. *Am J Med* 2003;115:592.
- DDD. *BMJ* 2014;349:g5226 doi: 10.1136/bmj.g5226 (Published 4 September 2014)
- EEE. Özlü SG. Ailevi Akdeniz Ateşli Olgularında Gen Mutasyonları ve Hastalık Ağırlık Skorlaması İlişkisi; Kolşisin Tedavisinin Kan B12 Vitamini Düzeylerine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2006: 1-69.

- FFF. http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupddrugs/vit_0262.shtml. Erişim tarihi:15.07.2007.
- GGG. Dommissse J. Subtle Vitamin B12 Deficiency and Psychitary: A Largely Unnoticed But Devastating Relationship? *Med hypotheses* 1991; 34(2): 131-40.
- HHH. Dankı D, Telci Ş, Dilbaz N, Okay İT. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*. 2006; 16:109-113.
- İİİ. 23. Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic Anemias. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 12th ed. New York: McGraw Hill, 1991: 1523-1529.
- JJJ. Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR, et al. Megaloblastic Anemias Disorders Of Impaired DNA Synthesis. In: *Clinical Hematology*. 8th ed. Philadelphia: Lea and Febiger.1981:559-604.
- KKK. Reynolds E. Vitamin B12, Folic Acid, and The Nervous System. *Lancet Neurol*. 2006; 5(11): 949-960
- LLL. Allen RH. Megaloblastic anemias. In: Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC, and Plum F, eds. *Cecil Textbook of Medicine* 19th Ed. Orlando, Florida: WB Saunders, 1991: 846-854.
- MMM. Andrs E, Kaltenbach G. Prevalence of vitamin B12 deficiency among demented patients and cognitive recovery with cobalamin replacement. *J Nutr Health Aging* 2003; 7:309-310.
- NNN. Braunwald E et al (eds). *Harrisons Principles of Internal Medicine*. Fifteenth edition. USA, McGraw-Hill Companies, 2003: 674-680
- OOO. Field EA, Speechley JA, Rugman FR, Varga E, Tyldesley WR. Oral signs and symptoms in patients with undiagnosed vitamin B12 deficiency. *J Oral Pathol Med* 1995; 24:468-470.
- PPP. Selhub J. The many facets of hyperhomocysteinemia: studies from the Framingham cohorts. *J Nutr* 2006;136:1726-1730.
- QQQ. Noppakun N, Swasdikul D. Reversible hyperpigmentation of skin and nails with white hair due to vitamin B12 deficiency. *Arch Dermatol* 1986; 122:896899.
- RRR. Carmel R. Hair and fingernail changes in acquired and congenital pernicious anemia. *Arch Intern Med* 1985; 145:484-485
- SSS. Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003;:62-81.

- TTT. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994; 96:239-246
- UUU. Amos RJ, Dawson DW, Fish DI, Leeming RJ, Linnell JC. Guidelines on the investigation and diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. *Clin Lab Haematol* 1994; 46:101-115.
- VVV. Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Matthews LM, Grigsby J, Kaye K, Lindenbaum J, Stabler SP. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc* 1992; 40:1197-1204.
- WWW. *Front Mol Biosci.* 2016 Jun 27;3:27. doi: 10.3389/fmolb.2016.00027. eCollection 2016. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency.
- Hannibal L¹, Lysne V², Bjørke-Monsen AL³, Behringer S¹, Grünert SC¹, Spiekerkoetter U¹, Jacobsen DW⁴, Blom HJ¹.
- XXX. Vitamin B₁₂ deficiency *BMJ* 2014; 349 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.g5226> (Published 04 September 2014) Cite this as: *BMJ* 2014;349:g5226; Alesia Hunt, haematology specialist registrar, Dominic Harrington, consultant clinical scientist, and scientific director of Viapath LLP, Susan Robinson, haematology consultant
- YYY. Metz J, Bell AH, Flicker L, Bottiglieri T, Ibrahim J, Seal E, Schultz D. The significance of subnormal serum vitamin B12, concentration in older people: a case control study. *J Am Geriatr Soc* 1996; 44:1355-1361.
- ZZZ Lindenbaum J, Heaton E.B, Savage DG, Burst JC, Garrett TJ, Podell ER, Marcell PD, Stabler SP, Allen RH. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med* 1988; 318:1720-1728 ,
- AAAA. Oh R, David LB. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2003; 67:979-989
- BBBB. Sumner AE, Chin MM, Abraham JL, Berry GT, Gracely E J, Allen RH, et al. Elevated methylmalonic acid and total homocysteine levels show high prevalence of vitamin B12 deficiency after gastric surgery. *Ann Intern Med* 1996;124:469-476.
- CCCC. Frenkel EP, Yardley DA. Clinical and laboratory features and sequelae of deficiency of folic acid (folate) and vitamin B12 (cobalamin) in pregnancy and gynecology. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000;14:1079-1100.

- DDDD. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid, total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin, folate deficiencies. *Am Jnl Med* 1994; 96:239-246,
- EEEE. Stabler SP, Allen RH, Savage DG, et al. Clinical spectrum, diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood* 1990; 76:871-881.
- FFFF. McCully K. Homocysteine, vitamin deficiency and prevention of Arteriosclerosis. *Int Med* 1998;1:3-9
- GGGG. Ganji V, Kafai MR. Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2003;77: 826-833.
- HHHH. Nedrebo BG, Ericsson UB, Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Aakvaag A, Aanderud S, Lien EA. Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hypothyroid patients. *Metabolism*. 1998; 47:89-93.
- IIII. Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Hannedouche T, Kamoun P, Jungers P. Increased plasma homocysteine concentration in patients with chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1992; 18:196-198.
- JJJJ. Ueland PM, Refsum H, Schneede J. Determinants of plasma homocysteine. In: Robinson K, ed. *Homocysteine and vascular disease*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2000: 59-84.
- KKKK. Thompson GN, Chalmers RA, Walter JH, et al. The use of metronidazole in management of methylmalonic and propionic acidaemias. *Eur J Pediatr* 1990; 149:792-796.
- LLLL. Green R. Screening for vitamin B12 deficiency: caveat emptor. *Ann Intern Med* 1996; 124:509-11.
- MMMM. Yu MK, Rodgers GM. Detection of occult cobalamin deficiency by magnetic resonance imaging. *Am J Hematol* 2000; 65:83-84
- NNNN. Marie RM, Le Biez E, Busson P, Schaeffer S, Boiteau L, Dupuy B, Viader F. Nitrous oxide anesthesia-associated myelopathy. *Arch Neurol* 2000; 57:380-382.
- OOOO. Bain MD, Jones M, Borriello SP, et al. Contribution of gut bacterial metabolism to human metabolic disease. *Lancet* 1988; 1:1078-1079
- PPPP. Vitamin B₁₂ Deficiency Sally P. Stabler, M.D. *N Engl J Med* 2013; 368:149-160-vvvv

- QQQQ. 1-Langan RC, Zawistoski KJ. St. Luke's Hospital, Bethlehem, PA, USA. Am FamPhysician. 2011 Jun 15;83(12):1425-30. Update on vitamin B12 deficiency.
- RRRR. Bailey RL, Carmel R, Green R, Pfeiffer CM, Cogswell ME, Osterloh JD, Sempos CT, Yetley EA. Am J Clin Nutr. 2011 Aug;94(2):552-61. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12.
- SSSS. Antony AC. Megloblastic anemias In: Hematology: Basic principles and practica, 4th ed, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al. (Eds), Churchill Livingstone, New York 2005. p.519.
- TTTT. 6- Luciana Hannibal , Vegard Lysne , Anne-Lise Bjørke-Monsen , Sidney Behringer , Sarah C. Grünert , Ute Spiekerkoetter , Donald W. Jacobsen and Henk J. Blom . Department of Clinical Sciences, University of Bergen, Bergen, Norway, 3 Department of Clinical Biochemistry, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway, 4 Department of Cellular and Molecular Medicine, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA
- UUUU. Green R. Department of Medical Pathology and Laboratory Medicine, University of California,Davis, California, USA. Indicators for assessing folate and vitamin B12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. Food Nutr Bull. 2008 Jun;29(2 Suppl):S52-63; discussion S64-6.
- VVVV. Sally P. Stabler, M.D. Vitamin B12 Deficiency .N Engl J Med 2013; 368:149-160 January 10, 2013
- WWWW. Öncel K, Özbek MN, Onur H, Söker M, Ceylan A. Diyarbakır İlindeki Çocuklarda ve Adölesanlarda B12 Vitamin ve Folik Asit Düzeyleri. Dicle Tıp Dergisi. 2006; 33(3): 163-169.
- XXXX. Erdem Ş. Megaloblastik anemiler.In: Büyüköztürk K. İç Hastalıkları. İstanbul. Nobel tıp kitapevi; 1992; 443-448.
- YYYY. Müftüoğlu E. Megaloblastik Anemiler. 4. Baskı, Diyarbakır; Şahin yayıncılık. 1995; 53-67. 78. Altay Ç, Çetin M. Megaloblastik Anemiler. Katkı Pediatri Dergisi 1995; 3: 346-362.
- ZZZZ. Kwee HG, Bowman HS, Wells LW. A Racial Difference İn Serum Vitamin B12 Levels. J Nucl Med 1985; 26: 790-792.
- AAAAA. Fernandez-Costa F, Metz J. A Comparison of Serum Transcobalamin Levels in White and Black Subjects. Am J Clin Nutr 1982; 35: 83-86.

- BBBBB.Dharmarajan TS, Norkus EP. Approaches to vitamin B12 deficiency; early treatment may prevent devastating complications. *Postgraduate Med* 2001; 10: 99105.
- CCCCC. *Am J Clin Nutr.* 2011 Aug; 94(2): 552–561. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12^{1,2,3,4} Regan L, Bailey, Ralph Carmel, Ralph Green, Christine M Pfeiffer, Mary E Cogswell, John D Osterloh, Christopher T Sempos, and Elizabeth A Yetley
- DDDDD. *Clin Med Res.* 2013 Feb; 11(1): 7–15. Laboratory Evaluation for Vitamin B₁₂ Deficiency: The Case for Cascade Testing Richard L. Berg, MS* and Gene R. Shaw, MD†
- EEEEE. *Br J Haematol.* 2014 Aug; 166(4): 496-513. doi: 10.1111/bjh.12959. Epub 2014 Jun 18. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. Devalia V¹, Hamilton MS, Molloy AM; British Committee for Standards in Haematology.
- FFFFF. *Nutr Hosp.* 2013 Sep-Oct; 28(5): 1447-52. doi: 10.3305/nh.2013.28.5.6821. Algorithm for the early diagnosis of vitamin B12 deficiency in elderly people. Palacios G¹, Sola R, Barrios L, Pietrzik K, Castillo MJ, González-Gross M.
- GGGGG. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Jul; 53(8): 1215-25. doi: 10.1515/cclm-2014-0818.
- Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. Fedosov SN, Brito A, Miller JW, Green R, Allen LH.
- HHHHH. *Front Mol Biosci.* 2016; 3: 27. Published online 2016 Jun 27. doi: 10.3389/fmolb.2016.00027. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B₁₂ Deficiency Luciana Hannibal,^{1,*} Vegard Lysne,² Anne-Lise Bjørke-Monsen,³ Sidney Behringer,¹ Sarah C. Grünert,¹ Ute Spiekerkoetter,¹ Donald W. Jacobsen,⁴ and Henk J. Blom¹
- IIIII. *Clin Chem.* 2000 Nov; 46(11): 1744-50
Evaluation of indicators of cobalamin deficiency defined as cobalamin-induced reduction in increased serum methylmalonic acid. Bolann BJ¹, Solli JD, Schneede J, Grøttum KA, Loraas A, Stokkeland M, Stallemo A, Schjøth A, Bie RB, Refsum H, Ueland PM.
- JJJJJ. *Subcell Biochem.* 2012; 56: 301-22. doi: 10.1007/978-94-007-2199-9_16. Cobalamin deficiency. Herrmann W¹, Obeid R.

KKKKK. Clin Chem. 2000 Aug;46(8 Pt 2):1277-83. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. Klee GG¹.

MMMMM. Am J Clin Nutr. 2011 Aug;94(2):666S-72S. doi: 10.3945/ajcn.110.009613. Epub 2011 Jul 6. Indicators for assessing folate and vitamin B-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. Green R¹.

NNNNN. PubMed Laboratory testing for cobalamin deficiency in megaloblastic anemia. Oberley MJ, Yang DT Am J Hematol. 2013 Jun;88(6):522-6. Epub 2013 Mar 15.

