

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**0-18 YAŞ ARASI B12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN HASTALARDA  
DNA HASARI GÖSTERGESİ 8-OH DEOKSİGUANOZİN  
DÜZEYİNİN İDRARDA VE SERUMDA GÖSTERİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ  
Dr.Koray BAKIR

DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Mahmut DEMİR

ŞANLIURFA  
2018

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**0-18 YAŞ ARASI B12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN HASTALARDA  
DNA HASARI GÖSTERGESİ 8-OH DEOKSİGUANOZİN  
DÜZEYİNİN İDRARDA VE SERUMDA GÖSTERİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Koray BAKIR

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Mahmut DEMİR

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 27/10/2017 tarih ve 17195 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2018

( Tezin Kabul ve Onay Belgesi)  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA**


Dr. Koray BAKIR'ın "0-18 Yaş Arası B12 Eksikliği Saptanan Hastalarda DNA Hasarı Göstergesi 8-OH Deoksiguanozin Düzeyinin İdrarda ve Serumda Gösterilmesi" başlıklı tezi 01/03/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.



**Jüri Başkanı**  
**Doç. Dr. Doğan KÖSE**  
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

**Üye**  
**Doç. Dr. İyaz YOLBAŞ**  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye**  
**Dr. Öğr. Üyesi Mahmut DEMİR**  
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

  
ONAY  
04.03.2019  
**Prof. Dr. Mustafa DENİZ**  
Dekan Vekili  
DEKAN  


## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Mahmut DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Doç.Dr.Mustafa ÇALIK, Doç.Dr.Doğan KÖSE, Doç.Dr.Kabil SHERMATOV, Dr.Öğr.Üyesi Ahmet GÜZELÇİÇEK, Dr.Öğr.Üyesi Abdullah SOLMAZ, Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin GÜMÜŞ, Dr.Öğr.Üyesi Halil KAZANASMAZ, Dr.Öğr.Üyesi Meryem KARACA ve Uz.Dr.Meltem BOR' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımındaki yardım ve desteklerinden dolayı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Dr.Öğr.Üyesi Adnan KİRMİT ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Tıbbi Biyokimya A.D. çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarımda ve tezimde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına ayrıca teşekkür ederim. Eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşime, destek ve hayır dualarını eksik etmeyen anneme, babama ve kardeşime teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

**Dr. Koray BAKIR**

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
GRAFİKLER DİZİNİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	X
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. B <sub>12</sub> Vitamini	2
2. 1. 1. B <sub>12</sub> Vitamini Tanım ve Tarihçesi	2
2. 1. 2. B <sub>12</sub> Vitamini Yapısı ve Genel Özellikleri	2
2. 1. 3. Besinsel Kaynaklar	3
2. 1. 4. B <sub>12</sub> Vitamini İhtiyacı	4
2. 1. 5. B <sub>12</sub> Vitamininin Biyokimyasal Özellikleri	5
2. 1. 6. B <sub>12</sub> Vitamininin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu	7
2. 1. 7. Kobalamin Bağlayan Proteinler	8
2. 1. 8. Kobalaminlerin Emilimi ve Dokulara Taşınması	8
2.1.9. Çocuklarda B <sub>12</sub> Vitamini Eksiklik Nedenleri	9
2.1.10. Yenidoğanda ve Süt Çocuklarında B <sub>12</sub> Vitamini Eksikliği	10
2.1.11. B <sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Bulguları	11
2.1.12. B <sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Tanısı	11
2.1.13. B <sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Tedavisi	12
2.2. DNA	13
2.2.1. DNA Yapı ve Fonksiyonu	13
2.2.1.1. İnsan Genomu ve DNA	13
2.2.1.2. DNA'nın Yapısı	13
2.2.2. DNA Hasarı ve Sonuçları	14
2.2.2.1. Oksidatif DNA Hasarı	15
2.2.2.2. 8- Hidroksi-2 'Deoksiguanozin'in Oluşum Mekanizması	15

2.2.2.3. B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğinde DNA Hasarı	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Dışlama Kriterleri	17
3.2. Kan Örnekleri	17
3.3. İstatistiksel İncelemeler	18
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39
7. EKLER	47
Ek-1: Etik Kurul Onayı	47



<b>Tablo-1:</b> B <sub>12</sub> vitamininin günlük önerilen alım dozları	4
<b>Tablo-2:</b> Demografik Özelliklerin Dağılımı	20
<b>Tablo-3:</b> Laboratuvar Ölçümlerinin Dağılımı	21
<b>Tablo-4:</b> B-12 Eksikliğine Göre Demografik Özelliklerin Değerlendirilmesi	22
<b>Tablo-5:</b> B-12 Eksikliğine Göre Laboratuvar Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	23
<b>Tablo-6:</b> B <sub>12</sub> Eksikliğine göre serum 8 oh-deoksiguanozin ve idrar 8 oh-deoksiguanozin ölçümlerinin değerlendirilmesi	27
<b>Tablo-7:</b> Serum 8 oh-deoksiguanozin İçin Tanı Tarama Testleri ve ROC Curve Sonuçları	28
<b>Tablo-8:</b> Serum 8 oh-deoksiguanozine Göre B-12 Vitamin Eksikliğinin Değerlendirilmesi	29
<b>Tablo-9:</b> İdrar 8 oh-deoksiguanozin İçin Tanı Tarama Testleri ve ROC Curve Sonuçları	30
<b>Tablo-10:</b> İdrar 8 oh-deoksiguanozine Göre B-12 Vitamin Eksikliğinin Değerlendirilmesi	31

<b>Şekil-1:</b> Vitamin B <sub>12</sub> molekül yapısı	2
<b>Şekil-2:</b> Vitamin B <sub>12</sub> 'yi koenzim olarak kullanan metiyonin sentaz enzimiyle metiyonin ve TH4-folat oluşumu	5
<b>Şekil-3:</b> Metiyonin Sentezi	6
<b>Şekil-4:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğinde MMA Oluşumu	7
<b>Şekil-5:</b> B <sub>12</sub> Vitaminin Emilimi ve Taşınması	9
<b>Şekil-6:</b> DNA Yapısı	14
<b>Şekil-7:</b> 8- Hidroksi- 2'Deoksiguanozin (S-OHdG)'in Oluşumu	16



<b>Grafik-1:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre BMI Dağılımı	23
<b>Grafik-2:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre MCV Dağılımı	25
<b>Grafik-3:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre PLT Dağılımı	25
<b>Grafik-4:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre MPV Dağılımı	26
<b>Grafik-5:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre Demir Dağılımı	26
<b>Grafik-6:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre Serum 8 oh-deoksiguanozin Dağılımı	27
<b>Grafik-7:</b> B <sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre İdrar 8 oh-deoksiguanozin Dağılımı	28
<b>Grafik-8:</b> B <sub>12</sub> Eksikliğine Göre Serum 8 oh-deoksiguanozin için ROC Eğrisi Grafiği	29
<b>Grafik-9:</b> B <sub>12</sub> Eksikliğine Göre İdrar 8 oh-deoksiguanozin İçin ROC Eğrisi Grafiği	30

## KISALTMALAR

<b>AdoCbl</b>	: Adenzilkobalamin
<b>ADP</b>	: Adenzin difosfat
<b>AMP</b>	: Adenzin monofosfat
<b>ATP</b>	: Adenzin trifosfat
<b>BER</b>	: Baz eksizyon tamiri.
<b>C</b>	: Karboksil (=Carboxyl)
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CBC</b>	: Tam Kan Sayımı
<b>Cbl</b>	: Kobalamin
<b>CBS</b>	: Sistasyonin $\beta$ -sentetaz
<b>CH<sub>3</sub></b>	: Metil
<b>CN</b>	: Siyanür
<b>CNCbl</b>	: Siyanokobalamin
<b>CO</b>	: Karbonmonoksit
<b>CRP</b>	: C reaktif protein
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>dUMP</b>	: Deoksi üridin mono fosfat
<b>dTMP</b>	: Deoksi timidin mono fosfat
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immuno sorbant assay
<b>ESR</b>	: Eritrosit sedimentasyon hızı
<b>F</b>	: Ferritin
<b>Fe<sup>++</sup></b>	: Ferrik demir
<b>Fe<sup>+++</sup></b>	: Ferröz demir
<b>Fe<sup>++++</sup></b>	: Ferril demir
<b>FT<sub>4</sub></b>	: Free(serbest) tiroksin
<b>G6PD</b>	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon redüktaz

<b>GST</b>	: Glutatyon S transferaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	: Sülfürik asit
<b>Hb</b>	: Hemoglobin
<b>HCy</b>	: Homosistein
<b>HO</b>	: Hem Oksijenaz
<b>HO<sup>-</sup></b>	: Hidroksil Radikali
<b>Htc</b>	: Hematokrit
<b>IF</b>	: İntrensik faktör
<b>IgA</b>	: İmmunglobulin A
<b>K</b>	: Potasyum
<b>L</b>	: Lipid radikali
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>LOO</b>	: Lipit peroksi radikali
<b>LOOH</b>	: Lipid hidroperoksit
<b>MCH</b>	: Ortalama eritrosit hemoglobini
<b>MCV</b>	: Ortalama eritrosit hacmi (OEH)
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>mDNA</b>	: Mononükleer hücre DNA'sı
<b>MeCbl</b>	: Metilkobalamin
<b>MMA</b>	: Metilmalonik asit
<b>MTHFR</b>	: Metilen tetrahidro folat redüktaz
<b>NA</b>	: Nükleik Asit
<b>NADH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NER</b>	: Nükleotit eksizyon tamiri
<b>NO</b>	: Nitroz oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>OH</b>	: Hidroksil
<b>OHCbl</b>	: Hidroksikobalamin
<b>OSİ</b>	: Oksidatif stres indeksi
<b>RBC</b>	: Eritrosit sayısı
<b>RDW</b>	: Eritrosit dağılım genişliği
<b>ROM</b>	: Reaktif oksijen molekülü

<b>SAH</b>	: S- Adenozil homosistein
<b>SAM</b>	: S- Adenozil metiyonin
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>8OHdG</b>	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
<b>TAK</b>	: Total Antioksidan Kapasite
<b>TCI</b>	: Transkobalamin I
<b>TCII</b>	: Transkobalamin II
<b>TCIII</b>	: Transkobalamin III
<b>THF</b>	: Tetrahidrofolat
<b>TOS</b>	: Total oksidan seviye
<b>TS</b>	: Transferrin saturasyonu
<b>TSH</b>	: Tiroid stimülan hormon
<b>WBC</b>	: Beyaz küre sayısı
<b>µg</b>	: Mikrogram

## ÖZET

### 0-18 Yaş Arası B12 Eksikliği Saptanan Hastalarda DNA Hasarı Göstergesi 8-OH-Deoksiguanozin Düzeyinin İdrarda ve Serumda Gösterilmesi

Dr. Koray BAKIR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

**Amaç:** B12 vitamini insan organizmasının sentezleyemediği bir vitamindir. Esas olarak DNA ve myelin sentezinde gereklidir. Eksikliğinde özellikle hızlı çoğalan dokular etkilenir ve megaloblastik anemi, büyüme ve nöromotor gelişimde geriliğe yol açabilir. Bu çalışmada B<sub>12</sub> vitamin eksikliği olan çocuklarda DNA hasarı göstergesi 8-OH-Deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyi değerlendirilerek, B12 eksikliğinin DNA hasarı ile ilişkisini belirleme amaçlandı.

**Materyal ve metod:** Bu çalışmaya Haziran 2017- Mayıs 2018 tarihleri arasında başvuran hastalardan, B12 vitamin eksikliği tespit edilen 0-18 yaş arası toplam 44 hasta ve bunları karşılayacak aynı yaş grubundan tamamen sağlıklı 40 çocuk hasta kontrol grubu olarak alındı. Hastaların sosyodemografik özellikleri ve laboratuvar sonuçları değerlendirildi. DNA hasarı 8-OHdG düzeyleri idrar ve serum numunelerinde ELA (enzim immünoassay) kiti ile çalışıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan hastaların %27.2'si (n=12) kız, %72.8'i (n=32) erkek, kontrol grubu hastaların %35 (n=14) kız, %65 (n=26) erkekti. Çalışmadaki hastaların yaşları 6 ile 213 ay arasında değişmekte olup, ortalama 83,50±68,51 ay olarak saptandı. B 12 eksikliği olan 44 hastanın 8-OHdG düzeyi ortalama serumda 13,99±6,27 ng/ml, idrarda 71,48±70,5 ng/ml saptanırken, sağlıklı kontrol grubunda ise ortalama serumda 9,61±5,82 ng/ml, idrarda 19,18±12,59 ng/ml olduğu, B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların serum ve idrar 8-OHdG düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü (p=0,001; p<0,01).

**Sonuç:** Çocukluk dönemi B12 vitamini eksikliği DNA hasarına neden olduğu, B12 eksikliği olan hastalarda oksidatif stres ve DNA hasarı göstergesi 8-OHdG düzeyinin arttığı saptandı.

**Anahtar kelimeler:** Çocukluk çağı, B12 vitamini eksikliği, DNA hasarı, 8-hidroksi 2-deoksiguanozin, oksidatif stres



## ABSTRACT

### **Demonstration of 8-OH Deoxyguanosine Levels in Urine and Serum as Indicators of DNA Damage in Patients with B12 Deficiency in 0-18 Years Old**

**Koray BAKIR, MD**

**Specialty Thesis, Department of Child Health and Diseases**

**Objective:** Vitamin B12 is a vitamin that human organism can not synthesize. Essentially vitamin B 12 is necessary for the synthesis of DNA and myelin. The Vitamin B12 deficiency is particularly affects to the rapidly proliferating tissues and it can lead to megaloblastic anemia; delays in growth and can cause retardation in neuromotor development. The aim of this study was to determine the relationship between B12 deficiency and DNA damage what by evaluating 8-Oh-Deoxyguanosine (8-OHdG) indicator of DNA damage in children with vitamin B12 deficiency.

**Materials and methods:** A total of 44 patients between 0-18 years of age who were admitted to our center between June 2017- May 2018 were included in the study as a study group, and 40 healthy children from the same age group were taken as control group. Sociodemographic characteristics and laboratory results of all patients were evaluated. DNA damage indicator 8-OHdG levels were measured by ELA (enzyme immunoassay) kit in urine and serum samples.

**Results:** Of the patients included in the study, 27.2% (n = 12) were female, 72.8% (n = 32) were male and 35% (n = 14) were female and 65% (n = 26) were male. The ages of the patients in the study ranged from 6 to 213 months and the mean age was  $83,50 \pm 68,51$  months. The 8-OHdG level of 44 patients with B 12 deficiency was found to be  $13,99 \pm 6,27$  ng / ml in serum and  $71,48 \pm 70,5$  ng / ml in urine; in the healthy control group,  $9,61 \pm 5,82$  ng / ml in the serum and  $19,18 \pm 12,59$  ng / ml in the urine. Serum and urine 8-OHdG levels of patients with vitamin B-12 deficiency were found to be significantly higher than healthy control group ( $p = 0.001$ ;  $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** It was found that B12 deficiency caused DNA damage in childhood. Oxidative stress and DNA damage indicator 8-OHdG level is increased in patients with B12 deficiency. The oxidative stress and DNA damage indicator 8-OHdG level is increased in patients with B12 deficiency.

**Keywords:** Childhood, Vitamin B12 deficiency, DNA damage, 8-hydroxy 2-deoxyguanosine, oxidative stress

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

B<sub>12</sub> vitamini incebarsaklarda bakteriler tarafından sentezlenen, suda eriyen ve çeşitli formları bulunan bir vitamindir. İnsanlar, B<sub>12</sub> vitaminini sentezleyemezler. B<sub>12</sub> vitamini, özellikle hayvansal gıdalardaki kobalaminlerden elde edilir. En fazla hayvan karaciğerinde bulunur. Normal beslenenlerde, diyetle B<sub>12</sub> vitamini eksikliği nadirdir. Ancak besinle yetersiz alımı, özellikle vejeteryan beslenme şeklinde, B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin önemli bir sebebidir (1).

B<sub>12</sub> vitamini en önemli işlevi, DNA sentezinde özellikle hücre yenilenmesi hızlı olan ve hızlı büyüyen dokularda etkindir. B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinde insanın büyüme ve gelişmesinin hızlı olduğu çocukluk döneminde bu eksikliğe bağlı problemler daha ciddi görülür (1).

B<sub>12</sub> vitamini eksikliği çocuklarda iştahsızlık, halsizlik, yorgunluk, irritabilite veya ağız mukozasında aftöz stomatit gibi nonspesifik semptom ve bulgular gözlenebilir. B<sub>12</sub> eksikliği tanısı geciken olgularda ağır megaloblastik anemi, büyüme gelişme geriliği, ağır nörolojik semptomlar ve ileri dönemde koma görülebilir (1, 2). B<sub>12</sub> vitamini eksikliği görülen olguların %25'inden fazlasında hematolojik bulgu görülmeden nörolojik bulgular ortaya çıkabilir (3). B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinin iyi tanımlanmış nörolojik ve hematolojik etkileriyle birlikte, DNA hasarı ve kanser, nöral tüp defekti gibi birçok hastalığın etyolojisinde rol alması konunun önemini vurgulamaktadır (4-19).

Vitamin B<sub>12</sub>, metil tetrahidro folatın (TH<sub>4</sub>-folat), “*metiyonin sentaz*” enziminin rol aldığı reaksiyonla, TH<sub>4</sub> - folat' a ve homosistenin metiyonine dönüştüğü ve metiyonin ve timidilat oluşumunda kofaktör olarak rol alır (1, 5-10, 20).

Ülke genelinde görülme sıklığı tam olarak bilinmemekle birlikte Şanlıurfa'da B<sub>12</sub> vitamini eksikliği görülme insidansı yüksektir (21-23). Kliniğimizin çalışmaları esnasında klinik ve laboratuvar bulguları olmadan da serum vitamin B<sub>12</sub> eksikliğinin sık görülmesi, çocukluk çağında meydana gelebilecek ciddi sağlık sorunları açısından bizi tedirgin etmekte ve bu konuda çalışma yapmaya yönlendirmektedir. Bu çalışmada çocukluk çağındaki B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinde DNA hasarı oluşup oluşmadığı ve bu eksikliğin serum ve idrar 8-hidroksi-2-deoksiguanozin düzeyine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

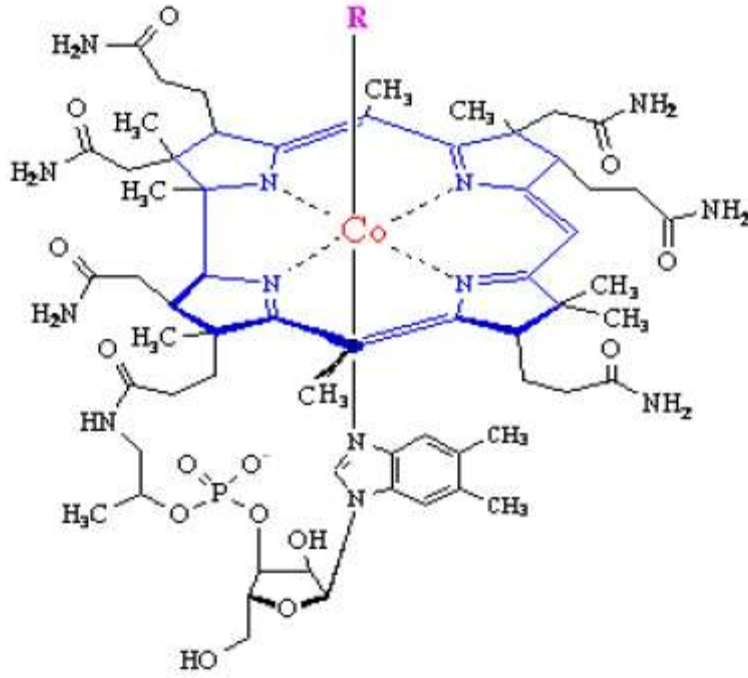


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. B<sub>12</sub> Vitamini

#### 2. 1. 1. B<sub>12</sub> Vitamini Tanım ve Tarihçesi

B<sub>12</sub> vitamini başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen, suda eriyen, 1355.42 dalton moleküller ağırlığı olan bir vitamindir. Yapısında korrin halkası ve merkezinde kobalt atomu bulunmaktadır. Vitaminler içerisinde en büyük ve karmaşık yapılı ve en güçlü etkinlik gösteren vitamin olarak bilinmektedir (24-25) (Şekil 1).



Şekil-1: Vitamin B<sub>12</sub> molekül yapısı

#### 2. 1. 2. B<sub>12</sub> Vitamini Yapısı ve Genel Özellikleri

B<sub>12</sub> vitamini molekülü üç bölümden oluşur.

**Korrin Halka Yapısı:** Merkezinde bir adet kobalt (Co) atomu ve onu çevreleyen indirgenmiş dört adet pirol halkasından meydana gelen çekirdek kısmıdır. Korrin kısmı 5-

aminolevulinik asitten sentezlenmektedir. Simetrik ve karmaşık yapısı ile hemoglobine benzetilir. B<sub>12</sub> vitamininde merkezde kobalt varken hemoglobinde ise demir bulunur (25, 26).

İkinci kısım ise nükleotid grubundan oluşur bu nükleotid grubu kobalt atomuna ve pirol halkalarından birine bağlıdır (26).

Düzlemin üstünde ise isimlendirmenin bu gruba göre yapıldığı ufak ek (R) grubu bulunmaktadır. Kobalaminler bu gruptan yoksun olan kısmın adıdır (26).

Bu son ek kısmına göre B12 vitamini dört gruba ayrılır.

**Siyanokobalamin (CNCbl):** Ek kısım olarak siyanür (CN) grubu içerir. Vücut sıvılarında ve hücrelerde çok az bulunur. B12 vitamininin ticari preparatıdır. İlaç olarak kullanılmasının nedeni stabil bir bileşik olmasıdır.

**Hidroksikobalamin (OHCbl):** Ek kısım olarak hidroksil (OH) grubu içerir. Gıdalarda ve vücutta en fazla miktarda tutulan B<sub>12</sub> vitaminidir.

**Adenozilkobalamin (AdoCbl):** Ek kısım olarak 5'-deoksiadenozil grubu içerir. Aktif koenzim fonksiyonu bulunmaktadır.

**Metilkobalamin (MeCbl):** Ek kısım olarak metil (CH<sub>3</sub>) grubu içerir. İnsan serumundaki B<sub>12</sub> vitamininin %70'i metilkobalamin formundadır. Vücutta aktif koenzim fonksiyonu görür.

CNCbl ve OHCbl hücre sitoplazmasında MeCbl'e ve mitokondrilerde AdoCbl'e kolaylıkla dönüştürülür. Cbl-Co<sup>+3</sup>'ü Cbl-Co<sup>+2</sup>'ye indirgeyen sitoplazmik redüktaz enzimi, Cbl-Co<sup>+2</sup>'i, Cbl-Co<sup>+1</sup>'e indirgeyen mitokondrial kobalamin redüktaz enzimidir (26-28).

### 2. 1. 3. Besinsel Kaynaklar

İnsanda B<sub>12</sub> vitamini bakteriler tarafından kalın bağırsakta sentez edilir, fakat absorbe olamaz. Bir miktar B<sub>12</sub> vitamini ince bağırsakta da sentezlenir ve emilebilir. Buna rağmen intestinal floraya bağlı olarak sentezlenen ve emilen miktar çok az ve yetersizdir. İnsanlar için karaciğer, kırmızı et, yumurta ve süt gibi hayvansal gıdalar B<sub>12</sub> vitamininin en önemli

kaynaklarıdır. Hayvansal gıdalarda B<sub>12</sub> vitamini en fazla karaciğer ve böbrekte bulunur, bu besinlerin 100 gramında 100 µg B<sub>12</sub> vitamini bulunmaktadır. B<sub>12</sub> vitamini deniz ürünlerinde de bulunmaktadır (24, 26, 29).

Birçok gıdada B<sub>12</sub> vitamini proteinlere peptid bağları ile bağlıdır, nötral ve asidik ortamda ısıya dayanıklı olmakla beraber, besinin ısıtılmasıyla da ciddi kayıplar oluşmaz. B<sub>12</sub> vitamininin ilaç formu "*Streptomyces griseus*" mantar kültüründen elde edilir (1, 26, 28).

İnsan için elzem olan B<sub>12</sub> vitamininin neredeyse tamamı hayvansal gıdalardan alındığından, B<sub>12</sub> vitamininin besinlerle yetersiz alınması vitamin B<sub>12</sub> eksikliğinin önemli bir nedenidir (1, 30).

#### 2. 1. 4. B<sub>12</sub> Vitamini İhtiyacı

VitaminB<sub>12</sub> inin günlük alınması gereken miktarları yaş gruplarına göre Tablo 1.'de verilmiştir (31).

**Tablo-1:** B<sub>12</sub> vitamininin günlük önerilen alım dozları

Yaş Aralıkları	Yaş	Önerilen Doz(mcg/gün)
Bebek	0 – 6 ay	0.4 AI
	7 – 12 ay	0.5 AI
Çocuk	1 – 4 yaş	0.9 AI
	4 – 9 yaş	1.2 AI
	9 – 13 yaş	1.8 AI
Adölesan	14 – 18 yaş	2.4 AI

Komplike pernisiyöz anemisi olmayan hastalara, B<sub>12</sub> vitamini 0,1 µg/gün kadar parenteral verildiğinde dahi hematopoetik cevap oluşacaktır. Bu miktar vitamin B<sub>12</sub> eksikliğinin bulgu ve belirtilerini önlemektedir.

Yapılan çalışmalarda DNA hasarını minimize etmek için Vitamin B<sub>12</sub> inin plazma konsantrasyonunun 300 pmol/L 'den büyük ve serum homosistein konsantrasyonunun 7.5 pmol/L 'den küçük olması gerektiği bildirilmiştir (5).

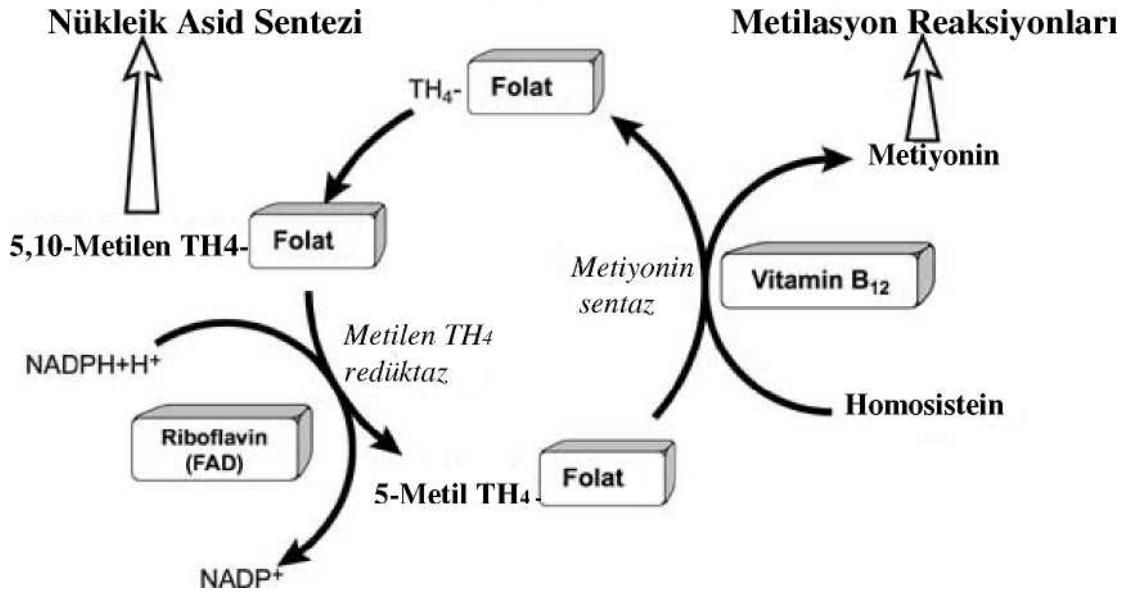
## 2. 1. 5. B<sub>12</sub> Vitamininin Biyokimyasal Özellikleri

Plazmadaki kobalamin bileşiklerinde kobalt atomu +3 değerlikte stabil formda bulunur. Kobalaminler aktif koenzim formundan önce labil olan +2 ya da +1 değerlik formuna indirgenmelidir. Homosisteinüri ve metilmalonik asidüri ye bu intraselüler değişimin konjenital defektleri yol açmaktadır (27).

B<sub>12</sub> vitamini insanlarda iki reaksiyonda koenzim görevi görür.

**I. Reaksiyon:** Homosisteinden metionin aminoasiti “*metionin sentaz*” enzimi aracılığıyla sentezlenir. Bu reaksiyon sitoplazmada gerçekleşir ve koenzim olarak MeCbl gereklidir. Bu reaksiyonda folat koenzimi 5- metiltetrahidrofolat da gereklidir (Şekil 2.).

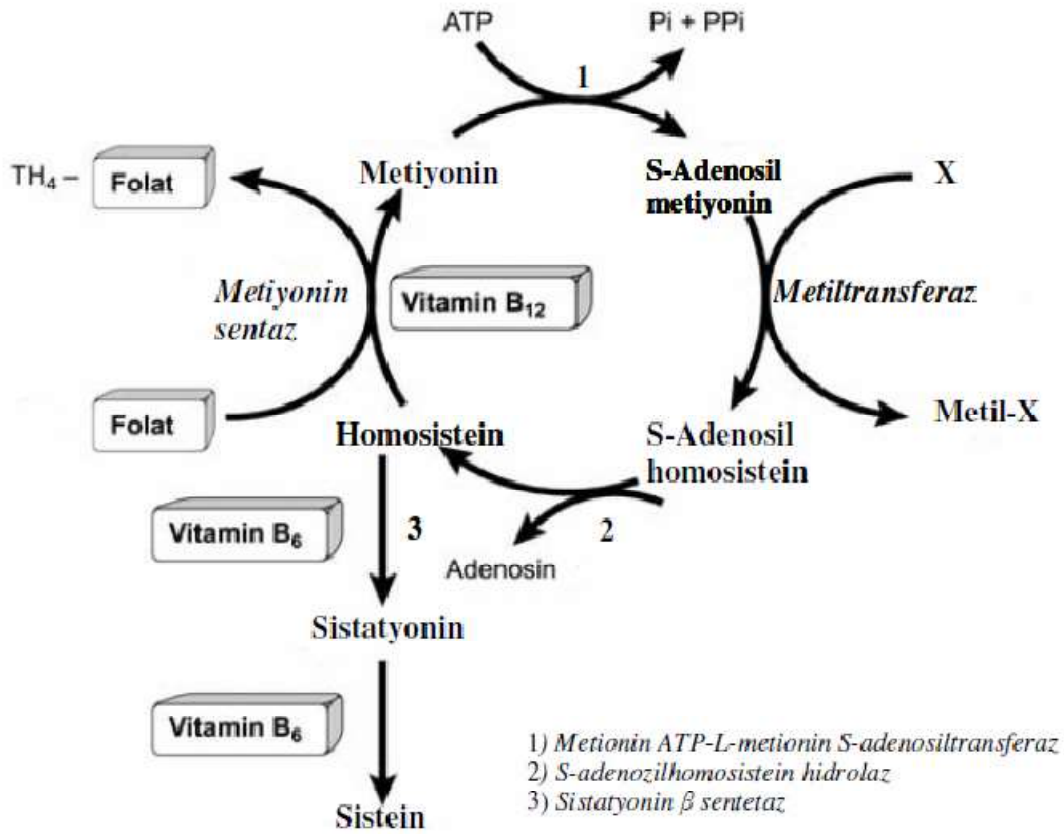
Bu reaksiyon metioninin yeniden sentezlenmesi için ana yoldur. Bu reaksiyonun gerçekleşmemesi halinde metioninin serum seviyeleri azalır ve buna paralel olarak büyüme ve gelişme geriliği oluşmaya başlar (1, 27, 32).



**Şekil-2:** Vitamin B<sub>12</sub> 'yi koenzim olarak kullanan metiyonin sentaz enzimiyle metiyonin ve TH<sub>4</sub>-folat oluşumu.

Plazmadaki metionin hücre içine ve serebrospinal sıvıya membran transport sistemi aracılığıyla geçer. Hücresel metionin “*Metionin ATP-L-metionin S-adenosiltransferaz*” enzimi aracılığıyla adenzinlenir ve S-adenozilmetionin (SAM) meydana gelir (1).

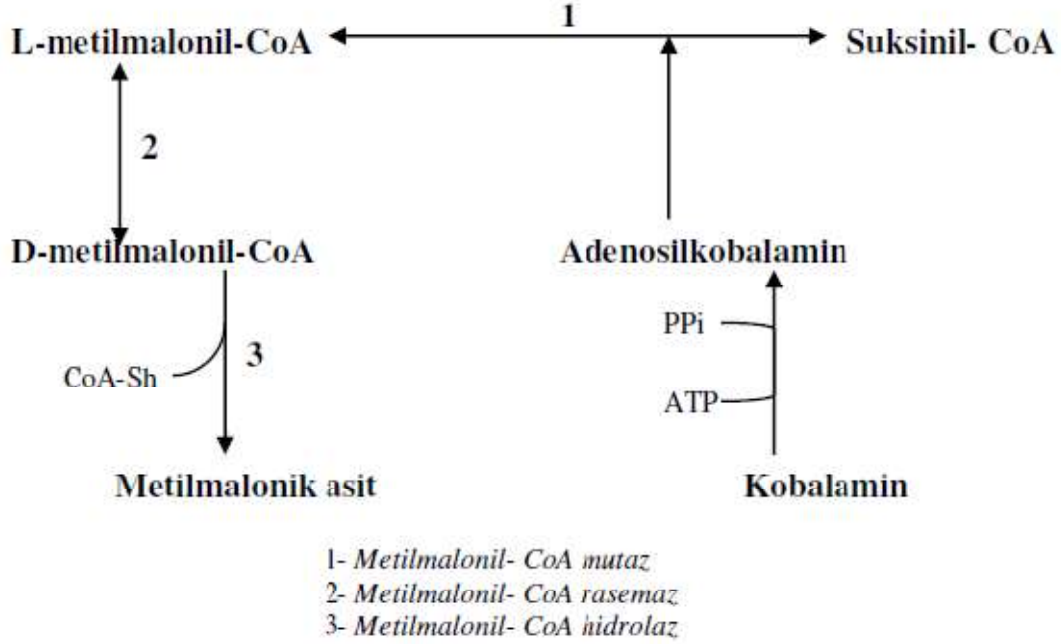
S-adenozilmetionin, metil grup vericisi olarak görev almaktadır. Fosfatidilkolin, myelin, melatonin, katekolaminler, DNA ve RNA sentezlerinde görev alır. S-adenozilhomosistein (SAH) metil grubu bırakıldıktan sonra oluşur (1). S-adenozilhomosistein, homosistein ve adenzine “*S-adenozilhomosistein hidrolaz*” enzimi tarafından 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 (1) (Şekil 3).



Şekil-3: Metiyonin sentezi

**II. Reaksiyon:** Burada “*metilmalonil CoA mutaz*” enzimi ile metilmalonil CoA süksinil CoA'ya dönüşür ve 5-deoksi AdoCbl koenzim olarak gereklidir. Bu reaksiyonda mitokondride gerçekleştiğinden sadece AdoCbl koenzim fonksiyonu görür (33, 34)

Kobalamin eksikliğine bağlı bu yolun hasarlanması ile plazmada ve idrarda metilmalonik asit (MMA) seviyeleri artar (35-38) (Şekil 4).



Şekil-4: B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğinde MMA Oluşumu

Kobalamin bağımlı olan bu iki reaksiyon, iki tane toksik ürünün serum seviyelerini azaltır (1, 27)

**Bunlar:**

1. Homosistein
2. Metilmalonil CoA dır.

**2. 1. 6. B<sub>12</sub> Vitamininin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu**

B<sub>12</sub> vitamininin hücrelerin çoğalması için gerekli olan DNA sentezine etkisi olur. B<sub>12</sub> vitamini eksikliğine en duyarlı olanlar hücre çoğalmasının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemleridir.

Başka bir önemli etkisi, santral ve periferik sinir sistemindeki bazı nöronların normal işlev ve görevlerinin devamını sağlamasıdır.

Vitamin B<sub>12</sub> eksikliği sonucunda metil TH<sub>4</sub> - metilen TH<sub>4</sub> dönüşümü olmaması sonucu dUMP nin dTMP ye dönüşümü gerçekleşemez. Bu da DNA içinde urasil birikimine ve yanlış yapılanmalara neden olur (39). Bu eksikliğin sonucunda kromozom hasarı oluşmaktadır. Oluşan kromozom hasarının homosistein yüksekliği ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (8, 11) Her iki vitamin eksikliğinde ise (folat ve kobalamin) sinerjik olarak hasar artmaktadır (40).

### 2. 1. 7. Kobalamin Bağlayan Proteinler

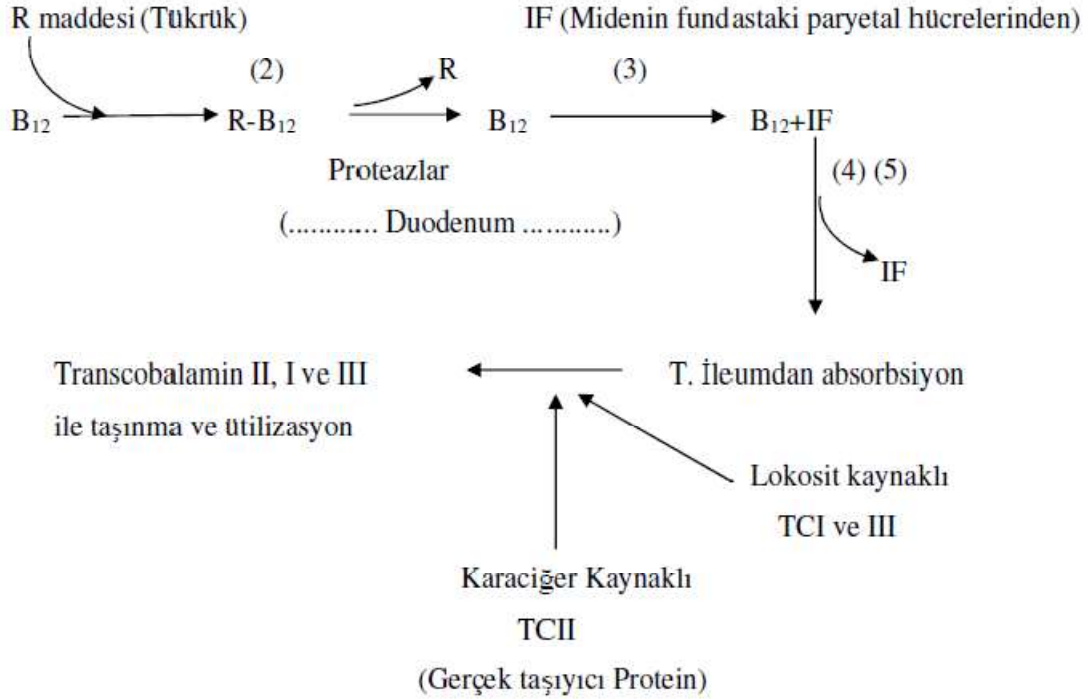
**İntrinsik Faktör:** İntrinsik faktör (IF) mide fundusunda mukoza katmanının pariyetal hücrelerinde sentezlenen, ısıya dayanaksız bir glikoproteindir. Kobalamine bağlanmadığında asidik ortamda peptik sindirime hassaslaşır. İF'in her 1 mg'ı yaklaşık 30 µg kobalamin bağlar. Cbl-IF kompleksi ince bağırsak lümeninde emilir. Geni 11.kromozom üzerinde bulunmaktadır (1, 27)

Transkobalamin-II (TCII): İnce bağırsak hücrelerinden veya vücut depolarından Vitamin B<sub>12</sub> yi alıp, dokulara ulaştırılmasında işlev görür (27). TCII, plazmada, beyin omurilik sıvısı ve semende bulunur. Serumda TCII'ye hem MeCbl hem de AdCbl bağlanırken, Transkobalamin-I (TCI)'e sadece MeCbl bağlanır (1, 41-43)

**Haptocorrinler:** Kobalaminlerin %70-90'ı plazmada haptocorrinlere bağlanır. Vitamin B<sub>12</sub> 'ye en büyük afiniteyi gösteren kobalamin bağlayıcı proteinler haptocorrinlerdir (27).Gıdalarla alınan aktif kobalaminler, haptocorrinler tarafından bağlanır ve karaciğere ulaştırılır. Belli bir kısmı safra ile ikrah edilir. Gerçek kobalaminler İF'e bağlanarak bağırsak lümeninden yeniden absorbe edilir, analogları ise atılır (44). Haptocorrinler Vitamin B<sub>12</sub> nin idrar ile atılımını engelleyerek kobalamin kaybına engel olurlar. Haptocorrin'in doğumsal eksikliği olan hastaların bir kısmında B<sub>12</sub> vitamin replasmanına cevapsız tipik olmayan nörolojik semptomlar meydana gelir (27).

### 2. 1. 8. Kobalaminlerin Emilimi ve Dokulara Taşınması

Besinlerdeki Vitamin B<sub>12</sub> 'nin Emilimi ve Sindirimi karmaşık bir süreçle meydana gelir. Bu süreçte aktif ve pasif mekanizmalar bulunmaktadır. Hayvansal gıdadaki kobalaminlerin Emilimi beş basamakta gerçekleşir (1, 44, 45)(Şekil 5).



**Şekil-5:** B<sub>12</sub> Vitaminin Emilimi ve Taşınması

Plazmaya geçen kobalamin iki farklı proteine bağlanır. TCII ince bağırsak hücrelerinden veya vücut depolarından B<sub>12</sub> vitamini gereksinimi bulunan dokulara kobalamin taşınmasını hızlı bir şekilde sağlayan proteindir. Dokulardaki hücreler TCII-Cbl kompleksi için reseptör taşır (27) (Şekil 5). TCII serumdaki B<sub>12</sub> vitamininin yaklaşık %10-30'unu bağlar. Geriye kalanları haptocorrinlere, özellikle TCI'e bağlıdır (27).

### 2.1.9. Çocuklarda B<sub>12</sub> Vitaminini Eksiklik Nedenleri

#### Yetersiz B<sub>12</sub> vitamini alımı

Yeterli hayvansal gıda almama, vejeteryan beslenme alışkanlıkları

B<sub>12</sub> vitamini içeriği düşük gıdaların seçilmesi

Özel diyet mamalarıyla beslenme

Emilim defektleri

İF yokluğu veya Midenin cerrahi olarak çıkarılması

Konjenital İF yokluğu

Otoimmün poliglanduler sendrom tip I

B<sub>12</sub> vitamininin besinlerden salınımında yetersizlik

**Mide asit salgısı eksikliği:** Asit salgısını engelleyen ilaçların kullanımı,



Helikobakter pilori enfeksiyonu  
Pankreas yetersizliği  
Bağırsak parazitleri  
İnce bağırsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma  
B<sub>12</sub> vitamini emilimini azaltan ilaçların alınması  
Bağırsak mukozası bozuklukları  
İleumun bir parçasının cerrahi olarak çıkarılması  
İmmerslund-Grasbeck sendromu

### **B<sub>12</sub> vitamini taşınma ve metabolizmasında doğuştan bozukluklar**

#### **Taşınma defektleri:**

Transkobalamin II eksikliği

Haptokorrinlerin eksikliği

Hüresel kobalamin kullanım defektleri:

Adenosil kobalamin sentezindeki bozukluklar (CblA ve CblB hastalığı) Metilkobalamin sentezindeki bozukluklar (CblE ve CblG hastalığı)

Her iki kofaktörün sentezinde bozukluklar (CblC, CblD ve CblF hastalığı)

#### **2.1.10. Yenidoğanda ve Süt Çocuklarında B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliği**

Sağlıklı bir yetişkinde 2-3 mg B<sub>12</sub> vitamini deposu bulunmaktadır. Normal düzeyde Vitamin B<sub>12</sub> deposuna sahip annenin yenidoğan bebeğinde 25 µg B<sub>12</sub> vitamini deposu bulunmaktayken, Vitamin B<sub>12</sub> eksikliği mevcut anneden doğan bebeğin B<sub>12</sub> vitamini deposu yaklaşık 5 µg'dır. Kolostrum daha sonraki sütlerden daha fazla Vitamin B<sub>12</sub> içermektedir. Anne sütündeki Vitamin B<sub>12</sub> miktarı, annedeki serum Vitamin B<sub>12</sub> ile korelasyon göstermektedir. Yenidoğanın Vitamin B<sub>12</sub> depoları düşük düzeyde olsa da, yenidoğan dönemi için bu miktarlar yeterlidir (46-49). Serum Vitamin B<sub>12</sub> seviyeleri hayatın 6. ayına doğru azalmaya başlar ve ek gıda alımına başladıktan sonra seviyeleri tekrar artar. Fakat ek gıda alımı gecikirse veya başlanmaz ise B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin arttığı belirlenmiştir (23).

Doğumdan önceki son trimester ve doğumdan sonraki ilk 6 ay beyin gelişiminin ve myelinizasyonunun en hızlı olduğu dönemdir. B<sub>12</sub> vitamini düzeyi yetersiz olan annenin bebeğinde Vitamin B<sub>12</sub> eksikliği daha erken görülür. Yaşamın ilk yılında miyelinizasyon son

derece hızlıdır. Vitamin B<sub>12</sub> düzeyi düşük doğarlarda bu miyelinizasyon yavaşlamaktadır (21-23). Erken dönemde teşhis edilip, tedavi edilmeyen B<sub>12</sub> vitamini eksikliği, süt çocuklarında nörolojik hasara sebebiyet verebilmektedir (50, 51)

### **2.1.11. B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Bulguları**

B<sub>12</sub> vitamini eksikliği çocuklarda iştahsızlık, halsizlik, yorgunluk, irritabilite veya ağız mukozasında aftöz stomatit gibi nonspesifik semptom ve bulgular gözlenebilir. En fazla etkilenen dokular, hızlı çoğalan olan hematolojik sistem hücreleridir. Nörolojik semptomlar da görülür (1).

**Hematolojik Bulgular:** Makrositik anemi oluşur ve genellikle nötropeni ve trombositopeni bu anemiye eşlik eder. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) artma gözlenir, periferik yaymada hipersegmente nütrofiller ve oval makrositler görülür. Kemik iliği hiperselülerdir. Anemi nedeniyle kalp yetmezliği meydana gelebilir (1, 27).

**Gastrointestinal Bulgular:** İştahsızlık, tartı kaybı, bulantı, kontipasyon, periyodik ishal, glossit ve pamukçuk bu semptomlardan bazılarıdır. Bazı yayınlarda pernisiyöz anemili hastaların yarısında, anemi olmasa dahi kırmızı, ağrılı dil olduğu gözlenmiştir (1, 27, 52)

**Nörolojik Bulgular:** Nörolojik bulguların şiddeti ile aneminin düzeyi arasında korelasyon bulunmamaktadır (27). Nörolojik semptomların esas sebebi sinir hücrelerindeki ilerleyici demiyelinizasyondur (24).

### **2.1.12. B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Tanısı**

Tam kan sayımı, plazma B<sub>12</sub> vitamini seviyesi, serum homosistein seviyesi ve metilmalonik asit düzeyi ile B<sub>12</sub> vitamin eksikliği tanısı belirlendikten sonra etiyolojisine yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

**Tam Kan Sayımı:** Makrositik anemi gözlenir. MCV ve MCH artar. B<sub>12</sub> vitamini eksikliği ile birlikte demir eksikliği anemisi, kronik hastalık anemisi veya talasemi varsa MCV'deki artma maskelenmiş olabilir (45, 53)

**Periferik Yayma:** Anizositoz, poikilositoz ve oval makrositik eritrositler ve hipersegmente nötrofiller görülür. Howell-jolly cisimcikleri ve normoblastlar görülebilir (1).

**Kemik İliği İncelemesi:** Kemik iliği hiperselülerdir ve genellikle her üç seride megaloblastik değişiklikler olur (1).

**B<sub>12</sub> Vitamini Serum Düzeyi:** Kobalamin eksikliğinin tanısı doğrudan düşük plazma kobalamin düzeyi ölçülerek konabilir. Normal plazma düzeyi aralığı 200-900 pg/ml'dir. Vitamin B<sub>12</sub> düzeyi 100 pg/ml'den daha düşük olan hastalarda megaloblastik anemi görülebilir. Plazma kobalamin düzeyi karaciğer kobalamin deposunu göstermektedir (1, 25, 45)

**Schilling Testi:** B<sub>12</sub> vitaminin emilim defektini tespit etmede kullanılır. Radyoaktif işaretli B<sub>12</sub> vitamininin 24 saatlik idrardaki miktar ölçümüne dayanır. İşaretli B<sub>12</sub> vitamini ile intrinsik faktörün beraber verilmesi sonucundaki idrar B<sub>12</sub> vitamini değerlendirmesi ile intrinsik faktöre bağlı defektler de gösterilebilir (1, 24, 45)

### 2.1.13 B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliğinin Tedavisi

Şiddetli anemisi olan hasta öncelikle stabil hale getirilmelidir. Acil tedavi olarak oksijen, diüretik ve eritrosit transfüzyonu planlanabilir (1, 24, 27, 45). Vitamin B<sub>12</sub> tedavisinin 10 µg/gün dozunda verilmesi tedavinin başlangıcından 5-7 gün sonra retikülosit sayısını pik noktaya ulaştırmak için yeterlidir (1).

Doğumsal Vitamin B<sub>12</sub> metabolizması defekti olanlarda haftada 2-3 kez 1000 µg enjeksiyon şeklinde tedavi uygulanabilir. Bu gibi hastalarda tedavinin başarısı homosistein, MMA, metioninin plazma düzeylerinin ölçülmesi ile gözlenebilir (1).

B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinde seyir eksikliğin şiddetine ve süresine bağlıdır. Bu nedenle erken tanı ve tedavi oldukça önemlidir (1, 24, 27, 51, 54)

## **2.2. DNA**

### **2.2.1. DNA Yapı ve Fonksiyonu**

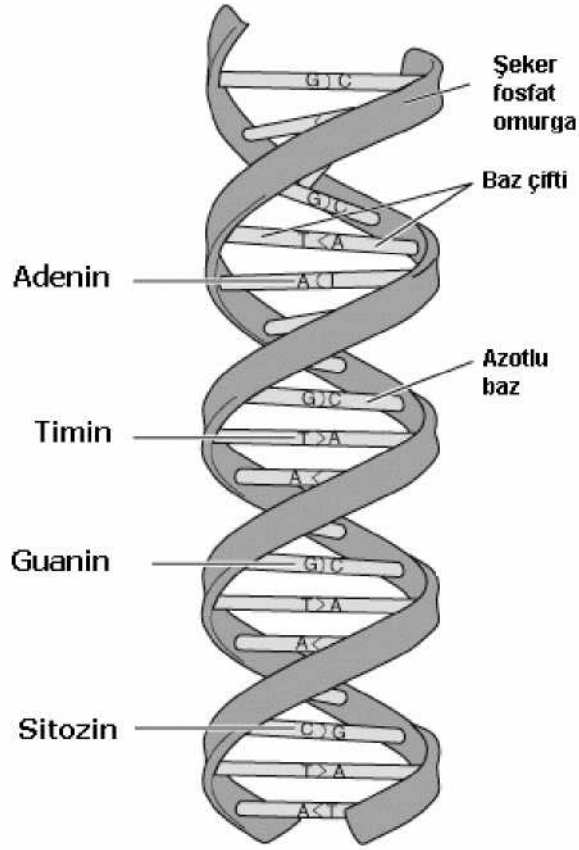
#### **2.2.1.1. İnsan Genomu ve DNA**

İnsan somatik hücrelerinde tüm genom iki kopya halinde bulunmaktadır. Genomu oluşturan DNA, yaklaşık 3 milyar baz çifti içerir ve çift sarmal biçimindedir. İnsan DNA sı 23 çift (46 tane) kromozom şekildedir (55, 56).

Tüm genomun yaklaşık %10 u işlevseldir. Diğerleri çok sayıda benzer kopyalar şeklinde bulunmaktadır. Bunların görevleri henüz netleştirilememiştir. Kromozomların yapılanması ve işlevlerinde rol oynayabilirler (55, 56)

#### **2.2.1.2. DNA'nın Yapısı**

DNA, polimerik bir nükleik asit (NA) makromolekölüdür. Nükleotid olarak bilinen bu yapılanma baz, fosfat ve şekerden oluşan bileşimlerdir. DNA yapısının temel bileşimleri; şeker (deoksiriboz), dört farklı baz (adenin, guanin, timin, sitozin) ve fosfat grubudur (Şekil 6.). Nükleotidler 5' ve 3' fosfodiester bağları ile birleşerek polinükleotid makromoleküllerini oluştururlar. İnsandaki genetik bilgi, DNA molekülündeki dört farklı bazın sıralanışı ile kodlanmıştır. Çift sarmal yapı adenin (A) ile timin (T), guanin (G) ile sitozin (C) karşılıklı gelecek şekilde sıralanır (56, 57).



Şekil-6: DNA Yapısı

DNA daki homeostatik mekanizma ile bilgi korunmaktadır. Bu mekanizmalardan birisi düzenleme süreci adını alır. Bunda “DNA polimeraz” enzimine eşlik eden “Nükleaz” ile yeni zincirde olabilecek hatalar düzeltilir. Ayrıca DNA daki bilginin doğruluğunu sağlamak için tamir sentezi ( repair synthesis) harekete geçirilir.

### 2.2.2. DNA Hasarı ve Sonuçları

DNA'nın bütünlüğü çevresel ajanlar ve metabolizmanın yan ürünü serbest radikaller gibi endojen ajanlar ile sürekli tehdit altındadır (58). Reaktif oksijen moleküllerinin (ROM) neden olduğu oksidatif DNA hasarları tanımlanmıştır. Bu hasarların biyolojik önemi henüz netlik kazanmamakla birlikte 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)'de mutasyona neden olduğu bilinmektedir (59).

### 2.2.2.1.Oksidatif DNA Hasarı

İnsan hücrelerinde DNA'nın günde 10.000 kez oksidatif hasara maruz kaldığı belirlenmiştir (60). Yenidoğan ratlarda dahi oksidatif baz modifikasyonunun 8OHdG olduğu belirlenmiştir (61). ROM oluşumundaki artma ve DNA onarım mekanizmalarında eksiklik olması oksidatif DNA hasarının artmasına neden olmaktadır (62, 63)

DNAda oksidatif hasar yapan başlıca etkenler; iyonize radyasyon, yüksek oksijen konsantrasyonu, otooksidasyona uğrayan kimyasallar, ksantin oksidaz ve substratları ve TNF- $\alpha$ 'dır (64).

DNA da oksidatif hasar oluşumu iki hipotez ile açıklanmıştır (65).

'Tenton Kimyası'' hipotezinde OH• radikalleri DNA'da hasar oluşturur. O<sub>2</sub> gibi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de doğrudan DNA'da hasar yapmaz. OH• radikalının DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA' da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan OH• radikalının hücre içinde diffuze olarak nukleusa geçme olasılıkları azdır.

Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'in nukleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyonlaşarak (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturmasıdır.

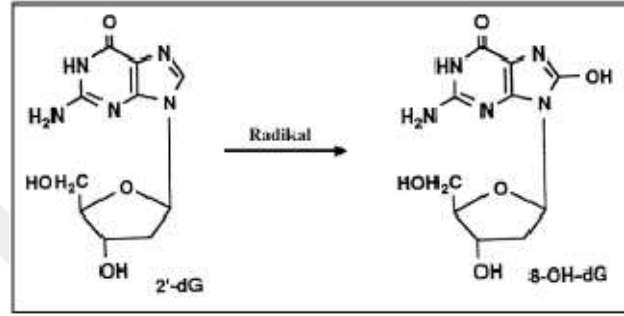
DNA üzerinde en sık oluşan ve mutajenik özellik gösteren hasar, 8-OHdG' dir. 8-OHdG DNA onarım enzimleri tarafından kesilerek uzaklaştırılır, periferik dolaşıma geçer ve idrarla atılır. Lökosit DNA'smda bulunan 8-OHdG serum ve idrarda bulunan 8-OHdG oksidatif stres markeri olarak değerlendirilmektedir.

### 2.2.2.2. 8- Hidroksi-2 'Deoksiguanozin'in Oluşum Mekanizması

Guanin en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır (68). (66) 8-OHdG guaninin hidroksil radikali maruziyeti sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. ROS'un DNA'da yaptığı bu baz hasar ürünlerinden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG'dir. OH radikali, guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonundaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA radikallerini oluşturur. OH radikalının C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8-OH) bir elektron ve proton

kaybederek 8- hidroksiguanine okside olur (67, 68) DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır (66). Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNAdaki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (69).

Reaktif oksijen metabolitlerinin artmasına sebep olan tüm etkenler, 8-OHdG oluşumuna yani oksidatif DNA hasarına katkıda bulunur. (Şekil 7)



Şekil-7: 8- Hidroksi- 2'Deoksiguanozin (S-OHdG)'in Oluşumu

### 2.2.2.3. B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğinde DNA Hasarı

B<sub>12</sub> vitamini ve/veya folat eksikliğinde SAM oluşumu azalır, buna bağlı metilasyon olmadığı gibi, homosistein birikime uğrar ve toksik etki gösterir. Ayrıca glutatyon ve sisteinin antioksidan etkileri azalır (1, 70) B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinde S- adenzil metiyonin oluşamamasına bağlı DNA'nın metilasyonu azalır. Metilasyon DNA'nın kararlı gen ekspresyonu ve uyumu için gereklidir. Metile olamayan DNA da abazik alanlar, zincir kırıkları, onarım bozuklukları ve proto-onkogen aktivasyonu oluşmaktadır. Sonuçta DNA, alternatif yollardan metilasyona uğrar ve bu durum kanser gelişimine neden olur (5, 71-74) .

Tetrahydrofolat ise DNA sentezin “tek karbon aktarımı” özelliğiyle deoksi urasil mono fosfat'ın (dUMP), deoksi timin monofosfat'a (dTMP) dönüşümünü sağlar ve DNA sentezinde rol alır (1). B<sub>12</sub> vitamin eksikliği, dolayısıyla fonksiyonel folat eksikliği durumunda dUMP nin dTMP ye dönüşümü olmaz. Bunun sonucunda urasil, DNA içerisinde yanlış yapılanmaya neden olarak timinin yerine geçer ve aşırı birikime uğrar. Biriken urasil DNA'da, nokta mutasyonları, tek ve çift zincir DNA kırıkları, kromozom kırıkları ve mikronükleus formasyonu, zincir kırıklarının onarımı esnasında mutajenik lezyonlar oluşturur (5, 72, 75, 76).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniğine Haziran 2017- Mayıs 2018 tarihleri arasında başvuran hastalardan, B12 vitamin eksikliği tespit edilen 0-18 yaş arası toplam 44 hasta ve bunları karşılayacak aynı yaş grubundan tamamen sağlıklı 40 çocuk hasta kontrol grubu olarak alındı. Kontrol grubunu oluşturan çocuk hastalar herhangi bir nedenle (aşı, kontrol... vb) sağlam çocuk polikliniğine başvuran, kan alınması gereken ve sağlık problemi olmayan 0-18 yaş arası sağlıklı çocuklardan oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan hastaların ailelerine bilgi verilerek, ailelerden bilgilendirilmiş onam formu alındı. Bu çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 13.07.2017 / 07 oturum kararı ile izin alındı (Ek 1).

#### 3.1. Dışlama Kriterleri

Akut enfeksiyonlar, tüberküloz, konjenital anomaliler, epilepsi, mental motor sekeli, diabetis melitus, konjestif kalp yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, kronik akciğer hastalığı, hipotroidi, çölyak hastalığı, parazitoz tanısı alan, enfeksiyon tedavisi henüz tamamlanmamış hastalar ve çalışma öncesi herhangi bir B12 vitamini preparatı kullanmış olan hastalar çalışmaya alınmadı.

#### 3.2. Kan Örnekleri

Çalışmaya başlamadan önce tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubundaki çocuklardan sabah tokken; biyokimyasal tetkikler, anemi açısından ferritin, demir, total demir bağlama kapasitesi, hipotroidi açısından TSH, FT4, vitamin D, B12, Folik asit ve Fosfor düzeyleri için her bir hastadan rutin kan ve idrar örneği alındı. Tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubundaki çocukların otomatik kan sayımı cihazı (Abbot Celldyn 3500 III, USA) ile tam kan sayımları yapıldı. Araştırma için seçilen vakalardan alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı. Kalan serumdan rutin biyokimyasal tetkikler, CRP, sedimentasyon, elektrolitler, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri (Abbott Aeroset, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA), TSH, Serbest T4, doku transglutaminaz IgA, endomisyum Iga, CRP, vit D düzeyi, B12, Folikasit aynı gün çalışılırken; B12 eksikliği saptanan hastaların serumları ve bu hastalardan eş zamanlı alınan 2 cc idrar numuneleri, çalışma gününe kadar -80 derecede saklandı.



Çalışmaya alınan B12 vitamin eksikliği olan tanılı olguların hepsinde literatüre uygun olarak B12 vitamin eksikliği tanısı koymak için belirtilen yaş aralığına uygun Hb değerleri alındı ve B12 vitamin eksikliği tanısı için gerekli olan HB, MCV, B12, folik asit, Demir, Ferritin, SDBK, MCV, RDW gibi laboratuvar parametrelerin uygunluğu sağlandı (77). Çalışmaya alınan sağlıklı kontrol grubu hastaların tümünde literatüre uygun olarak B12 vitamin eksikliği tanısını dışlamak için belirtilen yaş aralığına uygun Hb değerlerinin üstünde değerlere sahip olması ve Fe, SDBK, Ferritin, MCV, RDW gibi laboratuvar parametrelerin uygunluğu sağlandı (77). B12 eksikliği anemisi tanısı konulan hastalarda enfeksiyonun dışlanması için sistemik muayeneleri yapıldı ve eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP değerleri normal saptandı.

Çalışma günü 8-OHdG düzeyleri idrar ve kan numunelerine spesifik (katalog no: 589320; Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA) ELA (enzim immünoassay) kiti ile üretici firmanın kataloğunda belirtildiği gibi tüm numuneler 1:50 oranında sulandırılarak çalışıldı. Kitin minimal detection limiti 33 pg/ml, intra-assay CV değeri (coefficient of variation) %4,7 ile %11,6 iken inter-assay CV değeri % 4,5 ile %10,7 olarak belirtilmiştir. Bir çok çalışmada olduğu gibi değerler ng/ml birimine çevrilerek değerlendirildi (78, 79)

### 3.3. İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) yanı sıra nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Student's t test, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test kullanıldı. Parametreler için cut off belirlemede tanı tarama testleri (duyarlılık, özgüllük, PKD, NKD) ve ROC Curve analizi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0,05$  düzeylerinde değerlendirildi.

**Duyarlılık (Sensitivity):** Gerçek hastalar içinden testin hastaları belirleyebilme özelliğidir.

**Özgüllük (Spesifisity):** Gerçek sağlamlar içinden testin sağlamları belirleyebilme özelliğidir.

**Pozitif Kestirim Değeri:** Test pozitif (hasta) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten hasta olması durumunun koşullu olasılığının ölçüsüdür.

**Negatif Kestirim Değeri:** Test negatif (sağlam) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten sağlıklı olma olasılığıdır.



#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza alınan hastaların %31'i (n=26) kız, %69'u (n=58) erkek toplam 84 hasta alındı. Hastaların yaşları 3 ile 213 ay arasında değişmekte olup, ortalama  $86,20 \pm 56,89$  ay olarak saptandı (Tablo 2).

Çalışmaya alınan hastaların tartı ölçümleri 6,90 ile 73,40 kg arasında değişmekte olup, ortalama  $26,96 \pm 16,25$  kg olarak, boy uzunlukları 57,9 ile 182,4 cm arasında değişmekte olup, ortalama  $116,85 \pm 29,30$  cm olarak ve olguların BMI ölçümleri 13,34 ile 54,68  $\text{kg/m}^2$  arasında değişmekte olup, ortalama  $18,17 \pm 4,66$   $\text{kg/m}^2$  olarak saptandı (Tablo 2).

**Tablo-2:** Demografik Özelliklerin Dağılımı

<b>Yaş (ay)</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	3-213 (88)
	<i>Ort±Ss</i>	$86,20 \pm 56,89$
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kız</b>	26 (31,0)
	<b>Erkek</b>	58 (69,0)
<b>Tartı (kg)</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	6,90-73,40 (22,70)
	<i>Ort±Ss</i>	$26,96 \pm 16,25$
<b>Boy (cm)</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	57,9-182,4 (115,55)
	<i>Ort±Ss</i>	$116,85 \pm 29,30$
<b>BMI (<math>\text{kg/m}^2</math>)</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	13,34-54,68 (17,39)
	<i>Ort±Ss</i>	$18,17 \pm 4,66$

Çalışmaya alınan hastaların labaratuvar sonuçları değerlendirildiğinde; Hemoglobin ölçümleri 7,87 ile 17,17 arasında değişmekte olup, ortalama  $12,38 \pm 1,53$  olarak, HCT ölçümleri 28,63 ile 50,98 arasında değişmekte olup, ortalama  $39,50 \pm 4,35$  olarak, MCV ölçümleri 48,41 ile 94,48 arasında değişmekte olup, ortalama  $80,21 \pm 6,99$  olarak, RDW ölçümleri 10,42 ile 18,58 arasında değişmekte olup, ortalama  $12,57 \pm 1,51$  olarak, PLT ölçümleri 155 ile 980,4 arasında değişmekte olup, ortalama  $345,99 \pm 125,46$  olarak, MPV ölçümleri 4,75 ile 17,61 arasında değişmekte olup, ortalama  $7,19 \pm 1,80$  olarak, demir ölçümleri 10 ile 124 arasında değişmekte olup, ortalama  $57,77 \pm 31,56$  olarak, TDBK ölçümleri 143 ile 457 arasında değişmekte olup, ortalama  $275,46 \pm 74,49$  olarak, Ferritin ölçümleri 2,2 ile 98,6 arasında değişmekte olup, ortalama  $24,73 \pm 18,64$  olarak, folikasit ölçümleri 3,78 ile 24 arasında değişmekte olup, ortalama  $10,59 \pm 5,35$

olarak ve B12 ölçümleri 122 ile 562 arasında değişmekte olup, ortalama  $250,74 \pm 98,57$  olarak saptandı (Tablo 2).

Olguların serum 8-OHdG ölçümleri 1,94 ile 40,46 arasında değişmekte olup, ortalama  $11,91 \pm 6,41$  olarak, idrar 8-OHdG ölçümleri 4,79 ile 328,06 arasında değişmekte olup, ortalama  $46,58 \pm 57,79$  olarak saptandı (Tablo 3).

**Tablo-3:** Laboratuvar Ölçümlerinin Dağılımı

<b>Hb</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	7,87-17,17 (12,55)
	<i>Ort±Ss</i>	12,38±1,53
<b>HCT</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	28,63-50,98 (39,79)
	<i>Ort±Ss</i>	39,50±4,35
<b>MCV</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	48,41-94,48 (81,25)
	<i>Ort±Ss</i>	80,21±6,99
<b>RDW</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	10,42-18,58 (12,39)
	<i>Ort±Ss</i>	12,57±1,51
<b>PLT</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	155-980,4 (319,65)
	<i>Ort±Ss</i>	345,99±125,46
<b>MPV</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	4,75-17,61 (6,89)
	<i>Ort±Ss</i>	7,19±1,80
<b>Demir</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	10-124 (56)
	<i>Ort±Ss</i>	57,77±31,56
<b>TDBK</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	143-457 (268,5)
	<i>Ort±Ss</i>	275,46±74,49
<b>Ferritin</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	2,2-98,6 (20,07)
	<i>Ort±Ss</i>	24,73±18,64
<b>Folikasit</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	3,78-24 (9,52)
	<i>Ort±Ss</i>	10,59±5,35
<b>B12</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	122-562 (199,5)
	<i>Ort±Ss</i>	250,74±98,57
<b>Serum 8-OHdG</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	1,94-40,46 (11,79)
	<i>Ort±Ss</i>	11,91±6,41
<b>İdrar 8-OHdG</b>	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	4,79-328,06 (21,9)
	<i>Ort±Ss</i>	46,58±57,79

**8-OHdG:** 8 oh-deoksiguanozin

Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların %27.2'si (n=12) kız, %72.8'i (n=32) erkek toplam 44 hasta, kontrol grubu hastaların %35(n=14) kız, %65(n=26) erkek olarak saptandı. Çalışmadaki B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların yaşları 6 ile 213 ay arasında değişmekte olup, ortalama 83,50±68,51 ay olarak saptandı. B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları açısından sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05). BMI değerler açısından değerlendirildiğinde, B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların BMI değerleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p=0,038; p<0,05) (Şekil 8) (Tablo 4).

**Tablo-4:** B-12 Eksikliğine Göre Demografik Özelliklerin Değerlendirilmesi

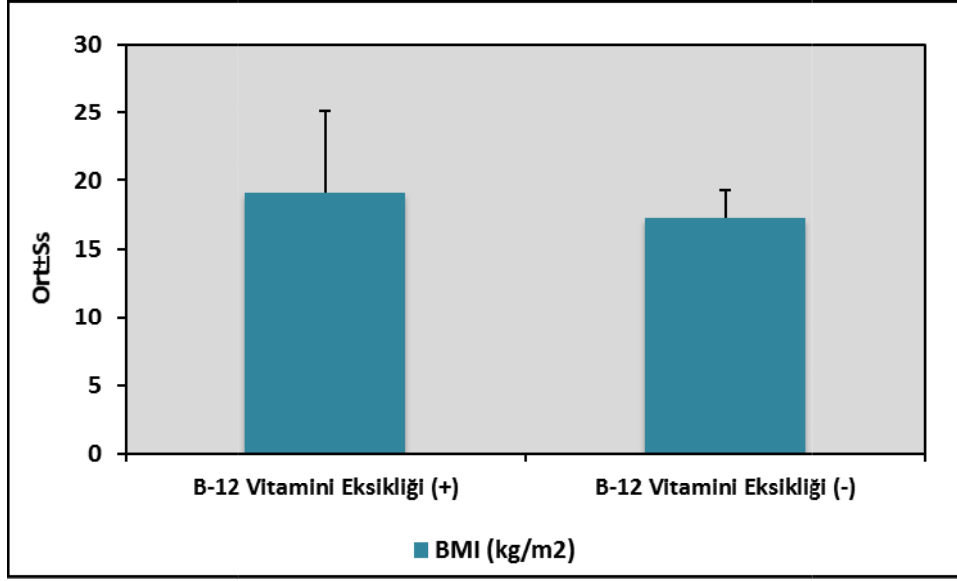
		<b>B12 Eksikliği</b>		<b>Test</b>
		<b>Var (n=44)</b>	<b>Yok (n=40)</b>	<b>Değeri</b>
				<b>p</b>
<b>Yaş (ay)</b>	<i>Min-Maks</i>	6-213 (55,5)	3-185 (92)	Z:-0,963
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	83,50±68,51	89,18±41,19	<b><sup>a</sup>0,336</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<i>Min-Maks</i>	13,6-54,68	13,34-23,21	Z:-2,078
	<i>(Medyan)</i>	(17,92)	(17,07)	
	<i>Ort±Ss</i>	19,07±6,02	17,20±2,12	<b><sup>a</sup>0,038*</b>
		<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kız</b>	12 (27,2)	14 (35)	$\chi^2$ :0,585
	<b>Erkek</b>	32 (72,8)	26 (65)	<b><sup>b</sup>0,444</b>

<sup>a</sup>Mann Whitney U Test

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

\*p<0,05

**BMI:**Vucut kitle indeksi



**Grafik-1:** B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre BMI Dağılımı

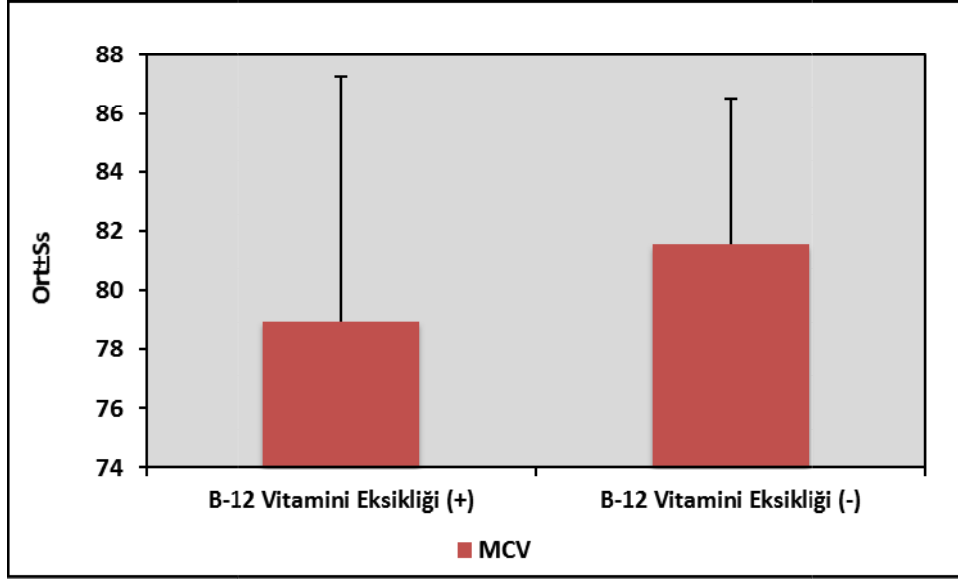
**BMI:** Vucut kitle indeksi

Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların hemoglobin, HCT, RDW, TDBK, Ferritin ve Folikasit ölçümleri arasında sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). MCV değerleri değerlendirildiğinde, B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı ( $p=0,026$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 9). B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların PLT değerleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte dikkat çekici düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,056$ ;  $p>0,05$ ) (Şekil 10). B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların MPV değerleri, sağlıklı kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı ( $p=0,017$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 11). B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların serum demir değerleri arasında sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı ( $p=0,021$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 12). (Tablo 5).

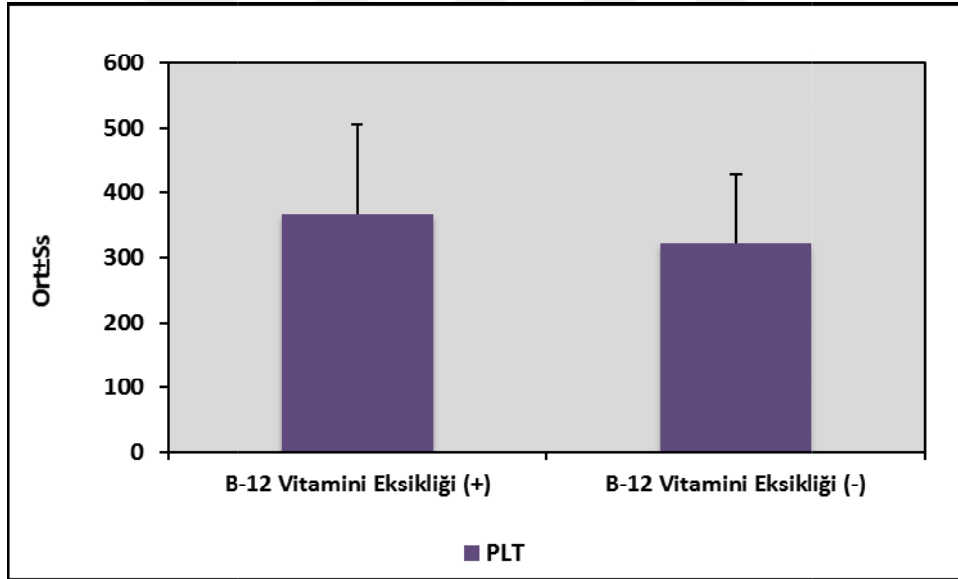
**Tablo-5:** B-12 Eksikliğine Göre Laboratuvar Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

		B12 Eksikliği		Test
		Var (n=44)	Yok (n=40)	Değeri
				<i>p</i>
<b>HB</b>	<i>Min-Maks</i>	7,87-17,17		t:-1,349
	<i>(Medyan)</i>	(12,32)	10,43-15,98 (12,7)	
	<i>Ort±Ss</i>	12,16±1,73	12,61±1,27	<b><i>0,181</i></b>

<b>HCT</b>	<i>Min-Maks</i>	28,63-50,1	33,66-50,98	t:-1,501
	<i>(Medyan)</i>	(39,04)	(40,38)	
	<i>Ort±Ss</i>	38,82±4,54	40,24±4,06	<sup>c</sup> <b>0,137</b>
<b>MCV</b>	<i>Min-Maks</i>	48,41-94,48	69,41-89,95	Z:-2,221
	<i>(Medyan)</i>	(80,27)	(82,24)	
	<i>Ort±Ss</i>	78,97±8,29	81,58±4,96	<sup>a</sup> <b>0,026*</b>
<b>RDW</b>	<i>Min-Maks</i>	10,6-18,58		Z:-0,506
	<i>(Medyan)</i>	(12,33)	10,42-14,99 (12,4)	
	<i>Ort±Ss</i>	12,71±1,68	12,42±1,32	<sup>a</sup> <b>0,613</b>
<b>PLT</b>	<i>Min-Maks</i>	199,7-980,4		Z:-1,908
	<i>(Medyan)</i>	(343,6)	155-610,9 (294,4)	
	<i>Ort±Ss</i>	367,86±138,33	321,94±106,14	<sup>a</sup> <b>0,056</b>
<b>MPV</b>	<i>Min-Maks</i>			Z:-2,391
	<i>(Medyan)</i>	4,75-17,61 (6,47)	5,27-10,17 (7,17)	
	<i>Ort±Ss</i>	6,93±2,09	7,46±1,4	<sup>a</sup> <b>0,017*</b>
<b>Demir</b>	<i>Min-Maks</i>			t:-2,361
	<i>(Medyan)</i>	10-118 (49,5)	10-124 (63)	
	<i>Ort±Ss</i>	50,23±29,41	66,08±32,12	<sup>c</sup> <b>0,021*</b>
<b>TDBK</b>	<i>Min-Maks</i>			t:0,883
	<i>(Medyan)</i>	143-450 (289)	144-457 (256)	
	<i>Ort±Ss</i>	282,32±74,24	267,93±74,97	<sup>c</sup> <b>0,380</b>
<b>Ferritin</b>	<i>Min-Maks</i>			Z:-1,352
	<i>(Medyan)</i>	2,2-98,6 (16,95)	3,7-73,6 (22,52)	
	<i>Ort±Ss</i>	23,92±20,8	25,62±16,16	<sup>a</sup> <b>0,176</b>
<b>Folikasit</b>	<i>Min-Maks</i>			Z:-0,959
	<i>(Medyan)</i>	3,78-24 (10,36)	4,42-20,27 (9,19)	
	<i>Ort±Ss</i>	11,65±6,65	9,43±3,07	<sup>a</sup> <b>0,338</b>
<sup>a</sup> <i>Mann Whitney U Test</i>		<sup>c</sup> <i>Student-t Test</i>		<sup>*</sup> <i>p</i> <0,05
				<sup>**</sup> <i>p</i> <0,01

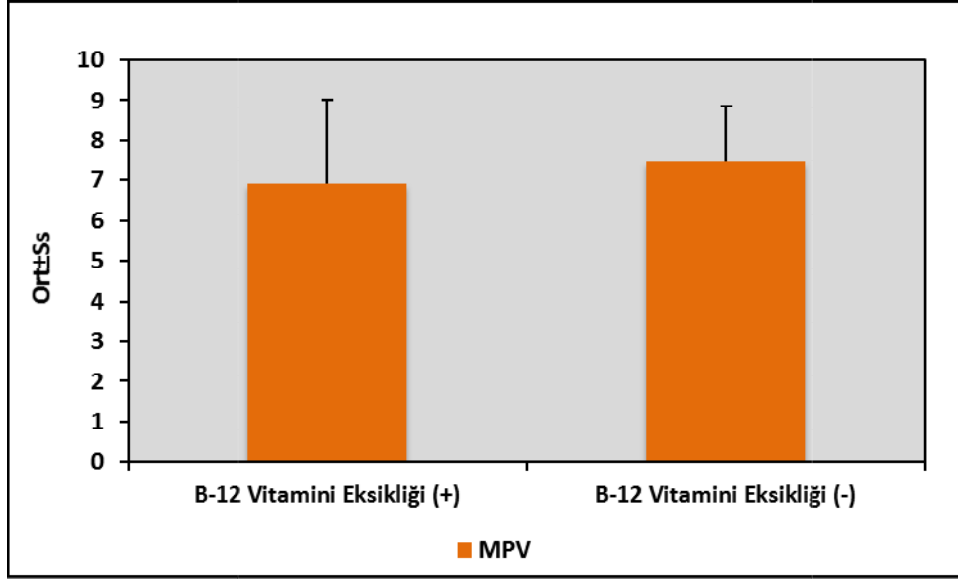


**Grafik-2:** B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre MCV Dağılımı

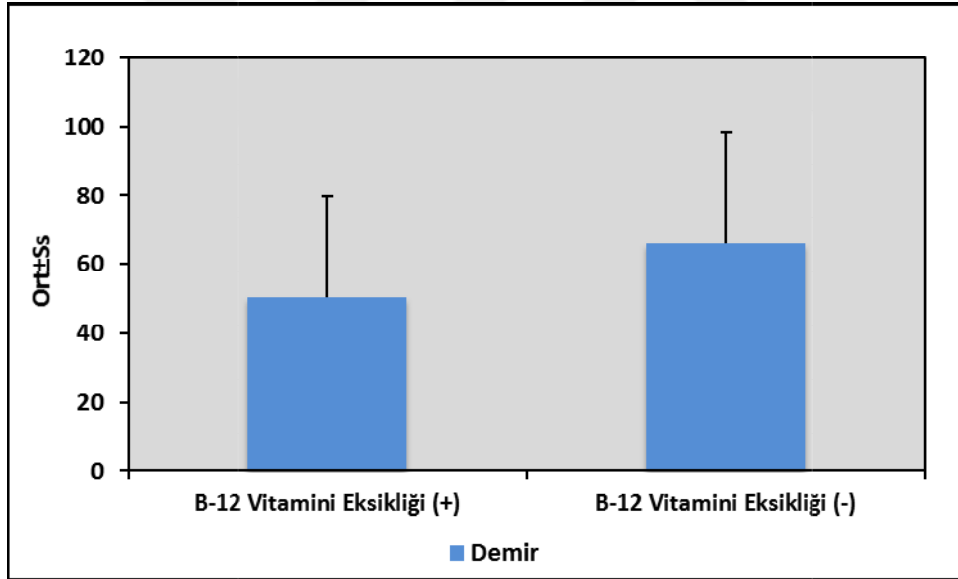


**Grafik-3:** B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre PLT Dağılımı





**Grafik-4:** B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre MPV Dağılımı



**Grafik-5:** B<sub>12</sub> Vitamin Eksikliğine Göre Demir Dağılımı

Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların serum 8-OHdG düzeyleri arasında sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Şekil 13). Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların idrar 8-OHdG düzeyleri arasında sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Şekil 14) (Tablo 6).

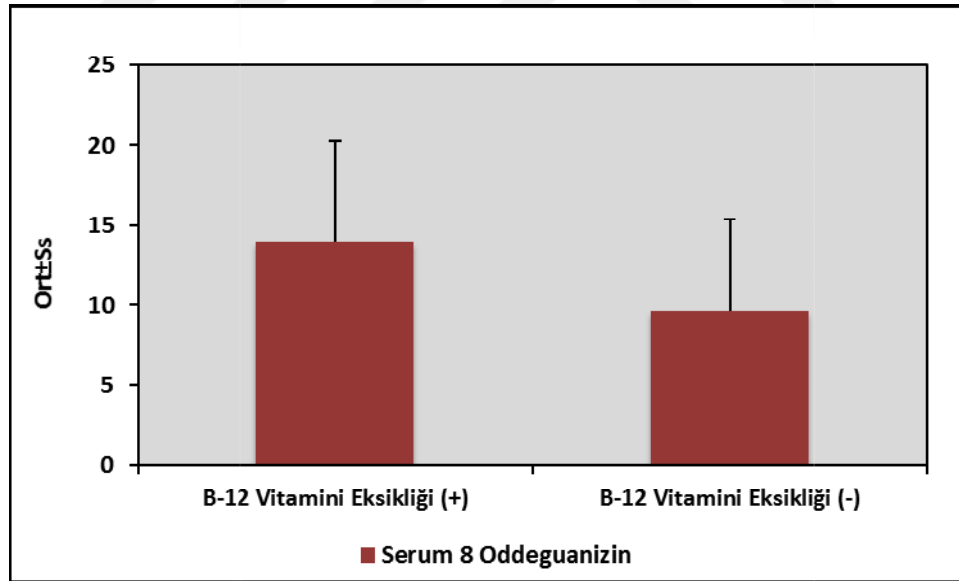
**Tablo-6:** B<sub>12</sub> Eksikliğine göre serum 8 oh-deoksiguanozin ve idrar 8 oh-deoksiguanozin ölçümlerinin değerlendirilmesi

		B12 Eksikliği		Test Değeri
		Var (n=44)	Yok (n=40)	p
<b>Serum</b>	<i>Min-Maks</i>	4,43-40,46	1,94-34,5	Z:-4,528
	<i>(Medyan)</i>	(13)	(8,75)	
	<i>Ort±Ss</i>	13,99±6,27	9,61±5,82	<sup>a</sup> <b>0,001**</b>
<b>İdrar</b>	<i>Min-Maks</i>	8,88-328,06	4,79-67	Z:-4,908
	<i>(Medyan)</i>	(54,42)	(16,73)	
	<i>Ort±Ss</i>	71,48±70,5	19,18±12,59	<sup>a</sup> <b>0,001**</b>

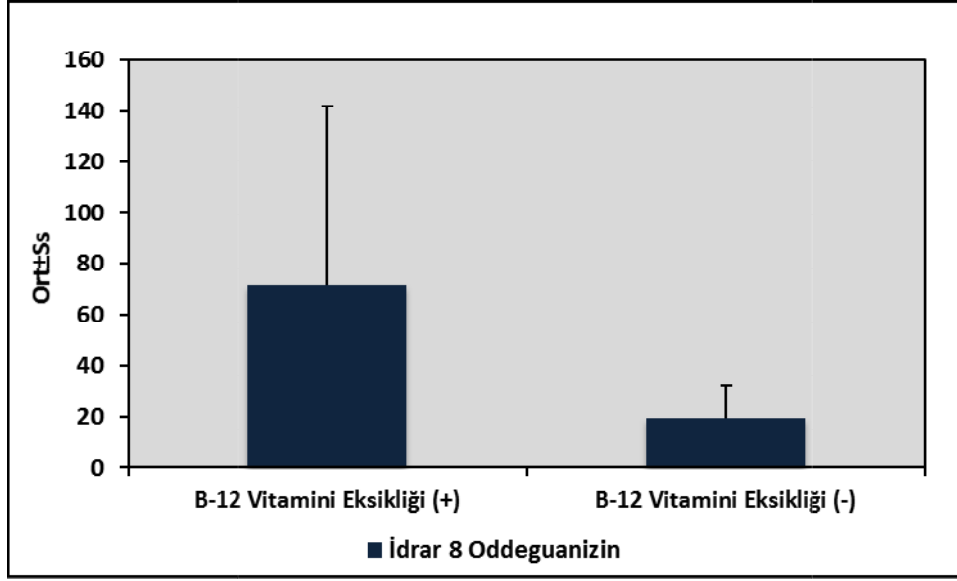
<sup>a</sup>Mann Whitney U Test

\*\*p<0,01

**8-OHdG:** 8 oh-deoksiguanozin



**Grafik-6:** B<sub>12</sub> Vitamin eksikliğine göre serum 8 oh-deoksiguanozin dağılımı

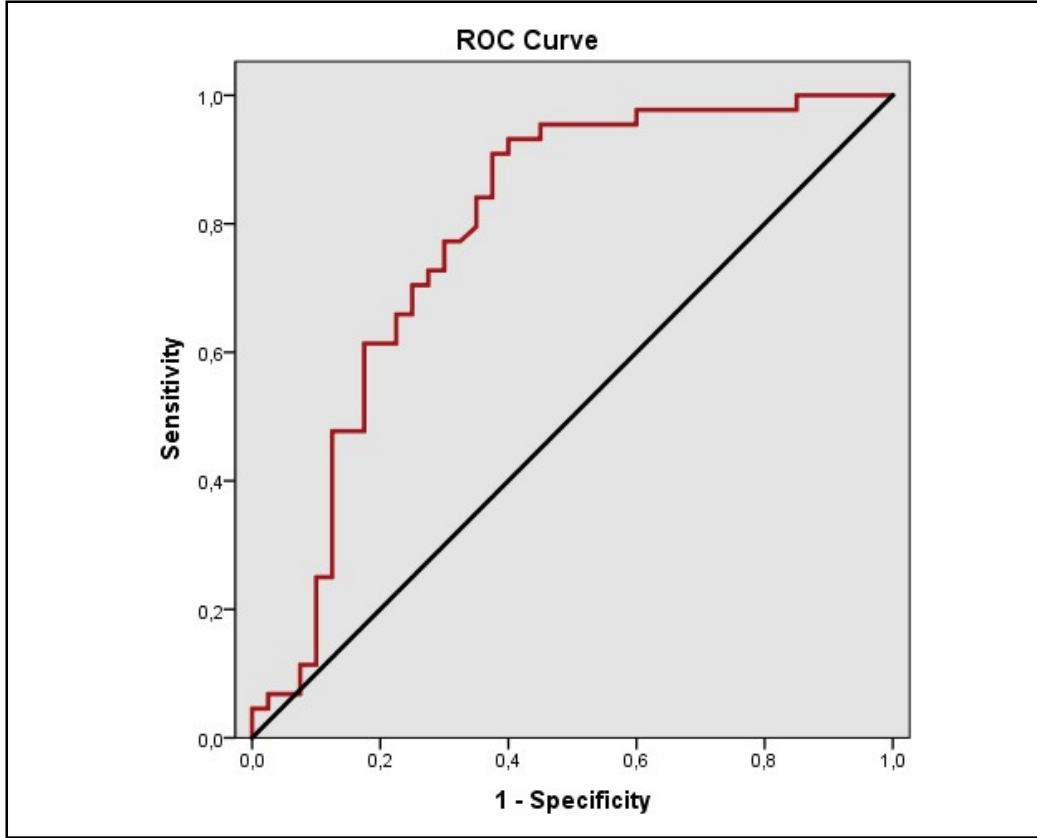


**Grafik-7:** B<sub>12</sub> Vitamin eksikliğine göre idrar 8 oh-deoksiguanozin dağılımı

Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların serum 8-OHdG için cut off noktası 10,14 olarak saptandı. Serum 8-OHdG 10,14 kesme değeri için; duyarlılık %90,91; özgüllük %62,5; pozitif kestirim değeri 72,7 ve negatif kestirim değeri 86,2'dir (Tablo 7). Elde edilen ROC eğrisinde altta kalan alan %78,7 standart hatası %5,3 olarak saptandı (Şekil 15).

**Tablo-7:** Serum 8 oh-deoksiguanozin için tanı tarama testleri ve ROC curve sonuçları

Diagnostic Scan			ROC Curve				<i>p</i>	
Cut off	Sensitivite	Spesifisite	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value	95% Area Under the Curve	Confidence Interval		
Serum 8-OHdG	≥10,14	90,91	62,5	72,7	86,2	0,787	0,684-0,891	0,001**



**Grafik-8:** B-12 Eksikliğine göre serum 8 oh-deoksiguanozin için ROC eğrisi grafiği

Serum 8-OHdG değeri 10,14 ve üzerinde olan olgularda B-12 vitamin eksikliği görülme oranı, Serum 8-OHdG değeri 10,14 altında olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). Serum 8-OHdG değeri 10,14 ve üzeri olan olgularda B-12 vitamin eksikliği görülme riskini 16,67 kat fazladır diyebiliriz (ODDS oranı 16,667 (%95 CI: 4,966-55,939)) (Tablo 8).

**Tablo-8:** Serum 8 oh-deoksiguanozine göre B-12 vitamin eksikliğinin değerlendirilmesi

		B-12 Vitamin Eksikliği		Test Değeri
		Yok	Var	
		n (%)	n (%)	
Serum	<10,14	25 (86,2)	4 (13,8)	$\chi^2:26,440$
8-OHdG	$\geq 10,14$	15 (27,3)	40 (72,7)	$^b 0,001^{**}$

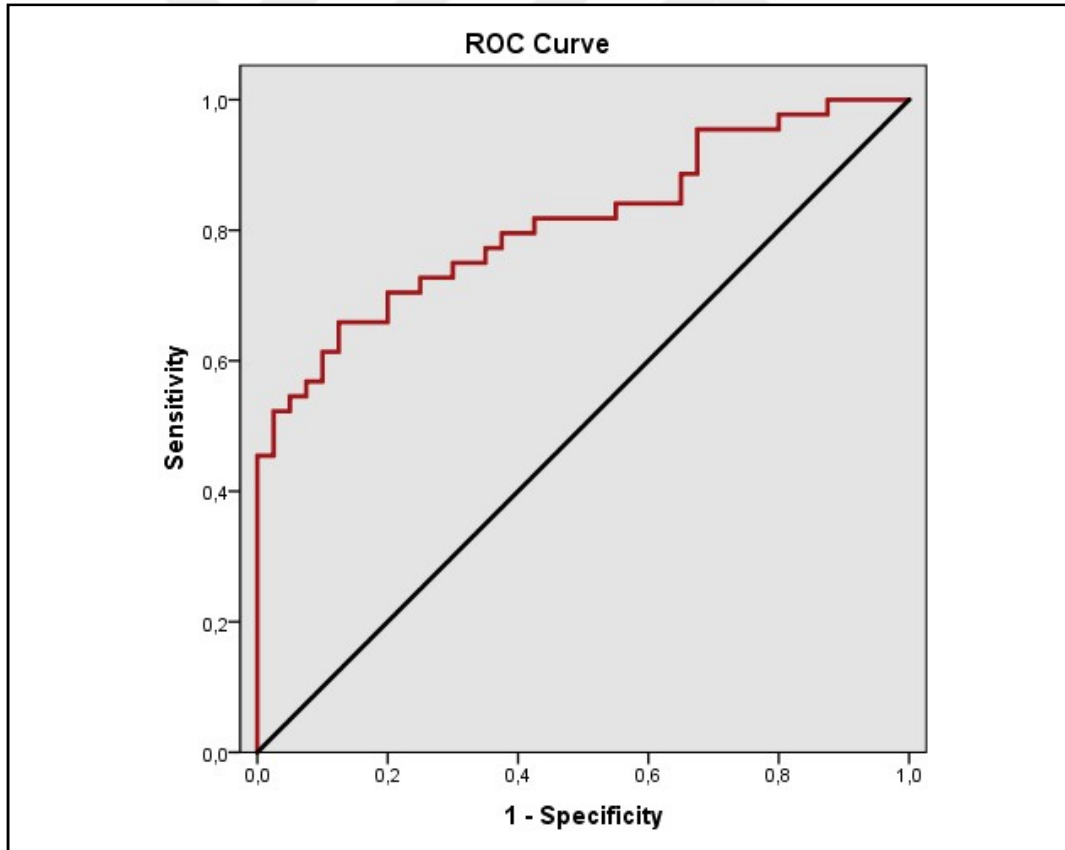
<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

$^{**}p<0,01$

Çalışmaya alınan B-12 Vitamini eksikliği olan hastaların idrar 8-OHdG için cut off noktası 27,58 olarak saptanmıştır. İdrar 8-OHdG 27,58 kesme değeri için; duyarlılık %65,91; özgüllük %87,5; pozitif kestirim değeri 85,3 ve negatif kestirim değeri 70'tir (Tablo 9). Elde edilen ROC eğrisinde altta kalan alan %81,1 standart hatası %4,7 olarak saptandı (Şekil 16).

**Tablo-9:** İdrar 8 oh-deoksiguanozin İçin tanı tarama testleri ve ROC curve sonuçları

	Diagnostic Scan			ROC Curve				
	Cut off	Sensitivite	Spesifisite	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value	Area	95% Confidence Interval	P
İdrar 8-OHdG	≥27,58	65,91	87,50	85,30	70,0	0,811	0,720-0,903	0,001*



**Grafik-9:** B-12 Eksikliğine göre idrar 8 oh-deoksiguanozin için ROC eğrisi grafiği

İdrar 8 oh-deoksiguanozin değeri 27,58 ve üzerinde olan olgularda B-12 vitamin eksikliği görülme oranı, idrar 8 oh-deoksiguanozin değeri 27,58 altında olan olgulara göre istatistiksel

olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). İdrar 8 oh-deoksiguanozin değeri 27,58 ve üzeri olan olgularda B-12 vitamin eksikliği görülme riskini 13,53 kat fazladır diyebiliriz (ODDS oranı 13,533 (%95 CI: 4,392-41,704)) (Tablo 10).

**Tablo-10:** İdrar 8 oh-deoksiguanozine göre B-12 vitamin eksikliğini değerlendirilmesi

		B-12 Vitamin Eksikliği		Test Değeri
		Yok	Var	
		n (%)	n (%)	<i>p</i>
<b>İdrar</b>	<b>&lt;27,58</b>	35 (70,0)	15 (30,0)	$\chi^2:24,807$
<b>8-OHdG</b>	<b><math>\geq 27,58</math></b>	5 (14,7)	29 (85,3)	<b><sup>b</sup>0,001**</b>

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

\*\* $p<0,01$

## 5. TARTIŞMA

DNA hücrenin kalıtım materyalidir ve sürekli DNA hasarı DNA tarafından kodlanan proteinlerde değişikliğe yol açar. DNA zincirinin kırılmasına, nükleotid kaybına ve nükleotidlerdeki organik bazlarda çok farklı modifikasyonlara yol açan DNA hasarının ana kaynağı reaktif oksijen türleridir (80).

Hücreler DNA’da meydana gelen değişiklikleri doğal olarak onarabilecek mekanizmalara sahip olsalar da reaktif oksijen türleri veya diğer ajanlar tarafından oluşturulan aşırı hasar DNA yapısında kalıcı hasara ya da değişikliğe neden olabilir. Oksidatif hasar sonucunda genetik materyalin sürekli olarak modifikasyonu; mutagenез, karsinogenез ve yaşlanmanın ilk basamağını teşkil eder (81, 82). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır.

Canlı organizmalarda normal metabolizma sırasında ya da patolojik yolla ortaya çıkan serbest radikaller ve bunlara karşı koruyucu sistem olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması “oksidatif stres” olarak adlandırılır (81, 83, 84).

Reaktif oksijen ürünleri yüksek konsantrasyonda nükleik asit, lipid ve protein gibi hücrenel yapılara hasar verebilirler. Hidroksil radikallerinin DNA moleküllerinin tüm komponentlerine; hem pürin hem pirimidin bazlarına, hatta deoksiriboz yapısına da hasar verdiği bilinmektedir (85). Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA’nın günde 103 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır (60, 86). Modifiye bir baz olan 8-OHdG, reaktif oksijen türlerinin DNA’da yaptığı oksidatif baz hasar ürününden biri olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. ROS’nin DNA’da yaptığı bu baz hasar ürünlerinden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG’dir (67, 68). 8 hidroksi-2-deoksiguanozin, DNA onarım enzimleri tarafından kesilerek uzaklaştırılır, periferik dolaşıma geçer ve idrarla atılır. Lökosit DNA’sında bulunan 8OHdG, serum ve idrarda bulunan 8OHdG oksidatif stres markeri olarak değerlendirilmektedir.

Çocukluk çağındaki B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin DNA hasarına sebep olup olmadığı konusunda literatürde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Literatürde bulunan çalışmaların çoğunluğu erişkin hastalarda yapılmış ya da invitro çalışmalardır (5, 7, 8, 10, 13, 71).

B<sub>12</sub> Vitamini (Kobalamin) vücutta metiyonin, treonin ve valin amino asitlerinin metabolizmasında koenzim olarak ve DNA sentezi için gerekli olan metil-tetrahidrofolatın, tetrahidrofolata transformasyonunda görev alır. DNA ve RNA sentezi, hücre proliferasyonu, normal hematopoezis ile nörolojik ve bilişsel fonksiyonların sürdürülmesi gibi birçok fonksiyon için elzem olan kobalaminin eksikliğinin çocuklarda yaygın olduğu bildirilmektedir (87-89).

Yeterli B<sub>12</sub> vitamini alımı, normal sinir sistemi fonksiyonu, normal kırmızı ve beyaz kan hücreleri ve trombosit üretimi için esansiyeldir (90). Yaygın bir şekilde görülen B12 vitamini eksikliğinin tanısı her zaman kolay değildir çünkü birçok hasta klinik bulgu göstermez. Geleneksel olarak çoğu hastanın tanısı, kobalamin eksikliğine bağlı gelişmiş olan megaloblastik anemi ile konulmaktadır. Aslında kobalamin eksikliği, sıklıkla hematolojik değişimler olmadan görülmektedir. Kobalamin eksikliğinin zamanında saptanarak düzeltilmesi; makrositik anemi, yüksek homosistein düzeyi, geri dönüşümsüz periferik nöropati gelişimi, hafıza kaybı ve diğer bilişsel eksiklikleri engeller. Bu semptomların tek başına veya birlikte görülmesi, kobalamin eksikliğinin şiddetine göre değişkendir (91).

B<sub>12</sub> vitamini, mikroorganizmalar tarafından sentezlenir ve hayvansal kaynaklı besinlerde besin zincirine katılır. Çocukluk dönemi için önerilen günlük kobalamin alım miktarı; 1-3 yaş grubu için 0.7 µg/gün, 4-6 yaş grubu için 1.1 µg/gün, 7-10 yaş grubu için 1.4 µg/gün, 11-18 yaş grubu için ise 2.0 µg/gün'dür (31). Yetişkinler günlük 2.4 µg, hamile kadınlar ise 6 µg'a kadar B12 vitamini almalıdır. B12 vitamininin yetersiz alımı ve bozulmuş emilimi, B<sub>12</sub> vitamini eksikliğine neden olabilir. Günlük gereksinim miktarının hesaplanması, normal hematolojik durumu, normal hemoglobin ve eritrositlerin ortalama korpuskular volümünü (MCV) sağlamak ve Pernisiyöz anemide remisyonu korumak için gereken B12 vitamini miktarının hesaplanmasına dayanmaktadır (92). Ancak, çalışmalar kromozom kırılması ve kaybının bir göstergesi olan periferik kan lenfositlerinde mikronükleus oluşumunun, plazma B12 vitamini düzeyinin 410 pg/ml'nin üzerinde olması halinde en düşük düzeyde tutulabildiğini ve bunun sağlanabilmesi için de günlük B12 vitamini alımının 7 µg/gün olması gerektiğini göstermiştir. Bu nedenle, B12 vitamini için güncel olan önerilen alım düzeyi, genomik dengenin sağlanması için yetersiz olabilir (93).



B<sub>12</sub> vitamini, homositeinin “*metiyonin* sentaz” enzimi tarafından metiyonine dönüştürülmesi reaksiyonunda koenzim olarak görev alırken, diğer ürün olan tetrahidrofolat ise DNA sentezinde “*tek karbon aktarımı*” görevi ile deoksi urasil mono fosfat’ın (dUMP), deoksi timin monofosfat’a (dTMP) çevrilmesini sağlar ve DNA sentezinde rol alır (1). B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinde dUMP’ın dTMP’a dönüşümü olmaz. Bunun sonucunda urasil, DNA içerisinde bozuk yapılanmaya neden olarak timinin yerine geçer ve aşırı birikime uğrar. DNA’da biriken urasil nokta mutasyonları, tek ve çift zincir DNA kırıkları, kromozom kırıkları, mikronükleus formasyonu ve zincir kırıklarının onarımı esnasında mutajenik lezyonlar oluşturarak DNA hasarına neden olur (5, 72, 75, 76).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analiz edilmiştir. DNA’da oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz “*guanin*” dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı “8-OHdG”dir. 8-OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir “biomarker”ı olarak kabul edilmektedir (62, 63, 94)

Folat (B9 vitamini) ve B12 vitamini ve bunların nükleer ve mitokondriyal genom bütünlüğünün korunmasındaki işlevlerinin araştırılmasını konu alan bir çalışmada, folat ve B12 vitamininin genomik stabilitede önemli bir rol oynadığı ve DNA hasarının biyo-belirteçlerinin, fizyolojik aralık içinde folat ve B12 vitamini konsantrasyonundaki nispeten küçük değişikliklere karşı oldukça hassas olduğunu saptamışlar (95).

Ames BN. (9) tarafından yapılan başka bir çalışmada vitaminler ve mikroblesinler daha geniş kapsamlı ele alınmış ve mikroblesin eksikliğinin (folik asit, B12, B6, niasin, C, E, demir ve çinko), DNA’ya zarar veren radyasyonu (veya kimyasallar) taklit edebildiği, tek ve çift iplikli kırılmalara veya oksidatif lezyonlara veya her ikisine birden sebep olabileceği tespit edilmiştir. Mikroblesin eksikliği, çoğu bölgede meyve ve sebzelerin düşük tüketimi ile kanser arasında bir ilişki olduğunu gösteren güçlü epidemiyolojik kanıtlar için makul bir açıklamadır. Folat eksikliği ile B12 eksikliğinin sinerjistik etkisi ile DNA’da urasil birikmesine neden olduğu belirtilmiştir.

Fenech M. (5) tarafından yapılan bir araştırmada elde edilen sonuçlar B12 eksikliği ile oluşan DNA hasarının önemini vurgulamaktadır. İlgili çalışmada kromozom kırılması ve anöploidü önlenmesinin, folik asit ve B12 vitamini gibi yeni besin maddelerinin tanımlanması için önemli bir parametre olduğu, çünkü artan DNA hasarı oranlarının artmış kanser riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ve yine aynı çalışmada ulaşılan sonuçlarda bugüne kadar elde edilen

kanıtların, folat ve Vitamin B<sub>12</sub>'nin genomik stabilitede önemli bir rol oynadığını göstermekte olduğu sonucuna ulaşılmıştır. İleriye dönük çalışmalardan elde edilen mevcut kanıtlar, insan yapımı karsinojenlere maruz kalmaktan bağımsız olarak daha düşük kromozomal hasar oranları olanlarda azalmış bir kanser riski olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, yeterli folat ve B12 vitamini alımından kaynaklanan artan genomik stabilitenin kanser riskini azaltabileceği ve bu görüş için bazı epidemiyolojik kanıtların ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (5, 96-99).

Bizde çalışmamızda B<sub>12</sub> eksikliği saptanan hastaların DNA hasar göstergesi olarak serum ve idrarda 8-OHdG düzeylerine baktık ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Çalışmamızda B<sub>12</sub> vitamin eksikliği saptanan hastaların %27.2'si (n=12) kız, %72.8'i (n=32) erkek toplam 44 hasta, kontrol grubu hastaların %35(n=14) kız, %65(n=26) erkek olarak saptandı. Çalışmadaki B<sub>12</sub> Vitamini eksikliği olan hastaların yaşları 6 ile 213 ay arasında değişmekte olup, ortalama 83,50±68,51 ay olarak bulundu. B<sub>12</sub> Vitamini eksikliği olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları açısından benzerdi. Hasta ve kontrol gruplarından sabah tok karna eş zamanlı alınan serum ve idrar örneklerinden 8-OHdG düzeyleri değerlendirildiğinde; B<sub>12</sub> eksikliği anemisi olan toplam 44 hastamızın 8-OHdG düzeyi ortalama serumda 13,99±6,27 ng/ml, idrarda 71,48±70,5 ng/ml saptanırken, sağlıklı kontrol grubunda ise serumda 9,61±5,82 ng/ml, idrarda 19,18±12,59 ng/ml olduğu görüldü. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde B<sub>12</sub> Vitamini eksikliği olan hastaların serum ve idrar 8OHdG düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü (p=0,001; p<0,01). B12 eksikliği olan hastalarda oksidan stres göstergesi ve DNA hasarı göstergesi 8-OHdG düzeyinin arttığı görülmüş oldu.

Metabolik aktiviteye bağlı artan oksijen üretimi sonucu artmış OH üretimi, vücut moleküllerinde oksidasyona neden olur. Dokuların oksijen tüketimi ile 8-OHdG bazal düzeyi arasında doğrusal bir oran vardır. Oksidatif hasar ürünü olarak kabul edilen 'Deoxyguanosine-Malondialdehid' in idrardaki miktarı ile kg canlı ağırlık başına üretilen oksijen miktarı arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (100). Böbreklerde diğer organlara göre daha yüksek düzeyde 8-OHdG tespit edilmiş olması bu fikri desteklemektedir (101). İdrarda 8-OHdG düzeyinin daha yüksek çıkmasının muhtemel sebebi, 8-OHdG'nin idrara doğrudan geçmesidir. Oysaki serumda, 8-OHdG DNA'a bağlı olduğundan, başka bir deyişle serbest olmadığından dolayı düşük olarak ölçülmüştür (102).

Çalışmamızda da serum 8-OHdG düzeyi ( $13,99\pm 6,27$  ng/ml) eş zamanlı bakılan idrarda ki ( $71,48\pm 70,5$  ng/ml) değerlerine göre daha düşük saptandı. Serum 8-OHdG düzeyi hasta grubu ve kontrol grubunda eş zamanlı bakılan idrar 8-OHdG düzeylerine göre yaklaşık olarak  $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{5}$  oranında düşük saptandı. Bu da serumdaki 8-OHdG'nin büyük bir kısmının DNA'a bağlı olduğundan, idrarda serbest halde bulunduğu için 8-OHdG'nin eş zamanlı alınan serumdan daha yüksek değerlerde ölçülmesini desteklemektedir.

Yapılan çalışmalara bakıldığında özellikle B12 eksikliği anemisi olan hastalarda 8-OHdG bakılarak DNA hasarı gösteren çok çalışma bulunmadığı, yapılan az sayıdaki çalışmalarda; Minnet C. Ve ark. (103) yaptıkları çalışmada DNA alkalın komet analizi yöntemi (DNA damage determination by alkaline comet assay) ile B12 eksikliği olan hastalarda DNA hasarı tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarında B<sub>12</sub> vitamini eksikliği, olan hastalar tedavi verildikten sonra mononükleer DNA hasarının azaldığını tesbit etmişlerdir. Sonuç olarak, B12 vitamini eksikliği endojen mononükleer lökosit DNA hasarına neden olduğu, DNA hasar skorları vitamin B12 eksikliği olan olgularda kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve vitamin B12 tedavisinin çocuklarda ve annelerinde birkaç gün sonra önemli ölçüde DNA hasarının tersine döndürdüğü sonucuna varmışlardır.

Diğer bir çalışmada Kıyıkım A. ve ark (104), yeni tanı almış, henüz tedavi edilmemiş, ek kardiyovasküler risk faktörü taşımayan primer HT tanılı hastalarda oksidatif DNA hasarı göstergesi 8-OHdG düzeyi bakarak normotansif kardiyovasküler risk faktörü taşımayan kontrol grubu ile karşılaştırmışlar. Sonrasında 4 haftalık antihipertansif olmesartan tedavi sonrası elde edilen değerlerle karşılaştırmışlar. Elde edilen değerler hasta grubunda nasıl etkilendiği ve normal gruba erişip erişmediği araştırılmıştır. Bu çalışmasında primer HT saptanan hastalarda serum 8-OHdG düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmış ( $5.7\pm 1.0$  ve  $3.8\pm 0.7$ ,  $p<0.0001$ ). Primer HT saptanan hastalara olmesartan tedavisi sonrası 8-OHdG düzeylerinde de anlamlı derecede azalma gözlenmiş ( $4.9\pm 0.7$ ,  $P<0.001$ ). Sonuçta; primer HT tanılı, tedavi almamış hastalarda oksidan DNA hasarı göstergesi serum 8-OHdG düzeylerinde yüksek olduğu saptanmış. Olmesartan tedavisi, akut ve kan basıncından bağımsız olarak DNA hasarının yüksek saptanmasına rağmen azalttığı gösterilmiştir.

Alzoubi K. Ve ark. (105) yaptıkları başka bir çalışmada; Paklitakselin DNA üzerindeki olası genotoksik etkisinin incelerken, B12 vitamininin paklitaksel kaynaklı DNA hasarı üzerindeki olası koruyucu etkisini de incelemişler. Paklitakselin oksidatif DNA hasarı bir

göstergesi olan serum 8-OHdG'de bir artışa neden olduğunu ve bu artışın B12 vitamini tarafından önlendiğini bildirmişlerdir.

Esen B. yaptığı başka bir tez çalışmasında (106) demir eksiliği anemisi saptanan çocuk hastalarda DEA ve farklı şekillerdeki tedavisinin (p.o., i.m., i.v.); DNA üzerinde meydana getirebileceği oksidatif hasarın, 8-OHdG düzeyine bakılarak belirlenmesi açısından yapılan tez çalışmasında, oral tedavi ile oksidan stres göstergesi olan 8-OHdG düzeyi tedavinin 24. saatinde değişmezken 1. hafta ve 3. ayda i.v. gruba göre belirgin olarak düşük saptanmıştır. İntramusküler tedavi grubunda 24. saatinde 8-OHdG tedavi öncesine göre düşük olarak saptanmıştır. Bu DEA' nin yaratmış olduğu oksidatif stresin demir tedavisi ile azaldığını desteklemektedir. Bununla birlikte i.v. tedavinin her aşamasında 8-OHdG düzeyinin tedavi öncesine göre daha fazla olması farklı tedavi yollarının oksidatif stresi farklı şekilde etkilendiğini göstermiştir. Demir eksikliği anemisi olan toplam 60 hastada ve sağlıklı kontrol grubunda 8-OHdG düzeylerine baktıklarında DEA tedavi öncesi bakılan oksidan hasar göstergesi idrar 8-OHdG seviyesinin DEA olan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunması DEA' nin de oksidatif stres yaptığı görüşünü desteklemektedir. Çalışmada serum 8-OHdG düzeyleri kontrol grupta ortalama 8,8 ng/ml iken tedavi öncesi DEA olan gruplarda (p.o., im, iv. ) ortalama 11,8 ng/ml olarak bulunmuştur. İdrarda bakılan 8-OHdG seviyeleri kontrol grupta 10,7 ng/ml iken tedavi öncesi DEA olan gruplarda (p.o., im, iv. ) ortalama 27,4 ng/ml bulunmuştur. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu, DEA' nin kendisinin de oksidatif strese neden olduğunu göstermişlerdir.

### **Araştırmanın Güçlü Yanları ve Kısıtlılıkları**

Bu araştırma B12 eksikliği saptanan çocuk hastalarda oksidatif stres ve DNA hasarı göstergesi olarak serumda ve idrarda 8-OHdG düzeylerini inceleyen ilk çalışmadır. Bu tez çalışmasında oksidatif stres ve DNA hasarı düzeyinin belirlenmesi amacıyla B12 eksikliği saptanan hastalarda ve sağlıklı gönüllülerin serum ve idrar örneklerinde DNA hasarı göstergesi 8-OHdG düzeyleri ölçüldü. Çalışmamızda kısıtlılık olarak çalışmaya alınan hastaların B12 düzeylerinin serum ve idrarda 8-OHdG düzeylerinin nasıl etkilendiği ile ilgili kıyaslama yapılamamıştır. Ayrıca B12 tedavisi sonrası tekrar serum ve idrar 8-OHdG düzeylerinin nasıl değiştiği ile ilgili bir veri elde edilememiştir. Ancak katı dışlama kriterleri kullanılarak yaptığımız bu çalışma mevcut bilgiler ve elde ettiğimiz veriler ile gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

## 6. SONUÇ

Çalışmamız çocukluk çağındaki B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin DNA hasarına yol açtığını, DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG düzeyinin B<sub>12</sub> eksiliği olan hastaların serum ve dirar örneklerinde arttığı,

B<sub>12</sub> vitamininin dolaylı olarak antioksidan etki gösterdiğini, çocuklardaki B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinde anemi ve makrositoz bulunmasının teşhis için çok önemli ve gerekli kriterler olmadığını,

Hemoglobin, HCT, RDW, TDBK, Ferritin ve Folik asit ölçümleri normal olan çocuklarda da B<sub>12</sub> vitamin eksikliği gözlenebileceği,

MCV değerleri düşük olan hastaları B-12 eksiliği açısından yeniden gözden geçirilebileceği,

MPV değerleri düşük olan çocukların B-12 eksikliği olup olmadığı yönünden değerlendirilmesi gerektiği,

Özellikle sosyo-ekonomik gelişmişlik düzeyi düşük olan bölgelerde çocukların nutrisyonel eksiklik yönünden değerlendirilmesi ve tedavi edilmesi, çocuklarda bu eksikliklerin önlenmesinde en önemli çözüm yolu olabileceği,

İnsan organizmasının hızlı büyüme ve gelişme dönemi olan intrauterin ve bunu takip eden çocukluk döneminde B<sub>12</sub> vitamin eksikliğinin oluşturabileceği sorunlar erişkinlere göre daha ciddi olabileceği,

Rutin klinik uygulamalarda B<sub>12</sub> vitamini ölçümünün daha sık yapılması ve eksikliğinin daha fazla düşünülmesi, erken tanı ve tedavi için uygun olacağı kanaatine ulaştık.

## KAYNAKLAR

1. Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Nathan and oski's hematology of infancy and childhood. 6 th ed. W-B Saunders Comp. Philadelphia. 2003; 385-415.
2. Hall C.A. Function of vitamin B12 in the central nervous system as revealed by congenital defects. *Am J Hematol*, 1990; 34: 121-7.
3. Healton EB, Savage DG, Brust JCM, et all. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *medicine*, 1991; 70: 229-45.
4. Fenech M. Chromosomal damage rate, aging, and diet. *Ann N Y Acad Sci*, 1998; 854: 23-36.
5. Fenech M, The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat Res*, 2001; 475:57-67.
6. Fenech M, Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). *Food Chem Toxicol*, 2002; 40:1113-7.
7. Fenech MF, Dreosti IE, and Rinaldi JR, Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 1329-36.
8. Fenech M, Aitken C, and Rinaldi J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*, 1998; 19(7): 1163-71.
9. Ames BN. Micronutrient deficiencies A major cause of DNA damage. *Ann N Y Acad Sci*, 1999; 889: 87-106.
10. Ames BN. DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutat Res*, 2001; 475: 7-20.
11. Ames BN. Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol Lett*, 1998; 102: 5-18.
12. Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 2002; 181: 6-11.
13. Andreassi MG, Botto N, Cocci F, Battaglia D, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism, homocysteine, vitamin B12, and DNA damage in coronary artery disease. *Hum Genet*, 2003; 112:171-7.
14. Malaguarnera M, Ferri R, Bella R, Alagona G, et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate in vascular dementia and in Alzheimer disease. *Clin Chem Lab Med*, 2004; 42: 1032-5.
15. Drabick JJ, Davis BJ, and Byrd JC. Concurrent pernicious anemia and myelodysplastic syndrome *Ann Hematol*, 2001; 80: 243-5.

16. Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ*, 2004 Jul; 11: 56-64.
17. Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J. Homocysteine and essential hypertension. *J Clin Pharmacol*, 2003 Dec; 43:1299-306.
18. Afman LA, Lievers KJ, Van der Put NM. Single nucleotide polymorphisms in the transcobalamin gene: relationship with transcobalamin concentrations and risk for neural tube defects. *Eur J Hum Genet*, 2002 Jul; 10: 433-8.
19. Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, et al. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab*, 1999; 67: 317-23.
20. Fenech M. Micronucleus frequency in human lymphocytes is related to plasma vitamin B12 and homocysteine. *Mutat Res*, 1999; 428: 299-304.
21. Demir N. 6 - 24 ay arası çocuklarda B12 vitamini eksikliğinin nöromotor gelişim üzerindeki etkisi Şanlıurfa Uzmanlık tezi, 2003; 40-63
22. Ertaş T. Şanlıurfa'da bebeklik döneminde B12 vitamini eksikliğinin sıklığı, nedenleri ve B12 vitamini eksikliğinin fiziksel, mental ve psikomotor gelişim üzerine etkileri Şanlıurfa uzmanlık tezi, 2004; 43-62
23. Koç A, Kocyigit A, Soran M, Demir N, et all. High frequency of maternal vitamin B12 deficiency as an important cause of infantile vitamin B12 deficiency in sanliurfa province of Turkey *Eur J Nutr*, in press 2006; 38-45
24. Coşkun T. B12 vitamini. *Katkı Pediatri Dergisi*, 2003; 25: 419-33.
25. Kayaalp SO. Antianemik ilaçlar II: Megaloblastik anemilere karşı kullanılan ilaçlar. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, (Hacettepe-taş kitapevi): 1998; 8(II): 1580-8.
26. Gözükara M. B12 vitamini. *Biyokimya*, Ofset Repromat Ltd. şti. 1990; 706-7.
27. Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al. Nutritional Factors in the Production and Function of Erythrocytes. *Witrobe's clinical Hematolog*, 1999; 10: 941-64.
28. Herbert V. Vitamin B12; plant sources, requirements, and assay. *Am J Clin Nutr*, 1988; 48: 852-8.
29. Koç A, Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliği. *Türkiye klinikleri J.pediatri.*, 2005; 1: 16-27.
30. Baker SJ, Mathan VI. Evidence regarding the minimal daily requirement of dietary vitamin B12. *Am J Clin Nutr*, 1981; 34: 23-24

31. 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; 306-56.
32. Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology. ( 3th ed ), Academic Press; New York, 1999; 51-72.
33. Morrow G. A new variant of methylmalonic acidemia: defective coenzyme- apoenzyme binding in cultured fibroblasts. Clin Chim Acta, 1978; 308: 857-8.
34. Retey J. Methylmalonyl-CoA mutase. In Dolphin D (ed). B12 Biochemistry and Medicine. Vol 2., New York, Jhon Wily & Sons, 1982; 357-80.
35. Coulombe JT, Shih V, Levy HL. Massachusetts Metabolic Disorders Screening Program. II. Methylmalonic aciduria. Pediatrics, 1981; 67: 26-7.
36. Kinnally KW, Tedeschi H, Adenosine triphosphate synthesis coupled to K influx in mitochondria. Science, 1982; 216: 742-3.
37. Montgomery JA, Mamer OA, Scriver CR. Metabolism of methylmalonic acid in rats. J clin Invest, 1983; 72: 1937-8.
38. Rosenberg L. The Inherited methylmalonic acidemias. Prog Clin Biol Res., 1982; 103:187-8.
39. Wickramasinghe SN, Fida S. Bone marrow cells from vitamin B12 and folate deficient patients misincorporate uracil into DNA. Blood, 1994; 83: 1656-66.
40. 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; 30:112-8.
41. Pletsch QA, Coffey JW. Intracellular distribution of radioactive vitamin B12 in rat liver. J Biol Chem, 1971; 246:4619-20.
42. Quadros EV, Rothenberg SP, et al. Purification and molecular characterization of human transcobalamin II. J Biol Chem, 1986. 26:154-5.
43. Mac Donald C, Farquharson J, Bessent RG, The forms of vitamin-B12 on the transcobalamins Clin Sci (Lond), 1977; 52: 215-6.
44. Kanazawa S, Herbert V, Herzlich B, et al. Removal of cobalamin analogua in bile by enterohepatic circulation. Lancet, 1983, 1: 707-8.
45. Sonja AR, Paul MF, Kelley SS, Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. J pediater, 2001;. 138: 10-7.
46. Adkins Y, Lönnerdal B. Mechanisms of vitamin B12 absorption in breast-fed infants. J of Pediatric Gast and Nut, 2002; 32:192-8.



47. Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and folat deficiency; Acquired and hereditary disorders in children. *Semin Hematol*, 1999; 36: 19-34.
48. Michaud JL, Lemieux B, Lmabert MA. Nutritional vitamin B12 deficiency: two case detected by routine newborn urinary screening. *Eur J Pediatr*, 1992; 151: 218-20.
49. Mittal VS, Aggarwal KN, Observations on nutritional megaloblastic anaemia in early childhood. *Indian J Med Res*, 1969; 57: 730-8.
50. Drogari E, Liakopoulou-Tsitsipi T, Xypoyta-Zachariadi A, et al. Transient methylmalonic aciduria in four breast fed neonates of strict vegetarian mothers in Greece. *Journal of inherited metabolic disease*, 1996; 19-84.
51. Kuzminski AM, Dell E, Allen RH, et al. Effective treatment of cobalamin deficiency with oral cobalamin. *Blood*, 1998; 92:1191-8.
52. Crane Mg, Sample C, Pathcett S, et al. Nutritional vitamin B12 deficiency in infants. *Am J Dis Child*, 1981; 135: 8-10
53. Sarode R, Garewal G, Marwaha N, Marwaha R K, et al. Pancytopenia in nutritional megaloblastic anaemia. A study from north-west India. *Trop Geogr Med*, 1989; 41: 331-6.
54. Schenck UV, Bender-Götze C, Koletzko B. Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B12 deficiency in infancy. *Arch Dis Child*, 1997; 77: 137-9.
55. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al. *Harper's Biochemistry*, Appletion & Lange, 2000; 25: 78-89
56. Champe PC, Harvey RA. *Biochemistry Lippincott's Illustrated Reviews*, in J.B. Lippincott Company philadelphie, 1998; 42-64
57. Neyzi O, Türkan E, *Pediatrici*, İstanbul 2002; I: 136-8.
58. De Boer J, Hoeijmakers J. Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis*, 2000; 21: 453-60.
59. Balajee AS, Bohr VA. Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene*, 2000; 250:15-30.
60. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. O.U. Press. London 1999; 3: 15-23
61. Randerath K, Zhou GD, Monk SA, Randerath E. Enhanced levels in neonatal rat liver of 7, 8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion *Carcinogenesis*, 1997; 18: 1419-21.
62. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J*, 2003; 17: 1195-214.

63. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, 2004; 26: 533-42.
64. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. London: Oxford University Press Inc, 1999; 3: 32-43
65. Halliwell B, Anicma OL DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters* 1991; 281:9-19.
66. McDorman KS, Pachkovski BF, Nakamura J, Wolf DC, Svenberg JA, Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a nature of drinking water disinfection by-product *Chem Biol Interact* 2005; 152: 107-17.
67. De Martinis BS, De Lourdes Pir es Bianchi M Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. *Pharmacol Res* 2002; 46: 12-31.
68. Hattori Y, Nishigori C, Tanaka T, Uchida K, Nikaido O, Osavvn T. et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *J Invest Dermatol* 1996; 107:4-18
69. Helbock KJ, Beckman KB, Ames BN. 8 hydroxy deoxyguanosine and 8 hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol* 1999; 300:156-66.
70. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, Neubrandner JA. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *Am J Clin Nutr.*, 2004; 80:1611-7.
71. James SJ, Pogribny IP, Pogribna M, Miller BJ. mechanisms of DNA damage, DNA hypomethylation, and tumor progression in the folate/methyl-deficient rat model of hepatocarcinogenesis. *J. Nutr.*, 2003; 133: 7-37.
72. Blount BC, Ames BN. DNA damage in folate deficiency,. *Bailleres Clin. Haematol.*, 1995; 8: 461-78.
73. Lindahl T, Wood RD. Quality control by DNA repair. *Science*, 1999; 286:1897-905.
74. Zingg JM, Jones PA. Genetic and epigenetic aspects of DNA methylation on genome expression, evolution, mutation and carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 882-896.
75. Eto I, Krumdieck CL. Role of Vitamin B12 and folate deficiency in carcinogenesis,. *Essential Nutrients in carcinogenesis*, ed. P. L.A. Poirier, M, Newberne, M.W. Pariza (eds). Vol. plenum press. 1986; 313-31.
76. Blount BC, Back MM, Wehr CM, Macgregor JT, et all. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage,. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997; 94: 3290-5.

77. Oski F. A diagnostic approach to anemic patient. Brugnara C, Nathan D, Nathan DG, Orkin SH (editors). Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 5th Edit, Philadelphia: WB Saunders Company, 1998; 375-84.
78. Kaczmarek P, Błaszczak J, Fijałkowski P, Sierakowska-Fijałek A, Niemirowicz J, Kasprzak A, et al. Assessment of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine concentrations in bladder cancer patients treated with intravesical BCG instillation. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 19: 526-8.
79. Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 2003; 334: 87-94.
80. Dizdaroglu M. Oxidatively induced DNA damage: Mechanisms, repair and disease. *Cancer Lett*, 2012; 327: 26-47.
81. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007; 39 : 44-84.
82. Defeng W, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stres and free radical damage. *Alcohol Res Heath*, 2003; 27(4): 277-84.
83. Rice-Evans CA, Burdon RH. Antioxidant and free radical scavengers. In: Free radical damage and its control. England: Elsevier Science Press, 1994; 113-29.
84. Ozawa T. Oxygen damage and mutations in mitochondrial DNA associated with aging and degenerative diseases. *Molecular and Cell Biology* 1995; 339-61.
85. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assesment of tissue oxidative stres. *Life Sci* 1991; 48: 301-9.
86. Halliwell B. Handbook of antioxidants. Ed. Packer L, Cadenas E, Dekker M. New York, 2002; 1-46.
87. Bailey RL, Carmel R, Gren R, et al. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 552-61.
88. Woo KS, Kim KE, Park, JS ve arkadaşları. Relationship between the levels of holotranscobalamin and vitamin B12. *Korean J Lab Med* 2010; 30(2): 185-9.
89. Ulak M, Chandyo RK, Adhikari RK, et al. Cobalamin and folate status in 6 to 35 months old children presenting with acute diarrhea in Bhaktapur, Nepal. *PLoS ONE* 2014; 9: 1-7.

90. Schroecksnadel K, Frick B, Wirleitner B, et al. Moderate hyperhomocysteinemia and immune activation. *Curr Pharm Biotechnol* 2004; 5: 107-18.
91. Sobczyńska-Malefora A, Gorska R, Pelisser M ve arkadaşları. An audit of holotranscobalamin (“Active” B12) and methylmalonic acid assays for the assessment of vitamin B12 status: application in a mixed patient population. *Clin Biochem* 2014; 47: 82-6.
92. Herrmann W, Obeid R. Causes and early diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105: 680-5.
93. Solomon LR. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2007; 21: 113-30.
94. Halliwell B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat Res*, 1999; 443:37-52.
95. Fenech M. Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. *Mutat Res*. 2012 May 1; 733(1-2):21-33
96. J. Chen, E. Giovannucci, K. Kelsey, E.B. Rimm, M.J. Stampfer, G.A. Colditz, D. Soeigelman, W.C. Willett, D.J. Hunter, A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk for colorectal cancer, *Cancer Res*. 1996; 56: 4862–4.
97. J. Ma, M.J. Stampfer, E. Giovannucci, C. Artigas, D.J. Hunter, C. Fuchs, W.C. Willett, J. Selhub, C.H. Hennekens, R. Rozen, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions and risk of colorectal cancer, *Cancer Res*. 1997; 57: 1098–102.
98. E. Giovannucci, M.J. Stampfer, G.A. Colditz, D.J. Hunter, C. Fuchs, B.A. Rosner, F.E. Speizer, W.C. Willett, Multivitamin use, folate and colon cancer in women in the Nurses Health Study, *Ann. Int. Med.* 1998; 129: 517–24.
99. S. Zhang, D.J. Hunter, S.E. Hankinson, E.L. Giovannucci, B.A. Rosner, G.A. Colditz, F.E. Speizer, W.C. Willett, A prospective study of folate intake and the risk of breast cancer, *JAMA* 1999; 281: 1632–7.
100. Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK, Walter PB, Woodall AA, Yeo HC, et al. DNA oksidation matters; The HPLC-electrochemical detection assay of 8-oxodeoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 288-93.
101. Shigenaga MK, Ames BN. Assay for 8- hydroxy-2'-deoxyguanosine; A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1991; 10: 211-6.
102. Bogdanov MB, Beal MF, McCabe DR, Griffin RM, Matson WR. A carbon columnbased liquid chromatography electrochemical approach to routine 8-hydroxy-2'-

- deoxyguanosine measurements in urine and other biologic matrices: a one-year evaluation of methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 647-66.
- 103.** Minnet C, Koc A, Aycicek A, Kocyigit A. Vitamin B12 treatment reduces mononuclear DNA damage. *Pediatr Int.* 2011 Dec;53(6):1023-7.
- 104.** Kiykım A, Seyhanlı M, Turgutalp K, Horoz M, Özcan T. Yeni Tanı Konmuş ve Tedavi Edilmemiş İzole Kan Basıncı Yüksekliği Olan Hastalarda Oksidatif DNA Hasarı: Olmesartanın Akut Etkisi. *Turk Neph Dial Transpl* 2012; 21 (1): 60-5
- 105.** Alzoubi K, Khabour O, Khader M, Mhaidat N, Al-Azzam S. Evaluation of vitamin B12 effects on DNA damage induced by paclitaxel. *Drug Chem Toxicol.* 2014 Jul;37(3):276-80.
- 106.** Esen B. Demir eksikliği anemisi ve tedavisinde DNA hasarı: 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin düzeyi. Uzmanlık tezi, Elazığ 2013; 35-41

## 7. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 27/07/2017-E.26524

<b>HARRAN ÜNİVERSİTESİ</b> <b>TIP FAKÜLTESİ</b> <b>Etik Kurulu Kararı</b>	
TARİH	: 13.07.2017
OTURUM	: 07
SAAT	: 15:00

17/07/18	<p><b>Karar:</b> Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR'in yürütücüsü olduğu "<b>B12 Eksiliği Saptanan 0 – 18 Yaş Arası Hastalarda 8-Hidroksi Deoksiguanozin Düzeyinin İdrarda ve Serumda Saptanarak DNA Hasarı Görülmesi</b>" başlıklı çalışmaya Etik Kurulu Onayı verilmesine,</p> <p>Oybirliğiyle karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"> <b>ASLIGIBİDİR</b> <b>Yrd. Doç. Dr. Hakim ÇELİK</b> <b>Etik Kurulu Raportörü</b></p>
----------	---

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

**TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ**

**Öğrencinin**

T.C. : 20620822226

Adı, Soyadı : Koray BAKIR

Anabilim Dalı : Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tezin Adı : 0-18 Yaş Arası B12 Eksikliği Saptanan Hastalarda Dna Hasarı Göstergesi 8-Oh Deoksiguanozin Düzeyinin İdrarda Ve Serumda Gösterilmesi

**MEZUNİYET SONRASI EĞİTİM KOORDİNASYON KURULU BAŞKANLIĞINA**

Yukarıda başlığı belirtilen **0-18 Yaş Arası B12 Eksikliği Saptanan Hastalarda Dna Hasarı Göstergesi 8-Oh Deoksiguanozin Düzeyinin İdrarda Ve Serumda Gösterilmesi** çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 40 sayfalık kısmına ilişkin, 12/11/2018 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından "TURNITIN" adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı % 21'tir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 6 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Mezuniyet Sonrası Eğitim Koordinasyon Kurulu tarafından kabul edilen Uzmanlık Tezinin orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntıların bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, tüm hukuki yasal işlemleri kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 12/11/2018

**Tezi Hazırlayan Uzmanlık Öğrencisinin**

Adı-Soyadı: *Koray BAKIR*

İmzası: *[Signature]*

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 12/11/2018

**Danışmanın**

Unvanı-Adı-Soyadı:

*Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Demin*

İmzası: *[Signature]*

Not: Tezde benzerlik oranı %25'ten yüksek olmamalıdır.



# B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0-18 YAŞ ARASI HASTALARDA 8-HİDROKSİ 2-DEOKSİGUANOZİN DÜZEYİNİN İDRARDA VE SERUMDA SAPTANARAK DNA HASARININ GÖSTERİLMESİ

*Yazar Koray Bakir*

Gönderim Tarihi: 12-Kas-2018 03:34PM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1037424719

Dosya adı: N\_N\_DRARDA\_VE\_SERUMDA\_SAPTANARAK\_DNA\_HASARININ\_G\_STER\_LMES.docx (393.96K)

Kelime sayısı: 7072

Karakter sayısı: 48152

*Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR*  
Harran Univ. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı  
Dip. No: 3462 / Dur. Res. No: 125969



# B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0-18 YAŞ ARASI HASTALARDA 8-HİDROKSİ 2-DEOKSİGUANOZİN DÜZEYİNİN İDRARDA VE SERUMDA SAPTANARAK DNA HASARININ GÖSTERİLMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%**21**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**20**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%**11**

YAYINLAR

%**9**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

**1**

[www.istanbulsaglik.gov.tr](http://www.istanbulsaglik.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%**6**

**2**

[www.bakirkoytip.org](http://www.bakirkoytip.org)

İnternet Kaynağı

%**4**

**3**

Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

%**1**

**4**

[anadolukuzey.gov.tr](http://anadolukuzey.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%**1**

**5**

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**1**

**6**

[www.researchgate.net](http://www.researchgate.net)

İnternet Kaynağı

%**1**

**7**

Submitted to Marmara University

Öğrenci Ödevi

%**1**

**8**

[istanbulsaglik.gov.tr](http://istanbulsaglik.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%**1**

Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR  
Marmara Univ. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı  
Dip.No: 3462 - Dip.Tes.No: 125039

9	www.ctf.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
10	Submitted to Istanbul Medipol Āniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
11	www.mikrobik.net İnternet Kaynağı	%1
12	pharmacy.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
13	tip.harran.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
14	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
15	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
16	www.endoskopist.org İnternet Kaynağı	<%1
17	diclemedj.org İnternet Kaynağı	<%1
18	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
19	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<%1

tip.fusabil.org

Yrd.Doç.Dr. Mahmut DEMİR  
Harran Univ. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı  
Dış.No: 3462 - Dış.No: 423039

20

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

21

turkiskcenter.se

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

22

www.egetipdergisi.com.tr

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

23

readgur.com

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

24

ganoexceltr.org

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

25

Mustafa Kızıloğlu, Tuğba Güngör Kızıloğlu,  
Züleyha Yalnız Akkaya, Ayşe Burcu, Firdevs  
Örnek. "Künt Göz Travmalarında Prognostik  
Faktörler", Türk Oftalmoloji Dergisi, 2014

Yayın

&lt;% 1

26

openaccess.inonu.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

27

yalpturk.blogcu.com

İnternet Kaynağı

&lt;% 1

28

ABUHANDAN, Mahmut, GÜMÜŞ, Hüseyin,  
SOLMAZ, Abdullah and GÜZEL, Bülent.  
"Vitamin B12 eksiliğinde hastalarda ortalama  
trombosit volümün değerlendirilmesi", Harran  
Üniversitesi, 2014.

Yayın

&lt;% 1

Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR  
Harran Üniv. Tıp Fak.  
Genel Sağ. Uzmanı  
Dip. No: 9402 / 12-029

ABUHANDAN, Mahmut, KANDEMİR, Hasan, GÜZEL, Bülent, KAYA, Cemil and KARABABA, Fatih. "Büyüme ağrısı olan çocukların yaşam kaliteleri ve psikiyatrik özellikleri", Harran Üniversitesi, 2013.

Yayın

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

Kapat

Bibliyografyayı Çıkart

Kapat

  
Doç. Dr. Mahmut DEMİR  
Harran Univ. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı  
Diyarbakır, 68020, E-posta no: 120003





## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Koray Bakir  
Ödev başlığı: B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0- 18 YA..  
Gönderi Başlığı: B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0-18 YA..  
Dosya adı: N\_N\_DRARDA\_VE\_SERUMDA\_SAP..  
Dosya boyutu: 393.96K  
Sayfa sayısı: 40  
Kelime sayısı: 7,072  
Karakter sayısı: 48,152  
Gönderim Tarihi: 12-Kas-2018 03:34 PM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1037424719

#### GİRİŞ ve AMAC

B12 vitamini açısından bakıldığında bakteriler tarafından sentezlenen, suyu eriyen ve çeşitli formları bulunan bir vitamindir. İnsanlar, B12 vitamini sentezleyemezler. B12 vitamini özellikle hayvansal gıdalardaki kobaltın yerinde elde edilir. En fazla hayvan katçıklarında bulunur. Normal beslenmelerde, yeterli B12 vitamini eksikliği nadirdir. Ancak beslenme yetersiz alması, özellikle yaşlıların beslenme şekline, B12 vitamini eksikliğinin önemli bir sebebidir (1).

B12 vitamini an önemli işlevi, DNA sentezinde özellikle hücre yenilenmesi için olan ve hızlı büyüyen dokularda etkilidir. B12 vitamini eksikliğinde insanın büyüme ve gelişmesinin hızlı olduğu çocukluk döneminde bu eksikliğe bağlı problemler daha ciddi görülür (1).

B12 vitamini eksikliği çocuklarda şabırsızlık, halsizlik, yorgunluk, iritabilite veya ağır makrozansında albiti stomatiti gibi nonspesifik semptom ve bulgular görülebilir. B12 eksikliği tanıya geçerken olgularında ağır megaloblastik anemi, büyüme gelişme geriliği, ağır nörolojik semptomlar ve ileri dönemde koma görülebilir (1,2). B12 vitamini eksikliği görülen olguların %25'inden fazlasında hematolojik bulgularla nörolojik bulgular ortası çıkabilir (3). B12 vitamini eksikliğinin iyi tanımlanmış nörolojik ve hematolojik etkileriyle birlikte, DNA hasarı ve kanser, nöral tüp defekti gibi birçok hastalığın etyolojisinde rol alması konusunda önemli vurgulanmaktadır (4-19).

Vitamin B12, metil tetrahidro folatın (TH4-folat), "metiyonin sentez" enziminin en önemli reaktiyonla TH4 - folat' a ve homonistenin metiyonine dönüştürge ve metiyonin ve timidilat oluşumunda ko-faktör olarak rol alır (1, 5-10, 20).

Ülke genelinde görülen sıkığı tan olarak bilinememekle birlikte Şanlıurfa'da B12 vitamini eksikliği görülme oranının yüksekliği (21-25). Klinikimizin çalışmaları arasında klinik ve laboratuvar bulguları olmadan da serum vitamin B12 eksikliğinin sık görülmesi, çocukluk çağında meydana gelebilecek ciddi sağlık sorunları açısından bir uyarıdır. Bu nedenle bu konuda çalışma yapmaya a yönelmektedir. Bu çalışmada çocukluk çağındaki B12 vitamini eksikliğinde DNA hasarı olup olmadığı ve bu eksikliğinin serum ve idrar 8-hidroksi-2-deoksiguanozin düzeyine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yrd.Doç.Dr. Mahmut DEMİR  
Harran Üniv. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı  
Dip.No: 3462 - Dip. Tes.No: 125099



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Koray Bakir  
Ödev başlığı: B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0-18 YA..  
Gönderi Başlığı: B 12 EKSİKLİĞİ SAPTANAN 0-18 YA..  
Dosya adı: N\_N\_DRARDA\_VE\_SERUMDA\_SAP..  
Dosya boyutu: 393.96K  
Sayfa sayısı: 40  
Kelime sayısı: 7,072  
Karakter sayısı: 48,152  
Gönderim Tarihi: 12-Kas-2018 03:34 PM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1037424719

### GİRİŞ ve AMAC

B12 vitamini anaerobik bakteriler tarafından sentezlenen, suda eriyen ve çözümlenir formu bulunan bir vitamindir. İnsanlar, B12 vitamini sentezleyemezler. B12 vitamini, özellikle hayvansal gıdalardaki kobalaminlerden elde edilir. En fazla hayvan karaciğerinde bulunur. Normal beslenenlerde, yeterli B12 vitamini eksikliği nadirdir. Ancak beslenme yetersiz alımı, özellikle vegetarian beslenme şeklinde, B12 vitamini eksikliğinin önemli bir sebebidir (1).

B12 vitamini en önemli işlevi, DNA sentezinde özellikle hücre yenilenmesi için olan ve hızlı büyüyen dokularda etkisidir. B12 vitamini eksikliğinde insanın büyüme ve gelişmesinin hızlı olduğu çocukluk döneminde bu eksikliğe bağlı problemler daha ciddi görülür (1).

B12 vitamini eksikliği çocuklarda spastiklik, halsizlik, yorgunluk, iritabilite ve/ya da ağır makrozansada ziftir atonemi gibi nörolojik semptom ve bulgular görülebilir. B12 eksikliği tanımlanmış olgularda ağır megaloblastik anemi, büyüme gelişme geriliği, ağır nörolojik semptomlar ve erken dönemde koma görülebilir (1,2). B12 vitamini eksikliği görülen olguların %25'inden fazlasında kematomatik bulgu görülmeden nörolojik bulgular ortaya çıkabilir (3). B12 vitamini eksikliğinin iyi tanımlanmış nörolojik ve hematolojik etkileriyle birlikte, DNA hasarı ve kanser, nöral tüp defekti gibi birçok hastalığın etyolojisinde rol alması konusunun önemini vurgulanmaktadır (4-19).

Vitamin B12, metil tetrahidrofolat (TH4-folat), "methylcobalamin" olarak da adlandırılır. TH4 - folat, a ve homocysteine metionine dönüştürge ve metionin ve timidilat oluşumunda ko-faktor olarak rol alır (1, 5-10, 20).

Ülke genelinde görülen ekliği tan olarak bilinenlerle birlikte Şanlıurfa da B12 vitamini eksikliği görülme oranında yüksektir (21-23). Kliniklerin çalışmaları arasında klinik ve laboratuvar bulguları olmadan da serum vitamin B12 eksikliğinin ek görülmesi çocukluk çağında meydana gelebilecek ciddi sağlık sorunları açısından bir uyarıdır çünkü ve bu konuda çalışma yapmaya yönlendirilmektedir. Bu çalışmada çocukluk çağındaki B12 vitamini eksikliğinde DNA hasarı olup olmadığı ve bu eksikliğinin serum ve idrar 8-hidroksi-2-deoksiganosin düzeyine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR  
Harran Univ. Tıp Fak.  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
Dip. No: 3442 - Dip. Tez No: 125024