

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**NUTRİSYONEL VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA TANI
VE İZLEMDE HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. HAZAL TANCER ELÇİ**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YASEMİN IŞIK BALCI**

DENİZLİ - 2012

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**NUTRİSYONEL VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA TANI
VE İZLEMDE HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. HAZAL TANCER ELÇİ**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YASEMİN IŞIK BALCI**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 10.01.2012 tarih ve 2012TPF001 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2012

Doç. Dr. Yasemin IŞIK BALCI danışmanlığında Dr. Hazal TANCER ELÇİ tarafından yapılan "Nutrisyonel Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Tanı ve İzlemede Hemoreolojik Parametrelerin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması 19/12/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Doç. Dr. Yasemin IŞIK BALCI

ÜYE: Doç. Dr. Dolunay GÜRSES

ÜYE: Doç. Dr. Selçuk YÜKSEL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. 25/12/2012


Prof. Dr. Mustafa KILIC
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Eğitimimin ve tezimin her aŐamasında katkılarından dolayı tez danıŐmanım Doç. Dr. Yasemin IŞIK BALCI'ya, her zaman saygıyla anacağım Anabilim Dalı BaŐkanı hocam Prof. Dr. Aziz POLAT'a, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen diğer hocalarım Prof. Dr. Hacer ERĐİN, Doç. Dr. Selçuk YÜKSEL, Doç. Dr. Dolunay GÜRSES, Doç.Dr. Ahmet ERĐİN, Yrd. Doç. Dr. Özmert M.A. ÖZDEMİR, Yrd. Doç. Dr. Mine CİNBIŐ, Yrd. Doç. Dr. Mustafa DOĞAN ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları bölümü çalışanlarına, ayrıntılı katkılarından dolayı hocam Prof. Dr. Melek BOR KÜÇÜKATAY'a ve asistanları Emine KILIÇ TOPRAK ile Özgen KILIÇ'a, ayrıca Biyoistatistik Anabilim Dalı BaŐkanı Doç. Dr. Beyza AKDAĞ ve asistanı Hande ŐENOL'a, son olarak sabır ve desteklerinden dolayı eŐim Arda'ya, anne ve babama TEŞEKKÜR EDERİM.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ÖZET.....	X
İNGİLİZCE ÖZET.....	XII
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
VİTAMİN B12.....	3
Tanım.....	3
Vitamin B12'nin Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri...	3
Vitamin B12 Kaynakları.....	5
Vitamin B12 Gereksinimi.....	6
Kobalaminlerin Emilimi.....	6
Vitamin B12 Metabolik Fonksiyonları.....	8
Çocukluk Döneminde Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri....	9
Vitamin B12'nin yetersiz alınması.....	11
Vitamin B12 Eksiklik Bulguları	11
Vitamin B12 Eksikliğinde Tanı.....	14
Vitamin B12 Eksikliğinde Tedavi.....	14
Vitamin B12 Eksikliğinde Korunma.....	15
HEMOREOLOJİ.....	16
Kanın Akışkanlık Özellikleri.....	18
Tam Kan Viskozitesi.....	18
Plazma Viskozitesi.....	19

Hematokrit.....	19
Eritrosit Deformabilitesi ve Deformabiliteyi Etkileyen Faktörler	20
Eritrosit Agregasyonu ve Agregasyonu Etkileyen Faktörler	22
HEMATOLOJİK HASTALIKLARDA HEMOREOLOJİ	23
GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ.....	24
ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE ÖLÇÜMLER.....	25
Eritrosit Şekil Değiştirme Yeteneği (Deformabilite) Ölçümü	26
Eritrosit Agregasyonu Değerlendirilmesi.....	27
Tam Kan ve Plazma Viskozitesi Ölçümü.....	27
İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	27
BULGULAR.....	28
ERİTROSİT DEFORMABİLİTE ÖLÇÜMLERİ.....	31
ERİTROSİT AGREGASYON AMPLİTUDU.....	34
ERİTROSİT AGREGASYON İNDEKSİ.....	35
ERİTROSİT AGREGASYON YARI ZAMANI.....	36
OTOLOG HEMATOKRİTTE ÖLÇÜLEN TAM KAN VİSKOZİTESİ	37
STANDART HEMATOKRİTTE ÖLÇÜLEN TAM KAN VİSKOZİTESİ	39
PLAZMA VİSKOZİTESİ.....	40
TARTIŞMA.....	45
SONUÇLAR.....	59
KAYNAKLAR.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

AdoCbl	: Adenozilkobalamin
AI	: Agregasyon indeksi
AMP	: Agregasyon Amplitudu
Cbl	: Kobalamin
CH3Cbl	: Metilkobalamin
CNCbl	: Siyanokobalamin
CoA	: Koenzim A
EI	: Elongasyon İndeksi
fl	: Femtolitre
GSCbl	: Glutatyonilkobalamin
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
IF	: İntrensek Faktör
IM	: İntra Musküler
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Miktarı
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MeCbl	: Metilkobalamin
mPa.sn	: Milipascal Saniye
MPV	: Ortalama Platelet Hacmi
OHCbl	: Hidroksikobalamin
Pa	: Pascal
Plt	: Platelet Sayısı
PV	: Plazma Viskozitesi
RBC	: Eritrosit Sayısı
RDW	: Eritrosit Dağılım Genişliği
t1/2	: Agregasyon Yarı Zamanı
TC0	: Transkobalamin-0
TCI	: Transkobalamin-I
TCII	: Transkobalamin-II
TCIII	: Transkobalamin-III
THF	: Tetrahidrofolat
TKV	: Tam Kan Viskozitesi
WBC	: Beyaz Küre Sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Vitamin B12'nin yapısı	4
Şekil 2. Vitamin B12'nin ince barsaktan emilim mekanizması.....	7
Şekil 3. a) Farklı kayma hızlarında gözlenen eritrosit agregasyonları..... b) Normal kan, izotonik tampon içerisinde süspanse edilmiş normal eritrositler ve plazmadaki rijid eritrositler için kayma hızı-viskozite eğrileri	17
Şekil 4. Eritrositlerin bikonkav-disk yapısı.....	21
Şekil 5. 5.33 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit elongasyon indeksi (EI) değerleri	32
Şekil 6. Eritrosit agregasyon amplitudu (AMP) değerleri.....	34
Şekil 7. Eritrosit agregasyon indeksi (AI) değerleri.....	35
Şekil 8. Eritrosit agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$) değerleri.....	36
Şekil 9. Otolog hematokritte 150 sn^{-1} kayma hızında ölçülen tam kan viskozitesi değerleri	38
Şekil 10. Standart hematokritte 150 sn^{-1} kayma hızında ölçülen tam kan..... viskozitesi değerleri	40
Şekil 11. 375 sn^{-1} kayma hızında ölçülen plazma viskozitesi değerleri.....	41

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Grupların vitamin B12, homosistein ve hematolojik değerleri	30
Tablo 2. Farklı kayma kuvvetlerinde ölçölmüş elongasyon indeksi (EI) değerleri	33
Tablo 3. Eritrosit agregasyon amplitudu, agregasyon indeksi, agregasyon	37
yarı zamanı ölçömleri	
Tablo 4. Otolog hematokritte ölçölen tam kan viskoziteleri	38
Tablo 5. Standart hematokritte ölçölen tam kan viskoziteleri.....	39
Tablo 6. Plazma Viskozitesi Değerleri	41
Tablo 7. Hb'in Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi.....	43
Tablo 8. Hct'nin Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi.....	43
Tablo 9. MCV'nin Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi.....	44
Tablo 10. Retikölosit Sayısının Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi.....	44

ÖZET

Nutrisyonel vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda tanı ve izlemde hemoreolojik parametrelerin incelenmesi

Dr. Hazal TANCER ELÇİ

Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde nutrisyonel vitamin B12 eksikliği önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Vitamin B12 eksikliği, DNA sentezinde defekte neden olarak kemik iliğinde megaloblastik değişikliklere ve eritrositlerde morfolojik bozukluklara (normalden büyük ve oval eritrositler, nötrofillerde hipersegmentasyon) neden olmaktadır. Kan akımının hemoreolojik parametreler olan eritrosit deformabilitesi, agregasyonu, tam kan ve plazma viskozitesinden etkilendiği bilinmektedir. Bu çalışmada çocuklarda nutrisyonel vitamin B12 eksikliğinin hemoreolojik parametreler üzerindeki etkileri ve eksikliğin tedavi edilmesiyle bu parametrelerin değişimi incelendi. Çalışmaya nutrisyonel vitamin B12 eksikliği tanısı alan ve ek hastalığı bulunmayan 33 hasta (17 kız, 16 erkek, yaş ortaması: 7 ± 5.7 yıl) ve hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyette 31 sağlıklı kontrol (16 kız, 15 erkek, yaş ortalaması: 7.1 ± 5.2 yıl) alındı. Her iki grupta hematolojik ve biyokimyasal parametreler yanında fizyoloji laboratuvarında hemoreolojik parametrelerden eritrosit deformabilitesi ve agregasyonu ektasitometre aracılığıyla, plazma ve tam kan viskozitesi rotasyonel viskometreyle çalışılarak, hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki farklar karşılaştırıldı. Hasta grubuna uygun vitamin B12 tedavisi verilerek, 2 ayın sonunda hematolojik, biyokimyasal ve hemoreolojik parametreler yeniden değerlendirildi ve tedavi öncesi sonuçlar ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, eritrosit deformabilitesi ve tam kan viskozitesinin vitamin B12 eksikliğinde anlamlı olarak azaldığı bulundu. Eritrosit agregasyonu değerlendirildiğinde, total agregasyon miktarının göstergesi olan agregasyon amplitudunun eksiklik durumunda anlamlı olarak arttığı, ancak agregasyon indeksi ve yarı zamanının amplitud ile zıt değişimler gösterdiği bulundu. Plazma viskozitesinin ise eksiklik durumunda azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. Tedavi sonrası eritrosit deformabilitesi, tam kan ve plazma viskozitesinin anlamlı düzeyde arttığı, total eritrosit agregasyonunun ise anlamlı düzeyde azalarak sağlıklı kontrol grubu değerlerine benzer değerlere geldiği bulundu. Sonuç olarak bu çalışmada, vitamin B12 eksikliğinin hemoreolojik

parametreler üzerinde önemli etkileri olduğu, eksikliğin uygun tedavisinin hematolojik parametreler yanı sıra hemoreolojik parametrelerde de düzelme sağladığı görüldü ve bu sayede mikrovasküler perfüzyonun düzenlenmesine katkıda bulunabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Vitamin B12, eritrosit deformeabilitesi, eritrosit agregasyonu, viskozite

SUMMARY

Investigation of hemorheological parameters at the diagnose and follow-up of nutritional vitamin B12 deficient children

Dr.Hazal TANCER ELÇİ

In developing countries like our country, nutritional vitamin B12 deficiency is still being an important health problem. Vitamin B12 deficiency causes defective DNA synthesis leading to megaloblastic changes in the bone marrow and morphological changes in the erythrocytes (large and oval erythrocytes, hypersegmentation in neutrophils). It is known that blood flow is affected by hemorheological parameters which are erythrocyte deformability, aggregation, whole blood and plasma viscosity. In this study, the effects of nutritional vitamin B12 deficiency on hemorheological parameters, and the changes in these parameters following vitamin B12 treatment in children were investigated. 33 patients (17 female, 16 male, mean age: 7 ± 5.7 years) diagnosed as nutritional vitamin B12 deficiency with no other illnesses, and 31 healthy controls (16 female, 15 male, mean age 7.1 ± 5.2 years) with similar ages and genders with the patient group were enrolled in the study. Besides hematological and biochemical parameters, hemorheological parameters as erythrocyte deformability and aggregation were determined by an ectacytometer, plasma and whole blood viscosities by a cone-plate rotational viscometer in physiology laboratory. The differences between the patient and the healthy control groups were compared. Hematological, biochemical and hemorheological parameters were repeated in the patient group following two months of vitamin B12 treatment, and the results were compared with the results before treatment. In vitamin B12 deficiency, erythrocyte deformability and whole blood viscosity were found to be significantly decreased, compared with the control group. When erythrocyte aggregation was evaluated, erythrocyte aggregation amplitude that shows the total aggregation amount was found to be significantly increased in deficiency, while aggregation index and half time have shown opposite changes. Plasma viscosity was found to be decreased in vitamin B12 deficiency but this decrease was not statistically significant. In patient group, erythrocyte deformability, whole blood and plasma viscosities were found to be significantly increased, and total erythrocyte aggregation amount was found to be significantly decreased and returned to control values after treatment. In conclusion, this study indicates that vitamin B12 deficiency has important effects on hemorheological parameters, and the adequate treatment of deficiency not

only corrects the hematological parameters, but also by helping to normalize the hemorheological parameters, may contribute to the regulation of microvascular perfusion.

Key words: Vitamin B12, erythrocyte deformability, erythrocyte aggregation, viscosity

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde beslenmeye bağlı vitamin B12 eksikliği önemli bir sağlık sorunudur. Dünyada sosyoekonomik düzeyi düşük bölgelerde yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliğinin %22-65 arasında olduğu bildirilmiştir (1, 2). Beslenme yoluyla alınan vitamin B12'nin başlıca kaynağı et ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalardır (3, 4). Vücutta vitamin B12'ye bağlı iki enzimatik tepkime tanımlanmıştır. Bunlardan birisi 5'deoksiadenozil kobalaminin kofaktör olarak kullanıldığı metilmalonik asitin suksinil koenzim-A'ya dönüşümüdür. Diğer vitamin B12'ye bağlı tepkime, homosisteinden metiyonin sentezidir. Bu sentezde metilkobalamin kofaktör olarak kullanılmaktadır. Aynı kofaktör, metilentetrahidrofolattan tetrahidrofolat (THF) oluşumunda da görev almaktadır. Hem vitamin B12 hem de folat eksikliğinde tetrahidrofolat oluşumu bozulmakta, bu da DNA sentezinde defekte neden olarak, kemik iliğinde hücre bölünmesini önlemektedir. Sonuçta megaloblastik kemik iliği ve makrositik eritrositler oluşmaktadır (5-7). Kemik iliği genellikle hipersellüler olup, eritroid hiperplazi görülmektedir. Kemik iliğinde eritrosit aktivitesinde artışa rağmen retikülositopeni görülen tek anemi tipidir (6, 8).

Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda en sık yakınma halsizlik ve iştahsızlıktır. Apati, büyüme geriliği, nöromotor gelişimde gecikme (baş kontrolü, oturma, yürüme, dönme gibi), hipotoni, refleks kaybı, el ve ayaklarda pareteziler, ataksi, spastik parezi gibi bulgular yetersiz miyelinizasyona bağlı olarak görülebilmektedir. Eksiklik erken tedavi edilmezse kalıcı nörolojik hasar oluşabilmektedir (6, 7, 9). Tedavide eksik olan vitamin B12'nin yerine konması gerekmektedir (10).

Hemoreoloji, kanın akım özelliklerini ve kan akımı sırasında damar-akan sıvı ilişkilerini incelemektedir. Hemoreolojik parametreler eritrosit şekil değiştirme yeteneği (deformabilite), eritrosit agregasyonu, hematokrit (Hct), tam kan ve plazma viskozitesidir (11, 12). Kanın akıma karşı direnç göstermesine neden olan özelliklerine kan viskozitesi adı verilmektedir. Viskozite akışkanlığın tersidir. Kan, plazma ve hücrelerden meydana gelen karmaşık yapıda bir sıvıdır. Dolayısıyla kan viskozitesi hem plazmanın hem de kan hücrelerinin özelliklerinden etkilenmekte ve mikrovasküler perfüzyon için önem teşkil etmektedir (13).

Kan akımı, kan hücrelerinin şekil değiştirme yetenekleri ve agregasyonları hemoreolojinin temel bileşenleridir (14). Büyük kan damarlarında tam kan viskozitesi, hematokrit ve plazma viskozitesine bağlı olduğu için akımın önemli bileşenidir. Hücrelerin dar kapillerlerden geçmek durumunda olduğu mikrodolaşımda ise, eritrositlerin deformabilite ve agregasyon özellikleri akıma karşı direncin esas belirleyicileridir. Bu sebeple eritrositlerin deformabilitesi, onların oksijen taşıma fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için yaşamsal öneme sahiptir. Deformabilite yetenekleri aynı zamanda dolaşımdaki eritrosit yarı ömrünün de bir belirleyicisidir. Eritrosit deformabilitesinin arttığı durumlarda kan viskozitesi düşmekte, akım kolaylaşmaktadır (14, 15).

Vitamin B12 eksikliğinin eritrositlerde morfolojik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Vitamin B12 eksikliği olan hastalarda tanı anında ve uygun vitamin B12 desteği sonrası dolaşımda akıma karşı oluşturulan direnç ve doku oksijenizasyonunun önemli belirleyicileri olan eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskozitesinden oluşan hemoreolojik parametreler üzerinde ne tür etkiler oluşturduğu yeterince bilinmemektedir. Literatürde vitamin B12 eksikliğinde hemoreolojik parametrelerin çalışıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar erişkin yaş grubunda yapılmış olup, hemoreolojik parametreler arasında yalnızca eritrosit deformabilitesi yer almaktadır (16, 17). Bu çalışmadaki amacımız vitamin B12 eksikliği saptanan çocuklarda hemoreolojik parametrelerin değerlendirilmesi ve bu parametrelerin vitamin B12 desteği sonrası değişimlerinin incelenerek kontrol grubu ile karşılaştırılmasıdır. Vitamin B12 desteğine cevap olarak meydana gelecek olası hemoreolojik değişikliklerin ve bunların mekanizmalarının bilinmesi, vitamin B12 eksikliği sırasında periferik kan akımındaki değişiklikleri aydınlatarak, oluşabilecek komplikasyonlara karşı önlem alınabilmesini sağlayacaktır.

GENEL BİLGİLER

VİTAMİN B12

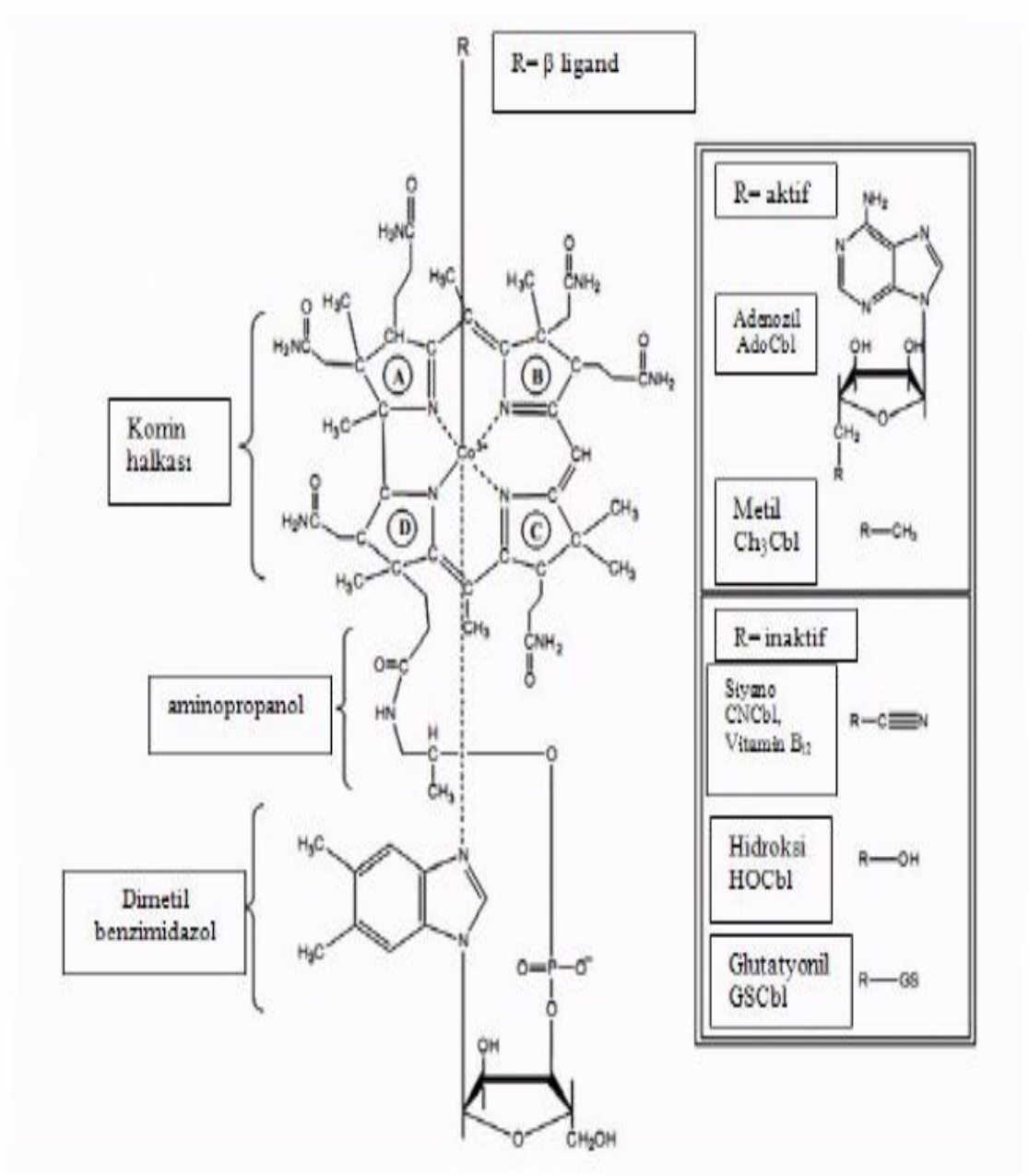
Tanım

Suda eriyen, yapısında kobalt iyonu bulunduran, 1355.42 dalton molekül ağırlığında, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ancak insanlar tarafından sentezlenemeyen vitamin B12, kırmızı renkli kompleks bir koenzimdir (5, 6). DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12 özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin devamlılığının sağlanması için gereklidir (18). İnsanlar için vitamin B12'nin en önemli kaynakları karaciğer, kırmızı et, yumurta, peynir, süt ve deniz ürünleridir. Baklagil türleri hariç, bitkisel besinlerde normal olarak vitamin B12 bulunmamaktadır (5).

1925 yılında çok şiddetli kansızlığa yakalanmış hastaların karaciğer yemekle tedavi olduğu farkedilmiştir. Karaciğerdeki bu etkili maddenin, 1930'da intrinsek faktör (IF) olduğu düşünülmüş, 1948-1949'da yapılan çalışmalarda sığırcı karaciğerinden kırmızı kristalize saf vitamin B12 elde edilerek tanımlanmıştır. 1955 yılında da vitamin B12'nin kristal yapısı X ışını kristalografisi kullanılarak gösterilmiştir (19).

Vitamin B12'nin Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri

Vitamin B12 merkezde yer alan kobalt atomunu çevreleyen tetrapireol halkalarından ve kobalt atomuna bağlı yan zincirlerden oluşmaktadır. Kobalt ve diğer yan zincirler olmadan kobalamin tetrapireol halkasına korrin halkası adı verilir. Kobalt, korrin halka sistemiyle yapıya bağlanmıştır. R grubuna değişik grupların bağlanması ile vitamin B12'nin değişik formları oluşmaktadır (Şekil 1) (18, 20).



Şekil 1. Vitamin B12'nin yapısı (18)

AdoCbl=Adenozilkobalamin, CH₃Cbl= Metilkobalamin, CNCbl=Siyanokobalamin, OHCbl= Hidroksikobalamin, GSCbl= Glutanyonilkobalamin.

Siyanokobalamin ve hidroksikobalamin ilaç olarak kullanılabilen stabil bileşiklerdir. Hidroksikobalaminin atılımı siyanokobalamine göre daha yavaştır. Ancak transkobalaminle vücutta yaptığı komplekse karşı antikor oluşması ve bunun sonucu etkisine tolerans gelişmesi nedeni ile ilaç olarak kullanımı genellikle tavsiye

edilmemektedir. İlaç olarak daha çok siyanokobalamin kullanılmaktadır. Deoksiadenozilkobalamin ve metilkobalamin dokularda aktif koenzim olarak fonksiyon yapmaktadır (6, 21). Plazmada metilkobalamin %60-80 oranda bulunurken, dokularda majör olarak 5'deoksiadenozil kobalamin bulunmaktadır (22).

Vitamin B12 Kaynakları

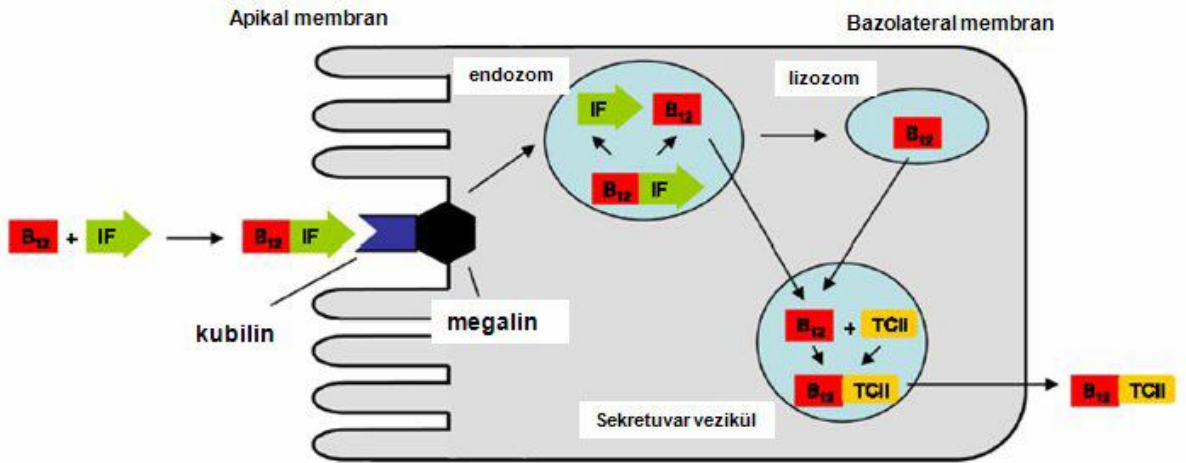
Vitamin B12 bitkiler tarafından yapılabildiği halde, bitki kaynaklı gıdalarda yok denecek kadar az bulunmaktadır. Bazı küfler, mantarlar ve birçok bakteri tarafından üretilmektedir. Toprak, kirlenmiş sular ve hayvan barsağında çok miktarda bulunabilmektedir. Hayvanlarda sindirim sistemindeki fermentasyon, vitamin B12 üretecek mikroorganizmaların çoğalmasını sağlamak ve emilen vitamin B12 dokularda birikmektedir (23). İnsan kalın barsağında bakterilerce üretilen vitamin B12 emilememektedir. İnce barsakta üretilen vitamin B12 ise çok az miktarda emilmektedir. Bu nedenle insanlar gıda kaynaklı kobalamine bağımlıdır. Tam etyemezlerde vitamin B12 eksikliği görülme sıklığı fazladır (24). Diğer vitamin B12 kaynakları ise karaciğerle birlikte, böbrek, et, süt, yumurta, peynir, yağ, balık eti ve kümes hayvanlarıdır. Beslenmeyle alınan et daha çok hidrosikobalamin ve adenzilkobalamin içerirken, sütte esas olarak metil ve hidrosikobalamin bulunmaktadır. Geviş getiren hayvanlar ve tavşan eti, kümes hayvanlarından daha fazla vitamin B12 içermektedir. İnek sütünün vitamin B12 içeriği, koyun sütünden 5-10 kat fazladır. İnsan vücudunda vitamin B12 depolarının günde yaklaşık %0.1-0.2'si tüketilmektedir. Vitamin B12 anne sütünde ortalama 0.42 µg/L bulunmaktadır. Anne sütü, içeriğindeki haptokorrin sayesinde yüksek vitamin B12 bağlama kapasitesine sahiptir (1, 4, 6). Vitamin B12 kolaylıkla depo edilen bir vitamindir ve fazla alınması durumunda karaciğer ve diğer dokularda depo edilmektedir (1, 6, 7).

Vitamin B12 Gereksinimi

Normal bir diyetin vitamin B12 içeriği günlük 1-15 µg kadardır. İnsanlarda depo edilen vitamin B12 miktarı yaklaşık 2 mg kadar olup bunun büyük bir kısmı karaciğerde depo edilmektedir (25). Karaciğerde depo edilen vitamin B12'nin yarı ömrü 400 gün olarak hesaplanmıştır. Depo edilen vitamin B12 vücudun 3-4 yıllık ihtiyacını karşılayabilmektedir. Bu nedenle, vitamin B12 eksikliği gelişmesi için en az 3-4 yıl geçmesi gerekir (26). Vücuttaki kobalaminin günde yaklaşık %0.1'i kaybedilmektedir (27). Dünya Sağlık Örgütü birçok ülkede günlük vitamin B12 alımının 1 µg'ın altında olduğunu tespit etmiş ve erişkinlerin 1 µg /gün vitamin B12 almasını önermiştir. Emziren anneler için 1.3 µg/gün, gebeler için 1.4 µg/gün, bebekler için ise 0.1 µg/gün vitamin B12'nin diyetle alınması önerilmektedir. Çocuklarda gereksinim ilk aylarda 0.4 µg/gün iken, yaşla artarak puberte döneminde 2.4 µg/gün'e kadar çıkmaktadır (24). Anne sütündeki vitamin B12 düzeyi, genellikle plazmadaki vitamin B12'den daha yüksek konsantrasyondadır. Vitamin B12'nin az miktarlarının bile etkili olabilmesi nedeniyle normal vitamin B12 deposu ile doğan bebeklerde bu kaynaktan alınan vitamin yeterli olabilmektedir (6, 21).

Kobalaminlerin Emilimi

Proteine bağlı olmayan kobalamin (Cbl) ağızda dil altında emilmektedir. Gıdalardaki proteine bağlı kobalaminler midede gastrik asit, pepsin ve proteazlar aracılığıyla serbestleşmektedir. Mide ve tükürük sekresyonunda mevcut R-bağlayıcı protein serbest kobalamin ve analoglarını bağlamaktadır. Kobalamin-R-bağlayıcı protein kompleksi duodenuma ulaştığında, duodenumun alkali ortamında pankreatik enzimler (özellikle tripsin) aracılığıyla R-bağlayıcı protein sindirime uğratılmakta ve serbest kalan kobalamin (aktif kobalamin) gastrik glikoprotein olan IF'ye bağlanmaktadır. Vitamin B12-IF kompleksi terminal ileumda mukozal hücrelerin mikrovillüs membranlarının üzerindeki spesifik IF-vitamin B12 reseptörlerine (kubilin) bağlanmaktadır. Vitamin B12-IF kompleksi endositoz ile hücre içine alınmakta, kobalamin bazal membrandan portal kan dolaşımına geçmekte ve transkobalamin-II (TCII) proteinine bağlanmaktadır (Şekil 2) (7, 28, 29).



Şekil 2. Vitamin B12'nin ince barsaktan emilim mekanizması (30).
IF: İntrensek faktör, TCII: Transkobalamin II.

Kobalamin Bağlayıcı Proteinler

1. İntrensek Faktör: IF insan mide fundus mukozasının pariyetal hücrelerinde sentez edilen, ısıya dayanıksız ve alkali ortamda stabil olan bir glikoproteindir. IF'nin her 1 mg'ı yaklaşık 30 µg kobalamin bağlamaktadır (27).

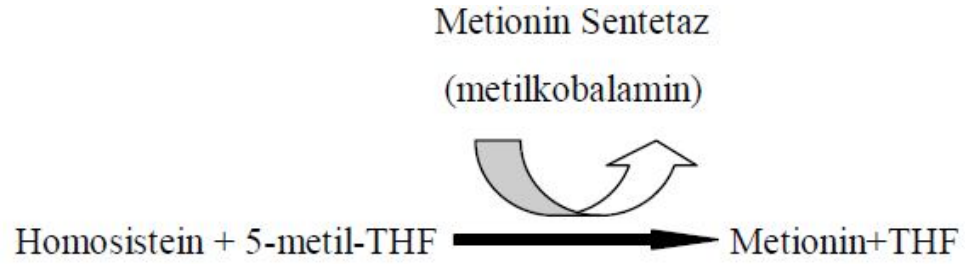
2. Transkobalamin-II: İnce barsak hücrelerinden veya depolardan vitamin B12'yi alıp, kullanan dokulara taşımada hizmet eden, glikolize olmamış bir proteindir. TCII plazmada, serebrospinal ve seminal sıvılarda bulunmaktadır. Kobalamine bağlandığı zaman kendi kendine veya diğer proteinler ile polimerize olmaktadır. Vitamin B12 aktivitesi olmayan korrin analogları için afinitesi çok düşüktür. Plazmada TCII'ye hem metilkobalamin (MeCbl) hem de adenzilkobalamin (AdoCbl) bağlanırken, transkobalamin-I (TCI)'e sadece MeCbl bağlanmaktadır (6, 29).

3. Haptokorrinler: Transkobalamin-O (TCO), TCI, transkobalamin-III (TCIII), R-bağlayıcı protein ve kobalofilin olarak da adlandırılmaktadırlar. Haptokorrinler, farklı derecelerde glikozile olmuş, benzer yapıları glikoproteinlerdir. Kobalamin bağlayıcı proteinler içinde kobalamine karşı en yüksek afiniteye haptokorrinler sahiptir. Plazmada kobalaminlerin %80-90'ı haptokorrinlere bağlanmaktadır (8).

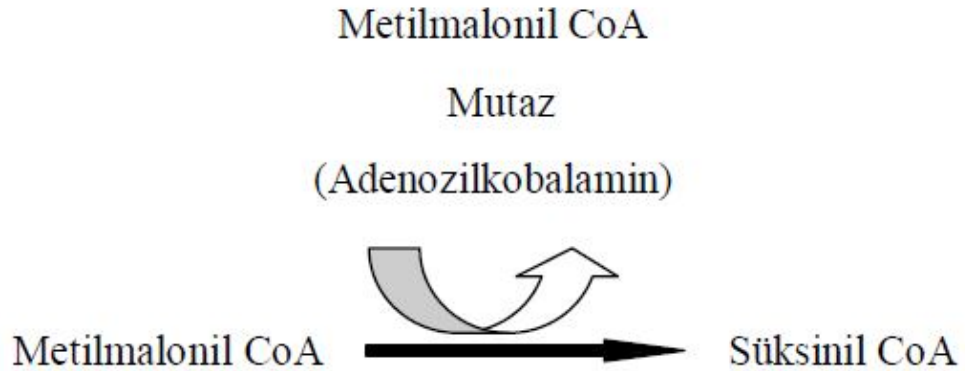
Vitamin B12 Metabolik Fonksiyonları

Vitamin B12 vücutta iki önemli tepkimede koenzim olarak görev almaktadır (6-8):

1- Homosisteinin metionin sentetaz enzimi tarafından metiyonine dönüştürülmesi tepkimesinde metilkobalamin koenzim olarak görev almaktadır. Bu tepkime için ayrıca folik asit de gerekmektedir. MeCbl eksikliğinde folik asit, metil-THF formunda kalmaktadır (6, 7).



2- Metilmalonil koenzim A (CoA)'nın metilmalonil-CoA mutaz enzimi tarafından süksinil-CoA'ya dönüştürülmesi tepkimesinde 5'-deoksiadenozil kobalamin koenzim olarak görev almaktadır (6, 7).



İnsandaki metionin sentezi esas olarak birinci tepkimeyle olmaktadır. DNA sentezi için gerekli olan THF üretimi de bu reaksiyonla gerçekleşmektedir. Metionin sentetaz aktivitesi azaldığında tetrahidrofolat sentezi inhibe olmakta ve folat kullanıma elverişli olmayan bir şekilde tutulmaktadır. Folat düzeyleri yeterli olduğu halde kullanılamamakta ve DNA sentezi gerçekleşmemektedir (5, 6). Hem folat hem de kobalamin kofaktörlerini gerektiren bu tepkimenin herhangi bir basamakta

kesilmesinin megaloblastik anemi gelişmesindeki ana sebep olduğu düşünülmektedir (5,7).

Kobalamin eksikliğinde bu iki tepkime gerçekleşemeyeceğinden toksik maddeler olan homosistein ve metilmalonil CoA seviyeleri idrar ve plazmada yükselmektedir. Plazma ve idrarda metilmalonil CoA artışı vitamin B12 eksikliğine özgü iken, plazmada homosistein artışı vitamin B12 eksikliği, folik asit eksikliği veya her ikisinin de eksikliği durumunda görülebilmektedir (6, 31).

Çocukluk Döneminde Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri (6, 7, 10)

Yetersiz Vitamin B12 Alınması

- A. Diyetteki eksiklik (<2 µg/gün): Vitamin B12 içeriği düşük gıda alımı, vejeteryan beslenme, malnutrisyon, özel diyet mamalarıyla beslenme (Fenilketonüri gibi).
- B. Annedeki eksiklik (plasenta yoluyla geçiş eksikliği ve anne sütündeki eksiklik).

Vitamin B12 Emilim Defekti

A. İntrensek faktör eksikliği

1. Doğumsal IF eksikliği (gastrik mukoza normal)
2. Otoimmün poliendokrinopati ile birlikte juvenil pernisiyöz anemi (gastrik otoantikörler)
3. İmmunglobulin A eksikliği ile birlikte juvenil pernisiyöz anemi
4. Gastrik mukozal hastalık
 - a. Kronik gastrit, atrofik gastrit
 - b. Gastrektomi (parsiyel/total)
 - c. Korozif hasar

B. İnce barsaklarda emilim yetersizliği

1. Spesifik vitamin B12 malabsorbsiyonu
 - a. Anormal intrensek faktör
 - b. Kobalaminin enterosite transport defekti (Imerslund-Grasbeck Sendromu)
 - c. Şelatör ajanlarla emiliminin engellenmesi (fitatlar, EDTA, kalsiyum ve parazitler tarafından vitamin B12'nin bağlanması)

2. Vitamin B12 malabsorbsiyonunu da içine alan yaygın gastrointestinal malabsorbsiyon

- a. Barsak rezeksiyonu (konjenital darlık, volvulus, travma)
- b. Rejyonel ileit
- c. Terminal ileum tüberkülozu
- d. Terminal ileum lenfosarkomu
- e. Pankreas yetersizliği
- f. Zollinger-Ellison Sendromu
- g. Çölyak hastalığı (Gluten enteropatisi), Tropikal Sprue
- h. Diğer daha az spesifik malabsorbsiyon sendromları
- i. HIV enfeksiyonu
- j. Gastrik asiditeyi azaltan ilaçlarla uzun süreli tedavi; H2 reseptör antagonistleri, proton pompa inhibitörleri
- k. Parazitler (*Giardia Lamblia*, *Diphyllobothrium Latum*)
- l. Neonatal Nekrotizan Enterokolit

3. Vitamin B12 ile yarışma

- a. İnce barsaklarda aşırı bakteri çoğalması (ince barsak divertikülü, kör barsak sendromu, skleroderma, yapışıklıklar, aklorhidri, gastrik trikobezoar)
- b. *Diphyllobothrium latum* (serbest kobalamini veya IF-Cbl kompleksini içine alır), *Giardia intestinalis*, *Plasmodium falciparum*, *Strongyloides stercoralis*.

Vitamin B12 Transport Defekti

- A. Konjenital TCII eksikliği
- B. Geçici TCII eksikliği
- C. Parsiyel TCI eksikliği

Vitamin B12 Metabolizma Bozuklukları

- A. Konjenital Nedenler
 1. Adenozilkobalamin eksikliği: cblA ve cblB hastalığı
 2. Metilmalonil CoA mutaz eksikliği

3. Kombine AdoCbl ve MeCbl eksikliği: cblC, cblD ve cblF hastalığı
4. Metilkobalamin eksikliği: cblE ve cblG hastalığı

B. Kazanılmış Nedenler

1. Karaciğer hastalıkları
2. Protein-enerji malnutrisyonu (kwashiorkor, marasmus)
3. İlaç alımını takiben, vitamin B12 emilim ve kullanım bozukluğu (p-aminosalisilik asit, kolşisin, simetidin, neomisin, etanol, oral kontraseptif ajanlar ve metformin)

Vitamin B12'nin Yetersiz Alınması

Çocuklarda vitamin B12 eksikliğinin en sık nedeni annede diyetle ilgili alım eksikliğidir. Maternal vitamin B12 eksikliği sıklıkla vejeteryan diyet ile beslenme sonucu gelişmektedir. Laktovejeteryan (et, et ürünleri, ve yumurta içermeyip, süt içeren diyet), lakto-ovovejeteryan (et ve et ürünleri içermeyip, süt ve yumurta içeren diyet) ve makrobiyotik diyet (hayvansal proteini düşük diyet) ile beslenen annelerde veya yeterli hayvansal proteini alamayacak derecede yoksulluk hallerinde serum vitamin B12 seviyesi düşük saptanmaktadır. Vitamin B12 eksikliği olan annelerden doğan bebeklerde hem doğum öncesinde plasenta yoluyla, hem de doğum sonrası anne sütü ile vitamin B12 alımı yetersiz olduğundan, erken dönemde vitamin B12 eksikliği görülmektedir. Büyük çocuklarda ve adölesanlarda vitamin B12 eksikliği yetişkinlerdekine benzer sebeplerden kaynaklanmaktadır. Aile tarafından vitamin B12'den yoksun diyet hazırlanması veya adölesanlar tarafından seçilen gıdaların vitamin B12'den yoksun olması, eksiklik sebebi olabilmektedir (6, 8, 9).

Vitamin B12 Eksiklik Bulguları

Vitamin B12 eksikliğinden esas olarak hızlı çoğalan dokular, özellikle kemik iliği, gastrointestinal sistemin (GIS) iç yüzeyi ve sinir sistemi etkilenmektedir. Bu durum megaloblastik anemi, gastrointestinal semptomlar ve nörolojik gelişme geriliği olmak üzere üç klinik tabloya yol açmaktadır (6, 9, 10).

Hematolojik Bulgular

En önemli hematolojik bulgu megaloblastik anemidir. Anemiye bağlı solukluk, halsizlik, çabuk yorulma, kardiyomegali ve kalp yetmezliği bulguları, sistolik üfürüm, hepatomegali bulunabilmektedir. DNA sentezinin bozulması megaloblastik anemiyle sonuçlanmaktadır. Aneminin patofizyolojik nedeni, vitamin B12 ve fonksiyonel folat eksikliğinin sebep olduğu pürin ve timidin biyosentezindeki bloka bağlı olarak, DNA yapımının durmasıdır (5, 8, 32). Megaloblastik anemide eritroid hücreler maturasyon sırasında apoptozise daha eğilimlidir. Bu nedenle etkili olmayan eritropoezis vardır (6, 8). Bu durum, yıkılan eritrosit öncüllerinden kaynaklanan serum laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubin ve demir düzeyinin yükselmesiyle sonuçlanmaktadır. Etkili olmayan eritropoezis, kemik iliğinde genç eritroid hücrelerin göreceli artışıyla sonuçlanmaktadır. Kemik iliğindeki DNA sentez bozukluğu sonucu eritroid öncül hücreler olgunlaşp perifere çıkmadan yok olmakta, sonuçta anemi gelişmektedir (33). Megaloblastik anemide eritroid öncüllerinin DNA içeriği azalmış olmasına karşın, RNA içerikleri artmıştır. Bu nedenle aynı maturasyon seviyesindeki normal hücrelerden daha büyük görünümde dirler. Çekirdek ve sitoplazma olgunlaşması arasında uyumsuzluk vardır. Nükleus sitoplazmadan daha az olgundur. Nükleer kromatinler, boyalı yaymalarda normalden daha gevşek gözükmekte ve megaloblastların karakteristik görüntüsünü oluşturmaktadır (6, 8). Eritrositler büyük ve sıklıkla ovaldır (33). Makrositik ve bozuk şekilli eritrositler de kanda normal eritrositlerden daha kısa süre yaşamaktadır (6). Periferik kan yaymasında; oval makrositik eritrositler, hipersegmente nötrofiller görülmektedir (6, 10). Kemik iliği incelemesinde; eritroid seride hiperplazi ve megaloblastik değişiklikler, anormal vakuollü dev myelosit, metamyelosit ve band nötrofiller, megakaryosit çekirdeklerinde hipersegmentasyon görülmektedir (7).

Hematolojik diğer bulgular lökopeni (özellikle nötropeni) ve trombositopenidir. Birçok hastada klinik ve hematolojik bulgular ortaya çıkmadan önce serum vitamin B12 seviyesi normalin altına düşmektedir. Nörolojik ve mental değişiklikler, hematolojik bulgulardan önce görülebilmektedir (6). Hematolojik bulgular olmaksızın da belirgin vitamin B12 eksikliği olabileceği göz önünde tutulmalıdır (10). Örneğin TCI, haptokorrinler ve R bağlayıcı protein eksikliğinde vitamin B12 seviyesi düşüklüğüne anemi eşlik etmemektedir. Buna karşın, TCII

eksikliğinde vitamin B12 düzeyi normalken, megaloblastik anemi bulguları ortaya çıkabilmektedir (6-8).

Gastrointestinal Bulgular

Bazı hastalarda iştah kaybı, bulantı, kusma, kabızlık, diyare, ikter, ağrılı dil (glossitis), aftöz stomatit ve ağızda pamukçuk gibi gastrointestinal semptomlar ön planda olup, anemi ve nörolojik bulgular daha hafif seyretmektedir (9). Gastrointestinal bulguların nedeninin mukoza hücrelerindeki megaloblastik değişiklikler olduğu düşünülmektedir (10).

Nörolojik Bulgular

Nörolojik semptom ve bulguların ana nedeni sinir hücrelerindeki ilerleyici demiyelinizasyondur (5). Yeterli vitamin B12 deposu ile doğan sağlıklı süt çocuklarında, serum vitamin B12 seviyeleri 6. aya doğru azalmakta ve ek gıda almaya başladıktan sonra, serum vitamin B12 seviyeleri tekrar artmaktadır. Fakat ek gıda alımı gecikirse veya başlanmaz ise 6. aydan sonra vitamin B12 eksikliği oluşma riski artmaktadır (34). Beyin gelişiminin ve myelinizasyonun en hızlı olduğu dönem, doğumdan önceki son 3 ay ve doğumdan sonraki ilk 3-6 aydır. Eğer annede vitamin B12 yetersiz ise bebekte vitamin B12 eksikliği daha erken gelişmekte, doğumda serebral atrofi ve hipoplazi olabilmektedir. Vitamin B12 deposu yetersiz olan çocukların doğumu izleyen ilk 1 aydaki gelişimleri normal olup, bunların % 70 'inde klinik bulgular 3-6 ay arasında ortaya çıkmaktadır. Sık görülen bulgular; büyüme ve mental-motor gelişim geriliği, letarji, hipotoni ve konvülsiyondur. Tedavi edilmediğinde koma tablosu gelişebilmektedir (1, 35). Bu bebeklerde anemi veya makrositoz görülmeyebileceği gibi, değişen derecelerde pansitopeni de bulunabilmektedir. Bu dönemdeki eksiklik tedavi edilmezse bebekte kalıcı nörolojik hasarlara yol açabilmektedir (6, 9). Süt çocuklarındaki vitamin B12 eksikliği sıklıkla gelişme geriliği, tartı alamama ve ağırlık kaybı, mikrosefali, mental retardasyon, irritabilite, güçsüzlük ve kronik ishal gibi nonspesifik bulgularla ortaya çıkmaktadır (6, 7, 35). Özellikle uzun süreli ve ağır eksikliği olan bebeklerde, diffüz beyin atrofisi veya hipoplazisi, el ve ayak sırtlarında daha belirgin olmak üzere anormal deri pigmentasyonu görülebilmektedir (6, 34, 36). Sonraki çocukluk döneminde hafif-orta

düzyeyde entelektüel gerilik, kognitif performans düşüklüğü ve nöropsikiyatrik sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Okul çağındaki çocuklarda düşük akademik performans, dikkat sorunları, görevi ihmal, suç işleme davranışları bildirilmiştir (37).

Vitamin B12 Eksikliğinde Tanı

Vitamin B12 eksikliği, serum vitamin B12 düzeyinin <200 pg/ml olması olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, serum vitamin B12 düzeyinin düşük olmaması eksiklik olmadığını göstermemektedir (10). Periferik kan yaymasında oval makrositler ve hipersegmente nötrofiller görülebilir. Nötrofillerde hipersegmentasyon; 100 nötrofil içinde nukleus lobulasyonu en az bir adet 6 segmentli, veya en az 5 adet 5 segmentli nötrofil bulunması olarak tanımlanmaktadır. Birlikte bulunabilecek demir eksikliği ve talasemi taşıyıcılığı gibi durumlarda maskelenebileceğinden, makrositoz duyarlı ve spesifik değildir. Eksiklikten şüphelenildiğinde plazma ve idrar metilmalonik asit ve plazma homosistein düzeylerinin de değerlendirilmesi tanıda yardımcı olabilmektedir (6, 7, 10).

Vitamin B12 Eksikliğinde Tedavi

Altta yatan hastalığın özgün tedavisinin dışında vitamin B12 eksikliğinin asıl tedavisi yerine koyma tedavisidir. Hastalara genellikle siyanokobalamin formunda parenteral tedavi uygulanmaktadır (10).

Hafif ve asemptomatik olgularda diyet değişiklikleri veya altta yatan sebebin düzeltilmesi uygun bir yaklaşım olmakla birlikte, birçok olguda vitamin B12 uygulanması gerekli olmaktadır. Uygulamanın çocuk dozu halen tam olarak tanımlanamamıştır. Ciddi anemisi olan yetişkinlerde tedavinin başlangıcı esnasında hipokalemiye bağlı ani ölüm gözlenmiştir. Farklı tedavi yaklaşımları bulunmakla birlikte, ciddi anemisi olan çocuklarda başlangıçta düşük siyanokobalamin dozları (0.2 µg/kg, subkütan, 2 gün), gerekli olduğunda potasyum desteği ve transfüzyon ile aneminin parsiyel olarak düzeltilmesi önerilmektedir. Düşük başlangıç dozlarını takiben bir hafta süreyle 1000 µg/gün ve sonrasında 100 µg/hafta dozunda bir aylık tedavi önerilmektedir. Malabsorbsiyon nedeniyle oluşan vitamin B12 eksikliklerinin uzun süreli tedavisinde, aylık 100-1000 µg idame dozu önerilmektedir (6, 10). Bir diğer tedavi yaklaşımı, ilk birkaç gün tedaviye potasyum desteği ile birlikte 25-100

$\mu\text{g/g}\ddot{u}\text{n}$ dozunda parenteral vitamin B12 ile başlanması, idame tedavinin ise 200-1000 μg dozunda aylık olarak verilmesidir (7). Ağız yolundan 3 ay s\ddot{u}reyle herg\ddot{u}n 2000 μg dozunda vitamin B12 alınmasının, ayda bir 1000 μg intramusk\ddot{u}ler (IM) enjeksiyon kadar etkili olduğu bildirilmiştir (38). Ancak konjenital vitamin B12 eksikliği olan hastalarda yapılan bir \u00e7alışmada, oral vitamin B12 tedavisi ile hematolojik bulgular d\ddot{u}zelirken, vitamin B12 eksikliği g\ddot{o}stergeleri olan metil malonik asit ve homosistein d\ddot{u}zeylerinin y\ddot{u}ksek, holo-transkobalamin d\ddot{u}zeylerinin d\ddot{u}ř\ddot{u}k kaldığı g\ddot{o}r\ddot{u}lm\ddot{u}řt\ddot{u}r (39).

Vitamin B12'nin karaciğerde b\ddot{u}y\ddot{u}k oranda depolanması ve depo edilen vitamin B12'nin v\ddot{u}cudun 3-4 yıllık gereksinimini karşılayabilecek olması nedeni ile yetersiz vitamin B12 alımına bağlı eksiklik gelişen \u00e7ocuklarda tedavi ve depoların doldurulması sonrası, idame tedavisine gerek yoktur. Ancak beslenme şekli eksikliğin yeniden ortaya \u00e7ıkmasını \ddot{o}nleyecek şekilde d\ddot{u}zenlenmelidir (10).

Vitamin B12 Eksikliğinde Korunma

Yalnız anne s\ddot{u}t\ddot{u} alan bebeklere vitamin B12 i\u00e7eren multivitamin preperatlarının verilmesi eksiklik gelişmesini \ddot{o}nlemede genellikle yeterli olmaktadır. Bu bebeklerin ek besinleri almaya zamanında başlamasının sağlanması, vitamin B12 y\ddot{o}n\ddot{u}nden annelerine bağımlılıklarını azaltarak eksiklik gelişmesini \ddot{o}nlemektedir. Bebeklik d\ddot{o}neminde vitamin B12 eksikliği gelişmesini \ddot{o}nlemenin \u00e7ok \ddot{o}nemli bir yolu da gebeler ve s\ddot{u}t verme d\ddot{o}nemindeki annelerde eksiklik gelişmesini \ddot{o}nlemektir. Bu ama\u00e7la, gebelerin diyetinin vitamin B12'yi yeterli d\ddot{u}zeyde sağlayacak şekilde d\ddot{u}zenlenmesi, sosyoekonomik durumun k\ddot{o}t\ddot{u} ve vitamin B12 eksikliğinin sık olduğu b\ddot{o}lgelerde gebelere profilaktik olarak verilen demir preparatı ile birlikte vitamin B12 verilmesi \ddot{o}nerilmektedir (5, 10).

HEMOREOLOJİ

Kan dokusu homojen olmayan, çeşitli hücrel elemanların plazma içerisinde süspansiyon halinde dağıldığı, damar sisteminin içini dolduran, kalbin pompalama gücü ile bu sistem içinde tüm vücudu dolaşan, içerdiği hücreler, proteinler, hormonlar ve glukoz gibi moleküller nedeniyle vücutta taşıma, düzenleme ve savunma görevlerini üstlenen kompleks bir sıvıdır. Dokulara yeterli düzeyde kan akımı sağlanması kalbin pompalama gücüne, damar yapısına ve kanın akışkanlık özelliklerine bağlıdır (40). Hemoreoloji, canlı organizma içerisinde kanın, kan hücrelerinin ve damarların işlevlerini ve birbirleriyle olan etkileşimlerini inceleyen bilim dalıdır (11).

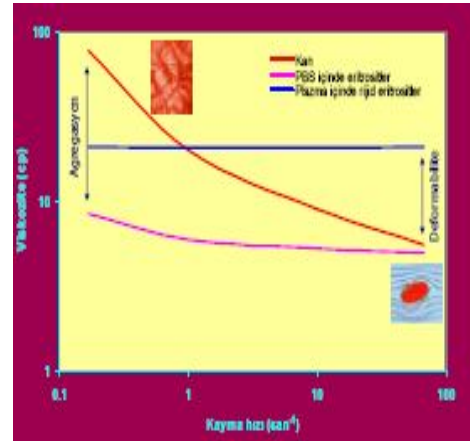
Kan, hücrel komponent ve plazma olmak üzere iki fazlı bir süspansiyon özelliğindedir (13, 41). Organizmada, damar sisteminin geometrik özelliklerine, kanın fiziksel özelliklerine ve akım hızına bağımlı olarak laminar veya türbülant karakterde akım görülebilmektedir. Fizyolojik koşullarda kan akımının karakteri laminar olup sıvı tabakalarının birbiri üzerinde kayması şeklinde gerçekleşmektedir (12, 41). Laminar akımda damarın merkezindeki tabakanın akım hızı, kenarlardaki tabakalardan çok daha fazla olmaktadır. Bunun sebebi, damara değen tabakadaki sıvı moleküllerinin damar çeperi ile aralarındaki sürtünme kuvveti nedeniyle daha zor hareket etmesi olarak düşünülmektedir. Sıvının akım hızı arttırıldığında ise, akım karakteristiğinin düzensiz ve girdaplı bir hale geldiği gözlenmektedir. Bu tipteki düzensiz akıma “türbülant akım” adı verilmektedir. Akım hızı arttıkça türbülansın derecesi de artmaktadır. Türbülant akım koşullarında akıma karşı olan direnç, laminar akımdan büyüktür (42, 43).

Reolojik bakış açısıyla sıvılar “Newton tipi olan (Newtonian)” ve “Newton tipi olmayan (Non-Newtonian)” olmak üzere ikiye ayrılırlar. Plazma gibi Newtonian sıvılarda akışkanlığın tersi anlamına gelen viskozite, kayma hızı (shear-rate) veya kayma gerilimindeki (shear-stress) değişikliklerden bağımsızdır. Değişen kayma hızlarında viskozite değişmemektedir (44). Fakat Non-Newtonian sıvılarda viskozite, kayma hızı ve kayma gerilimine göre değişiklik göstermektedir. Kan dokusu sıvı mekaniği açısından oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Tanım olarak kan, “Non-Newtonian-shear thinning” bir sıvıdır, kayma hızı arttıkça viskozitesi azalmaktadır (13). Kayma hızı arttıkça kan viskozitesinin azaldığı fakat kayma hızının büyük

arterlerdeki değerine ($100-400 \text{ sn}^{-1}$) ulaşmasından sonra ise kanın Newtonian davranış gösterdiği ifade edilmektedir (13, 41). Yani kayma hızının yüksek olduğu büyük arterlerde kanın akışkanlığı kayma hızından bağımsız hale gelmektedir (40). Genel görüş, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de plazmanın Newtonian bir sıvı olduğudur. Newtonian sıvılar ideal sıvılardır ve viskoziteleri yalnızca ısı değişikliklerinden etkilenmektedir (12, 45). Düşük kayma hızında eritrositlerin agregasyonu, kan viskozitesini belirleyen temel faktördür (46, 47). Düşük akım hızlarında kan viskozitesinin yüksek olması, eritrosit agregatlarının oluşmasına bağlıdır. Akım hızı arttırılırsa, agregatlar parçalanmaya başlamakta ve kan viskozitesinde azalma gözlenmektedir (48). Yüksek kayma hızlarında ise, eritrositlerin deformabilitesi ve kan akımına oryantasyonları viskoziteyi belirleyen temel faktörlerdir. Agregatlar tamamen parçalandıktan sonra akım hızı arttırılmaya devam edilirse, kan viskozitesi de azalmaya devam etmektedir. Bu azalma eritrositlerin deformabilitesi sayesinde olmaktadır. Şekil değiştiren eritrositlerin akımın yönüne uyum sağlamaları direnci düşürmekte, viskozite en düşük değerine ulaşmaktadır. Yüksek kayma hızlarında gözlenen viskozite değişimleri eritrosit deformabilitesi ile ilişkiliyken, düşük kayma hızlarında gözlenen viskozite değişiklikleri eritrosit agregasyonu ile ilişkilidir (Şekil 3) (12, 49).



(a)



(b)

Şekil 3. a) Farklı kayma hızlarında gözlenen eritrosit agregasyonları; **b)** Normal kan, izotonik tampon içerisinde süspansiyon edilmiş normal eritrositler ve plazmadaki rijid eritrositler için kayma hızı-viskozite eğrileri (42).

Kanın Akışkanlık Özellikleri

Ohm yasası olarak bilinen yasaya göre, bir kan damarı içindeki akımı belirleyen iki faktör bulunmaktadır. Birincisi kanı damar içinde iten kuvvet, ikincisi kan akımı sırasında oluşan damar direncidir (50). Poiseuille yasasına göre, damar içinde akan kanın reolojik özellikleri ve sistemin geometrik yapısı damar yatağının akıma karşı gösterdiği direnci belirlemektedir. Poiseuille eşitliğine göre kan akımı, damarın yarıçapının dördüncü kuvveti ile doğru, damarın uzunluğu ve kanın viskozitesi ile ters orantılıdır (13, 42).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda kapiller kan akımı direncini oluşturan dört faktör belirlenmiştir. Bu faktörler; eritrosit agregasyonu, eritrosit deformabilitesi, kapiller lümenindeki eritrosit konsantrasyonu, tam kan ve plazma viskozitesidir (51).

Tam Kan Viskozitesi

Viskozite, bir sıvının molekülleri arasındaki iç sürtünme nedeniyle akıma karşı gösterdiği dirençtir. Kanın akıma karşı gösterdiği dirence ise kan viskozitesi adı verilmektedir. Viskozite akışkanlığın tersidir. Isı artışı, tüm sıvıların viskozitesini azaltan bir etkidir. Karmaşık yapıda bir vücut sıvısı olan kanın viskozitesini ise, ısının yanı sıra bu sıvıyı oluşturan elemanların bileşimi (Hct, plazmanın içeriği) ve reolojik özellikleri de etkilemektedir. Ayrıca kanın iç yapısı (kanı oluşturan elemanların kan içindeki düzeni) akım hızına göre değişmekte ve bu durum da viskoziteyi etkilemektedir (13).

Viskozitenin değişik birimleri bulunmaktadır. Bunlar içinde en sık kullanılanı milipaskal.saniye (mPa.sn) olarak bilinmektedir (49). Tam kan viskozitesi (TKV) kayma hızına bağlıdır. Düşük kayma hızlarında (0.1/sn) suyun viskozitesinden 50-200 kat büyük olabilir iken, büyük damarlarda yüksek kayma hızlarında (>100/sn) bu fark 3-5 kata kadar inmektedir (13, 52). Sıvıların viskozitesi kapiller veya rotasyonel viskometreler aracılığıyla ölçülebilmektedir (12). Kapiller viskometreler Newtonian sıvılar için, rotasyonel viskometreler ise Non-Newtonian sıvılar için uygundur (42).

TKV'nin Hct, plazma viskozitesi, kayma gerilimi ve kayma hızı, eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, fibrinojen konsantrasyonu ve ısı gibi fizyolojik belirteçlere bağlı olduğu ortaya konmuştur (53). Kanın damar içindeki

davranışı incelendiğinde, kanın in vivo viskozitesi, viskometrede ölçülenden daha düşük bulunmaktadır. Bunun sebebi, akım sırasında eritrositlere etki eden kayma kuvvetlerinin eritrositlerin şekil değiştirmelerine sebep olarak kanın viskozitesini düşürmesidir. Bu durum Poiseuille yasasına göre, akıma karşı olan direncin azalmasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak, damar geometrisi kadar kanın reolojik davranışı da hemodinamik direncin belirleyicisi olmaktadır (13).

Plazma Viskozitesi

Hücresele elementler için ortam oluşturan plazma, hücresele elementlerin özelliğinden ve Hct değerinden bağımsız olarak viskoziteyi etkilemektedir. Plazma Newton tipi bir sıvı olup, viskozitesi kayma hızından bağımsızdır (12). Plazma viskozitesi değişimleri hastalık sürecinin nonspesifik bir belirteci olup, akut faz reaksiyonları ile ilgili patofizyolojik durumlarda artmaktadır. Bu artış, plazmanın protein içeriği ile yakın bir ilişki göstermektedir (13, 54).

Hematokrit

Kanın şekilli elemanlarının tam kandaki yüzde oranı (%) Hct olarak bilinmektedir. Eğer akış hızı az ise, Hct artışıyla ortaya çıkan viskozite artışı daha fazla olmaktadır. Bu da 'Chien'in Etkili Hücre Hacmi' olarak bilinmektedir (55). Kan viskozitesi ile Hct arasında, doğrusallığı % 20-60 arası Hct değerlerinde görülen logaritmik doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (15, 42, 45). Daha yüksek Hct'lerde TKV üstel (eksponansiyel) olarak artmaktadır (15). Hct değerlerinin artışı, kan viskozitesinin artmasına neden olmaktadır. Hücrelerin varlığı kanın iç sürtünmesini arttırmaktadır ancak yine de % 95'in üzerindeki Hct değerlerinde bile kan akışkanlığının sınırlanmadığı belirlenmiştir (12). Bu durum eritrositlerin şekil değiştirme özellikleri sayesinde bir sıvı damlacığı gibi hareket edebilmelerine bağlanmaktadır (13).

Eritrosit Deformabilitesi ve Deformabiliteyi Etkileyen Faktörler

Eritrosit deformabilitesi eritrositin kan akımı sırasında kendisine uygulanan kuvvetlere yanıt olarak şekil değiştirebilme yeteneğidir (56). Eritrositin şekil değişikliği, bunu oluşturan güçler ortadan kalktığında geri dönüşümlüdür. Eritrositler bikonkav disk yapısında en yüksek şekil değiştirebilme yeteneğine sahip olup, bu şekillerinden uzaklaştıkça deformabilite yetenekleri azalmaktadır. Eritrosit deformabilitesi kan dolaşımının devamında etkin bir rol oynarak, 8 µm çapındaki eritrositlerin 2-3 µm çapındaki kapillerlerden geçebilmesini sağlamaktadır (42, 57). Bu şekil değişikliğinin miktarı eritrositlerin hücresel özellikleri, onlara uygulanan kuvvetlere oryantasyonları ve bu oryantasyonun büyüklüğü tarafından belirlenmektedir. Eritrosit deformabilitesini hücre membranının viskoelastisitesi, hücre geometrisi ve hücrenin internal (iç) viskozitesi belirlemektedir. Hücre membranının viskoelastisitesi, membranın moleküler yapısına ve hücrenin metabolik durumuna bağlıdır. Membranın moleküler yapısı, yüzey alanının hücre hacmine oranı olarak ifade edilmektedir (14, 57).

Eritrosit Membranının Viskoelastik Özellikleri

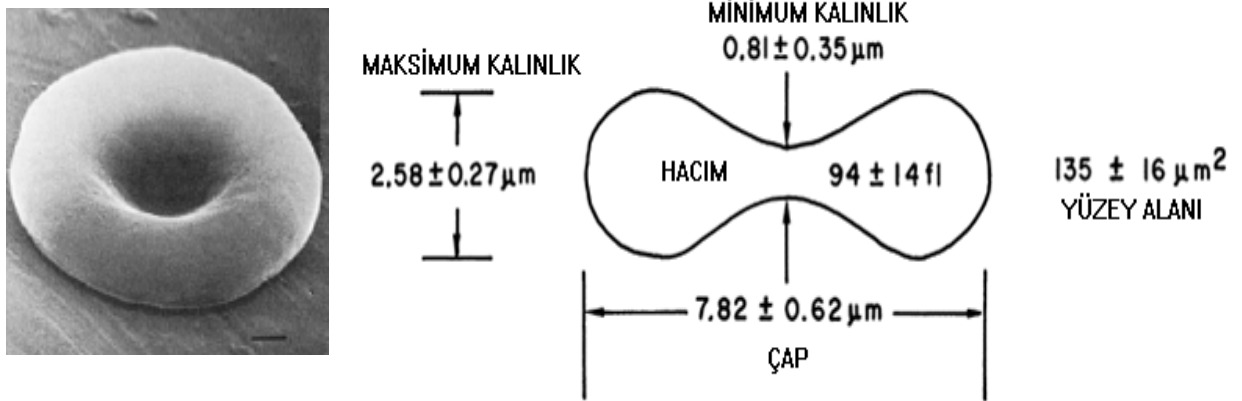
Eritrosit membranının viskoelastik özellikleri, eritrosit membran iskeletinin yapısı ve proteinler arasındaki ilişkiler ile belirlenmektedir (58). Eritrosit membranı diğer hücrelerde de olduğu gibi, hidrofilik başları dışarıya, hidrofobik başları ise içeriye bakan iki katlı fosfolipid tabakadan oluşmaktadır. Eritrosit hücre membranı yaklaşık 10 esas polipeptit içermekte ve membrandaki lipit tabakanın altında spektrin, aktin, band 4.1 proteinlerinin hegzogonal olarak dizildiği güçlü, esnek, daha az hareketli membran iskeleti bulunmaktadır (50). Hücre iskeletinin birçok özelliği için spektrin-ankrin-band 3 ilişkisi gereklidir. Ancak band 3 yokluğunda bile iskelet sağlam kalmaktadır. Band 4.1 proteini spektrin-aktin iskeletinin esnekliğini sağlamaktadır (59).

Eritrosit iskelet proteinlerinin %75'ini oluşturan spektrin, membranın doğal halinde katlanmış halde bulunmaktadır. Kuvvet uygulandığında ise protein örgüsü yeniden organize olmakta ve uygulanan kuvvetin yönüne göre bazı spektrin molekülleri açılıp uzarken, bir kısmı fazla büzüşmekte, bu da eritrositlerin şekil değiştirmesini sağlamaktadır. Eritrosit membranının büyük bir kuvvete veya uzun

süre düşük bir kuvvete maruz kalması membranın elastisitesini azaltmakta, eritrositlerde kalıcı şekil bozukluğu yapabilmektedir (50).

Hücre Geometrisi (Yüzey Alanı-Hacim İlişkisi)

Normal istirahat halinde olgun eritrositler, çapları 8 μm , hacimleri ortalama 90 femtolitre (fL) ve membran yüzey alanları 140 μm^2 olan bikonkav disk şeklindedir. Bu diskin kenarlardaki maksimum kalınlığı 2.5 μm , ortadaki en düşük kalınlığı ise 0.8 μm 'dir (Şekil 4) (27).



Şekil 4. Eritrositlerin bikonkav-disk yapısı (60)

Bu özel şeklin korunmasında etkili beş faktör olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar; membran içindeki elastik kuvvetler, yüzey gerilimi, membran yüzeyindeki elektriksel kuvvetler, osmotik ve hidrostatik basınçlardır (27). Eritrositlerin normal bikonkav disk şekillerinden dolayı hacimlerine göre daha büyük yüzey alanına sahip olmaları, hem hücreye yüzey alanını genişletmeksizin şekil değiştirme olanağı sağlamakta, hem de oksijen taşıma kapasitelerini arttırmaktadır (15, 57). Yüzey alanı-hacim ilişkisi sayesinde eritrositler orjinal boylarının %30'una kadar lineer uzama gösterebilmektedir. Eritrosit hacminde bir değişiklik olmaksızın yüzey alanındaki %5-10'luk bir artış bile eritrositin parçalanma ve lizisine neden olmakta, ayrıca deformabilite yeteneğinde önemli azalmalara neden olmaktadır (14).

Sitoplazmik Viskozite

Eritrosit hacminin %70'ini oluşturan suyun, %45'i hücre içi proteinlere bağlı iken, %25'i ise serbest şekildedir. Geri kalan %30'luk hacmin, %25'ini hemoglobin

(Hb) ve %5'ini protein, lipoprotein ve membran materyali oluşturmaktadır (50). Sitoplazmanın önemli bir içeriği olan ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) sitoplazma akışkanlığını belirlemektedir. Hücre yaşlanması, herediter sferositoz veya orak hücreli anemi gibi hemoglobinopatiler hücrede dehidratasyon meydana getirerek MCHC'de artışa neden olmaktadır. Eritrositlerin MCHC'lerinde artış olması, sitoplazmik viskoziteyi arttırmakta, artmış sitoplazmik viskozite ise eritrosit deformabilitesinde azalma ile sonuçlanmaktadır (14).

Eritrosit Agregasyonu ve Agregasyonu Etkileyen Faktörler

Eritrositler plazma içerisinde asılı olarak bulunmakta ve rulo formasyonu oluşturmaktadır. Plazmada özellikle fibröz proteinler agregasyondan sorumludurlar. Normal fizyolojik koşullarda eritrosit agregasyonu çok kompleks, dinamik ve geri dönüşümlü bir olaydır (42, 45).

Eritrosit agregasyonu değişik yöntemlerle ölçülebilmektedir. Fotometrik tekniklere dayalı yeni yöntemler ile ışık yansımalarıyla eritrosit süspansiyonundan oluşan kanın agregasyon gücü, agregasyonun büyüklüğü ve hızı hakkında bilgi edinilmektedir (61). Eritrosit agregasyonunun büyüklüğü kayma hızı ile ters orantılıdır. Akım hızının yavaşlaması ile eritrosit agregatlarının oluşması kan akımı içinde sıvı tabakaları arasındaki sürtünme kuvvetini arttırmakta ve kanı daha visköz hale dönüştürmektedir (48). Kendi plazmalarında spontan agregatlar oluşturabilen eritrositlere kayma kuvvetleri uygulandığında, agregatların kolayca dağılabildikleri, fakat bu kuvvetler ortadan kalktığında eritrositlerin yeniden agregate olduğu gözlenmiştir (15, 57). Eritrosit agregasyonunun oluşumu eritrositleri bir arada tutan kuvvetlerle (agregan kuvvetler), agregasyonu dağıtmaya çalışan kuvvetler (disagregan kuvvetler) arasındaki denge ile yakından ilişkilidir (42).

Eritrosit agregasyonunun derecesi damar sisteminin çeşitli bölümlerinde farklı büyüklüklerde olabilmektedir. Bu büyüklüğü belirleyen en önemli faktör bu bölümlerdeki yerel kayma kuvvetleridir (52, 57). Eritrosit agregatları düşük kayma geriliminin hakim olduğu venöz damarlarda ve çeşitli nedenlerle kan akımının yavaşladığı damar bölümlerinde yoğunluk kazanmakta ve bu bölümlerde kan viskozitesinin artışına neden olarak akım direncini yükseltmektedir (46, 47).

HEMATOLOJİK HASTALIKLARDA HEMOREOLOJİ

Literatürde pek çok hastalık durumunda hemoreolojik parametrelerin değiştiği bildirilmiştir (42, 57). Kanın akışkanlık özellikleri, perfüze olan dokunun metabolik durumuna duyarlıdır. Kan komponentleriyle temas halinde bulunan iç ortam değişiklikleri bu elemanların reolojik özelliklerini etkilemektedir (56). Hemoreolojik parametrelerin bozulması, eritrosit ömrünün kısalmasına, mikrovasküler perfüzyonun bozulmasına ve dolayısıyla tromboz oluşumuna yol açabilmektedir (14, 17) .

Eritrositlerde şekil bozukluğuyla seyreden hematolojik hastalıklarda eritrosit deformabilitesi genellikle değişmiştir (14). Eritrosit membran defektiyle karakterize herediter sferositoz ve eliptositoz gibi hastalık tablolarında, eritrosit deformabilitesi azalmış olarak saptanmaktadır (14, 62). Eritrosit şekil bozukluğu ile seyreden bir diğer hastalık olan orak hücreli anemide, hücrenin membran yapısındaki değişikliklere bağlı olarak eritrosit deformabilitesi azalmaktadır (63). Bu hastalarda özellikle vazooklüzif kriz esnasında hematokrit ve tam kan viskozitesinde artış olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (64). Talasemilerde yapılan çalışmalarda tam kan viskozitesinin artmış, eritrosit deformabilitesinin azalmış olduğu bildirilmiştir (65-67). Eritrositlerde hipokromi ve mikrositoz ile karakterize olan demir eksikliği anemisinde, eritrosit deformabilitesi, agregasyonu, plazma ve tam kan viskozitelerinde azalma olduğu, demir tedavisi sonrası tüm bu değerlerin kontrol grubu ile benzer düzeylere geldiği saptanmıştır (68).

Büyük ve genellikle oval şekilli eritrositler ve nötrofillerde hipersegmentasyonla karakterize vitamin B12 eksikliğine bağlı megaloblastik anemisi olan hastalarda yapılan bir çalışmada eritrosit deformabilitesinin azalmış olduğu, tedavi sonrası deformabilitede artış olduğu saptanmıştır (17). B12 vitamininin hemoreolojik parametreler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma literatürde az sayıda olup, bu çalışmalarda incelenen hemoreolojik parametreler arasında yalnızca eritrosit deformabilitesi yer almaktadır. Çocukluk yaş grubunda bu konuda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz çalışma çocukluk yaş grubunu içermekte olup, hemoreolojik parametreler arasında eritrosit deformabilitesine ek olarak eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskoziteleri yer almaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ

Ocak 2012-Ağustos 2012 tarihleri arasında yapılan bu çalışmaya, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji polikliniğine başvuran 2 ay-16 yaş arası, nutrisyonel vitamin B12 eksikliği tanısı alan 17 kız, 16 erkek olmak üzere toplam 33 hasta dahil edildi. Kontrol grubu, vitamin B12 eksikliği hasta grubu ile yaş ve cinsiyet olarak benzer, 16 kız ve 15 erkek toplam 31 sağlıklı çocuktan oluşturuldu. Projeye ilişkin bilgiler, çalışma formu ve bilgilendirilmiş onam formu örnekleri ile başvurularak çalışma öncesi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 03.05.2011 tarih ve B.30.2.PAÜ.0.20.05.09/79 sayı ile onay alındı. Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi. Ailelere çalışma ile ilgili yazılı ve sözlü bilgi verildikten sonra, çalışmaya katılmayı kabul eden ebeveynlerden yazılı onam formu alındı. Hasta grubunda serum vitamin B12 düzeyi <200 pg/ml olanlar (10), periferik yaymada makrosit, makroovalosit, polimorf nüveli lökositlerde hipersegmentasyon bulunanlar çalışmaya dahil edilirken, hipotiroidi, kronik, nörolojik, metabolik hastalığı veya kronik malnütrisyonu olanlar, demir eksikliği, folik asit eksikliği veya talasemi minor eşlik edenler, idrar tetkikinde proteinüri bulunanlar, açlık kan şekeri ve lipidleri yüksek olanlar, tedaviye uyumsuz olanlar ve takipte kronik hastalık ortaya çıkanlar çalışmadan dışlandı. Sağlıklı kontrol grubunda ise serum vitamin B12 düzeyi ve periferik yayma bulguları normal olan ve hasta grubu dışlama kriterleri bulunmayan, tamamen sağlıklı çocuklar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan tüm çocuklara fizik muayene, kilo ve boy ölçümü yapıldı. Ayrıntılı beslenme öyküleri, kırmızı et ve hayvansal gıda tüketimleri, anne sütü ile beslenen hastalarda annelerin beslenme öyküleri, kırmızı et ve hayvansal gıda tüketimi sorgulandı. Tam kan sayımı, periferik yayma değerlendirmesi, retikülosit sayımı, tiroid fonksiyon testleri (serbest T4 ve TSH), karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, total ve direkt bilirubin), LDH, ürik asit ölçümü yapıldı. Hastalarda demir eksikliği serum ferritin ölçümü, demir ve total demir bağlama kapasitesi ölçümünden hesaplanan transferrin saturasyonu ile, folik asit eksikliği serum folik asit düzeyi ölçümü ile, Imerslund-Grasbeck sendromu tam idrar tetkikinde idrarda proteinüri varlığı araştırılması ile dışlandı. Hemoreolojik

parametreleri etkileyebilecek olması nedeni ile açlık lipidleri (total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, VLDL) ve açlık kan şekeri ölçümleri yapılarak anormal sonuçlananlar dışlandı. Hasta grubunda vitamin B12 eksikliğinde artması beklenen plazma homosistein düzeyi ölçümü yapıldı. Homosistein düzeyleri yaşa göre değerlendirilmiş olup, 0-6 yaş arası 3.87 µmol/L, 7-11 yaş arası 8.7 µmol/L , ve 12-17 yaş arası çocuklarda 13.54 µmol/L üzerindeki değerler yüksek kabul edildi (69). Metil malonik asit düzeyleri, hastanemizde metabolizma laboratuvarı ve metabolizma uzmanı bulunmaması nedeni ile çalışılmadı. Hemoreolojik parametreler sağlıklı kontrol grubunda bir kez, hasta grubunda tanı anında ve uygun vitamin B12 desteği sonrası ikinci ayda olmak üzere toplam iki kez çalışıldı.

Vitamin B12 eksikliği olan hastalara siyanokobalamin formunda vitamin B12 IM enjeksiyon şeklinde verildi. Kliniğimizde vitamin B12 eksikliğinde tedavi şekli potasyum takibi ile birlikte 1000 µg'lık siyanokobalamin formunda vitamin B12 ampül, 3 yaş altı çocuklara ½ ampül (500 µg/doz), 3 yaş üstü çocuklara 1 ampül (1000 µg/doz) olacak şekilde olup, ilk 5 gün her gün, ardından gün aşırı toplam 5 kez, takiben haftada iki gün toplam 5 kez, sonrasında bir ay süre ile haftada bir kez ve ihtiyaca göre 5 ay süre ile ayda bir kez olacak şekilde IM enjeksiyon şeklinde düzenlenmektedir. Vitamin B12 eksikliği saptanan tüm hastaların tedavileri bu şekilde düzenlendi. Vitamin B12 tedavisine ek olarak tüm hastalara uygun diyet önerilerinde bulunuldu. Hasta grubu ikinci ayda tekrar kontrole çağrılarak tam kan sayımı, periferik yayma değerlendirmesi, retikülosit sayımı, serum vitamin B12, plazma homosistein ölçümü ve hemoreolojik parametreler yeniden değerlendirildi.

ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE ÖLÇÜMLER

Çalışmaya katılan tüm çocuklardan kan ve spot idrar örnekleri alındı. Biyokimya Anabilim Dalı Merkez Laboratuvar'ında hasta ve kontrol grubundan EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri ile tam kan sayımı ve retikülosit sayımı, ışık saçılma yöntemi ile (Siemens ADVIA® 2120i System, Siemens Healthcare Diagnostics, Japonya) yapıldı. Vakumlu jelli düz biyokimya tüplerine alınan venöz kan örneklerinden vitamin B12, folik asit, ferritin, serbest T4 ve TSH elektrokemilüminesans yöntemi ile, demir ve total demir bağlama kapasitesi kolorimetrik yöntemle (Roche Cobas 6000, Roche Hitachi Diagnostics, Japonya),

AST ve ALT enzimatik yöntemle, total ve direkt bilirubin diazo-kolorimetrik yöntemle, LDH ve glukoz UV-test/fotometrik yöntemle, ürik asit, total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, VLDL enzimatik-kolorimetrik yöntemle (Roche Cobas 8000, Roche Hitachi Diagnostics, Japonya) ölçüldü. EDTA'lı ve buzlu tüpe alınan kan örneklerinden plazma homosistein düzeyleri kemiluminesans yöntemi ile (Siemens IMMULITE® 2000 immunoassay system, Siemens Healthcare Diagnostics, Japonya) çalışıldı. İdrar tüplerine alınan idrar örneklerine önce strip testi uygulanıp mikroskopik bakısı yapıldı. Hemoreolojik parametreler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda çalışıldı. Hemoreolojik parametrelerden eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskoziteleri venöz kan örnekleri EDTA'lı tüpe alınarak, en geç 2 saat içinde çalışıldı.

Eritrosit Şekil Değişirme Yeteneği (Deformabilite) Ölçümü

Eritrosit deformabilitesi bir ektasitometre (LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) kullanılarak, çeşitli sıvı kayma kuvvetlerinde lazer difraksiyon analizi ile değerlendirildi. Bu ektasitometrenin çalışma prensibi kısaca şu şekildedir: Eritrosit süspansiyonları aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan bir viskometre sistemine yerleştirilir. İki cam silindirin arasındaki boşluğa doldurulan süspansiyon, dıştaki cam silindirin sistemi kontrol eden bilgisayar tarafından, uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızda döndürülmesiyle, bu kuvvetlerin etkisi altında bırakılır. Bu sırada sabit silindirin içinde yer alan bir lazer kaynağından çıkan ışın, eritrosit süspansiyonuna ulaşmakta ve sonra bir ekran üzerine yansıyan difraksiyon paterni, süspansiyondaki eritrositlerin şeklini ve dönme hareketinin yarattığı akıma oryantasyonlarını yansıtmaktadır. Artan kayma kuvvetlerine paralel olarak, dairesel bir formdan elipsoid forma dönüşümün derecesi ile eritrositlerin şekil değişirme yetenekleri (deformabilite) arasında doğru orantı vardır. Elipsoid difraksiyon paterninin uzun (A) ve kısa (B) eksenlerinin uzunluklarının bilgisayar tarafından saptanması $EI = \frac{A-B}{A+B}$ şeklinde bir elongasyon indeksi (EI)'nin hesaplanmasına olanak tanımaktadır.

Eritrosit Agregasyonu Değerlendirilmesi

Eritrosit agregasyonu da aynı cihaz (LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) kullanılarak değerlendirildi. Hastaların Hct değerleri belirlendi ve plazma eklenmesi/veya çıkarılması ile Hct standart olarak % 40'a ayarlandı. 15 dakika boyunca oksijenize edilen tam kan örnekleri aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan bir sisteme yerleştirildi. Bu yöntemle cihaz önce bilgisayar tarafından belirlenen yüksek hızda dönmek suretiyle eritrosit agregatlarının ayrışmasına sebep olmakta daha sonra oluşan agregatlar ölçülmektedir. Bir bilgisayar programı aracılığıyla agregasyon indeksi (AI), agregasyon kinetiğinin bir göstergesi olan agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$), ve agregasyon genliği (AMP) belirlendi.

Tam Kan ve Plazma Viskozitesi Ölçümü

Tam kan ve plazma viskozitesi bir Wells Brookfield cone-plate viskometre (Model DV-II+Pro, Brookfield Engineering Labs, Middleboro, MA) kullanılarak belirlendi. Hastaların Hct değerleri ölçülüp ve hem orjinal Hct'te hem de plazma eklenmesi/veya çıkarılması ile Hct % 40'a ayarlanarak standart Hct'te, 75-375 s⁻¹ kayma hızlarında tam kan viskoziteleri ölçüldü. Ek olarak plazma viskozitesi de aynı viskometre ile 375 s⁻¹ kayma hızında ölçüldü.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Bulguların normal dağılıma uygunluğu *Shapiro Wilk Testi* ile değerlendirildi. Aynı bireylerin tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçümlerinin karşılaştırılmasında, normal dağılıma uygun olanlar için *İki Eş Arasındaki Farkın Önemlilik Testi* ve normal dağılıma uygun olmayanlar için *Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi* kullanıldı. İki grup arasındaki farkın karşılaştırılmasında, normal dağılıma uygun olanlar için *İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi* ve normal dağılıma uygun olmayanlar için *Mann Whitney U Testi* kullanıldı. Ayrıca *Pearson Korelasyon Analizi* yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak verildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya katılan toplam 64 çocuğun 33'ü kız (%51.5), 31'i erkek (%48.5) idi. Vitamin B12 eksikliği olan hasta grubundaki çocukların 17'si kız (%51.5), 16'sı erkek (%48.5), sağlıklı kontrol grubundaki çocukların ise 16'sı kız (%51.4), 15'i erkek (%48.6) idi. Vitamin B12 eksikliği olan 33 çocuğun yaş ortalaması 7 ± 5.7 yıl (2 ay-16 yaş), sağlıklı kontrol grubundaki 31 çocuğun yaş ortalaması 7.1 ± 5.2 yıl (6 ay-16 yaş) olarak saptandı ($p>0.05$). Hasta grubunun %33.3'ü (n:11) 2 yaşın altındaydı. Hasta grubundaki tüm çocukların ve süt çocuklarının annelerinin beslenme öykülerinde kırmızı et yeme sıklığı ayda bir veya daha azdı.

Vitamin B12 eksikliği olan hasta grubunda tedavi öncesi vitamin B12 düzeyi ortalama 144.7 ± 43.6 pg/ml (30-196), tedavi sonrası 789 ± 505.9 pg/ml (209-2000) idi. Sağlıklı kontrol grubunda vitamin B12 düzeyi ortalama 416.1 ± 181.9 pg/ml (233-897) olarak saptandı. Hasta grubunda tedavi öncesi tüm çocuklarda periferik kan yayması değerlendirilmesinde makrosit, makroovalosit, polimorf nüveli lökositlerde hipersegmentasyon mevcutken, tedavi sonrası ve sağlıklı kontrol grubunda periferik kan yayması bulguları normaldi. Hasta grubunda tedavi öncesi ortalama Hb 10.8 ± 0.5 g/dl (8.6-11.8), ortalama Hct % 32.5 ± 2.5 (26-37), ortalama MCV 92.1 ± 5 fL (83-105), ortalama retikülosit sayısı % 0.9 ± 0.1 (0.6-1.4), ortalama homosistein düzeyi 19.2 ± 3.5 μ mol/L (14.6-33.7) saptandı. Tedavi sonrası ortalama Hb 12.4 ± 0.9 g/dl (11.2-14.5)'a, ortalama Hct % 37.5 ± 3.2 (33-43)'ye ve ortalama retikülosit sayısı % 1.4 ± 0.2 (1-2.1)'ye yükselirken, ortalama MCV'nin 80.1 ± 4 fL (73.8-89)'e ve ortalama homosistein düzeyinin 6.8 ± 1.9 μ mol/L (4.2-10.3)'a düştüğü görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda ise ortalama Hb 13.1 ± 0.7 g/dl (12.1-15), ortalama Hct % 40.8 ± 1.7 (36-45) ve ortalama MCV 80.4 ± 4 fL (75-91) olarak saptandı. 33 hastanın tümünde tedavi öncesi homosistein düzeyi yüksek olarak saptanırken, tedavi sonrası homosistein düzeylerinde anlamlı düşüş saptandı ($p:0.0001$). Ortalama Hb, Hct ve retikülosit sayısı, tedavi öncesi grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunurken ($p:0.0001$, $p:0.0001$, $p:0.0001$), tedavi sonrası bu değerlerin tedavi öncesine göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği saptandı ($p:0.0001$, $p:0.0001$, $p:0.0001$). MCV tedavi öncesi grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek iken ($p:0.0001$), tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı düzeyde düştüğü

görüldü (p:0.0001). Tedavi sonrası hastaların hematolojik değerleri kontrol grubuna yakın düzeylere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında hematolojik parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Grupların vitamin B12, homosistein düzeyleri ve diğer hematolojik parametreleri Tablo 1’de p değerleri ile birlikte verilmiştir.

Tablo 1. Grupların vitamin B12, homosistein ve hematolojik değerleri

Parametreler	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
Vitamin B12 (pg/ml)	416.1±181.9 (233-897)	144.7±43.6 (30-196)	789±505.9 (209-2000)	0.0001	0.0001
Hb (g/dl)	13.1±0.7 (12.1-15)	10.8±0.5 (8.6-11.8)	12.4±0.9 (11.2-14.5)	0.0001	0.0001
Hct (%)	40.8±1.7 (36-45)	32.5±2.5 (26-37)	37.5±3.2 (33-43)	0.0001	0.0001
RBC (M/ μ L)	4.8±0.4 (4.2-5.7)	4.2±0.5 (2.8-5.1)	4.7±0,3 (4.1-5.4)	0.0001	0.0001
MCV (fL)	80.4±4 (75-91)	92.1±5 (83-105)	80.1±4 (73.8-89)	0.0001	0.0001
MCH (pg)	26±2.8 (18-31)	26.9±2.9 (19-33)	25.7±3 (18-30)	>0.05	0.014
MCHC(g/dl)	32.7±1.2 (30-34.9)	33.9±1.5 (31-37.6)	32.9±1.5 (30.8-36.7)	0.001	0.002
RDW (%)	14±1.1 (11.9-16.6)	15±2.3 (11.8-25)	15±1.7 (12.8-22)	0.027	>0.05
MPV (fL)	8.6±1 (7.1-11.1)	7.9±1.3 (5.4-11.7)	8±0,8 (6.5-10.7)	0.025	>0.05
WBC (K/ μ L)	7.9±2.2 (4.8-12.8)	7.6±2.2 (4.1-12.9)	8.4±2.4 (4.3-14.2)	>0.05	>0.05
Plt (K/ μ L)	332.3±73.1 (222-527)	393.7±121.6 (228-683)	400.3±119.8(201-660)	>0.05	>0.05
Retikülosit sayısı (%)	1.1±0.06 (1-1.2)	0.9 ±0.1 (0.6-1.4)	1.4±0.2 (1-2.1)	0.0001	0.0001
Homosistein (μ mol/L)	-	19.2±3.5 (14.6-33.7)	6.8±1.9 (4.2-10.3)	-	0.0001

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

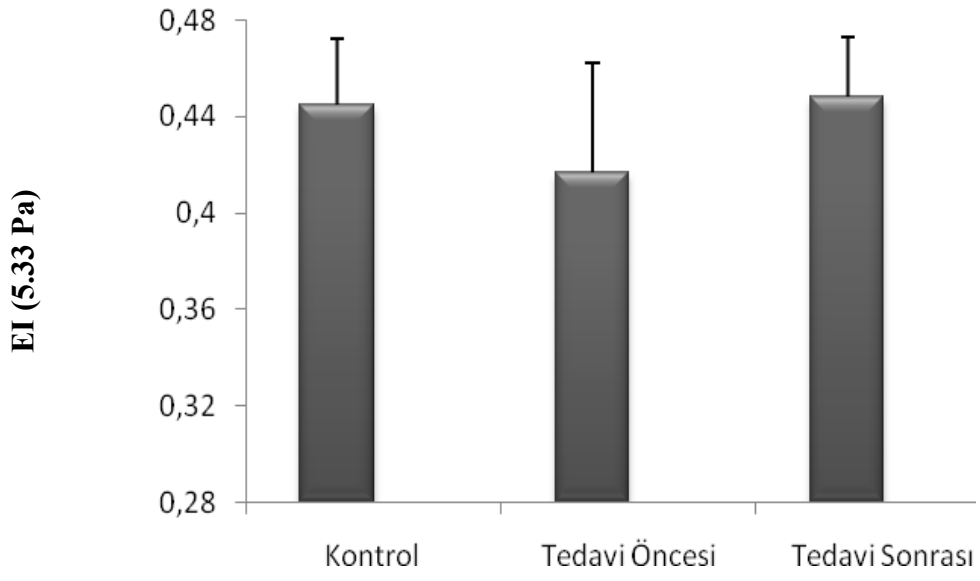
* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

**Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.

Hb: Hemoglobin, Hct: Hematokrit, RBC: Eritrosit sayısı, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobin miktarı, MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: Eritrosit dağılım genişliği, MPV: Ortalama platelet hacmi, WBC: Beyaz küre sayısı, Plt: Platelet sayısı.

ERİTROSİT DEFORMABİLİTE ÖLÇÜMLERİ

Eritrosit şekil değiştirme yeteneğinin (deformabilite) göstergesi olan elongasyon indeksleri (EI), 0.30 Pa ile 30.00 Pa arasındaki 9 farklı kayma kuvvetinde ölçüldü ve ortalamalar karşılaştırıldı. 0.30, 0.53 ve 0.95 Pa kayma kuvvetlerinde eritrositlerin ortalama EI'leri karşılaştırıldığında ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). 1.69 Pa kayma kuvvetinde yapılan ölçümlerde tedavi öncesi grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), hasta grubunda tedavi sonrası yapılan ölçümlerde EI'lerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış saptandı ($p:0.02$). 3.00, 5.33, 9.49, 16.87 Pa kayma kuvvetlerinde yapılan ölçümlerde EI'lerinin hasta grubunda tedavi öncesi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanırken (sırasıyla $p:0.026$, $p:0.004$, $p:0.001$, $p:0.002$), hasta grubunda tedavi sonrası EI'lerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdiği bulundu (sırasıyla $p:0.003$, $p:0.001$, $p:0.0001$, $p:0.0001$). 30.00 Pa kayma kuvvetinde yapılan ölçümlerde ise, hasta grubunda tedavi öncesi ortalama EI'lerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p:0.004$) ve tedavi sonrası bu ölçümlerde artış olduğu görüldü, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Tedavi sonrası hastaların tüm kayma kuvvetlerinde ölçülen EI'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında EI'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların tüm kayma kuvvetlerinde ölçülen ortalama EI'leri ve p değerleri Tablo 2'de verilmiştir. 5.33 Pa kayma kuvvetinde yapılan ölçümler Şekil 5'de örnek olarak gösterilmiştir.



Şekil 5. 5.33 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit elongasyon indeksi (EI) değerleri

Tablo 2. Farklı kayma kuvvetlerinde ölçülmüş elongasyon indeksi (EI) değerleri

Kayma kuvveti (Pa)	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
0.30	0.049±0.021 (0.023-0.121)	0.052±0.023 (0.003-0.121)	0.045±0.019 (0.010-0.095)	>0.05	>0.05
0.53	0.079±0.023 (0.038-0.154)	0.076±0.038 (0.001-0.0181)	0.097±0.096 (0.037-0.210)	>0.05	>0.05
0.95	0.158±0.034 (0.100-0.248)	0.149±0.048 (0.067-0.268)	0.163±0.035 (0.100-0.257)	>0.05	>0.05
1.69	0.260±0.038 (0.196-0.348)	0.242±0.050 (0.143-0.358)	0.265±0.034 (0.195-0.359)	>0.05	0.02
3.00	0.360±0.034 (0.293-0.433)	0.336±0.047 (0.211-0.434)	0.365±0.030 (0.297-0.438)	0.026	0.003
5.33	0.445±0.027 (0.383-0.498)	0.417±0.045 (0.273-0.487)	0.448±0.025 (0.400-0.499)	0.004	0.001
9.49	0.511±0.020 (0.466-0.546)	0.480±0.044 (0.332-0.540)	0.513±0.023 (0.466-0.551)	0.001	0.0001
16.87	0.564±0.019 (0.524-0.595)	0.534±0.045 (0.385-0.589)	0.565±0.021 (0.518-0.603)	0.002	0.0001
30.00	0.605±0.018 (0.569-0.632)	0.582±0.062 (0.426-0.820)	0.605±0.020 (0.562-0.637)	0.004	>0.05

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

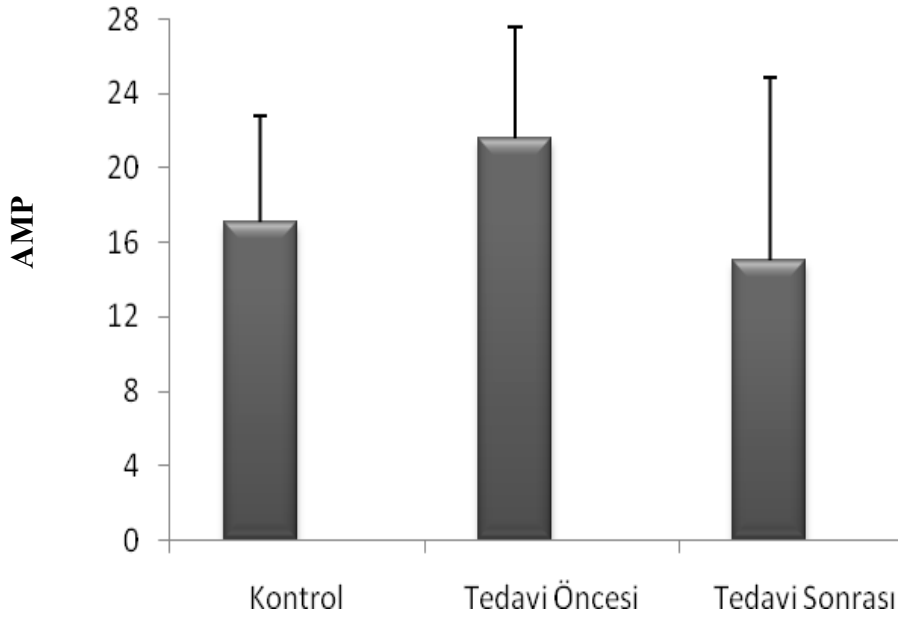
* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

**Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.

Pa: Pascal

ERİTROSİT AGREGASYON AMPLİTUDU

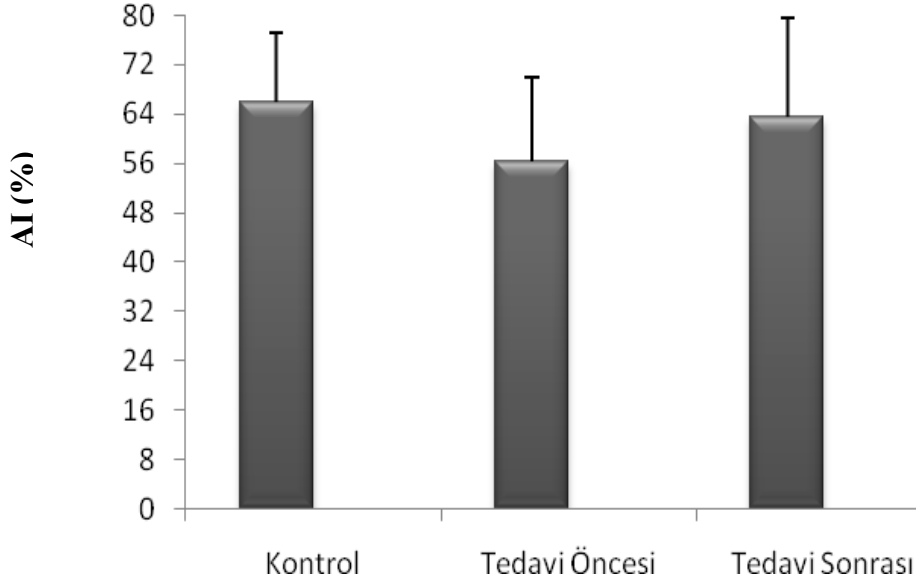
Ortalama agregasyon amplitudu (genliği) hasta grubunda tedavi öncesi 21.596 ± 6.011 (0.100-28.820) olarak ölçülmüş olup, tedavi sonrası 14.986 ± 9.886 (0.050-29.170)'ya düştüğü görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda ise ortalama eritrosit agregasyon amplitudu 17.095 ± 5.699 (7.330-27.890) olarak ölçüldü. Hasta grubunda tedavi öncesi ortalama AMP'nin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ($p:0.0001$). Tedavi sonrası ise tedavi öncesi gruba göre ölçülen AMP değerlerinin anlamlı şekilde düşüş gösterdiği bulundu ($p:0.002$) (Tablo 3). Tedavi sonrası hastaların ölçülen AMP'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında AMP'ler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların AMP ölçümleri Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Eritrosit agregasyon amplitudu (AMP) değerleri

ERİTROSİT AGREGASYON İNDEKSİ

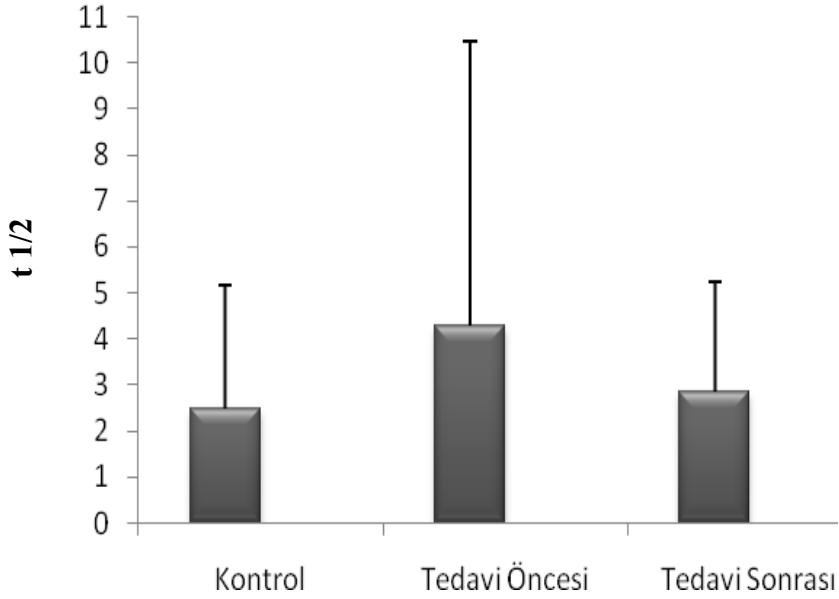
Agregasyon indeksi (AI) hasta grubunda tedavi öncesi ortalama 56.386 ± 13.526 (5.060-73.250) iken, tedavi sonrası 63.410 ± 16.291 (11.820-99.670)'e yükseldi. Sağlıklı kontrol grubunda ise ortalama eritrosit agregasyon indeksi 65.971 ± 11.213 (43.800-93.390) olarak ölçüldü. Ölçümler sonucu hasta grubunda tedavi öncesi AI'nin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanırken ($p:0.002$), tedavi sonrası AI'nin yükseldiği, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0.05$) (Tablo 3). Tedavi sonrası hastaların ölçülen AI'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında AI'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların AI ölçümleri Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. Eritrosit agregasyon indeksi (AI) değerleri

ERİTROSİT AGREGASYON YARI ZAMANI

Agregasyon kinetiğinin bir göstergesi olan eritrosit agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$), hasta grubunda tedavi öncesi ortalama 4.278 ± 6.176 (1.260-37.510) ölçülmüş olup, tedavi sonrası bu değer 2.833 ± 2.398 (0.010-8.860)'e düştüğü görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda ise ortalama eritrosit agregasyon yarı zamanı 2.483 ± 2.689 (0.010-14.990) olarak ölçüldü. Hasta grubunda tedavi öncesi $t_{1/2}$ sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanırken ($p:0.003$), tedavi sonrası $t_{1/2}$ 'de düşüş olduğu görüldü, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p:>0.05$) (Tablo 3). Tedavi sonrası hastaların ölçülen $t_{1/2}$ 'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında $t_{1/2}$ 'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların $t_{1/2}$ ölçümleri Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Eritrosit agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$) değerleri

Tablo 3. Eritrosit agregasyon amplitudu, agregasyon indeksi, agregasyon yarı zamanı ölçümleri

	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
AMP	17.095±5.699 (7.330-27.890)	21.596±6.011 (0.100-28.820)	14.986±9.886 (0.050-29.170)	0.0001	0.002
AI	65.971±11.213 (43.800-93.390)	56.386±13.526 (5.060-73.250)	63.410±16.291 (11.820-99.670)	0.002	>0.05
t 1/2	2.483±2.689 (0.010-14.990)	4.278±6.176 (1.260-37.510)	2.833±2.398 (0.010-8.860)	0.003	>0.05

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

** Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.

AMP: Eritrosit agregasyon amplitudu, AI: Eritrosit agregasyon indeksi, t1/2: Eritrosit agregasyon yarı zamanı.

OTOLOG HEMATOKRİTTE ÖLÇÜLEN TAM KAN VİSKOZİTESİ

Bireylerin orijinal Hct değerlerinde tam kan viskozitesi (TKV) 75-375 s⁻¹ kayma hızlarında ölçüldü. Otolog Hct'te 75, 150 ve 375 s⁻¹ kayma hızlarında yapılan ölçümlerin tümünde, hasta grubunda tedavi öncesi TKV sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük (sırasıyla p:0.0001, p:0.0001, p:0.0001) saptandı. Tedavi sonrası TKV'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu saptandı (sırasıyla p:0.0001, p:0.001, p:0.001). Tedavi sonrası hastaların otolog Hct'te ölçülen TKV'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında otolog TKV'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Grupların otolog Hct'te tüm kayma hızlarında yapılan ölçümleri ve p değerleri Tablo 4'de verilmiştir. 150 s⁻¹ kayma hızında ölçülen değerler örnek olarak Şekil 9'da gösterilmiştir.

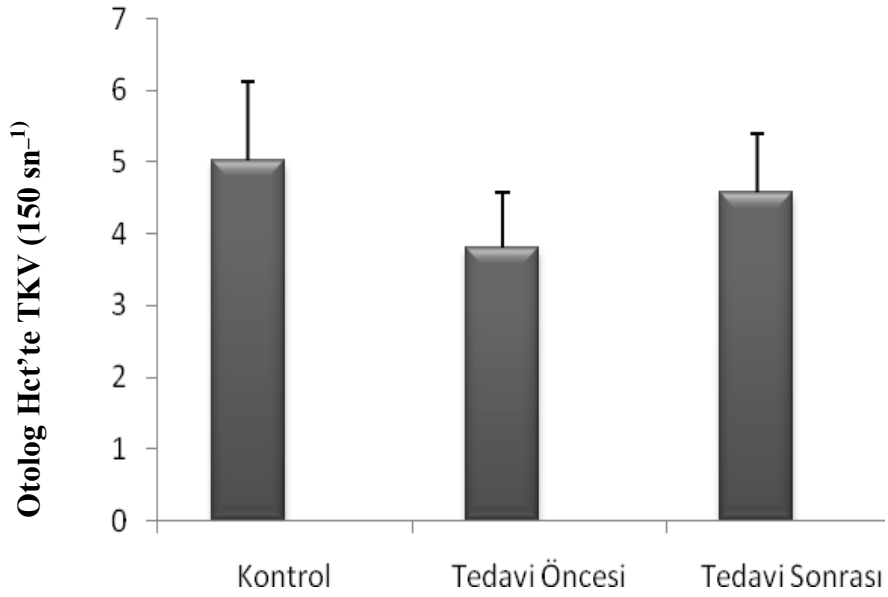
Tablo 4. Otolog hematokritte ölçülen tam kan viskoziteleri

Kayma Hızı	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
75 sn ⁻¹	6.10±1.43 (3.88-9.04)	4.60±1.09 (2.63-7.63)	5.40±0.95 (3.40-8.89)	0.0001	0.0001
150 sn ⁻¹	5.02±1.09 (3.63-7.42)	3.81±0.77 (2.48-5.76)	4.57±0.82 (3.02-7.42)	0.0001	0.001
375 sn ⁻¹	4.21±0.78 (3.10-6.53)	3.32±0.56 (2.40-4.57)	3.84±0.68 (2.71-6.10)	0.0001	0.001

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

** Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.



Şekil 9. Otolog hematokritte 150 sn⁻¹ kayma hızında ölçülen tam kan viskozitesi değerleri

STANDART HEMATOKRİTTE ÖLÇÜLEN TAM KAN VİSKOZİTESİ

Plazma eklenmesi/çıkarılması yoluyla deneklerin Hct değerleri % 40'a ayarlandıktan sonra standart Hct'te tam kan viskoziteleri (TKV) 75-375 s⁻¹ kayma hızlarında ölçüldü. Standart Hct'te 75, 150 ve 375 s⁻¹ kayma hızlarında yapılan ölçümlerin tümünde, hasta grubunda tedavi öncesi TKV'nin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük (sırasıyla p:0.0001, p:0.0001, p:0.0001) olduğu bulundu. Tedavi sonrası grupta tedavi öncesi gruba göre TKV'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış saptandı (sırasıyla p:0.001, p:0.001, p:0.001). Tedavi sonrası hastaların standart Hct'te ölçülen TKV'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında standart TKV'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Grupların standart Hct'te tüm kayma hızlarında yapılan ölçümleri ve p değerleri Tablo 5'de verilmiştir. 150 s⁻¹ kayma hızında ölçülen değerler örnek olarak Şekil 10'da gösterilmiştir.

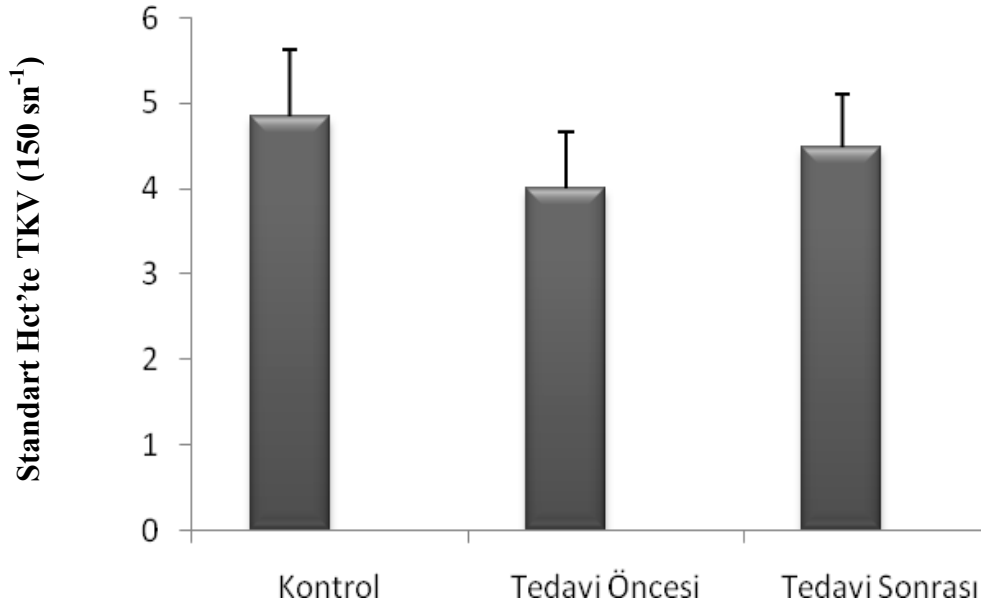
Tablo 5. Standart hematokritte ölçülen tam kan viskoziteleri

Kayma Hızı	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
75 sn ⁻¹	5.91±1.20 (4.25-8.63)	4.75±0.83 (2.76-6.16)	5.30±0.71 (4.01-7.60)	0.0001	0.001
150 sn ⁻¹	4.85±0.77 (3.82-7.05)	4.00±0.66 (2.53-5.45)	4.49±0.62 (3.53-6.51)	0.0001	0.001
375 sn ⁻¹	4.14±0.65 (3.42-6.53)	3.46±0.56 (2.33-4.72)	3.84±0.59 (3.01-5.88)	0.0001	0.001

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

** Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.



Şekil 10. Standart hematokritte 150 sn⁻¹ kayma hızında ölçülen tam kan viskozitesi değerleri

PLAZMA VİSKOZİTESİ (PV)

Plazma viskozitesi 375 s⁻¹ kayma hızında ölçüldü. Hasta grubunda tedavi öncesi sağlıklı kontrol grubuna göre plazma viskozitesinin daha düşük olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanırken ($p>0.05$), tedavi sonrası grupta tedavi öncesine göre plazma viskozitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü ($p:0.006$). Tedavi sonrası hastaların PV'leri kontrol grubuna yakın değerlere gelmiş olup, sağlıklı kontrol grubu ile tedavi sonrası grup arasında PV'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların plazma viskozitesi ölçümleri ve p değerleri Tablo 6'da ve Şekil 11'de gösterilmiştir.

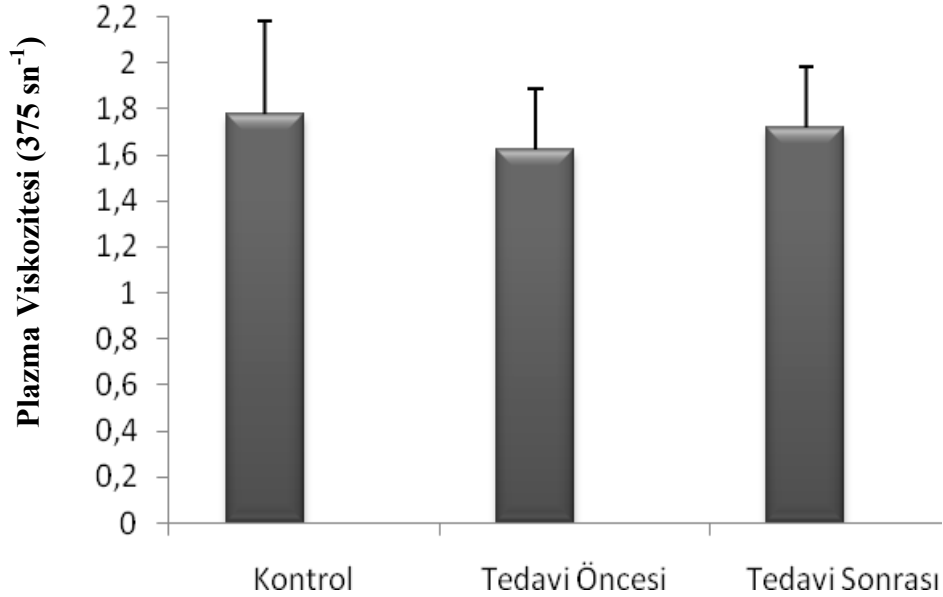
Tablo 6. Plazma Viskozitesi Değerleri

Kayma Hızı	Kontrol grubu (n=31)	Hasta grubu (n=33)		p*	p**
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
375 s ⁻¹	1.78±0.40 (1.16-2.53)	1.62±0.27 (1.19-2.32)	1.72±0.26 (1.30-2.40)	>0.05	0.006

Değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

* Kontrol grubu ile tedavi öncesi grup arasındaki farkı,

** Tedavi öncesi grup ile tedavi sonrası grup arasındaki farkı göstermektedir.



Şekil 11. 375 sn⁻¹ kayma hızında ölçülen plazma viskozitesi değerleri

Tüm bu istatistiksel değerlendirmelerden sonra hematolojik parametreler ile hemoreolojik parametrelerin ilişkisine bakıldı. Hb ile 3.00 Pa (p:0.038, r:0.260), 5.33 Pa (p:0.004, r:0.358), 9.49 Pa (p:0.001, r:0.420), 16.87 Pa (p:0.0001, r:0.430) ve 30.00 Pa (p:0.02, r:0.288) kayma kuvvetlerinde ölçülen EI'leri arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu. Benzer şekilde Hct ile 3.00 Pa (p:0.028, r:0.275), 5.33 Pa (p:0.001, r:0.395), 9.49 Pa (p:0.0001, r:0.467), 16.87 Pa (p:0.0001, r:0.488), 30.00 Pa

(p:0.006, r:0.337) kayma kuvvetlerinde ölçülen EI'leri arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu. MCV ile 3.00 Pa (p:0.05, r:-0.245), 5.33 Pa (p:0.034, r:-0.266), 9.49 Pa (p:0.028, r:-0.275), 16.87 Pa (p:0.074, r:-0.225) kayma kuvvetlerinde ölçülen EI'leri arasında anlamlı negatif ilişki saptanırken, 30.00 Pa kayma kuvvetinde ölçülen EI ile ilişki bulunmadı. Retikülosit sayısı ile 3.00 Pa kayma kuvvetinde ölçülen EI arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken, 5.33 Pa (p:0.012, r:0.313), 9.49 Pa (p:0.003, r:0.366), 16.87 Pa (p:0.001, r:0.393) ve 30.00 Pa (p:0.002, r:0.385) kayma kuvvetlerinde ölçülen EI'leri arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu. Retikülosit sayısı ile AMP, AI ve t1/2 arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Hb ile otolog Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.492), 150 s⁻¹(p:0.0001, r:0.518), 375 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.532) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki, Hct ile otolog Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.522), 150s⁻¹ (p:0.0001, r:0.540), 375 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.550) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki, retikülosit sayısı ile otolog Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.014, r:0.307), 150s⁻¹ (p:0.013, r:0.309), 375 s⁻¹ (p:0.007, r:0.335) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki bulunurken, MCV ile otolog Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.003, r:-0.367), 150s⁻¹(p:0.002, r:-0.386), 375 s⁻¹ (p:0.004, r:-0.357) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı negatif ilişki bulundu. Hb ile standart Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.424), 150 s⁻¹(p:0.001, r:0.418), 375 s⁻¹ (p:0.002, r:0.382) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki, Hct ile standart Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.0001, r:0.464), 150s⁻¹ (p:0.0001, r:0.439), 375 s⁻¹ (p:0.001, r:0.411) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki, retikülosit sayısı ile standart Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.041, r:0.256), 150s⁻¹ (p:0.02, r:0.291), 375 s⁻¹ (p:0.029, r:0.273) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı pozitif ilişki bulunurken, MCV ile standart Hct'te 75 s⁻¹ (p:0.001, r:-0.395), 150s⁻¹ (p:0.0001, r:-0.451), 375 s⁻¹ (p:0.001, r:-0.406) kayma hızlarında ölçülen TKV arasında anlamlı negatif ilişki bulundu. MCV ile AMP arasında anlamlı pozitif ilişki (p:0.008, r:0.326), AI arasında anlamlı negatif ilişki (p:0.048, r:-0.248) saptanırken, t1/2 arasında ilişki saptanmadı (p>0.05). Diğer hematolojik parametreler ile hemoreolojik parametreler arasında ilişki bulunmadı. Hb, Hct, MCV ve retikülosit sayısının hemoreolojik parametreler ile ilişkileri, p ve r değerleri sırasıyla Tablo 7, Tablo 8, Tablo 9 ve Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 7. Hb'in Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi

Parametreler	p	r
EI 3.00 Pa	0.038	0.260
EI 5.33 Pa	0.004	0.358
EI 9.49 Pa	0.001	0.420
EI 16.87 Pa	0.0001	0.430
EI 30.00 Pa	0.002	0.288
Otolog TKV (75 s ⁻¹)	0.0001	0.492
Otolog TKV (150 s ⁻¹)	0.0001	0.518
Otolog TKV (375 s ⁻¹)	0.0001	0.532
Standart TKV (75 s ⁻¹)	0.0001	0.424
Standart TKV (150 s ⁻¹)	0.001	0.418
Standart TKV (375 s ⁻¹)	0.002	0.382

Tablo 8. Hct'nin Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi

Parametreler	p	r
EI 3.00 Pa	0.028	0.275
EI 5.33 Pa	0.001	0.395
EI 9.49 Pa	0.0001	0.467
EI 16.87 Pa	0.0001	0.488
EI 30.00 Pa	0.006	0.337
Otolog TKV (75 s ⁻¹)	0.0001	0.522
Otolog TKV (150 s ⁻¹)	0.0001	0.540
Otolog TKV (375 s ⁻¹)	0.0001	0.550
Standart TKV (75 s ⁻¹)	0.0001	0.464
Standart TKV (150 s ⁻¹)	0.0001	0.439
Standart TKV (375 s ⁻¹)	0.001	0.411

Hb: Hemoglobin, Hct: Hematokrit, EI: Elongasyon indeksi, TKV: Tam kan viskozitesi, Pa: Pascal

Tablo 9. MCV'nin Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi

Parametreler	p	r
EI 3.00 Pa	0.05	-0.245
EI 5.33 Pa	0.034	-0.266
EI 9.49 Pa	0.028	-0.275
EI 16.87 Pa	>0.05	-
EI 30.00 Pa	>0.05	-
Otolog TKV (75 s ⁻¹)	0.003	-0.367
Otolog TKV (150 s ⁻¹)	0.002	-0.386
Otolog TKV (375 s ⁻¹)	0.004	-0.357
Standart TKV (75 s ⁻¹)	0.001	-0.395
Standart TKV (150 s ⁻¹)	0.0001	-0.451
Standart TKV (375 s ⁻¹)	0.001	-0.406
AMP	0.008	0.326
AI	0.048	-0.248
t1/2	>0.05	-

Tablo 10. Retikülosit Sayısının Hemoreolojik Parametreler ile İlişkisi

Parametreler	p	r
EI 3.00 Pa	>0.05	-
EI 5.33 Pa	0.012	0.313
EI 9.49 Pa	0.003	0.366
EI 16.87 Pa	0.001	0.393
EI 30.00 Pa	0.002	0.385
Otolog TKV (75 s ⁻¹)	0.014	0.307
Otolog TKV (150 s ⁻¹)	0.013	0.309
Otolog TKV (375 s ⁻¹)	0.007	0.335
Standart TKV (75 s ⁻¹)	0.041	0.256
Standart TKV (150 s ⁻¹)	0.02	0.291
Standart TKV (375 s ⁻¹)	0.029	0.273
AMP	>0.05	-
AI	>0.05	-
t1/2	>0.05	-

MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Hb: Hemogloblin, Hct: Hematokrit, EI: Elongasyon indeksi, TKV: Tam kan viskozitesi, AMP: Agregasyon amplitudu, AI: Agregasyon indeksi, t1/2: Agregasyon yarı zamanı, Pa: Pascal.

TARTIŞMA

Vitamin B12 vücutta önemli tepkimelerde koenzim olarak görev yapan, özellikle hücre bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA yapımında rol alan bir vitamindir (18). Eksikliği çocuklarda megaloblastik anemi, büyüme ve gelişme geriliği, ciddi nörolojik hasar ve uzun dönemde entellektüel bozukluklara neden olabilmektedir. Bebeklerdeki vitamin B12 eksikliği ise zeka geriliği gibi ömür boyu devam edecek, kişinin hayatını etkileyecek bir bozukluğa yol açabilmektedir. Bu nedenle eksikliğin önlenmesi, tanınması, tedavi edilmesi bebek ve çocukların sağlıklı gelişimi için önem taşımaktadır (6, 9, 10).

Vitamin B12 eksikliği sebepleri çocuklarda yetersiz alım, yetersiz emilim, doğuştan transport ve metabolizma ile ilgili bozukluklar olarak bilinmektedir (5, 6, 10, 27). Gelişmemiş ve gelişmekte olan bölgelerde en sık rastlanılan nedenin yetersiz alım olduğu belirtilmektedir. Bunun başlıca sebebinin yoksulluğa bağlı olarak, vitamin B12 için esas kaynak olan kırmızı et, karaciğer gibi hayvansal gıdaların yeterince tüketilememesi olduğu düşünülmektedir (1, 3, 70).

Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde ve sosyoekonomik düzeyi düşük olan bölgelerde, çocukluk çağında nutrisyonel vitamin B12 eksikliği sıklığı tahmin edilenden daha yüksektir. Ağır olmayan eksiklik durumlarında tanı, bulguların belirgin ve spesifik olmaması gibi nedenlerle doğru sıklıkla konulamamaktadır (10). Vitamin B12 eksikliği görülme sıklığı çevre, sosyoekonomik düzey ve beslenme alışkanlıklarına göre farklılık göstermektedir (6, 7). Dünyada sosyoekonomik düzeyi düşük bölgelerde yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliğinin %22-66 gibi yüksek sıklıkta olduğu bildirilmiştir (1, 2). Türkiye’de ülke genelinde ve ülkemizin belirli bölgelerinde vitamin B12 eksikliği sıklığını gösteren yapılmış bir prevalans çalışması bulunmama ile birlikte, bazı bölgelerden bildirilen sınırlı sayıda olgu sunuları mevcuttur. Çetinkaya ve arkadaşları İstanbul’da yapmış oldukları bir çalışmada (71) 4-24 ay arası 3117 çocukta vitamin B12 eksikliği sıklığını %0.64, Baytan ve arkadaşları (72) Bursa’da 3 ay-13 yaş aralığındaki 3980 çocukta bu sıklığı %0.3

saptarken, Taşkesen ve arkadaşları Diyarbakır'da yaptıkları çalışmada (73) 3 ay-15 yaş aralığındaki 665 anemili çocuğun %19'unda, Koç ve arkadaşları (74) Şanlıurfa'da 9-12 yaş arası 203 çocuğun %10.8'inde vitamin B12 eksikliği saptamıştır.

Vitamin B12 eksikliği, özellikle gelişmekte olan ülkelerde anne sütündeki eksiklik nedeniyle en sık ilk iki yaşta bulgu vermektedir (75). Çalışmamıza alınan 33 vitamin B12 eksikliği vakası, 2 ay ile 16 yaş arası çocukları içermekte ve bunların %33.3'ünü 2 yaş altı çocuklar oluşturmaktaydı. Vitamin B12 eksikliği tanısı ve önlenmesinde beslenme öyküsü çok önemli bir kriter olup, hayvansal proteinleri hiç tüketmeyen veya az tüketen hastalarda periferik kan yaymasının değerlendirilmesi ve serum vitamin B12 düzeyinin çalışılması erken tanı ve tedavide büyük önem taşımaktadır (70). Çalışmamıza katılan tüm çocukların ve 2 yaşından küçük çocukların hem kendilerinin hem de annelerinin beslenme öykülerinde kırmızı et ve karaciğer gibi hayvansal gıda tüketim sıklığı ayda bir veya daha az bulundu.

Vitamin B12 eksikliği tanısı, düşük serum vitamin B12 düzeyinin gösterilmesi (<200 pg/ml), periferik kan yaymasında nötrofillerde hipersegmentasyon ve makrositoz, artmış MCV, yüksek plazma homosistein ve metil malonik asit düzeyleri ile konulabilmektedir (6, 7, 10). Serum vitamin B12 düzeyi ve MCV değeri normal olsa da, klinik bulguları vitamin B12 eksikliğini düşündüren ve başka bir etyolojiye bağlanamayan hastalarda plazma total homosistein ve metilmalonic asit düzeylerinin ölçülmesi, vitamin B12 eksikliğinin tanısı için önerilmektedir (6-8, 70, 72). Homosistein metabolizması, vitamin B12 yanı sıra folik asit ve B6 vitamin eksikliğinden de etkilenmektedir. Metilmalonic asit seviyeleri ise vitamin B12 eksikliği veya metilmalonic koenzim-A mutaz enzim anormallikleri için yüksek derecede duyarlıdır. Bu nedenle megaloblastik anemi veya klinik bulgularının varlığında total homosistein ve metilmalonic asit seviyelerinin birlikte değerlendirilmesi folik asit eksikliği ve vitamin B12 eksikliğinin ayırımında daha faydalı olmaktadır (10, 76). Savage ve arkadaşları 406 hastada yapmış oldukları çalışmada (76) vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen hastalarda metilmalonic asit

ve homosistein düzeyleri çalışılması ile duyarlılığın %99.8'e kadar ulaşabileceğini belirtmişlerdir. Lindenbaum ve arkadaşları çalışmalarında (77) vitamin B12 eksikliği bulunan hastalarda anemi ve makrositoz olmaksızın belirgin yüksek homosistein düzeyi saptandığını bildirmişlerdir. Çocuklarda vitamin B12 eksikliğinde homosistein eşik değerinin ne olması gerektiği konusunda tam bir görüş birliği yoktur. Ülkemizde bu konuyla ilgili Altuntaş ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada (69) homosistein düzeylerinin yaş gruplarına göre değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiş olup, normal değerler 1-6 yaş arası çocuklarda 3.87 µmol/L, 7-11 yaş arası çocuklarda 8.7 µmol/L ve 12-17 yaş arası çocuklarda 13.54 µmol/L olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da yaş gruplarına göre bu değerler normal kabul edilerek, hasta grubumuzdaki 33 çocuğun tümünde bakılan açlık homosistein düzeyleri yüksek saptandı. Tedavi sonrası bu değerlerin anlamlı şekilde düştüğü görüldü. Metilmalonik asit düzeylerinin vitamin B12 eksikliğine daha spesifik olduğu bilinmesine rağmen, hastanemizde metabolizma laboratuvarı ve metabolizma uzmanı bulunmaması gibi teknik nedenlerden dolayı çalışılmadı.

Vitamin B12 eksikliğinde beklenen hematolojik bulgular arasında megaloblastik anemi yanı sıra lökopeni (özellikle nötropeni), trombositopeni ve pansitopeni görülebilmektedir. Nötropeni ve trombositopeni ağır anemisi olan hastalarda daha sık görülse de, anemi olmadan da ortaya çıkabilmektedir (6). Çalışmamızda hastaların hiçbirinde lökopeni, trombositopeni veya pansitopeni saptanmadı. Çalışmamıza dahil edilen hasta grubu, nutrisyonel alım yetersizliğine bağlı olduğu düşünülen vitamin B12 eksikliği hastalarından seçilmiştir. Nutrisyonel durumlarda vitamin B12 eksikliği ve megaloblastik anemi, depoların uzun süre yeterli olması nedeni ile yavaş gelişmektedir. Bu nedenle hasta grubumuzda nötropeni, trombositopeni veya pansitopeni olmamasının, erken dönemde teşhis konmuş olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Hemoreoloji kanın, kan hücrelerinin ve damarların işlevlerini ve birbiriyle olan ilişkilerini, kan akımı özelliklerini inceleyen bilim dalıdır (11). Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, Hct, tam kan ve plazma viskozitelerinin hemoreolojik parametreleri oluşturan faktörler

olduğu belirlenmiştir (51, 78). Yapılan çalışmalarda pek çok hastalık durumunda hemoreolojik parametrelerin değişim gösterdiği bildirilmiştir (42, 57). Özellikle eritrositlerde şekil bozukluğuna neden olan birçok hematolojik hastalıkta hemoreolojik parametrelerin değişim gösterdiği bilinmektedir (14). Literatürde vitamin B12 eksikliğinin hemoreolojik parametreler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma sayısı sınırlı olup, erişkin yaş grubunu içermekte ve incelenen parametreler arasında yalnızca eritrosit deformabilitesi yer almaktadır (16, 17). Ayrıca literatürde çocukluk yaş grubunda vitamin B12 eksikliğinde tanı ve tedavi sonrası hemoreolojik parametrelerdeki değişimlerinin incelendiği ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız, 2 ay-16 yaş arası vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda tanı ve uygun vitamin B12 tedavisi ile eksikliğin düzeltilmesi sonrası hemoreolojik parametrelerdeki değişimi inceleyen ve bu parametreleri benzer yaş ve cinsiyetteki sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştıran ilk araştırmadır.

Eritrosit deformabilitesi eritrositin kan akımı sırasında maruz kaldığı kuvvetlere yanıt olarak şekil değiştirebilme yeteneğidir (56). Eritrositlerin şekil değiştirme yeteneği dolaşımda oksijen taşıma fonksiyonunu yerine getirebilmeleri için yaşamsal öneme sahiptir (14, 27). Çeşitli faktörler eritrosit yaşam süresinin kısalmasına neden olabilmektedir. Eritrosit deformabilite yeteneği de dolaşımda eritrosit ömrünü belirleyen önemli faktörlerden biridir. Deformabilitenin azalmasıyla eritrosit ömrü de kısalmaktadır (14, 78). Deformabilitedeki azalma splenik sekestrasyon ve eritrofağositozda artışa neden olabilmektedir (79). Eritrosit deformabilitesindeki değişiklikler deneysel olarak oluşturulabildiği gibi, bir takım hematolojik ve hematolojik olmayan bozuklukta da eritrosit deformabilitesi değişmiş olarak bulunabilmektedir. Eritrosit deformabilitesinin kardiyovasküler hastalıklar, hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabetes mellitus, sepsis ve özellikle bazı hematolojik hastalıklar durumunda azalabileceği bildirilmiştir (80-82). Bu bilgilerden yola çıkarak, hemoreolojik parametreleri etkileyebileceğinden dolayı açlık kan şekeri ve serum lipidleri yüksek olan hastalar çalışmamıza dahil edilmedi.

Eritrosit deformabilitesini etkileyen faktörler membran iskelet esnekliği, hücre içi (sitoplazmik) viskozite ve hücre geometrisidir (yüzey/hacim oranı) (42). Özellikle eritrositlerde şekil bozukluğuyla seyreden hematolojik hastalıklarda eritrosit deformabilitesi genellikle değişmiştir. MCHC'de artış, eritrositin sitoplazmik viskozitesini arttırmakta, küçük porlardan geçişini zorlaştırmakta ve eritrosit deformabilitesinde azalmaya neden olmaktadır (14, 78). Hemoglobin S (HbS) içeren eritrositlere sahip orak hücre anemili hastalarda esas olarak Hb polimerizasyonu ve sitoplazmik viskozitede artış sebebiyle eritrosit deformabilitesi ileri derecede bozuktur (63, 64). Oraklaşma olayı eritrosit şekli, boyutları, hücrenin kation ve sıvı kapsamı ve membran yapısında değişikliklere sebep olarak membran rijiditesini arttırmakta ve eritrosit şekil değiştirme yeteneğinin azalmasına yol açmaktadır (63). Eritrosit membran defektiyle karakterize hemolitik anemilerden olan herediter sferositozda, hücre yüzey/hacim oranı ve sitoplazmik viskozitede artış nedeni ile eritrosit deformabilitesi azalmış olarak saptanmaktadır (14, 62). Diğer yandan, belli durumlarda ortaya çıkan hemolitik krizlerle karakterize bir hastalık olan glukoz-6 fosfat dehidrogenaz eksikliği olan 31 hastada Johnson ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada (83) eritrosit deformabilitesinin artmış olduğu, bu hastaların üçünde hemolitik kriz sırasında ve iyileşme döneminde değerlendirilen deformabilitenin yine yüksek seyrettiği saptanmıştır.

En sık görülen herediter hastalıklardan biri olan, hipokromi ve mikrositoz ile karakterize talasemilerde de eritrosit deformabilitesinin azaldığı bildirilmiştir. Desouky ve arkadaşları beta talasemi majorlu hastalarda yapmış oldukları bir çalışmada (65) bu hastalarda eritrositlerin deformabilitesinin azalmış olduğunu saptamışlardır. Bu durumun membran değişikliklerine bağlı olarak hücre rijiditesinin artışına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir. Vaya ve arkadaşları (67) ise sessiz heterozigot veya minor homozigot alfa talasemi taşıyıcısı olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre eritrosit deformabilitesinin azalmış olduğunu göstermiştir. Vaya ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir başka çalışmada (84) beta talasemi minor ve delta-beta talasemi minor taşıyıcısı olan hastalar birbirleriyle ve sağlıklı kontrol grubu ile reolojik özellikler açısından karşılaştırılmış, her iki talasemi grubunda da eritrosit deformabilitesinin sağlıklı kontrollere göre azalmış olduğu, ayrıca beta

talasemi taşıyıcılarında delta-beta talasemi taşıyıcılarına göre eritrosit deformabilitesinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Perez ve arkadaşları ise çalışmalarında (66) beta talasemi minorlu hastalar ile demir eksikliği anemisi olan hastaları birbiriyle ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmış, talasemi minor ve demir eksikliği anemisinde eritrosit deformabilitesinin benzer olduğunu ve sağlıklı kontrol grubuna göre azaldığını saptamışlardır.

Hipokromi ve mikrositoz ile seyreden bir diğer hematolojik hastalık olan demir eksikliği anemisinin eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar, farklı sonuçlar vermiştir. Reinhart tarafından erişkin hastalarda yapılan bir çalışmada (85) eritrosit deformabilitesi üç farklı metotla ölçülmüş olup, filtrasyon metoduyla yapılan ölçümlerde deformabilite artmış olarak saptanırken, santrifugasyon ile ölçülen eritrosit elongasyonu ve aspirasyon tekniğiyle ölçülen membran elastisitesinde değişim olmadığı saptanmıştır. Diğer yandan Tillmann ve Schröter (86) demir eksikliği anemisi olan hastalarda eritrositlerin filtrasyon yöntemiyle porlardan daha yavaş geçtiklerini, yani deformabilitenin azalmış olduğunu saptamışlardır. Halis ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada (68) demir eksikliği anemisi olan çocuk hastalarda tanı ve tedavi sonrası hemoreolojik parametreler değerlendirilmiş ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmış olup, demir eksikliği anemisinde bir ektasitometre kullanılarak lazer difraksiyon yöntemiyle ölçülen eritrosit deformabilitesinin kontrol grubuna göre azaldığı, tedavi sonrası deformabilitenin kontrol grubu değerlerine yükseldiği saptanmıştır. Bu farklı sonuçların, farklı ölçüm tekniklerinin kullanılmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. Demir eksikliğinde görülen MCV düşüklüğü, mikrositoz ile birlikte eritrositin hücre yüzey/hacim oranındaki azalmayı da göstermektedir. Bazı araştırmacılar tarafından, demir eksikliği anemisinde saptanan azalmış eritrosit deformabilitesi, yüzey/hacim oranındaki azalmayı gösteren mikrositoza bağlanmaktadır (84, 86).

Makrositer ve genellikle oval şekilli eritrositler ve nötrofillerde hipersegmentasyonla karakterize, DNA sentez bozukluğuna bağlı megaloblastik anemiye neden olan vitamin B12 eksikliğinde, eritrositler şekil bozuklukları nedeni

ile dolaşımında daha kısa süre yaşamaktadır (6). Literatürde vitamin B12 eksikliğinin eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma az sayıda bulunmaktadır. Magnus tarafından vitamin B12 eksikliği olan beş erişkin hastada yapılan bir çalışmada (16) eritrosit deformabilitesinin vitamin B12 enjeksiyonu sonrası beşinci günde belirgin artış gösterdiği saptanmıştır. Benzer şekilde Johnson ve arkadaşları çalışmalarında (83) üç vitamin B12 eksikliği olan hastada tedavi sırasında eritrosit deformabilitesinde artış olduğunu göstermişlerdir. Ballas ve arkadaşları (17) vitamin B12 eksikliği ve diğer bir megaloblastik anemi nedeni olan folik asit eksikliğine bağlı anemisi olan on erişkin hastada yapmış oldukları bir çalışmada, tanı ve uygun tedavi sonrası eritrosit deformabilitesini değerlendirmiş ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmıştır. Çalışmalarında filtre kağıdı ile eritrositlerin porlardan geçiş süresinin ölçülerek deformabilitesinin belirlendiği filtrasyon yöntemini kullanmış olup, filtrasyon süresinin megaloblastik anemili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde uzadığını, uygun tedavi sonrası eritrosit filtrasyon süresinin belirgin şekilde kısalarak kontrol grubu değerlerine geldiğini saptamışlardır. Benzer metod kullanılarak Schmid-Schönbein ve arkadaşlarının (87) pernisiyöz anemili bir olguda değerlendirmiş olduğu eritrosit deformabilitesi de normal eritrositlere göre daha düşük saptanmıştır. Bu çalışmalarda kullanılmış olan filtrasyon yöntemi, eritrositlerin belli çaptaki porlara sahip filtrelerden sabit bir basınç altında geçiş süresi veya sabit bir sürede geçişleri sırasında meydana gelen basınç değişimlerinin ölçülmesi tekniğine dayalıdır. Daha uzun geçiş süresi, eritrosit deformabilitesinin bozulduğuna işaret etmektedir (17, 78, 87). Literatürde çocuklarda vitamin B12 eksikliğinin ve tedavi edilmesinin eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkilerini inceleyen ilk çalışma olan çalışmamızda, eritrosit deformabilitesi daha modern bir yöntem olan, çeşitli kayma kuvvetlerinde lazer difraksiyon analizi ile, bir ektasitometre kullanılarak değerlendirildi. Çeşitli kayma kuvvetlerine cevap olarak eritrositlerin elongasyon indeksleri ölçüldü. Eritrosit deformabilitesinin eritrositlerin hücresel özellikleri yanı sıra, kan akımı sırasında maruz kaldıkları kuvvetlere göre de değişim gösterdiği, büyük veya küçük damarlardan geçerken ise maruz kaldıkları kuvvetlerin değiştiği bilinmektedir (12, 49). Bu nedenle, sabit bir basınç altında eritrositlerin deforme olarak porlardan geçiş süresinin değerlendirilmesi yerine, çalışmamızda olduğu gibi eritrositlere uygulanan

çeşitli kayma kuvvetlerine cevap olarak deformabilite yeteneklerindeki değişimin incelenmesinin daha güvenilir bir teknik olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda yapılan elongasyon indeksi ölçümleri sonucunda, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda eritrosit deformabilitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin azalma gösterdiği saptandı. Uygun vitamin B12 tedavisi ile hastaların hematolojik parametrelerinin düzelmesi yanı sıra eritrosit deformabilitesinin artarak, sağlıklı kontrol grubu ile benzer değerlere geldiği gözlemlendi. Hastaların hemoglobin ve hematokrit değerlerinin artmasıyla, MCV'nin ise azalmasıyla eritrosit deformabilitesinin artış gösterdiği bulundu. Çalışmamızda saptamış olduğumuz bu sonuçlar, literatürde vitamin B12 eksikliğinin deformabilite üzerindeki etkilerini inceleyen diğer çalışmaların sonuçlarını destekler niteliktedir.

Mikrositozla karakterize olan ve MCV'nin düşük olduğu demir eksikliği anemisi ve talasemiler gibi hematolojik hastalıklarda yapılmış olan çalışmalarda da deformabilitenin düşük saptanmış olması, deformabiliteyi etkileyen faktörlerin bu hastalık gruplarında ve bizim hasta grubumuzda farklı nedenler olduğunun göstergesidir. Talasemi ve demir eksikliği anemisinde azalmış deformabilite etyolojisinin azalmış hücre yüzey/hacim oranı ve beraberinde olan hücre membran değişiklikleri olduğu düşünülmektedir. Ancak eritrositin büyüklüğü arttıkça, dar alanlardan geçmek için daha fazla deforme olması gerekmektedir. Bu nedenle, makrositer eritrositlerin küçük damarlardan geçişinin daha zor olması beklenen bir durumdur (78). Çalışmamızda saptadığımız azalmış deformabilitenin, hasta grubunda tedavi öncesi ortalama MCV değerlerinin yüksek olmasına, yani eritrosit boyutlarının büyük olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bunun yanı sıra, hasta grubunda tedavi öncesi MCHC'nin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptanmış olması ve tedavi sonrası kontrol grubu değerlerine gerilemiş olması, bu hastalarda artmış MCHC'nin sitoplazmik viskoziteyi arttırarak, eritrosit deformabilitesinde azalmaya sebep olabileceğini düşündürdü. Ayrıca DNA sentez bozukluğu nedeni ile defektif olan bu büyük eritrositlerde, membran rijiditesinin artarak deformabiliteyi azaltmış olabileceği kanısındayız. Bu bulgular yanı sıra, vitamin B12 eksikliğinde eritrosit ömrünün kısalmış olduğu bilinmektedir

(6). Bu hastalarda kısalmış eritrosit ömrünün DNA sentez bozukluğuna bağlı olabileceği gibi, eritrosit deförmabilitesindeki azalmaya da bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada incelenen bir diğer hemoreolojik parametre eritrosit agregasyonudur. Bu amaçla agregasyon indeksi, agregasyon kinetiklerinin bir göstergesi olan agregasyon yarı zamanı ve total agregasyon miktarının bir göstergesi olan agregasyon amplitudu ölçüldü. Eritrositlerin agregasyon özellikleri kolay şekil değiştirebilmeleri ile ilişkilidir. Eritrosit deförmabilitesinin etkilendiği durumlarda, eritrosit agregasyonunun da etkilendiği bilinmektedir (80). Fizyolojik koşullarda eritrosit agregasyonu geri dönüşümlü bir olaydır. Eritrosit agregasyonunun miktarı kan akımı ile ters orantılıdır. Kan akım hızının yavaşlaması eritrosit agregasyonunun artışına sebep olmaktadır (48). Agregasyon hem plazma hem de hücrel faktörlerden etkilenmektedir. Plazmadaki fibröz protein konsantrasyonu ve eritrosit hücre membran özellikleri agregasyonu etkileyen en önemli faktörlerdir (42, 52). Literatürde çeşitli hastalık durumlarında eritrosit agregasyonunun incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Miyokard infarktüsü, inflamasyon veya travma gibi akut doku hasarı olan durumlarda, akut faz reaktanları olarak bilinen plazma proteinlerinin artışına bağlı olarak eritrosit agregasyonunun artış gösterdiği bilinmektedir. Eritrosit membran özelliklerinin, sepsiste iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası değişim gösterdiği ve bunun sonucu olarak agregasyonda artış olduğu bildirilmiştir (42). Benzer şekilde eritrosit agregasyonunun kardiyovasküler hastalıklar, hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabetes mellitus ve bazı hematolojik hastalıklar gibi birçok hastalık durumunda artabileceği bilinmektedir (57, 80). Babu ve Singh'in diyabetes mellituslu hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada (81), plazma glukoz konsantrasyonu yükseldikçe eritrosit agregasyonunda artış olduğu saptanmış, bu artış plazma özellikleri yanı sıra, hipergliseminin eritrosit membran yüzeyindeki negatif yükü azaltmasına bağlı olarak membran özelliklerinin bozulmasına bağlanmıştır. Araştırmacılar tarafından diyabetik hastalardaki mikrovasküler problemlerin, hemoreolojik özelliklerdeki bu değişimlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Hacıoğlu ve arkadaşları (82) hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda kontrol grubuna göre eritrosit agregasyonunun belirgin şekilde yüksek olduğunu saptamış, bu

durumun hipertansiyonun oluşturduğu vasküler etkiler nedeniyle olabileceği gibi, hipertansiyon gelişiminde rolü olabileceğini düşünmüşlerdir.

Eritrosit şekil bozukluğu ile karakterize olan orak hücreli anemili hastalarda Tripette ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada (88) kontrol grubuna göre eritrosit agregasyonu azalmış olarak saptanmıştır. Hemoreolojik parametrelerin etkilendiği bir diğer hematolojik hastalık olan demir eksikliği anemisinde, eritrosit agregasyonundaki değişimlerin değerlendirildiği çalışmalar, deformabilite çalışmaları gibi farklı sonuçlar vermiştir. Pribush ve arkadaşları (89) multiple miyelom, demir eksikliği anemisi ve talasemi minorlu erişkin hastalarda eritrosit agregasyon özelliklerini koloidal sistem elektriksel özelliklerine dayanan bir metodla değerlendirmiş ve karşılaştırmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda eritrosit agregasyonunun multiple miyelom hastalarında daha fazla olmak üzere, demir eksikliği anemisinde de kontrol grubuna göre artmış olduğunu, talasemi minor hastalarında ise kontrol grubuna göre azalmış olduğunu saptamışlardır. Buna karşın Halis ve arkadaşları demir eksikliği anemisi olan çocuklarda yapmış oldukları çalışmada (68) eritrosit agregasyonunun anemik çocuklarda kontrollere göre anlamlı şekilde düşük olduğunu ve demir tedavisi ile kontrol grubu değerlerine yükseldiğini bulmuştur. Halis ve arkadaşlarının bahsedilen çalışmada kullanmış olduğu agregasyon ölçüm tekniği, bizim çalışmamızda kullanılan teknikle aynıdır. Bu farklı sonuçların, çalışmalarda farklı ölçüm tekniklerinin kullanılmasından kaynaklanıyor olabileceği gibi, çalışmaların farklı yaş gruplarında yapılmış olmasından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatürde çeşitli sistemik veya hematolojik hastalık durumlarında eritrosit agregasyonunun değişimini inceleyen çalışmalar bulunmasına rağmen, vitamin B12 eksikliğinde ve tedavi edilmesiyle eritrosit agregasyonunun değişimlerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu hasta grubunda eritrosit agregasyonunun incelendiği ilk araştırma olan çalışmamızda, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda total agregasyon miktarının bir göstergesi olan agregasyon amplitudunun sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmış olduğu saptandı. Uygun vitamin B12 tedavisi sonrası bu hastaların agregasyon amplitudu değerlerinin kontrol grubu değerlerine benzer düzeylere düştüğü gözlemlendi. Ancak çalışmamızda agregasyon amplitudu değişimlerine zıt şekilde, hasta grubunda

tedavi öncesi agregasyon indeksinin kontrol grubuna göre daha düşük ve agregasyon yarı zamanının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, tedavi ile bu iki değer de kontrol grubuna yakın düzeylere gelmiş olduğu saptandı. Tripette ve arkadaşlarının çalışmasında (88) da bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiş olup, orak hücreli anemi taşıyıcı ve hastalarında, sağlıklı kontrollere göre agregasyon amplitudu yüksek bulunmuş, zıt şekilde agregasyon indeksi düşük ve yarı zamanı yüksek saptanmıştır. Çalışmamızda agregasyon amplitudu ile agregasyon indeksi ve yarı zamanı arasındaki bu sonuçlar çelişkili olmakla birlikte, oluşan total agregasyon miktarını gösteren değer agregasyon amplitudu olması nedeni ile, eritrositlerin total agregasyonunun agregasyon indeksi ve yarı zamanından bağımsız olarak artmış olduğu düşünüldü. Bu durumda, vitamin B12 eksikliği olan hastalarda eritrositlerin agregasyon yarı zamanının uzun olması, agregasyon için daha fazla süre gerektiği, yani agregatların daha yavaş oluştuğu anlamına gelmektedir. Ancak gerekli süre daha fazla olsa da, sonuçta meydana gelen eritrosit agregasyon miktarının daha fazla olduğu görüldü.

Daha önce yapılan çalışmalarda belirtildiği üzere, eritrosit şekil değişiklikleri ile seyreden hematolojik hastalıkların birçoğunda eritrosit agregasyonu da etkilenmektedir. Halis ve arkadaşlarının (68) mikrositozla karakterize olan demir eksikliği anemili çocuklarda yapmış oldukları çalışmada eritrosit agregasyonu kontrol grubuna göre azalmış olarak bulunmuşken, bizim çalışmamızda makrositozla karakterize olan vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda agregasyonda artış ve MCV ile agregasyon amplitudu arasında pozitif yönde bir ilişki saptamış olmamız hücre yüzey büyüklüğünün agregasyon üzerine etkisi olduğunu düşündürdü. Diğer yandan, agregasyon durumunun yalnızca hücre yüzey büyüklüğüne bağlanamayacağı, beraberinde membran yüzey özelliklerinin de etkili faktörler olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, vitamin B12 eksikliğinde meydana gelen DNA sentez bozukluğuna bağlı olarak, defektif olan bu eritrositlerin membran özelliklerinin de değişmiş olabileceği ve agregasyon üzerinde etkilerinin olabileceği kanısındayız.

Çalışmamızda daha önce de belirtildiği gibi, vitamin B12 eksikliğinin uygun tedavi ile düzeltilmesinin ardından hastaların retikülosit sayısında anlamlı bir artış

olduğu gözlemlendi. Literatürde genç eritrositlerin deformabilitelerinin daha yüksek, agregasyonlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (83, 90). Çalışmamızda, hastalarda tedavi sonrası retikülosit artışı ile birlikte eritrosit deformabilitesinde artış ve total agregasyon miktarının göstergesi olan agregasyon amplitudunda azalma olması, bu bilgileri destekler niteliktedir. Ancak retikülosit sayısı ile deformabilite ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki saptanırken, eritrosit agregasyon amplitudu arasında ilişki bulunmadı.

Hemoreolojinin önemli bir ilgi alanı da tam kan ve plazma viskozitesidir. Akışkanlığın tersi anlamına gelen viskozite, bir sıvının akıma karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır. Kanın akıma karşı gösterdiği direnç ise tam kan viskozitesidir. Kanın viskozitesi, hematokrit, plazmanın içeriği ve kan elemanlarının reolojisi gibi belli özelliklerden etkilenmektedir. Hematokrit değerindeki artış, tam kan viskozitesinin artmasına sebep olmaktadır (12, 13, 42). Polistemide kan akımının yavaşlaması eritrosit deformabilitesinden çok, yüksek hematokrit düzeylerine bağlı olarak viskozitenin azalmasına bağlanmaktadır. Bu nedenle hematokrit düzeyinin normalin üstüne çıktığı bu gibi durumlarda flebotomi ile uygun hematokrit düzeyi sağlanmaya ve kan viskozitesi düzenlenmeye çalışılır (12, 78). Chien'in yapmış olduğu bir araştırmada (91) orak hücreli anemide tam kan viskozitesi normalden daha düşük bulunmuş ve bu durum hematokrit düzeyinin bu hastalarda daha düşük olmasına bağlanmıştır. Aynı çalışmada plazma viskozitesi ise normalden daha yüksek bulunmuş olup, bu durum orak hücreli anemide globulin ve diğer plazma protein konsantrasyonlarındaki artışa bağlanmıştır. Benzer şekilde Tripette ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (88) orak hücreli anemide tam kan viskozitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu saptanmıştır. Orak hücreli anemili hastalarda Awodu ve arkadaşları tarafından yapılmış olan bir başka çalışmada (64) vazookluzif kriz esnasında bu hastalarda hematokrit düzeyi ile birlikte tam kan viskozitesinde belirgin artış olurken, plazma viskozitesinde anlamlı bir değişim olmadığı bulunmuştur. Bahsedilen çalışmaların bulguları hematokrit değerinin tam kan viskozitesinin belirlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu işaret etmektedir. Bu bilgilerden yola çıkılarak, çalışmamızda tam kan viskozitesi çalışmaya katılan grupların hem orijinal hematokrit değerlerinde, hem de plazma

eklenmesi ve çıkarılmasıyla hematokrit değerleri standart olarak % 40'a ayarlandıktan sonra ölçüldü.

Halis ve arkadaşları demir eksikliği anemisi olan çocuklarda yapmış oldukları çalışmada (68) tam kan viskozitesi ve plazma viskozitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğunu, uygun demir tedavisi sonrası bu değerlerin kontrol grubu değerlerine yükseldiğini saptamışlardır. Çalışmamızın sonuçları demir eksikliği anemili çocuklardaki bu çalışmanın bulguları ile benzer olup, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda da tam kan viskozitesinin hem otolog hematokritte hem de standart hematokritte, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olduğu saptandı. Hastaların uygun vitamin B12 tedavisi sonrası tekrar değerlendirilen tam kan viskozitelerinde anlamlı artış olduğu ve kontrol grubu değerlerine benzer düzeylere ulaştığı görüldü. Hemoglobün ve hematokrit değerleri ile tam kan viskoziteleri arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı. Otolog hematokritte ölçülmüş olan tam kan viskozitesinin düşük saptanması ve tedavi ile hastaların hematokrit düzeylerinin artmasıyla birlikte viskozitenin de artmış olması, başlangıçta bize eksiklik sırasındaki viskozite düşüklüğünün hematokrit değerlerinin daha düşük oluşuna bağlı olduğunu düşündürdü. Ancak, sonrasında hematokrit standart olarak % 40'a ayarlanarak yapılan ölçümlerde tam kan viskozitesinin vitamin B12 eksikliği varlığında yine düşük saptanmış olması, hasta grubumuzun tam kan viskozitesine etki eden tek faktörün hematokrit olmadığını gösterdi.

Bilindiği gibi tam kan viskozitesi hematokrit yanı sıra plazma viskozitesinden de etkilenmektedir (13, 42). Plazma viskozitesi akımın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aksiyel migrasyon nedeniyle plazma, kanın damar duvarları ile direkt ilişkide olan başlıca bileşenidir (42, 52). Cabrales ve Tsai (92) plazma viskozitesinin, anemi varlığında sistemik ve mikrovasküler perfüzyonda oynadığı rolü tanımlamışlardır. Anemi varlığında oluşan hemodilüsyonun, plazma viskozitesi, tam kan viskozitesi ve arteriyel oksijen miktarında azalmaya neden olarak mikrovasküler kan akımında artışa yol açtığını bildirmişlerdir. Çalışmamızın sonuçları vitamin B12 eksikliği varlığında, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte plazma viskozitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu ve uygun tedavi

sonrası anlamlı bir artış göstererek kontrol grubu değerlerine yükseldiğini gösterdi. Literatürde vitamin B12 eksikliğinde tam kan ve plazma viskozitelerinin değerlendirildiği ilk araştırma olan çalışmamızda, hem otolog hematokrit hem de standardize edilmiş hematokrit değerlerinde ölçmüş olduğumuz tam kan viskozitelerinin, vitamin B12 eksikliği varlığında düşük olmasının hematokrit düşüklüğü yanı sıra bahsedilen kompensatuar mekanizma sonucu plazma viskozitesindeki düşüşe de bağlı olabileceği düşünöldü.

Çalışmamızın sonuçları ışığında, literatürde ilk kez çocukluk yaş grubunda vitamin B12 eksikliğininin hemoreolojik parametreler üzerinde önemli etkileri olduğu gösterildi. Vitamin B12 eksikliğinin uygun şekilde tedavi edilmesinin, hematolojik parametrelerin düzeltilmesi yanı sıra, hemoreolojik parametrelerin de sağlıklı çocukların değerlerine benzer değerlere getirilmesini sağladığı saptandı. Bu sonuçların, vitamin B12 eksikliğinde gelişebilecek mikrovasköler perfüzyon bozukluğu ile ilgili komplikasyonların aydınlatılmasına ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Vitamin B12 eksikliğinin ve uygun şekilde tedavi edilmesinin hemoreolojik parametreler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmamızda, aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda 0.30, 0.53 ve 0.95 Pa kayma kuvvetlerinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümleri ile EI'lerinde sağlıklı kontrol grubu ve tedavi sonrası ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. 1.69 Pa kayma kuvvetinde yapılan ölçümlerde tedavi öncesi grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken, hasta grubunda tedavi sonrası yapılan ölçümlerde tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı.

2. Vitamin B12 eksikliği olan ocuklarda 3.00, 5.33, 9.49, 16.87 Pa kayma kuvvetlerinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümlerinde EI'lerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde dūřuk olduğu, tedavi sonrası EI'lerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdiği bulundu.

3. Vitamin B12 eksikliği olan ocuklarda 30.00 Pa kayma kuvvetinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümlerinde, EI'lerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde dūřuk olduğu bulundu. Tedavi sonrası ölçümlerde EI'lerinde artış olduğu görüldü, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda ölçülen agregasyon amplitudünün sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu, tedavi sonrası AMP değerlerinin anlamlı şekilde dūřüř gösterdiği bulundu.

5. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda ölçülen agregasyon indeksinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde dūřuk olduğu saptanırken, tedavi sonrası AI'nin yükseldiği, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu.

6. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda ölçülen agregasyon yarı zamanı sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanırken, tedavi sonrası grupta tedavi öncesine göre t1/2'de düşüş olduğu görüldü, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi.

7. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda hem otolog hematokritte hem de standart hematokritte ölçülen tam kan viskoziteleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanırken, tedavi sonrası TKV'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu saptandı.

8. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda ölçülen plazma viskozitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanırken, tedavi sonrası PV'de istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulundu.

9. 3.00 Pa kayma kuvvetinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümleri ile hemoglobin ve hematokrit arasında anlamlı pozitif ilişki, MCV arasında anlamlı negatif ilişki bulunurken, retikülosit sayısı ile ilişki bulunmadı. 5.33, 9.49 Pa kayma kuvvetlerinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümleri ile hemoglobin, hematokrit ve retikülosit sayısı arasında anlamlı pozitif ilişki, MCV ile anlamlı negatif ilişki bulundu. 16.87 ve 30.00 Pa kayma kuvvetlerinde yapılan eritrosit deformabilite ölçümleri ile hemoglobin, hematokrit ve retikülosit sayısı arasında anlamlı pozitif ilişki bulunurken, MCV ile ilişki bulunmadı. Diğer kayma kuvvetlerinde ölçülen elongasyon indeksleri ile hematolojik parametreler arasında ilişki saptanmadı.

10. Tüm kayma hızlarında ölçülen otolog ve standart tam kan viskoziteleri ile hemoglobin, hematokrit ve retikülosit sayısı arasında anlamlı pozitif ilişki, MCV arasında anlamlı negatif ilişki saptandı.

11. MCV ile AMP arasında anlamlı pozitif ilişki (p:0.008, r:0.326), AI arasında anlamlı negatif ilişki (p:0.048, r:-248) saptanırken, t1/2 arasında ilişki saptanmadı (p>0.05).

KAYNAKLAR

1. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004;24:299-326.
2. Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, Martinez H, Lopez P, Muñoz E, et al. Vitamin B12 deficiency and malabsorption are highly prevalent in rural Mexican communities. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1013-1019.
3. Koc A, Kocyigit A, Soran M, Demir N, Sevinc E, Erel O, et al. High frequency of maternal vitamin B12 deficiency as an important cause of infantile vitamin B12 deficiency in Sanliurfa province of Turkey. *Eur J Nutr* 2006;45:291-297.
4. Adkins Y, Lönnerdal B. Potential host-defense role of a human milk vitamin B-12-binding protein, haptocorrin, in the gastrointestinal tract of breastfed infants, as assessed with porcine haptocorrin in vitro. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1234-1240.
5. Coşkun T. B12 Vitamini. *Katkı Pediatri Dergisi* 2003;25:419-433.
6. Watkins D, Whitehead VM, Rosenblatt DS. Megaloblastic Anemia. In: Orkin S, Nathan David G, Ginsburg D, Look T, eds. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 7th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 2009;467-520.
7. Lanzkowsky P. Megaloblastic Anemia. In: *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 5th ed. New York: Academic Press, 2011:58-86.
8. Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and Folate Deficiency: Acquired and Hereditary Disorders in Children. *Semin Hematol*. 1999;36:19-34.

9. Monagle PT, Tauro G. Infantile Megaloblastosis Secondary to Maternal Vitamin B12 Deficiency. Clin Lab Hematol 1997;19:23-25.
10. Koç A. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliği. Türk Çocuk Hematoloji Dergisi 2011;5:11-19
11. Copley AL. Fluid mechanics and biorheology. Clin Hemorheol Microcirc 1990;10: 3-19.
12. Lowe GDO, Barbenel JC. Plasma and blood viscosity. In: Lowe GDO, eds. Clinical Blood Rheology. Vol 1. Boca Raton: CRC Press, 1988:11-44.
13. Merrill EW. Rheology of blood. Physiol Rev 1969;49:863-888.
14. Mohandas N, Chasis JA, Shohet SB. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape. Semin Hematol 1983;20:225-242.
15. El-Sayed MS, Ali N, El-Sayed Ali Z. Haemorheology in exercise and training. Sports Med 2005;35:649-670.
16. Magnus EM. Red cell changes in top, middle and bottom layer of packed red cells in Vitamin B12 deficiency. Relation to treatment. Scand J Haematol 1980;24:299-306.
17. Ballas SK, Constantino M. Reduced erythrocytic deformability in megaloblastic anemia. Am J Clin Pathol 1976;66: 953-957.
18. Soysal T. Megaloblastik Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Anemiler Sempozyumu. İstanbul, 2001:33-47.
19. Leal NA. B12 Metabolisms In Humans. Dissertation for Doctora Of Philosophy. University of Florida. Florida 2004:1-156.

20. Maralcan M, Ellidokuz E. Vitamin B12 Eksikliği. *Güncel Gastroenteroloji* 2004;8:199-204.
21. Kayaalp SO. Megaloblastik Anemilerin Tedavisi. Rasyonel Tedavi Yönünden *Tıbbi Farmakoloji*. 6.baskı: 3. Cilt. Ankara: Feryal Matbacılık, 1993;3124-3132.
22. McCormick DB, Greene HL. Vitamins. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry*. 3th ed. Philadelphia: Saunders, 1999:999-1028.
23. Albert MJ, Mathan VI, Baker SJ. Vitamin B12 synthesis by human small intestinal bacteria. *Nature* 1980;283:781-782.
24. World Health Organisation, Food and Agricultural Organisation of the United Nations. Vitamin B12. In: *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. 2nd edition. Geneva: Switzerland, 2004;279-288.
25. Bhavagan NV. Vitamin metabolism. *Medical Biochemistry*. 4th ed. Florida: Hartcourt Academic Press, 2002:901-928.
26. Kapadia CR. Vitamin B12 in Health and Disease: Part I-Inherited Disorders of Function, Absorption and Transport. *Gastroenterologist* 1995;3:329-344.
27. Telen MJ, Kaufman RE Greer. The Mature Erythrocyte. In: JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lipincott:Williams&Wilkins, 2003;217-247.
28. Monsen ALB, Refsum H, Markestad T, Ueland PM. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr* 2003;78:7-21.
29. Allen LH, Seetharam B, Podell E, Alpers DH. Effect of proteolytic enzymes on the binding of cobalamin to R protein and intrinsic factor. *In vitro* evidence that

a failure to partially degrade R-protein is responsible for cobalamin malabsorption in pancreatic insufficiency. *J Clin Invest* 1978;61:47-54.

30. Wolters M, Ströhle A, Hahn A. Cobalamin: A Critical Vitamin In The Elderly. *Prev Med* 2004;39:1256-1266.

31. Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The Natural History of The Inherited Methylmalonic Acidemias. *N Engl J Med* 1983;308:857.

32. Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999;159:1289-1298.

33. Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A. Anemiler. In: Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A, eds. *Temel Pediatri*. 1th edition. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi, 2010;975-981.

34. Stollhoff K, Schulte FJ. Vitamin B12 and brain development. *Eur J Pediatr* 1987;146:201-205.

35. Allen LH. Vitamin B12 metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy. *Adv Exp Med Biol* 1994;352:173-186.

36. Hall CA. Function of vitamin B12 in the central nervous system revealed by congenital defects. *Am J Hematol* 1990;34:121-127.

37. Black MM. Micronutrient deficiencies and cognitive functioning. *J Nutr* 2003;133:3927-3931.

38. Kuzminski AM, Del Giacco EJ, Allen LH, Stabler SP, Lindenbaum J. Effective Treatment of Cobalamin Deficiency with Oral Cobalamin. *Blood* 1998;92:1191-1198.

- 39.** Bor MV, Cetin M, Aytaç S, Altay C, Ueland PM, Nexø E. Long Term Biweekly 1 mg oral vitamin B12 ensures normal hematological parameters, but does not correct all markers of vitamin B12 deficiency. A study in patients with inherited vitamin B12 deficiency. *Haematologica* 2008;93:1755-1758.
- 40.** Charm SE, Kurland GS. Blood flow and microcirculation. New York: John Wiley and Sons, 1974;3-210.
- 41.** Lowe GDO. Rheology of blood in diagnostic and preventive medicine. London: Butterworths, 1976;1-259.
- 42.** Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:435–450.
- 43.** Ross J, Schmid-Schönbein G. Dynamics of the peripheral circulation. In: West JB, eds. *Physiological Basis of Medical Practice*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990;138-158.
- 44.** Cromer AH. *Physics for the life sciences*. Tokyo: McGraw-Hill, 1981;152-154.
- 45.** Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 2005;12:5-15.
- 46.** Drussel JJ, Berthault MF, Guiffant G, Dufaux J. Effects of red blood cell hyperaggregation on the rat microcirculation blood flow. *Acta Physiol Scand* 1998;163:25-32.
- 47.** Bishop JJ, Nance PR, Popel AS, Intaglietta M, Johnson PC. Erythrocyte margination and sedimentation in skeletal muscle venules. *Am J Physiol. Heart Circ Physiol* 2001;281:951-958.

- 48.** Stoltz JF, Donner M. Hemorheology: Importance of erythrocyte aggregation. *Clin Hemorheol* 1987;7:15-23.
- 49.** Stoltz JF, Singh M, Riha P. Hemorheology in Practise. Netherlands: IOS Press 1999:1-116.
- 50.** Guyton AC, Hall JE. Dolaşım Sistemi; Basınç, Akım ve Direncin Tıbbi Fizik Prensipleri; Alyuvarlar, Anemi ve Polisitemi. Çavuşoğlu H, Çağlayan Yeğen B, Aydın Z, Alican İ, Çev Ed., İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 1996;160-170.
- 51.** Mchedlishvili G. Basic factors determining the hemorheological disorders in the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30:179–180.
- 52.** Rampling MW. Red cell aggregation and yield stres. In: Low GDO, ed. *Clinical Blood Rheology*. Boca Raton: FL:CRC Press, 1988:1-64.
- 53.** Dintenfass L, Lake B. Exercise fitness, cardiac work and blood viscosity factors in patients and normals. *Eur Surg Res* 1976;8:174-184.
- 54.** Rand PW, Barker N, Lacombe E. Effects of plasma viscosity and aggregation on whole-blood viscosity. *Am J Physiol* 1970;218:681-688.
- 55.** Chien S, Usami S, Dellenback RJ, Gregersen MI. Shear dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood. *Am J Physiol* 1970;219:136-143.
- 56.** Baskurt OK, Yalcin O, Meiselman HJ. Hemorheology and vascular control mechanisms. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30:169-178.
- 57.** Chien S, Sung LA. Physicochemical basis and clinical implications of red cell aggregation. *Clin Hemorheol* 1987;7:71-91.

- 58.** Chasis JA, Shohet SB. Red cell biochemical anatomy and membrane properties. *Annu Rev Physiol* 1987;49:237-248.
- 59.** Diakowski W, Grzybek M, Sikorski AF. Protein 4.1, a component of the erythrocyte membrane skeleton and its related homologue proteins forming the protein 4.1/FERM superfamily. *Folia Histochem Cytobiol* 2006;44:231-248.
- 60.** <http://www1.akdeniz.edu.tr/tip/fizyoloji/d2/kan/eritrosit.htm>, 27.03.10 tarihinde ulaşılmıştır.
- 61.** Ajmani RS, Fleg JL, Demehin AA, Wright JG, O'Connor F, Heim JM, et al. Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;28:29-40.
- 62.** Iolascon A, Miragliadel GE, Perrotta S, Alloisio N, Morle L, Delaunay J. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Hematologica* 1998;83:240-257.
- 63.** Stuart J, Johnson CS. Rheology of the sickle cell disorders. *Baillieres Clin Haematol* 1987;1:747-775.
- 64.** Awodu OA, Famodu AA, Ajayi OI, Enosolease ME, Olufemi OY, Olayemi E. Using serial haemorheological parameters to assess clinical status in sickle cell anemia patients in vasoocclusive crisis. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;41:143-148.
- 65.** Desouky OS, Selim NS, El-Bakrawy EM, El-Marakby SM. Biophysical characterization of beta thalassaemic red blood cells. *Cell Biochem Biophys* 2009;55:45-53.

66. Pérez SM, Riquelme B, Acosta I, Valverde J, Milani A. Erythrocytes dynamic viscoelasticity in beta-thalassaemia minor. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35:311-316.
67. Vayá A, Suescun M, Hernández JL, Pérez ML, Palanca S, Laiz B. Rheological red blood cell behaviour in minor α -thalassaemia carriers. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;48:241-246.
68. Halis H, Bor-Kucukatay M, Akin M, Kucukatay V, Bozbay I, Polat A. Hemorheological parameters in children with iron-deficiency anemia and the alterations in these parameters in response to iron replacement. *Pediatr Hematol Oncol* 2009;26:108-118.
69. Altuntaş N, Soylu K, Suskan E, Akar N. Homocysteine levels in Turkish children. *Turk J Haematol* 2004;21:79-82.
70. Katar S. Çocuklarda B12 Vitamin Eksikliği. *Dicle Tıp Dergisi* 2007;34:25-28.
71. Cetinkaya F, Yildirmak Y, Kutluk G, Erdem E. Nutritional vitamin B12 deficiency in hospitalized young children. *Pediatr Hematol Oncol* 2007;24:15-21.
72. Baytan B, Özdemir Ö, Erdemir G, Güneş AM. Çocukluk Çağında Vitamin B12 Eksikliği Klinik Bulgular ve Tedavi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 33:61-64.
73. Taskesen M, Okur N, Katar S, Okur N, Soker M. Nutritional megaloblastic anemia during childhood: Demographical, clinical and laboratory features of 134 patients from southeastern part of Turkey. *Eur J Clin Nutr Metabol* 2009;4:152-154.
74. Koç A, Koçyiğit A, Ulukanlıgil M, Demir N. Şanlıurfa yöresinde 9-12 yaş grubu çocuklarda B12 vitamini ve folik asit eksikliği sıklığı ile bağırsak solucanlarıyla ilişkisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005; 48:308-315.

- 75.** Roschitz B, Plecko B, Huemer M, Biebel A, Foerster H, Sperl W. Nutritional infantile vitamin B12 deficiency: pathobiochemical considerations in seven patients. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:281-282.
- 76.** Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-246.
- 77.** Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. 1988. *Nutrition (Discussion)* 1995;11:180-182.
- 78.** Stuart J, Nash GB. Red cell deformability and haematological disorders. *Blood Rev.* 1990; 4:141-147
- 79.** Başkurt OK. The role of spleen in suppressing the rheological alterations in circulating blood. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999;20:181-188.
- 80.** Baskurt OK. Pathophysiological significance of blood rheology. *Turk J Med Sci* 2003;33:347-355.
- 81.** Babu N, Singh M. Influence of hyperglycemia on aggregation, deformability and shape parameters of erythrocytes. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;31:273-280.
- 82.** Hacıoglu G, Yalcin O, Bor-Kucukatay M, Ozkaya G, Baskurt OK. Red blood cell rheological properties in various rat hypertension models. *Clin Hemorheol Microcirc* 2002;26:27-32.
- 83.** Johnson RM, Panchoosingh H, Goyette Jr G, Ravindranath Y. Increased Erythrocyte Deformability in Fetal Erythropoiesis and in Erythrocytes Deficient in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and Other Glycolytic Enzymes. *Pediatr Res.* 1999;45:106-113.

- 84.** Vaya A, Iborra J, Felco C, Moreno I, Bolufer P, Ferrando F, Perez ML, Aznar J. Rheological behaviour of red blood cells in beta and delta-beta thalassemia trait. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;28:71-78.
- 85.** Reinhart WH. The influence of iron deficiency on erythrocyte deformability. *Br J Haematol* 1992;80:550-555.
- 86.** Tillmann W, Schröter W. Deformability of erythrocytes in iron deficiency anemia. *Blut* 1980;40:179-186.
- 87.** Schmid-Schönbein H, Weiss J, Ludwig H. A simple method for measuring red cell deformability in models of the microcirculation. *Blut* 1973;26:369-379.
- 88.** Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources MD, Mougengel D, Beltan E, Chalabi T, et al. Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica* 2009;94:1060-1065.
- 89.** Pribush A, Hatzkelson L, Meyerstein D, Meyerstein D. A novel technique for quantification of erythrocyte aggregation abnormalities in pathophysiological situations. *Clin Hemorrhheol Microcirc* 2007;36:121-132.
- 90.** Muravyov AV, Draygin SV, Eremin NN, Muravyov AA. The microrheological behavior of young and old red blood cells in athletes. *Clin Hemorheol Microcirc* 2002;26:183-188.
- 91.** Chien S. Rheology of sickle cells and the microcirculation. *N Engl J Med* 1984;311:1567-1569.
- 92.** Cabrales P, Tsai A. Plasma viscosity regulates systemic and microvascular perfusion during acute extreme anemic conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:2445-2452.