

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

**ÇOCUKLARDA B12 VİTAMİN EKSİKLİĞİ TANISINDA
SERUM B12 VİTAMİN DÜZEYİ İLE
HOLOTRANSKOBALAMİN, HOMOSİSTEİN, METİL
MALONİK ASİT DÜZEYLERİ VE KLİNİK BULGULAR
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SIDIKA SÜMEYYE ÖZMEN**

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILMAZ AY**

DENİZLİ – 2024

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

**ÇOCUKLARDA B12 VİTAMİN EKSİKLİĞİ TANISINDA
SERUM B12 VİTAMİN DÜZEYİ İLE
HOLOTRANSKOBALAMİN, HOMOSİSTEİN, METİL
MALONİK ASİT DÜZEYLERİ VE KLİNİK BULGULAR
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SIDIKA SÜMEYYE ÖZMEN**

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILMAZ AY**

DENİZLİ – 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecinde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman örnek aldığım, değerli hocam Prof. Dr. Yılmaz Ay'a,

Asistanlık sürecinde tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, tez sürecinde desteklerini esirgemeyen sevgili dostum Dr. Seda Menteşe ve Dr. Hazal Tural'a, ekip olarak uyum içerisinde çalıştığımız asistan, hemşire, tıbbi sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca sevgi ve desteklerini her daim yanımda hissettiğim, bana inanarak bu yolda ilerlemem için cesaret veren ve motive eden aileme,

Her zaman yanımda olan, zor zamanlarımda desteğini esirgemeyen, daimî motivasyon kaynağım ve meslektaşım sevgili eşim Dr. Bilal Özmen'e ve bu süreçte en çok fedakârlık yapmak zorunda kalan canım oğlum Ahmet Ertan'a sonsuz teşekkür etmek isterim.

Dr. Sıdıka Sümeyye ÖZMEN

Denizli 2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	13
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. VİTAMİN B12	15
2.1.1. Genel Özellikleri ve Tarihçesi	15
2.1.2. Moleküler yapısı ve türleri	15
2.1.3. Vitamin B12 Kaynakları ve Biyosentezi	17
2.1.4. Vitamin B12 gereksinimi:	18
2.1.5. B12 Vitamininin Emilimi, Depolanması ve Eliminasyonu:	20
2.1.6 Vitamin B12 Metabolik Fonksiyonları:	22
2.2 VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ.....	24
2.2.1 Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri	24
2.2.1.1. <i>Yetersiz B12 Vitamin Alım</i>	25
2.2.1.2 <i>B12 Vitamin Emilim Bozuklukları</i>	25
2.2.2. Vitamin B12 Eksikliği Bulguları.....	31
2.2.2.1 <i>Hematolojik Bulgular</i>	31
2.2.2.2 <i>Nöropsikiyatrik Bulgular</i>	32
2.2.2.3 <i>Gastrointestinal Sistem ve Diğer Bulgular</i>	33
2.2.3 B12 Vitamin Eksikliği Tanısı ve Laboratuvar Bulguları	34
2.2.4. B12 Vitamin Eksikliği Tedavisi.....	38
2.2.4.1 <i>Parenteral tedavi</i>	38
2.2.4.2 <i>Oral tedavi</i>	39
2.2.4.3 <i>İntranazal Tedavi</i>	40

2.2.4.4 Tedavinin Değerlendirilmesi.....	40
2.2.4.5 Önlem.....	41
3.ARAŞTIRMANIN GEREÇ VE YÖNTEMİ	42
3.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri.....	42
3.2. Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri:.....	42
3.3. Çalışma Tasarımı.....	43
3.4.İstatistiksel Analiz.....	45
4.BULGULAR	46
4.1. Genel Veriler	46
4.2.Laboratuvar Bulguları.....	50
4.3.Korelasyon Analizi	64
4.4.ROC Analizi	66
5.TARTIŞMA	70
5.1. Çalışmanın Kısıtlamaları	78
5.2. Öneriler.....	79
6.SONUÇLAR	80
7.REFEREANSLAR	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

AdoCbl	: Adenosil Kobalamin
AST	: Aspartat Transaminaz
CB12	: Kombine B12 Durumu Göstergesi
GIF	: Gastrik İntrensik Faktör
HCL	: Hidroklorik Asit
HCY	: Homosistein
HGB	: Hemoglobin
Holo-TC	: Holotranskobalamin
IF	: İntrensik Faktör
IGS	: İmmerslund Grasbeck Sendromu
IM	: İntramüsküler
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LMBD1	: Lizozomal Transmembran Proteini
MCH	: Ortalama Korpüsküler Hemoglobin
MCHC	: Ortalama Korpüsküler Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Korpüsküler Hacim
MeCBL	: Metilkobalamin
MMA	: Metil Malonik Asit
NLR	: Nötrofil Lenfosit Oranı
RDW	: Eritrosit Dağılım Hacmi
RNI _s	: Önerilen B12 Alımı
SAM	: S-Adenosil Metionin
SBS	: Kısa Barsak Sendromu
SDS	: Standard Deviasyon Skoru
TC-I	: Haptokorrin
TC-II	: Transkobalamin

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1 Homosistein Remetilizasyonu	23
Şekil 2 Çalışma gurubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri.....	56
Şekil 3 Çalışma gurubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri.....	57
Şekil 4 Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve sonrası 1. ay ve kontrol grubunun başvuru-1. ay Holo-TC değerleri.....	57
Şekil 5 Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve sonrası 1. ay ve kontrol grubunun başvuru-1. ay HCY değerleri.....	58
Şekil 6 Eksiklik grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri	58
Şekil 7 Eksiklik grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri	59
Şekil 8 Borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri	59
Şekil 9 Borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri	59
Şekil 10 Eksiklik ve borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ile 3. ay Holo-TC değerleri.....	63
Şekil 11 Eksiklik ve borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ile 3. Ay HCY değerleri	63
Şekil 12 Holo-TC ve B12 arasındaki ilişki.....	64
Şekil 13 Holo-TC ve HCY arasındaki ilişki	64
Şekil 14 B12 ve MCV arasındaki ilişki	65
Şekil 15 B12 ve HCY arasındaki ilişki.....	65
Şekil 16 B12 ve RDW arasındaki ilişki	65
Şekil 17 MMA ve HCY arasındaki ilişki.....	66
Şekil 18 Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) Vitamin B12 ROC analizi eğrisi	67
Şekil 19 Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) MMA ROC analizi eğrisi	67
Şekil 20 Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) HCY ROC analizi eğrisi.....	68
Şekil 21 Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) Vitamin B12 ROC analizi eğrisi	69

Şekil 22 Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) MMA ve HCY ROC analizi eğrisi 69

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 Besin kaynaklarının B12 içeriği.....	18
Tablo 2 Yaşaa göre ortalama gereksinim ve önerilen besim alım değerleri	19
Tablo 3 Vitamin B12 yetersiz alımı ve emilimindeki bozuk nedenleri	24
Tablo 4 Vitamin B12 taşınması ve metabolizmasındaki bozukluklar.....	25
Tablo 5 B12 vitamininin konjenital ve edinsel kusurlarının bazı ayırt edici özellikleri.....	27
Tablo 6 Yaşaa göre hemoglobin, hematokrit, MCV ve RDW değerleri.....	35
Tablo 7 Biobelirteçlerin referans aralıkları	36
Tablo 8 Homosistein yaşaa göre normal düzeyleri	37
Tablo 9 Çalışma ve kontrol grubuna ait demografik veriler	46
Tablo 10 Çalışma ve kontrol grubuna ait demografik ve antropometrik veriler	47
Tablo 11 Tüm hastalara ait başvuru şikayetleri.....	48
Tablo 12 Çalışma ve kontrol grubuna ait başvuru şikayetleri.....	49
Tablo 13 Çalışma ve kontrol grubuna ait fizik muayene bulguları	50
Tablo 14 Çalışma ve Kontrol grubuna ait laboratuvar verileri.....	52
Tablo 15 Çalışma ve kontrol grubuna ait B12, Hcy, MMA ve Holo Tc verileri	53
Tablo 16 Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. aya ait laboratuvar verileri ...	55
Tablo 17 Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. aya ait Hcy, MMA, Holo Tc verileri	56
Tablo 18 Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1 ve 3. aya ait laboratuvar verileri.....	61
Tablo 19 Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1 ve 3. aya ait HCY, MMA, Holo-TC verileri	62
Tablo 20 Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) ROC analizi ve biobelirteçlerin cutt off değerleri	66
Tablo 21 Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) ROC analizi ve biobelirteçlerin cutt off değerleri	68

ÖZET

Çocuklarda B12 Vitamin Eksikliği Tanısında Serum B12 Vitamin Düzeyi ile Holotranskobalamin, Homosistein, Metil Malonik Asit Düzeyleri ve Klinik Bulgular Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Dr. Sıdıka Sümeyye ÖZMEN

B12 vitamini, hücre metabolizması ve DNA sentezi için gerekli bir koenzimdir. Eksikliği, özellikle çocuklarda büyüme geriliği, nörolojik disfonksiyon ve anemiye neden olabilir. Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde nutrisyonel B12 vitamini eksikliği yaygındır. Ancak, tanıda en sık kullanılan testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek değildir, bu da B12 vitamini eksikliği tanısında zorluklara yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı, çocuklarda B12 vitamini eksikliği tanısında serum B12 vitamini düzeyi ile holotranskobalamin, homosistein ve metil malonik asit düzeyleri ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi incelemektir. Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Polikliniği'ne başvuran ve serum B12 vitamini düzeyi 300 pmol/L'nin altında olan çocuklar üzerinde prospektif, kontrollü bir çalışma yürütülmüştür. Bulgular, B12 vitamini eksikliği olan çocuklarda serum B12 düzeyi, holotranskobalamin ve homosistein düzeylerinin anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Anemi, nörolojik bulgular ve büyüme geriliği gibi belirtiler yaygındır. Tedavi sonrası homosistein düzeylerindeki düşüş ve holotranskobalamin düzeylerindeki artış, tedavi etkinliğini göstermektedir. Holo-TC eksiklik sınırını 35 pmol/L olarak belirlediğimizde vitamin B12 seviyesinin optimal kesme noktası 276,5 pg/mL olarak bulunmuştur. Klinik pratikte vitamin B12 eksiklik sınır değerinin 276,5 pg/mL olarak düzenlenmesinin, gri zondaki hastalar ve fonksiyonel B12 eksikliğini tespit etmek açısından yararlı olacağını düşünmekteyiz. Bu çalışma, çocuklarda B12 vitamini eksikliğinin tanısında holotranskobalamin ve homosistein düzeylerinin serum B12 düzeyi ile birlikte değerlendirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Vitamin B12 Eksikliği, Holotranskobalamin, Metil malonik asit, Homosistein

SUMMARY

Dr. Sıdıka Sümeyye ÖZMEN

Vitamin B12 is a coenzyme essential for cellular metabolism and DNA synthesis. Its deficiency can lead to growth retardation, neurological dysfunction, and anemia, particularly in children. Nutritional B12 deficiency is prevalent in developing countries like Turkey. However, the sensitivity and specificity of the most commonly used diagnostic tests are not high, making the diagnosis of B12 deficiency challenging. The objective of this study is to evaluate the correlation between serum vitamin B12 levels and the biomarkers holotranscobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid, alongside clinical manifestations in the diagnostic assessment of vitamin B12 deficiency in pediatric patients. A prospective controlled study was conducted involving children with serum vitamin B12 levels below 300 pmol/L who presented to the Pediatric Hematology Clinic at Pamukkale University. The results demonstrated significant differences in serum vitamin B12, holotranscobalamin, and homocysteine levels in children with vitamin B12 deficiency. Clinical presentations such as anemia, neurological symptoms, and growth retardation were common. By establishing the deficiency threshold for holotranscobalamin (Holo-TC) at 35 pmol/L, we identified the optimal cut-off point for serum vitamin B12 to be 276.5 pg/mL, achieving a sensitivity of 76% and a specificity of 77%. We recommend adjusting the clinical threshold for vitamin B12 deficiency to 276.5 pg/mL to improve the detection of patients in the gray zone and those with functional B12 deficiency. This study highlights the significance of assessing holotranscobalamin and homocysteine levels alongside serum vitamin B12 for an accurate diagnosis of B12 deficiency in children.

Keywords: Vitamin B12 Deficiency, Holotranscobalamin, Methylmalonic Acid, Homocysteine

1.GİRİŞ VE AMAÇ

B12 vitamini, normal hücre aktivitesi, proliferasyonu ve metabolizması için gerekli olan esansiyel bir vitamindir (1, 2). DNA sentezinde rol alan kimyasal reaksiyonlarda koenzim olarak görev almaktadır. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde nutrisyonel vitamin B12 eksikliği önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünyada sosyoekonomik düzeyi düşük bölgelerde yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliğinin %30 ile 60 arasında olduğu bildirilmiştir (1, 3).

Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda beslenme zorluğu, regürjitasyon, kabızlık, atrofik glossit, pigmentasyon değişiklikleri, solukluk, sarılık, yorgunluk, apati, irritabilite, titreme ve miyoklonik hareketler, büyüme gelişme geriliği, beyin lezyonları, okul performansında düşüklük, mental ve sosyal gelişim bozukluğu, kısa süreli bellek ve dikkat bozukluğu, kazanılmış motor hareketlerde gerileme, pansitopeni, makrositik anemi gibi belirti ve bulgular görülmektedir (1, 4, 5). Eksiklik erken tedavi edilmezse yetersiz miyelinizasyona bağlı kalıcı nörolojik hasar oluşabilmektedir (6).

Vitamin B12 eksikliğini saptamada kullanılacak testler serum vitamin B12 düzeyi, holotranskobalamin (Holo-TC), homosistein (HCY), metilmalonik asit (MMA) düzeyi ölçümüdür (7). Vitamin B12 eksikliği tanısı için ilk olarak istenilen tetkik genellikle serum vitamin B12 düzeyinin ölçümüdür. Sınır değerler laboratuvarlar arasında farklılık gösterir. Bu nedenle hem yanlış negatif hem de yanlış pozitif değerlerin oranı oldukça yüksektir (8). Bu durumun nedeni, ölçülen B12 vitamininin sadece %20'lik kısmının taşıyıcı protein olan transkobalamin-II (TC-II)'ye bağlı olması ve kalan kısmın haptokorin (TC-I) üzerinde yer almasıdır. TC-I, kobalaminin çoğunu bağlamasına rağmen hücre içine geçişte rolü yoktur. Yani serum vit-B12 ölçümü, vitaminin aktif formunu göstermez. Holo-TC metabolik olarak aktif vitamin B12 fraksiyonudur. Kısa yarı ömrü ve tüm hücrelere girme kabiliyeti nedeniyle, Holo-TC'nin şu anda dolaşımdaki vitamin B12 seviyelerinin hassas ve en

erken biyolojik belirleyicisi olduğuna inanılmaktadır (9-11). Vitamin B12 eksikliğinde HCY ve MMA düzeyleri artar (12, 13). Yüksek MMA ve HCY düzeyleri, tedaviden hemen sonra düşer, bu nedenle tedavinin yeterliliğini göstermek için kullanılabilir. MMA ve HCY sınır değerleri de laboratuvarlar arasında farklılık gösterir (14).

Vitamin B12 eksikliğinde tedavi oldukça kolay ve yüz güldürücü olmakla birlikte hastalarda vitamin B12'nin uygulama şekli, dozu, süresi ve hangi formun uygulanacağı hala standardize edilmemiştir. Erişkin ve çocuklarda oral ve parenteral tedavi etkinliklerini karşılaştıran çalışmalarda etkinlikler benzer bulunmuştur (15). Hiçbir yakınması yokken bakılan tetkiklerinde serum vitamin B12 düzeyi düşük olan hastalar olduğu gibi klinik olarak şiddetle vitamin B12 eksikliği düşünüldüğu halde serum düzeyi normal olan hastalar da bulunmaktadır. Serum vitamin B12 ölçümünün, B12 vitamini eksikliği tanısı koymadaki kısıtlılıklarından dolayı, eksiklikle uyumlu klinik bulguları olan hastalarda Holo-TC, MMA, HCY ölçülmesi uygun olacaktır.

Çalışmamızda vitamin B12 eksikliği tanısı için farklı parametrelerin (serum B12 vitamin, Holo-TC, HCY, MMA ve klinik bulgular) birlikte değerlendirilmesi ve tanıda en uygun parametrenin belirlenmesi amaçlanmıştır. İkincil sonuç olarak B12 vitamin eksikliği olmadığı halde gereksiz yere tedavi alan hastalar ile eksiklik olduğu halde serum B12 vitamin düzeyi normal çıktığı için tanısı atlanan hastaların saptanması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. VİTAMİN B12

2.1.1. Genel Özellikleri ve Tarihçesi

Kobalamin olarak da bilinen Vitamin B12; 1355.42 dalton molekül ağırlığında, suda eriyen, kobalt iyonu bulunduran, insanlar tarafından sentezlenemeyen kırmızı renkli kompleks bir koenzimdir (16, 17). DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen vitamin B12; normal hematopoezin sürdürülmesi, gastrointestinal sistem epitel hücrelerinin rejenerasyonu ve sinir sistemi hücrelerinin myelin üretimi için gereklidir (18). Vitamin B12 için en önemli kaynaklar; karaciğer, kırmızı et, yumurta, peynir, süt ve deniz ürünleridir. Baklagil grubu besinler hariç, bitkisel besinlerde vitamin B12 bulunmamaktadır (17).

Vitamin B12'nin tarihçesine baktığımızda; On dokuzuncu yüzyılın başlarında, 1849'da James Combe, Thomas Addison ve Anthony Biermer, pernisiyöz aneminin neden olduğu, günümüzde B12 vitamini eksikliği olarak kabul edilen ölümcül bir diyatez hakkında yazmışlardı (19-21). 1887 yılında ise Lichteim pernisiyöz aneminin nörolojik bulgularla ilişkisini tanımlamıştır (22). Whipple, Minot ve Murphy 1934 yılı Nobel tıp ve fizyoloji ödülünü; hastalığın tedavisinde çiğ karaciğer ve kırmızı et içeren diyetin bazı hastalarda başarılı olduğu gösterilmesi üzerine kazanmışlardır (23, 24). 1948'de Folkers ve Smith tarafından kobalaminin yapısı aydınlatılmış ve 1964'te ise Dorothy Hodgkin B12 vitaminin moleküler yapısını tanımlaması üzerine Nobel tıp ve fizyoloji ödülü kazanmıştır (25).

2.1.2. Moleküler yapısı ve türleri

B12 Vitamini, 1355 dalton molekül ağırlığıyla, doğada tanımlanan en büyük ve en karmaşık yapıya sahip, nonpolimerik biyomoleküllerden biridir. Moleküler

yapısı korin halkası, nükleotid grubu ve R grubundan (değişken grup) oluşmaktadır (26). Korin halkasının merkezinde kobalt elementinin olduğu, etrafında onu saran indirgenmiş yapıda 4 tane pirol halkasından oluşan çekirdek kısmı bulunur. Nükleotid grubu; düzlemsel yapının altındaki 5. koordinasyon bölgesinde; ribosil 3-fosfata bağlı dimetil benzimidazol şeklinde, pirol halkalarından birine ve kobalt elementine bağlanmış halde bulunmaktadır. Korin halkası ve nükleotid halkasına birlikte kobalamin denir. Kobalamin B12 vitamini ile aynı anlamda kullanılır. R grubu; korin halkasının üzerindeki 6. Koordinasyon bölgesinde kobalt bağlanan küçük bir gruptur. B12 vitamini; değişken grubun türüne göre metil (metilkobalamin), deoksiadenosil (deoksiadenosilkobalamin), OH (hidroksikobalamin) veya siyano grubu (siyanokobalamin) B12 türleri oluşur. B12'nin insanlarda aktif olan formları; metilkobalamin (MeCbl) veya adenosilkobalamin (AdoCbl)'dir. Siyanokobalamin kimyasal olarak en kararlı form olmasına rağmen kendi başına vitamin aktivitesi yoktur. İnsan vücudunda; plazmada MeCbl %60-80 oranda bulunurken, dokularda majör olarak AdoCbl bulunmaktadır (27).

Metilkobalamin; R grubu CH₃ (metil) olan, B12 vitaminlerinin en aktif formudur. Siyanokobalamin ve hidroksikobalamin, insan hücrelerinde enzimatik dönüşümlere uğrar ve MeCbl ve AdoCbl'e dönüşür(28). MeCbl metilmalonik asidin süksinilkoA'ya, homosisteinin metionine ve 5-metiltetrahidrofolata dönüşmesinde görevlidir (29). Deoksiadenozilkobalamin; R grubu olarak 5,6 deoksiadenozil kobalamin grubu bulunan, insan vücudunda aktif kofaktör olarak görev alan B12 türüdür. Hidroksikobalamin; R grubu OH olan, vücutta en fazla bulunan B12 türüdür. MeCbl ve AdoCbl'in öncüsüdür. Farmasötik formda bulunabilmektedir. İnsan vücudunda; emilim ve taşınma sırasında TC-II ile yaptığı bileşiklere karşı antikor üretilebilmektedir. Siyanokobalamin; R grubu olarak siyanür bulunan B12 vitamini türüdür. Genel olarak farmasötik formda tercih edilen B12 türüdür. Vücutta aktif hale gelmesi için siyanür grubu ayrılır ve kobalt +2'ye indirgenir ve MeCbl'e çevrilir.

2.1.3. Vitamin B12 Kaynakları ve Biyosentezi

Vitamin B12; bazı küfler, mantarlar ve birçok bakteri tarafından üretilmektedir. Bitkiler tarafından yapılabilmekle birlikte, bitki kaynaklı gıdalarda az bulunmaktadır. Hayvanların gastrointestinal sistemindeki fermentasyon, vitamin B12 üreten mikroorganizmaların çoğalmasını sağlamakta ve emilen vitamin B12 hayvanların dokularında birikmektedir (30). Hayvanlar ayrıca B12'yi koprofaji yoluyla ve yemlerinin bakteriyel kontaminasyonunun bir sonucu olarak dışarıdan alabilmektedir. İnsan kalın barsağında bakterilerce üretilen vitamin B12, sentez yeri emilim yerinden (ileum) çok uzak olduğu için emilememekte ve ince barsakta üretilen ise çok az miktarda emilmektedir. Bu nedenle insanlar B12'yi hayvan dokularından veya süt, peynir ve yumurta gibi hayvansal ürünlerden alırlar. Özellikle karaciğer, böbrek ve kalp çok zengin bir kobalamin kaynağıdır. Ayrıca, zenginleştirilmiş kahvaltılı gevrekleri ve zenginleştirilmiş besleyici mayalar, yüksek biyoyararlanıma sahip olan B12 vitamininin kolaylıkla bulunabilen kaynakları arasında sayılabilir (31, 32). Biyoyararlanım, farklı gıda kaynakları arasında on kata kadar değişebilir ve gıdalardaki kobalamin içeriği her zaman aynı biyoyararlanım etkinliğini göstermeyebilir. İnek sütü, balık ve zenginleştirilmiş tahıl gevreklerinin, kırmızı etten daha düşük kobalamin içeriğine sahip olmalarına rağmen, kobalamin ihtiyacını karşılamakta etten daha etkili oldukları gösterilmiştir (33). Aynı zamanda gıdaların pişirilme tekniği ile de (kızartma, kaynatma, buharda pişirme, mikrodalga yöntemiyle) içerdikleri B12 vitamininin %62'ye kadar azalabildiği ve pişirme yöntemlerinden sadece vakumlu poşette düşük sıcaklıkta pişirmeyle gıdalardaki B12 kaybının olmadığı gösterilmiştir (34). Hayvansal süt türlerinin B12 içeriği yüksek olmasa da düzenli süt tüketiminin sağlıklı yaşlı yetişkinlerde daha yüksek serum B12 konsantrasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (35). Beslenmeyle alınan et daha çok hidroskobalamin ve adenosilkobalamin içerirken, sütte esas olarak metil ve hidroskobalamin bulunmaktadır (36, 37). B12 anne sütünde ortalama 0.42 µg/L bulunmaktadır ve içeriğindeki TC-I sayesinde yüksek vitamin B12 bağlama kapasitesine sahiptir (38-40).

Bazı besin kaynaklarının içerdikleri B12 vitamini içeriği Tablo 1’de gösterilmektedir (41).

Tablo 1: Besin kaynaklarının B12 içeriği

Gıda	Mikrogram (porsiyon başına)
Sığır karaciğeri	70.7
Somon	2.6
Ton balığı	2.5
Dana eti	2.4
Süt (200 ml)	1.3
Yoğurt	1
Peynir	0.3
Yumurta	0.5
Hindi	0.3
Muz	0
Ekmek (1 dilim)	0

Bir porsiyon sığır karaciğeri, somon, ton balığı, dana eti, yoğurt, peynir, yumurta, hindi, muz 3 ons (85 gr) olarak belirlenmiştir

B12'nin biyosentezi, *Lactobacillus rossiae* ve *Lactobacillus euteri* gibi belirli bakteri türleriyle sınırlıdır (42, 43). Kobalaminin sentezinden yaklaşık 30 enzim katalizli reaksiyon sorumludur. Süreç, üroporfirinojen III (tetrapirrol sentezindeki ilk makrosiklik ara ürün) üretimi ile başlar, üroporfirinojen III'ün kobinamide dönüşümü ile devam eder ve nükleotid halkasının birleşmesi ve korrin halkasına bağlanmasıyla sona erer (44).

2.1.4. Vitamin B12 gereksinimi:

Tipik Batı diyetine sahip, hayvansal gıda tüketen insanlar günde ortalama 4-6 µg B12 alır ve bunun 1-5 µg'ı emilir (45). Sağlıklı insanlarda alınan B12 metabolik gereksinimi aşar ve insan vücudundaki B12 vitaminin yaklaşık 1-5 mg'lık kısmı karaciğerde depolanır (46). Karaciğerde depo edilen vitamin B12'nin yarı ömrü 400 gün olarak hesaplanmış ve günlük B12 tüketiminin vücut depolarının yaklaşık % 0.02'si olduğu radyoaktif kobalamin kullanımıyla gösterilmiştir (47). Depo edilen

vitamin B12 vücudun 3-4 yıllık ihtiyacını karşılayabildiği saptanmıştır, bu nedenle vitamin B12 eksikliği gelişmesi için en az 3-4 yıl geçmesi gerekmektedir (47).

Dünya Sağlık Örgütü'nün günlük gereksinim için oluşturduğu önerilen B12 alımı (RNIs) 0-6 ay için 0.4 µg/gün iken, yaşla artarak puberte döneminde 2.4 µg/gün'e kadar çıkmakta ve erişkinlerde ortalama 2-2.4 µg/gün şeklindedir (48). Dünya Sağlık Örgütü'nün yaşa göre önerilen B12 vitamini alımı Tablo 2'de gösterilmiştir (48, 49).

Tablo 2: Yaşa göre ortalama gereksinim ve önerilen besim alım değerleri

Grup	Ortalama Gereksinim (EAR) (µg/gün)	Önerilen Besin Alımı (RNI) (µg/gün)
Bebekler ve Çocuklar		
0-6 ay	0.3	0.4
7-12 ay	0.6	0.7
1-3 yaş	0.7	0.9
4-6 yaş	1.0	1.2
7-9 yaş	1.5	1.8
Ergenler		
10-18 yaş	2.0	2.4
Yetişkinler		
19-65 yaş	2.0	2.4
65+ yaş	2.0	2.4
Hamile Kadınlar	2.2	2.6
Emziren Kadınlar	2.4	2.8

Yapılan çalışmalarla; sağlıklı emziren kadınların anne sütündeki B12 vitamini değerlerinin yaklaşık 0,4 µg/l-0,8 µg/l arasında olduğu saptanmış ve ortalama 0,75 litre/gün süt alan bebeklerin B12 vitamini alımı 0,3 µg/gün olacağı öngörülmüştür (50-52). Normal vitamin B12 deposu ile doğan ve yeterli anne sütü tüketen bebeklerde alınan B12 vitamini yeterli olabilmektedir (48). Bununla birlikte B12 vitamin eksikliği olan annelerden doğan bebeklerde, yaşamın ilk 6-18 aylık döneminde vitamin B 12 eksikliğinin klinik bulguları ortaya çıkabilmektedir (47).

2.1.5. B12 Vitamininin Emilimi, Depolanması ve Eliminasyonu:

Kobalamin trafiği, taşınması ve hücrelere erişimi üç adet kobalamin bağlayıcı proteine bağlıdır: intrinsek faktör (IF), transkobalamin (TC II) ve haptokorrin (TC-I).

İntrinsek faktör; molekül ağırlığı 45 kDa olan, insan vücudunda gastrik paryetal hücreler tarafından sentezlenen ısıya dayanıksız ve alkali ortamda stabil olan bir glikoproteindir (53). Kromozom 11q13 üzerindeki GIF (gastrik intrinsek faktörü) geni tarafından kodlanmaktadır (54). Bağırsakta kobalamin alımına aracılık eder. Kobalaminler ile oluşturduğu bağ, TC II veya TC I'e göre daha zayıftır (55).

Transkobalamin; endotelial hücreler ve bir çok hücre tarafından sentezlenir ve kobalaminin, çoğu periferik hücreye girmesine aracılık eder (26). 22q12-13 kromozomu üzerindeki TCN2 geni tarafından kodlanmaktadır (56). Plazmada TCII 'ye MeCbl ve AdoCbl bağlanırken, TC I'e sadece MeCbl bağlanmaktadır (57, 58).

Haptokorrin; Transkobalamin I (TC I), Transkobalamin-O (TCO), transkobalamin-III (TCIII), R bağlayıcı protein olarak da adlandırılır. TC I molekül ağırlığı yaklaşık 46 kDa olan, 11q12.1 kromozomu üzerinde TCN1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Fonksiyonel olmayan korrinoid analogları ve kobalamin için yüksek afiniteye sahip olması ve hücre içine alınması için spesifik bir hücre reseptörüne sahip olmaması nedeniyle IF ve TC II'den ayrılır.

B12'nin emilimde görev alan iki mekanizma vardır: pasif difüzyon ve reseptör yoluyla emilim. Oral dozun yalnızca %1-2'si mukoza zarları ve gastrointestinal sistem yüzeyi yoluyla pasif difüzyonla emilebilir (59).

Reseptörler yoluyla emilim; mide asidinin etkisi ve yiyeceklerin pepsin tarafından sindirilmesi nedeniyle midede başlar. Mide; tükürük bezleri ve gastrik parietal hücreler tarafından salgılanan IF ve TC I içerir. TC I ve IF, serbest kalan vitamin için rekabet eder ancak asidik pH'ta TC I, B12 için daha yüksek afiniteye sahiptir. Mide içeriği duodenumun ilk kısmına geçtiğinde, oluşan alkali ortamda TC I pankreas proteazları (özellikle tripsin) tarafından kısmen sindirilir ve B12 vitaminini

serbest bırakır. Serbestleşen B12 vitamini IF bağlanır. Terminal ileumda; vitamin B12-IF kompleksi mukozal hücrelerin mikrovillüs membranlarının üzerindeki kubilin proteinlerinden oluşan spesifik IF-vitamin B12 (kübam) reseptörlerine bağlanmaktadır. Bu kompleks daha sonra endositozla ileal hücreye alınır. Bu işlem yalnızca kalsiyum iyonlarının bulunduğu nötr pH'ta gerçekleşir ve ileal reseptörlerin kapasitesi olması nedeniyle hız sınırlayıcıdır (60, 61).

İleal hücre içerisinde; IF, lizozomal proteazlar tarafından parçalanır ve serbestleşen B12 vitamini lizozomal transmembran proteini (LMBD1) tarafından sitoplazmaya taşınır (62). B12, ileal sitoplazmadan MRP1 proteini tarafından ekzositozla kan dolaşımına aktarılır (63). Kana geçen serbest B12 iki proteine bağlanır: TC I ve TC II. Transkobalamin tüm dokular tarafından sentezlenir ve ağırlıklı olarak doymamış bir formda dolaşmaktadır (64). TC II yarı ömrü 90 dk olması nedeniyle TC I'den (10 gün) çok daha kısadır, bu nedenle düşük Holo-TC vitamin B12 eksikliğinin erken bir göstergesi olduğu düşünülmektedir (65). TC I ise dolaşımdaki kobalaminin yaklaşık %80'ini taşımasına rağmen kobalaminin hücre alımında herhangi bir rolü olduğuna dair kanıt olmamakla birlikte karaciğerdeki hücre yüzey reseptörlerine bağlandığı ve zararlı kobalamin analoglarının karaciğer üzerinden safra ile atılmak üzere taşınması için aracı olduğu düşünülmektedir (66, 67).

Vücuttaki vitamin kobalaminin çoğu (%90) karaciğer hücrelerinde depolanmaktadır. Diyetle alım durumuna göre, depolanan miktar 1,1-3,9 mg arasında olmakla birlikte, günlük kayıp yaklaşık 1,4-5,1 µg/gün arasında değişmektedir (40).

Vücutta TC I'e bağlı bulunan 1.5 µg kobalamin ve değişen miktarlarda kobalamin analogları günlük olarak safra yoluna ekskresyonla atılır (68). Pankreas proteazları tarafından safrada bulunan TC I yıkıma uğrar. Serbest kalan kobalamin IF'ye bağlanarak ileumda yeniden emilir, IF'ye bağlanamayan serbest haldeki diğer analoglar dışkı yoluyla atılır (69). IF olmadığında safrada salgılanan tüm kobalamin dışkı ile atılır. Sonuç olarak enterohepatik sirkülasyon yolu ile günlük olarak safrada salgılanan kobalaminin yaklaşık üçte ikisi geri kazanılır. Kobalamin alımı düşük olan kişiler, kobalaminin safra yoluyla geri emilim verimliliğini artırır. Verimli geri

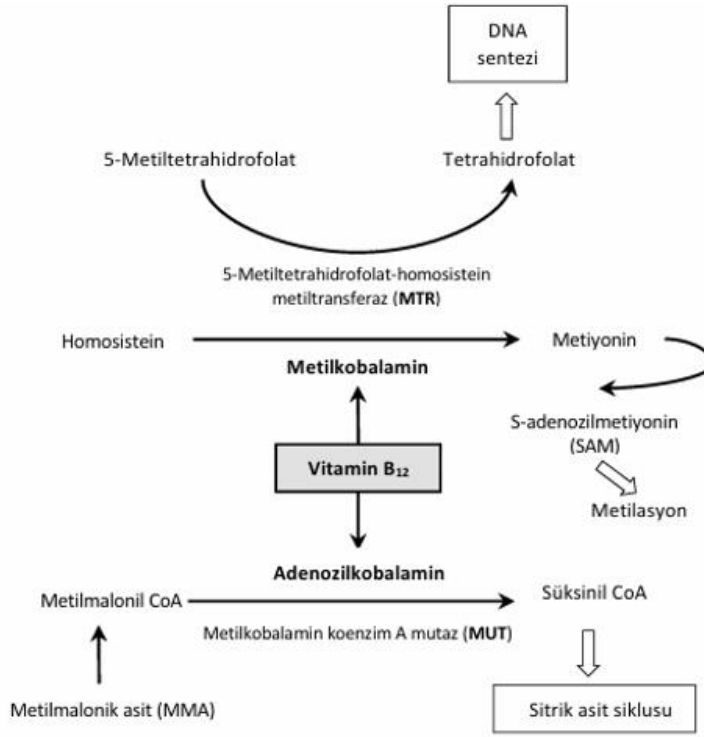
emilim, diyetlerinde çok az miktarda kobalamin bulunan kişilerde bile eksikliğin gelişmesinin zaman almasının nedenidir.

Renal yol ile günlük olarak filtrelenen kobalamin miktarı yaklaşık 1.5 µg olmakla birlikte proksimal tübüllerde %99,8'den fazlası yeniden emilmesi nedeniyle idrarda az miktarda kobalamin tespit edilir (70, 71).

2.1.6 Vitamin B12 Metabolik Fonksiyonları:

Vitamin B12 insan vücudunda iki enzimatik reaksiyon için koenzim olarak görev yapmaktadır. Bu enzimatik reaksiyonlar; sitozolde metionin sentetazın enzim olarak görev aldığı homosistein remetilasyonu ve mitokondride metilmalonil-CoA mutazın enzim olarak kullanıldığı metilmalonil-CoA izomerizasyonunda kullanılmaktadır.

Homosisteinin metiyonine dönüştürülmesi tepkimesinde enzim olarak metionin sentetaz ve koenzim olarak kobalaminin metilkobalamin formu görev almaktadır, (Şekil 1). Ayrıca tepkimede aynı zamanda folik asit de kullanılmaktadır. Folik asit metilkobalamin eksikliğinde, metil-THF formunda kalmaktadır (17, 72). İnsan vücudunda DNA sentezinde kullanılan metionin ve tetrahidrofolatın üretimi esas olarak bu tepkimeyle olmaktadır. Kobalamin eksikliğinde metionin sentetaz aktivitesi koenzim yokluğu nedeniyle azaldığında, tetrahidrofolat sentezi inhibe olmakta ve folat düzeyi yeterli olmasına rağmen kullanılamamakta ve metionin ve tetrahidrofolatın üretilmemesi sebebiyle DNA sentezi gerçekleşmemektedir. Megaloblastik aneminin bu tepkimenin yeterli miktarda gerçekleşmemesi üzerine olduğu düşünülmektedir (72, 73).



Şekil 1: Homosistein Remetilasyonu

Metilmalonil-CoA'nın süksinil-CoA'ya dönüştürülmesi tepkimesinde enzim olarak metilmalonil-CoA mutaz ve koenzim olarak kobalaminin 5'-deoksiadenozil kobalamin formu görev almaktadır (17, 72). Bu tepkimenin gerçekleşmemesi halinde propionil-CoA, süksinil-CoA'ya dönüştürülemez ve sitrik asit döngüsüne giremez. Biriken propionil-CoA yağ asidi sentezinde asetil koenzim A yerine kullanılır ve tek zincirli yağ asitlerinin sinir sisteminde artışına neden olarak, dolaylı yoldan miyelin dejenerasyonuna sebep olur (13).

Bu iki enzimatik tepkime kobalamin eksikliğinde gerçekleşemez. Tepkimenin substratları olan homosistein ve metilmalonil-CoA düzeyleri plazmada ve idrarda artar. Metilmalonil-CoA'nın artışı sadece kobalamin eksikliğine özgü iken, homosistein artışı kobalamin eksikliği, folik asit eksikliği veya her ikisinin de eksikliğinde görülebilmektedir (72, 73).

2.2 VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ

Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde nutrisyonel vitamin B12 eksikliği önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünyada sosyoekonomik düzeyi düşük bölgelerde yapılan çalışmalarda vit-B12 eksikliğinin %30-60 arasında olduğu bildirilmiştir (1, 3).

2.2.1 Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri

Vitamin B12 eksikliği genellikle alım eksikliği (vitamin B12 içeren gıdaların yeterli alınmaması), emilimin bozulması, transport veya kobalamin metabolizmasının bozulması sonucu oluşmaktadır (Tablo 3,4) (74, 75).

Tablo 3: Vitamin B12 yetersiz alımı ve emilimindeki bozuk nedenleri

Yetersiz Vitamin B12 Alımı	Vitamin B12 Emiliminde Bozukluk
a. Diyet (<2 mg/gün):	a. İntrinsik faktör eksikliği
i. Vejetaryenlik-veganlık	i. Konjenital intrinsik faktör eksikliği
ii. Düşük hayvansal gıda alımı	ii. İntrinsik faktör fonksiyon bozukluğu
iii. Kontrolsüz fenilketonüri diyeti	iii. Juvenil pernisiyöz anemi
b. Bebeklerde anneden kaynaklanan eksiklik	iv. Otoimmün poliendokrinopati otoantikorlarla juvenil pernisiyöz anemi
	v. IgA eksikliği ile juvenil pernisiyöz anemi
	vi. Gastrik mukoza hastalığı
	- Kronik gastrit, gastrik atrofi
	- Kısmi/total gastrektomi

Tablo 4: Vitamin B12 taşınması ve metabolizmasındaki bozukluklar

Vitamin B12 Taşınmasında Bozukluklar	Vitamin B12 Metabolizmasında Bozukluklar
a. Konjenital TC II eksikliği	a. Konjenital nedenler
b. Geçici TC II eksikliği	i. Adenozilkobalamin eksikliği CMA ve CblB hastalıkları
c. Kısmi TC I (haptocorrin eksikliği)	ii. Metilmalonil-CoA mutaz eksikliği (mut0, mut-)
	iii. Metilkobalamin eksikliği CblE ve CblG hastalıklar
	iv. Kombine adenosilkobalamin ve metilkobalamin eksiklikleri
	b. Edinsel nedenler
	i. Karaciğer hastalığı
	ii. Malnütrisyonlar (kwashiorkor, marasmus)
	iii. Vitamin B12 emilimi ve/veya kullanımında bozulma ile ilişkili ilaçlar

2.2.1.1. Yetersiz B12 Vitamin Alım

Vitamin B12 içeriği düşük gıda alımı, vejeteryan beslenme, malnutrisyon, özel diyet mamalarıyla beslenme (Fenilketonüri gibi) gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda 0-6 ay arasındaki çocuklarda annedeki vitamin B12 eksikliğine bağlı olarak transplasental ve anne sütündeki kobalaminin eksikliğinde de ortaya çıkmaktadır (46).

2.2.1.2 B12 Vitamin Emilim Bozuklukları

Pernisiyöz anemi, vitamin B12 eksikliği nedeniyle ortaya çıkan bir durumdur ve bu eksiklik ince bağırsağın B12'nin emilimi için gereken IF eksikliğinden kaynaklanmaktadır (72, 76). IF eksikliği hem besin kaynaklı hem de safra yoluyla geri

dönüştürülen B12'nin emiliminde bozulmaya yol açar ve vücuttaki B12 deposunun tükenmesine neden olur. Pernisiyöz aneminin temel nedeni, fundus ve mide korpusunu etkileyen otoimmün gastrittir. Gastrit zamanla kronik atrofik gastrite ilerler, hidroklorik asit ve IF üreten mide parietal hücreleri yok olur (77). Bu durum, megaloblastik anemi ve nöropati gibi nörolojik komplikasyonların gelişmesine yol açar. Konjenital pernisiyöz anemide, IF eksikliği tespit edilirken, diğer gastrik sekresyonlar normal seviyede olmakla birlikte IF ve mide paryetal hücrelerine karşı antikor gelişmemiştir. Juvenil pernisiyöz anemi de ise gastrik atrofi ve aklorhidri görülmektedir. Olguların yaklaşık %90'ında IF'ye karşı, %10'unda ise paryetal hücrelere karşı antikor saptanır. Çocuklarda genellikle ikinci yaşın başlarında görülmekle birlikte ergenlik veya yetişkinliğe kadar klinik durumun ortaya çıkması gecikebilir. Bazı hastalarda IF saptanamazken, bazılarında immünolojik olarak tespit edilebilen ancak fonksiyonu olmayan IF vardır. İnsan IF (GIF geni) geni kromozom 11'de bulunmaktadır, homozigot GIF mutasyonları IF fonksiyonunun tamamen kaybolmasına sebep olmaktadır (72, 78). Edinilmiş pernisiyöz anemisi olan tüm çocuklar, otoimmün tiroidit, hipoparatiroidizm ve adrenal yetmezlik gibi endokrinopatiler ve aynı zamanda demir eksikliği için de taranmalıdır, çünkü aklorhidri demir emilimini de azaltmaktadır (Tablo 5) (40).

İmmerslund-Gräsbeck sendromu (IGS), sentezinden sorumlu olan CUBN veya AMN genlerindeki mutasyonlar nedeniyle oluşan nadir, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden, otozomal resesif bir bozukluktur (79). Bu sendrom, ileumda kobalamin emiliminde ortaya çıkan bir kusur ile karakterizedir ve hastalarda IF seviyeleri normaldir, IF'ye karşı antikor yoktur ve ileal bağırsak morfolojisi normaldir (72). Semptomlar tipik olarak yaşamın ilk yılından sonra olmakla birlikte çoğunlukla 5 yaşından önce ortaya çıkar ve nadir olarak adölesan dönemlere kadar bulgu vermeyebilir (80). Megaloblastik anemiye ek olarak, gelişme geriliği, kilo kaybı, hafif proteinüri ve tekrarlayan gastrointestinal veya solunum yolu enfeksiyonları görülebilir (72). Tedavi açısından, yaşam boyu B12 enjeksiyonları ile pernisiyöz anemi ve IGS anemisinin önüne geçilir (79, 81).

Tablo 5: B12 vitamininin konjenital ve edinsel kusurlarının bazı ayırt edici özellikleri

Klinik Durum	Mide	Mide	IF	HCl
Konjenital Pernisiyöz Anemi	Normal	Normal	Yok	Normal
Juvenil Pernisiyöz Anemi	Atrofik	Atrofik	Yok	Aklorhidri
Imerslund-Grasbeck Sendromu	Normal	Normal	Var	Normal
Malabsorpsiyon	Normal	Değişken	Var	Değişken

IF: İntrinsik faktör, HCl: Hidroklorik asit

Total ve parsiyel gastrektomi gibi çocuklarda nadir uygulanan uygulamalar IF sekresyonunu ortadan kaldırmaktadır. Yaşla pepsin ve hidroklorik asit salgılanmasında azalma olması, kronik gastrit ve proton pompası inhibitörleriyle uzun süreli tedavi gibi çeşitli sebeplerle yetişkin hastaların %15 ila %30'unda besinlerden vitamin B12'nin salınımı azalır. Bu durumda sublinik kobalamin eksikliği sıklıkla görülmekle birlikte klinik eksiklik nadir olarak saptanmaktadır (40).

Çölyak ve Crohn hastalığı, ileumu etkilediğinde, mukozal hasar ve villöz atrofi aracılığıyla B12 emiliminde azalmaya neden olur (82). Aynı zamanda nekrotizan enterokolit ve Chron gibi hastalıklar nedeniyle ileal rezeksiyon yapılan hastalarda; rezeksiyon sonrasında B12 eksikliği ortaya çıkabilmektedir. Tropikal ishal, villöz atrofiye yol açarak kobalamin malabsorpsiyonuna neden olmaktadır (83).

Zollinger-Ellison sendromu ve eksokrin pankreas yetmezliğinde görülen düşük bağırsak pH, nötr bir pH ortamı gerektirmesi nedeniyle haptokorinden intrinsik faktöre B12 transferini sınırlar (78, 84).

Mikrobiyal bağırsak florasının *Pseudomonas spp.* ve *Klebsiella spp.* gibi bazı üyeleri B12 sağlayıcıları olmakla birlikte, bağırsak florasında bulunan bazı bakteriler ise B12'yi diğer korinoidlere (B12 analogları) dönüştürür, floranın çoğunluğu ise B12 tüketicileridir (85). Kör loop sendromu, divertiküloz, anormal barsak motilitesi ve

aklorhidri gibi kobalamin kullanan bakterilerin aşırı çoğalmasına yol açan durumlarda kobalamin eksikliği görülebilmektedir (86).

Hiperkolesterolemiyi tedavi etmek için kullanılan kolestiramin, intrinsik faktörü şelasyonla bağlayarak IF eksikliğine yol açar. Kolşisin ve birçok antibiyotik, intrinsik faktör-B12 endositozunu inhibe etmektedir. Metformin ise terminal ileumda bulunan kalsiyum bağımlı membran işlevlerini etkileyerek, kobalamin eksikliğine neden olmaktadır. Fakat kolestiramin, antibiyotikler gibi kısa süreli kullanımı olan ilaçlar; klinik olarak B12 eksikliğine nadir olarak sebep olmaktadır. Bunun aksine proton pompası inhibitörleri, histamin H2 reseptör antagonistleri ve metformin gibi ilaçların uzun süreli kullanımında kobalamin eksikliği görülebilmektedir (87, 88).

2.2.1.3 B12 Vitamin Transport Bozuklukları:

Transkobalamin, kobalaminin başlıca taşıyıcı proteindir. TCN2 geni, kromozom 22 üzerinde, otozomal resesif olarak kalıtılır. TC II'nin yokluğunda; doğumdan 3-5 hafta sonrasında ciddi ve ölümcül bir klinik durum olan, kusma ishal, kilo alamama ve semptomların başlamasından 3-6 ay sonra ortaya çıkan nörolojik hastalık ile giden bir tablo ortaya çıkmaktadır (72). Hastalarda; şiddetli megaloblastik anemi, ilerleyici pansitopeni ve izole eritroid hipoplazi gibi hematolojik hastalıklar, aynı zamanda hücrel ve humoral bağışıklık bozuklukları, granülosit fonksiyon bozuklukları nedeniyle immünolojik kusurlar ortaya çıkmaktadır (72). Kemik iliğinde immatür lökosit öncülleri gelişmesi nedeniyle yanlılıkla lösemi gibi hastalıkların yanlış teşhis olarak konulmasına sebep olabilir (89). Serumdaki kobalaminin çoğunun TC I bağılı olması nedeniyle kobalamin düzeyleri normal olmakla birlikte, hiperhomosisteinemi, homosisteinüri ve metilmalonik asidüri oluşabilir. Teşhisinde; Holo-TC serum seviyesinin düşük bulunması ve kromatografi, jel elektroforezi veya immünolojik tekniklerle radyoaktif olarak işaretlenmiş kobalamin bağlama kapasitesine sahip olmayan proteinin gösterilmesi ile koyulur. TC II'nin amniyositler tarafından sentezlenmesi nedeniyle prenatal tanı olanağı mevcuttur. Tedavisinde; haftada 1-2 kez 1000 µg hidroskobalamin intramusküler olarak uygulanır. TC II

eksikliği olan hastaların başarılı bir şekilde tedavi edilmesi için serum kobalamin seviyelerinin çok yüksek (1.000-10.000 pg/ml) tutulması gerekmektedir (72, 90).

Haptokorrinin (TC I); kısmi eksikliğinde, serum vitamin B12 konsantrasyonları düşüktür ancak hastalar klinik olarak vitamin B12 eksikliği belirtileri göstermez çünkü holo-TC II (TC II-kobalamin) seviyeleri normaldir. TC I konsantrasyonları ortalama normal konsantrasyonun %25 ila %54'ü arasında değişir. Hastaların HCY ve MMA düzeyleri normaldir. Klinik olarak, etiyojisi belirsiz olan bir miyelopati ile karakterizedir (72).

2.2.1.4 B12 Vitamini Metabolizması Bozuklukları

Konjenital kobalamin metabolizması bozuklukları cblA, cblB, cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblJ ve cblX olarak adlandırılan ve her biri farklı bir gendeki mutasyonları temsil eden 9 gen anomalisi tanımlanmıştır. Tüm bu konjenital bozukluklar, X'e bağlı cblX hariç, otozomal resesif olarak kalıtılmaktadır.

Adenozilkobalamin eksikliği; metilmalonil CoA mutaz aktivitesinin bozulması sonucu metilmalonik asidemi ve metilmalonik asidüri ile karakterize olan, klinik olarak, yaşamın ilk haftalarında ketoasidoz, hipoglisemi, hiperglisinemi, tekrarlayan kusmalar, asidoza bağlı gelişme geriliğinin eşlik ettiği bir tabloya neden olur. Serum homosistein ve kobalamin konsantrasyonları normaldir. CblA hastalarının %90'a yakını sistemik hidroskobalamin veya siyanokobalamin ile tedaviye yanıt vermekle birlikte, CblB hastalarının sadece %40'ı bu tedaviye yanıt vermektedir. Tedaviye dirençli, sık metabolik krize giren hastalarda karaciğer ve/veya böbrek nakli planlanabilmektedir (72, 91).

Metilkobalamin sentez eksikliği; Hipometiyoninemi ile klinik olarak yaşamın ilk iki yılında megaloblastik anemi ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Aynı zamanda bazı vakalarda; nötrojeni, trombositopeni ve pansitopeni de bildirilmiştir. Gelişim geriliği, mikrosefali, serebral atrofi, elektroensefalografik anormallikler, nistagmus, körlük, hipotoni-hipertoni, ataksi ve nöbetler de görülen klinik belirtiler arasındadır. Tedavide

hidroksikobalamin ve homosistein metiltransferaz tarafından, homosistein remetilasyonunu artırarak HCY seviyesini azaltan bir karaciğer enzimi olan betain verilmesiyle aneminin ve metabolik anormalliklerin düzelmesi beklenir (92).

Adenozilkobalamin ve metilkobalamin kombine eksikliği; adenozilkobalamin ve metilkobalamin sentezi azalmasına bağlı olarak metilmalonil CoA mutaz aktivitesinin eksikliğine sekonder homosistinüri, metilmalonik asidüri ve hipometiyoninemi görülür. Yaşamın ilk yılında, letarji, beslenme yetersizliği, gelişme geriliği; hematolojik olarak megaloblastik anemi, trombositopeni, hipersegmente nötrofil görülür (93). Hidrosefali, kor pulmonale ve karaciğer yetmezliği gibi durumlar ve ayrıca perimaküler dejenerasyonla birlikte pigmentli retinopati bazı hastalarda saptanmıştır (72). Daha büyük çocuklarda ve ergenlerde; spastisite, miyelopati, deliryum, demans veya psikoz da gözlenebilir (94). Belirtilerin hayatın ilk ayında başladığı birçok hasta ölürlen, ilerleyen zamanlarda başlayanlar daha iyi bir prognoza sahiptir. Günlük oral betain tedavisi ve haftada iki kez hidroksosobalamin kas içi enjeksiyonları ile uygulanan tedavi, letarji ve irritabiliteye engel olurken, metilmalonik asidüriyi azaltır ve serum metionin ve HCY konsantrasyonlarını normale döndürür. Nörolojik ve retinal bulguların tam olarak geri dönmediği gözlenmiştir. Hayatta kalan hastalar genellikle iyi metabolik kontrole sahip olsa bile orta-ciddi gelişimsel geriliğe sahiptir (72).

Metilmalonil CoA mutaz eksikliği; metilmalonil CoA enzimidaki bozukluklar metilmalonik asidüriye neden olabilen, prenatal tanının mümkün olduğu, otozomal resesif bir hastalıktır. Tespit edilebilir enzim aktivitesi olmayanlar mut olarak adlandırılırken, yüksek kobalamin seviyeleri tarafından uyarılabilen artmış aktiviteye sahip olanlar mut2 olarak adlandırılır. Klinik olarak yenidoğanlar doğumda iyidir ancak beslenmenin başlaması ile hızla letarji, gelişme geriliği, hipotoni, solunum sıkıntısı ve tekrarlayan kusma ve dehidratasyon geliştirirler. Metil malonik asit birikimine sekonder ketoasidoz ve hiperamonyemi saptanır. Laboratuvar olarak hipoglisemi, lökopeni ve trombositopeni görülebilir. Tedaviye rağmen bazal ganglia infarktüsleri, tübülointerstisyel nefrit, akut pankreatit ve kardiyomyopati gibi

komplifikasyonlar ortaya çıkabilir. Tedavi olarak; hastalar B12 vitamini tedavisine yanıt vermezler. Diyetle protein kısıtlaması ve karnitin eksikliği olan hastalar için karnitin tedavisi uygulanır (72).

2.2.2. Vitamin B12 Eksikliği Bulguları

Vitamin B12 eksikliğinden özellikle hızlı çoğalan dokular olan kemik iliği, sinir sistemi ve gastrointestinal sistemin iç yüzeyi etkilenmektedir. Bu durum; megaloblastik anemi, nöropsikiyatrik hastalık ve gastrointestinal sistem hastalıkları olmak üzere üç klinik tabloya neden olmaktadır (40, 95).

2.2.2.1 Hematolojik Bulgular

B12 eksikliğinin en bilinen hematolojik bulgusu megaloblastik anemidir ve bu durum DNA sentezinin bozulmasından kaynaklanır. Yeni oluşan kemik iliği hücrelerinde ince, olgunlaşmamış görünümlü nükleer kromatin içeren anormal büyük hücreler oluşur. Bu, öncelikle eritroid öncüllerin etkilenmesine neden olarak, makrositer anemiye yol açar (96). Eritrositlerdeki en erken değişiklik ise eritrosit boyutlarındaki artıştır. Bir hastanın ortalama korpüsküler hacim (MCV), henüz normal referans aralığında olsa bile, önceki değerine kıyasla 3 ila 5 fL kadar değişim görülürse erken megaloblastik anemi akla gelmelidir (97).

Diğer hematopoyetik hücreler de etkilenir, olgun nötrofillerde hipersegmentasyon görülür ve kemik iliğinde dev granülosit öncülleri üretilir (88). İnefektif eritropoez eritropoyetin düzeyinin artmasına sebep olur, artan eritropoyetin düzeyi sonucunda kemik iliği daha hiperselüler hale gelir, ancak efektif üretim olmaması nedeniyle retikülosit sayısında artış olmaz (40, 96). Kemik iliği hücrelerinde artan hücre ölümü sonucunda; serum laktat dehidrojenaz ve indirekt bilirubin gibi belirteçlerde artış ve haptoglobulin seviyesinde düşüş gözlenir (40). Eksiklik devam ettikçe megaloblastik süreç trombositleri ve miyeloid hücreleri de etkiler ve aplastik anemiye taklit eden pansitopenilere varan tablolar oluşabilir (40). Periferik kan yaymasında; eritrositlerde belirgin boyut değişimi (anizositoz), makro-ovalositler, gözyaşı hücreleri, mikrositler gibi poikilositoz saptanır. Ciddi megaloblastik

anemilerde şistositler, bazofilik noktalanma, Howell-Jolly cisimleri, çekirdekli eritrositler gibi morfolojik değişiklikler görölmektedir (98).

2.2.2.2 Nöropsikiyatrik Bulgular

B12 eksikliği, genellikle miyelin üretimindeki bozukluk nedeniyle periferik ve merkezi sinir hücrelerinin demiyelinizasyonuna neden olur (74, 87). Aynı zamanda bozulmuş nörotransmitter üretimi, artmış HCY ve MMA seviyeleri de nöropsikiyatrik semptomlardan sorumludur (99). Nöronal demiyelinizasyon bozukluğunun; üretimi B12 vitaminine bağlı olan S-Adenosil metionin (SAM) sentezinin bozulmasıyla ilişkili olduğu düşünölmektedir. SAM metil donörü olarak görev almakla birlikte sinir sisteminde miyelin ve nörotransmitter sentezi gibi önemli enzimatik reaksiyonlarda kullanılmaktadır. Titreşim ve pozisyon iletiminden sorumlu duyuşal lifler içeren omuriliğin arka ve lateral kolonlarında bulunan uzun yollar özellikle demiyelinizasyona duyarlıdır, ancak motor nöron miyelinizasyonu da etkilenebilmektedir (99). Sonuç olarak vitamin B12 eksikliği; omuriliğin subakut kombine dejenerasyonu, polinörit, nöropati, miyelopati, optik sinir atrofisi ve bozulmuş bilişsel işlev gibi nörolojik hastalıklara sebep olabilmektedir (99).

Annede vitamin B12 yetersiz ise bebekte vitamin B12 eksikliği daha erken gelişir ve doğumda korpus kallozumda incelme, serebral atrofi ve hipoplazi olabilmektedir. Yeterli vitamin B12 deposu ile doğan sağlıklı süt çocuklarında, serum vitamin B12 seviyeleri 6. aya doğru azalır, ek gıda alımına başladıktan sonra, serum vitamin B12 seviyelerinde artış görülür. Eğer ek gıda alımında gecikme olursa ve ya yeterli ek gıda verilemezse 6. aydan sonra vitamin B12 eksikliği oluşma riski artmaktadır (4). Doğum sonrası aylar, beyin gelişiminin en dinamik dönemidir. Çocukluk çağındaki B12 eksikliğinin belirtileri, çocuğun yaşı, eksikliğin şiddeti ve süresine bağlıdır (100, 101). Eksikliği olan bebeklerde ve çocuklarda B12 tedavisi genellikle motor gelişimde ilerleme ve klinik belirtilerde hızla iyileşme sağlar, ancak uzun süreli eksiklik optimal tedavi sonrası bile kalıcı gelişimsel bozukluklara neden olabilmektedir (100).

Süt çocuklarında; vitamin B12 eksikliği, gelişme geriliği, kilo alamama desteksiz oturamama, yürüyememe, ataksi, mikrosefali, mental retardasyon, konvülziyon ve irritabilite gibi bulgularla ortaya çıkabilmektedir (17, 102, 103). Ağır vitamin B12 eksikliği saptanan bebeklerde, diffüz beyin atrofisi, beyin hipoplazisi, ventriküllerde genişleme görülebilmektedir (2, 17, 104).

Çocukluk döneminde ise; hafif-orta düzeyde entelektüel gerilik, kognitif performans düşüklüğü, halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, baş dönmesi, parestezi, optik sinir atrofisi, bulanık görme, idrar ve fekal inkontinans, kan damarlarının ve otonom sinir sisteminin sempatik regülasyonunu etkileyen barorefleks disfonksiyonuna bağlı senkop, ortostatik hipotansiyon, postural ortostatik taşikardi, periferik nöropatinin nörolojik sekelleri, tat ve koku kaybı, bozulmuş pozisyon ve vibrasyon olgusu, hafıza azalması, kişilik değişikliği, duygusal değişkenlik, mani, paranoya, sanrılar, amnezi ve psikoz benzeri bulgular ortaya çıkabilmektedir (105-107). Okul çağı ve ergenlik dönemindeki çocuklarda okul başarısında düşüklük, dikkat eksikliği, suç işleme davranışları bildirilmiştir (108).

B12 eksikliğinin nörolojik belirtileri hematolojik değişikliklerden önce ortaya çıkabilir ve hatta herhangi bir hematolojik komplikasyon olmaksızın bile ortaya çıkabilir (109).

2.2.2.3 Gastrointestinal Sistem ve Diğer Bulgular

Vitamin B12 eksikliğinin gastrointestinal sistem bulguları olarak atrofik glossit, stomatit, açıklanamayan kilo kaybı görülebilir (40). Atrofik glossite bağlı olarak dilde ağrı, şişlik, kızarıklık, tat almama, hunter dili (kırmızı- papillar atrofik dil) görülebilir ve vitamin B12 Tedavisi sonrasında düzelme gözlenir (110). Bebeklerde kronik ishal gibi hastalıklara sebep olabilir. Vitamin B12 eksikliğinin nörolojik komplikasyonlarının otonomik disfonksiyona yol açması üzerine; motilite bozuklukları, anoreksi, kusma, kabızlık, iştahsızlık, diyare, kilo kaybı, büyüme geriliği görülebilmektedir (111).

Ağır vitamin B12 eksikliği olan hastalarda tekrarlayan enfeksiyonlar, ciltte pigmentasyon bozuklukları görülebilir (40, 112).

2.2.3 B12 Vitamin Eksikliği Tanısı ve Laboratuvar Bulguları

Vitamin B12 eksikliği tanısında anamnez ve fizik muayene çok önemlidir. Anne sütü alan bebeklerde annenin beslenme şekli, annenin B12 vitamin eksikliğinin olup olmadığı, ek gıdaya başlama zamanı ve diğer yaş gruplarında ise beslenme şekli, eşlik eden hastalıklar, kullanılan ilaçlar, paraziter hastalıklar veya geçirilmiş gastrointestinal sistem cerrahisi mutlaka sorgulanmalıdır. Ayrıntılı bir fizik muayene yapılmalıdır özellikle nörolojik sistem muayenesi ve bilişsel fonksiyonlar değerlendirilmeli, aynı zamanda hastalar boy ve kilo açısından yaşlarına göre değerlendirilmelidir.

Vitamin B12 eksikliğini tanımlamak için altın standart bir test bulunmamaktadır. Klinik semptomlar vitamin B12 eksikliğini değerlendirmede önemlidir. Klinik olarak vitamin B12 eksikliği semptomları olan hastalarda düşük serum vitamin B12 düzeyi eşlik ediyorsa tedaviye başlamadan önce genellikle daha fazla doğrulama testine ihtiyaç duyulmaz (113, 114). Daha büyük bir hasta grubu ise B12 vitamin eksikliğinin spesifik semptomlarının olmadığı nonspesifik semptomlar yaşayan ve genellikle anemisi olmayan hastalardır. Bu grubun içinde; yaşlılar, vejetaryenler, gastrointestinal hastalığı olan hastalar ve açıklanamayan nonspesifik hematolojik veya nörolojik semptomları olan hastalar bulunmaktadır (115). Bu grupta, B12 vitamin düzeyi düşük saptanan bireylere tedavi başlanır ve tedavi sonrası semptomların gerilemesi açısından takip edilir. Ancak serum B12 veya Holo-TC değerlerinin referans aralığının altında olması, gerçek bir vitamin eksikliğini belirleme açısından düşük özgünlüğe sahiptir ve bu testlerin düşük duyarlılığı, gerçek B12 eksikliğinin sıklıkla tanınmadığı anlamına gelmektedir (116). Genel olarak, kesin veya belirgin B12 eksikliği varsa, mümkün olan en kısa sürede teşhis edilmesi ve tedavi edilmesi önemlidir.

B12 vitamini eksikliği tanısında; tam kan sayımı, periferik yayma bulguları, serum B12 vitamini seviyesi ölçümü, serum HCY düzeyi ölçümü, serum/idrar MMA düzeyi ölçümünden yararlanılır. Ayrıcı tanı açısından ileri inceleme olarak kemik iliği incelemesi bulguları, kemik iliği deoksiüridin süpresyon testi, schilling testi gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır (10,12).

Tam kan sayımında; hemoglobin, MCV ve ortalama korpüsküler hemoglobin (MCH) değerleri yaşa göre değişmektedir (Tablo 6), (40, 117-119). B12 eksikliğinde MCV ve eritrosit dağılım genişliği (RDW) artar, nötropeni ve trombositopeni görülebilir. Ayrıca vitamin B12 eksikliği anemisine; demir eksikliği, kronik hastalık anemisi veya talasemi minör eşlik ediyorsa MCV normal ya da düşük saptanabilmektedir.

Tablo 6: Yaşa göre hemoglobin, hematokrit, MCV ve RDW değerleri

Yaş Grubu	Cinsiyet	Hemoglobin (g/dL)	Hematokrit (%)	MCV (fL)	RDW (%)
0,5 - 2 Yaş	-	11,0 - 13,5	31 - 42	73 - 85	12,3 - 15,6
2 - 6 Yaş	-	11,0 - 13,7	34 - 44	75 - 86	12,0 - 14,6
6 - 12 Yaş	-	11,2 - 14,5	35 - 44	78 - 90	11,9 - 13,8
12 - 18 Yaş	Kadın	11,4 - 14,7	36 - 46	80 - 96	11,9 - 14,6
12 - 18 Yaş	Erkek	12,4 - 16,4	40 - 51	80 - 96	11,9 - 13,7

MCV: ortalama korpüsküler volüm, RDW: ortalama eritrosit dağılımı

Periferik yaymada; makrositoz, hipersegmente nötrofiller, howell-jolly cisimcikleri, bazofilik noktalanma, oval makrositler, anizositoz ve poikilositoz görülebilir. Nötrofil hipersegmentasyonu; 100 segmentli nötrofil arasında beş segment içeren en az beş tane nötrofil görülmesi veya ≥ 6 segmentli bir veya daha fazla sayıda nötrofil görülmesi olarak tanımlanmaktadır (84,87,88).

Kemik iligi yayması; hiperselülerdir ve her üç seri elemanlarında megaloblastik değişiklikler görülür. Eritroid seride hiperplazi ve geç dönemde

nukleuslu megaloblastik eritrositler, dev metamyelositler ve bandlar, artmış hipersegmente ve büyük megakaryositler saptanabilir (30).

Megaloblastik aneminin yol açtığı, inefektif eritropoeze bağlı olarak laktat dehidrojenaz seviyeleri, indirekt bilirubin, ferritin, serum demir ve transferrin saturasyonunda artış ve düşük serum haptoglobin gözlenebilmektedir.

Biobelirteç olarak; serum B12, Holo-TC, MMA ve HCY kombinasyonlarının kullanılması özgünlüğü artırmaktadır (7). Biyobelirteçlerin referans aralıkları Tablo 7’de mevcuttur (96).

Tablo 7: Biobelirteçlerin referans aralıkları

Biyobelirteç (birim)	Önerilen Referans Aralıkları	Eksiklik Şüphesi	Normal Vitamin B12 Düzeyleri
B12 (pmol/L)	200-600	<148	>221
Holo Tc (pmol/L)	40-100	<35	>40
Hcy (µmol/L)	8-15	>15	<8
MMA (µmol/L)	0,04-0,37	>0,37	<0,27

Serum B12 seviyesi genellikle ilk basamak testidir. Genel olarak, referans aralığının alt sınırının oldukça altında bir değer, muhtemel B12 eksikliğinin bir işareti olabilirken, bu limitin üzerinde bir değer yeterli bir B12 durumunu gösterir. Referans ara önemli bir istisna olarak pernisiyöz anemisi olan hastalarda normal B12 seviyeleri bildirilmiştir (120). Günlük pratikte, yaş ve cinsiyete göre aynı referans aralığı kullanılmaktadır. Referans aralığı kullanılan testin çalışma yöntemine bağlıdır ve bu nedenle evrensel bir referans aralığı belirtmek mümkün değildir. Serum B12 seviyesi kobalamin bağlayıcı protein olan TC II ve TC I düzeylerinden etkilenir. Yüksek TC I seviyeleri, karaciğer hastalıkları, myeloproliferatif hastalıklar ve diğer kanserlerle ilişkilendirilir, bu nedenle bu durumlarda artmış B12 seviyeleriyle karşılaşılabilir (121).

Holo-TC aktif B12 olarak değerlendirilmesi nedeniyle teorik olarak B12 eksikliği için serum B12 seviyelerinden daha duyarlı bir belirteçtir (9). Holo-TC ölçümü, klinik laboratuvarlarda giderek daha fazla kullanılmaya başlanmaktadır, ancak şu ana kadar bu biyobelirtecın serum B12 ölçümünden özgünlüğünün sadece biraz daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (10, 11, 122).

Serum HCY düzeylerinde artış B12 eksikliğini işaret eder (115), ancak HCY seviyeleri kan alım yöntemi, örneğin bekleme süresi, örneğin çalışılma şekli gibi bir çok parametreden etkilenir (123). Aynı zamanda HCY metabolizması, vitamin B12 haricinde, folik asit ve vitamin B6'dan da etkilenmektedir. HCY için referans aralıkları çocukluk döneminde yaşa göre değişmektedir (Tablo 8) (124).

Tablo 8: Homosistein yaşa göre normal düzeyleri

Yaş Grubu	Normal Homosistein Üst Değeri (µmol/L)
0-6 yaş	3,87
7-11 yaş	8,7
12-17 yaş	13,54

Artmış serum MMA seviyesi; B12 vitaminin klinik ve laboratuvar belirtilerinden daha erken ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple vitamin B12 eksikliği tanısı için artmış MMA düzeyleri HCY'den daha spesifik olarak bulunmuştur (125). MMA seviyesi, B12 eksikliği için en spesifik ve duyarlı belirteç ve genellikle B12 durumunu tanımlamak için "altın standart" olarak kullanılır (126, 127). MMA'nın normal aralığı ≤ 0.27 µmol/litre iken B12 eksikliğinde; > 0.37 µmol/litre üzerinde saptanmaktadır (126, 128). Ancak bu testin başlıca dezavantajı testin ulaşılabilirliği ve yüksek maliyetidir. Bununla birlikte; son zamanlarda plazma MMA seviyelerini etkileyen genetik faktörlerin olduğu saptanmıştır (14). Valin katabolizmasında rol alan bir proteini kodlayan HIBCH geninin tek nükleotid polimorfizminin (rs291466) plazma MMA seviyelerini etkileyen en yaygın genetik faktör olduğu bulunmuştur. Bu polimorfizm, popülasyonlarda yaygın olarak bulunmakla birlikte homozigot polimorfizme sahip olan kişilerin plazma MMA konsantrasyonları, nadir aleli

olanlarla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak %46 daha yüksek saptanmıştır(14). Bu plazma MMA'nın B12 durumunun tek göstergesi olarak kullanıldığında, yanlış pozitiflikler oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Klinikte bir çok laboratuvar, genellikle başlangıçta serum B12 düzeyini ve ikinci basamak testi olarak MMA veya HCY düzeylerini kullanarak, birden fazla biyobelirteç içeren bir tanı stratejisi kullanmaktadır (114). Bu tanı stratejisinde; B12 indeksi olarak kombine B12 durumu göstergesi (cB12) geliştirilmiştir (7). cB12'nin avantajı, yerel referans aralıklarından bağımsız olması ve folat seviyesi ve yaş gibi değişkenlere göre düzeltilebilmesidir. Bu indeksin, olası klinik faydası henüz onaylanmamıştır.

2.2.4. B12 Vitamin Eksikliği Tedavisi

Vitamin B12'nin hidroskobalamin, siyanokobalamin, metil kobalamin, adenzil kobalamin olmak üzere dört formu mevcuttur. İntramusküler, derin subkutan, oral veya sublingual yollarla uygulanabilir. Ülkemizde siyanokobalamin formunda 1000 mcg'lık ampül veya hidroskobalamin içeren B kompleks ampülü şeklinde piyasada bulunmaktadır. Bu ilaçlar hem parenteral hem de oral tedavide kullanılır (4). Hidroskobalamin; Avrupa'da yaygın olarak kullanılmaktadır ve yarı ömrü siyanokobalamininden daha uzun olması nedeniyle genellikle 2-3 aylık aralıklarla kullanılmaktadır (33, 129).

Vitamin B12 tedavisi; oldukça kolay ve yüz güldürücü olmakla birlikte hastalarda vitamin B12'nin uygulama şekli, dozu, süresi ve hangi formun uygulanacağı hala standardize edilmemiştir.

2.2.4.1 Parenteral tedavi

Çocuklarda optimal vitamin B12 replasmanı için dozaj ve tedavi süresi konusunda sınırlı veri bulunmaktadır. Semptomatik çocuklarda vitamin; 100-1000 µg/gün, 1 hafta süreyle her gün, 2 hafta süreyle haftada 2 gün, 1-2 hafta süreyle haftada 1 gün, ardından aylık tedavi verilir (4). Ergenlerde 1000 mcg'lik parenteral dozlar

uygun olsa da bebeklerde ve küçük çocuklarda 50 ila 100 mcg'lik parenteral dozların yeterli olduğu düşünülmektedir.

Eksiklik diyetle yetersiz alıma bağlıysa, eksiklik bulguları düzeldikten sonra yaşa uygun günlük B12 vitamini alımı (diyetle veya multivitamin desteğiyle) sağlanır. Kobalamin emilim bozukluğu varsa ve altta yatan nedenin tedavisi mümkünse tedavi ile bulgular düzeldikten sonra, yaşa uygun günlük B12 vitamini alımı sağlanır (4). Ancak, bu grupta altta yatan hastalığın tedavisi mümkün değilse ömür boyu B12 vitamini kullanımı önerilir ve idame tedavi olarak aylık siyanokobalamin veya her iki ayda bir hidroskobalamin verilmesi önerilmektedir (40).

Pernisiyöz anemide tedavi olarak; dört hafta boyunca haftada bir kez kas içi enjeksiyon ile 1000 mcg dozunda B12 uygulanır, idame olarak ayda bir tedaviye devam edilir (130, 131). Akut anemi semptomları veya nörolojik komplikasyonlar yoksa yüksek doz oral vitamin B12 (günlük 1000 ila 2000 mcg) ile tedaviye devam edilebilmektedir.

Gastrointestinal anatomideki değişikliğe sebep olan bariatrik cerrahi, gastrektomi, ileal loop sendromu gibi tablolarda; değişiklik kalıcı ise, sürekli parenteral vitamin B12 tedavisi uygulanmalıdır.

TC II eksikliği olan hastalarda; yüksek doz B12 vitamini tedavisi (haftada iki veya üç kez 1000 mcg intramuskuler doz) kullanılmalıdır (72). Metilmalonik asidüri tanılı hastaların; yüksek dozlarda B12 vitamini (günlük olarak 1-2 mg B12 vitamini parenteral yol ile) tedavisinden fayda görmeleri beklenir. Bununla birlikte, metil malonik asidüri tanılı tüm hastaların B12 vitamin tedavisinden yarar gördüğü söylenemez (72).

2.2.4.2 Oral tedavi

Ciddi nörolojik semptomları veya ağır anemisi olmayan ve vitamin B12 emiliminin normal olduğu çocuklarda, vitamin B12 eksikliğini tedavi etmek için oral tedavinin güvenli ve etkin olduğu düşünülmektedir. Oral tedavi olarak

siyanokobalamin ampül aç karnına; 250-1000 µg/gün 1 hafta süreyle her gün, takiben haftada 2 gün 2 hafta süreyle, sonra haftada 1 defa 1-2 hafta süreyle, en son aylık tedavi verilir (4). Oral tedavi yolu seçilecekse hastanın yeterli tedaviyi aldığından emin olmak için periyodik vitamin B12 düzeylerinin ölçümü veya MMA ve homosistein düzeylerine de bakılabilir. Yüksek doz oral vitamin B 12 tedavisi pasif difüzyon nedeni ile pernisiyöz anemi, İmerslund Grasbeck sendromu gibi emilim bozukluklarında bile etkin olabilmektedir (132).

Çocuklarda kullanım kolaylığı ve tedaviye devamlılık açısından oral tedavi tercih edilebilir olmaktadır. Oral tedavi ve intramuskuler tedavinin avantaj ve dezavantajları karşılaştırıldığında; parenteral tedavinin dezavantajları arasında, komplikasyon riskinin oral tedaviye göre yüksek ve ağırlı olması, bakıcı iş yükünü artırması ve sağlık sistemine pahalıya mal olması nedeniyle çoğu hasta oral tedaviyi intramusküler enjeksiyonlara tercih etmektedir (133).

2.2.4.3 İntranazal Tedavi

İntranazal B12 tedavisi FDA tarafından onaylanmış olup Avrupa'da haftada 500 µg dozda yıllardır kullanılmaktadır. Nazal hastalıklarda ve diğer intranazal ilaçlarla beraber kullanımı kontrendikedir (134). Çocuklarda intranazal vitamin B12'nin uygulanması, daha yüksek uyum nedeniyle intramusküler enjeksiyonlara göre güvenli ve etkili bir alternatif gibi görünmektedir. Ayrıca, nazal mukosilyer klirensteki ve püskürtme tekniğindeki farklılıklar nedeniyle denekler arası emimilim farklılıklarına yol açabilmektedir. Bunun yanında yapılan çalışmalarda intranazal vitamin B12 ile tedavi edilen çocuklarda hiçbir yan etki bildirilmemiştir (135, 136).

2.2.4.4 Tedavinin Değerlendirilmesi

Vitamin B12 tedavisine cevabın değerlendirilmesi, tanısal doğrulamayı sağlar. Tanısal sonuçları klinik semptomlarla çelişen hastalarda bu yaklaşım özellikle yararlıdır.

B12 vitamini tedavisine yanıt zamansal olarak değerlendirilmelidir. Kemik iliğinde megaloblastik değişikliklerin düzelmesi 6 ile 72 saat içerisinde olur. İnefektif

eritropoezin tersine dönmesiyle birlikte serum demir düzeyi düşer, kemik iliği demir depoları azalır. İnefektif eritropoez ve hemoliz belirteçleri olan laktat dehidrojenaz ve indirekt bilirubin ilk birkaç gün içinde azalır. Eritrosit üretiminin kanıtı olarak retikülositoz üç ila dört gün içinde ortaya çıkmakla birlikte 5-7.günde pik değerine ulaşır(72, 137). Anemi yaklaşık bir-iki haftada iyileşmeye başlar ve dört-sekiz hafta içinde normalleşir. Nötropeni ve trombositopeni mevcutsa iki-dört hafta içinde düzelmesi beklenir. Nötrofil lob sayısında düzelme dördüncü haftada görülmektedir(40). Serum B12 vitamini seviyeleri normal aralığa yükselir. HCY veya MMA seviyeleri bir hafta içinde iyileşmeye başlar ve bazı ciddi metabolik bozukluklar dışında 2 ila 3 hafta içinde tamamen normal hale gelir (40).

Nörolojik semptomlara yanıt daha yavaş olmakla birlikte duygusal dengesizlik, paranoya ve sinirlilik gibi zihinsel semptomlar hızlı bir şekilde düzelme eğilimindedir (138). Motor ve duysal bozukluğun eşlik etmediği paretezilerin tamamen düzelme olasılığı daha yüksektir. Spinal görüntüleme çalışmalarında demiyelinizasyonun hızlı düzeldiğini göstermektedir (139). Hasta doğru bir şekilde tedavi edildikten sonra nörolojik semptomlarda gerileme olmuyorsa veya ilerleme görülüyorsa, başka bir neden aranmalıdır.

2.2.4.5 Önlem

Bebeklerde vitamin B12 eksikliğini önlemek için hamile ve emziren kadınların yeterli hayvansal ürün tüketimi sağlanmalıdır. Sıkı vejetaryenler, özellikle veganlar, düzenli olarak B12 vitamini takviyesi almalıdır (140).

3.ARAŞTIRMANIN GEREÇ VE YÖNTEMİ

Semptomu olsun veya olmasın 2019-2020 yılları arasında polikliniğe başvuran ve serum vitamin B12 düzeyi 300 pm/ml altında olan tüm hastaların HCY, MMA, HoloTC düzeyleri değerlendirildi. 6 ay – 18 yaş arasında çocuklar çalışmaya dahil edildi. Hastalar tedavi öncesi, tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Polikliniği'nde prospektif olarak değerlendirildi.

Aynı zaman aralığında semptomu olsun veya olmasın polikliniğe başvuran ve serum vitamin B12 düzeyi 300 pm/ml üstünde olan çalışma grubu ile benzer yaş ve cinsiyetlerdeki sağlıklı çocuklar ise kontrol grubu olarak alındı.

Çalışmaya dahil edilen çocukların aileleri çalışma hakkında bilgilendirildi ve onamları alındı. Çalışmaya başlamadan önce 08/08/2019 tarihinde Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 60116787-020/54449 sayılı onay alındı. Çalışma için maddi destek Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 24.12.2019 tarih ve 2019TIPF025 nolu proje olarak alındı.

3.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri

- 6 ay-18 yaş arasında olması ve serum vitamin B12 düzeyi 300 pm/ml altında olması
- Ailenin çalışma yapılmasına izin vermesi

3.2. Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri:

- Kronik hastalığı olanlar
- Serebral palsi
- Nazogastrik sonda ile beslenme
- Böbrek yetmezliği

- Metabolik hastalık
- Gastrointestinal hastalık (Çölyak, gastrit)
- Demir eksikliği
- Folat eksikliği

3.3. Çalışma Tasarımı

Çalışma prospektif olarak yürütüldü. Başvuru anında hastaların; demografik bilgileri, anamnez, özgeçmiş, soygeçmiş özellikleri sorgulandı. Şikayetlerinin başlama yaşı, ek hastalık, ilaç kullanımı ve beslenme öyküsü kaydedildi.

Çalışmaya alınan tüm olguların anamnez, özgeçmiş, soygeçmiş ile ilgili bilgileri, antropometrik ölçümleri, fizik muayene bulguları ile tüm laboratuvar bulguları tarih sırasına göre daha önce basılmış ve üzerinde hastanın demografik bilgilerinin de bulunduğu formlara kaydedildi.

Tüm olguların ayrıntılı fizik muayeneleri, vücut ağırlığı ve boy ölçümleri hep aynı çocuk doktoru tarafından yapıldı. Antropometrik ölçümler Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Polikliniğinde değerlendirildi. Ağırlık ölçümü; 100 gr aralıkla ölçüm yapabilen, ‘Dikomsan’ marka tartı ile kilogram cinsinden ölçüldü. Boy ölçümü: 0,1 mm aralıkla ölçüm yapabilen, ‘Dikomsan stadiometre’ ile ölçülerek metre cinsinden kaydedildi.

Çalışma ve kontrol grubundaki olgulardan beyaz küre sayısı, hemoglobin, hematokrit, platelet sayısı, MCV ve RDW değerlerini içeren tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, laktat dehidrogenaz (LDH), ferritin, folik asit, vitamin B12, serum HCY, serum MMA, Holo-TC düzeyleri ve tam idrar tetkiki çalışıldı.

Tam kan sayımı ‘ADVIA 2120’i hematology system (Siemens)’ kan sayım cihazında; biyokimyasal parametreler ‘Cobas 8000 modular analyzer (Roche

Hitachi)” sisteminde çalışıldı. Serum Vitamin B12 “*ARCHITECT i2000SR immunoassay analyzer (Abbott Park, IL)*” sisteminde çalışıldı.

HCY ve Holo-TC ölçümleri için, bir gecelik açlık sonrası, antekubital venden, 4.5ml’lik EDTA’lı tüplere 4.5 ml kan alındı. En geç 30 dakika içerisinde santrifüj edilerek plazma ayrıldı, çalışma bitiminde toplu halde çalışılması için -50 C’de 9 ay süre ile saklandı. Ölçümlerden önce örneklerde erime ve tekrar donma olmadı. Holo-TC ve MMA ölçümleri *Biotek Elx800 Microplate Reader* cihazında, ticari *Human Holotranscobalamin II (HOLOTC II) ELISA kiti (Shanghai YL Biotech Co., Ltd, Shanghai)* ve *Human Methylmalonic Acid (MA)ELISA Kiti (Shanghai YL Biotech Co., Ltd, Shanghai)* kullanılarak sandviç enzim immünoassay yöntemi ile yapıldı. Homosistein düzeyi ölçümü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapıldı (*AnHP 1050 series HPLC, Agilent Technologies, CA, USA*).

Hemoglobin (HGB) ve MCV değerleri yaşlara ve cinsiyete göre (Tablo 6); göre değerlendirildi. HCY düzeyleri yaşa göre değerlendirildi, 0-6 yaş arası 3,87 µmol/L, 7-11 yaş arası 8,7 µmol/L, 12-17 yaş arası çocuklarda 13,54 µmol/L üzerindeki değerler yüksek kabul edildi (Tablo 8). MMA 270 nmol/l üzerindeki değerler yüksek olarak değerlendirildi. Holo-TC 20 pmol/L altı değerler vitamin B12 eksikliği, 20-35 pmol/L arası değerler olası vitamin B12 eksikliği, 35 pmol/L üzerindeki değerler normal vitamin B12 değerleri olarak değerlendirildi. Beyaz küre <4.000 altı lökopeni kabul edildi.

Çalışma grubuna alınan; vitamin B12 değeri 300 pg/ml altında olan hastalara 30 mcg/kg/gün dozunda, maximum günlük doz 1000 mcg olacak şekilde oral siyanokobalamin; 1 hafta süreyle her gün, 1 hafta süreyle gün aşırı, 2 hafta süreyle haftada 2 gün, 1 ay süreyle haftada 1 gün, ardından aylık tedavi olarak verildi.

Çalışma grubu; Holo-TC düzeylerine göre Grup 1 (eksiklik) Holo-TC 20 pmol/L altında olan hastalar, Grup 2 (borderline) Holo-TC 20 ile 35 pmol/L olan hastalar olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak Holo-TC 35 pmol/L üstünde olan hastalar alındı.

Çalışma grubuna alınan çocuklar; tedavi öncesi, tedavi sonrası 1. ve 3. ay olmak üzere prospektif değerlendirildi. Tedavi öncesinde tüm hastalardan hemogram, retikülosit, vitamin B12, HCY, MMA, Holo-TC, serum folat, ferritin ve tam idrar tetkiki alındı. Hastalar tedavinin 1. ve 3. ayında hemogram, retikülosit, HCY, MMA, Holo-TC düzeyi açısından değerlendirildi. Aynı zamanda hastalar tedavinin 1. Ve 3. ayında büyüme parametreleri ve nörolojik gelişimleri açısından değerlendirildi.

Tedavi öncesi 72 hasta ile başlanılan çalışmada, tedavi sonrası 1. ayda 26 hasta gelmediği için 46 hasta değerlendirmeye alındı. Tedavi sonrası 3. ayda ise, 35 hasta daha kontrole gelmedi ve 11 hasta ile çalışma tamamlandı. Benzer yaş ve cinsiyetlerdeki 72 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak alındı.

3.4.İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi edilmesinde SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp) paket programı kullanıldı. Sayısal verilerin özetlenmesinde aritmetik ortalama \pm standart sapma, medyan (1. ve 3. çeyrekler), en küçük ve en büyük değerler; kategorik verilerin özetlenmesinde ise frekans ve yüzdeler kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro wilk testi ile incelendi. Normal dağılıma uygunluk gösteren incelemeler için; bağımsız grup farklılıklarının incelenmesinde bağımsız gruplarda t testi, normal dağılıma uygunluk göstermeyen incelemelerde ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Bağımlı grup farklılıklarının incelenmesinde ise normal dağılıma uygunluk gösteren incelemeler için tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, normal dağılıma uygunluk göstermeyen incelemelerde Friedman testi yapıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklar Ki-kare testi ile incelendi, sayısal veriler arasındaki ilişkiler Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları ile elde edildi. Ayrıca, biyomarkerlerin tanısal performansını değerlendirmek için ROC (Receiver Operating Characteristic) eğrisi analizleri kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

4.BULGULAR

4.1. Genel Veriler

Holo-TC düzeylerine göre; eksiklik grubunda yaş ortalaması $9,99 \pm 3,96$ yıl, borderline grubunda yaş ortalaması $11,01 \pm 5,55$ yıl, kontrol grubunda ise yaş ortalaması $8,15 \pm 4,73$ olarak bulundu. Eksiklik grubundaki hastaların %50 erkek, %50 kız iken (E/K: 15/15), borderline grubunun %54,8 kız, %45,2 erkek (K/E: 23/19), kontrol grubunun ise %54,2 kız, %45,8 erkek (K/E: 39/33) idi. Borderline grubu, kontrol grubuna göre yaş verileri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p<0,005$). Çalışma ve kontrol grubu arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$), çalışma grubunun yaş ortalaması, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0,05$), (Tablo 9).

Tablo 9: Çalışma ve kontrol grubuna ait demografik veriler

		Çalışma (n:72)	Kontrol (n:72)	p
Cinsiyet	Kız	38 (%52,8)	39 (%54,2)	0,867 (kk=0,028)
	Erkek	34 (%47,2)	33 (%45,8)	
Yaş	A.O \pm S.S	$10,58 \pm 4,95$	$8,15 \pm 4,73$	0,002* (z=-3,061)
	Med (IQR)	12 (6,5–14,75)	8 (5 - 11)	
	Min - maks	0,58 - 17	0,66 - 17	

* $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılık; n: Frekans; %: Yüzde; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. – 75. Yüzdeler); kk: Ki-kare testi; z: Mann Whitney U testi

Hastaların doğum öyküleri incelendiğinde; 136 hastanın (%94,4) term ve 8 hastanın (%5,6) prematüre doğum öyküsüne sahip olduğu saptandı. Antropometrik ölçümler değerlendirildiğinde; eksiklik grubunda ağırlık persentili ortalama $59,59 \pm 32,07$ p, ağırlık standart deviasyon skoru (SDS) ortalama $0,51 \pm 1,4$, boy persentili ortalama $49,11 \pm 32,08$ p, boy SDS ortalama $-0,02 \pm 1,08$ idi. Borderline grubunda ağırlık persentili ortalama $53,98 \pm 36,28$ p, ağırlık SDS ortalama $0,3 \pm 1,77$, boy persentili ortalama $46,99 \pm 33,25$ p, boy SDS ortalama $0,03 \pm 1,44$ saptandı. Kontrol grubunda ağırlık persentili ortalama $44,73 \pm 28,92$ p, ağırlık SDS ortalama $-0,08 \pm 1,09$,

boy percentili ortalama $51,79 \pm 32,21$ p, boy SDS ortalama $0,1 \pm 1,2$ saptandı. Gruplar arası anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo 10).

Tablo 10: Çalışma ve kontrol grubuna ait demografik ve antropometrik veriler

		Eksiklik (n:30)	Borderline (n:42)	Kontrol (n:72)	
Cinsiyet	Kız	15 (%50)	23 (%54,8)	39 (%54,2)	0,911
	Erkek	15 (%50)	19 (%45,2)	33 (%45,8)	(kk=0,187)
Yaş	A.O \pm S.S	9,99 \pm 3,96	11,01 \pm 5,55	8,15 \pm 4,73	0,005
	Med (IQR)	11 (7,5 - 13)	13(5,75- 15,25)	8 (5 - 11)	(kw=10,485)
Boy SDS	A.O \pm S.S	-0,02 \pm 1,08	0,03 \pm 1,44	0,1 \pm 1,2	0,9 (F=0,106)
	Med (IQR)	0,09(-0,95-0,72)	-0,09(-1 - 0,81)	0,25(-0,8-0,85)	
Boy Percentil	A.O \pm S.S	49,11 \pm 32,08	46,99 \pm 33,25	51,79 \pm 32,21	0,756
	Med (IQR)	53 (16,5 - 76)	44(13,75- 75,5)	59 (20 - 80)	(kw=0,558)
Kilo SDS	A.O \pm S.S	0,51 \pm 1,4	0,3 \pm 1,77	-0,08 \pm 1,09	0,071
	Med (IQR)	0,24(-0,45- 1,33)	0,34(-0,7-1,35)	-0,36(-0,84-0,32)	(kw=5,284)
Kilo Percentil	A.O \pm S.S	59,59 \pm 32,07	53,98 \pm 36,28	44,73 \pm 28,92	0,124
	Med (IQR)	59 (30 - 90)	56,5(21,75-0,5)	35,9 (20 - 62)	(kw=4,182)

* $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılık; n: Frekans; %: Yüzde; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. – 75. Yüzdeler); kk: Ki-kare testi; kw: Kruskal Wallis Varyans Analizi; F: Tek Yönlü Varyans Analizi

Tedavi sonrası 1. ayda eksiklik grubunda ağırlık percentili ortalama $64,71 \pm 29,39$ p, ağırlık SDS ortalama $0,61 \pm 1,08$, boy percentili ortalama $56,98 \pm 32,12$ p, boy SDS ortalama $0,23 \pm 1,28$ idi. Borderline grubunda ağırlık percentili ortalama $64,54 \pm 38,9$ p, ağırlık SDS ortalama $0,64 \pm 1,98$, boy percentili ortalama $58,17 \pm 36,85$ p, boy SDS ortalama $0,58 \pm 1,75$ saptandı. Kontrol grubunda ağırlık percentili ortalama $41,7 \pm 32,38$ p, ağırlık SDS ortalama $-0,28 \pm 1,08$, boy percentili ortalama $38,85 \pm 33,69$ p, boy SDS ortalama $-0,32 \pm 1,12$ saptandı. Tedavi sonrası 3. ayda eksiklik grubunda ağırlık percentili ortalama $60,5 \pm 41,83$ p, ağırlık SDS ortalama $0,36 \pm 1,78$, boy percentili ortalama $76,9 \pm 24,89$ p, boy SDS ortalama $0,91 \pm 0,77$ idi. Borderline grubunda ağırlık percentili ortalama $64 \pm 44,51$ p, ağırlık SDS ortalama $1,7 \pm 1,05$, boy percentili ortalama $75,68 \pm 16,03$ p, boy SDS ortalama $0,77 \pm 0,51$ saptandı. Kontrol grubunun 3. ayda yeterli sayıda hastası olmadığı için değerlendirilmeye alınamadı. Eksiklik, borderline ve kontrol grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1. ay değerlendirmelerinde vücut ağırlığı, boy değerlerinin percentil ve SDS açısından farklılığı saptanmadı ($p>0,05$). Eksiklik ve borderline grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ay değerlendirmelerinde vücut ağırlığı, boy değerlerinin percentil ve SDS

açısından farklılığı saptanmadı ($p>0,05$). Hastalar gruplara göre kırmızı et ile beslenme açısından sorgulandığında; eksiklik grubunda; 15 hastanın (%57,7) haftada bir kez, 10 hastanın (%38,5) haftada iki-üç kez, bir hastanın (%3,8) et tüketmediği; borderline grubunda; 25 hastanın (%67,6) haftada bir kez, 8 hastanın (%21,6) haftada iki-üç kez, 4 hastanın (%10,8) et tüketmediği görülmekle birlikte gruplar arası anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çalışmaya alınan tüm hastaların yakınmaları incelendiğinde; en sık başvuru şikâyetlerinin sırasıyla 27 hastada (%18,8) görülen iştahsızlık, 24 hastada (%16,7) saptanmış olan halsizlik, 17 hastada (%11,8) bulunan karın ağrısı ve 14 hastada (%9,7) olan unutkanlık olduğu saptandı. Daha nadir görülen bulgular olarak; 8 hastada (%5,6) kabızlık, 7 hastada (%4,9) kusma, 5 hastada (%3,5) baş ağrısı, 5 hastada (%3,5) konvülziyon, 4 hastada (%2,8) parestezi, 3 hastada (%2,1) konuşmada gecikme, 3 hastada (%2,1) göğüs ağrısı, 3 hastada (%2,1) çarpıntı, 2 hastada (%1,4) senkop, 1 hastada (%0,7) hipotoni, 1 hastada (%0,7) nöromotor gelişim geriliği saptandı. Yakınması olmayan 33 (%22) hastada rastlantısal olarak B12 vitamini eksikliği saptandığı görüldü, (Tablo 11).

Tablo 11: Tüm hastalara ait başvuru şikâyetleri

Şikâyet	n	(%)	Şikâyet	n	(%)
İştahsızlık	27	18,8	Parestezi	4	2,8
Halsizlik	24	16,7	Konuşmada gerilik	3	2,1
Karın ağrısı	17	11,8	Göğüs ağrısı	3	2,1
Unutkanlık	14	9,7	Çarpıntı	3	2,1
Kabızlık	8	5,6	Senkop	2	1,4
Kusma	7	4,9	Hipotoni	1	0,7
Baş ağrısı	5	3,5	Nöromotor gelişim geriliği	1	0,7
Konvülziyon	5	3,5			

n: Frekans; %: Yüzde

Tablo 12: Çalışma ve kontrol grubuna ait başvuru şikayetleri

Şikayet	Eksiklik (n:30)		Borderline (n:42)		Kontrol (n:72)		P
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
İştahsızlık	5	(%16,7)	9	(%21,4)	13	(%18,1)	0,858 (kk=0,306)
Halsizlik	5	(%16,7)	9	(%21,4)	10	(%13,9)	0,581 (kk=1,086)
Unutkanlık	3	(%10)	8	(%19)	3	(%4,2)	0,039*(kk=6,506)
Karın ağrısı	5	(%16,7)	3	(%7,1)	9	(%12,5)	0,438 (kk=1,65)
Kusma	3	(%10)	2	(%4,8)	2	(%2,8)	0,346 (kk=2,124)
Kabızlık	1	(%3,3)	2	(%4,8)	5	(%6,9)	0,731 (kk=0,626)
Baş ağrısı	1	(%3,3)	2	(%4,8)	2	(%2,8)	0,861 (kk=0,3)
Konuşmada gerilik	0	(%0)	2	(%4,8)	1	(%1,4)	0,28 (kk=2,544)
Parestezi	0	(%0)	1	(%2,4)	3	(%4,2)	0,339 (kk=2,163)
Hipotoni	0	(%0)	1	(%2,4)	0	(%0)	0,289 (kk=2,481)
Konvülziyon	0	(%0)	4	(%9,5)	1	(%1,4)	0,039*(kk=6,471)
Senkop	0	(%0)	0	(%0)	2	(%2,8)	0,247 (kk=2,801)
Göğüs ağrısı	1	(%3,3)	1	(%2,4)	1	(%1,4)	0,817 (kk=0,405)
Çarpıntı	1	(%3,3)	1	(%2,4)	1	(%1,4)	0,817 (kk=0,405)
Asemptomatik	15	(%50)	18	(%42,9)	32	(%44,4)	0,823 (kk=0,389)

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; n: Frekans; %: Yüzde; kk: Ki-kare testi

Hastaların yakınmaları gruplara göre değerlendirildiğinde; eksiklik grubunda; 5 hastada (%16,7) iştahsızlık, 5 hastada (%16,7) halsizlik, 5 hastada (%16,7) karın ağrısı, 3 hastada (%10) unutkanlık, 3 hastada (%10) kusma, bir hastada (%3,3) baş ağrısı, bir hastada (%3,3) kabızlık, bir hastada (%3,3) göğüs ağrısı ve bir hastada (%3,3) çarpıntı saptandı. Borderline grubunda ise; 9 hastada (%21,4) iştahsızlık, 9 hastada (%21,4) halsizlik, 8 hastada (%19) unutkanlık, 4 hastada (%9,5) konvülziyon, 3 hastada (%7,1) karın ağrısı, 2 hastada (%4,8) baş ağrısı, 2 hastada (%4,8) kabızlık, 2 hastada (%4,8) kusma, 2 hastada (%4,8) konuşmada gerilik, bir hastada (%3,3) parestezi, bir hastada (%3,3) hipotoni, bir hastada (%3,3) nöromotor gelişim geriliği, bir hastada (%3,3) göğüs ağrısı ve bir hastada (%3,3) çarpıntı görüldü. Kontrol grubunda; 13 hastada (%18,1) iştahsızlık, 10 hastada (%13,9) halsizlik, 9 hastada (%12,5) karın ağrısı, 5 hastada (%6,9) kabızlık, 3 hastada (%4,2) parestezi, 3 hastada (%4,2) unutkanlık, 2 hastada (%2,8) baş ağrısı, 2 hastada (%2,8) kusma, 2 hastada (%2,8) senkop, bir hastada (%3,3) göğüs ağrısı, bir hastada (%3,3) çarpıntı, bir hastada (%1,4) konuşmada gerilik ve bir hastada (%1,4) konvülziyon saptandı, (Tablo 12).

Borderline grubunda eksiklik ve kontrol grubuna göre unutkanlık ($p<0,05$) ve konvülziyon ($p<0,05$) yakınmalarında anlamlı yükseklik saptandı. Diğer semptomlarda gruplar arası anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Eksiklik grubunda; iki hastada (%6,7) büyüme gelişme geriliği, borderline grubunda ise; 8 hastada (%19) büyüme gelişme geriliği, birer hastada hepatomegali (%2,4), solgunluk (%2,4) ve peteşi (%2,4) saptandı. Kontrol grubu incelendiğinde; 2 hastada (%2,8) solgunluk saptandı. Borderline grubunda eksiklik ve kontrol gruplarına göre fizik muayenede büyüme gelişme geriliği açısından anlamlı yükseklik bulundu ($p<0,05$), (Tablo 13).

Tablo 13: Çalışma ve kontrol grubuna ait fizik muayene bulguları

	Eksiklik (n:30)		Borderline (n:42)		Kontrol (n:72)		P
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Hepatomegali	0	%0	1	%2,4	0	%0	0,289 (kk=2,481)
BGG	2	%6,7	8	%19	0	%0	0,0001*(kk=17,037)
Solgunluk	0	%0	1	%2,4	2	%2,8	0,488 (kk=1,435)
Peteşi	0	%0	1	%2,4	0	%0	0,289 (kk=2,481)

* $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılık; n: Frekans; %: Yüzde; kk: Ki-kare testi

4.2.Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar parametreleri değerlendirildiğinde; eksiklik grubunda; beyaz küre sayısı ortalama $7 \pm 1,6$ K/uL, nötrofil sayısı $3,6 \pm 1,3$ K/uL, lenfosit sayısı $2,7 \pm 0,8$ K/uL, hemoglobin $13,69 \pm 1,39$ g/dL, MCH $28,27 \pm 1,59$ pg, MCHC $34,07 \pm 0,87$ g/dL, MCV $82,82 \pm 4,45$ fL, RDW % $13,58 \pm 1,14$, trombosit sayısı $286,433 \pm 75,743$ K/uL, nötrofil lenfosit oranı (NLR) $1,44 \pm 0,68$, LDH $215,85 \pm 42,14$ U/l, aspartat transaminaz (AST) $26 \pm 23,57$ IU/l, indirekt bilirubin $0,22 \pm 0,12$ mg/dL kreatinin $0,5 \pm 0,11$ mg/dL, ferritin $38,11 \pm 19,06$ ng/mL, folat $9,66 \pm 3,99$ ng/mL olarak bulundu, (Tablo 14). Borderline grubunda; beyaz küre sayısı ortalama $8 \pm 2,5$ K/uL, nötrofil sayısı $4,1 \pm 2,1$ K/uL, lenfosit sayısı $3,1 \pm 1,3$ K/uL, hemoglobin $13,47 \pm 1,46$ g/dL, MCH $27,66 \pm 2,35$ pg, MCHC $33,95 \pm 0,92$ g/dL, MCV $81,97 \pm 6,24$ fL, RDW % $13,28 \pm 0,83$, trombosit sayısı $292,690 \pm 78,281$ K/uL, NLR $1,58 \pm 1,06$, LDH $294,2$

± 409 U/l, AST $23,19 \pm 14,12$ IU/l, indirekt bilirubin $0,49 \pm 0,57$ mg/dL kreatinin $0,57 \pm 0,18$ mg/dL, ferritin $56,01 \pm 106,69$ ng/mL, folat $9,21 \pm 4,5$ ng/mL olarak bulundu, (Tablo 14). Kontrol grubunda ise beyaz küre sayısı ortalama $7,7 \pm 2,3$ K/uL, nötrofil sayısı $3,7 \pm 1,8$ K/uL, lenfosit sayısı $3,3 \pm 1,3$ K/uL, hemoglobin $13,2 \pm 1,5$ g/dL, MCH $27,68 \pm 2,14$ pg, MCHC $34,07 \pm 0,89$ g/dL, MCV $81,18 \pm 5,3$ fL, RDW $\%13,67 \pm 1,29$, trombosit sayısı $316,777 \pm 86,538$ K/uL, NLR $1,26 \pm 0,74$, LDH $225,57 \pm 52,25$ U/l, AST $25,06 \pm 10,41$ IU/l, indirekt bilirubin $0,14 \pm 0,07$ mg/dL kreatinin $0,47 \pm 0,15$ mg/dL, ferritin $48,88 \pm 67,19$ ng/mL, folat $10,66 \pm 4,38$ ng/mL olarak bulundu, (Tablo 14).

Eksiklik, borderline ve kontrol grubu arasında beyaz küre sayısı, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV, RDW, trombosit sayısı, NLR, LDH, AST, indirekt bilirubin, ferritin, folik asit değerleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Kreatinin değeri ise her iki grupta da normal sınırlarda olmasına rağmen, borderline grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti ($p<0,05$), (Tablo 14).

Hastaların hemoglobin değeri yaşa göre değerlendirildiğinde 4 hastada ($\%2,8$) anemi saptandı. Anemik olan hastaların ikisinde normositer anemi görülmekle birlikte biri eksiklik grubunda, bir diğer hasta kontrol grubundaydı; bir hasta da ise makrositer anemi saptanmakla birlikte borderline grubunda saptandı; mikrositer anemi ise kontrol grubunda bulunan bir hastada görüldü. HCY değerleri karşılaştırıldığında; eksiklik grubunda 14 hastanın ($\%46,7$) yaş aralığına göre yüksek, 16 hastanın ($\%53,3$) düşük; borderline grubunda 24 hastanın ($\%57,1$) yüksek, 18 hastanın ($\%42,9$) düşük; kontrol grubunda ise 28 hastanın ($\%38,9$) yüksek, 44 hastanın ($\%61,1$) düşük saptandı. Gruplara göre HCY incelemelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,005$).

Tablo 14: Çalışma ve Kontrol grubuna ait laboratuvar verileri

	Eksiklik (n:30)		Borderline (n:42)		Kontrol (n:70)		P
	A.O±S.S	Min- Maks	A.O±S.S	Min- Maks	A.O± S.S	Min-Maks	
WBC	7,032±1,645	4820-10900	8,010±2,528	3350– 17500	7,788±2,382	3110- 15260	0,169 (kw=3,555)
AN	3,620±1,308	1560-7610	4,197±2,163	1530– 13670	3,712±1,895	1280 - 11710	0,301 (kw=2,399)
AL	2,733±0,897	1450- 6020	3,109±1,369	1350 - 7200	3,324±1,369	1040 - 8310	0,055 (kw=5,813)
HGB	13,69±1,39	10,1- 17	13,47±1,46	10,2 - 16,5	13,2 ± 1,5	7,6 - 19,5	0,233 (kw=2,914)
MCH	28,27±1,59	25,1- 31	27,66±2,35	18,6 - 30,9	27,68±2,14	17 - 32,3	0,417 (kw=1,747)
MCHC	34,07±0,87	32,3- 35,6	33,95±0,92	32 - 36,8	34,07±0,89	31 - 36	0,759 (F=0,276)
MCV	82,82±4,45	73,7 - 91	81,97±6,24	57 – 90	81,18± 5,3	56 - 92,3	0,193 (kw=3,288)
RDW	13,28±0,83	11,5- 15,5	13,58±1,14	12,2 - 16,9	13,67±1,29	12,1- 22,5	0,273 (kw=2,6)
PLT	286,433±75,743	189-521000	292,690±78,281	17000–497000	316,777±86,538	168000-770000	0,121 (kw=4,226)
NL	1,44±0,68	0,26 - 3,9	1,58±1,06	0,3 - 4,94	1,26± 0,74	0,23- 4,32	0,2 (kw=3,217)
LDH	215,8±42,14	136- 288	294,2±409	111 - 2019	225,57±52,25	120- 334	0,659 (kw=0,833)
AST	26±23,57	10 - 136	23,19±14,12	9 – 89	25,06±10,41	5 - 57	0,133 (kw=4,038)
İndirekt Bilirubin	0,22±0,12	0,09-0,47	0,49±0,57	0,08 - 0,89	0,14± 0,07	0,07-0,22	0,171 (z=-1,396)
Kreatini	0,5±0,11	0,21-0,74	0,57±0,18	0,27 - 0,91	0,47± 0,15	0,22- 0,92	0,005* (F=5,426) (3-4)
Ferritin	8,11±19,06	16 - 85	56,01±106,69	16 - 715	48,88±67,19	16 - 480	0,964 (kw=0,072)
Folat	9,66±3,99	4 - 20	9,21±4,5	4,6 – 20	10,66±4,38	4 - 20	0,078 (kw=5,114)

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. – 75. Yüzdelikler); kw: Kruskal Wallis Varyans Analizi; F: Tek Yönlü Varyans Analizi

Tablo 15: Çalışma ve kontrol grubuna ait B12, Hcy, MMA ve Holo Tc verileri

	Eksiklik (n:30)		Borderline (n:42)		Kontrol (n:70)		P
	A.O±S.S	Min-Maks	A.O± S.S	Min-Maks	A.O±S.S	Min-Maks	
B12	226,7±53,4	148-350	238,8±113,38	50-616	435,39±236,27	104-1587	0,0001 (kw=43,57)
Hcy	10,65±4,01	5,46- 22	11,78±4,98	5,46- 33	9,06±6,8	2,97-59,2	0,001 (kw=14,631)
MMA	0,21±0,09	0,07-0,51	0,27± 0,13	0,06-0,7	0,38±0,41	0,05-2,13	0,024 (kw=7,475)
HoloTc	14,79±4,05	5,08-19,88	26,73± 4,06	20,99-34,85	121,7±118,5	35,43-616,11	0,0001 (kw=120,29)

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. – 75. Yüzdelikler); kw: Kruskal Wallis Varyans Analizi; F: Tek Yönlü Varyans Analizi

Eksiklik grubunda; serum vitamin B12 ortalama $226,7 \pm 53,43$ pg/mL, HCY $10,65 \pm 4,01$ µmol/L, MMA $0,21 \pm 0,09$ nmol/l, Holo-TC $14,79 \pm 4,05$ pmol/L saptandı. Borderline grubunda; serum vitamin B12 ortalama $238,88 \pm 113,38$ pg/mL, HCY $11,78 \pm 4,98$ µmol/L, MMA $0,27 \pm 0,13$ nmol/l, Holo-TC $26,73 \pm 4,06$ pmol/L saptanırken, kontrol grubunda; serum vitamin B12 ortalama $435,39 \pm 236,27$ pg/mL, HCY $9,06 \pm 6,8$ µmol/L, MMA $0,38 \pm 0,41$ nmol/l, Holo-TC $121,7 \pm 118,5$ pmol/L olarak saptandı, (Tablo 15).

Serum vitamin B12 değeri; kontrol grubunda eksiklik ve borderline grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanırken ($p<0,05$); eksiklik ve borderline grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). HCY değeri; borderline grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmakla birlikte ($p<0,05$); eksiklik grubu ile borderline ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). MMA değeri; borderline grubunda eksiklik grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmakla birlikte ($p<0,05$); kontrol grubu ile eksiklik ve borderline grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Holo-TC değeri; kontrol grubunda borderline ve eksiklik grubuna göre ve borderline grubunda eksiklik grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0,05$), (Tablo 15).

Eksiklik grubunda olmasına rağmen B12 düzeyi normal olan 5 (%16) hasta saptandı, bu hastaların ikisinin MMA düzeyi düşük ve Hcy düzeyinin yaşa göre normal aralıkta olduğu görüldü. Üçünün HCY düzeyi yaşa göre yüksek olmakla birlikte MMA düzeyleri düşük saptandı. HCY düzeyi yüksek saptanan 3 hastadan ikisinde klinik olarak B12 eksikliği semptomları mevcuttu. Borderline grubunda olan 6 (%14) hastanın B12 değerleri normal olmakla birlikte hastalardan üçünün hem yüksek MMA düzeyleri ve hem yaşa göre yüksek HCY değerleri olduğu görüldü. Geriye kalan üç hastanın HCY değerleri yaşa göre normal aralıktaydı. Tüm hastalar asemptomatikti. Kontrol grubunda olan 19 (%26) hastada B12 düzeylerinin <300 pg/ml altında olduğu görüldü. 8 hastanın HCY düzeyleri yaşa göre yüksek ve aynı zamanda bu hastalardan 7'sinin MMA düzeylerinde yükseklik saptandı. HCY düzeyi yüksek saptanan hastaların 5'inde klinik olarak semptom mevcuttu, geriye kalan hastalar asemptomatik olarak değerlendirildi.

Çalışma grubunda olan 46 hastanın tedavi öncesi ve tedavi sonrası birinci ay tetkikleri değerlendirildiğinde; beyaz küre sayısı ortalama tedavi öncesi $7,4 \pm 1,9$ K/uL, tedavi sonrası $7,6 \pm 2,2$ K/uL, nötrofil sayısı tedavi öncesi $3,7 \pm 1,5$ K/uL iken tedavi sonrasında $3,9 \pm 2,2$ K/uL, lenfosit sayısı tedavi öncesi $3 \pm 1,3$ K/uL, tedavi sonrasında $2,9 \pm 1,4$ K/uL, hemoglobin tedavi öncesinde $13,33 \pm 1,66$ g/dL, tedavi sonrasında $14,46 \pm 1,72$ g/dL, MCH tedavi öncesinde $28,3 \pm 2,39$ pg, tedavi sonrasında $28,41 \pm 1,95$ pg, MCHC tedavi öncesinde $34,08 \pm 1,08$ g/dL, tedavi sonrasında $34,27 \pm 1,02$ g/dL, MCV tedavi öncesinde $82,97 \pm 5,84$ fL, tedavi sonrasında $82,88 \pm 4,85$ fL, RDW tedavi öncesinde $\% 13,45 \pm 1,55$, tedavi sonrasında $\% 13,49 \pm 2,58$, trombosit sayısı tedavi öncesinde $297,369 \pm 99,953$ K/uL, tedavi sonrasında $300,478 \pm 79,316$ K/uL LDH tedavi öncesinde $379,36 \pm 546,14$ U/l, tedavi sonrasında $210,09 \pm 46,56$ U/l, AST tedavi öncesinde $23,57 \pm 14,95$ IU/l, tedavi sonrasında $21,2 \pm 9,46$ IU/l, kreatinin tedavi öncesinde $0,52 \pm 0,17$ mg/dL, tedavi sonrasında $0,53 \pm 0,17$ mg/dL saptandı, (Tablo 16). Tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1.ay değerlendirildiğinde; beyaz küre sayısı, nötrofil ve lenfosit sayısı, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV, RDW, trombosit sayısı, LDH, AST, kreatinin değerleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo 16).

Tablo 16: : Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. aya ait laboratuvar verileri

		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası 1. Ay	P
WBC (n:46)	A.O±S.S	7456,52 ± 1984,1	7678,91 ± 2296,34	0,24 (z=-1,175)
	Med(IQR)	7050 (5972,5 - 9115)	7490 (6030 - 8962,5)	
	Min-Maks	4000 - 12460	4140 - 17470	
ANS (n:46)	A.O±S.S	3720,22 ± 1577,55	3968,48 ± 2233,01	0,422 (z=-0,803)
	Med(IQR)	3500 (2472,5 - 5055)	3510 (2857,5 - 4590)	
	Min-Maks	1280 - 7230	1440 - 15600	
ALS (n:46)	A.O±S.S	3060 ± 1363,75	2968,26 ± 1415,39	0,312 (z=-1,01)
	Med(IQR)	2700 (2167,5 - 3645)	2535 (1905 - 3780)	
	Min-Maks	1350 - 8160	1190 - 7140	
HGB (n:46)	A.O±S.S	13,33 ± 1,66	14,46 ± 1,72	0,310 (z=-1)
	Med(IQR)	13,5 (12,58 - 14,3)	13,85 (12,78 - 14,55)	
	Min-Maks	7,6 - 17,4	9,5 - 14,7	
MCH (n:46)	A.O±S.S	28,3 ± 2,39	28,41 ± 1,95	0,408 (z=-0,828)
	Med(IQR)	28,65 (27,3 - 29,93)	28,5 (27,78 - 29,55)	
	Min-Maks	17 - 32,3	20,1 - 32	
MCHC (n:46)	A.O±S.S	34,08 ± 1,08	34,27 ± 1,02	0,478 (t=-0,716)
	Med(IQR)	34 (33,35 - 34,93)	34 (33,58 - 35)	
	Min-Maks	31 - 36	31,5 - 36,3	
MCV (n:46)	A.O±S.S	82,97 ± 5,84	82,88 ± 4,85	0,773 (t=0,29)
	Med(IQR)	83,55 (79,8 - 86,78)	83,7 (80,15 - 85,7)	
	Min-Maks	56 - 92,3	63 - 92,2	
RDW (n:46)	A.O±S.S	13,45 ± 1,55	13,49 ± 2,58	0,158 (z=-1,411)
	Med(IQR)	13,1 (12,7 - 13,73)	13,05 (12,6 - 13,55)	
	Min-Maks	11,5 - 22,5	11,8 - 29,9	
PLT (n:46)	A.O±S.S	297369,57 ± 99953,18	300478,26± 79316,17	0,735 (z=-0,339)
	Med(IQR)	279000(246250-343000)	278500(242500-345250)	
	Min-Maks	17000 - 770000	182000 - 509000	
LDH (n:46)	A.O ± S.S	379,36 ± 546,14	210,09 ± 46,56	0,126 (z=-1,53)
	Med (IQR)	241 (169 - 265)	228 (179 - 247)	
	Min-Maks	136 - 2019	120 - 257	
AST (n:46)	A.O ± S.S	23,57 ± 14,95	21,2 ± 9,46	0,126 (z=-1,53)
	Med (IQR)	20 (15 - 27,25)	19 (14 - 24,25)	
	Min-Maks	9 - 89	8 - 57	
Kreatinin (n:46)	A.O ± S.S	0,52 ± 0,17	0,53 ± 0,17	0,498 (t=-0,683)
	Med (IQR)	0,54 (0,39 - 0,65)	0,48 (0,41 - 0,65)	
	Min-Maks	0,21 - 0,92	0,25 - 0,91	

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı değişim; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. - 75.

Yüzdeler; z: Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi; t: Bağımlı gruplarda t testi

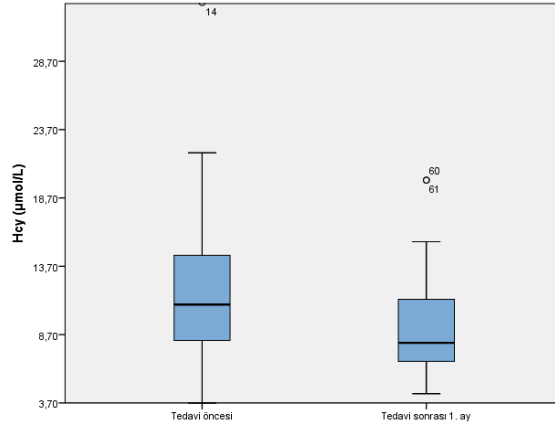
Tedavi öncesi HCY $11,81 \pm 5,08$ $\mu\text{mol/L}$, tedavi sonrasında $9,03 \pm 3,14$ $\mu\text{mol/L}$ (Şekil 2, 5), MMA tedavi öncesinde $0,3 \pm 0,3$ nmol/l , tedavi sonrasında $0,3 \pm 0,23$ nmol/l , Holo-TC tedavi öncesinde $46,48 \pm 60,95$ pmol/L , tedavi sonrasında $50,23 \pm 58,35$ pmol/L (Şekil 3, 4) saptandı. Tedavi öncesi ve sonrası 1.ay karşılaştırıldığında MMA değerinde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$). HCY değeri ise tedavi sonrası 1. ayda tedavi öncesine göre daha anlamlı olarak düşük saptanırken

($p < 0,05$), Holo-TC ise tedavi sonrası 1. ayda tedavi öncesine göre daha anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$), (Tablo 17).

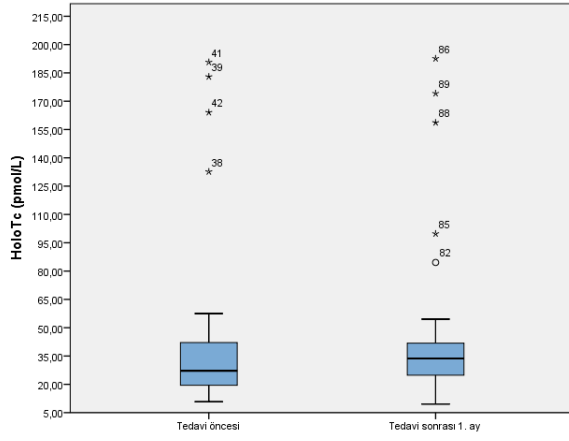
Tablo 17: Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. aya ait Hcy, MMA, Holo Tc verileri

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası 1. ay	P
Hcy (n:46)	A.O ± S.S 11,81 ± 5,08	9,03 ± 3,14	0,0001* (z=-5,162)
	Med(IQR) 10,9 (8,27 - 14,56)	8,05 (6,7 - 11,25)	
	Min-Maks 3,19 - 33	4,38 - 20	
MMA (n:46)	A.O ± S.S 0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,23	0,848 (z=-0,191)
	Med(IQR) 0,2 (0,19 - 0,27)	0,22 (0,18 - 0,32)	
	Min-Maks 0,14 - 2,07	0,15 - 1,46	
HoloTc (n:46)	A.O ± S.S 46,48 ± 60,95	50,23 ± 58,35	0,019* (z=-2,337)
	Med(IQR) 27,17 (19,46 - 42,33)	33,84 (24,87 - 44,13)	
	Min-Maks 10,85 - 340,21	9,51 - 340,21	

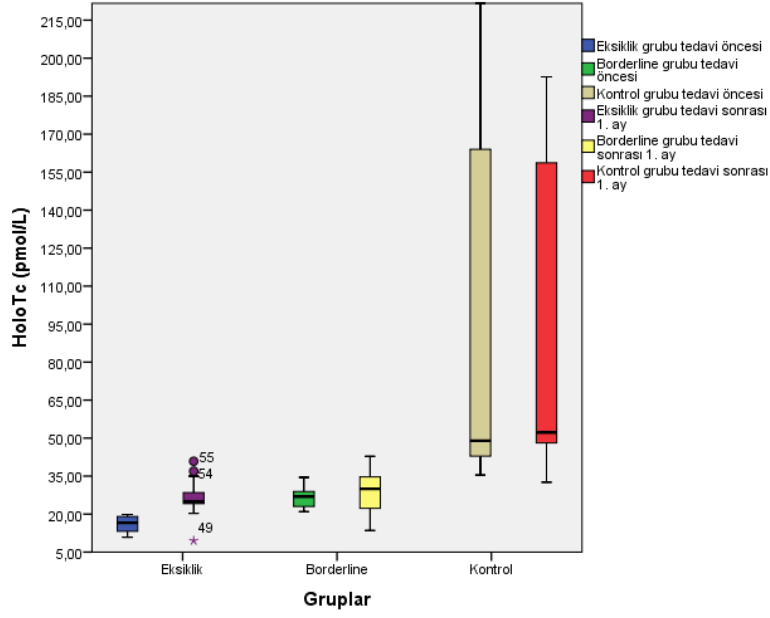
* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı değişim; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. - 75.Yüzdelikler); z: Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi; t: Bağımlı gruplarda t testi



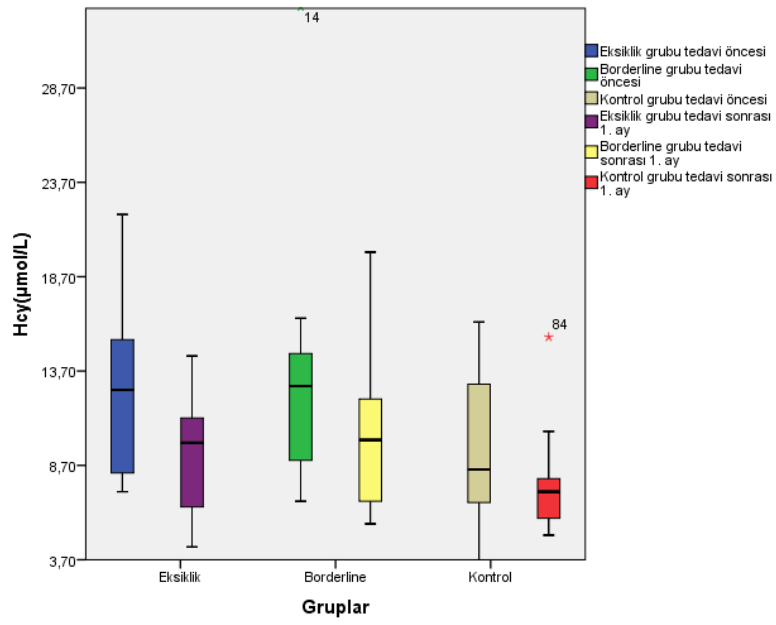
Şekil 2: Çalışma gurubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri



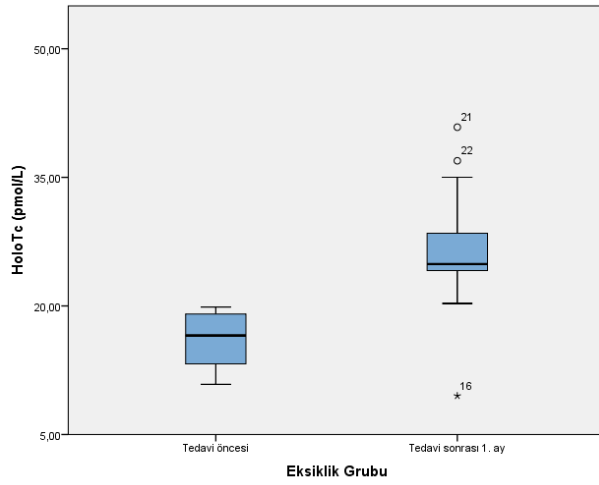
Şekil 3: Çalışma gurubunda tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri



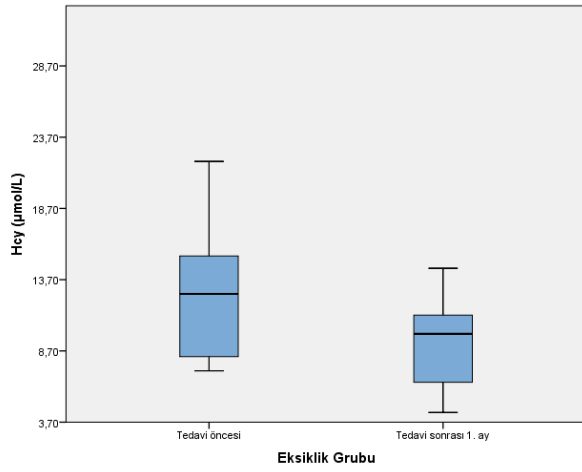
Şekil 4: Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve sonrası 1. ay ve kontrol grubunun başvuru-1. ay Holo-TC değerleri



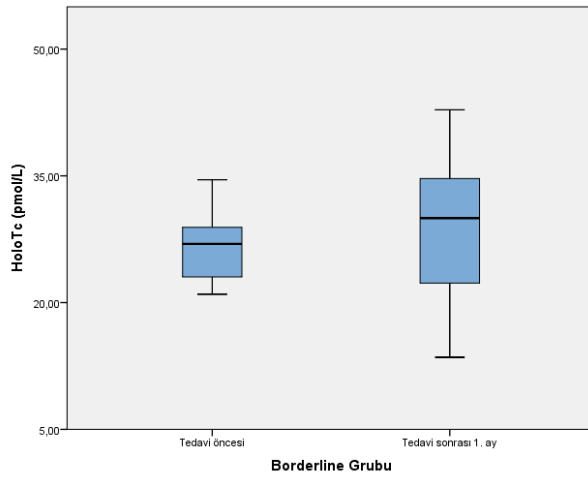
Şekil 5: Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve sonrası 1. ay ve kontrol grubunun başvuru-1. ay HCY değerleri



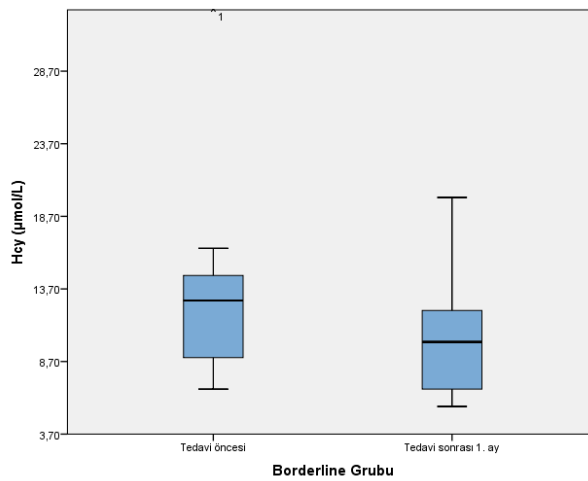
Şekil 6: Eksiklik grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri



Şekil 7: Eksiklik grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri



Şekil 8: Borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay Holo-TC değerleri



Şekil 9: Borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ay HCY değerleri

Çalışma grubunda olan 10 hastanın tedavi öncesi, tedavi sonrası birinci ay ve tedavi sonrası üçüncü ay tetkikleri değerlendirildiğinde; beyaz küre sayısı ortalama tedavi öncesi $7 \pm 1,5$ K/uL, tedavi sonrası 1. ayda $7,5 \pm 1,3$ K/uL, tedavi sonrası 3. ayda $7,1 \pm 0,8$ K/uL, nötrofil sayısı tedavi öncesi $3,9 \pm 1,7$ K/uL iken tedavi sonrası 1. ayında $3,9 \pm 1$ K/uL ve tedavi sonrası 3. ayında $3,8 \pm 0,8$ K/uL, lenfosit sayısı tedavi öncesi $2,4 \pm 0,8$ K/uL, tedavi sonrası 1. ayında $2,7 \pm 1$ K/uL, tedavi sonrası 3. ayında $2,5 \pm 0,7$ K/uL hemoglobin tedavi öncesinde $13,14 \pm 1,84$ g/dL, tedavi sonrası 1. ayda $13,84 \pm 1,2$ g/dL ve 3. ayda $13,46 \pm 1,7$ g/dL MCH tedavi öncesinde $28,39 \pm 1,62$ pg, tedavi sonrası 1. ayda $28,18 \pm 1,73$ pg, ve 3. ayda $27,85 \pm 1,8$ pg, MCV tedavi öncesinde $83,32 \pm 4,99$ fL, tedavi sonrası 1. ayda $82,83 \pm 4,41$ fL, tedavi sonrası 3. ayda $81,39 \pm 5,4$ fL, RDW tedavi öncesinde $\% 13,73 \pm 0,85$, tedavi sonrası 1. ayda $\% 13,72 \pm 0,84$ ve 3. ayda $\% 13,56 \pm 0,76$, trombosit sayısı tedavi öncesinde $237,090 \pm 86,705$ K/uL, tedavi sonrası 1. ayda $297,727 \pm 86,923$ K/uL, tedavi sonrası 3. ayda $269,545 \pm 66,851$ K/uL, LDH tedavi öncesinde $639 \pm 921,1$ U/l, tedavi sonrası 1. ayda $205,25 \pm 62,09$ U/l, tedavi sonrası 3. ayda $156 \pm 75,46$, AST tedavi öncesinde $27,6 \pm 22,99$ IU/l, tedavi sonrası 1. ayda $20,6 \pm 5,34$ IU/l, tedavi sonrası 3. ayda $21,2 \pm 8,93$ IU/l, kreatinin tedavi öncesinde $0,56 \pm 0,18$ mg/dL, tedavi sonrası 1. ayda $0,57 \pm 0,22$ mg/dL ve 3. ayda $0,56 \pm 0,2$ mg/dL saptandı, (Tablo 18).

Tedavi öncesi HCY $12,53 \pm 4,16$ μ mol/L, tedavi sonrası 1. ayda $9,58 \pm 2,93$ μ mol/L saptanırken, tedavi sonrası 3. ayda $8,84 \pm 2,99$ μ mol/L saptandı. MMA tedavi öncesinde $0,21 \pm 0,05$ nmol/l, tedavi sonrası 1. ayda $0,27 \pm 0,17$ nmol/l ve tedavi sonrası 3. ayda $0,26 \pm 0,11$ nmol/l olarak saptandı. Holo-TC değeri ise tedavi öncesinde $22,96 \pm 8,08$ pmol/L, tedavi sonrası 1. ay ve 3. ayda sırasıyla $32,21 \pm 19,64$ pmol/L ve $35,37 \pm 19,6$ pmol/L saptandı, (Tablo 19).

Tablo 18: Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1 ve 3. aya ait laboratuvar verileri

		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası 1.ay	Tedavi sonrası 3.ay	p
WBC (n=11)	A.O ± S.S	7033,64 ± 1569,95	7563,64 ± 1345,05	7170 ± 870,05	0,428 (F=0,885)
	Med (IQR)	6960 (5650 - 8570)	7450 (6820 - 8010)	7140 (6930 - 7490)	
	Min- maks	5130 - 9580	5770 - 10550	5690 - 9160	
ANS (n=11)	A.O ± S.S	3922,73 ± 1736,4	3940 ± 1000,04	3870 ± 830,57	0,977 (F=0,024)
	Med (IQR)	3870 (2330 - 5560)	4020 (2970 - 4560)	3820 (3380 - 4350)	
	Min- maks	2070 - 6990	2610 - 6100	2600 - 5560	
ALS (n=11)	A.O ± S.S	2440,91 ± 818,33	2724,55 ± 1064,88	2580 ± 735,11	0,274 (F=1,384)
	Med (IQR)	2310 (1980 - 2780)	2120 (1870 - 3770)	2570 (1690 - 3340)	
	Min- maks	1350 - 4210	1550 - 4550	1520 - 3600	
HGB (n=11)	A.O ± S.S	13,14 ± 1,84	25,16 ± 40,45	13,75 ± 1,58	0,257 (fr=2,714)
	Med (IQR)	13,1 (12 - 14,7)	13 (12,1 - 15)	13,8 (13,4 - 14,7)	
	Min- maks	10,1 - 15,4	9,5 - 147	9,7 - 15,5	
MCH (n=11)	A.O ± S.S	28,39 ± 1,62	28,18 ± 1,73	27,85 ± 1,8	0,025 (fr=7,4)
	Med (IQR)	28,3 (27,3 - 29,2)	28 (26,9 - 29,3)	27,9 (27 - 28,7)	
	Min- maks	25,5 - 31	25,5 - 31,8	24,4 - 31,8	
MCHC (n=11)	A.O ± S.S	33,95 ± 0,61	33,98 ± 1,17	34,4 ± 0,93	0,392 (F=0,981)
	Med (IQR)	34 (33,4 - 34,4)	33,5 (33,4 - 34,6)	34 (33,8 - 35,2)	
	Min- maks	33 - 35	32,4 - 36,3	33 - 35,9	
MCV (n=11)	A.O ± S.S	83,32 ± 4,99	82,83 ± 4,41	81,39 ± 5,4	0,223 (fr=3,00)
	Med (IQR)	82,8 (79,4 - 87,7)	82,7 (79,4 - 84,7)	80,3 (77,9 - 85,2)	
	Min- maks	75,4 - 91	76,1 - 92,2	71,8 - 92	
RDW (n=11)	A.O ± S.S	13,73 ± 0,85	13,72 ± 0,84	13,56 ± 0,76	0,281 (fr=2,537)
	Med (IQR)	13,7 (13,4 - 14,3)	13,5 (13,2 - 14,2)	13,4 (13,1 - 14)	
	Min- maks	12,1 - 15,5	12,3 - 15,1	12,4 - 14,8	
PLT (n=11)	A.O ± S.S	237090,9±86705,7	279727,27±86923,0	269545,45 ± 66851,12	0,266 (fr=2,651)
	Med (IQR)	244000(198000-293000)	264000(217000-345000)	270000(231000-322000)	
	Min- maks	17000 - 349000	182000 - 484000	172000 - 398000	
LDH (n=4)	A.O ± S.S	639 ± 921,1	205,25 ± 62,09	156 ± 75,46	-
	Med (IQR)	200,5(142-1574,5)	222 (139,75 - 254)	142 (93,75 - 232,25)	
	Min- maks	136 - 2019	120 - 257	80 - 260	
AST (n=10)	A.O ± S.S	27,6 ± 22,99	20,6 ± 5,34	21,2 ± 8,93	0,607 (fr=1,00)
	Med (IQR)	23,5 (12,75 - 30,5)	20 (16,5 - 25)	18 (15 - 25,75)	
	Min- maks	11 - 89	12 - 30	13 - 41	
Kreatinin (n=10)	A.O ± S.S	0,56 ± 0,18	0,57 ± 0,22	0,56 ± 0,2	0,844 (F=0,171)
	Med (IQR)	0,55 (0,44 - 0,69)	0,54 (0,42 - 0,76)	0,54 (0,4 - 0,75)	
	Min- maks	0,21 - 0,84	0,25 - 0,91	0,22 - 0,9	

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı değişim; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. - 75.

Yüzdelikler); fr: Friedman testi; F: Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi

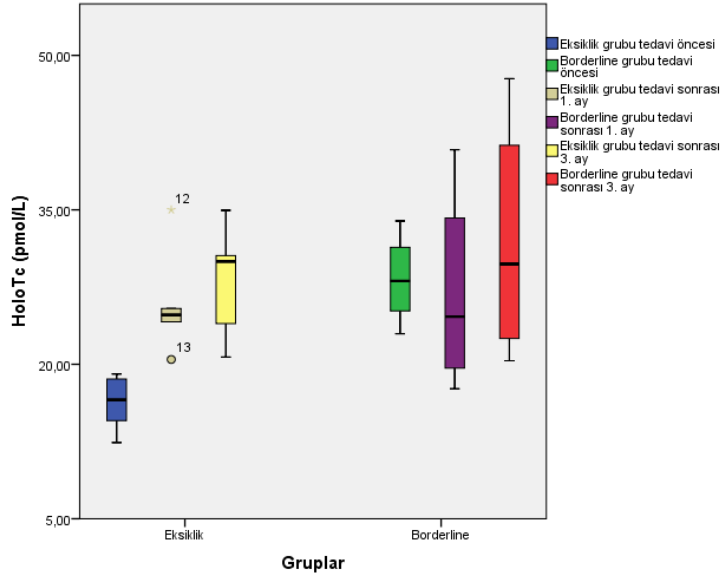
Tablo 19: Çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 1 ve 3. aya ait HCY, MMA, Holo-TC verileri

		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası 1.ay	Tedavi sonrası 3.ay	P
Hcy (n=10)	A.O ± S.S	12,53 ± 4,16	9,58 ± 2,93	8,84 ± 2,99	0,002 (fr=12, 2)
	Med(IQR)	13,5 (8,35-15,6)	9,9 (6,6 - 12,5)	8,42 (6,24 - 11)	
	Min-Maks	7,3 – 19,24	6 – 13,6	5,2 – 14	
MMA (n=10)	A.O ± S.S	0,21 ± 0,05	0,27 ± 0,17	0,26 ± 0,11	0,301 (fr=2,4)
	Med(IQR)	0,2 (0,18 - 0,24)	0,24 (0,17 - 0,27)	0,23 (0,2 - 0,3)	
	Min-Maks	0,17 – 0,32	0,15 – 0,74	0,15 – 0,46	
HoloTc (n=10)	A.O ± S.S	22,96 ± 8,08	32,21 ± 19,64	35,37 ± 19,6	0,045 (fr=6,2)
	Med(IQR)	21,01(16,0-30)	25,1(21,3- 36,4)	30,27(23,1-38,1)	
	Min-Maks	12,4 – 35,43	17,62 – 84,55	20,34 – 86,04	

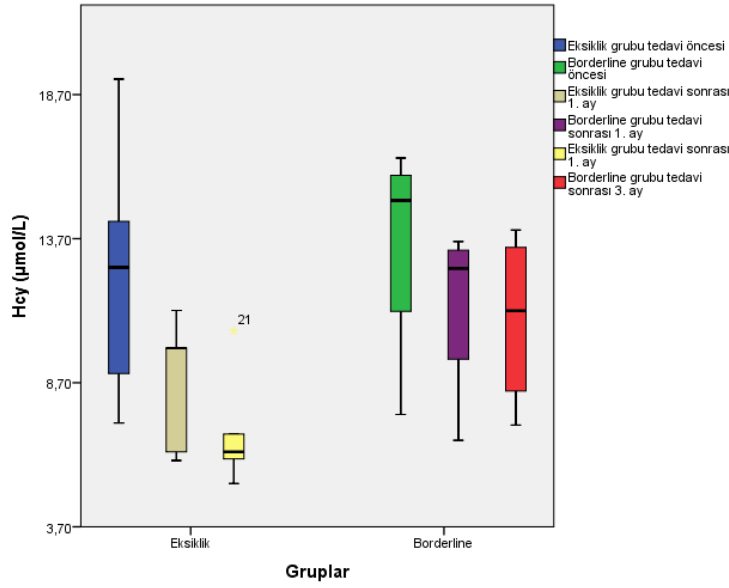
*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı değişim; A.O: Aritmetik ortalama; S.S: Standart sapma; Med (IQR): Ortanca (25. – 75. Yüzdelikler); fr: Friedman testi; F: Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi

Tedavi öncesi, sonrası 1. ve 3. ay karşılaştırıldığında beyaz küre sayısı, nötrofil ve lenfosit sayısı, hemoglobin, MCV, RDW, trombosit sayısı, LDH, AST, kreatinin ve MMA değerlerinde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (p>0,05). Tedavi öncesi MCH değerleri ise 3. ay MCH değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek saptandı (p<0,05), (Tablo 18, 19).

HCY değeri ise tedavi sonrası 1. ayda tedavi öncesine göre daha anlamlı olarak düşük (p<0,05), aynı zamanda tedavi sonrası 3. ayda tedavi öncesine ve 1. aya göre anlamlı olarak düşük saptandı (p<0,05). Holo-TC ise tedavi sonrası 3. ayda tedavi öncesine göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,05), (Tablo 19).



Şekil 10: Eksiklik ve borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ile 3. ay Holo-TC değerleri

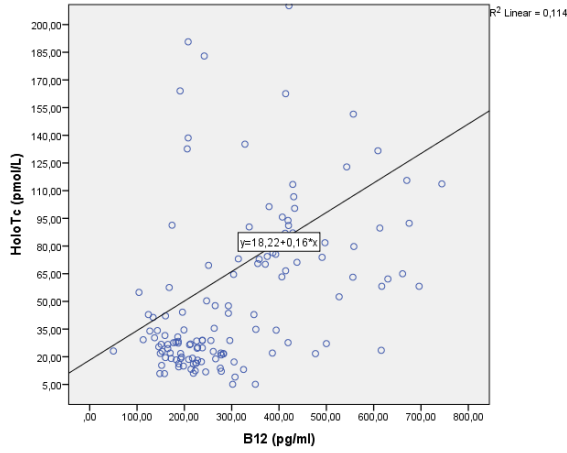


Şekil 11: Eksiklik ve borderline grubunun tedavi öncesi ve sonrası 1. ile 3. Ay HCY değerleri

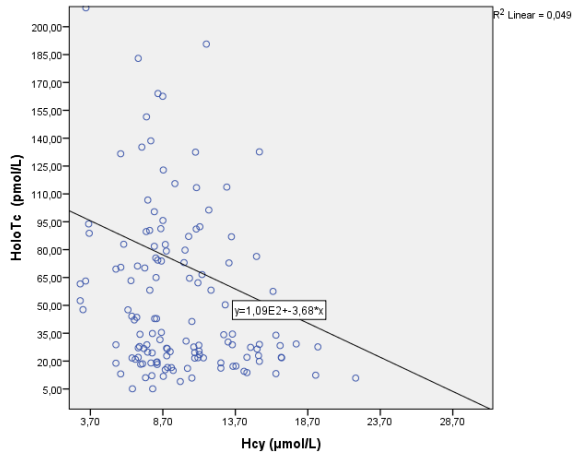
4.3.Korelasyon Analizi

Holo-TC düzeyleri ile B12 ($p=0,0001$, $r=0,516$) arasında anlamlı pozitif korelasyon (Şekil 12) ve Holo-TC ile HCY ($p=0,002$, $r=-0,260$) arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı (Şekil 13).

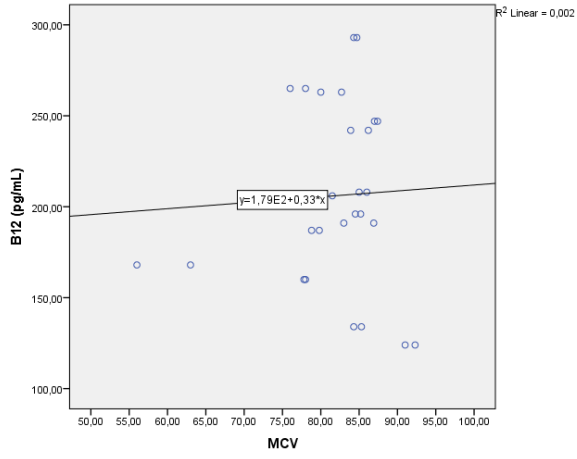
B12 düzeyleri ile MCV ($p=0,001$, $r=-0,274$) ve HCY arasında ($p=0,0001$, $r=-0,405$) negatif korelasyon (Şekil 14, 15), RDW ($p=0,013$, $r=0,206$) arasında pozitif korelasyon saptandı (Şekil 16). MMA düzeyleri ile HCY ($p=0,014$, $r=0,204$) arasında pozitif korelasyon saptandı (Şekil 17).



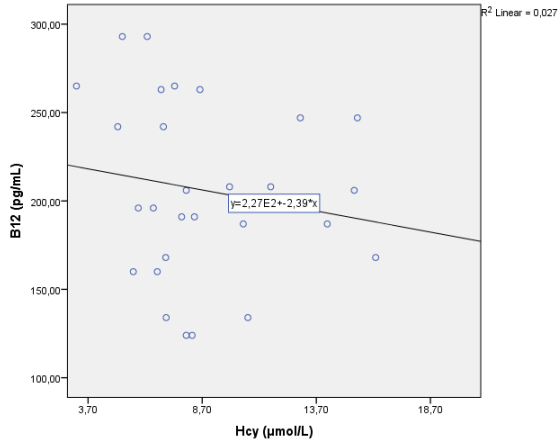
Şekil 12: Holo-TC ve B12 arasındaki ilişki



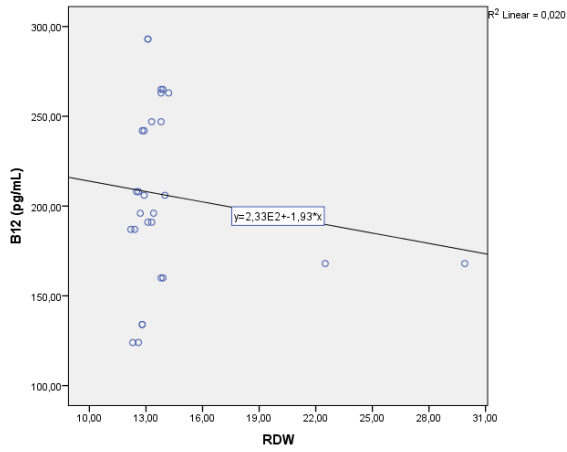
Şekil 13: Holo-TC ve HCY arasındaki ilişki



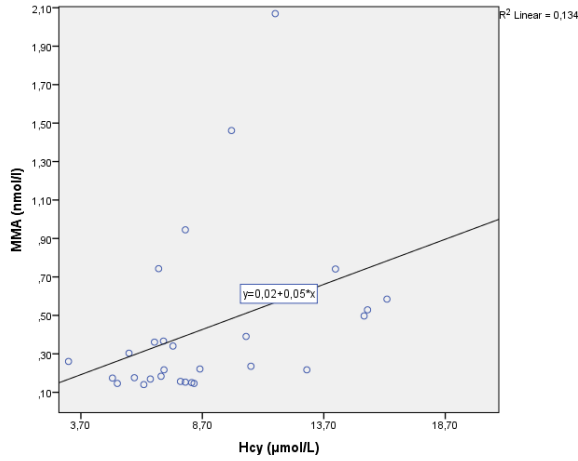
Şekil 14: B12 ve MCV arasındaki ilişki



Şekil 15: B12 ve HCY arasındaki ilişki



Şekil 16: B12 ve RDW arasındaki ilişki



Şekil 17: MMA ve HCY arasındaki ilişki

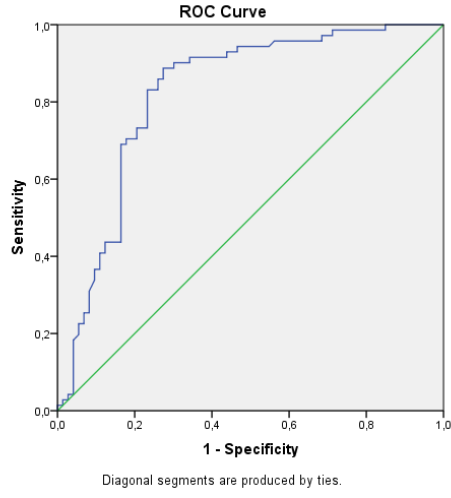
4.4.ROC Analizi

Holo-TC için eksiklik sınırı olarak 35 pmol/L olarak kabul edilerek ve Holo-TC'yi referans olarak vitamin B12, MMA ve HCY seviyesinin optimal kesme noktasını belirlemek için bir ROC eğrisi analizi yapıldı (Şekil 18, 19, 20). Vitamin B12 seviyesi için optimal kesme noktası 276,5 pg/mL olarak bulundu, duyarlılık %76 ve özgüllük %77; eğri altındaki alan 0.822 ($p<0.01$) idi. MMA seviyesi için optimal kesme noktası 0,21 nmol/L olarak bulundu, duyarlılık %43 ve özgüllük %42; eğri altındaki alan 0.466 ($p>0.05$) idi. HCY seviyesi için optimal kesme noktası 8,79 μ mol/L olarak bulundu, duyarlılık %64 ve özgüllük %64; eğri altındaki alan 0.684 ($p<0.01$) idi (Tablo 20).

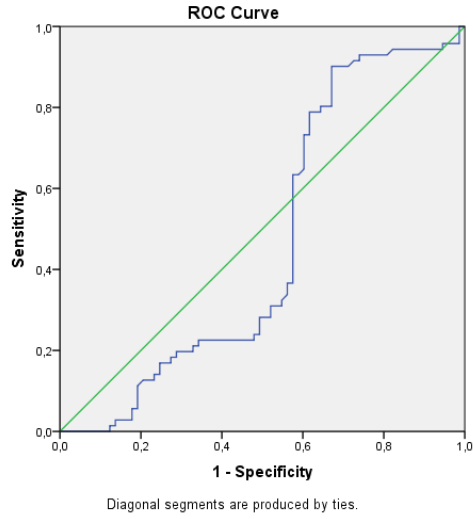
Tablo 20: Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) ROC analizi ve biobelirteçlerin cutt off değerleri

Biobelirteç	AUC (%95)	Cutt off	p	Sensitivity (%)	Specificity (%)
B12	0,822 (0,751-0,894)	276,5	0,000	76	77
MMA	0,466 (0,367-0,565)	0,21	0,484	43	42
HCY	0,684 (0,598-0,769)	8,795	0,000	64	64

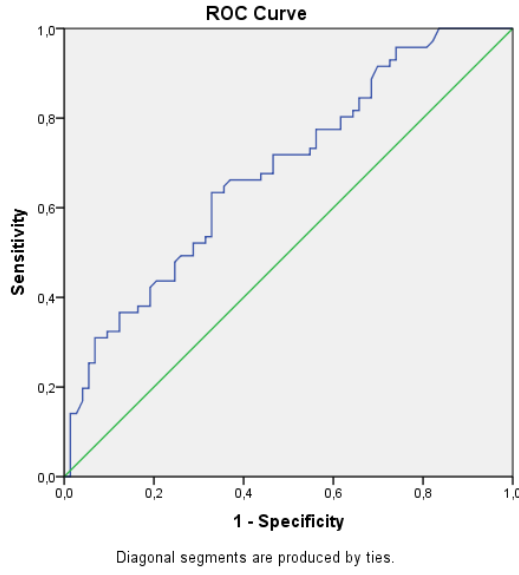
AUC: Eğri altında kalan alan, Cutt off: optimal kesme noktası



Şekil 18: Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) Vitamin B12 ROC analizi eğrisi



Şekil 19: Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) MMA ROC analizi eğrisi



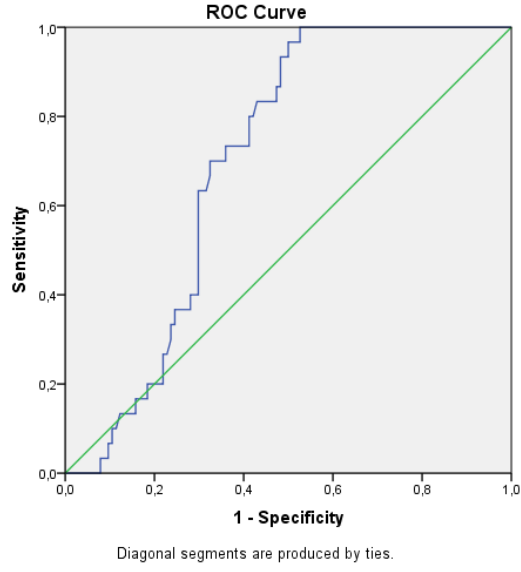
Şekil 20: Çalışma (Holo-TC<35 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>35 pmol/L) HCY ROC analizi eğrisi

Holo-TC için eksiklik sınırı olarak 20 pmol/L olarak kabul edilerek ve Holo-TC'yi referans olarak vitamin B12, MMA ve HCY seviyesinin optimal kesme noktasını belirlemek için bir ROC eğrisi analizi yapıldı (Şekil 22, 23, 24). Vitamin B12 seviyesi için optimal kesme noktası 232 pg/mL olarak bulundu, duyarlılık %66 ve özgüllük %67; eğri altındaki alan 0.701 ($p<0.01$) idi. MMA seviyesi için optimal kesme noktası 0,1985 nmol/L olarak bulundu, duyarlılık %36,7 ve özgüllük %36; eğri altındaki alan 0.340 ($p<0.01$) idi. HCY seviyesi için optimal kesme noktası 8,95 μ mol/L olarak bulundu, duyarlılık %53,5 ve özgüllük %53; eğri altındaki alan 0.568 ($p>0.01$) idi. Tablo 19, ROC eğrisi için kesme noktalarını listelemektedir (Tablo 21, 22).

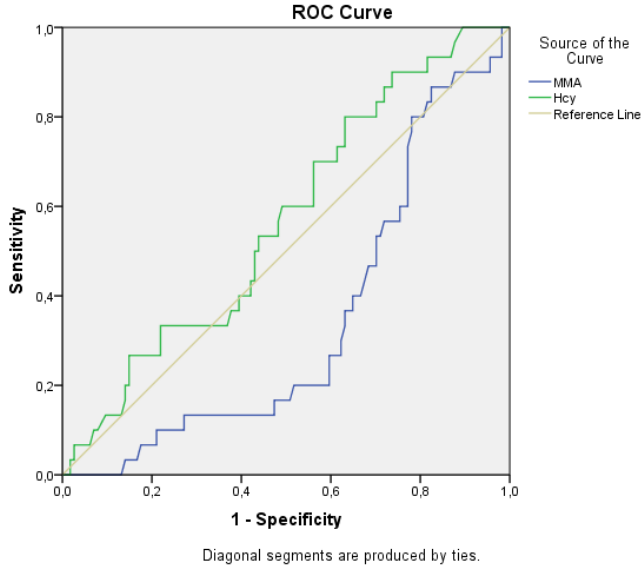
Tablo 21: Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) ROC analizi ve biobelirteçlerin cutt off değerleri

Biobelirteç	AUC (%95)	Cutt off	p	Sensitivity (%)	Specificity (%)
B12	0,701 (0,619-0,783)	232	0,001	66	67
MMA	0,340 (0,241-0,439)	0,1985	0,007	36,7	36
HCY	0,568 (0,459-0,677)	8,95	0,253	53,5	53

AUC: Eğri altında kalan alan, Cutt off: optimal kesme noktası



Şekil 21: Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) Vitamin B12 ROC analizi eğrisi



Şekil 22: Çalışma (Holo-TC<20 pmol/L) ve kontrol grubunun (Holo-TC>20 pmol/L) MMA ve HCY ROC analizi eğrisi

5.TARTIŞMA

Vitamin B12 eksikliği, dünya genelinde çocuklar arasında önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde bu eksiklik daha yaygın olarak görülmektedir. Bu çalışmada, Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Polikliniği'nde değerlendirilmiş çocuklarda B12 vitamini eksikliğinin tanısında serum B12, holotranskobalamin, homosistein ve metilmalonik asit düzeylerinin etkinliği ve sınır değerleri araştırılmıştır.

Cinsiyet ve yaş faktörleri incelendiğinde, literatürde B12 vitamini eksikliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (141). Çalışmamızda da benzer şekilde kız ve erkek çocuklar arasında anlamlı bir fark saptanmamış, ancak çalışma grubunun yaş ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Büyüme ve gelişme üzerinde B12 eksikliğinin etkileri de çalışmamızda incelenmiştir. Eksiklik grubundaki çocukların %6,7'sinde büyüme ve gelişme geriliği saptanırken, borderline grubunda bu oran %19 olarak tespit edilmiş ve çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. Bu bulgular, B12 eksikliğinin çocuklarda büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkilerini göstermektedir. Literatürde, B12 eksikliğinin çocuklarda büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri rapor edilmiştir ve çalışmamız bu bulguları desteklemektedir (142). Ancak beklenenin aksine büyüme ve gelişmenin borderline grubunda eksiklik grubuna göre daha fazla olması B12 vitamini eksikliği laboratuvar tanısının yetersizliğini düşündürmüştür.

Eksiklik, borderline ve kontrol grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1. ay değerlendirmelerinde vücut ağırlığı ve boy değerlerinin persentil ve SDS açısından farklılığı saptanmamıştır. Benzer şekilde, tedavi öncesi ve sonrası 3. ay değerlendirmelerinde de bu parametrelerde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu bulgular, kısa süreli tedavi sürecinin vücut ağırlığı ve boy üzerindeki etkilerini yansıtmayabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, uzun süreli izlem çalışmalarında

B12 eksikliğinin büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri raporlanmıştır (142). Çalışmamızın kısa süreli izlem sonuçları bu etkileri tam olarak yansıtamamış olabilir. Bu nedenle, B12 eksikliğinin uzun vadeli etkilerini değerlendirebilmek için daha uzun süreli izlem çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Hastalar gruplara göre kırmızı et ile beslenme açısından sorgulandığında, eksiklik ve borderline grubunda et tüketim sıklığı arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak, eksiklik grubunda daha az sıklıkta et tüketildiği gözlenmiştir. Literatürde, B12 vitamini eksikliğinin vejetaryen diyet veya düşük hayvansal protein alımı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (143). Çalışmamız, B12 eksikliğinin diyetle ilişkisini vurgulayan bu literatür bulgularını destekler niteliktedir. Et tüketim sıklığının eksiklik grubunda daha düşük olması, B12 vitamini eksikliğinin diyetle ilgili faktörlere bağlı olabileceğini göstermektedir. Bu durum, beslenme alışkanlıklarının B12 vitamini düzeyleri üzerindeki etkisini inceleyen daha geniş çaplı çalışmaların önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmaya alınan tüm hastaların yakınmaları incelendiğinde; en sık başvuru şikayetlerinin iştahsızlık, halsizlik ve karın ağrısı olduğu saptanmıştır. Borderline grubunda eksiklik ve kontrol grubuna göre unutkanlık ve konvülziyon yakınmalarında anlamlı yükseklik saptanmıştır. Bu bulgular, literatürde B12 eksikliğinin nörolojik ve bilişsel semptomlara yol açtığını belirten çalışmalara paraleldir (144, 145). Unutkanlık ve konvülziyon gibi belirtilerin çalışma grubunda daha yüksek olması, B12 eksikliğinin nörolojik sağlığa olan etkilerini vurgulamaktadır. Ancak beklenenin aksine borderline grubunda eksiklik grubundan anlamlı olarak yüksek saptanması B12 vitamini eksikliği laboratuvar tanısının yetersizliğini düşündürmüştür. Bu bulgular, B12 vitamini eksikliğinin sadece hematolojik değil, aynı zamanda nörolojik ve bilişsel semptomlara da yol açabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, B12 eksikliğinin tanı ve tedavisinde nörolojik semptomların da dikkate alınması büyük önem taşımaktadır.

Asemptomatik hastalar gruplara göre değerlendirildiğinde; eksiklik, borderline ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Bu, gruplar arasında semptomatik olmayan hastaların dağılımının benzer olduğunu gösterir. Bu durum B12

vitamini eksikliđinin klinik yansımalarının kiřiden kiřiye deđiřebileceđi ve eksikliđin her zaman belirgin semptomlarla kendini gosteremeyebileceđini dűřündürmektedir.

Eksiklik, borderline ve kontrol grubu arasında beyaz kűre sayısı, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV, RDW, trombosit sayısı, NLR, LDH, AST, indirekt bilirubin, ferritin ve folik asit deđerleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmamıřtır. Bu bulgular, literatűrle uyumlu řekilde B12 eksikliđinin hematolojik ve biyokimyasal parametreleri etkilemeden önce de klinik olarak nörolojik ve biliřsel semptomlara neden olabileceđini gstermektedir (115, 146). Kreatinin deđeri ise her iki grupta da normal sınırlarda olmasına rađmen, borderline grubunda kontrol grubuna göre daha yűksek bulunmuřtur. Literatűrde, kreatinin dűzeylerinin B12 eksikliđi ile iliřkisi konusunda yeterli veri bulunmamakla birlikte, bu durumun çalıřma grubunun yař ortalamasının kontrol grubuna göre daha yűksek olmasına bađlı olduđu dűřűnűlműřtir.

Çalıřmamızda, Metilmalonik Asit (MMA) deđerleri borderline grubunda eksiklik grubuna göre anlamlı olarak yűksek saptanmıř, ancak kontrol grubu ile eksiklik ve borderline grubu arasında anlamlı fark saptanmamıřtır. Bu durum, literatűrde MMA seviyelerinin B12 eksikliđi ile dođrudan iliřkilendirildiđi çalıřmalardan farklılık gstermektedir. Örneđin, Guatemala'da 8-12 yařları arasında 512 B12 eksikliđi hastası ile yapılan çalıřmada; dűřűk vitamin B12 dűzeylerine sahip hastalarda homosistein ve MMA dűzeylerinde artıř olduđu saptanmıř (147). Borderline grubundaki daha yűksek MMA seviyeleri, bu grupta B12 eksikliđinin henűz tam olarak geliřmemiř, ancak metabolik etkilerinin bařlamıř olabileceđini dűřündürmektedir. Eksiklik grubunda MMA seviyelerinin beklenenden dűřűk olması, bu hastalarda metabolik yıkım sűrelerinin veya diđer biyokimyasal yolların farklı çalıřabileceđini gstermektedir. Bu durum, B12 eksikliđinin klinik ve biyokimyasal belirtilerinin bireyler arasında diyet ve genetik faktörler gibi çeřitli nedenlerden dolayı farklılık gsterebileceđini ve her zaman tek bir biyobelirteç ile aıklanamayabileceđini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda, holotranskobalamin (HoloTC) seviyeleri kontrol grubunda borderline ve eksiklik grubuna göre, ayrıca borderline grubunda eksiklik grubuna göre

anlamli olarak yu'ksek saptanmiştır. Herrmann ve arkadaşlarının (2003) alışmasında, Holo-TC'nin B12'ye kıyasla daha duyarlı ve spesifik bir belirteç olduğu ve B12 eksikliğinin erken tanısında kullanılabileceği belirtilmiştir (148). Ayrıca, Holo-TC d'zeylerinin renal hastalıklarda arttığı ve bu nedenle renal hastalığı olan bireylerde dikkatle yorumlanması gerektiği vurgulanmıştır. Herrmann ve Obeid'in (2013) 150 hasta üzerinde yaptığı başka bir çalışmada da Holo-TC'nin B12 eksikliğinin erken tespitinde g'venilir bir biyobelirteç olduğu g'sterilmiştir (149). Bu literat'ur bulguları, çalışmamızda elde edilen Holo-TC seviyelerinin B12 eksikliğini tespit etmedeki önemini desteklemekte ve bulgularımızın literat'urde belirtilen bilgilerle uyumlu olduğunu g'stermektedir.

Vitamin B12 eksikliğinin tedavisi genellikle oral veya parenteral yolla yapılmaktadır. Tandon ve arkadaşlarının (2022) alışmasında, beslenme kaynaklı makrositik (megaloblastik) anemisi olan çocuklar oral ve intram'usk'uler (IM) tedavi gruplarına ayrılmış ve her iki tedavi y'nteminin de serum B12 ve hemogloblin d'zeylerinde anlamlı artış sağladığı g'zlemlenmiştir. Ancak, IM tedavi grubunda bu artış daha belirgin olmuş (150). Çalışmamızda da benzer şekilde, oral metilkobalamin tedavisi sonrası birinci ve 'u'nc'u aylarda Holo-TC d'zeylerinde anlamlı artış, HCY seviyelerinde ise anlamlı d'uşuş saptanmıştır. Metaxas ve arkadaşlarının (2017) alışması da oral ve IM tedavi y'ntemlerinin etkinliğini desteklemekte ve her iki y'ntemin de serum B12 ve Holo-TC seviyelerini artırırken, HCY ve MMA seviyelerini d'uř'rd'ė'yun'u g'stermektedir (151). Murphy ve arkadaşlarının (2021) alışmasında, İskoçya'da birinci basamak sağlık hizmetlerinde değerlendirilen hastalarda tedavi sonrası HCY ve MMA seviyelerinde d'uşuş, Holo-TC seviyelerinde ise artış g'zlenmiştir (152). Verma ve arkadaşlarının (2017) Hindistan'da yaptığı çalışmada da benzer bulgular elde edilerek, oral metilkobalamin tedavisinin etkinliği vurgulanmıştır (153). Bu bulgular, çalışmamızın literat'urle uyumlu olduğunu ve oral B12 tedavisinin ocuklarda B12 eksikliği anemisinin tedavisinde etkili bir alternatif olabileceğini g'stermektedir.

Çalışmamızda Holo-TC düzeyleri ile B12 vitamini seviyeleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu, literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur. Herrmann ve Obeid'in 2013 yılında 150 hasta üzerinde yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş ve Holo-TC'nin B12 eksikliğinin erken tespitinde güvenilir bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir (149). Benzer şekilde, Bozkaya ve arkadaşlarının 2017 yılında Ankara'da yaptığı çalışmada, düşük vitamin B12 seviyelerine sahip 101 çocuk ve normal vitamin B12 seviyelerine sahip 54 çocuk değerlendirilmiş ve vitamin B12 ile Holo-TC seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır (154). Bu bulgular, Holo-TC'nin B12 eksikliğinin erken tespitinde kullanılabilir güvenilir bir biyobelirteç olduğunu ve serum B12 seviyeleri ile Holo-TC arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular da bu literatürle tutarlı olup, Holo-TC'nin B12 eksikliğinin değerlendirilmesindeki önemini vurgulamaktadır

2021 yılında yapılan bir çalışmada, hamilelik süresince Holo-TC, HCY ve MMA düzeyleri arasındaki korelasyonlar incelenmiş ve özellikle, Holo-TC seviyelerinin MMA ve HCY ile negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (155). Refsum ve arkadaşlarının 204 hasta ile Hindistan'da yaptığı çalışmada benzer şekilde; vitamin B12 ile HCY ve MMA arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış (156). Çalışmamızda ise literatürle benzer şekilde Holo-TC ve B12 düzeyleri ile HCY arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Ancak B12 düzeyi veya Holo-TC ile MMA düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon görülmemekle birlikte HCY ile MMA arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular, HCY ve MMA'nın fonksiyonel B12 durumunu yansıttığını desteklemektedir.

Çalışmamızda B12 düzeyleri ile MCV arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Yadav ve arkadaşlarının Hindistan'da 2016 yılında yaptığı çalışmada, 50 megaloblastik anemili ve 50 diğer anemi gruplarından erişkin hasta ile çalışılmış, MCV ile B12 arasında negatif korelasyon saptanmış (157). Bu bulgu, B12 eksikliğinin hücresel düzeyde megaloblastik değişikliklere neden olduğunu ve MCV değerlerinin bu eksikliğin bir göstergesi olarak kullanılabileceğini desteklemektedir. Aynı zamanda

tedavi sonrası bu parametrenin izlenmesinin önemi de literatürde vurgulanmaktadır. Bu nedenle, B12 eksikliği tedavisinin etkinliğini değerlendirmek için MCV değerlerinin kullanılması önerilmektedir.

Çalışmamızda, MMA düzeyleri ile HCY arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Ancak çalışmamızın aksine Guatemala'da 8-12 yaşları arasında B12 eksikliği saptanan hastalarla yapılan bir çalışmada, plazma homosistein ve serum metilmalonik asit (MMA) arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamış olmasına rağmen her iki parametrenin de vitamin B12 eksikliğinde arttığı görülmüştür (147). Clarke ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise yaş ortalamasının 79,2 olduğu 2403 hasta incelenmiş ve MMA ile HCY arasında anlamlı korelasyon bulunmuş (158). Bu durumun, çalışmalardaki farklı yaş grupları, popülasyonlar ve ölçüm tekniklerinin sonuçlar üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı yönünde düşünmekteyiz.

Jimenez ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, kısa bağırsak sendromu (SBS) olan çocuklarda serum MMA düzeylerinin güvenilir bir biyobelirteç olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, B12 eksikliği tedavisi alan üç çocuk incelenmiş ve tedaviye rağmen MMA düzeylerinin yüksek kaldığı, ancak antibiyotik tedavisi sonrası normal seviyelere indiği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, MMA düzeylerinin sadece B12 eksikliğiyle değil, aynı zamanda bağırsak bakteriyel aşırı büyümesiyle de ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, SBS'li hastalarda MMA düzeylerinin dikkatle yorumlanması gerektiği vurgulanmaktadır (153).

Holo-TC kesme değerleri konusunda tek bir evrensel değer olmaması, vitamin B12 eksikliğini tanımlamada zorluklar yaratmaktadır. Morkbak ve arkadaşları (2005), Holo-TC için 11–41 pmol/L aralığında değerler belirtmişlerdir (159). Heil ve arkadaşları (2012), Holo-TC için 20–45 pmol/L aralığında büyük farklılıklar olduğunu ve bunun veri yorumlamayı zorlaştırdığını ifade etmişlerdir (160). Aparicio-Ugarriza ve arkadaşları (2014), 69 çalışmada Holo-TC kesme değerlerinin 20 ile 50 pmol/L arasında değiştiğini bulmuşlardır (161). Birçok araştırmacı, Holo-TC için gri bir bölge veya belirsiz kesme değerleri bildirmiştir. Örneğin, Herrmann ve Obeid (2007) (162),

Holo-TC için 40–70 pmol/L'lik bir gri bölge belirtmişlerdir; daha sonra 2013'de yaptıkları başka bir çalışmada bu aralığı 23–75 pmol/L olarak değiştirmişlerdir (149). Lloyd-Wright ve arkadaşları (2003), Holo-TC konsantrasyonu <25 pmol/L olan bireylerde eksikliğin olası olduğunu, >50 pmol/L olanlarda ise olası olmadığını belirtmişlerdir, bu da 25–50 pmol/L arasında belirsiz bir aralık bırakmaktadır (163). Holo-TC kesme değerleri konusunda genel bir konsensus bulunmamaktadır ve farklı çalışmalar farklı aralıklar ve gri bölgeler bildirmektedir. Bu durum, vitamin B12 eksikliği tanısının karmaşıklığını ve çok boyutlu değerlendirme gerektirdiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, Holo-TC için eksiklik sınırı olarak 20 pmol/L kabul edilmiştir ve bu değere göre yapılan ROC eğrisi analizinde vitamin B12 seviyesinin optimal kesme noktası 232 pg/mL olarak saptanmıştır (duyarlılık %66, özgüllük %67). Holo-TC eksiklik sınırını 35 pmol/L olarak düzenlediğimizde ve borderline grubunu da eksiklik grubuna dahil ettiğimizde, vitamin B12 seviyesinin optimal kesme noktası 276,5 pg/mL olarak bulunmuştur (duyarlılık %76, özgüllük %77). Bu sonuçlar, Holo-TC kesme noktasının belirlenmesinin vitamin B12 eksikliğinin tanısında önemli bir etken olduğunu göstermektedir. Bozkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, Holo-TC için eksiklik sınırı olarak 20 pmol/L kabul edilerek yapılan ROC eğrisi analizinde vitamin B12 seviyesinin optimal kesme noktası 165 pg/mL olarak belirlenmiş ve duyarlılık %70, özgüllük %74 olarak hesaplanmıştır (150). Çalışmamızdaki vitamin B12 optimal kesme noktalarının Bozkaya ve arkadaşlarının çalışmasından daha yüksek olduğu görülmektedir. Holo-TC eksiklik sınırlarının vitamin B12 optimal kesme noktalarını etkilediğini ve tanısal duyarlılık ile özgüllüğü değiştirdiğini göstermektedir. Yüksek duyarlılık ve özgüllük değerleri, daha yüksek Holo-TC kesme sınırlarının daha etkili olabileceğini işaret etmektedir.

Murphy ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında HCY seviyeleri için 13.6-19.6 μ mol/L aralığı belirlenmiştir. Çalışmamızda ise HCY seviyeleri için optimal kesme noktası 8.79 μ mol/L olarak tespit edilmiştir. Duyarlılık ve özgüllük oranları her ikisi de %64 olarak hesaplanmıştır. Bu farklılığın, literatürde de belirtildiği gibi

çalışmamızdaki hastaların ırksal ve genetik özellikler gibi homosistein metabolizmasını etkileyen faktörlerden kaynaklanabileceği düşünmekteyiz.

Çalışmamızda; B12 vitamini eksikliği tanısında Holo-TC ve toplam B12 ölçümlerinin karşılaştırılması yapıldığında; eksiklik ve borderline grubunda yer alan bazı hastaların (çalışma grubunun %15'i) toplam B12 düzeylerinin normal olmasına rağmen, Holo-TC seviyelerinin düşük olduğunu gördük. Dastidar ve Sikder'in çalışmasında aynı şekilde bazı hastaların normal toplam B12 seviyelerine rağmen düşük Holo-TC seviyeleri ile semptomatik olabileceği veya asemptomatik kalabileceği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, Holo-TC'nin hücrelerde hızla kullanıldığı ve kısa yarı ömrü nedeniyle biyokimyasal değişiklikleri daha hızlı yansıttığı için erken teşhiste daha güvenilir olduğu yönünde görüşler mevcuttur (164).

Çalışmamızda ayrıca, toplam B12'nin düşük olduğu birçok hastada Holo-TC seviyelerinin yeterli olduğunu ve bu hastaların bir kısmında B12 eksikliği semptomlarının bulunduğunu gözlemledik. Literatürde, Holo-TC düzeyi normal olmasına rağmen toplam B12 düzeyi düşük olan hastaların subklinik B12 eksikliği riski taşıdığı düşünülmektedir (164). Bu hastaların semptomatik olup olmadığının değerlendirilmesinin, B12 eksikliğin klinik yansımalarını tam olarak anlamak için kritik olduğunu düşünmekteyiz. Dastidar ve Sikder'in çalışmasında da benzer şekilde, bazı hastalarda Holo-TC seviyelerinin yeterli olmasına rağmen toplam B12 seviyelerinin düşük olduğu ve bu durumun tanı koymada zorluklara yol açabileceği belirtilmiştir. Çalışma, Holo-TC'nin toplam B12'ye kıyasla daha yüksek hassasiyet (%82.35 vs %65) ve özgüllük (%46.6 vs %43.8) gösterdiğini ortaya koymuştur (164). Bu bulgular, Holo-TC'nin B12 vitamini eksikliğinin erken evrelerini ve subklinik formlarını tespit etmede daha güvenilir bir belirteç olduğunu desteklemektedir. Klinikte, Holo-TC'nin kullanımı ile subklinik B12 eksikliği vakaları daha erken tespit edilerek, semptomatik ve asemptomatik hastalar için uygun tedavi planları daha etkili bir şekilde oluşturulabilir. Yalnızca toplam B12 düzeyine dayanarak eksiklik tanısı koymanın yetersiz kalabileceği ve Holo-TC ölçümünün tanısal doğruluğu artırabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, vitamin B12 eksikliğinin tanısında HoloTC'nin önemli bir biyobelirteç olduğunu ve kesme noktalarının doğru bir şekilde belirlenmesinin tanısal doğruluğu artırabileceğini göstermektedir. Holo-TC'nin farklı kesme noktaları ile değerlendirilmesi, vitamin B12 eksikliğinin tanısında farklı duyarlılık ve özgüllük değerlerine ulaşmamızı sağlamıştır. Bu nedenle, klinik uygulamalarda Holo-TC ve vitamin B12 kesme noktalarının dikkatlice değerlendirilmesi ve popülasyonun özelliklerine göre ayarlanması önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, B12 vitamini eksikliği olan çocuklarda klinik ve laboratuvar parametrelerinin değerlendirildiği bu çalışmada, B12 eksikliğinin çocuklarda büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır. Çalışma grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek HCY ve MMA seviyeleri tespit edilmiştir. Holo-TC seviyelerinin B12 eksikliğinin erken tanısında önemli bir biyobelirteç olduğu ve B12 vitamini seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, tedavi sonrası homosistein seviyelerinde anlamlı düşüş, Holo-TC seviyelerinde ise anlamlı artış gözlenmiştir. Holo-TC ve serum B12 kesme noktalarını belirlenmesinin ve birlikte kullanılmasının fonksiyonel B12 eksikliği ve gri zondaki hastaların tanısını koymada yararlı olacağını düşünmekteyiz. Bu nedenle, B12 eksikliğinin tanı ve tedavisinde Holo-TC, HCY ve MMA gibi biyobelirteçlerin birlikte kullanımı önemlidir.

5.1. Çalışmanın Kısıtlamaları

Bu çalışmanın bazı kısıtlamaları bulunmaktadır. İlk olarak, çalışmanın tek bir merkeze dayanması ve örneklem grubunun sınırlı olması, sonuçların genellenebilirliğini kısıtlayabilir. İkinci olarak, çalışma grubundaki çocukların yaş ortalamasının kontrol grubuna göre daha yüksek olması, bazı bulguların yaş faktöründen etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, kısa süreli izlem sonuçları, B12 eksikliğinin uzun vadeli etkilerini tam olarak yansıtamamış olabilir. Beslenme alışkanlıklarının değerlendirilmesi için kullanılan anketler öz bildirim dayandığı için, yanlılık ve yanlış bildirim riski bulunmaktadır. Son olarak, Holo-TC,

HCY ve MMA gibi biyobelirteçlerin belirli kesme noktaları için standart bir referans bulunmaması, sonuçların farklı çalışmalarda değişiklik göstermesine neden olabilmektedir. Bu kısıtlamalar göz önünde bulundurularak, gelecekte daha geniş ve uzun süreli çalışmaların yapılması önerilmektedir.

5.2. Öneriler

Bu çalışmanın bulgularına dayanarak, vitamin B12 eksikliğinin tanı ve tedavisinde serum B12'nin yanı sıra Holo-TC, HCY ve MMA gibi biyobelirteçlerin birlikte kullanımı önerilmektedir. Türkiye’de klinik pratikte Holo-TC düzeyi, HCY ve MMA düzeyleri çalışılmamaktadır. Bu nedenle B12 vitamini eksiklik sınırının sensitivite ve spesifite açısından 276 pg/ml kabul edilmesi uygun olacağı kanaatindeyiz. Okul çağındaki çocuklar ve risk grupları için düzenli tarama programları oluşturulmalı, uzun süreli izlem yapılmalıdır. Ailelere B12 vitamininden zengin diyet hakkında eğitim verilerek, vejetaryen veya vegan beslenen bireylerin düzenli B12 takviyesi alması sağlanmalıdır. Halk sağlığı kampanyaları ve sağlık profesyonellerine yönelik eğitimler düzenlenerek toplumda farkındalık artırılmalıdır.

6.SONUÇLAR

B12 vitamini eksikliği olan çocukların klinik ve laboratuvar parametrelerinin değerlendirildiği çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- 1) Çalışmaya B12 vitamini eksikliği tanısı konmuş 72 çocuk ile 72 sağlıklı kontrol grubu alındı.
- 2) Çalışmamızda kız ve erkek çocuklar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Çalışma grubunun yaş ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
- 3) Eksiklik grubundaki çocukların %6.7'sinde büyüme ve gelişme geriliği saptanırken, borderline grubunda bu oran %19 olarak tespit edilmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Bu bulgular, B12 eksikliğinin çocuklarda büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermektedir.
- 4) Çalışma grubunda kontrol grubuna göre unutkanlık ($p<0.05$) ve konvülsiyon ($p<0.05$) yakınmalarında anlamlı yükseklik saptanmıştır. Hastaların en sık başvuru şikayetleri iştahsızlık, halsizlik ve karın ağrısı olarak belirlenmiştir.
- 5) Laboratuvar bulguları değerlendirildiğinde;
 - a) Eksiklik, borderline ve kontrol grubu arasında beyaz küre sayısı, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV, RDW, trombosit sayısı, NLR, LDH, AST, indirekt bilirubin, ferritin ve folik asit değerleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

- b) Homosistein değeri, borderline grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Eksiklik grubu ile borderline ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).
- c) Metilmalonik asit değeri, borderline grubunda eksiklik grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Ancak kontrol grubu ile eksiklik ve borderline grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).
- d) Holotranskobalamin değeri, kontrol grubunda borderline ve eksiklik grubuna göre, ayrıca borderline grubunda eksiklik grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.05$).
- 6) Korelasyonlar değerlendirildiğinde;
- a) Holo-TC düzeyleri ile B12 vitamini seviyeleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p=0.00001$, $r=0.516$). Holo-TC ile homosistein arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır ($p=0.0002$, $r=-0.260$).
- b) B12 düzeyleri ile MCV ($p=0.0001$, $r=-0.274$) ve HCY ($p=0.00001$, $r=-0.405$) arasında negatif korelasyon, RDW ($p=0.013$, $r=0.206$) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.
- c) MMA düzeyleri ile HCY arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($p=0.014$, $r=0.204$).
- 7) Holo-TC için optimal kesme noktası 35 pmol/L olarak belirlenmiş ve bu değere göre yapılan ROC eğrisi analizinde vitamin B12 seviyesinin optimal kesme noktası 276.5 pg/mL olarak bulunmuştur (duyarlılık %76, özgüllük %77).
- 8) Tedavi etkinliği açısından değerlendirildiğinde;

- a) Tedavi sonrası HCY seviyelerinde anlamlı düşüş ($p < 0.05$), Holo-TC seviyelerinde ise anlamlı artış gözlenmiştir ($p < 0.05$).
- b) Metilmalonik asit seviyelerinde ise tedavi öncesi ve sonrası arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).
- c) Kısa süreli tedavi sürecinin vücut ağırlığı ve boy üzerindeki etkileri gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

7.REFEREANSLAR

1. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, et al. Correction: Vitamin B(12) deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17054.
2. Hall CA. Function of vitamin B12 in the central nervous system as revealed by congenital defects. *Am J Hematol*. 1990;34(2):121-7.
3. Smith AD, Warren MJ, Refsum H. Vitamin B(12). *Adv Food Nutr Res*. 2018;83:215-79.
4. Türk Hematoloji Derneği Ulusal B12 vitamin eksikliği tanı ve tedavi kılavuzu. 2011.
5. Robert T Means J, MD, MACPKathleen M Fairfield, MD, DrPH. Clinical manifestations and diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency 2024 [Available from: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-vitamin-b12-and-folate-deficiency>].
6. Demir N, Koc A, Ustyoğulları L, Peker E, Abuhandan M. Clinical and neurological findings of severe vitamin B12 deficiency in infancy and importance of early diagnosis and treatment. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(10):820-4.
7. Fedosov SN, Brito A, Miller JW, Green R, Allen LH. Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(8):1215-25.
8. Nexø E. Variation with age of reference values for P-cobalamins. *Scand J Haematol*. 1983;30(5):430-2.
9. Herzlich B, Herbert V. Depletion of serum holotranscobalamin II. An early sign of negative vitamin B12 balance. *Lab Invest*. 1988;58(3):332-7.
10. Risch M, Meier DW, Sakem B, Medina Escobar P, Risch C, Nydegger U, Risch L. Vitamin B12 and folate levels in healthy Swiss senior citizens: a prospective study evaluating reference intervals and decision limits. *BMC Geriatr*. 2015;15:82.
11. Nexø E, Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):359S-65S.
12. Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Vitamin B12 treatment normalizes metabolic markers but has limited clinical effect: a randomized placebo-controlled study. *Clin Chem*. 2001;47(8):1396-404.
13. Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The natural history of the inherited methylmalonic acidemias. *N Engl J Med*. 1983;308(15):857-61.
14. Molloy AM, Pangilinan F, Mills JL, Shane B, O'Neill MB, McGaughey DM, et al. A Common Polymorphism in HIBCH Influences Methylmalonic Acid

- Concentrations in Blood Independently of Cobalamin. *Am J Hum Genet.* 2016;98(5):869-82.
15. Birol BAYTAN ÖÖ, Gülin ERDEMİR, Adalet Meral GÜNEŞ. Çocukluk Çağında Vitamin B12 Eksikliği Klinik Bulgular ve Tedavi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2007;33:61-4.
 16. Watkins D WV, Rosenblatt DS, Orkin S, Nathan David G, Gingsburg D, Look T, eds. *Megaloblastic Anemia. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood.* 7 ed 2009. p. 308-43.
 17. T. C. B12 Vitamini. *Katkı Pediatri Dergisi.* 2003;25:419-33.
 18. T. S. Megaloblastik Anemiler. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Anemiler Sempozyumu; İstanbul 2001.* p. 33-47.
 19. Combe JS. History of a Case of Anaemia. *Trans Med Chir Soc Edinb.* 1824;1:194-204.
 20. T. A. Anaemia-Disease of the suprarenal capsules. *London Hospital Gazette.* 1849;43:517-8.
 21. MA. B. Eine eigenthümliche Form von progressiver pernicioser Anämie. *Correspondenz-Blatt Für Schweizer Aerzte.* 1872;2:15-8.
 22. L. L. Zur Kenntniss der perniciosen Anämie. *Munchener Medizinische Wochenschrift.* 1887;34:300-6.
 23. Minot GR, Murphy WP. Treatment of pernicious anemia by a special diet. 1926. *Yale J Biol Med.* 2001;74(5):341-53.
 24. Robscheit-Robbins FS, Whipple GH. Blood Regeneration in Severe Anemia : Xiv. A Liver Fraction Potent in Pernicious Anemia Fed Alone and Combined with Whole Liver, Liver Ash and Fresh Bile. *J Exp Med.* 1929;49(2):215-27.
 25. Hodgkin DC, Kamper J, Mackay M, Pickworth J, Trueblood KN, White JG. Structure of vitamin B12. *Nature.* 1956;178(4524):64-6.
 26. Kayaalp O. B12 Vitamini. *Tıbbi Farmakoloji.* 7 ed: Ankara Yayınevi; 1996.
 27. McCormick DB GH. Vitamins. In: Burtis CA AE, eds., editor. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry.* 3 ed. Philadelphia 1999. p. 999-1028.
 28. Gherasim C, Lofgren M, Banerjee R. Navigating the B(12) road: assimilation, delivery, and disorders of cobalamin. *J Biol Chem.* 2013;288(19):13186-93.
 29. Engelking LR. *Textbook of Veterinary Physiological Chemistry Academic Press.* 2014.
 30. Girard CL, Santschi DE, Stabler SP, Allen RH. Apparent ruminal synthesis and intestinal disappearance of vitamin B12 and its analogs in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2009;92(9):4524-9.
 31. Watanabe F, Yabuta Y, Bito T, Teng F. Vitamin B(1)(2)-containing plant food sources for vegetarians. *Nutrients.* 2014;6(5):1861-73.

32. Damayanti D, Jaceldo-Siegl K, Beeson WL, Fraser G, Oda K, Haddad EH. Foods and Supplements Associated with Vitamin B(12) Biomarkers among Vegetarian and Non-Vegetarian Participants of the Adventist Health Study-2 (AHS-2) Calibration Study. *Nutrients*. 2018;10(6).
33. Vogiatzoglou A, Smith AD, Nurk E, Berstad P, Drevon CA, Ueland PM, et al. Dietary sources of vitamin B-12 and their association with plasma vitamin B-12 concentrations in the general population: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(4):1078-87.
34. Nishioka M, Kanosue F, Yabuta Y, Watanabe F. Loss of vitamin B(12) in fish (round herring) meats during various cooking treatments. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2011;57(6):432-6.
35. Brouwer-Brolsma EM, Dhonukshe-Rutten RA, van Wijngaarden JP, Zwaluw NL, Velde N, de Groot LC. Dietary Sources of Vitamin B-12 and Their Association with Vitamin B-12 Status Markers in Healthy Older Adults in the B-PROOF Study. *Nutrients*. 2015;7(9):7781-97.
36. Farquharson J, Adams JF. The forms of vitamin B12 in foods. *Br J Nutr*. 1976;36(1):127-36.
37. Dror DK, Allen LH. Vitamin B-12 in Human Milk: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2018;9(suppl_1):358S-66S.
38. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr*. 2004;24:299-326.
39. Adkins Y, Lonnerdal 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(5):1234-40.
40. Carmel R WD, Rosenblatt DS. Megaloblastic Anemia. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. 8 ed: Elsevier Inc.; 2015. p. 308-43.
41. (ODS) NIOHNOoDS. Vitamin B12 U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Food Data Central. [Available from: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminB12-HealthProfessional/>].
42. De Angelis M, Bottacini F, Fosso B, Kelleher P, Calasso M, Di Cagno R, et al. *Lactobacillus rossiae*, a vitamin B12 producer, represents a metabolically versatile species within the Genus *Lactobacillus*. *PLoS One*. 2014;9(9):e107232.
43. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*. 2013;24(2):160-8.
44. Warren MJ, Raux E, Schubert HL, Escalante-Semerena JC. The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B12). *Nat Prod Rep*. 2002;19(4):390-412.

45. O'Leary F, Samman S. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients*. 2010;2(3):299-316.
46. Sobczynska-Malefora A, Delvin E, McCaddon A, Ahmadi KR, Harrington DJ. Vitamin B(12) status in health and disease: a critical review. Diagnosis of deficiency and insufficiency - clinical and laboratory pitfalls. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2021;58(6):399-429.
47. Kapadia CR. Vitamin B12 in health and disease: part I--inherited disorders of function, absorption, and transport. *Gastroenterologist*. 1995;3(4):329-44.
48. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. World Health Organisation, Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Geneva: Switzerland 2004.
49. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B(6), Folate, Vitamin B(12), Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Washington (DC) 1998.
50. Collins RA, Harper AE, Schreiber M, Elvehjem CA. The folic acid and vitamin B12 content of the milk of various species. *J Nutr*. 1951;43(2):313-21.
51. Specker BL, Black A, Allen L, Morrow F. Vitamin B-12: low milk concentrations are related to low serum concentrations in vegetarian women and to methylmalonic aciduria in their infants. *Am J Clin Nutr*. 1990;52(6):1073-6.
52. Ford C, Rendle M, Tracy M, Richardson V, Ford H. Vitamin B12 levels in human milk during the first nine months of lactation. *Int J Vitam Nutr Res*. 1996;66(4):329-31.
53. Sennett C, Rosenberg LE, Mellman IS. Transmembrane transport of cobalamin in prokaryotic and eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem*. 1981;50:1053-86.
54. Li N, Seetharam S, Seetharam B. Genomic structure of human transcobalamin II: comparison to human intrinsic factor and transcobalamin I. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;208(2):756-64.
55. Hewitt JE, Gordon MM, Taggart RT, Mohandas TK, Alpers DH. Human gastric intrinsic factor: characterization of cDNA and genomic clones and localization to human chromosome 11. *Genomics*. 1991;10(2):432-40.
56. Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and folate deficiency: acquired and hereditary disorders in children. *Semin Hematol*. 1999;36(1):19-34.
57. Hom BL, Olesen HA. Plasma clearance of ⁵⁷cobalt-labelled vitamin B12 bound in vitro and in vivo to transcobalamin I and II. *Scand J Clin Lab Invest*. 1969;23(3):201-11.
58. Nexø E OH. Intrinsic factor, transcobalamin, and haptocorrin. In: D. D, editor. *B12 Biochemistry and medicine*. 2. New York: Wiley-Interscience publication; 1982. p. 57-85.

59. Chanarin I. Megaloblastic anaemia, cobalamin, and folate. *J Clin Pathol.* 1987;40(9):978-84.
60. Adams JF, Ross SK, Mervyn L, Boddy K, King P. Absorption of cyanocobalamin, coenzyme B₁₂, methylcobalamin, and hydroxocobalamin at different dose levels. *Scand J Gastroenterol.* 1971;6(3):249-52.
61. Rutsch F, Gailus S, Miousse IR, Suormala T, Sagne C, Toliat MR, et al. Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the cblF defect of vitamin B₁₂ metabolism. *Nat Genet.* 2009;41(2):234-9.
62. Beedholm-Ebsen R, van de Wetering K, Hardlei T, Nexo E, Borst P, Moestrup SK. Identification of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) as a molecular gate for cellular export of cobalamin. *Blood.* 2010;115(8):1632-9.
63. Quadros EV, Rothenberg SP, Jaffe EA. Endothelial cells from human umbilical vein secrete functional transcobalamin II. *Am J Physiol.* 1989;256(2 Pt 1):C296-303.
64. Shao JS, Carmel R, Alpers DH. Production of ectopic gastric intrinsic factor in gastric mucosa of humans with chronic gastritis. *Dig Dis Sci.* 2011;56(11):3209-19.
65. Morkbak AL, Poulsen SS, Nexo E. Haptocorrin in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(12):1751-9.
66. Golding PH. Experimental vitamin B₁₂ deficiency in a human subject: a longitudinal investigation of the performance of the holotranscobalamin (HoloTC, Active-B₁₂) immunoassay. *Springerplus.* 2016;5:184.
67. el Kholty S, Gueant JL, Bressler L, Djalali M, Boissel P, Gerard P, Nicolas JP. Portal and biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans. *Gastroenterology.* 1991;101(5):1399-408.
68. Allen RH, Stabler SP. Identification and quantitation of cobalamin and cobalamin analogues in human feces. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(5):1324-35.
69. Lindemans J, van Kapel J, Abels J. Uptake of transcobalamin II-bound cobalamin by isolated rat kidney tubule cells. *Scand J Clin Lab Invest.* 1986;46(3):223-32.
70. Birn H. The kidney in vitamin B₁₂ and folate homeostasis: characterization of receptors for tubular uptake of vitamins and carrier proteins. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;291(1):F22-36.
71. Doets EL, In 't Veld PH, Szczecinska A, Dhonukshe-Rutten RA, Cavelaars AE, van 't Veer P, et al. Systematic review on daily vitamin B₁₂ losses and bioavailability for deriving recommendations on vitamin B₁₂ intake with the factorial approach. *Ann Nutr Metab.* 2013;62(4):311-22.
72. P. L. Megaloblastic Anemia. *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology Elsevier Inc* 2016. p. 84–101

73. Andres E, Serraj K, Zhu J, Vermorken AJ. The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. *QJM*. 2013;106(6):505-15.
74. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med*. 2013;368(21):2041-2.
75. Carmel R. Subtle and atypical cobalamin deficiency states. *Am J Hematol*. 1990;34(2):108-14.
76. Erduran E ÖN. Megaloblastik anemi *Pediatric Hematoloji*2011. p. 185-209.
77. Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med*. 1997;337(20):1441-8.
78. Nielsen MJ, Rasmussen MR, Andersen CB, Nexø E, Moestrup SK. Vitamin B12 transport from food to the body's cells--a sophisticated, multistep pathway. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(6):345-54.
79. Grasbeck R. Imerslund-Grasbeck syndrome (selective vitamin B(12) malabsorption with proteinuria). *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:17.
80. Carmel R. Gastric juice in congenital pernicious anemia contains no immunoreactive intrinsic factor molecule: study of three kindreds with variable ages at presentation, including a patient first diagnosed in adulthood. *Am J Hum Genet*. 1983;35(1):67-77.
81. Andres E, Serraj K. Optimal management of pernicious anemia. *J Blood Med*. 2012;3:97-103.
82. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood*. 2007;109(2):412-21.
83. Nath SK. Tropical sprue. *Curr Gastroenterol Rep*. 2005;7(5):343-9.
84. Shimoda SS, Saunders DR, Rubin CE. The Zollinger-Ellison syndrome with steatorrhea. II. The mechanism of fat and vitamin B 12 malabsorption. *Gastroenterology*. 1968;55(6):705-23.
85. Degnan PH, Taga ME, Goodman AL. Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology. *Cell Metab*. 2014;20(5):769-78.
86. Rana SV, Bhardwaj SB. Small intestinal bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(9):1030-7.
87. Green RM, J. W. . A comprehensive review of B12 biochemistry, nutrition and metabolism. In: Zempleni Jea, editor. *Handbook of Vitamins 5ed*: Taylor & Francis; 2014. p. 447–89
88. Green R. Vitamin B(12) deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood*. 2017;129(19):2603-11.
89. Prasad C, Rosenblatt DS, Corley K, Cairney AE, Rupa CA. Transcobalamin (TC) deficiency--potential cause of bone marrow failure in childhood. *J Inher Metab Dis*. 2008;31 Suppl 2:S287-92.

90. Trakadis YJ, Alfares A, Bodamer OA, Buyukavci M, Christodoulou J, Connor P, et al. Update on transcobalamin deficiency: clinical presentation, treatment and outcome. *J Inherit Metab Dis.* 2014;37(3):461-73.
91. Wesol-Kucharska D, Kaczor M, Pajdowska M, Ehmke Vel Emczynska-Seliga E, Bogdanska A, Kozlowski D, et al. Clinical picture and treatment effects in 5 patients with Methylmalonic aciduria related to MMAA mutations. *Mol Genet Metab Rep.* 2020;22:100559.
92. Schiff M, Benoist JF, Tilea B, Royer N, Giraudier S, Ogier de Baulny H. Isolated remethylation disorders: do our treatments benefit patients? *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(1):137-45.
93. Martinelli D, Deodato F, Dionisi-Vici C. Cobalamin C defect: natural history, pathophysiology, and treatment. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(1):127-35.
94. Bodamer OA, Rosenblatt DS, Appel SH, Beaudet AL. Adult-onset combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (cblC). *Neurology.* 2001;56(8):1113.
95. Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12, and iron. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:105-31.
96. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, et al. Vitamin B(12) deficiency. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17040.
97. Carmel R. Macrocytosis, mild anemia, and delay in the diagnosis of pernicious anemia. *Arch Intern Med.* 1979;139(1):47-50.
98. Socha DS, DeSouza SI, Flag A, Sekeres M, Rogers HJ. Severe megaloblastic anemia: Vitamin deficiency and other causes. *Cleve Clin J Med.* 2020;87(3):153-64.
99. Calderon-Ospina CA, Nava-Mesa MO. B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neurosci Ther.* 2020;26(1):5-13.
100. Dror DK, Allen LH. Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: current knowledge and possible mechanisms. *Nutr Rev.* 2008;66(5):250-5.
101. Torsvik I, Ueland PM, Markestad T, Bjorke-Monsen AL. Cobalamin supplementation improves motor development and regurgitations in infants: results from a randomized intervention study. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(5):1233-40.
102. Andres E, Affenberger S, Zimmer J, Vinzio S, Grosu D, Pistol G, et al. Current hematological findings in cobalamin deficiency. A study of 201 consecutive patients with documented cobalamin deficiency. *Clin Lab Haematol.* 2006;28(1):50-6.
103. Stollhoff K, Schulte FJ. Vitamin B12 and brain development. *Eur J Pediatr.* 1987;146(2):201-5.

104. Georgieff MK, Ramel SE, Cusick SE. Nutritional influences on brain development. *Acta Paediatr.* 2018;107(8):1310-21.
105. Oner T, Guven B, Tavli V, Mese T, Yilmazer MM, Demirpence S. Postural orthostatic tachycardia syndrome (POTS) and vitamin B12 deficiency in adolescents. *Pediatrics.* 2014;133(1):e138-42.
106. Ganjehei L, Massumi A, Razavi M, Wilson JM. Orthostatic hypotension as a manifestation of vitamin B12 deficiency. *Tex Heart Inst J.* 2012;39(5):722-3.
107. Black MM. Micronutrient deficiencies and cognitive functioning. *J Nutr.* 2003;133(11 Suppl 2):3927S-31S.
108. Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Lindenbaum J. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine (Baltimore).* 1991;70(4):229-45.
109. 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. *N Engl J Med.* 1988;318(26):1720-8.
110. Malbora B, Yuksel D, Aksoy A, Ozkan M. Two infants with infantile spasms associated with vitamin B12 deficiency. *Pediatr Neurol.* 2014;51(1):144-6.
111. GB. ÇÜ. Megaloblastik anemiler. *Harrison iç hastalıkları prensipleri İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri*2004. p. 674-80.
112. Kaur S, Goraya JS. Dermatologic findings of vitamin B(12) deficiency in infants. *Pediatr Dermatol.* 2018;35(6):796-9.
113. Rannelli L, Watterson R, Pandya R, Leung AA. Vitamin B12 deficiency with combined hematological and neuropsychiatric derangements: a case report. *J Med Case Rep.* 2014;8:277.
114. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency--an update. *Haematologica.* 2006;91(11):1506-12.
115. Stabler SP. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med.* 2013;368(2):149-60.
116. Green R. Screening for vitamin B12 deficiency: caveat emptor. *Ann Intern Med.* 1996;124(5):509-11.
117. Baker RD, Greer FR, Committee on Nutrition American Academy of P. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics.* 2010;126(5):1040-50.
118. Staffa SJ, Joerger JD, Henry E, Christensen RD, Brugnara C, Zurakowski D. Pediatric hematology normal ranges derived from pediatric primary care patients. *Am J Hematol.* 2020;95(10):E255-E7.
119. Higgins V, Tahmasebi H, Bohn MK, Hall A, Adeli K. CALIPER Hematology Reference Standards (II). *Am J Clin Pathol.* 2020;154(3):342-52.

120. Carmel R, Agrawal YP. Failures of cobalamin assays in pernicious anemia. *N Engl J Med.* 2012;367(4):385-6.
121. Arendt JF, Nexo E. Unexpected high plasma cobalamin : proposal for a diagnostic strategy. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(3):489-96.
122. Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN, Green R. Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency. *Clin Chem.* 2006;52(2):278-85.
123. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexo E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem.* 2004;50(1):3-32.
124. Altuntas N, Soylu K, Suskan E, Akar N. Homocysteine levels in Turkish children. *Turk J Haematol.* 2004;21(2):79-82.
125. Cattan D. Pernicious anemia: what are the actual diagnosis criteria? *World J Gastroenterol.* 2011;17(4):543-4.
126. Rasmussen K, Moller J, Lyngbak M, Pedersen AM, Dybkjaer L. Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem.* 1996;42(4):630-6.
127. Vogiatzoglou A, Oulhaj A, Smith AD, Nurk E, Drevon CA, Ueland PM, et al. Determinants of plasma methylmalonic acid in a large population: implications for assessment of vitamin B12 status. *Clin Chem.* 2009;55(12):2198-206.
128. Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol.* 1990;34(2):99-107.
129. Skouby AP, Hippe E, Olesen H. Antibody to transcobalamin II and B12 binding capacity in patients treated with hydroxocobalamin. *Blood.* 1971;38(6):769-74.
130. Butler CC, Vidal-Alaball J, Cannings-John R, McCaddon A, Hood K, Papaioannou A, et al. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency: a systematic review of randomized controlled trials. *Fam Pract.* 2006;23(3):279-85.
131. Glass GB, Skeggs HR, Lee DH. Hydroxocobalamin. V. Prolonged maintenance of high vitamin B12 blood levels following a short course of hydroxocobalamin injections. *Blood.* 1966;27(2):234-41.
132. Bolaman Z, Kadikoylu G, Yukselen V, Yavasoglu I, Barutca S, Senturk T. Oral versus intramuscular cobalamin treatment in megaloblastic anemia: a single-center, prospective, randomized, open-label study. *Clin Ther.* 2003;25(12):3124-34.

133. Sezer RG, Akoglu HA, Bozaykut A, Ozdemir GN. Comparison of the efficacy of parenteral and oral treatment for nutritional vitamin B12 deficiency in children. *Hematology*. 2018;23(9):653-7.
134. Slot WB, Merkus FW, Van Deventer SJ, Tytgat GN. Normalization of plasma vitamin B12 concentration by intranasal hydroxocobalamin in vitamin B12-deficient patients. *Gastroenterology*. 1997;113(2):430-3.
135. Tillemans MP, Donders EM, Verweij SL, Van der Hoeven RT, Kalisvaart KJ. Effect of administration route on the pharmacokinetics of cobalamin in elderly patients: a randomized controlled trial. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2014;76:21-5.
136. Sharabi A, Cohen E, Sulkes J, Garty M. Replacement therapy for vitamin B12 deficiency: comparison between the sublingual and oral route. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;56(6):635-8.
137. Carmel R. How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. *Blood*. 2008;112(6):2214-21.
138. Kumar N. Neurologic aspects of cobalamin (B12) deficiency. *Handb Clin Neurol*. 2014;120:915-26.
139. Pittock SJ, Payne TA, Harper CM. Reversible myelopathy in a 34-year-old man with vitamin B12 deficiency. *Mayo Clin Proc*. 2002;77(3):291-4.
140. Sachdev HPS SD. Vitamin B Complex Deficiency and Excess Nelson Textbook of Pediatrics: Elsevier Inc; 2011. p. 191-8.
141. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? *Am J Clin Nutr*. 2009;89(2):693S-6S.
142. Black MM. Effects of vitamin B12 and folate deficiency on brain development in children. *Food Nutr Bull*. 2008;29(2 Suppl):S126-31.
143. Brito A, Mujica-Coopman MF, Lopez de Romana D, Cori H, Allen LH. Folate and Vitamin B12 Status in Latin America and the Caribbean: An Update. *Food Nutr Bull*. 2015;36(2 Suppl):S109-18.
144. Linnell JC, Matthews DM. Cobalamin metabolism and its clinical aspects. *Clin Sci (Lond)*. 1984;66(2):113-21.
145. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol*. 2006;5(11):949-60.
146. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):348S-58S.
147. Rogers LM, Boy E, Miller JW, Green R, Sabel JC, Allen LH. High prevalence of cobalamin deficiency in Guatemalan schoolchildren: associations with low plasma holotranscobalamin II and elevated serum methylmalonic acid and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2003;77(2):433-40.

148. Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J. Functional vitamin B12 deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk. *Clin Chem Lab Med.* 2003;41(11):1478-88.
149. Herrmann W, Obeid R. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. *Eur J Clin Invest.* 2013;43(3):231-7.
150. Tandon R, Thacker J, Pandya U, Patel M, Tandon K. Parenteral vs Oral Vitamin B12 in Children With Nutritional Macrocytic Anemia: A Randomized Controlled Trial. *Indian Pediatr.* 2022;59(9):683-7.
151. Metaxas C, Mathis D, Jeger C, Hersberger KE, Arnet I, Walter P. Early biomarker response and patient preferences to oral and intramuscular vitamin B12 substitution in primary care: a randomised parallel-group trial. *Swiss Med Wkly.* 2017;147:w14421.
152. Murphy MJ, Brandie F, Ebare M, Harrison M, Dow E, Bartlett WA, Craig D. Personalising laboratory medicine in the 'real world': Assessing clinical utility, by clinical indication, of serum total B(12) and Active-B(12)(R) (holotranscobalamin) in the diagnosis of vitamin B(12) deficiency. *Ann Clin Biochem.* 2021;58(5):445-51.
153. Verma D, Chandra J, Kumar P, Shukla S, Sengupta S. Efficacy of oral methylcobalamin in treatment of vitamin B12 deficiency anemia in children. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(12).
154. Ok Bozkaya I, Yarali N, Kizilgun M, Ozkan S, Tunc B. Relationship Between the Levels of Holotranscobalamin and Vitamin B(12) in Children. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2017;33(4):537-40.
155. Dib MJ, Gumban-Marasigan M, Yoxall R, Andrew T, Harrington DJ, Sobczynska-Malefora A, Ahmadi KR. Evaluating the Diagnostic Value of a Combined Indicator of Vitamin B(12) Status (cB(12)) Throughout Pregnancy. *Front Nutr.* 2021;8:789357.
156. Refsum H, Yajnik CS, Gadkari M, Schneede J, Vollset SE, Orning L, et al. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(2):233-41.
157. Yadav MK, Manoli NM, Madhunapantula SV. Comparative Assessment of Vitamin-B12, Folic Acid and Homocysteine Levels in Relation to p53 Expression in Megaloblastic Anemia. *PLoS One.* 2016;11(10):e0164559.
158. Clarke R, Sherliker P, Hin H, Nexo E, Hvas AM, Schneede J, et al. Detection of vitamin B12 deficiency in older people by measuring vitamin B12 or the active fraction of vitamin B12, holotranscobalamin. *Clin Chem.* 2007;53(5):963-70.
159. Morkbak AL, Heimdal RM, Emmens K, Molloy A, Hvas AM, Schneede J, et al. Evaluation of the technical performance of novel holotranscobalamin (holoTC)

- assays in a multicenter European demonstration project. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(10):1058-64.
160. Heil SG, de Jonge R, de Rotte MC, van Wijnen M, Heiner-Fokkema RM, Kobold AC, et al. Screening for metabolic vitamin B12 deficiency by holotranscobalamin in patients suspected of vitamin B12 deficiency: a multicentre study. *Ann Clin Biochem.* 2012;49(Pt 2):184-9.
 161. Aparicio-Ugarriza R, Palacios G, Alder M, Gonzalez-Gross M. A review of the cut-off points for the diagnosis of vitamin B12 deficiency in the general population. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(8):1149-59.
 162. Herrmann W OR. Role of cobalamin in human metabolism and modern tools diagnosing its status. 6th Conference on Homocysteine Metabolism, World Congress on Hyperhomocysteinemia; Saarbruecken2007.
 163. Lloyd-Wright Z, Hvas AM, Moller J, Sanders TA, Nexø E. Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem.* 2003;49(12):2076-8.
 164. Dastidar R, Sikder K. Diagnostic reliability of serum active B12 (holotranscobalamin) in true evaluation of vitamin B12 deficiency: Relevance in current perspective. *BMC Res Notes.* 2022;15(1):329.