

**T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**B12 VİTAMİN EKSİKLİĞİNDE  
TRANSKOBALAMİN II  
GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Buket KÜÇÜK ATAMAN**

**Enstitü Anabilim Dalı: Biyofizik**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Birsen AYDEMİR**

**HAZİRAN -2019**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ




B12 VİTAMİN EKSİKLİĞİNDE  
TRANSKOBALAMİN GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Buket KÜÇÜK ATAMAN

Enstitü Anabilim Dalı: Biyofizik

“Bu tez 12/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oy birliği / Oy çokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof.Dr. Yunus KARADİĞİCİ	Başarılı	
Prof.Dr. Mehmet Aludoğan	Başarılı	
Prof.Dr. Firsey Aydemir	Başarılı	

## **BEYAN**

Bu alışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 71522473/050.01.04/51 sayılı ve 23/02/2018 tarihli onayına istinaden hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğu, planlamasından yazımına kadar olan süreçlerde etik dışı davranışım olmadığı, tezdeki tüm bilgileri akademik ve etik kurallar içinde temin ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynak listesinde belirttiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığını beyan ederim.

.../.../2019

Buket KÜÇÜK ATAMAN

## TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Biyofizik Enstitü Anabilim Dalı Yüksek Lisans eğitim öğretim süreçlerimde bilgi, fikir ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin planlanması, deneylerimin analizi ve yazılmasında her türlü desteğini veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Birsen AYDEMİR'e, tezimin her aşamasında katkı sağlayan hocalarım Sayın Doç. Dr. Fatma Behice CİNEMRE'ye ve Sayın Prof. Dr. Hakan CİNEMRE'ye, tezimin deneysel ve yazım aşamalarında emeği geçen Sayın Dr. Nurten BAHTİYAR'a ve Sayın M. Sc. Leyla SEVİNÇ'e, deneysel analizlerde emeği geçen Sayın M. Sc. Ayşegül ZİNCİRKİRAN'a, çalışma örneklerimin bir kısmının teminini sağlayan Sayın Uz. Dr. Cengiz KARACAER'e, yaşamımın her aşamasında her türlü desteklerini gördüğüm biricik ailemin tüm fertleri ile biricik, akıllı oğlum Ahmet Bartu ATAMAN'a, ayrıca tez projemin gerçekleşmesi sürecini destekleyen Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2018-40-01-001

Saygılarımla  
Buket KÜÇÜK ATAMAN

# İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
ŞEKİLLER.....	vii
TABLOLAR .....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY .....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. B12 VİTAMİNİNİN TANIMI VE YAPISI.....	2
2.2. B12 VİTAMİNİNİN MOLEKÜL YAPISI VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	2
2.3. B12 KAYNAKLARI.....	4
2.4. B12 VİTAMİNİ İHTİYACI.....	5
2.5. B12 VİTAMİNİNİN EMİLİMİ VE METABOLİZMASI .....	5
2.6. B12 VİTAMİNİNİN ÖNEMİ VE FONKSİYONU .....	9
2.7. B12 VİTAMİNİ İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR .....	10
2.8. İLAÇ-BESİN ETKİLEŞİMLERİ.....	10
2.9. B12 VİTAMİNİ VE NÖRAL TÜP DEFEKTLERİ (NTD).....	11
2.10. BİLİŞSEL GERİLEME.....	11
2.11. B12 VİTAMİNİ İLE İLGİLİ GEN POLİMORFİZMLERİ .....	11
2.12. B12 VİTAMİNİN DURUMUYLA İLGİLİ GENLER .....	12
2.13. B12 VİTAMİNİ TAŞIMASI İÇİN GEREKLİ YARDIMCI FAKTÖRLER VEYA YARDIMCI FAKTÖRLERİN DÜZENLEYİCİLERİ .....	14
2.14. MEMBRAN GEÇİŞİNİ AKTİF OLARAK KOLAYLAŞTIRAN MEMBRAN TAŞIYICILARI KODLAYAN GENLER .....	16
2.15. HÜCRE DÖNGÜSÜ DÜZENLEMESİNE İLİŞKİLİ GENLER .....	18
2.16. MİTOKONDRIYAL PROTEİN .....	18
2.17. DİĞER GENLER .....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	20
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	20

3.2. ÖRNEK TOPLAMA .....	21
3.3. KULLANILAN YÖNTEMLER .....	21
3.4. DNA İZOLASYONU.....	21
3.5. REAL-TİME PCR ANALİZLERİ .....	23
3.6. İSTATİKSEL ANALİZ.....	28
5. TARTIŞMA .....	33
6. SONUÇ .....	36
KAYNAKLAR .....	37
EKLER.....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	46

## KISALTMA VE SİMGELER

<b>AdoCbl (AdoB12)</b>	: Adenozilkobolomin
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>Cbl</b>	: Kobalamin
<b>CH<sub>3</sub></b>	: Metil
<b>CH<sub>3</sub>Cbl</b>	: Metilkobalamin
<b>CN</b>	: Siyanid
<b>CNCbl</b>	: Siyanokobalamin
<b>Co</b>	: Kobalt
<b>CUBN</b>	: Kubulin
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>Fl</b>	: Fentolitre
<b>FUT</b>	: Fukosil transferaz
<b>FUT2</b>	: Fukosil-transferaz2
<b>FUT6</b>	: Fukosil-transferaz 6
<b>GIF</b>	: İntrensek Faktör Gen
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>Gr</b>	: Gram
<b>GSCbl</b>	: Glutatyonilkobalamin
<b>Hb</b>	: Hemoglobin
<b>HC</b>	: Haptocorrin
<b>HP</b>	: Helikobakter Piloni
<b>Htc</b>	: Hematokrit
<b>IF</b>	: İntrensek Faktör
<b>I.U/L</b>	: International Unite/Litre
<b>KoA</b>	: Koenzim A
<b>MeCbl(M Cbl)</b>	: Metilkobalamin
<b>Metil – THF</b>	: Metiltetrahidrofolat
<b>Mg</b>	: Miligram
<b>MMA</b>	: Metilmalonik Asit
<b>MTHFR 5</b>	: Metil-Tetrahidrofolat Redüktaz

<b>MTRR</b>	: Metiyonin Esentil Redüktaz
<b>Ng/l</b>	: Nanogram/Litre
<b>NTD</b>	: Nöral Tüp Defektleri
<b>NO</b>	: Nitroz Oksit
<b>OH</b>	: Hidroksil
<b>OHcbI</b>	: Hidroksikobalamin
<b>Pg/ml</b>	: Pikogram/Mililitre
<b>PPI</b>	: Proton Pompa İnhibitörleri
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>SAM</b>	: S-Adenozilmetionin
<b>SNP</b>	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>SD</b>	: Standart Deviasyon
<b>SH</b>	: Sülfidril Grubu
<b>SO<sub>3</sub></b>	: Sülfid
<b>TC</b>	: Transkobalamin
<b>TC-I</b>	: Transkobalamin-I
<b>TC-II</b>	: Transkobalamin-II
<b>TC-III</b>	: Transkobalamin-III
<b>THcy</b>	: Homosistein
<b>THF</b>	: Tetrahidrofolat
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µg/gün</b>	: Mikrogram/gün
<b>µg/dl</b>	: Mikrogram/Desilitre
<b>µmol/L</b>	: Mikromol/Litre



## ŞEKİLLER

Şekil 1: B12 vitamini kimyasal yapısı (Chandrakant 2012). .....	3
Şekil 2: Vit B12 emilim mekanizması (Herrmann and Obeid 2008). .....	7
Şekil 3: Vit B12 emilim mekanizması (Kozyraki and Cases 2013). .....	8
Şekil 4: Vit B12 emilimi ve aktif metabolitlere dönüşümü (Green et al 2017). .....	8
Şekil 5: B12 vitamini durumuyla ilişkili genleri temsil eden diyagram ( Surendran et al 2018). .....	12
Şekil 6: B12 vitamini durumuyla ilişkili genleri temsil eden diyagram (Surendran et all 2018). .....	13
Şekil 7: <i>rs1801198</i> Sitogenetik yeri, 22q12.2, kromozom 22'nin pozisyonunda uzun ( <i>q</i> ) kolun 12.2 pozisyonundadır. ( <a href="https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TCN2#location">https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TCN2#location</a> Erişim Tarihi: 29.04.2019). .....	16
Şekil 8: <i>rs2336573</i> Sitogenik yeri, 19p13.2, kromozom 19'un kısa ( <i>p</i> ) kolunun, 13.2 pozisyonundadır ( <a href="https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CD320#location">https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CD320#location</a> Erişim Tarihi: 29.04.2019) .....	17
Şekil 9: <i>rs1801198</i> Homozigot CC genotipi değişimlerine ait amplifikasyon grafiği...24	
Şekil 10: <i>rs1801198</i> Homozigot GG değişimlerine ait amplifikasyon grafiği .....	25
Şekil 11: <i>rs1801198</i> Heterozigot C/ G değişimlerine ait amplifikasyon grafiği.....25	
Şekil 12: <i>rs2336573</i> Homozigot C/C değişimlerine ait amplifikasyon grafiği.....26	
Şekil 13: <i>rs2336573</i> Heterozigot C/T değişimlerine ait amplifikasyon grafiği .....	26
Şekil 14: Grafikte transcobalamin 2 ( <i>rs 1801198</i> ) genine ait polimorfizminin alelik ayrımı .....	27
Şekil 15: Grafikte transcobalamin 2 reseptör ( <i>rs 2336573</i> ) genine ait polimorfizminin alelik.....27	
Şekil 16: B12 vitamini düşük olan grup ile B12 vitamini normal olan grubun serum B12 vitamini değerleri (Ortalama $\pm$ standart sapma).....29	

## TABLULAR

Tablo 1: Real-time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği .....	23
Tablo 2: rs1801198 gen polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı .....	30
Tablo 3: rs2336573 gen polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı .....	31
Tablo 4: B12 vitamini normal olan grubun ve B12 vitamini düşük olan grubun rs1801198 ve rs2336573 gen polimorfizmlerinin genotiplerine göre B12 vitamini düzeyleri (Ortalama $\pm$ standart sapma) .....	32

## ÖZET

Son yıllarda yapılan çalışmalarda toplumda B12 vitamini eksikliği yaygın olarak görülmektedir. B12 vitamin eksikliğine yol açan genetik faktörlerinde yer aldığı birçok faktör rol oynar. B12 vitamin eksikliği birçok sağlık sorununa yol açmaktadır. Diyetle alınan B12 vitamini çeşitli proteinlerle bağlanarak vücut bölmelerine alınır. Çalışmamızda vücutta B12 vitamininin transportunda rol alan ve vitaminin aktif formunu yansıtan transkobalamin II gen (rs1801198) ile transkobalamin II reseptör gen (rs2336573) variantlarının bu vitamin eksikliğinde risk faktörü olarak etkisi araştırılacaktır. Çalışmamız, B12 vitamini eksikliği olan 94 birey ile B12 vitamini normal olan 119 birey dahil edildiği iki grupta yapıldı. rs1801198 ve rs 2336573 variant analizleri Real Time PCR cihazında analiz edildi. Her iki grubun yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımları benzerdi. rs1801198'e ait genotip ve allel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta : CC % 26,60, CG % 57,45, GG % 15,95; C alleli % 55,32 ve G alleli % 44,68; B12 vitamini normal olan grupta: CC % 34,45, CG % 48,74, GG % 16,81; C alleli % 58,82 ve G alleli % 41,18 olarak bulundu. rs2336573'e ait genotip ve allel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta: CC % 92,62, CT % 5,32, TT % 1,06; C alleli % 96,28 ve T alleli % 3,72 ; B12 vitamini normal olan grupta: CC % 94,12, CT % 5,04, TT % 0,84; C alleli % 96,64 ve T alleli % 3,36 olarak bulundu. rs1801198 ve rs2336573 ait genotip ve allel dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak grupların aynı genotipleri karşılaştırıldığında serum B12 düzeylerinin B12 vitamini eksikliği olan grupta anlamlı olarak azaldığı görüldü (P<0.001). Bu çalışma sonucunda, rs1801198 ve rs2336573 varyantlarının çalışmamızda yer alan bireylerde bir risk oluşturmadığı ancak aynı genotiplerin B12 vitamini düzeylerindeki farklılığın olması ile B12 vitamini eksikliğinde ilişkili olabileceği tespit edildi. Daha ileri çalışmalarla, B12 vitamini ile ilgili moleküler mekanizmalarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: B12 Vitamin eksikliği, transkobalamin II gen polimorfizmi, transkobalamin II reseptör gen polimorfizmi

## SUMMARY

### **Investigation of transcobalamin II gene polymorphisms in vitamin B12 deficiency**

In recent studies, vitamin B12 deficiency is commonly seen in the community. Vitamin B12 deficiency maybe caused by many factors like genetic factors. Vitamin B12 deficiency cause many health problems. Dietary vitamin B12 is bound to the body compartments by binding with various proteins. The aim of this study is to investigate the effect of transcobalamin II gene (rs1801198) and transcobalamin II receptor gene (rs2336573) variants as a risk factor for vitamin B12 which play a role in the transport of vitamin B12 in the body. Our study was carried out in two groups of 94 individuals with vitamin B12 deficiency and 119 individuals with normal vitamin B12. rs1801198 and rs 2336573 variant analyzes were performed on Real Time-PCR. The mean age and gender distribution of both groups were similar. rs1801198 genotype and allele distributions in the group with vitamin B12 deficiency: CC 26.60 %, CG 57.45 %, GG 15.95 % ; C allele 55.32 % and G allele 44.68% ; In the group with normal vitamin B12: CC 34.45 %, CG 48.74 %, GG 16.81 %; The C allele was 58.82 % and the G allele was 41.18 %. genotype and allele distributions of rs2336573 in the group with vitamin B12 deficiency: CC 92.62%, CT 5.32%, TT 1.06%; C allele 96.28% and T allele 3.72%; In the group with normal vitamin B12: CC 94.12%, CT 5.04%, TT 0.84%; The C allele was 96.64 % and the T allele was 3.36 %. Genotypes and allele distributions of rs1801198 and rs2336573 were not statistically found as significant. However, when the same genotypes of the groups were compared, serum B12 levels were seen as significantly decreased in the group with vitamin B12 deficiency. As a result of this study, it was determined that rs rs1801198 and rs2336573 variants do not pose a risk to individuals in our study. However, it was found that the same genotypes may be related to vitamin B12 deficiency due to differences in vitamin B12 levels. Further studies are needed to investigate the molecular mechanisms of vitamin B12.

**Key Words:** Vitamin B12 deficiency, transcobalamin II gene polymorphism, transcobalamin II receptor gene polymorphism

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

B12 vitamini büyüme ve gelişimde önemli yeri olan ve suda çözünür bir vitamindir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda toplumda B12 vitamini eksikliği yaygın olarak görülmektedir (Stabler and Allen 2004). B12 vitamin eksikliğine yol açan genetik faktörlerinde yer aldığı birçok faktör rol oynar (Baumgartner 2013). B12 vitamin eksikliği birçok sağlık sorununa yol açmaktadır. Diyetle alınan B12 vitamini çeşitli proteinlerle bağlanarak vücut bölmelerine alınır. Önce midede gastrik asit ve pepsin tarafından sıkıca bağlandığı yiyeceklerdeki proteinlerden serbestleştirilir. Tükürük glikoproteini olan ve B12 vitamini için asidik ortamlarda yüksek affinite gösteren haptokorrin ile bağlanır, bu kobalamini hidrolize karşı korur. Haptokorrine bağlı kobalamin mideden duodenuma gelir, burada pankreatik proteazlarla haptokorrinden tekrar serbestleştirilir ve midedeki pariyetal hücreler tarafından salınan intrinsek faktöre bağlanır. İntrinsek faktör-B12 kompleksi ileum intestinal mukoza hücrelerinin apikal yüzünden kubilin reseptör-aracılı endositoz ile absorbe edilir. Burada intrinsek faktörden ayrılan B12 kan dolaşımına salınır ve transkobalamin II ile bağlanır. İşlevini göreceği hücrelere transkobalamin II reseptörü ile alınır (Gustavo, Román 2013). B12 vitamini insanlar için hayati önem taşır ve birçok hücresel süreçte rol oynar. Belirli enzimlerin aktivitesi için koenzim olarak fonksiyon gören B12 vitamininin eksikliklerinde hem hematolojik belirtiler hem de nörolojik belirtiler ortaya çıkar (Hall CA 1992). Bunlardan hematolojik belirtiler eksiklik durumunun tedavisinden sonra düzelmesine rağmen nörolojik belirtiler geri döndürülemediği için toplum sağlığı açısından oldukça önemli bir durumdur (Wallig, Keenan 2013 ). Transkobalamin II vücutta B12 vitamininin aktif formunu yansıttığı için çalışmamızda B12 vitamin eksikliği durumu üzerinde bu proteinin ve reseptörünün gen polimorfizimlerinin etkisini araştırmayı planladık. Vücutta transportunda rol alan ve vitaminin aktif formunu yansıtan transkobalamin II gen (rs1801198) ile transkobalamin II reseptör gen (rs2336573) varyantlarının bu vitamin eksikliğinde risk faktörü olarak etkisi araştırılacaktır. Böylece çalışmamızın sonuçları, hem toplumumuzda hem de bölgemizde sıkça karşılaşılan ve önemli bir sağlık problemi olan B12 vitamin eksikliklerinin altında yatan mekanizmalara ışık tutulmasına katkıda bulunacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. B12 VİTAMİNİNİN TANIMI VE YAPISI

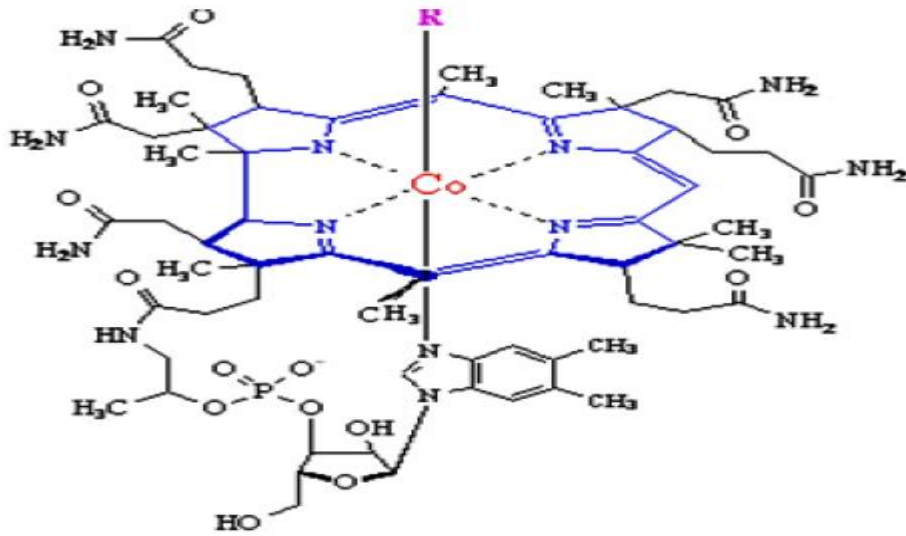
B12 vitamini tüm vitaminler içerisinde en büyük ve karmaşık yapıya sahip, ufak miktarları bile çok güçlü etki gösteren molekül ağırlığı 1355,42 dalton olan, başlıca mikroorganizmalar tarafından, farklı yirmi enzimatik basamak sonunda sentezlenebilen, suda eriyen, kırmızı renkli ve çeşitli türevleri bulunan bir vitamindir. Korrin halkası, nükleotid grubu, düzlemin üstünde kalan üç bölümden oluşmaktadır. Yapısında merkezinde kobalt (Co) iyonu bulunan karmaşık korrin halkası vardır (Kayaalp 1998, Coşkun 2003).

İlk olarak T. Addison, 1855 yılında, pernisiyöz anemiyi tanımlamıştır. Daha sonra, çok ağır anemisi olan kişilerin, karaciğer yemekle tedavi olduğu, 1926 yılında, Minot ve Murphy'nin dikkatini çekmiştir. Daha sonra etin normal mide suyu ile karıştırılarak yedirildiğinde pernisiyöz anemili hastaların kansızlığının düzelebildiği gösterilmiş ve böylece intrinsik faktörün (IF) varlığı ortaya koyulmuştur. Ancak bu maddenin karaciğerden izolasyonu uzun yıllar başarısız olmuştur. Nihayet 1948 yılında E. Lester Smith, E. Rickes ve Karl Folkers kobalamini kristal halde elde etmeyi başarmışlar ve bu maddeyi B12 vitamini olarak adlandırmışlardır (Minot and Murphy 1926, Rickes Brink, Koniuszy, Wood and Folkers 1948, Graner 1985 ).

### 2.2. B12 VİTAMİNİNİN MOLEKÜL YAPISI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Vitamin B12'nin yapısı ilk kez 1956 yılında Hodgkin tarafından bildirilmiştir. Yapısında korrin halka yapısı bulunmaktadır. Şekil 1'den görüleceği üzere hemoglobinin porfirin halkasını andıran bir halka olup bundan farkı, indirgenmiş dört pirol halkasından ikisi birbirine metan köprüsü olmadan doğrudan bağlanmıştır ve halkanın merkezinde kobalt bulunmaktadır. İkinci önemli yapısı ise ribonükleotid (5,6 dimetil benzimidazol) kısmıdır. 5,6 dimetil benzimidazol hem kobalt atomuna hem de fosfat ester bağıyla pirol halkalarından birine bağlanmıştır. Kobalta koordinasyon tipi

bağlarla bağlanmış olan bir de R grubu bulunmaktadır. Vitamin B12'nin isimlendirilmesi bu gruba göre yapılmaktadır. Bu son ek kısma -CN gelirse siyanokobalamin, -OH grubu gelirse hidrosikobalamin (OHCbl), -CH<sub>3</sub> grubu gelirse metilkobalamin (MeCbl) ve S-deoksiadenozil grubu gelirse adenzil kobalamin (AdoCbl) oluşur (Yenson 1981, Cooper, Rosenblatt and Whitehead 1993, Lee and Herbert 1999, Antony 1995, Gözükara 2001).



**Şekil 1:** B12 vitamini kimyasal yapısı (Chandrakant 2012).

Siyanobolamin ilk bulunan vitamin B12 türü olup yapısında ki -CN grubu sayesinde en sabit olan vitamin B12 türü olup vitaminin en sık kullanılan ticari şeklidir. Işığa duyarlıdır , ışığa maruz kalma organometalik bağın parçalanmasına neden olur, bozulma derecesi genellikle ışık yoğunluğu ile artar. Askorbik asitli siyanokobalamin 24 saat boyunca, aktivite kaybı olmaksızın ışıktan korunan oda sıcaklığında saklanabilir.

Siyanokobalamin vücutta yapısındaki siyanid ayrılmadan insan için aktif bir vitamin değildir. MeCbl ve AdoCbl vücutta koenzim olarak kullanılan şekilleridir. Her ikisi de ışık temasıyla bozulmakta fakat in vitro olarak daha sabit kobalamin şekillerine dönüşebilmektedir OHCbl vücutta en fazla bulunan vitamin B12 türüdür ve aktif koenzim türlerinin öncüsüdür (Herbert 1988 , Lee ve Herbert 1999).

### 2.3. B12 KAYNAKLARI

B12 vitamini insan vücudunda sentezlenemeyen, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen esansiyel bir vitamindir. İnsan bağırsağındaki bakteriler tarafından sentez edilen miktar, bağırsak florasına göre değişmekle birlikte çok az veya yetersizdir. Bu nedenle B12 vitamininin besinlerle günlük olarak alınması gerekmektedir. Diyetle yetersiz alım, B12 vitamini eksikliğinin başlıca nedenidir (Haddad, Berk, Kettering, Hubbard and Peters 1999 , Stabler and Allen 2004).

B12 vitamininin en önemli kaynakları başta karaciğer, kırmızı et (40-50 µg/100 gr) olmak üzere yumurta, peynir ve süt gibi hayvansal gıdalardır. Ayrıca deniz ürünlerinde de B12 vitamini bulunmaktadır. Baklagil türleri hariç, bitkisel besinlerde B12 vitamini bulunmaz. Baklagil türü besinlerde ise kök kısmında, simbiyotik yaşayan bazı mikroorganizmalar tarafından B12 vitamini sentez edilir ve bitki tarafından emilerek tanelerin içinde hapsedilir. Su içindeki saprofit bakteriler de az miktarda B12 vitamini sentezleyebilmektedir; bu nedenle su da B12 vitamini için küçük bir kaynak sayılabilir (Haddad, Berk, Kettering, Hubbard and Peters 1999, Antony 2003, Watanabe 2007, Gille and Schmid 2015).

B12 vitamini peptit bağları aracılığı ile besinlerin proteinlerine bağlı olup, nötr ve asit ortamda ısıya dayanıklı olduğundan besinlerin ısıtılması ile kaybolmaz. İlk keşfedildiği zaman yaklaşık bir ton hayvan ciğerinden 20 mg kırmızı renkli kristal halinde saf B12 vitamini elde edilebilmiştir. Günümüzde ilaç sanayisinde, streptomisin elde etmek için yapılan *Streptomyces griseus* türü mantar kültürlerinden yan ürün olarak elde edilmektedir. Siyanokobalamin stabil bir bileşik olduğundan ilaç olarak kullanılmaktadır ve B12 vitamininin ticari preparatıdır (Roed , Skovby and Lund 2009, Akçaboy , Malbora , Zorlu , Altinel, Oğuz ve Senel 2015).



## 2.4. B12 VİTAMİNİ İHTİYACI

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yetişkinlerde alınması önerilen B12 vitamini miktarı 2,4 µg/gün, gebeler için 2,6 µg/gün, emziren anneler için ise 2,8 µg/gün'dür. Çocuklarda günlük gereksinim 0,4-2,4 µg/gün arasında değişmektedir.

Komplike olmayan pernisiyöz anemili hastalara, çok az miktarda verilecek B12 vitamini (0,1 µg/gün) parenteral yolla verildiğinde hematopoetik cevap oluşturarak eksikliğin bütün bulgu ve semptomlarını önlemektedir. Fakat oral alım ile 0,1 µg'ın emilimini sağlayabilmek için daha fazla B12 vitamini alımı gerekmektedir (World Health Organization 2004, Kliegman and Nelson 2015).

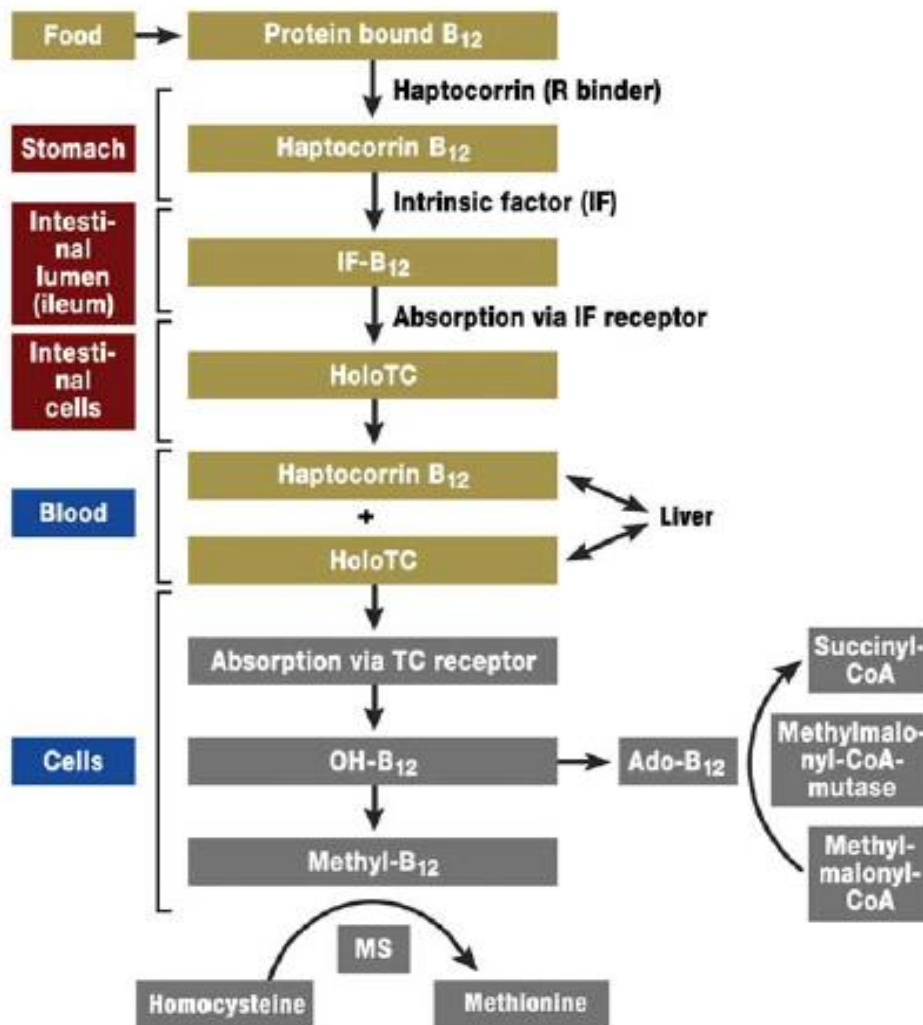
## 2.5. B12 VİTAMİNİNİN EMİLİMİ VE METABOLİZMASI

B12 vitamini emilimi aktif ve pasif yol olmak üzere iki türdür. Pasif yolda fizyolojik miktarlardan daha fazla B12 vitamininin ince bağırsağa ulaşmasıyla jejunum ve ileumdan B12 pasif olarak emilimi gerçekleşir. Aktif mekanizma Şekil 2'de şemalandırılmış olup aktif emilim sürecinde gastrik intrinsek faktör (IF) zaruridir ve gıdalarda fizyolojik miktarda olan B12 vitamininin emilimi bu yolla olur. B12 vitamini (kobalamin) proteine bağlı olup mideye ulaştığında asit ve pepsin ile proteinden ayrılır. Tükrük ve gastrik sekresyonlardaki haptokorrin'e bağlanır. Haptokorrin-kobalamin kompleksinde ki kobalamin pankreatik proteazlarla serbest hale gelir. Şekil 3'te şemalandırıldığı gibi proksimal ileumda, mideden salgılanan intrinsek faktöre bağlanır. Kobalamin intrinsek faktör kompleksi ileum mukoza hücrelerinde bulunan CUBAM (cubilin + amnionless) reseptörlerine bağlanarak hücre içine alınır. Reseptöre bağlı Cbl-IF bileşiği ince bağırsağa alındığında Kobalamin kısmı IF den serbestleşir ve Transkobalamin II' ye transfer edilir. TK-II bileşiği hızla karaciğer, kemik iliği ve diğer hücreler tarafından transfer edilir. Dolaşımda B12 vitamininin %90'ı taşıyıcı proteinlere bağlıdır. Esas taşıyıcı proteini TK-II olup, TK-I ve TK-III vitamini sıkıca bağlandıklarından hücre içine alınamaz, sadece karaciğere alınıp safra ile atılır. B12 vitamininin dokularda çeşitli kimyasal reaksiyonlar için gerekli aktif formları adenzilkobalamin ve metilkobalaminidir.

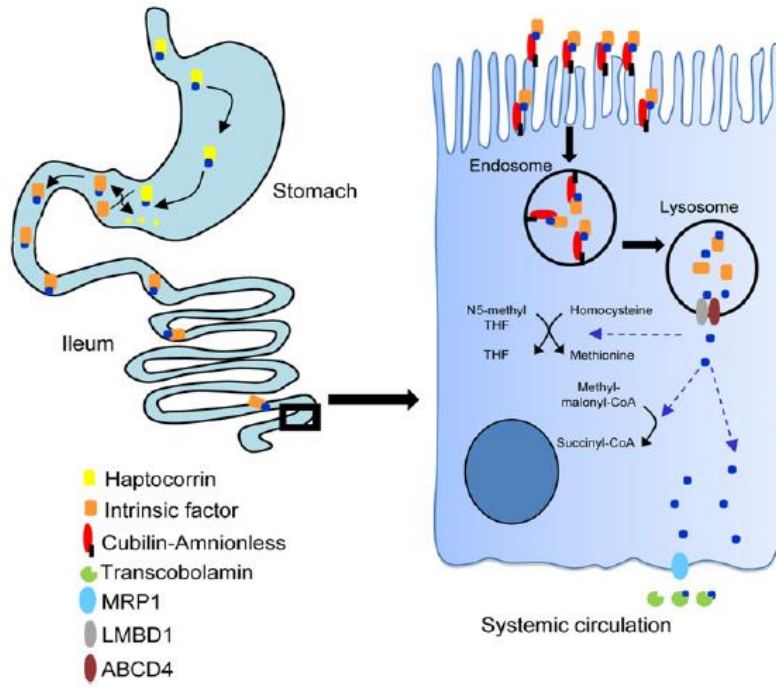
Şekil 4'te şemalandırıldığı gibi adenzilkobalamin ve metilkobalamin koenzim olarak vücutta görev yapmakta olup siyanokobalamin ve hidroksikobalamin sitoplazmada

metilkoabalamine , mitokondride adenzilkobaliamine dönüşürler (Rosenblatt and Whitehead 1999, Coşkun 2003).

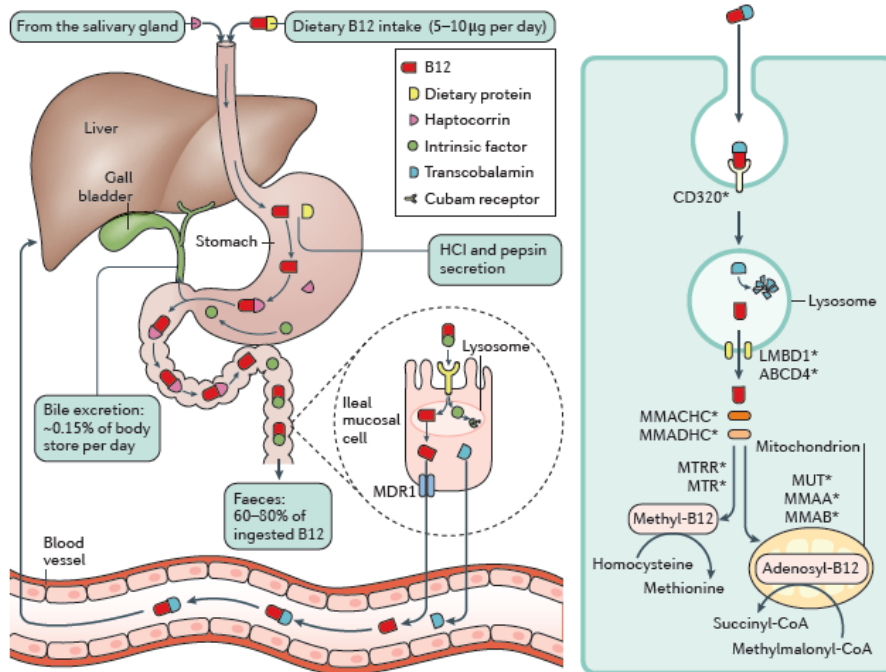
B12 vitamininin vücutta iki önemli reaksiyonda kofaktör rolü olup mekanizmalar Şekil 4'te gösterilmiştir. Birinci reaksiyon metiyonin sentaz enzimi ile homosisteinden metiyonin sentezidir. Birçok reaksiyonda metil vericisi olan S-adenozil metiyonin sentezi için metiyonin gereklidir. B12 vitamini S-adenozilmetiyonin sentezinde rol olarak sinir sistemi myelinizasyonunda önemli rol oynar. S-adenozil metiyonin azalması ile esas olarak spinal kord ve serebral korteksi tutan, demiyelinizasyon ve artmış nöron yıkımının eşlik ettiği bir nörolojik bozukluk olan subakut kombine dejenerasyon gelişir. İkinci reaksiyon metil malonil KoA mutaz enzimi ile metilmalonil KoA dan suksinil KoA oluşumudur. Metil malonik asit bazı aminoasitlerin (valin, treonin, izolosin vb.) propiyonik asit ile birleşmesi sonucu oluşur. B12 vitamini eksikliğinde metilmalonik asit vücutta birikir ve böbrekle atılımı arttığından metilmalonik asidüri gelişir (Hall 1990, Carmel 1999).



Şekil 2: Vit B12 emilim mekanizması (Herrmann and Obeid 2008).



Şekil 3: Vit B12 emilim mekanizması (Kozyraki and Cases 2013).



Şekil 4: Vit B12 emilimi ve aktif metabolitlere dönüşümü (Green et al 2017).

## 2.6. B12 VİTAMİNİNİN ÖNEMİ VE FONKSİYONU

B12 vitamininin en önemli fonksiyonu, hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA yapımını sağlamaktır. B12 vitamin eksikliğine en duyarlı olan sistemler çoğalma hızının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemlerdir. B12 vitamini hematopoetik hücrelerin ve bağırsak epitelyum hücrelerinin normal şekilde çoğalması, gelişmesi ve bölünmesi için gereklidir. B12 vitamini tetrahidrofolat (THF) üretimi için de gereklidir. THF ve türevleri ise DNA sentezi için gereklidir. İkinci önemli etkisi santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemindeki bazı nöronların normal yapı ve fonksiyonlarını sürdürmelerini sağlamasıdır. Folik asitin etkin şekli olan tetrahidrofolattan (THF) hücre içinde sentez edilen THF türevleri DNA sentezi, pürin ve pirimidin bazları sentezi için gerekli olan tek karbon ekleme reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Bu türevlerin sentezi B12 vitamininin aktif koenzim şekli olan MChI aracılığı ile yapılır. Metiltetrahidrofolatın tek karbon dönörü olan diğer türevlere, diğer adıyla folat kofaktörlerine (5,10 –metilentetrahidrofolat ve benzeri gibi) dönüşebilmesi için önce metil grubunu kaybederek tetrahidrofolat haline getirilmesi gerekir. Bu olay homosisteininin metiyonine dönüştürülmesi olayına kenetli olarak gerçekleşir. Bu reaksiyona metiyonin sentaz reaksiyonu adı verilir. Folat kofaktörleri belirli bir düzene göre (folat kofaktörleri siklusu) birbirlerine ve sonunda THF'a dönüşürler. Bu siklusu DNA yapımı için gerekli timidilatın sentezi, DNA pürin ve pirimidin bazlarının sentezi ve serinden glisin oluşumu reaksiyonlarına kenetlenmiş bir şekilde sürdürülür (Scott and Weir 1981, Guyton and Hall 1996, Kayaalp 1998). B12 vitamin eksikliğinde, folatın etkin formu olan THF hücre içinde azalırken, tetrahidrofolatın metilkobalamin tarafından metillenmesi ile oluşan ve yaşamsal önemi olan, folat kofaktörlerine dönüşmeyen metiltetrahidrofolat formu ise hücre içinde birikir. Bu olaya metilfolat tuzağı adı verilir. DNA'nın aksine RNA sentezi için timidilat sentezi gerekli değildir. Bunun sonucu folat kofaktörleri siklusu ve ona kenetli DNA sentezine yönelik reaksiyonlar yavaşlar veya durur. Bu durum kemik iliğindeki megaloblastik değişikliğin temelini teşkil eder. Eritrosit prekürsörü ana hücrelerde çekirdeklerin bölünmesi yavaşlarsa da sitoplazmanın olgunlaşma hızı bozulmaz. Sonuçta anormal yapılı büyük hücreler oluşur ve normoblastların yerini alır (megaloblastik eritropoez). Bu arada bazı hücreler parçalanır ve ölür (inefektif eritropoez) (Kayaalp 1998, Murray, Granner and Mayes 2003).

## **2.7. B12 VİTAMİNİ İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR**

B12 vitamini eksikliği diyet alım yetersizliği, azalan emilim ve yetersiz kullanım olmak üzere üç ana başlık altında değerlendirilmektedir. B12 vitamininin eksikliği genellikle malabsorpsiyondan kaynaklanmaktadır. Diyetlerinde B12 vitamini yetersizliği olan yaşlılarda, ovo-lakto veganlarda ve vejeteryanlarda yaygın olarak görülmektedir. B12 yetersizliği ile ilgili sebepler arasında ayrıca yetersiz intrinsik faktör üretimi, atrofik gastrit, B12 vitaminin ileal alımında değişim, ilaç-besin etkileşimleri ve genetik bozukluklar bulunmaktadır. Vejetaryen veya vegan diyetle beslenen hamile ve/veya emziren kadınlar, B12 vitaminine artan metabolik ihtiyacı nedeniyle ve B12 vitamini eksikliği riski altındadır. Yaşlılarda subklinik B12 vitamini eksikliğinin en sık nedeni proteine bağlı malabsorpsiyon olup, atrofik gastrit ile ilişkilendirilmektedir ( Food and Nutrition Board 1998, O'Leary and Samman 2010).

Gastrit ve mide mukozasının enflamasyonu yaşla birlikte artmaktadır. Pernisiyöz anemi, otoimmün gastritin son aşamasında görülmekte ve intrinsik faktör sentez kaybı ile sonuçlanmaktadır. B12 vitamini eksikliğine neden olan intrinsik faktör kaybı tedavi edilmezse megaloblastik anemi ve nörolojik komplikasyonlara sebep olmaktadır. B12 vitamini eksikliği, intrinsik faktörlerin ve asidin salgılandığı gastrik antrum rezeksiyonundan sonra da gelişmektedir. Ayrıca, crohn hastalığı veya diğer kronik bağırsak enflamatuvar durumlar B12 vitamininin emiliminin bozulmasına neden olmaktadır (National Health and Medical Research Council 2005, O'Leary and Samman 2010).

## **2.8. İLAÇ-BESİN ETKİLEŞİMLERİ**

Bazı ilaçların B12 vitamininin emilimini veya metabolizmasını engellediği düşünülmektedir. Bunlara proton pompası inhibitörü (PPI) ilaçları, metformin, azot oksit anestezisi, bazı epileptik ilaçları ve kolşisin dahildir. PPI ilaçları, mide asidi ve pepsinin salgılanmasını azaltarak, protein-bağlı vitamin B12'nin emiliminde bir azalmaya yol açarak etkinliğini göstermektedir. Metformin, insüline bağımlı olmayan diyabetlerin tedavisinde kullanılmakta ve bu ilaç bazı hastalarda megaloblastik aneminin gelişimine sebep olmaktadır (Bauman, Shaw, Jayatilleke, Spungen and Herbert 2000, Den Elzen et al 2008).

## **2.9. B12 VİTAMİNİ VE NÖRAL TÜP DEFEKTLERİ (NTD)**

Nöral Tüp Defektleri (NTD), spina bifida, anensefali ve ensefaloseli'yi içermektedir. Bu patolojiler nöral tüpün gebelik sırasında kapanmaması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. NTD'nin etiyojisi tam olarak anlaşılammakla birlikte risk faktörleri arasında folat eksikliği, genetik ve çevresel faktörler bulunmaktadır. B12 vitamini folat döngüsünde metiyonin sentaz için bir kofaktör görevi gördüğünden dolayı B12 vitamini durumunun NTD için potansiyel bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (Kirke et al 1993, Liu et al 2004).

## **2.10. BİLİŞSEL GERİLEME**

B12 vitamini durumunun değerlendirilmesi, demans için tarama sürecinin bir parçasıdır ancak, subklinik evrede B12 vitamininin bilişsel durum üzerindeki etkileri belirsizdir. Artmış metilmalonik asit (MMA) konsantrasyonları, bilişsel gerileme ve Alzheimer hastalığı ile ilişkilidir. Ayrıca tHcy ve Alzheimer hastalığı arasında bir korelasyon olduğu belirlenerek bilişsel durumun B12 , B6 ve folat vitaminlerine bağlı olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmalar, B12 vitamininin bilişsel fonksiyon kaybının önlenmesinde rol oynadığını göstermektedir (Lewis et al 2005, Van Dam and Van Gool 2009).

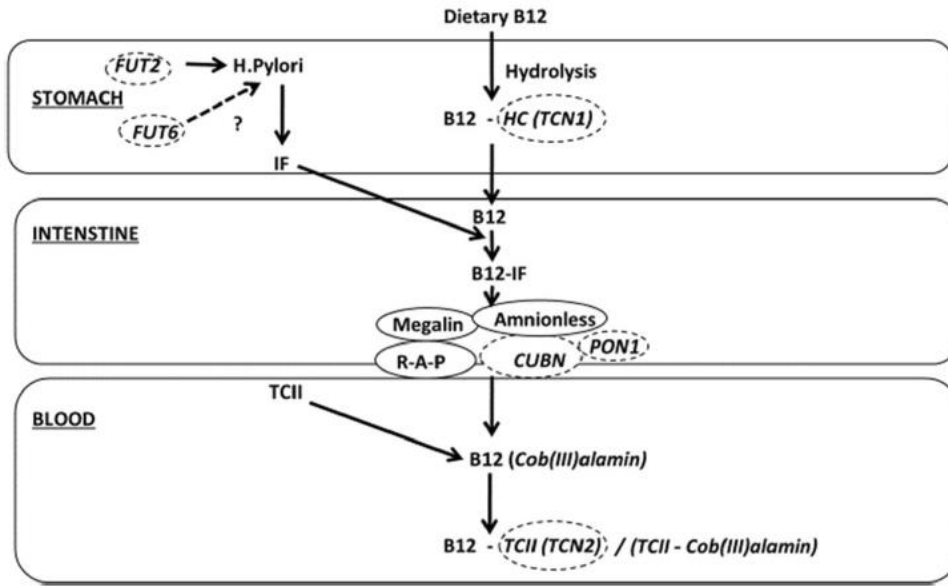
## **2.11. B12 VİTAMİNİ İLE İLGİLİ GEN POLİMORFİZMLERİ**

Çeşitli genetik varyantlar B12 vitamininin emilimini, hücreye alımını ve hücre içi metabolizmasında rol alan proteinleri etkileyerek B12 vitamininin dokulardaki durumunu değiştirmektedir. Monozigotik ve dizotik ikizlerin kullanıldığı çalışmada, B12 seviyelerinin kalıtım derecesi % 59 olarak tahmin edilerek B12 vitamin düzeyleri üzerindeki genetik etkinin büyüklüğünün önemli olduğunu gösterilmiştir (Nilsson et al 2009, Quadros 2010).

B12 vitamini durumunu inceleyen genetik çalışmalar, çok sayıda gende bulunan tek-nükleotid polimorfizm (SNP)'lerin B12 durumunun değişmesine neden olduğunu ve bu değişimin çevre koşulları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. B12 vitamini durumuna bağlı SNP'lerin çoğu, bir aday gen yaklaşımı kullanılarak incelenmiştir (Haggarty 2007).

## 2.12. B12 VİTAMİNİN DURUMUYLA İLGİLİ GENLER

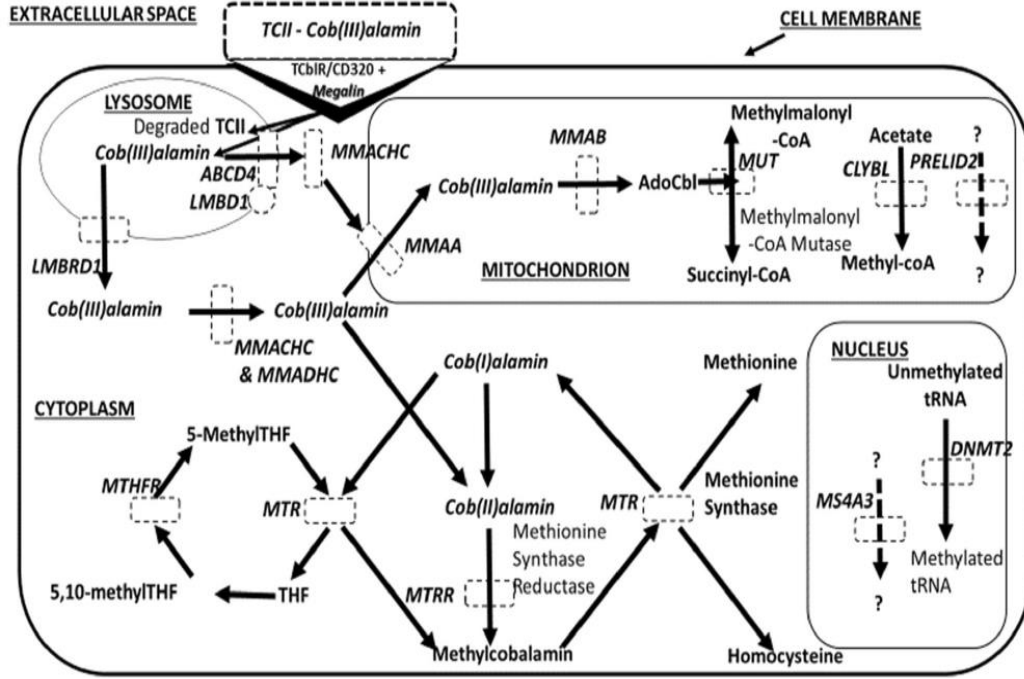
B12 vitamini statüsü ile ilişkilendirilen genetik varyantlar (a) B12 vitamini taşınması için gerekli yardımcı faktörler veya düzenleyiciler, (b) membran geçişini aktif olarak kolaylaştıran taşıyıcılar, (c) bir karbon döngüsündeki enzimatik reaksiyonların katalizinde yer alan genler, (d) hücre döngüsü düzenlemesine dahil olan genler, (e) mitokondriyal proteinler ve (f) diğer genler olarak gruplandırılmış olup Şekil 5 ve Şekil 6 'da şemalandırılmıştır.



**Şekil 5:**B12 vitamini durumuyla ilişkili genleri temsil eden diyagram ( Surendran et al 2018).

Diyagram B12 vitamini metabolizmasında diyet alımından dolaşım sistemine ulaşmaya kadar olan proteinleri göstermektedir. B12 serum seviyelerini düzenleyen varyantları tespit etmek için belirlenen genler kesikli çizgilerle çevrilidir . B12 vitamini B12, CUBN cubilin (intrinsic faktör-kobalamin reseptörü), FUT2 fukosil-transferaz 2, FUT6 fukosil-transferaz 6, HC haptocorrin (TCN1), H. pylori bakterisi, intrinsic faktörü, PON1 serum paraoksoaz aril / RAPOR1, reseptörle ilişkili protein, TCII transkobalamin II (TCN2), TCII-R transkobalamin II reseptörü (CD320)





**Şekil 6:** B12 vitamini durumuyla ilişkili genleri temsil eden diyagram (Surendran et al 2018).

Diyagram, hücre dışı alandan hücre içinde içselleşmeye kadar B12 vitamini metabolizmasında rol oynayan proteinleri göstermektedir. B12 serum seviyelerini düzenleyen varyantları tespit etmek için belirlenen genler kesikli çizgilerle çevrilidir. Ado-B12 adenosil-kobalamin; ABDC4 ATP bağlayıcı kaset, alt aile D (ALD), üye 4; CD320 CD320 molekülü; CLYBL sitrat liyaz beta benzeri; DNMT2 DNA metiltransferaz 2 geni; LMBD1 LMBR1 domeni 1; LMBRD1 LMBR1 domeni 1; MMAA metilmalonik asitüri (kobalamin eksikliği) CblA tipi; MMAB metilmalonik asitüri (kobalamin eksikliği) CblB tipi; MMACHC metilmalonik asitüri ve homosistinüri, cblC tipi; MMADHC metilmalonik asitüri (kobalamin eksikliği) Homosistinüri ile birlikte CblD tipi; MS4A3 membranı kapsayan 4 alan, alt familya A, üye 3 (hematopoetik hücreye özgü); MTHFR 5-metil-tetrahidrofolat redüktaz; MTR 5-metiltetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz; MTRR 5-metiltetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz redüktaz; MUT metilmalonil CoA mutazı; 2 içeren PRELID2 PRELI alanı; THF tetrahidrofolat; 5,10-Metil THF 5,10-metil-tetrahidrofolat.

## **2.13. B12 VİTAMİNİ TAŞIMASI İÇİN GEREKLİ YARDIMCI FAKTÖRLER VEYA YARDIMCI FAKTÖRLERİN DÜZENLEYİCİLERİ**

### **Metilmalonik asidüri ve homosistinüri, cblC tipi (MMACHC)**

Metilmalonik asidüri ve homosistinüri, cblC tipi (MMACHC) geni, 1p34.1 kromozom bölgesinde bulunur. MMACHC geni, sitoplazmada B12 vitaminine bağlanan bir şaperon proteini olan MMACHC'yi (cblC proteini) kodlamaktadır. Yaygın varyasyonlar arasında, SNP rs12272669, "A" alel taşıyıcılarının, "G" alel taşıyıcılarına kıyasla daha yüksek B12 vitamini konsantrasyonlarına sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, SNP rs10789465, B12 vitamini konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir. Bu değişkenlerin MMACHC genin regülasyonunu nasıl etkilediği bilinmemektedir (Lerner-Ellis et al 2006, Kim , Gherasim and Banerjee 2008, Grarup et al 2013).

### **Transkobalamin 1 (TCN1)**

Transkobalamin 1 (TCN1) geni, kromozom 11 üzerinde bulunur ve B12 vitamini bağlayıcı protein, transkobalamin I (TCI)'i kodlar. TCI, reseptör aracılı endositoz yoluyla B12 vitamininin hücrelere girmesini kolaylaştırmada rol oynar. TCN1 genindeki varyantlar ve dolaşımdaki B12 vitamin konsantrasyonları arasındaki ilişkileri bildirmiştir. Nongmaithem ve ark. TCN1 genindeki çeşitli nükleotit varyasyonlar ve B12 vitamin seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırarak, Rs526934 varyantının "G" alelinin taşıyıcılarının, "A" alel taşıyıcılarına kıyasla dolaşımda daha düşük B12 vitamin konsantrasyonuna sahip olduklarını bildirmişlerdir (Nongmaithem et al 2017, Surendran, Adaikalakoteswari, Saravanan, Shatwaan, Lovegrove and Vimalaswaran 2018).

### **Fukosiltransferaz 2 (FUT2)**

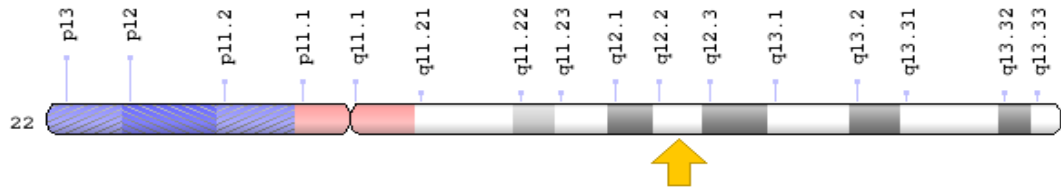
Fukosiltransferaz 2 (FUT2) geni, 19 kromozomu üzerinde bulunur. FUT2 geni, H tipi 1 ve 2 antijenleri üreten fukosile edilmiş oligosakaritleri içeren ve bir salgılayıcı enzim  $\alpha$  (1,2) fukosiltransferazı kodlar. FUT2 geni için, rs281379, rs492602, rs516316, rs601338, rs602662, rs838133 ve rs1047781 dahil yedi SNP'nin daha önce B12 vitamini düzeyleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Surendran et al 2018).

### **Fukosiltransferaz 6 (FUT6)**

Fukosiltransferaz 6 (FUT6) geni, kromozom 19 üzerinde bulunur. Bu gen bir E-selektin ligandı olan Sialyl-Lewis X'in oluşumunda rol oynayan bir golgi membran proteinini kodlar. Lewis ile ilişkili bu antijenler, helicobakter pylori'nin gastrik ve duodenal mukozaya yapışması ile ilişkilidir. Çalışmalarda helicobakter pilorinin aşırı çoğalması ,gastrik bakterilerin intrinsik faktör sekresyonu azalmasından dolayı B12 vitamini eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. FUT6 genindeki değişkenler ile B12 vitamini durumu arasındaki ilişkiyi araştıran Lin ve ark. rs3760776 varyantının "A" alelinin B12 vitamin düzeyleri ile ilişkili olduğunu gözlemledi. Ayrıca FUT6 geninin ek varyantlarının (rs708686, rs78060698, rs3760775 ve rs7788053) daha yüksek B12 vitamini statüsü ile ilişkili olduğu görülmüştür. SNP rs601338, plazma vitamin B12 seviyeleri ile önemli ölçüde ilişkiliydi; alel "A", plazma vitamin B12 seviyeleri ile pozitif olarak ilişkilendirildi (Lee et al 2006, Lin et al 2010, Surendran et al 2018).

### **Transkobalamin 2 (TCN2)**

Transkobalamin 2 olarak da bilinen TCN2 geni, Şekil 7'de gösterildiği üzere kromozom 22'nin üzerinde bulunur. Bu gen, insan serumunda bulunan transkobalamin II (TC) adlı bir vitamin B12 bağlayıcı protein oluşturma fonksiyonuna sahiptir. TC, B12 vitamini emilimini ve hücreye taşınmasını sağlar. TC'ye B12 vitamininin sadece% 10-20'si eklenir; kalanlar holohaptokorrin (transkobalamin 1)'e eklenir. En sık bildirilen TCN2 polimorfizmi, SNP rs1801198'dir; burada nükleotid 776'da C ile G'nin yer değişimi, 259 kodonunda bir amino asitte prolinin arginine değişimi meydana gelir. Homozigot yabancı tip "CC" genotipine sahip kişiler, "GG" genotipine göre daha düşük B12 vitamini seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir. 776GG homozigot varyantının, yabancı tip "C" aleline kıyasla B12 vitaminine daha düşük bağlanma afinitesi olan bir proteini kodladığı öne sürülmüştür (Namour et al 2001, Castro et al 2010, Stanislawski-Sachadyn et al 2010).



**Şekil 7:** rs1801198 Sitogenetik yeri, 22q12.2, kromozom 22'nin pozisyonunda uzun (q) kolun 12.2 pozisyonundadır. (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TCN2#location> Erişim Tarihi: 29.04.2019)

## 2.14. MEMBRAN GEÇİŞİNİ AKTİF OLARAK KOLAYLAŞTIRAN MEMBRAN TAŞIYICILARI KODLAYAN GENLER

### **Kubulin (CUBN)**

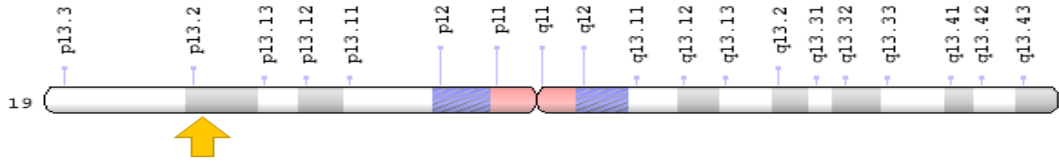
Bağırsak intrinsik faktör reseptörü veya intrinsik faktörü-kobalamin (IF-B12) reseptörü olarak da bilinen Kubulin (CUBN), kromozom 10 üzerinde bulunur. CUBN, bağırsak ve böbrek epitel hücrelerinde eksprese edilir ve intrinsik faktör-B12 vitamini (vitaminB12-IF) kompleksinin alımında rol oynar. B12 vitamini durumu ile CUBN içindeki varyantlar arasındaki ilişkinin çalışmaları çelişkili sonuçlar vermiştir. Hazra ve ark. rs1801222 (Ser253Phe) varyantının 'G' aleli ve daha yüksek B12 vitamini statüsü arasında bir ilişki bildirilmiştir (Hazra et al 2009, Tanaka et al 2009).

### **ATP bağlayıcı kaset alt ailesi D üyesi 4 (ABCD4)**

ATP bağlayıcı kaset alt ailesi D üyesi 4 (ABCD4) geni, kromozom 14 üzerinde bulunur. Bu gen, B12 vitamininin lizozomlardan taşınmasında rol oynayan bir membran taşıyıcı olan ABCD4 proteinini kodlar. ABCD4 geninin polimorfizmlerinin ABCD4 proteininin işleyişini ve B12 vitamininin hücre içi işlenmesini etkilediği gösterilmiştir. Rs3742801'in "T" aleli ve rs4619337 varyantlarının "C" aleli, bu genin B12 vitamini durumu üzerindeki etkisini gösteren yüksek B12 vitamini düzeyleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Coelho et al 2012, Fettelschoss et al 2017).

### CD320 molekülü (CD320)

“CD320 molekülü” geni olarak da bilinen CD320 geni, Şekil 8’de gösterildiği üzere 19.kromozom üzerinde bulunur. İki SNP, rs2336573 ve rs8109720, B12 vitamini düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. CD320 geninin en çok çalışılan varyantı rs2336573 varyantıdır, 220 kodon pozisyonunda bir amino asitin glisinden arginin’le değişmesine neden olmaktadır (Surendran et al 2018).



**Şekil 8:** rs2336573 Sitogenik yeri, 19p13.2, kromozom 19'un kısa (p) kolunun, 13.2 pozisyonundadır (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CD320#location> Erişim Tarihi: 29.04.2019)

### Metilenetetrahidrofolat redüktaz (MTHFR)

Metilenetetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geni, kromozom 1 üzerinde bulunur ve homosistein remetilasyonunda rol oynayan kritik bir enzimi kodlar. En iyi bilinen iki MTHFR gen polimorfizmi, C677T (rs1801133) ve A1298C (rs1801131) varyantlarıdır. Her iki varyant da azaltılmış enzim aktivitesi ve hücre içi folatın değişmiş bir dağılımı ile ilişkili bulunmuştur (Faraci 2003, De Mattia and Toffoli 2009).

### Metiyoninesentil redüktaz (MTRR)

Aynı zamanda "metiyonin sentaz redüktaz" geni olarak da bilinen MTRR geni, kromozom 5 üzerinde bulunur. Bu gen, aktif durumda metiyonin sentaz enzimini koruyan yeterli düzeyde aktive edilmiş B12 vitamini (metilcob (III) alamin) sağlamaktan sorumludur. Günümüzde dört SNP, rs162036, rs162048, rs1532268 ve rs3776455, sağlıklı bireylerde B12 vitamini seviyeleri ile ilişki göstermiştir (Andrew et al 2013).

## 2.15. HÜCRE DÖNGÜSÜ DÜZENLEMESİNE İLİŞKİLİ GENLER

### MS4A3 geni

MS4A3 geni, kromozom 11 üzerinde bulunur ve MS4A3 proteinini kodlar. Rs2298585 varyantının ‘T’ alleli daha yüksek serum B12 vitamini konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir. MS4A3 geninin polimorfizmlerinin, gastrointestinal kanaldaki hücre döngüsü düzenlemesini etkileyebileceği, böylece B12 vitamin emilimine yol açan intestinal ve gastrik epitel hücrelerinin yenilenmesini etkilediği öne sürülmüştür. (Li et al 2005).

## 2.16. MİTOKONDRIYAL PROTEİN

### Metilmalonik asidüri (kobalamin eksikliği) cb1A tipi (MMAA)

MMAA geni 4q31.1-2 kromozomunda bulunur. MMAA, B12 vitamininin mitokondriye translokasyonunda rol oynayan bir MMAA proteinini kodlamaktadır. MMAA geni varyantları ve B12 vitamini konsantrasyonları arasındaki ilişkileri bildirmiştir. SNP rs4835012, B12 vitamini konsantrasyonları ile önemli ölçüde ilişkilendirilmektedir (Korotkova and Lidstrom 2004, Keyfi et al 2016).

### Metilmalonil-CoA mutazı (MUT)

Metilmalonil-CoA mutazı olarak da bilinen MUT geni, kromozom 6 üzerinde bulunur. MUT geni, mitokondriyal bir enzim olan metilmalonil-CoA mutazın (MUT) oluşumu ile ilgilidir. MUT geni homosistein metabolizmasında rol oynar ve işlevi için B12 vitamini gereklidir. MUT geni SNP’leri (rs1141321, rs9473555, rs6458690 ve rs9381784) ve B12 vitamini durumu arasında ilişki olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Hazra et al 2009, Lin et al 2012).

## 2.17. DİĞER GENLER

Paraoksonaz / arilesteraz 1 (PON1, rs391757) sistatyonin beta sentazı (CBS, rs2124459), karbamoil-fosfat sentaz 1 (CPS1, rs1047891) ve DNA metiltransferaz geni

/ tRNA aspartik asit metiltransferaz 1 (DNMT2 / TRDMT1, rs56077122 ve rs2295809) genleri, B12 vitamini durumu ile ilişkilendirilmiştir (Surendran et al 2018).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (71522473/050.01.04/51) tarafından 16.02.2018 tarih ve 56 sayılı etik kurul onayı alınarak tez çalışmamız yapılmış olup Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran, 20 ile 60 yaş aralığında olan, herhangi bir kronik hastalığı olmayan, fizik muayene ve rutin tetkikleri normal değerlerde olan, B12 vitamini değerine göre 180 ng/l üzerinde olanlar ile bu değer altında olanların iki gruba ayrıldığı bireylerden B12 vitamini normal olanlar ile B12 vitamin değeri düşük olan gruplar oluşturularak çalışılmıştır. Çalışmamızda yer alan gruplardaki bireylere çalışma hakkında ayrıntılı bilgilendirme yapılarak her bir bireyden onam formları alınmıştır. Bireylerin, serum B12 vitamin düzeyleri dışında, herhangi bir klinik hastalık tanısı olmamasına dikkat edilmiştir. Çalışmamızda gruplarımız B12 vitamini değerlerine göre iki gruba ayrıldı. Bunlar B12 vitamini normal sınırlar içinde olanlar (180-550 pg/mL) kontrol grubu ve B12 vitamini eksikliği olanlar ise (<180 pg/mL) hasta grubu olarak sınıflandırıldı (kaynak:<http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/VIT%20B.pdf>). (Erişim Tarihi: 29.04.2019)

#### 3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmada SAÜ Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi İç hastalıkları polikliniğine başvuran ve herhangi bir tespit edilmiş klinik hastalığı olmayan bireyler dahil edildi. Hikâye ve geçmişinde herhangi bir akut veya kronik hastalığı olanlar, madde bağımlıları, aile hikâyesinde inflamatuvar barsak hastalığı olanlar, herhangi bir akut kronik metabolik, endokrin, kardiovasküler, otoimmün, romatolojik hastalık belirti ve semptomları olanlar, pıhtılaşma bozukluğu, obezitesi ve gebeliği, gastrointestinal hastalıkları olanlar; Crohn hastalığı, prior gastrik ya da ileal rezeksiyon, eşzamanlı metformin kullanımı, vejeteryan diyet, serum kreatinin düzeylerinin kadınlarda >1,1 mg/dl erkeklerde >1,3 mg/dl olanları olanlar bu çalışmaya alınmadı.



### 3.2. ÖRNEK TOPLAMA

SAÜ Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi İç hastalıkları polikliniğine başvuran ve belirlenen dahil etme ve dışlama kriterlerine göre seçilmiş hastalardan bir gecelik açlık sonrası kan örnekleri 5 ml EDTA'lı ve düz biyokimya tüplerine alındı.

### 3.3. KULLANILAN YÖNTEMLER

Katılan bireyler, vitamin B12 düzeylerine göre normal ve düşük olanlar olarak iki gruba ayrılıp EDTA'lı kan örneklerinden elde edilen DNA'ları kullanılarak 'polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism' (PCR-RFLP) tekniği ile transkobalamin II gen varyantı (rs1801198) ile transkobalamin II reseptör gen varyantı (rs2336573) "single-nucleotide polymorphism (SNPs)"leri çalışıldı. Kan örnekleri, gece boyunca aç bırakılan bireylerden alındıktan sonra EDTA içeren tüplerde ve düz biyokimya tüplerinde toplandı. 4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj (3.000xg) edildikten sonra, Eppendorf tüplerine serum örnekleri ayrıldı ve analize kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. B12 vitamini düzeyleri Abbott Architech i2000 cihazında ölçüldü. DNA izolasyonu için kan, EDTA içeren tüplere toplandı ve DNA, Jena Bioscience Blood-Animal-Plant DNA izolasyon kiti (Jena Bioscience GmbH, Jena, Germany; Cat. No. #PP-213L) kullanılarak periferik kan lökositlerinden elde edildi. Elde edilen DNA'nın konsantrasyonu NanoDrop® spektrofotometresi kullanılarak ölçüldü, DNA'ların saflık oranları 260/280 nm arasında değerlendirildi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD260/OD280 değeri yaklaşık 1,8'dir. DNA'nın içerisinde fenol ve protein var ise oran 1,8'den küçük olacaktır. OD260/OD280 değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir. İzole edilmiş DNA örnekleri -80 ° C'de derin dondurucuda saklandı.

### 3.4. DNA İZOLASYONU

DNA izolasyonu işlemimin deney aşamaları aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

1- 250 µl kan 2 ml'lik eppendorflara (Lp Italiana Spa) aktarıldı.

- 2- Üzerine 1 mL "Blood Lyzis Buffer" eklendi. 10-15 sn boyunca vorteklendi.
- 3- 10 dk buz inkübasyonunda bekletildi ve ara ara vortekslendi.
- 4- 10.000 g'de 10 dk santrifüj sonrası süpernatant atıldı, pelet ependorfta bırakıldı.
- 5- Ependorfun üzerine 300 µl "Lyzis Buffer" ve ortamdaki RNA'ları ortadan kaldırmak için 2 µl "RNAaz" eklenerek 30-60 sn vortekslendi.
- 6- Ortamdaki proteinleri parçalamak amacıyla üzerine 8 µl "Proteinaz-K" eklenerek vortekslendi. Enzimlerin aktivasyonu için etüvde 60 °C'de 10 dk bekletildi.
- 7- Etüvden çıkarıldıktan sonra kısa vorteks yapıldı. Sıcaklığın gitmesi için oda sıcaklığında 1 dk boyunca bekletildi.
- 8- DNA'nın kolona bağlanması için ependorfun üzerine 300 µl "Binding Buffer" eklenerek kısa bir vorteks yapıldı. 5 dk buzda bekletildi ve daha sonra 5 dk 10000 x g'de santrifüj edildi.
- 9- Spin kolonları, toplama tüplerine geçirilerek kolonu aktive etmek için aktivasyon tampon solusyonu eklendi.
- 10- Aktive edilen spin kolonlarına 8. basamakta santrifüjden sonra ependorfta oluşan süpernatant eklendi ve 10000 x g'de 1 dk santrifüj edildi.
- 11- DNA'ları kalan protein ve RNA'lardan temizlemek amacıyla üzerine 500 µl "Washing Buffer" eklenerek 30 sn 10000 x g'de santrifüj edildi ve toplama tüpüne akan sıvı boşaltıldı.
- 12- 2 ml'lik tüplere kolon tüpler geçirilerek üzerine 40 µl "Elüsyon Bufferi" koyularak 10000 x g'de 2 dk santrifüj yapıldı. Üst kolon atıldı ve ependorftaki DNA Nanodrop'ta ölçüldü. Daha sonra SNP çalışmasına kadar -20 °C'de saklandı.

### **rs 1801198 ve rs 2336573 Gen Polimorfizm Analizleri**

Çalışma gruplarının rs 1801198 ve rs 2336573 gen polimorfizmleri analizleri, alınan EDTA'lı kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan, Real-Time PCR ile Biorad CFX Connect (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) cihazında yapıldı.

### 3.5. REAL-TİME PCR ANALİZLERİ

Real-time PCR yönteminde, 5' ve 3' uçlarından florokrom (floresans veren) maddelerle işaretli TaqMan probu kullanıldı. Transcobalamin II (rs1801198) ve transcobalamin II reseptör (rs2336573) genindeki polimorfizmlerini incelemek için TaqMan System (Applied Biosystems, Life Technologies) Primer Prob Mix ve qPCR Probes Master (Jena Bioscience, Germany, PCR-360) kullanıldı. Real time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği Tablo 1'de belirtilmektedir. Reaksiyon Biorad CFX cihazında 95 °C' de, 2 dakika, 1 siklus, 95 °C' de, 15 saniye, 40 siklus, 60 °C' de 1 dakika, 40 siklus olarak ayarlandı ve analiz yapıldı.

**Tablo 1:** Real-time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği

Reaksiyon Karışımının İçeriği	Miktarı (µl)
PCR Grade Su	7
Probe Master Mix	10
Primer Prob Mix (4 µl)	1
Örnek DNA (<500 ng/Assay den az olmalı)	2
Toplam	20 µl

rs DİZİLERİ:

SNP ID: **rs1801198**

Gene: TCN2

Gene Name: transcobalamin II

Polymorphism: C/G, Transversion Substitution

Context Sequence [VIC/FAM]:

CAGTTCCTCATGACTTCCCCCATGC[C/G]TGGGGCAGAACTGGGAACAGCAT  
GT

SNP ID: rs2336573

Gene: CD320

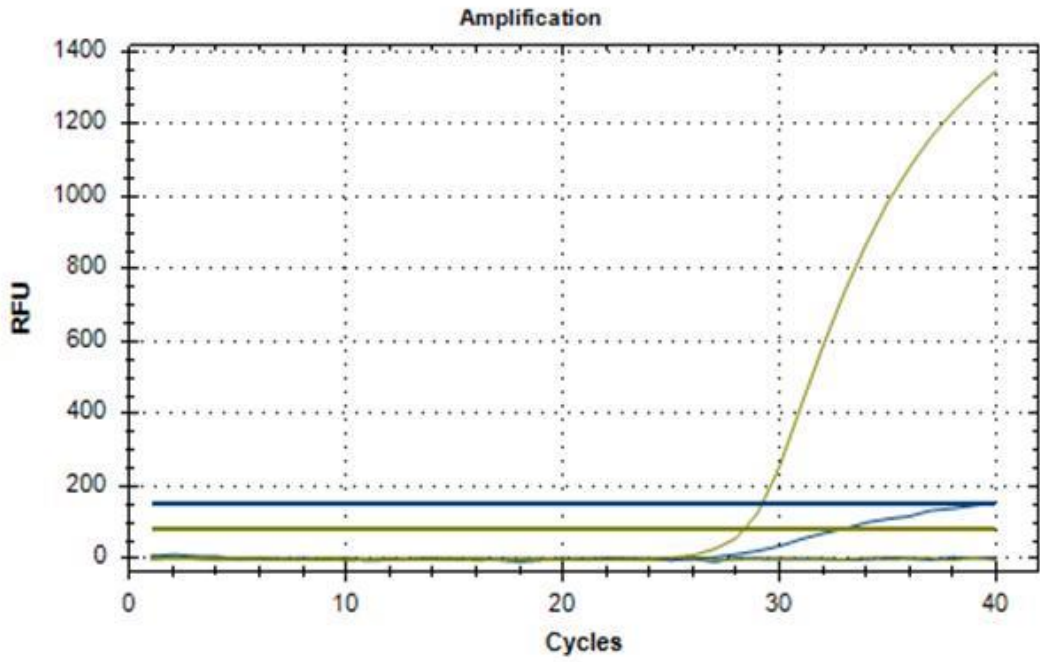
Gene Name: transcobalamin II receptor

Polymorphism: C/T, Transition Substitution

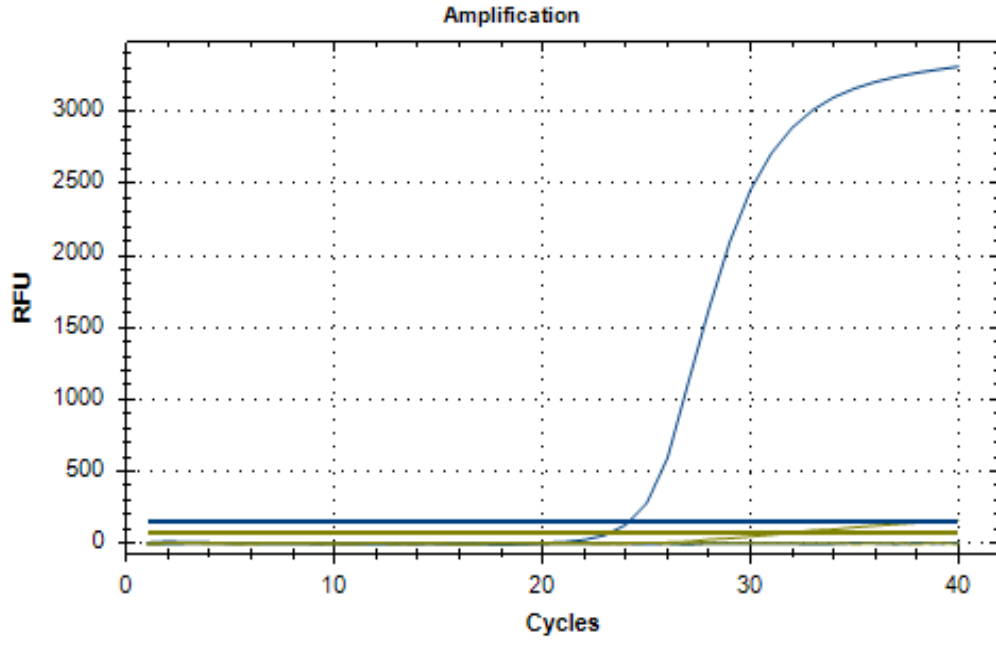
Context Sequence [VIC/FAM]:

GCAGTTGGGCTTCCAGACTGGTCTC[C/T]GGCAGAGGAGGATGTGGCATTCC  
CG

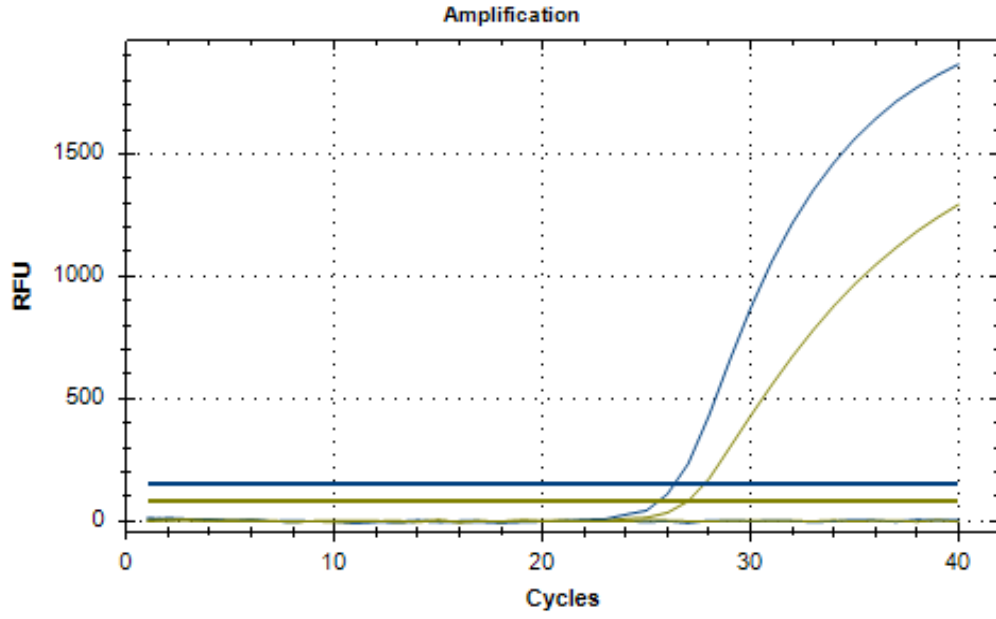
Transcobalamin II (rs1801198) ve transcobalamin II reseptör (rs2336573) genindeki polimorfizmlerin genotiplerinin amplifikasyon grafikleri şekil 9-13'te gösterilmektedir.



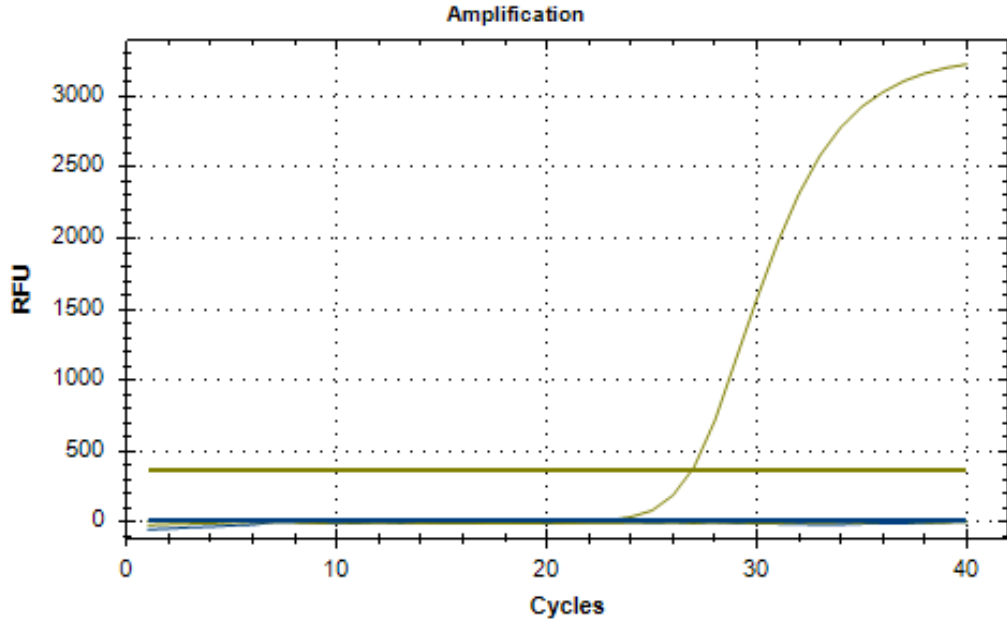
**Şekil 9:** rs1801198 Homozigot CC genotipi değişimlerine ait amplifikasyon grafiği



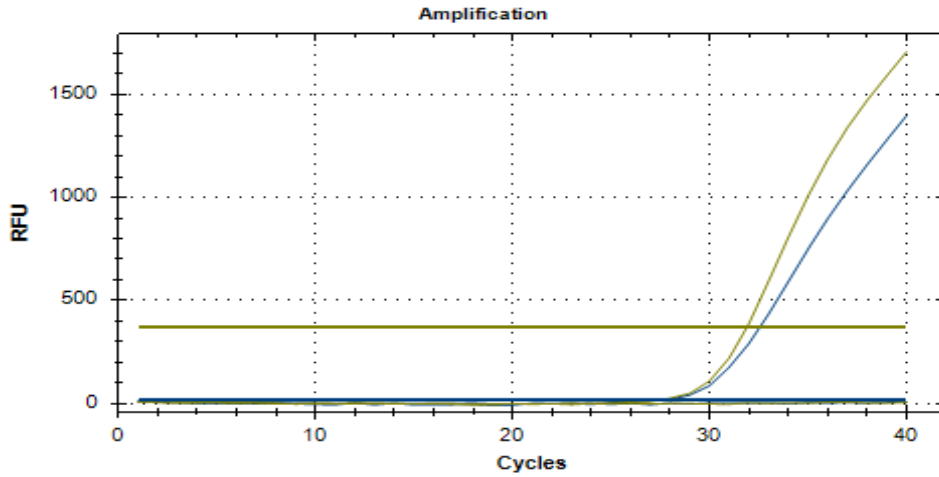
Şekil 10: rs1801198 Homozigot GG değişimlerine ait amplifikasyon grafiği



Şekil 11: rs1801198 Heterozigot C/ G değişimlerine ait amplifikasyon grafiği



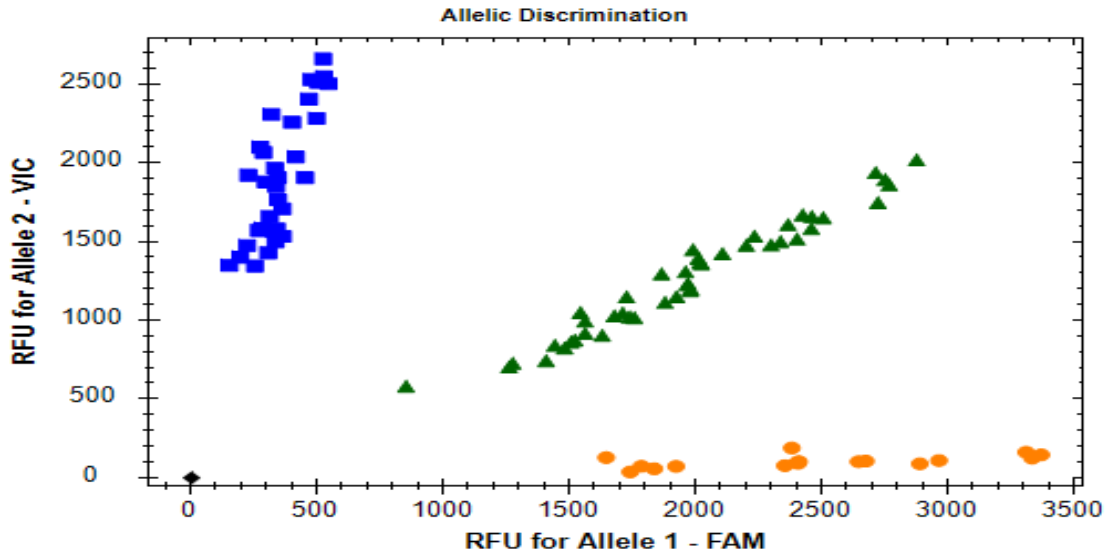
**Şekil 12:** rs2336573 Homozigot C/C değişimlerine ait amplifikasyon grafiği



**Şekil 13:** rs2336573 Heterozigot C/T değişimlerine ait amplifikasyon grafiği

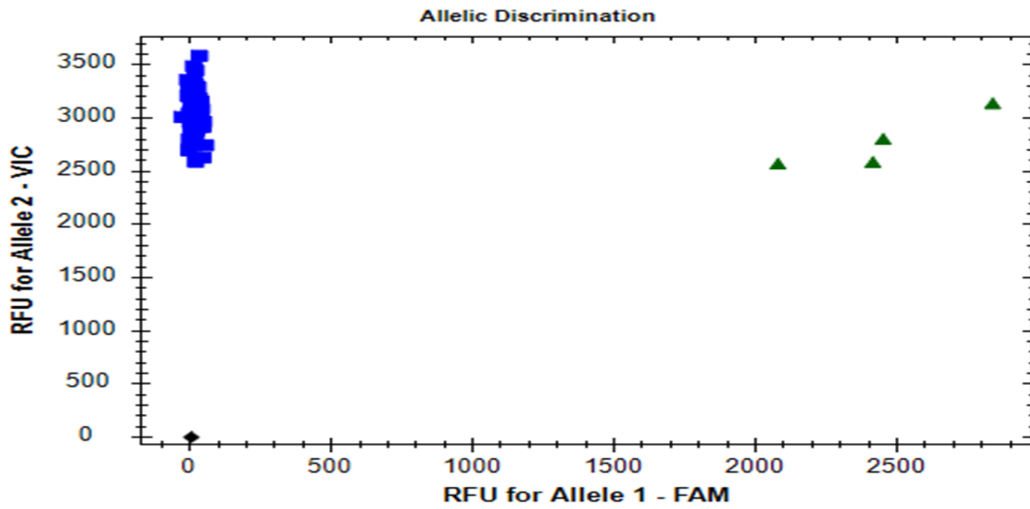
Transcobalamin 2 (rs 1801198) genine ait polimorfizminin alelik ayrımı şekil 14’de gösterilmektedir.

Y eksenini kenarındaki mavi renkli noktalar Homozigot C/C genotipini, x-eksenini kenarındaki turuncu renkli noktalar Homozigot G/G genotipini, her iki eksenin ortasında kalan yeşil renkli noktalar ise Heterozigot C/G genotipini ve ekseninde (0,0) noktasına denk gelen nokta ise negatif kontrolü göstermektedir.



**Şekil 14:** Grafikte transcobalamin 2 (rs 1801198) genine ait polimorfizminin alelik ayrımı

Transcobalamin 2 reseptör(rs 2336573) geninin polimorfizminin alelik ayrımı Şekil 15'te verilmiştir. Y-ekseni kenarındaki mavi renkli noktalar Homozigot C/C genotipini, her iki eksenin ortasındaki yeşil renkli noktalar ise Heterozigot C/T genotipini ve eksenide (0,0) noktasına denk gelen nokta ise negatif kontrolü göstermektedir.



**Şekil 15:** Grafikte transcobalamin 2 reseptör (rs 2336573) genine ait polimorfizminin alelik ayrımı

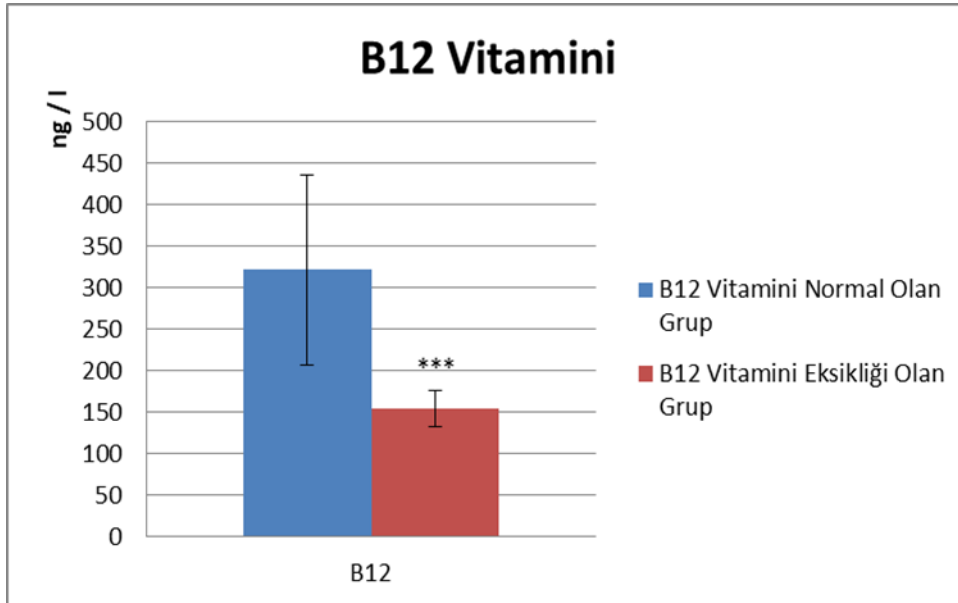
### 3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Hastaların analizlerinde ve kontrol değerlerinde SPSS Statistic 17.0 programı kullanıldı. Hardy-Weinberg dengesi Ki-kare analizi ile test edildi. Genotip ve allel frekansları olgu ve kontroller arasında Ki-kare analizi ile karşılaştırıldı. Alel ve genotip dağılımı arasındaki farkın etkilerini değerlendirmek için oran oranı (OR) ve ilgili % 95 güven aralığı (CI) bildirildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. Serum B12 vitamin düzeylerine göre ayrılan iki grubun B12 vitamin düzeyleri ile SNP'lerin genotiplerine göre B12 vitamin değerinin analizinde Mann-Whitney U testi uygulandı. İki taraflı p değeri  $< 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Çalışmaya katılan bireylerin serum B12 vitamini değerlerine göre iki gruba ayrıldı. B12 vitamini 180 ng/l değerinin altındakiler B12 vitamini düşük olan grup, B12 vitamini 180 ng/l değerinin üzerinde olanlardan B12 vitamini normal olan grup olarak incelendi. B12 vitamini normal olan grubun yaş ortalaması  $37,86 \pm 10,28$  (ortalama  $\pm$  standart sapma, yaş aralığı: 20-60), B12 vitamin değeri düşük olan grubun yaş ortalaması  $39,11 \pm 12,02$  (ortalama  $\pm$  standart sapma, yaş aralığı: 20-60) olarak bulundu. B12 vitamini normal olan grubun % 34,6'ı erkek ve % 65,4'ü kadın bireylerden, B12 vitamini düşük olan grubun % 33,8'i erkek ve % 66,2'si kadın bireylerden oluşmaktaydı. Her iki grubun yaş ortalama değerleri ile cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $P > 0,05$ ). Şekil 16'da gösterildiği üzere serum B12 vitamin düzeyleri iki grupta karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0,001$ ).



**Şekil 16:** B12 vitamini düşük olan grup ile B12 vitamini normal olan grubun serum B12 vitamini değerleri (Ortalama  $\pm$  standart sapma)

rs1801198'e ait genotip ve alel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta : CC % 26,60, CG % 57,45, GG % 15,95; C aleli % 55,32 ve G aleli % 44,68; B12 vitamini normal olan grupta : CC % 34,45, CG % 48,74, GG % 16,81; C aleli % 58,82 ve G aleli

% 41,18 olarak bulundu. Bu genotip ve alel dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2:** rs1801198 gen polimorfizminin alel frekansı ve genotiplerinin dağılımı

Gen	B12 Vitamini	B12 Vitamini	<i>P</i>	OR (CI 95%)
rs1801198	Eksikliği Olan	Normal Olan		
	Grup	Grup		
	n (%)	n (%)		
	94	119		
Genotip				
CC	25 (% 26.60)	41 (% 34.45)		1
CG	54 (% 57.45)	58 (% 48.74)	0.180	0.655 (0.352-1.218)
GG	15 (% 15.95 )	20 (% 16.81)	0.785	0.813 (0.353-1.872)
Allel				
C	104 (% 55.32)	140 (% 58.82)		1
G	84 (% 44.68)	98 (% 41.18)	0.491	0.867 (0.585-1.275)

rs2336573'e ait genotip ve alel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta : CC % 92,62, CT % 5,32, TT % 1,06; C alleli % 96,28 ve T alleli % 3,72; B12 vitamini normal olan grupta : CC % 94,12, CT % 5,04, TT % 0,84; C alleli % 96,64 ve T alleli % 3,36 olarak bulundu. Bu genotip ve alel dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 3).

**Tablo 3:** rs2336573 gen polimorfizminin alel frekansı ve genotiplerinin dağılımı

Gen	B12 Vitamini	B12 Vitamini	<i>P</i>	OR (CI 95%)
rs2336573	Eksikliği Olan	Normal Olan		
	Grup	Grup		
	n (%)	n (%)		
	94	119		
<b>Genotip</b>				
CC	88 (% 93.62)	112 (% 94.12)		1
CT	5 (% 5.32)	6 (% 5.04)	0.925	0.943 (0.279-3.191)
TT	1 (% 1.06 )	1 (% 0.84)	0.990	0.786 (0.048-12.626)
<b>Allel</b>				
C	181 (% 96.28)	230 (% 96.64)		1
T	7 (% 3.72)	8 (% 3.36)	0.990	0.899 (0.320-2.527)

rs1801198 ve rs2336573 gen polimorfizmlerine göre B12 vitamini düzeyleri B12 vitamini normal olan ile B12 vitamini düşük olan gruplarda aynı genotiplerin serum B12 vitamini değerleri karşılaştırıldığında; serum B12 vitamini düzeylerinin, B12 vitamini normal olan grupta rs1801198 gen polimorfizmin CC, CG ve GG genotipleri ile aynı genotipi taşıyan B12 vitamini eksikliği olan gruba göre yüksek olduğu saptandı ( $p < 0,001$ , sırasıyla) (Tablo 4).

Benzer şekilde iki grup karşılaştırıldığında, serum B12 vitamini değerlerinin B12 vitamini normal olan grupta rs2336573 gen polimorfizmin CC ve CT genotiplerinde

ile aynı genotipi taşıyan B12 vitamini eksikliği olan gruba göre yüksek olduğu saptandı ( $p<0,001$ , sırasıyla) (Tablo 4). Her iki grupta TT genotip taşıyanların sayısı birer kişiydi (Yetersiz örnek sayısından dolayı istatistiksel analiz yapılamadı).

**Tablo 4:** B12 vitamini normal olan grubun ve B12 vitamini düşük olan grubun rs1801198 ve rs2336573 gen polimorfizmlerinin genotiplerine göre B12 vitamini düzeyleri (Ortalama  $\pm$  standart sapma)

	B12 Vitamin (ng/l)		
	B12 Vitamini Eksikliği Olan Grup	B12 Vitamini Normal Olan Grup	<i>P</i>
rs1801198			
CC	158.24 $\pm$ 25.02	313.55 $\pm$ 97.21	0.001
CG	153.35 $\pm$ 19.91	320.50 $\pm$ 98.79	0.001
GG	153.86 $\pm$ 24.68	341.10 $\pm$ 177.35	0.001
rs2336573			
CC	155.70 $\pm$ 21.16	319.50 $\pm$ 116.95	0.001
CT	152.00 $\pm$ 14.83	350.00 $\pm$ 48.29	0.001
TT*			

\*Yetersiz örnek sayısından dolayı istatistiksel analiz yapılamadı.

## 5. TARTIŞMA

Son yıllarda çeşitli toplumlarda yapılan çalışmalarda, B12 vitamini eksikliğinin yaygın olduğu görülmektedir. B12 vitamini hücrenel süreçlerde, bazı enzimlerin aktivitesinde koenzim olarak rol aldığından hayati önem taşır; bu nedenle eksikliği geçici ve kalıcı birçok sağlık sorununa sebep olmaktadır. Bunlardan hematolojik belirtiler eksiklik durumunun tedavisinden sonra düzelmesine rağmen nörolojik belirtiler geri döndürülemediğinden toplum sağlığı için önemli bir durumdur. B12 vitamininin alım-yararlanım azlığı yanı sıra ilişkili gen polimorfizmleri de eksiklik nedenleri arasındadır. Diyetle alınan B12 vitamini çeşitli proteinlere bağlanarak vücut kompartmanlarına taşınmaktadır. Yapılan çalışmalarda B12 vitamini düzeyleri ile B12 vitamini taşıyıcı proteinleri ve bazı biyokimyasal parametrelerin düzeyleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada total transkobalamin II düzeylerinin, transkobalamin I düzeylerinden 2-3 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Plazmadaki B12 vitamini % 80-90 oranında transkobalamin I ve haptokorrinlere, % 10-20 oranında transkobalamin II'ye bağlıdır. Transkobalamin II, dokulara yaklaşık 4 nmol en fazla günde 6 nmol B12 vitamini temin ederken, transkobalamin I ise günde 0,1 nmol B12 vitamini temin eder. Transkobalamin I'in fonksiyonu tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen, B12 vitaminini karaciğere taşıdığı ileri sürülmektedir( Nexo et al 2002). Transkobalamin II esas taşıyıcı protein olduğu için B12 vitaminin vucüta aktif formunu yansıtmaktadır. TC-II-B12 vitamini, reseptör aracılı endositozla hücre içine alınarak işlev göreceği dokulara taşınır. Transkobalamin II geni, bir plazma globülünü olan transkobalamin II' yi (TCN2) kodlamaktadır. Çeşitli TCN2 gen mutasyonlarının, transkobalaminin tam veya kısmi eksikliğe neden olduğu ileri sürülmektedir. Otozomal resesif geçişe bağlı TCN2 patojenik varyantları sonucunda transkobalamin II eksikliği, infantil başlangıçlı megaloblastik anemi, büyüme geriliği, nörolojik hastalık ve immünolojik hastalıkların ile karakterizedir (Kaikov et al 1991, Rosenblatt and Watkins 2014, Schiff et al 2010).

Transkobalamin reseptörü eksikliğinde, TC-II-B12'nin hücreye alınma sürecinde bozukluk olup az sayıda bireyde görüldüğü klinik fenotipin iyi tanımlanmamış ve asemptomatik olduğu bildirilmiştir (Hannah-Shmouni et al 2018 ). Abuyaman ve

arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, çözünür transkobalamin II reseptör düzeylerinde (sCD320) Alzheimer, demans hastaları ile sağlıklı kontrol bireyleri arasında farklılık tespit edilmemiştir. sCD320 ile bilişsel işlev puanları arasında lineer olmayan korelasyonun varlığı görülmüştür (Abuyaman, Combrinck, Smith and Nexo 2017 ). Diğer bir araştırmada Abuyaman ve arkadaşları, preeklampsi riskinde, sCD320, holo transkobalamin ve total transkobalamin düzeylerinin ilk trimesterde serum konsantrasyonlarında bir farklılık saptamamışlardır (Abuyaman, Tarring, Obeid and Nexo 2016). Simonsen ve arkadaşlarının çalışmasında, B12 vitamini ve bu vitamin ile ilişkili proteinler total B12 vitamini, haptokorin, transkobalamin, B12 vitamini ile satüre olan transkobalamin ve holo transkobalaminin çözünür hücre yüzeyi reseptörü, hem fibrolamellar hepatoselüler karsinomalı hem de kronik karaciğer hastalarında kontrollere göre arttığı gözlenmiştir. Bu durumun, birincil karaciğer kanseri ile değil, kronik karaciğer hastalıkları ile ilişki olabileceği ileri sürülmüştür(Simonsen et al 2014). Kurnat-Thoma ve arkadaşları yaptıkları çalışmada SNP'lerden rs2336573 ile ortalama serum kobalamin konsantrasyonunun , rs1801198'nin ise kırmızı kan hücresi ortalama korpusküler hacim değişiklikleri ile ilgisi olduğu yönünde bulgular tespit edilmiştir (Kurnat-Thoma et al 2015 ). Garrod ve arkadaşların yaptıkları çalışmada, Kuzey Kaliforniya'da 554 yaşayan yaşlı Latin bireylerde (yaş aralığı 60-93), TCN2P259R (rs1801198) B12 vitamini ve homosistein konsantrasyonları ile TC 776 genotipinin ilişkili olduğu saptanmıştır (Garrod et al 2010). İran toplumunda tekrarlayan spontan düşüklere yapılan çalışmada, transkobalamin II rs1801198 ve transkobalamin II reseptörü rs2336573 gen polimorfizmlerinin bir risk oluşturmadığı bulunmuştur (Hashemi et al 2017). Han Çin Popülasyonunda B12 Vitamini ve Folat Metabolizması ile ilgili transkobalamin 2 (TCN2) rs1801198, metiyonin sentaz (MTR) rs1805087, metiyonin sentaz redüktaz (MTRR) rs1801394 ve metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) rs1801133'nin gen polimorfizmlerin çocukluk çağı otizm spektrumu bozukluğunda bir risk faktörü olmadığı tespit edilmiştir ( Zhang, Yu, Li and Liu 2018). Zheng ve arkadaşları Çinli ülseratif koliti olan hastalarda yaptıkları bir çalışmada, TCN2 (rs1801198, rs9606756) varyasyonlarının yanı sıra serum homosistein, B12 vitamini ve folat düzeylerinin ülseratif kolit ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. (Zheng et al 2017 ). Zheng ve arkadaşlarının Crohn hastalığı olan Çinli hastalarında transkobalamin II gen polimorfizmleri ve serum homosistein, folikasit ve

B12 vitamini düzeyleri ilişkisi incelendikleri çalışmada, TCN2 (rs1801198, rs9606756) polimorfizmlerinin ile birlikte folat ve B12 vitamini eksikliğinin Crohn hastalığı ile korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir (Zheng et al 2017).

Literatürde B12 vitamini metabolizması ile ilişkili olan rs2336573 ve rs1801198 tek nükleotid polimorfizmleri çeşitli hastalıklarda incelenmiş ancak bu genlerin serum B12 vitamini düzeyleri ile incelendiği çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Yapılan çalışmalarda, dolaşımdaki B12 vitamini düzeylerinin, B12 vitamini taşıyıcı proteinler ve bazı ilişkili biyokimyasal parametreler ile doğrudan veya dolaylı bir şekilde etkileştiği görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda çelişkili bulgular olmasına rağmen, rs2336573 ve rs1801198 varyantlarının serum transkobalamin II ve transkobalamin II reseptör düzeylerine etkilerinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak çalışmamızda, transkobalamin II gen (rs1801198) ile transkobalamin II reseptör gen (rs2336573) varyant polimorfizimlerinin, bölgemizde yaşayan bireylerde B12 vitamini eksikliğinde risk oluşturup oluşturmadığını belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında rs2336573 ve rs1801198 tek nükleotid polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi. Ancak aynı genotiplerdeki bireylerin serum B12 vitamini değerlerinde anlamlı bir farklılığın olduğu bulundu. Analizlerimizin istatistiksel gücünü etkilemiş olabilecek küçük örneklem büyüklüğü, aynı merkezden hastaların seçilmesi ve haptokorrin, transkobalamin II, çözünür transkobalamin II reseptör ve holo transkobalamin düzeylerinin ölçülemediği olması çalışmamızı sınırlayan faktörlerinden bazılarıdır. B12 vitamini metabolizmasında yer alan bu genlerinin haptokorrin, transkobalamin II, çözünür transkobalamin II reseptör ve holo transkobalamin düzeyleri ile ilişkisinin araştırılamaması çalışmamızın eksik yönlerinden biridir. Ancak bizim çalışmamız bu parametreler ile ilişkili rs2336573 ve rs1801198 tek nükleotid polimorfizmlerinde ki bu farkı ortaya çıkarmak üzere planlanmamıştır.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızın bulgularına göre, çalıştığımız popülasyonda rs1801198'e ait genotip ve allel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta : CC % 26,60, CG % 57,45, GG % 15,95; C aleli % 55,32 ve G aleli % 44,68; B12 vitamini normal olan grupta : CC % 34,45, CG % 48,74, GG % 16,81; C aleli % 58,82 ve G aleli % 41,18 olarak bulundu. Ayrıca rs2336573'e ait genotip ve allel dağılımları B12 vitamini eksikliği olan grupta: CC % 92,62, CT % 5,32, TT % 1,06; C aleli % 96,28 ve T alleli % 3,72; B12 vitamini normal olan grupta: CC % 94,12, CT % 5,04, TT % 0,84; C alleli % 96,64 ve T alleli % 3,36 olarak bulundu. rs1801198 ve rs2336573 ait genotip ve allel dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak grupların aynı genotipleri karşılaştırıldığında serum B12 düzeylerinin B12 vitamini eksikliği olan grupta anlamlı olarak azaldığı görüldü. Bu çalışma sonucunda, rs1801198 ve rs2336573 varyantlarının çalışmamızda yer alan bireylerde bir risk oluşturmadığı ancak aynı genotiplerin B12 vitamini düzeylerindeki farklılığın olması ile B12 vitamini eksikliğinde ilişkili olabileceği tespit edildi. Daha ileri çalışmalar ve daha geniş bireyleri kapsayan gruplarda, bu genler ile birlikte haptokorrin, transkobalamin II, çözümlü transkobalamin II reseptör ve holo transkobalamin düzeylerini de kapsayan B12 vitamini metabolizmasında yer alan moleküler mekanizmalarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.



## KAYNAKLAR

- Abuyaman O, Topping N, Obeid R, Nexo E. First trimester serum levels of the soluble transcobalamin receptor, holo-transcobalamin, and total transcobalamin in relation to preeclampsia risk. *Scand J Clin Lab Invest*. 2016 Dec;76(8):641-644.
- Akcaboy M, Malbora B, Zorlu P, Altinel E, Oguz MM, Senel S. Vitamin B12 Deficiency in Infants. *Indian J Pediatr*. 2015;82(7):619-24.
- Andrew T, Gill Raj, Gillham-Nasenya Irina, R. Ahmadi Kourosch. Unravelling the basis of variability in cobalamin levels in the general population. *Br J Nutr*. 2013; 110(9):1672-9
- Antony AC. Vegetarianism and vitamin B-12 (cobalamin) deficiency. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):3-6.
- Antony AC. Megaloblastic Anemias. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE editors. *Hematology*. New York: Churchill Livingstone Inc, 1995:552- 86.
- Bauman, W.A.; Shaw, S.; Jayatilleke, E.; Spungen, A.M.; Herbert, V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000, 23, 1227-1231
- Carmel R. Inherited and drug induced megaloblastic anemia. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM (Eds.). *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999(1). P. 973-8.
- Castro R, Borroso M, Rocha M, Esse R, Ramos R, Ravasco P, Rivera I. The TCN2 776CNG polymorphism correlates with vitamin B(12) cellular delivery in healthy adult populations. *Clin Biochem*. 2010;43(7-8):645-9.
- Chandrakant Belwal. Causes and Conditions Associated with Reduced Level of Vitamin B12: A Review. *IJPSR*, 2012; Vol. 3(10): 3651-3655.

- Coelho D, Kim JC, Miousse IR, Fung S, du Moulin M, Buers I, Sourmala T, Burda P, Frapolli M, Stucki M et al. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B12 metabolism. *Nat Genet.* 2012;44(10):1152–5.
- Cooper BA, Rosenblatt DS, Whitehead VM. Megaloblastic Anemia. In: Nathan DG, Oski FA, editors. *Hematology of infancy and childhood.* Philadelphia: W.B. Saunders company, 1993:354-90
- Coşkun T. B12 vitamini. *Katkı Pediatri Dergisi* 2003;25:419-33
- Den Elzen, W.P.; Groeneveld, Y.; De Ruijter, V.; Souverijn, J.H.; Le Cessie, S.; Assendelft, W.J.; Gussekloo, J. Long-term use of proton pump inhibitors and vitamin B12 status in elderly individuals. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008, 27, 491-497.
- De Mattia E, Toffoli G. C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalisation. *Eur J Cancer.* 2009;45(8):1333–51
- Faraci FM. Hyperhomocysteinemia: a million ways to lose control. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(3):371–3.
- Fettelschoss V, Burda P, Sagne C, Coelho D, De Laet C, Lutz S, Sourmolo T, Fowler B, Pietrancosta N, Gasnier B, B, Froese DS, Baumgartner MR. Clinical or ATPase domain mutations in ABCD4 disrupt the interaction between the vitamin B12 trafficking proteins ABCD4 and LMBD1. *J Biol Chem.* 2017;292(28):11980–91.
- Food and Nutrition Board: Institute of Medicine, Vitamin B12. In *Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin and choline*; National Research Council, Ed. National Academy Press: Washington, DC, USA, 1998; 306-356
- Garrod, M. G. Allen, L. H, Haan, M. N, Green, R, Miller, J. W. (2010). Transcobalamin C776G genotype modifies the association between vitamin B12 and homocysteine in older hispanics. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, 503–509.

- Gille D, Schmid A. Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutr Rev.* 2015; 73(2):106
- Graner John.L. 1985. *Canadian Medical Association Journal* 133(9):855-7, 880 · December 1985
- Grarup N, Sulem , Sandholt , Thorleifsson , Ahluwalia , Steinhorsdottir , Bjarnason , Gudbjartsson DF, Magnusson OT, Spars T, Albrechtsen A, Kong A, Masson G, Tian G, Cao H, Nie C, Kristiansen K, Husemoen LL, Thuesen B, Li Y, Nielsen R, Linneberg A, Olafsson I, Eyjolfsson GI, Jørgensen T, Wang J, Hansen T, Thorsteinsdottir U, Stefánsson K, Pedersen O. Genetic architecture of vitamin B12 and folate levels uncovered applying deeply sequenced large datasets. *PLoS Genet.* 2013; 9(6):e1003530
- Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller JW, Molloy AM, Nexø E<sup>7</sup>, Stabler S, Toh BH, Ueland PM, Yajnik C. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Nat Rev Dis Primers.* 2017 Jun 29; 3: 17040.
- Gustavo C. Román, in *Handbook of Clinical Neurology*, 2013
- Gözükara E. *Biyokimya.* 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2001:706-9.
- Guyton AC, Hall JE: *Textbook of Medical Physiology*, 9th ed. Philadelphia, PA, W.B.Saunders, Co, 1996; p. 845-847
- Haddad EH, Berk LS, Kettering JD, Hubbard RW, Peters WR. Dietary intake and biochemical, hematologic, and immune status of vegans compared with nonvegetarians. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70 : 586-93
- Haggarty P. B-vitamins, genotype and disease causality. *Proc Nutr Soc.* 2007; 66(04):539–47
- Hall CA. Function of vitamin B12 in the central nervous system as revealed by congenital defects. *Am J Hematol* 1990;34: 121-7.
- Hall CA. 1992. Hannah-Shmouni 2018 ; Yazarlar, yayınlanmamış gözlemler.

- Hashemi M, Mokhtari M, Yazdani-Shahrbabaki V, Danesh H, Bizhani F, Taheri M. Evaluation of transcobalamin II rs1801198 and transcobalamin II receptor rs2336573 **gen**epolymorphisms in recurrent spontaneous abortion. *J Obstet Gynaecol.* 2018 Aug;38(6):860-863. doi: 10.1080/01443615.2017.1420045
- Hazra A, Peter Kraft, Ross Lazarus, Constance Chen, Stephen J. Chanock, Paul Jacques, Jacob Selhub and David J. Hunter. Genome-wide significant predictors of metabolites in the one-carbon metabolism pathway. *Hum Mol Genet.* 2009;18(23):4677–87.
- Herbert V. Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assay. *Am J Clin Nutr* 1988;48:852–8.
- Herrmann W, Obeid R. 2008) Causes and early diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Dtsch Arztebl Int.* 2008 Oct;105(40):680-5.
- John L. Graner. Addison, pernicious anemia and adrenal insufficiency. *Can Med Assoc J.* 1985; 133: 855-7.
- Kaikov Y, Wadworth, LD, Hall CA and Rogers PC. 1991 , Watkins ve Rosenblatt 2014
- Kayaalp SO: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji; Antianemik ilaçlar II: Megaloblastik anemilere karşı kullanılan ilaçlar. Sekizinci basım, Hacettepe –Taş Kitabevi, 2.cilt, Ankara, 1998; s:1580-1588.
- Keyfi F, Fatemeh Keyfi, Mohammad Reza Abbaszadegan, Arndt Rolfs, Slobodanka Orolicki, Morteza Moghaddassian and Abdolreza Varasteh Identification of a novel deletion in the MMAA gene in two Iranian siblings with vitamin B12-responsive methylmalonic acidemia. *Cell Mol Biol Lett.* 2016;21:4.
- Kim J, Gherasim C, Banerjee R. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(38):14551–4.
- Kirke, P.N.; Molloy, A.M.; Daly, L.E.; Burke, H.; Weir, D.G.; Scott, J.M. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *Q. J. Med.* 1993, 86, 703-708

- Kliegman R, Nelson WE. Nelson Textbook of Pediatrics. 20th edition. Philadelphia, Elsevier/Saunders 2015;1648
- Korotkova N, Lidstrom ME. MeaB is a component of the methylmalonyl-CoA mutase complex required for protection of the enzyme from inactivation. *J Biol Chem.* 2004; 279(14):13652–8.
- Kozyraki R, Cases O. Vitamin B12 absorption: mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie.* 2013 May; 95(5):1002-7.
- Kurnat-Thoma EL, Pangilinan F, Matteini AM, Wong B, Pepper GA, Stabler SP, Guralnik JM, Brody LC. Association of Transcobalamin II (TCN2) and Transcobalamin II-Receptor (TCblR) Genetic Variations With Cobalamin Deficiency Parameters in Elderly Women. *Biol Res Nurs.* 2015 Jul;17(4):444-54. doi: 10.1177/1099800415569506
- Lee GR, Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology.* Baltimore:Williams&Wilkins, 1999:228-66.
- Lee HS, Lee HS, Choe G, Kim WH, Kim HH, Song J, Park KU. Expression of Lewis antigens and their precursors in gastric mucosa: relationship with *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinogenesis. *J Pathol.* 2006;209(1):88–94
- Lewis, M.S.; Miller, L.S.; Johnson, M.A.; Dolce, E.B.; Allen, R.H.; Stabler, S.P. Elevated methylmalonic acid is related to cognitive impairment in older adults enrolled in an elderly nutrition program. *J. Nutr. Elder.* 2005, 24, 47-65.
- Lerner-Ellis JP, et al. Identification of the gene responsible for methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type. *Nat Genet.* 2006;38(1):93–100.
- Lin X, JP, Tirone JC, Pawelek PD, Doré C, Atkinson JL, Watkins D, Morel CF, Fujiwara TM, Moras E, Hosack AR, Dunbar GV, Antonicka H, Forgetta V, Dobson CM, Leclerc D, Gravel RA, Shoubridge EA, Coulton JW, Lepage P, Rommens JM, Morgan K, Rosenblatt DS. Identification of the gene responsible for methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type. *Nat Genet.* 2006;38(1):93–100

- Liu, S.; West, R.; Randell, E.; Longerich, L.; O'Connor, K.; Scott, H.; Crowley, M.; Lam, A.; Prabhakaran, V.; McCourt, C. A comprehensive evaluation of food fortification with folic acid for the primary prevention of neural tube defects. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2004, 4, 20.
- Li J, , Xie C , Xie XY , Wang DM , Pei XT et al. Regulatory role of HTm4 gene in hematopoietic cell cycle. *Sheng Li Xue Bao*. 2005;57(2):188–92.
- Matthias R. Baumgartner, in *Handbook of Clinical Neurology* 2013
- Minot GR, Murphy LP. Treatment of pernicious anemia by a special diet.1926. *Yale J Biol Med*. 2001; 74: 341-53.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al: *Harper's Biochemistry*, 24 th ed. Appleton & Lange, 2003; 253:313-318
- Namour F, , Olivier J, Abdelmouttaleb I, Adjalla C, Debard R, Salvat C, Guéant J. Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood. *Blood*. 2001;97(4):1092–8.
- National Health and Medical Research Council, Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand. In Department of Health and Ageing, Ed. Australian Government: Canberra, Australia, 2005; pp. 91-96
- Nexo E, Hvas AM, Bleie O, Refsum H, Fedosov SN, Vollset SE, Schneede J, Nordrehaug JE, Ueland PM, Nygard OK. Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebocontrolled study. *Clin Chem* 2002;48:1768–71
- Nilsson SE, Read S, Berg S, Johansson B. Heritabilities for fifteen routine biochemical values: findings in 215 Swedish twin pairs 82 years of age or older. *Scand J Clin Lab Invest*.2009;69(5):562–9

- Nongmaithem SS, Joglekar CV, Krishnaveni GV, Sahariah SA, Ahmad M, Ramachandran S, Gandhi M, Chopra H, Pandit A, Potdar RD, H D Fall C, Yajnik CS, Chandak GR. GWAS identifies population specific new regulatory variants in FUT6 associated with plasma B12 concentrations in Indians. *Hum Mol Genet.* 2017;26 (13):2551-64.
- O'Leary F1, Samman S. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients.* 2010 Mar;2(3):299-316.
- Quadros EV. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol.* 2010;148(2):195–204.
- Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR, Wood TR, Folkers K. Crystalline vitamin B12. *Science* 1948; 107: 396-7.
- Roed C, Skovby F, Lund AM. Severe vitamin B12 deficiency in infants breastfed by vegans. *Ugeskr Laeger.* 2009;171(43):3099-101
- Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and folate deficiency. Acquired and hereditary disorder in children. *Semin Hematol* 1999;36:19-34.
- Sally P. Stabler ve Robert H. Allen 2004
- Scott JM, Weir DG: The methyl folate trap. *Lancet*, 1981; 337-340.
- Simonsen K, Rode A, Nicoll A, Villadsen G, Espelund U, Lim L, et al. Vitamin B<sub>12</sub> and its binding proteins in hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases. *Scand J Gastroenterol.* 2014 Sep;49(9):1096-102. doi: 10.3109/00365521.2014.921325
- Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:299-326.
- Stanislawska-Sachadyn A, Stanisławska-Sachadyn A<sup>1</sup>, Woodside JV, Sayers CM, Yarnell JW, Young IS, Evans AE, Mitchell LE, Whitehead AS. The transcobalamin (TCN2) 776C>G polymorphism affects homocysteine concentrations among subjects with low vitamin B(12) status. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(11):1338–43.

- Surendran S, Adaikalakoteswari A, Saravanan P, Shatwaan IA, Lovegrove JA, Vimaleswaran KS. An update on vitamin B12-related gene polymorphisms and B12 status. *Genes Nutr.* 2018 Feb 6;13:2.
- Tanaka T, Scheet P, Giusti B, Bandinelli S, Piras MG, Usala G, Lai S, Mulas A, Corsi AM, Vestrini A, Sofi F, Gori AM, Abbate R, Guralnik J, Singleton A, Abecasis GR, Schlessinger D, Uda M, Ferrucci L. Genome-wide association study of vitamin B6, vitamin B12, folate, and homocysteine blood concentrations. *Am J Hum Genet.* 2009;84(4):477–82
- Wallig Matthew A, Keenan Kevin P. in Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology, 2013
- Watanabe F. Vitamin B12 sources and bioavailability. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007; 232(10):1266-74.
34. World Health Organization. Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation. 2nd Edition. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004;341.
- Van Dam, F.; Van Gool, W.A. Hyperhomocysteinemia and Alzheimer's disease: A systematic review. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2009, 48, 425-430
- Yenson M. İnsan Biyokimyası. 4. Baskı. İstanbul: Çeliker Matbaacılık, 1981:624-8.
- Zhang Z, Yu L, Li S, Liu J. Association Study of Polymorphisms in **Genes** Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population. *Med Sci Monit.* 2018 Jan 19; 24:370-376.
- Zheng S, Wu C, Yang W, Xia X, Lin X, Jiang L, Ding R, Jiang Y. An Analysis of Transcobalamin II Gene Polymorphisms and Serum Levels of Homocysteine, Folate and Vitamin B12 in Chinese Patients with Crohn's Disease. *Dig Dis.* 2017;35(5):463-471. doi: 10.1159/000471848



## EKLER

### Ek 1. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulundan Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 23/02/2018-E.2925



T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 71522473/050.01.04/51  
Konu : Girişimsel Olmayan Etik Kurul  
Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Prof. Dr. Birsen AYDEMİR  
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyofizik Anabilim Dalı

İlgi : 16.02.2018 tarihli 56 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "B12 Vitamini Eksikliğinde Transkobalamin II Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" isimli çalışmanın ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen şekilde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER  
Etik Kurulu Başkanı

Yücel DEMİR  
Etik Kurulu Sekr.

Güvenli Elektronik  
İmzalı Aslı ile Aynıdır.  
23.02.2018

Evrak Doğrulamak İçin : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BEL546T2E>

Fakülte Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya  
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629  
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



## ÖZGEÇMİŞ

### I-Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Buket KÜÇÜK ATAMAN  
Doğum yeri ve tarihi : Adapazarı/SAKARYA  
Uyruğu : T.C.  
Medeni durumu : Evli  
İletişim adresi ve telefonu : dr.buket54@gmail.com  
Yabancı dili : İngilizce

### II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Biyofizik yüksek lisans

Süleyman Demirel Üniversitesi

Adapazarı Atatürk Lisesi

Sakarya İlkokulu

### III-Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

#### IV- Mesleki Deneyimi

2002 yılından günümüze kadar Sağlık Bakanlığına bağlı kurum kuruluşlarda görev yaptım.

#### V-Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

#### VI- Bilimsel İlgi Alanları Yayınları

Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler :

Öğüt S, Cinemre FB, Cinemre H, Bahtiyar N, Ataman Kucuk B, Bektaş M, Kızıler AR, Aydemir B. Sağlık Hizmetleri Meslek ve Sağlık BilimleriYüksekokullarındaki ÖğrencilerinElektromanyetik Alan Maruziyetinin Araştırılması. Sakarya Medical Journal. 2018;8(3):475-480.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

Ataman BK, Ertan E, Cinemre FB, Cinemre H, Aydemir B. “ Lutesyum-177'nin Medikal Önemi” Journal of Human Rhythm Suppl 2017,III. Ulusal Tıp Kongresi Geleceğin Tıbbi III, Sakarya Üniversitesi Esentepe Kampüsü, Kongre Merkezi, Sakarya, 6-8 Mayıs 2017.

**VII-Bilimsel Etkinlikleri**

**VIII-Diğer Bilgiler**