



**SAKARYA**  
ÜNİVERSİTESİ

**T.C.**

**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA TİYOL  
DİSÜLFİT DENGESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ece Cansu Okur**

**MART-2021**



**T.C.**  
**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**  
**VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ OLAN ÇOCUKLARDA TİYOL**  
**DİSÜLFİT DENGESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ece Cansu Okur**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih ORHAN**

**MART-2021**

Bu araştırma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından 2019-6-26-01 proje numarası ile desteklenmiştir.

## BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 19.06.2019 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 01.03.2021

Ece Cansu OKUR

İmza:

## TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları'nda uzmanlık eğitim sürem boyunca bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım kliniğimizin saygıdeğer öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Öner ÖZDEMİR, Prof. Dr. Mustafa BÜYÜKAVCI, Doç. Dr. İbrahim CANER, Dr. Öğr. Üyesi Meltem KARABAY ve Dr. Öğr. Üyesi Pınar DERVİŞOĞLU ÇAVDAROĞLU'na, üzerimizde emeği çok olan, şu an yanımızda olamasalar bile varlıklarıyla bizlere güç veren sayın Prof. Dr. Mustafa KÖSECİK ve Prof. Dr. Şükriye Pınar İŞGÜVEN hocalarımıza,

Tez konusunun belirlenmesinden tezin son aşamasına gelene kadar bana yol gösteren, yoğun iş temposu arasında çok değerli vaktini ayırarak destek ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleri ile bana ışık tutan tez danışmanım saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih ORHAN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana büyük katkıları olan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum Doç. Dr. Bahri ELMAS'a,

Çalışma hastalarımın toplanmasında emeği geçen Uzm. Dr. Behiye KOZACIOĞLU'na,

Her daim tecrübelerinden faydalandığım, benden bilgilerini esirgemeyen, üzerimde emeği olan tüm değerli uzman ve yan dal uzmanı ağabeylerim ve ablalarım,

Zorlu asistanlık hayatında tanışma fırsatını yakaladığım, acı tatlı pek çok anıyı paylaştığım, her zaman desteğini hissettiğim Dr. Halime ÇİÇEK, Dr. Gizem BÖKE KOÇER ve sevgili Uzm. Dr. Defne ALİKILIÇ'a,

Birlikte çalışma fırsatı yakaladığım asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin değerli hemşire, sekreter ve personeline,

Yanımda olduklarını bildiğim, bana kardeşlik duygusunu tattıran dostlarıma, hayatımın her aşamasında sevgilerini hissettiğim, deneyimleri ile bana yol gösteren emek, sabır ve fedakârlıkla beni büyüten canım aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

**Dr. Ece Cansu OKUR**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	i
KISALTMA VE SİMGELER.....	iii
ŞEKİLLER.....	iv
TABLOLAR .....	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. VİTAMİN B12 VE EKSİKLİĞİ.....	4
<b>2.1.1. Vitamin B12 Eksikliğinin Klinik Bulguları</b> .....	5
<b>2.1.2. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısal Değerlendirmesi</b> .....	7
2.2. VİTAMİN B12’NİN FİZYOLOJİK GÖREVLERİ.....	11
2.3. OKSİDATİF STRES VE VİTAMİN B12 .....	13
2.4. TİYOL DİSÜLFİT DENGESİ.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	17
3.1. HASTALARIN SEÇİMİ.....	17
3.2. NUMUNELERİN TOPLANMASI VE LABORATUVAR ÇALIŞMASI....	18
3.3. NUMUNELERİN İMHASI .....	19
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	19
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA .....	38
6. SONUÇLAR .....	48
7. KAYNAKLAR .....	50
8. ÖZET.....	60
9. ABSTRACT .....	61
10. EKLER.....	62



## KISALTMA VE SİMGELER

<b>AGE</b>	: İleri glikasyon son ürünler
<b>Hgb</b>	: Hemoglobin
<b>İBH</b>	: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
<b>İKU</b>	: İyi klinik uygulama
<b>MCV</b>	: Ortalama eritrosit hacmi
<b>MMA</b>	: Metilmalonik asit
<b>NHANES</b>	: Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması (National Health and Nutrition Examination Survey)
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen molekülleri
<b>RDW</b>	: Kırmızı küre dağılım genişliği
<b>TAC</b>	: Total antioksidan kapasite
<b>THF</b>	: Tetrahidrofolat
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör-alfa
<b>TOS</b>	: Toplam oksidan durumu
<b>WBC</b>	: Beyaz kan hücresi

## ŞEKİLLER

**Şekil 1.** Vitamin B12'nin homosistein ve MMA metabolizmasındaki rolleri

**Şekil 2.** Vitamin B12 ve folat metabolizmasındaki kesişme noktaları

**Şekil 3.** Vitamin B12 eksikliğinin oksidatif stres ile ilişkisi

**Şekil 4.** Vitamin B12 eksikliği tanısında nativ tiyol için ROC eğrisi

**Şekil 5.** Vitamin B12 eksikliği tanısında total tiyol için ROC eğrisi

**Şekil 6.** Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfit için ROC eğrisi

**Şekil 7.** Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfit/nativ tiyol oranı için ROC eğrisi

**Şekil 8.** Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfit/total tiyol oranı için ROC eğrisi

**Şekil 9.** Vitamin B12 eksikliği tanısında nativ tiyol/total tiyol oranı için ROC eğrisi

**Şekil 10.** Vitamin B12 eksikliği tanısında homosistein için ROC eğrisi



## TABLULAR

**Tablo 1.** Vitamin B12 eksikliği sebepleri

**Tablo 2.** Çalışma gruplarının demografik ve klinik verilerinin karşılaştırılması

**Tablo 3.** Vaka grubunun başvuru semptomlarının dağılımı

**Tablo 4.** Çalışma gruplarının beslenme özelliklerinin karşılaştırılması

**Tablo 5.** Çalışma gruplarının B12 ve tiyol/disülfid parametrelerinin karşılaştırılması

**Tablo 6.** Çalışma gruplarının folat ve ferritin sonuçlarının karşılaştırılması

**Tablo 7.** Çalışma gruplarının hemogram sonuçlarının karşılaştırılması

**Tablo 8.** Vaka grubunda vitamin B12, homosistein ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 9.** Vaka grubunda folat ve ferritin değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 10.** Vaka grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 11.** Kontrol grubunda vitamin B12, homosistein ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 12.** Kontrol grubunda folat ve ferritin değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 13.** Kontrol grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

**Tablo 14.** Vaka grubunda vitamin B12 düzeyleri üzerine bağımsız değişkenlerin çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları

**Tablo 15.** Vaka grubunda homosistein düzeyleri üzerine bağımsız değişkenlerin çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Suda çözünebilir temel bir vitamin olan B12 vitamini, başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve çeşitli türevleri bulunan bir antioksidan vitamindir. İnsan vücudunda vitamin B12 sentez edilememektedir. Vitamin B12 özellikle hayvansal gıdalarda, en fazla sığır karaciğeri ve böbreğinde bulunur. Diyetle yeterli alım olmaması halinde vitamin B12 eksikliği görülür (Sibrian-Vazquez *et al.*, 2010).

Vitamin B12 eksikliği, birçok fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Özellikle hematolojik ve nöropsikotik semptomlar dikkat çekicidir. Çocuklarda, solukluk, halsizlik, yorgunluk, stomatit, ishal, irritabilite gibi spesifik olmayan klinik bulgular ile seyredildiği gibi; geç tanı konulmuş vakalarda ağır anemi ile birlikte gelişme geriliği, mental motor gerilik, ataksi, pareteziler, hiporefleksi, klonus, kazanılmış motor ve mental fonksiyonların (oturma, yürüme, konuşma, gülme vs.) kaybı, konvülsiyon ve ileri dönemde koma görülebilir (Akcaboy *et al.*, 2015).

Reaktif oksijen molekülleri (ROS) normal hücrel metabolizma, hava kirleticileri veya sigara dumanı gibi çevresel faktörlerin bir sonucu olarak canlı organizmalar tarafından üretilir. Yüksek oranda reaktif özelliği bulunan ROS, karbonhidrat, nükleik asit, lipit ve proteinler gibi hücre yapılarına zarar vererek fonksiyonlarında değişiklikler oluşturabilir. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengede oksidanlar lehine kaymaya "oksidatif stres" denir (Birben *et al.*, 2012). Oksidan ve antioksidan durumunun düzenlenmesi, hücre yaşayabilirliği, aktivasyonu, çoğalması ve organ fonksiyonu için kritiktir. Aerobik organizmalar, ROS'un zararlı etkilerini bloke etmede genellikle etkili olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içeren entegre antioksidan sistemlerine sahiptir (Birben *et al.*, 2012).

Vitamin B12'nin antioksidan özelliği konusunda güçlü deliller bulunmaktadır (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019). İndirekt olarak homosistein düzeyini düşürerek antioksidan etki gösteren vitamin B12'nin eksikliği ile metilmalonil koenzim A mutaz enziminin aktivitesi ve metionin sentaz aktivitesi bozulur. Metilmalonil koenzim A mutaz enziminin aktivitesinin bozulması sonucunda serum

metilmalonik asit (MMA) seviyeleri ve idrar MMA atılımı artar. Metionin sentaz aktivitesinin kesilmesi de homosistein seviyelerinin yükselmesine neden olur. Homosistein ve MMA düzeyleri, vitamin B12 eksikliği sürecinde artmakta olan belirteçler olup erken tanı aşamasında seviyelerinin ölçümü önemlidir (Güney *et al.*, 2015).

İnsan vücudunda çevresel faktörlerin bir sonucu olarak organizma tarafından üretilen reaktif oksijen türleri, lipitler, nükleik asitler, proteinler vb. gibi hücre yapılarına zarar verirler (Birben *et al.*, 2012). Vitamin B12 eksikliğinde, MMA seviyelerinin artışı, yağ asidi sentezi ve katabolizmasını içeren sitrik asit döngüsünü bozmakta olup ATP sentezini inhibe eder. ATP sentezinin inhibisyonu reaktif oksidatif türlerin artışına neden olmaktadır (Güney *et al.*, 2015). Süperoksit dismutaz ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller içeren ROS, organizma için oldukça toksiktir (Roberts *et al.*, 2010). Oksidatif stresin, kanser, diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve astım dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığı iddia edilmektedir. Homosistein seviyelerinde artış, oksidatif stres ile yakından ilişkilidir (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019). Sibrian-Vazquez M ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada homosisteinin gelişmekte olan disülfid bağlarını etkileyen reaktif oksijen türleri üreterek oksidatif stresi tetiklediği iddia edilmiştir (Sibrian-Vazquez *et al.*, 2010).

Oksidan durum, moleküler düzeyde birçok reaksiyondan kaynaklanan ve olumsuz bir etkiye sahip olan toplam yük olarak tanımlanabilir. Antioksidan durum ise, oksidan moleküllere karşılık gelişen koruyucu tepkidir. Toplam oksidan durumu (TOS), oksidatif taraf lehine oksidatif / antioksidan oranda gelişen bir kaymanın in vivo belirleyicisi olarak tanımlanırken, total antioksidan kapasitesi (TAC) ise tüm plazma antioksidan substratlarını yansıtmaktadır (Güney *et al.*, 2015).

Antioksidan kapasitenin yeterli olmadığı durumlarda, ROS'un fizyolojik seviyelerin üzerine çıkmasıyla beraber, sistin rezidülerinde redoks modifikasyonu oluşmaktadır. Bu redoks reaksiyonunda sistinde bulunan sülfür atomu okside olarak disülfite dönüşmektedir. Böylece dinamik tiyol/disülfid dengesi disülfid yönünde yer değiştirmekte ve oksidatif hücre hasarı başlamaktadır. Sülfhidril (-SH) grubu içeren tiyoller, ROS'un olumsuz etkilerine karşı vücutta birçok savunma sistemlerinden birini

oluşturur ve sülfür atomundan okside olarak geri dönüşümlü disülfid köprüleri oluşturmak için oksidan molekülleri tarafından oksitlenen ROS'un ana hedefidir. Bu biçimlendirilmiş disülfid köprüleri, tiyol gruplarına indirgenebilir (Guzelcicek *et al.*, 2019). Doğal tiyol (SH), disülfid (SS) ve total tiyol (SH + SS) plazma seviyelerini ölçerek  $\beta$ -talasemi majörlü ( $\beta$ -TM) çocuklarda oksidatif stres durumu araştırılmış olup SH, SS, SH + SS düzeyleri ve SS / SH oranı  $\beta$ -TM hastalarında kontrollere göre belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur (Guzelcicek *et al.*, 2019). Bu çalışmadaki serbest demirin oksidan durumu, vitamin B12 eksikliğinde ortaya çıkan homosisteinin oksidan durumuna projekte edilebilir. Bunun yanı sıra Aşkar ve ark. tarafından yapılan çalışmada vitamin B12 eksikliği anemilerinde oksidatif stres ve nesfatin-I düzeyleri yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Aşkar *et al.*, 2017).

Vitamin B12 eksikliğinin, bir solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ta hücrel  $H_2O_2$  ve NO içeriğini önemli ölçüde arttırdığı ve düşük moleküllü antioksidan [azaltılmış glutatyon (GSH) ve L-askorbik asit] seviyelerini ve antioksidan enzimi (süperoksit dismutaz ve katalaz) aktivitelerini önemli ölçüde azalttığı bulundu (Bito *et al.*, 2017). Bu çalışmadaki sonuçlar vitamin B12 eksikliği sırasında oluşan hafıza bozukluğunun kısmen oksidatif strese bağlı olduğunu göstermiştir.

Yukarıdaki kanıtlar, düşük vitamin B12'nin hem genel hem de subklinik yetersiz olduğu bireyler için, normal vitamin B12 statüsünde olanlara kıyasla artmış pro-oksidan ve azalmış antioksidan durum ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Oksidan ve antioksidan kapasiteyi aynı anda hassas olarak ölçen yeni bir yöntem olarak tiyol/disülfid dengesi ön plana çıkmaya başlamıştır. Literatür tarandığında, vitamin B12 eksikliği olan çocukların oksidatif stres ve antioksidan kapasitesinin göstergesi olarak tiyol/disülfid dengesini araştıran bir çalışma yapılmadığı saptanmıştır. Bu çalışma, vitamin B12 eksikliği olan çocuklardaki tiyol/disülfid dengesinin semptom, klinik ve laboratuvar bulguları ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. VİTAMİN B12 VE EKSİKLİĞİ

Vitaminler, metabolizmanın devamı için az miktarlarda bulunması esansiyel olan ve insan vücudu tarafından genel olarak sentez edilemeyen, birbirinden kimyasal olarak farklı organik maddelerdir. Vitamin B12, suda eriyen vitaminler grubundadır ve kobalamin olarak da adlandırılır. Hayvansal ürünlerden elde edilen gıdalarda bulunur. Endojen formları, kobalamin ve plazma aktif fraksiyonunu oluşturan holotranskobalamindir. Siyanokobalamin (kimyasal sentez ile siyanid grubu eklenmiş form) ve hidroskobalamin tedavide kullanılan takviye formlarıdır (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).

Vitamin B12 eksikliği prevalansı, eksiklik tanımı için kullanılan eşik değere göre farklı popülasyonlar arasında değişiklik gösterir. Hollanda'da 2016 yılında genel popülasyondan 3324 anemisi olan hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, 46 (%1,4) kişide vitamin B12 eksikliği tespit edilmiştir (Stouten *et al.*, 2016). İnfant ve çocuklarda ise vitamin B12 eksikliği nadiren ortaya çıkar. Ülkemizden Balci ve arkadaşlarının 12-18 yaş aralığında 1120 çocuk ile bildirdikleri bir çalışmada, kombine demir eksikliği ve vitamin B12 eksikliği anemisi sıklığı %2,3 olarak saptanmıştır (Balci *et al.*, 2012). Vitamin B12 eksikliği olan emziren annelerin bebeklerinde eksiklik gelişebilir, bu durum fark edilmez ve tedavisiz bırakılır ise gelişme geriliği veya kalıcı nörolojik hasar gelişmesi ile sonuçlanabilir (Honzik *et al.*, 2010).

Vitamin B12 eksikliği olan bireylerin çoğunda başka vitaminlerin de eksikliğine sebep olabilecek klinik durumlar mevcuttur. Bazı olgularda, bu durum biliniyor iken, bazı olgularda ise vitamin B12 eksikliği tanısı konduktan sonra altta yatan durumun tanısı konulur. Vitamin B12 eksikliğine sebep olan durumlar; azalmış alım, azalmış emilim, otoimmün hastalıklar, vitamin B12 emilimi veya stabilitesini bozan ilaçlar ve nadir genetik hastalıklar başlıkları altında sıralanabilir (Green, 2017). Eksikliğe sebep olan klinik durumlar tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Vitamin B12 eksikliği sebepleri

<b>Gastrik bozukluklar</b>	İntrinsik faktör veya paryetal hücelere karşı otoantikör varlığı (Örn; Pernisyöz anemi) Gastrektomi/bariyatrik cerrahi Gastrit Otoimmün metaplastik atrofik gastrit
<b>İnce bağırsak hastalıkları</b>	Malabsorbsiyon sendromu İleal rezeksiyon veya bypass İnflamatuvar barsak hastalıkları Çölyak hastalığı Bakteriyel aşırı çoğalma Kör loop sendromu Dibothriocephalus latus (balık şerit kurdu)
<b>Pankreatit</b>	Pankreatik yetmezlik
<b>Diyet</b>	Vitamin B12 eksikliği olan annenin emzirdiği infant Katı vegan diyet Gebelikte vejetaryen diyet
<b>Emilimi bloke eden veya bozan ajanlar</b>	Neomisin Biguanidler (Örn; metformin) Proton pompa inhibitörleri (Örn; omeprazol) Histamin 2 reseptör antagonistleri (Örn; simetidin) Nitröz oksid (N <sub>2</sub> O) gazı, anestezi veya uyuşturucu amaçlı
<b>Kalıtımsal transkobalamin II eksikliği</b>	

### 2.1.1. Vitamin B12 Eksikliğinin Klinik Bulguları

Vitamin B12 eksikliğinin klasik bulguları makrositik anemi ile ilişkili bulgular, kirli sarı cilt (anemi ve sarılığın etkisi ile) ve değişken nörolojik bozukluklardır. Bu

bulgular hastaların daha ileri evrelerde bulgu verdiği 20. yüzyılın başlarında daha yaygın görülmekte iken, günümüzde de yeterli kaynaklara sahip olmayan ülkelerde yaşayan bireylerde karşımıza çıkabilmektedir. Tam kan sayımı gibi tetkiklerin daha yaygın kullanılması ile hastalara daha erken dönemde tanı konmakta ve klasik bulgular artık daha nadir ortaya çıkmaktadır (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).

Anemiye bağlı semptomlar; eksikliğin şiddetine, hemoglobin seviyesine ve kişinin genel sağlık durumuna göre değişkenlik gösterir. Hastaların çoğunda yorgunluk, irritabilite ve kognitif fonksiyonlarda azalma gibi en azından bir kısmı anemiye atfedilebilecek nonspesifik semptomlar vardır. Kemik iliğindeki eritrositlerin öncül hücreleri çok hızlı bölündükleri için, vitamin B12 eksikliği ile nükleik asit sentezinde oluşacak bozulmalara oldukça duyarlıdır. Göğüs ağrısı ve nefes darlığı gibi doku hipoksisi ve organ iskemisine sekonder gelişebilecek semptomlar, ciddi anemisi olan veya halihazırda iskemik kalp hastalığı olan bireylerde izlenebilir. Ancak, vitamin B12 eksikliği genellikle yavaş yavaş geliştiği için, kompensatuar mekanizmaların devreye girmesiyle doku hipoksisine bağlı semptomlar daha hafif bir şekilde karşımıza çıkmaktadır. Ciddi anemisi olanlarda cilt soluk izlenebilir. Hemolize sekonder ikter gelişen olgularda limon renginde cilt görünümü ortaya çıkabilir (Green, 2017). Vitamin B12 eksikliği, infant ve küçük çocuklarda oldukça nadirdir, ancak eksiklik gelişenlerde büyüme gecikmesi veya geriliği, beslenme problemleri, hipotoni, irritabilite, tremor veya konvulziyona sebep olabilir (Honzik *et al.*, 2010).

Vitamin B12 eksikliğinin en önemli gastrointestinal semptomu glossittir (ağrı, şişkinlik, hassasiyet ve dil üzerindeki papillaların kaybı). Gastrointestinal sistem hücreleri hızlı bölüdüğü için nükleik asit sentezindeki bozulmalara diğer organ sistemlerine göre daha hassastır ve daha erken dönemde bu belirtiler ortaya çıkabilir. İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) veya çölyak hastalığı gibi B12 eksikliğine sebep olan klinik durumların gastrointestinal semptomları da izlenebilir (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).

Vitamin B12 eksikliğinde en yaygın görülen nörolojik bulgular; simetrik parestezi veya his kaybı ve yürüyüş problemleridir. Nöropati, tipik olarak simetriktir ve ayaklar kollardan daha sık etkilenir. Klasik nörolojik bulgu, demiyelinizasyona sekonder spinal kordun dorsal ve lateral kolonlarının (beyaz cevher) subakut kombine

dejenerasyonudur. Bu durumun neticesinde ilerleyici kuvvet kaybı, ataksi, spastisite ve paraplejiye ilerleyebilen parestezi gelişebilir. Bütün olgularda gelişme bile bu bulguların varlığı tam açısından faydalı olabilir (Stabler, 2013). Depresyon ve duygu durum değişiklikleri, irritabilite, insomnia, kognitif yavaşlama, unutkanlık, demans, psikoz, optik atrofiye bağlı görme bozukluğu ve huzursuz bacak sendromu gibi diğer nörolojik bulgular da gelişebilir (Mohamed *et al.*, 2020).

Cilt hiperpigmentasyonu, artmış osteoporoz riski (mekanizma tam olarak bilinmemektedir) ve pernisiyöz anemisi olanlarda artmış gastrik kanser riski vitamin B12 eksikliğinde ortaya çıkabilecek diğer bulgulardır (Merriman *et al.*, 2010)(Green and Datta Mitra, 2017).

### **2.1.2. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısal Değerlendirmesi**

Diyetsel eksikliklerin yaygın bir problem teşkil etmediği ülkelerde aşağıdaki bulgulardan bir veya daha fazlası olanlarda vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilmelidir (Stabler, 2013):

- Açıklanamayan anemi, makrositoz (MCV>100 fL), pansitopeni veya hipersegmente nötrofil
- Açıklanamayan nörolojik veya psikiyatrik semptomlar
- Sıkı vegan diyet veya emilimi bozan klinik durumlar
- Tiroidit veya vitiligo gibi bazı otoimmün hastalıklar veya kronik metformin kullanımı
- Ağrılı dil, anoreksi veya ishal gibi gastrointestinal semptomlar

Vitamin B12 eksikliğinden şüphelenilen bireylerde tıbbi öykü alınırken; çölyak veya İBH gibi ilişkili hastalıklar açısından geçmişte alınmış olan tanılar, bariyatrik, gastrik veya intestinal cerrahi öyküsü, azalmış diyetsel alım (vegan veya vejetaryen diyet), alkol kullanımı (bağımsız olarak makrositik anemiye veya beslenme bozukluğuna sebep olabilir) ve nörolojik veya psikiyatrik semptomların varlığı sorgulanmalıdır (Mohamed *et al.*, 2020)(Stabler, 2013).



Fizik muayenede, gastrointestinal ve dermatolojik bulgulara dikkat edilmelidir. Mental durum ve santral veya periferik nöropati ile ilişkili durumlar (vibrasyon, proprioepsiyon veya hafif dokunma duyusunda bozulma, ataksi, kuvvet kaybı) açısından ayrıntılı bir nörolojik muayene yapılmalıdır (Stabler, 2013).

Vitamin B12 eksikliği açısından toplumun rutin olarak değerlendirilmesi konusu tartışmalıdır. Ancak, bu taramanın sonuçları iyileştirdiği veya maliyet etkin olduğu konusunda kanıt yoktur. Mevcut durumda, eksiklik ile ilişkili belirti ve bulguları olan bireylere test yapılması önerilmektedir (Herrmann and Obeid, 2012)(Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).

Laboratuvar incelemeye, genel olarak tam kan sayımı ve periferik yayma ile başlanır. Anemi, makrositik eritrositler veya makro-ovalositoz, hafif lökopeni ve/veya trombositopeni, düşük retikülosit sayısı ve periferik yaymada hipersegmente nötrofil varlığı (nötrofillerin  $>5\%$ 'inde 5 ve daha fazla lob bulunması veya  $\geq 1\%$ 'inde 6 ve daha fazla lob bulunması) bulgularından en az biri tespit edilebilir. Makrositoz ve nötrofillerin hipersegmentasyonu anemiden önce gelişir ve izole bulgu olarak da karşımıza çıkabilir. Tam kan sayımında, MCV değerinin  $>115$  fL olması B12 eksikliği açısından oldukça spesifiktir. Ancak, MCV'nin normal olması B12 eksikliği tanısını dışlatmaz. Hemolizin eşlik ettiği durumlarda serum LDH düzeyleri yüksek bulunabilir (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014). Serum vitamin B12 düzeyi birçok merkezde kemiluminesans yöntemi ile ölçülmektedir ve bu yöntemin semptomatik hastalarda sensitivitesi yaklaşık  $95\%$ , spesifitesi ise  $80\%$  civarındadır (Oberley and Yang, 2013). Serum vitamin B12 düzeyleri aşağıdaki gibi yorumlanır (Stabler, 2013):

- $>300$  pg/mL ( $>221$  pmol/mL) – normal
- $200-300$  pg/mL ( $148-221$  pmol/mL) – sınırda; eksiklik olabilir, ek testler yapmak faydalı olur
- $<200$  pg/mL ( $148$  pmol/mL) – düşük; eksiklik ile uyumlu, ek testler tanıyı kesinleştirmek ve olası sebepleri ortaya koymak için uygun olur

Vitamin B12 düzeyi eksikliği tanısı kesin ise tedaviye başlanır ve altta yatan sebep varlığı araştırılır. Bunun sonucuna göre replasman yöntemi ve süresi belirlenir (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).

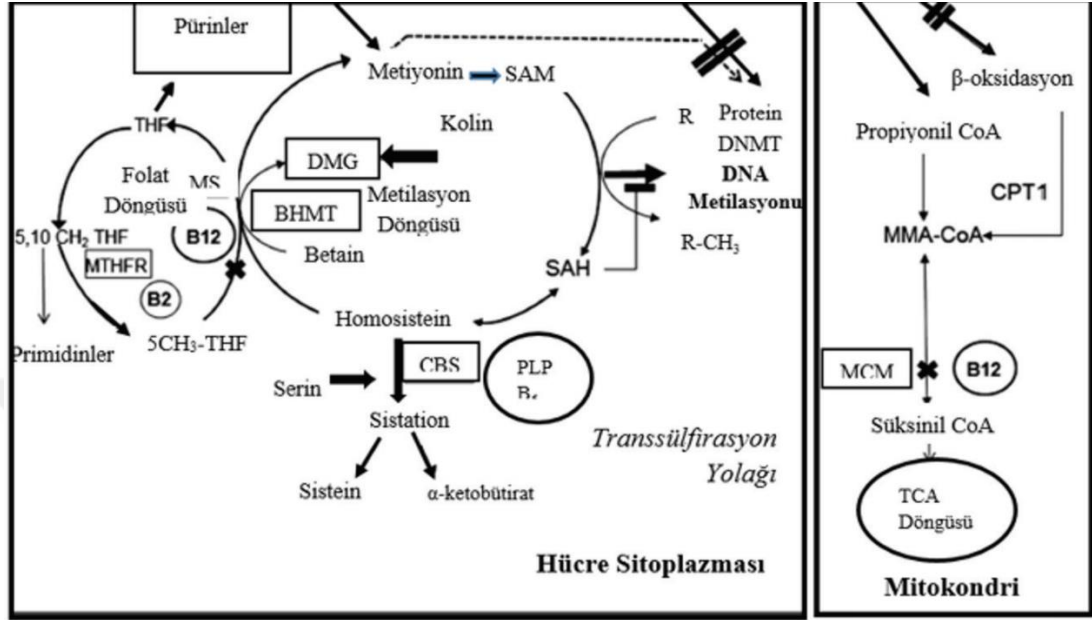
Otomatize testlerin performansı ve farklı laboratuvarların kullandıkları metodlar arasındaki uyum açısından dikkat edilmesi gereken hususlar vardır. Bu sebeple sonucun sınırdaki olduğu olgularda veya laboratuvar sonucunun klinik ile uyumlu olmadığı durumlarda ek testlere gerek vardır. Örneğin, bir çalışmada ayaktan izlenen 456 bireyin haftalar boyunca ölçülen vitamin B12 düzeylerinde %23'lük bir dalgalanma tespit edilmiştir. Bireylerin beşte birinde bu değişkenlik 100 pg/mL'nin üstünde bildirilmiştir (Solomon, 2005). Bazı klinik durumlarda (multiple myeloma, HIV enfeksiyonu, gebelik, oral kontraseptif kullanımı ve difenilhidantoin kullanımı gibi) yalancı düşük vitamin B12 düzeyleri karşımıza çıkmaktadır. Bu durumlara genel olarak vitamin B12 bağlayan protein üretimindeki azalmaların sebep olduğu düşünülmektedir. Örneğin, vitamin B12 düzeyi düşük (45-199 pg/mL) 50 gebe kadın ile yapılan bir çalışmada, MMA ve homosisteine yönelik metabolit testleri ile vitamin B12 arasında korelasyon bulunmamıştır (Morkbak *et al.*, 2007). Bazı klinik durumlar (okkült malignite, miyeloproliferatif neoplazi, alkolik karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı, nitroz oksit maruziyeti ve bazı metabolik hastalıklar) ise hastada eksiklik olmasına rağmen yalancı yüksek veya normal sonuçlara sebep olmaktadır (Green, 2017).

Vitamin B12 eksikliği tanısında kullanılan ek testler MMA ve homosistein ölçümüdür ve bu testler genellikle ilk vitamin B12 ölçümü sınırdaki veya tutarsız ise kullanılır. Homosistein ve MMA ölçümlerinde laboratuvar ve kit spesifik eşik değerler kullanılır. Genel olarak serum MMA için 70-270 nmol/L ve homosistein için 5-15 mikromol/mL referans aralıkları kullanılır. Sonuçlar şu şekilde yorumlanır (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014):

- MMA ve homosistein normal - vitamin B12 eksikliği yok
- MMA ve homosistein artmış - vitamin B12 eksikliği var
- MMA normal, homosistein artmış - vitamin B12 eksikliği yok, folat eksikliği olabilir

Vitamin B12, mitokondride gerçekleşen ve metilmalonil-CoA mutaz tarafından katalize edilen metilmalonil-CoA'nın suksinil-CoA'ya dönüştüğü reaksiyonda kofaktör olarak görev alır ve eksikliğinde MMA düzeyi artar (Oberley and Yang, 2013) (Şekil 1). Renal yetmezliği olanlarda vitamin B12 eksikliği olmadan da MMA

düzeleleri artmış bulunabilir. Böyle durumlarda, otoantikör testi veya parenteral B12 tedavisine klinik yanıt değeriendirilmesi yapılabilir (Devalia, Hamilton and Molloy, 2014).



(Temel and Özerol, 2002)

**Şekil 1.** Vitamin B12'nin homosistein ve MMA metabolizmasındaki rolleri (**BHMT:** Betain-homosistein S-metiltransferaz, **CBS:** Sistiyanin B sentaz, **CPT1:** Karnitin palmitoiltransferaz, **DGM:** Dimetilglisin, **DNMT:** DNA metiltransferaz, **MCM:** Metilmalaonil-CoA mutaz, **MMA-CoA:** Metilmalonil CoA, **MTHFR:** Metilentetrahidrofolat redüktaz, **MS:** Metiyonin sentaz, **PLP R.:** Pridoksal 5-fosfat, **SAH:** S-adenozil homosistein, **SAM:** S-adenozil metiyonin, **TCA:** Trikarboksilik asit, **THF:** Tetrahidrofolat)

Homosistein ve MMA düzeylerinde önemli dalgalanmalar olabilir ve beklenmedik şekilde normal veya anormal seviyeler tekrar edilmelidir. Aşağıda sıralanan klinik durumlarda vitamin B12 ve folat eksikliği olmadan MMA düzeylerinde değişiklikler tespit edilebilir (Solomon, 2005)(Devalia, Hamilton and Molloy, 2014);

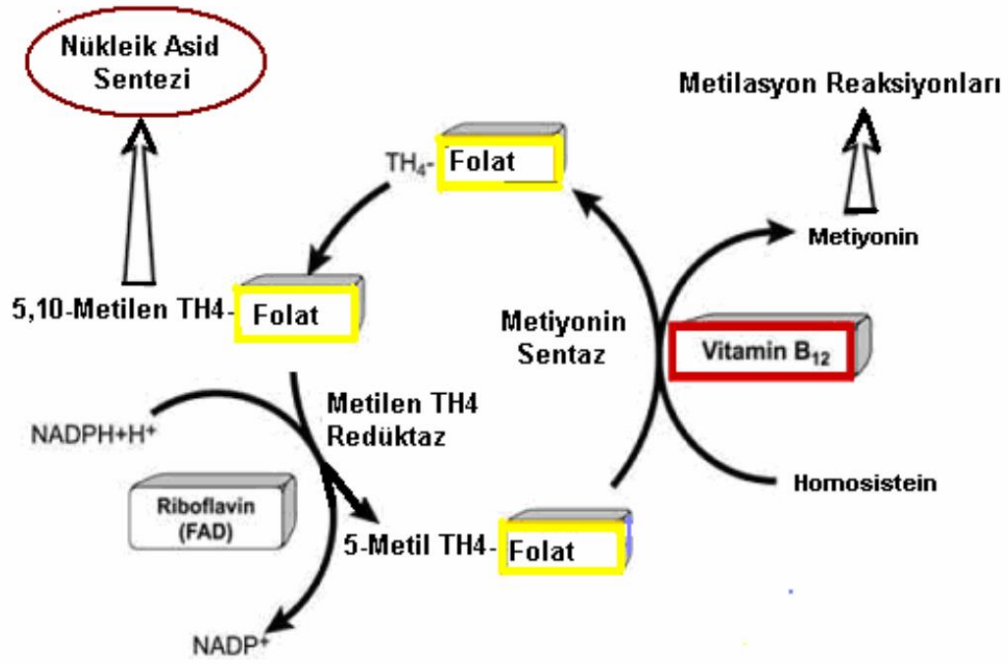
- Renal yetmezlik (MMA artar)
- Metilmalonik asidemi (asidüri) (MMA artar)
- Hereditör homosisteinemi (homosistein artar)

- Antibiyotik tedavisi (MMA düşer, intestinal flora değişikliğine sekonder MMA'nın öncüsü olan propionik asit azalır)

Böyle durumlarda, pernisiyöz anemi açısından otoantikör testi veya vitamin tedavisine hematolojik yanıt değerlendirmesi yapmak gerekebilir.

## 2.2. VİTAMİN B12'NİN FİZYOLOJİK GÖREVLERİ

Vitamin B12 temel olarak; nükleik asit sentezinde, hematopoezde ve sinir sisteminde görev almaktadır. Vitamin B12 eksikliğinde DNA sentezi bozulur, bunun sonucunda hücre siklusunda DNA sentezi (S) fazında duraklama, DNA replikasyon hataları ve/veya apoptoz gelişir (Green, 2017). Vitamin B12, 5-metiltetrahidrofolatın, tek karbon donörü olarak tetrahidrofolata (THF) dönüşmesi işleminde kofaktör olarak görev alır. Tetrahidrofolat oluşumu, homosisteinin metionine dönüşümü işlemi için gereklidir. Sonrasında ise THF, folatın 10-formil-THF ve metilen-THF gibi karbon donörü olan formlarına dönüşür (Friso *et al.*, 2017). Vitamin B12'nin olmadığı durumlarda folat, 5-metil-THF formunda kalır. Ek olarak, Vitamin B12'nin olmaması tek karbon donörü olan S-adenozilmetionin yapımında gerekli olan metionin eksikliğine sebep olur. Tek karbon metabolizması, DNA sentezinde birçok reaksiyon için gereklidir. Pürin sentezinde, 10-formil-THF iki metil grubu verir. Pirimidin sentezinde, 5,10-metilen-THF bir metil grubu vererek deoksiüridin monofosfatın deoksitimidin monofosfata dönüşmesini sağlar (Şekil 2). Tekrarlayan DNA sentez siklus defektleri sonucunda, DNA sarmalında kırılmalar ve fragmentasyon gelişir. Sentez (S) fazında, stoplazmik maturasyona göre oluşan gecikmeler nükleer-sitoplazmik dissenkroni olarak adlandırılır ve bu durum kemik iliğinde gelişen megaloblastik değişikliklerin temelini oluşturur. Apoptotik hücrelerin ölmesi ise inefektif eritropoezin temelini oluşturur. S-adenozilmetioninin, S-adenozilhomosisteine dönüşmesi sırasında oluşan metil grupları, DNA metilasyonu (metil gruplarının DNA veya DNA bağlayan proteinlere eklenmesi ile gen ekspresyonunun artması veya azalmasına sebep olabilen epigenetik modifikasyon) ve lipid ile miyelin bazik proteinlerin metilasyonunda (nöronal fonksiyonlarda görev alır) da kullanılır (Friso *et al.*, 2017) (Green, 2017).



(Sönmezışık, 2009)

**Şekil 2.** Vitamin B12 ve folat metabolizmasındaki kesişme noktaları (TH4–Folat: Tetrahydrofolat)

Hematopoetik öncü hücreler, insan vücudunda en hızlı bölünen hücreler arasındadır ve vitamin B12 eksikliği sonucu gelişecek DNA sentez bozukluklarına karşı en hassas hücre gruplarındandır. Bu eksiklik sonucunda temel olarak megaloblastik değişiklikler ve inefektif eritropoez gelişir. Kemik iliğinde, megaloblastik değişiklikler olarak sitoplazma olgunlaşması ile uyumsuz şekilde olgunlaşmamış veya morfolojik olarak anormal nükleuslar, dev metamyelositler ve artmış mitotik figürler ortaya çıkabilir. Bunların neticesinde, izole anemi ve/veya diğer sitopeniler gelişebilir. Periferik yaymada, makrositik eritrositler ve hipersegmente nötrofiller klasik bulgular olarak karşımıza çıkar (Green, 2017).

### 2.3. OKSİDATİF STRES VE VİTAMİN B12

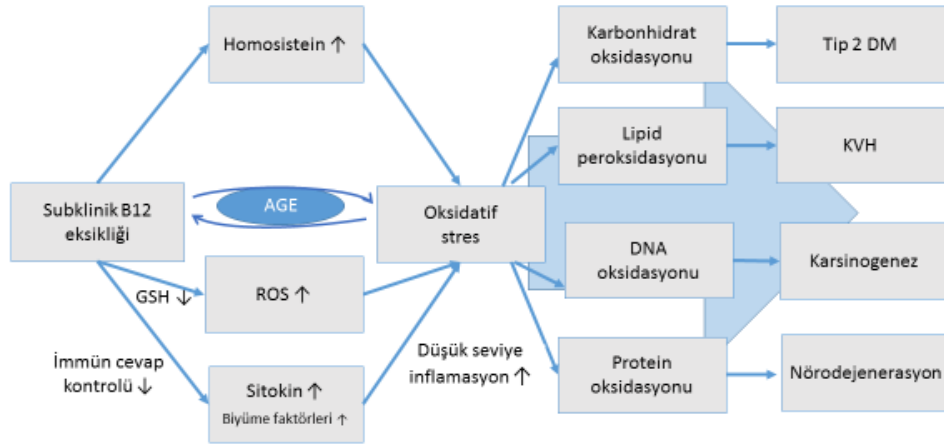
Oksidatif stres, ROS gibi pro-oksidan bileşenlerin antioksidan tamponlama kapasiteyi aşması durumunda gelişen tablo olarak tanımlanır (Pisoschi and Pop, 2015). Ökaryotik hücreler, sürekli olarak endojen antioksidanlar aracılığıyla serbest radikalleri baskılamaya ve gidermeye çalışır. Sigara, enfeksiyonlar, bazı kimyasallar ve ilaçlar oksidatif stres gelişmesine katkıda bulunan başlıca çevresel faktörlerdir. Selenyum, vitamin C, vitamin E, flavonoidler ve büyük olasılıkla vitamin B12 gibi ekzojen antioksidanlar oksidatif stresin azaltılmasına yardımcı olmaktadır (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019).

Oksidatif stres geliştiğinde artan ROS, ilk olarak inflamasyonu ve eş zamanlı sitokin üretimini tetikler. Bu durumun kendisi de ROS üretimini kolaylaştırır (Di Meo *et al.*, 2016). İnflamasyon, normal şartlarda doku iyileşmesine katkıda bulunur. Ancak, gerekli olandan daha uzun sürer ise yıkıcı etkilere sebep olabilir. Düşük düzey inflamasyonun, Alzheimer ve Parkinson gibi yaş ile ilişkili hastalıklarda nedensel bir faktör olduğu düşünülmektedir (Michaud *et al.*, 2013). İkincil olarak, ROS molekülleri karbonhidrat, lipid ve DNA modifikasyonu ile fonksiyonel bileşenlere ve dokulara doğrudan hasar verebilir (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019).

Vitamin B12'nin antioksidan özelliklerinin incelendiği birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, *in vitro* olarak insan aort endotel hücrelerinde fizyolojik dozlarda siyanokobalamin tedavisi ile sitozol ve mitokondride süperoksit düzeylerinde düşme gösterilmiştir. Ancak, bu sonuca ulaşmanın etki mekanizması tartışmalıdır (Moreira, Brasch and Yun, 2011). Nöronal hücrelerin incelendiği *in vivo* deneylerde, bu bulgular teyit edilmiştir. *In vivo* olarak Long-Evan ratlarında yapılan çalışmada, B12 tedavisi ile retinal ganglion hücrelerde süperoksit patlamaların anlamlı düzeyde azalması ve hücre sağ kalımının uzaması ile benzer sonuçlar bildirilmiştir. Yazarlar, enzimatik olarak işlenmiş B12'nin doğrudan süperoksit toplayıcısı (çöpçüsü) olarak davrandığını iddia etmişlerdir (Chan *et al.*, 2018). Vitamin B12, glutatyon düzeylerinin korunmasını sağlayarak ROS moleküllerinin temizlenmesine dolaylı olarak katkıda bulunmaktadır (Karamshetty *et al.*, 2016).

Vitamin B12, B6 ve folat; homosistein metabolizmasında önemli kofaktörlerdir ve subklinik vitamin B12 eksikliği intraselüler homosistein birikmesine katkıda bulunur (Green *et al.*, 2017). Homosistein, başlıca oto-oksidasyon ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini artırmak ve diğer birçok farklı mekanizma üzerinde ROS birikmesine sebep olmaktadır (Tyagi *et al.*, 2005).

Son olarak, vitamin B12 eksikliği sonucunda tarif edilen mekanizmalar ile oksidatif stres gelişmesi, vitamin B12'nin hücreye alınmasını ve kullanılmasını bozabilmektedir. Bu teori, ileri glikasyon son ürünler (AGE) ile ilişkilendirilmektedir. Bu ürünlerin oksidatif strese ve hücrel vitamin B12 alımının bozulmasına sebep olduğu öne sürülmüştür (Obeid, Shannan and Herrmann, 2011). Oksidatif stresin kendisi de AGE oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Vitamin B12 eksikliğin oksidatif strese sebep olması, oksidatif stresin de AGE üzerinden hücrel B12 alımını bozması ile B12 eksikliğin derinleştiği bir pozitif feed-back döngüsü gelişebilmektedir (Obeid, Shannan and Herrmann, 2011)(Frijhoff *et al.*, 2015). Oksidatif stres tablosunda subklinik/ klinik vitamin B12 eksikliğin olası rolleri şekil 3'te özetlenmiştir.



(van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019)

**Şekil 3.** Vitamin B12 eksikliğin oksidatif stres ile ilişkisi

## 2.4. TİYOL DİSÜLFİT DENGESİ

Tiyoller, karbon atomuna sülfür (S) ve hidrojen (H) atomunun bağlanması ile oluşan sülfidril (-SH) grubu içeren organik bileşiklerdir. Cıvaya bağlanabilme özelliğinden ötürü merkaptanlar olarak da isimlendirilir. Bu moleküller, oksidatif strese oldukça duyarlıdır ve insan vücudundaki en önemli antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir (Sen and Packer, 2000). Albümin tiyoller, protein tiyoller ve az miktarda sistein, sisteinilglisin, glutasyon, homosistein ve gama-glutamil sisteinin yer aldığı düşük molekül ağırlıklı tiyoller plazma tiyol havuzunu oluşturur (Turell, Radi and Alvarez, 2013). Fizyolojik aerobik metabolizma sonucu organizmada oluşan ROS molekülleri, fazla elektronlarını tiyol içeren bileşiklere aktararak disülfid bağları oluşturur ve onları oksitler. Sistinde bulunan sülfür atomu okside olarak disülfite (-S-S) dönüşmektedir. Oksidan-antioksidan dengenin sağlanması ile oluşan disülfid bağları tekrar tiyollere indirgenebilir. Diğer bir ifade ile: Tiyol disülfid dengesi dinamik bir yapıya sahiptir (Jones and Liang, 2009). Tiyol disülfid dengesi başta antioksidan korumanın sağlanması olmak üzere, detoksifikasyon mekanizmalarında, sinyal iletiminde, apoptozda, enzimatik aktivitelerin, transkripsiyon faktörlerinin ve hücre sinyal mekanizmalarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir (Biswas, Chida and Rahman, 2006).

Son yıllarda geliştirilen biyokimyasal yöntemler ile her iki değişken (nativ tiyol ve disülfid) düzeyi ayrı ayrı ve toplamsal (total tiyol=nativ tiyol + disülfid) olarak ölçülebilmekte, hem bireysel hem de bütünsel (tiyol/disülfid oranı) olarak değerlendirilebilmektedir (Erel and Neselioglu, 2014).

Son dönemlerde, birçok hastalıkta tiyol/disülfid homeostazisinin önemini araştıran çalışmalar bildirilmiştir. Bu dengenin klinik uygulamadaki rolünün araştırıldığı bir derlemede 35 çalışma değerlendirilmiş ve tiyol/disülfid dengesinin vücuttaki koruyucu etkisi olduğu ve birçok hastalıkta tanısal belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Erenler and Yardan, 2017). Genel popülasyonda, tiyol/disülfid dengesindeki bozulmanın diyabet, kardiyovasküler hastalık, kanser, romatoid artrit, kronik böbrek hastalığı, edinilmiş immün yetmezlik sendromu, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Friedreich ataksisi, multipl skleroz, amyotrofik lateral skleroz ve karaciğer hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde de rol aldığını gösteren çok sayıda



çalışma bulunmaktadır (Erenler and Yardan, 2017). Pediatrik yaş grubunda ise tiyol/disülfid dengesinin polikistik over hastalığı (Ozler *et al.*, 2016), akut tonsillofarenjit (Kara *et al.*, 2017), obezite (Elmas *et al.*, 2017), atopik dermatit (Uysal *et al.*, 2018), epilepsi (Halil *et al.*, 2019), hipotiroidi (Uçaktürk *et al.*, 2018), bazı metabolik hastalıklar (Zubarioglu *et al.*, 2017), hipertansiyon (Çakıcı *et al.*, 2018), kafa travması (Giden *et al.*, 2018), juvenil idiyopatik artrit (Altinel Acoglu *et al.*, 2018), febril nöbet (Kurt *et al.*, 2018), akut böbrek hasarı (Ayar *et al.*, 2018), nefrotik sendrom (Yazilitaş *et al.*, 2019), Kawasaki hastalığı (Kaman *et al.*, 2019) ve sepsis (Ayar *et al.*, 2019) gibi farklı hastalıklardaki rolü araştırılmıştır. Dinamik tiyol/disülfid dengesinin değerlendirilmesi, çeşitli normal veya anormal biyokimyasal süreçler ile ilgili değerli bilgiler sağlayabilir (Erel and Neselioglu, 2014). Ancak, yaptığımız uluslararası literatür taramasında, pediatrik yaş grubunda vitamin B12 eksikliğinde tiyol/disülfid dengesinin araştırıldığı bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmayla, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidan-antioksidan dengesinin tiyol/disülfid sistemi üzerinden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. HASTALARIN SEÇİMİ

Çalışma; Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniklerinde Temmuz 2018-Temmuz 2019 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmaya, vitamin B12 eksikliği nedeni ile başvuru yapmış, yaşı 0-18 yıl arası olan ve homosistein tetkiki yapılmış 61 hasta dahil edilmiştir. Benzer yaş ve cinsiyette vitamin B12 eksikliği olmayan 62 çocuk kontrol grubu olarak alınmıştır. Tüm hastalardan ve yaş gruplarına göre gerek duyulanların yakınlarından iyi klinik uygulamalar (İKU) kapsamında aydınlatılmış onam alınmıştır.

#### **Katılımcıların çalışmaya dahil edilme kriterleri:**

1. Vitamin B12 eksikliği (200 ng/L altında) saptanması
2. Hemodinamik olarak stabil, şok tablosunda olmayan ve inotrop-vazopressör desteği gerektirmeyen veya uygulanmayan hastalar
3. Çalışmaya katılmayı kabul edenler
4. Kronik hastalığı bulunmayanlar
5. Sürekli ilaç kullanımı olmayanlar
6. Fizik muayene ve semptomlarında enfeksiyon bulgusu olmayan hastalar

#### **Katılımcılar için çalışmadan dışlanma kriterleri:**

1. Çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler
2. Hemodinamik instabilitesi bulunan, şok tablosunda ve inotrop-vazopressör desteği gereken veya uygulananlar
3. Vitamin B12 üzerine etki edecek ilaç kullanması
4. G6PD eksikliği olması
5. Kronik hastalığı olması
6. Sürekli ilaç kullanım öyküsü olması

### 3.2. NUMUNELERİN TOPLANMASI VE LABORATUVAR ÇALIŞMASI

Hastalardan vitamin B12 (N: 200-883 ng/L) analizi için antikoagülan içermeyen tüplerde gelen numunelerin pıhtılaşma süreci tamamlandıktan sonra venöz kan numuneleri rutin işleyiş içinde 1500 g de 10 dk santrifüj edildi. Seçilen örneklerin hemolizli ve lipemik olmamasına dikkat edildi. Vitamin B12 düzeyi Abbott Architect I 2000 SR (Abbott Laboratories Abbott Park IL, 60064, USA) cihazında kemilüminesans yöntemiyle ölçüldü.

Homosistein (N: 5-12 µmol/L) düzeyi Immulite otoanalizatöründe enzyime-linked chemiluminescent immunosorbent assay yöntemi (2000 Siemens, Healthcare Diagnostics, Almanya) ile analiz edilmiştir.

Tam kan sayımı; otomatik analizör (Celdyn 3400; Abbott Diagnostics, Chicago, Ill) kullanılarak numunenin alınmasından itibaren 1 saat içerisinde çalışılmıştır.

İdrarda MMA düzeyi ise Agilent GC-MS Spektrometresi (Agilent. Technologies. ABD.) cihazında GC (Gaz Kromatografi) ve MS'nin (Kütle Spektrometresi) kombinasyonu olan GC/MS yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen sonuçlar standartlara uymadığı için analiz dışı bırakıldı.

Vaka ve kontrol grubundan tiyol/disülfid ölçümü için sarı kapaklı düz tüpe venöz kan örneği alındı. Kan örnekleri en geç 15 dk içinde santrifüj edildikten sonra ayrılan serum -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Serum tiyol/disülfid düzeyi yeni geliştirilen otomatik ölçüm metodu ile otomatik klinik kimyasal analiz (Roche, cobas 501, Mannheim, Germany) cihazı ile ölçüldü. Basit (nativ) tiyol düzeyi (-SH) ve total tiyol (-SH+S-S-) düzeyleri direkt ölçüldü. Bu ölçümlerden -S-S- (disülfid=total tiyol-nativ tiyol/2), -S-S-/-SH (disülfid/nativ tiyol), -S-S-/-SH+S-S- (disülfid/total tiyol) ve -SH/-SH+S-S- (nativ tiyol/total tiyol) düzeyleri hesaplandı.

### 3.3. NUMUNELERİN İMHASI

Kan numuneleri 9 Ekim 2013 tarihli Resmî Gazete Sayı: 28790 MADDE 29 – (1) Tıbbi laboratuvara ait tıbbi atıkların yönetimi, 25 Ağustos 2011 tarihli Resmî Gazete Sayı: 28036 MADDE 33 – (1) Laboratuvara ait tıbbi atıklar ile ilgili işlemler, 22/7/2005 tarihli ve 25883 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Tıbbî Atıkların Kontrolü Yönetmeliğine uygun olarak, tıbbi atık şeklinde bertaraf edildi.

### 3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sayısal değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler medyan (minimum-maksimum) şeklinde, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile ifade edildi. Bağımsız grupların sayısal değişkenleri karşılaştırılırken; normal dağılım gösterenlerde Student t testi, normal dağılım göstermeyenlerde Mann Whitney U testi kullanıldı. Bağımsız gruplar arası kategorik verilerin karşılaştırılması için Chi-Square testi veya Fischer’s Exact testi kullanıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin birbirleri arasında anlamlı korelasyon olup olmadığı Pearson ve Spearman’ın sıra sayıları korelasyon analizleri ile, lineer ilişkileri ise lineer regresyon analizi kullanılarak yapılmıştır. Sayısal değişkenlerin hastalık tanısında optimum kesme değerleri, duyarlılık ve seçiciliklerinin belirlenmesinde ROC analizi yapılmıştır. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. (IBM Corp. Armonk, NY: USA. Released 2012) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya, 61 vitamin B12 eksikliği olan hasta ve 62 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 123 çocuk dahil edildi. Vaka grubunun 44'ü (%72,1) kız, 17'si (%27,9) erkekti ve yaş medyan değeri 14,3 (0,4-17,8) yıl olarak hesaplandı. Kontrol grubunun ise 37'si (%59,7) kız, 25'i (%40,3) erkekti ve yaş medyan değeri 14,1 (1,8-17,9) yıl olarak hesaplandı. İki grup arasında cinsiyet dağılımı ve yaş açısından anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla, p=0,145 ve p=0,905) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Çalışma gruplarının demografik ve klinik verilerinin karşılaştırılması

Parametre	Vaka (n=61)	Kontrol (n=62)	P
	n (%)	n (%)	
Cinsiyet	Kız	44 (72,1)	0,145 <sup>a</sup>
	Erkek	17 (27,9)	
Yaş (yıl)	14,3 (0,4-17,8)	14,1 (1,8-17,9)	0,905 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: Chi-Square testi, <sup>b</sup>: Mann-Whitney U testi

Vitamin B12 eksikliği olan çocuklar başvuru semptomları açısından değerlendirildiğinde en sık semptomlar baş ağrısı (%16,3), iştahsızlık (%13,1) ve unutkanlıktı (%11,4). On dört (%22,9) hastanın vitamin B12 eksikliği açısından herhangi bir semptomu yoktu, rutin taramada eksiklik tespit edildi (Tablo 3). Vaka gurubunda vitamin B12 eksikliği ile uyumlu fizik muayene bulgusu yoktu.

**Tablo 3.** Vaka grubunun başvuru semptomlarının dağılımı

<b>Parametre</b>	<b>n (%)</b>
<b>Baş ağrısı</b>	10 (%16,3)
<b>İştahsızlık</b>	8 (%13,1)
<b>Rutin taramada saptanan</b>	14 (%22,9)
<b>Unutkanlık</b>	7 (%11,4)
<b>Halsizlik</b>	5 (%8,1)
<b>Baş dönmesi</b>	6 (%9,8)
<b>Fazla kilo</b>	4 (%6,5)
<b>Yorgunluk</b>	3 (%4,9)
<b>Uyuşma</b>	2 (%3,2)
<b>Terleme</b>	1 (%1,6)
<b>Konuşmama</b>	1 (%1,6)

Çalışma grupları; beslenme özellikleri açısından “sadece hayvansal gıda”, “sadece bitkisel gıda”, “hayvansal ve bitkisel gıda birlikte” ve “hiçbiri” şeklinde kategorize edilerek karşılaştırıldı. Vaka ve kontrol grubu arasında beslenme özellikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,691$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Çalışma gruplarının beslenme özelliklerinin karşılaştırılması

<b>Parametre</b>	<b>Vaka (n=61) n (%)</b>	<b>Kontrol (n=62) n (%)</b>	<b>p</b>
<b>Sadece hayvansal</b>	4 (6,6)	8 (12,9)	0,691 <sup>a</sup>
<b>Sadece bitkisel</b>	7 (11,5)	7 (11,3)	
<b>Hayvansal ve bitkisel</b>	44 (72,1)	42 (67,7)	
<b>Hiçbiri</b>	6 (9,8)	5 (8,1)	

<sup>a</sup>: Chi-Square testi

Vaka grubundaki çocukların 14'ünde (%24,7) anemi, 2'sinde (%3,2) lökopeni mevcuttu ve trombositopenisi olan çocuk yoktu.

Çalışma gruplarının laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında, vaka grubunda kontrol grubuna göre serum vitamin B12 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 5).

Homosistein ( $p=0,944$ ), nativ tiyol ( $p=0,877$ ), total tiyol ( $p=0,935$ ), disülfid ( $p=0,451$ ), disülfid/nativ tiyol oranı ( $p=0,511$ ), disülfid/total tiyol oranı ( $p=0,514$ ) ve nativ tiyol/total tiyol oranı ( $p=0,514$ ) açısından vaka ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5).

**Tablo 5.** Çalışma gruplarının B12 ve tiyol/disülfid parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	Vaka (n=61)	Kontrol (n=62)	p
<b>Vitamin B12 (ng/L)</b>	179 (98-199)	298 (201-965)	<b>&lt;0,001<sup>a</sup></b>
<b>Homosistein (µmol/L)</b>	11,2 (0,08-64,3)	12 (4,5-26,6)	0,944 <sup>a</sup>
<b>Nativ tiyol (µmol/L)</b>	391,2±44,8	390±41,3	0,877 <sup>b</sup>
<b>Total tiyol (µmol/L)</b>	430,8±46,1	430,1±42,4	0,935 <sup>b</sup>
<b>Disülfid (µmol/L)</b>	19,8±1,8	20,1±2,1	0,451 <sup>b</sup>
<b>Disülfid/Nativ tiyol</b>	5,1±0,6	5,2±0,6	0,511 <sup>b</sup>
<b>Disülfid/Total tiyol</b>	4,6±0,5	4,7±0,5	0,514 <sup>b</sup>
<b>Nativ tiyol/Total tiyol</b>	90,7±1,1	90,6±1,1	0,514 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: Mann-Whitney U testi, <sup>b</sup>: Student t testi, veriler ortalama±standart sapma ve medyan min-max olarak verilmiştir.

Serum folat ( $p=0,703$ ) ve ferritin ( $p=0,814$ ) düzeyleri açısından vaka ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 6).

**Tablo 6.** Çalışma gruplarının folat ve ferritin sonuçlarının karşılaştırılması

Parametre	Vaka (n=61)	Kontrol (n=62)	p
Folat ( $\mu\text{g/L}$ )	7,4 (3-18,8)	6,6 (3,4-19,4)	0,703 <sup>a</sup>
Ferritin ( $\mu\text{g/L}$ )	20 (1-103)	18,2 (1-85,3)	0,814 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Mann-Whitney U testi, veriler medyan min-max olarak verilmiştir.

Vaka ve kontrol grupları arasında hemoglobin (Hgb) ( $p=0,361$ ), ortalama eritrosit hacmi (MCV) ( $p=0,174$ ), trombosit ( $p=0,803$ ), beyaz kan hücresi (WBC) ( $p=0,719$ ) ve nötrofil ( $p=0,647$ ) düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Kırmızı küre dağılım genişliği (RDW) değeri, vaka grubunda anlamlı düzeyde daha düşük bulundu ( $p=0,048$ ) (Tablo 7).

**Tablo 7.** Çalışma gruplarının hemogram sonuçlarının karşılaştırılması

Parametre	Vaka (n=61)	Kontrol (n=62)	p
Hgb (g/dL)	12,5 $\pm$ 1,2	12,8 $\pm$ 1,5	0,361 <sup>a</sup>
MCV (fL)	84,1 $\pm$ 6,1	82,5 $\pm$ 6,4	0,174 <sup>a</sup>
RDW (%)	15,1 (12,6-21,1)	15,7 (12,1-25,6)	<b>0,048<sup>b</sup></b>
Trombosit (/mm <sup>3</sup> )	285,4 $\pm$ 65,4	288,3 $\pm$ 58,6	0,803 <sup>a</sup>
WBC (/mm <sup>3</sup> )	7065 (3770-13200)	7130 (3390-13100)	0,719 <sup>b</sup>
Nötrofil (/mm <sup>3</sup> )	3805 (2010-7740)	3540 (1640-9260)	0,647 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: Student t testi, <sup>b</sup>: Mann-Whitney U testi, veriler ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (min-max) olarak verilmiştir.

Vaka grubunun vitamin B12 düzeyi, homosistein düzeyi ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasındaki korelasyon analizi yapıldı.

Vitamin B12 düzeyi ile nativ tiyol ( $r=0,233$ ,  $p=0,070$ ), total tiyol ( $r=0,224$ ,  $p=0,082$ ), disülfid ( $r=0,139$ ,  $p=0,287$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=-0,057$ ,  $p=0,664$ ), disülfid/total tiyol



( $r=-0,057$ ,  $p=0,664$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=0,057$ ,  $p=0,664$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 8).

Homosistein düzeyi ile nativ tiyol ( $r=-0,075$ ,  $p=0,566$ ), total tiyol ( $r=-0,074$ ,  $p=0,573$ ), disülfıt ( $r=-0,120$ ,  $p=0,355$ ), disülfıt/nativ tiyol ( $r=-0,011$ ,  $p=0,933$ ), disülfıt/total tiyol ( $r=-0,011$ ,  $p=0,933$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=0,011$ ,  $p=0,933$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 8).

Yaş değeri ile nativ tiyol ( $r=0,283$ ,  $p=0,027$ ) ve total tiyol ( $r=0,280$ ,  $p=0,029$ ) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Yaş değeri ile disülfıt ( $r=0,002$ ,  $p=0,986$ ), disülfıt/nativ tiyol ( $r=-0,233$ ,  $p=0,071$ ), disülfıt/total tiyol ( $r=-0,233$ ,  $p=0,071$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=0,233$ ,  $p=0,071$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 8).

**Tablo 8.** Vaka grubunda vitamin B12, homosistein ve yaş değerleri ile tiyol/disülfıt dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre	Vitamin B12 (ng/L)		Homosistein ( $\mu$ mol/L)		Yaş (yıl)	
	r	p	r	p	r	p
Nativ tiyol ( $\mu$ mol/L)	0,233	0,070	-0,075	0,566	0,283	<b>0,027</b>
Total tiyol ( $\mu$ mol/L)	0,224	0,082	-0,074	0,573	0,280	<b>0,029</b>
Disülfıt ( $\mu$ mol/L)	0,139	0,287	-0,120	0,355	0,002	0,986
Disülfıt/Nativ tiyol	-0,057	0,664	-0,011	0,933	-0,233	0,071
Disülfıt/Total tiyol	-0,057	0,664	-0,011	0,933	-0,233	0,071
Nativ tiyol /Total tiyol	0,057	0,664	0,011	0,933	0,233	0,071

Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Vaka grubunda folat ve ferritin ile nativ tiyol, total tiyol, disülfıt, disülfıt/nativ tiyol, disülfıt/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol arasında korelasyon analizi yapıldı (Tablo 9).

Folat ile nativ tiyol ( $r=-0,214$ ,  $p=0,264$ ), total tiyol ( $r=-0,251$ ,  $p=0,189$ ), disülfıt ( $r=-0,283$ ,  $p=0,136$ ), disülfıt/nativ tiyol ( $r=-0,008$ ,  $p=0,968$ ), disülfıt/total tiyol ( $r=-0,008$ ,

p=0,968), nativ tiyol /total tiyol (r=0,008, p=0,968) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Ferritin ile nativ tiyol (r=-0,146, p=0,356), total tiyol (r=-0,181, p=0,251), disülfıt (r=-0,221, p=0,159), disülfıt/nativ tiyol (r=0,016, p=0,918), disülfıt/total tiyol (r=0,016, p=0,918), nativ tiyol/total tiyol (r=-0,016, p=0,918) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

**Tablo 9.** Vaka grubunda folat ve ferritin değerleri ile tiyol/disülfıt dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre	Folat (µg/L)		Ferritin (µg/L)	
	r	p	r	p
Nativ tiyol (µmol/L)	-0,214	0,264	-0,146	0,356
Total tiyol (µmol/L)	-0,251	0,189	-0,181	0,251
Disülfıt (µmol/L)	-0,283	0,136	-0,221	0,159
Disülfıt/Nativ tiyol	-0,008	0,968	0,016	0,918
Disülfıt/Total tiyol	-0,008	0,968	0,016	0,918
Nativ tiyol/Total tiyol	0,008	0,968	-0,016	0,918

Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Vaka grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfıt parametreleri arasında korelasyon analizi yapıldı (Tablo 10).

Hemoglobin ile nativ tiyol (r=0,194, p=0,145), total tiyol (r=0,185, p=0,164), disülfıt (r=-0,047, p=0,726), disülfıt/nativ tiyol (r=-0,234, p=0,077), disülfıt/total tiyol (r=-0,232, p=0,080), nativ tiyol/total tiyol (r=0,232, p=0,080) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

MCV ile nativ tiyol (r=0,148, p=0,267), total tiyol (r=0,156, p=0,241), disülfıt (r=0,138, p=0,303), disülfıt/nativ tiyol (r=-0,065, p=0,628), disülfıt/total tiyol (r=-

0,060, p=0,655), nativ tiyol/total tiyol (r=0,060, p=0,655) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

RDW ile nativ tiyol (r=-0,161, p=0,226), total tiyol (r=-0,178 p=0,181), disülfıt (r=-0,204, p=0,124), disülfıt/nativ tiyol (r=-0,011, p=0,936), disülfıt/total tiyol (r=-0,011, p=0,936), nativ tiyol/total tiyol (r=0,011, p=0,936) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Trombosit sayısı ile disülfıt/nativ tiyol (r=0,316, p=0,016) ve disülfıt/total tiyol (r=0,314, p=0,017) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon, nativ tiyol/total tiyol (r=-0,314, p=0,017) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken, nativ tiyol (r=-0,253, p=0,056), total tiyol (r=-0,239, p=0,071) ve disülfıt (r=0,092, p=0,490) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

WBC ile disülfıt/nativ tiyol (r=0,263, p=0,046) ve disülfıt/total tiyol (r=0,263, p=0,046) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon, nativ tiyol/total tiyol (r=-0,263, p=0,046) değerleri arasında anlamlı negatif korelasyon saptanırken, nativ tiyol (r=-0,179, p=0,179), total tiyol (r=-0,151, p=0,259) ve disülfıt (r=0,204, p=0,124) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Nötrofil sayısı ile nativ tiyol (r=-0,207, p=0,119), total tiyol (r=-0,186, p=0,161), disülfıt (r=0,109, p=0,414), disülfıt/nativ tiyol (r=0,211, p=0,112), disülfıt/total tiyol (r=0,211, p=0,112) ve nativ tiyol/total tiyol (r=-0,211, p=0,112) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

**Tablo 10.** Vaka grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre		Nativ tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Total tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Disülfid ( $\mu\text{mol/L}$ )	Disülfid/ Nativ tiyol	Disülfid/ Total tiyol	Nativ tiyol/ Total tiyol
<b>Hgb (g/dL)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	0.194	0.185	-0.047	-0.234	-0.232	0.232
	<b>p</b>	0.145	0.164	0.726	0.077	0.080	0.080
<b>MCV (fL)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	0.148	0.156	0.138	-0.065	-0.060	0.060
	<b>p</b>	0.267	0.241	0.303	0.628	0.655	0.655
<b>RDW (%)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.161	-0.178	-0.204	-0.011	-0.011	0.011
	<b>p</b>	0.226	0.181	0.124	0.936	0.936	0.936
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	-0.253	-0.239	0.092	0.316	0.314	-0.314
	<b>p</b>	0.056	0.071	0.490	<b>0.016</b>	<b>0.017</b>	<b>0.017</b>
<b>WBC (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.179	-0.151	0.204	0.263	0.263	-0.263
	<b>p</b>	0.179	0.259	0.124	<b>0.046</b>	<b>0.046</b>	<b>0.046</b>
<b>Nötrofil (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.207	-0.186	0.109	0.211	0.211	-0.211
	<b>p</b>	0.119	0.161	0.414	0.112	0.112	0.112

<sup>a</sup> : Pearson korelasyon, <sup>b</sup> : Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Kontrol grubunun vitamin B12 düzeyi, homosistein düzeyi ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasındaki korelasyon analizi yapıldı.

Vitamin B12 düzeyi ile nativ tiyol ( $r=-0,137$ ,  $p=0,287$ ), total tiyol ( $r=-0,161$ ,  $p=0,212$ ), disülfid ( $r=-0,079$ ,  $p=0,543$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=0,050$ ,  $p=0,699$ ), disülfid/total tiyol ( $r=0,049$ ,  $p=0,703$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=-0,049$ ,  $p=0,703$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 11).

Homosistein düzeyi ile nativ tiyol ( $r=-0,002$ ,  $p=0,985$ ), total tiyol ( $r=0,009$ ,  $p=0,943$ ), disülfid ( $r=-0,064$ ,  $p=0,621$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=-0,058$ ,  $p=0,653$ ), disülfid/total tiyol ( $r=-0,058$ ,  $p=0,653$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=0,058$ ,  $p=0,653$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 11).

Yaş değeri ile nativ tiyol ( $r=0,234$ ,  $p=0,067$ ), total tiyol ( $r=0,235$ ,  $p=0,065$ ), disülfid ( $r=-0,04$ ,  $p=0,750$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=-0,191$ ,  $p=0,138$ ), disülfid/total tiyol ( $r=-0,190$ ,  $p=0,139$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=0,190$ ,  $p=0,139$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 11).

**Tablo 11.** Kontrol grubunda vitamin B12, homosistein ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre	Vitamin B12 (ng/L)		Homosistein ( $\mu\text{mol/L}$ )		Yaş (yıl)	
	r	p	r	p	r	p
	Nativ tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,137	0,287	-0,002	0,985	0,234
Total tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,161	0,212	0,009	0,943	0,235	0,065
Disülfid ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,079	0,543	-0,064	0,621	-0,041	0,750
Disülfid/Nativ tiyol	0,050	0,699	-0,058	0,653	-0,191	0,138
Disülfid/Total tiyol	0,049	0,703	-0,058	0,653	-0,190	0,139
Nativ tiyol /Total tiyol	-0,049	0,703	0,058	0,653	0,190	0,139

Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Kontrol grubunda folat ve ferritin ile nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol arasında analizler yapıldı (Tablo 12).

Folat ile nativ tiyol ( $r=-0,361$ ,  $p=0,028$ ) ve total tiyol ( $r=-0,368$ ,  $p=0,025$ ) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken, disülfid ( $r=-0,137$ ,  $p=0,420$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=0,103$ ,  $p=0,546$ ), disülfid/total tiyol ( $r=0,103$ ,  $p=0,543$ ), nativ tiyol /total tiyol ( $r=-0,103$ ,  $p=0,543$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Ferritin ile nativ tiyol ( $r=0,138$ ,  $p=0,334$ ), total tiyol ( $r=0,158$ ,  $p=0,268$ ), disülfid ( $r=0,109$ ,  $p=0,447$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=-0,047$ ,  $p=0,745$ ), disülfid/total tiyol ( $r=-$

0,047, p=0,741), nativ tiyol/total tiyol (r=0,047, p=0,741) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

**Tablo 12.** Kontrol grubunda folat ve ferritin değerleri ile tiyol/disülfıt dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre	Folat ( $\mu\text{g/L}$ )		Ferritin ( $\mu\text{g/L}$ )	
	r	p	r	p
Nativ tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,361	<b>0,028</b>	0,138	0,334
Total tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,368	<b>0,025</b>	0,158	0,268
Disülfıt ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,137	0,420	0,109	0,447
Disülfıt/Nativ tiyol	0,103	0,546	-0,047	0,745
Disülfıt/Total tiyol	0,103	0,543	-0,047	0,741
Nativ tiyol/Total tiyol	-0,103	0,543	0,047	0,741

Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Kontrol grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfıt parametreleri arasında analizler yapıldı (Tablo 13).

Hemoglobin ile nativ tiyol (r=0,342 p=0,008) ve total tiyol (r=0,343, p=0,008) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanırken, disülfıt (r=0,089, p=0,502), disülfıt/nativ tiyol (r=-0,223, p=0,090), disülfıt/total tiyol (r=-0,221, p=0,093), nativ tiyol/total tiyol (r=0,221, p=0,093) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

MCV ile nativ tiyol (r=0,158, p=0,233), total tiyol (r=0,162, p=0,220), disülfıt (r=0,082, p=0,539), disülfıt/nativ tiyol (r=-0,066, p=0,620), disülfıt/total tiyol (r=-0,066, p=0,621), nativ tiyol/total tiyol (r=0,066, p=0,621) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

RDW ile nativ tiyol ( $r=-0,058$ ,  $p=0,663$ ), total tiyol ( $r=-0,047$ ,  $p=0,721$ ), disülfid ( $r=0,143$ ,  $p=0,279$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=0,191$ ,  $p=0,148$ ), disülfid/total tiyol ( $r=0,190$ ,  $p=0,149$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=-0,190$ ,  $p=0,149$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Trombosit sayısı ile disülfid/nativ tiyol ( $r=0,257$ ,  $p=0,049$ ) ve disülfid/total tiyol ( $r=0,256$ ,  $p=0,050$ ) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon, nativ tiyol/total tiyol ( $r=-0,256$ ,  $p=0,050$ ) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanırken, nativ tiyol ( $r=-0,070$ ,  $p=0,598$ ), total tiyol ( $r=-0,044$ ,  $p=0,743$ ) ve disülfid ( $r=0,233$ ,  $p=0,075$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

WBC ile nativ tiyol ( $r=-0,171$ ,  $p=0,195$ ), total tiyol ( $r=-0,172$ ,  $p=0,194$ ), disülfid ( $r=0,023$ ,  $p=0,862$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=0,074$ ,  $p=0,576$ ), disülfid/total tiyol ( $r=0,073$ ,  $p=0,581$ ), nativ tiyol/total tiyol ( $r=-0,073$ ,  $p=0,581$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Nötrofil sayısı ile nativ tiyol ( $r=-0,027$ ,  $p=0,839$ ), total tiyol ( $r=-0,030$ ,  $p=0,821$ ), disülfid ( $r=0,076$ ,  $p=0,565$ ), disülfid/nativ tiyol ( $r=0,036$ ,  $p=0,784$ ), disülfid/total tiyol ( $r=0,035$ ,  $p=0,790$ ) ve nativ tiyol/total tiyol ( $r=-0,035$ ,  $p=0,790$ ) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

**Tablo 13.** Kontrol grubunda hemogram parametreleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizi

Parametre		Nativ tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Total tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	Disülfid ( $\mu\text{mol/L}$ )	Disülfid/ Nativ tiyol	Disülfid/ Total tiyol	Nativ tiyol/ Total tiyol
<b>Hgb (g/dL)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	0.342	0.343	0.089	-0.223	-0.221	0.221
	<b>p</b>	<b>0.008</b>	<b>0.008</b>	0.502	0.090	0.093	0.093
<b>MCV (fL)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	0.158	0.162	0.082	-0.066	-0.066	0.066
	<b>p</b>	0.233	0.220	0.539	0.620	0.621	0.621
<b>RDW (%)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.058	-0.047	0.143	0.191	0.190	-0.190
	<b>p</b>	0.663	0.721	0.279	0.148	0.149	0.149
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>a</sup></b>	-0.070	-0.044	0.233	0.257	0.256	-0.256
	<b>p</b>	0.598	0.743	0.075	<b>0.049</b>	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>
<b>WBC (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.171	-0.172	0.023	0.074	0.073	-0.073
	<b>p</b>	0.195	0.194	0.862	0.576	0.581	.0581
<b>Nötrofil (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>r<sup>b</sup></b>	-0.027	-0.030	0.076	0.036	0.035	-0.035
	<b>p</b>	0.839	0.821	0.565	0.784	0.790	0.790

<sup>a</sup> : Pearson korelasyon, <sup>b</sup> : Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

Çok değişkenli istatistiksel analizlerde vitamin B12 eksikliği ile ilişkili olan veya ilişkili olabileceği düşünülen olası tüm değişkenler aday risk faktörleri olarak doğrusal regresyon modeline dahil edildi.

Çoklu doğrusal regresyon analizinde vitamin B12 düzeyleri üzerine total tiyol, disülfid, WBC, hemoglobin, trombosit sayısı, MCV, RDW ve homosistein bağımsız değişkenlerinin etkilerinin bulunmadığı saptandı ( $p>0,05$ ) (Tablo 14).



**Tablo 14.** Vaka grubunda vitamin B12 düzeyleri üzerine bağımsız değişkenlerin çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları

Çalışma Grubu	$\beta$	%95 Güven Aralığı		T	p
		Alt Sınır	Üst Sınır		
Total tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,085	-0,081	0,251	1,034	0,306
Disülfit ( $\mu\text{mol/L}$ )	1,474	-2,471	5,419	0,751	0,456
WBC ( $/\text{mm}^3$ )	-0,003	-0,006	0,001	-1,566	0,124
Hgb (g/dL)	0,636	-5,560	6,832	0,206	0,837
Trombosit ( $/\text{mm}^3$ )	-4,147	0,000	0,000	-0,764	0,449
MCV (fL)	0,550	-1,020	2,120	0,703	0,485
RDW (%)	-0,12	-5,316	5,292	-0,005	0,996
Homosistein ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,275	-0,919	0,370	-0,857	0,396

$\beta$ : Regresyon katsayısı

Backward eliminasyon uygulanmıştır.

Çoklu doğrusal regresyon analizinde homosistein düzeyleri üzerine nativ tiyol, disülfit ve nativ tiyol/total tiyol bağımsız değişkenlerinin etkilerinin bulunmadığı saptandı ( $p>0,05$ ) (Tablo 15).

**Tablo 15.** Vaka grubunda homosistein düzeyleri üzerine bağımsız değişkenlerin çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları

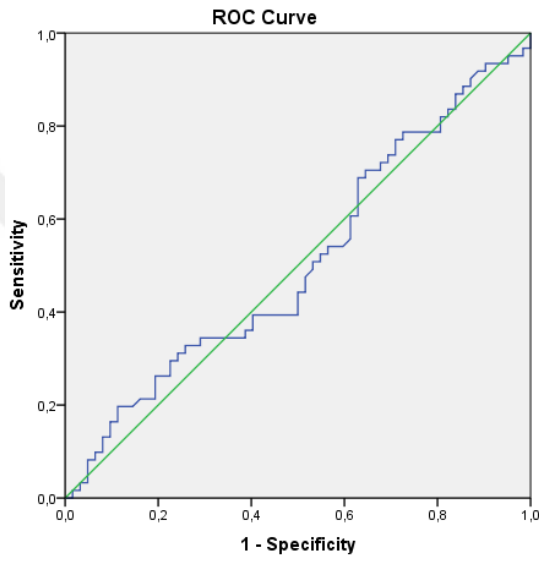
Çalışma Grubu	$\beta$	%95 Güven Aralığı		T	p
		Alt Sınır	Üst Sınır		
Nativ tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	-0,274	-0,770	0,223	-1,104	0,274
Disülfit ( $\mu\text{mol/L}$ )	4,413	-4,824	13,650	0,957	0,343
Nativ tiyol/Total tiyol	11,813	-10,239	33,864	1,073	0,288

$\beta$ : Regresyon katsayısı

Backward eliminasyon uygulanmıştır.

Vitamin B12 eksikliği tanısı için tiyol/disülfid dengesi parametreleri ve homosisteinin optimum kesme değeri, duyarlılık ve özgüllüklerini saptamak amacıyla ROC analizi yapıldı.

Nativ tiyol için optimum kesme değeri 391  $\mu\text{mol/L}$  olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %50,8 duyarlılık ve %46,8 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 4).

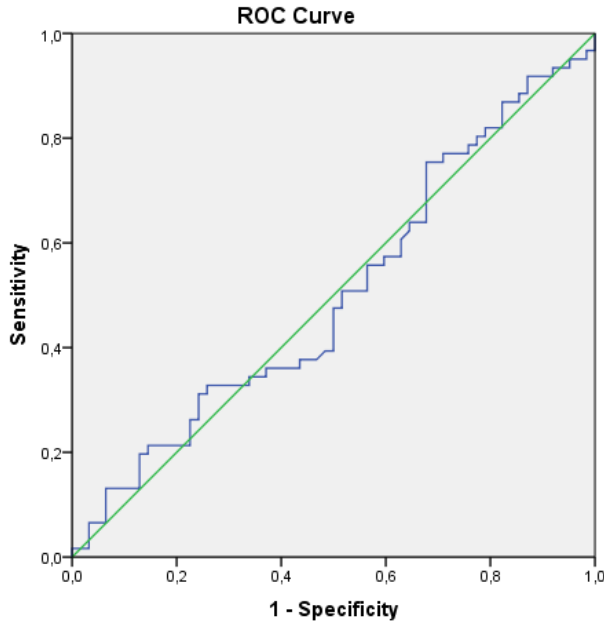


EAA:0,508 (%95CI 0,405-0,611)

p=0,879

**Şekil 4.** Vitamin B12 eksikliği tanısında nativ tiyol için ROC eğrisi

Total tiyol için optimum kesme değeri 431  $\mu\text{mol/L}$  olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %50,8 duyarlılık ve %46,8 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 5).

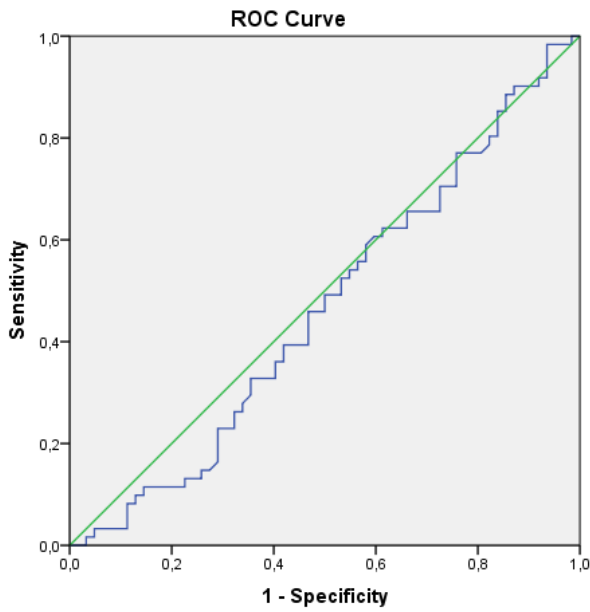


EAA:0,502 (%95CI 0,399-0,605)

p=0,964

**Şekil 5.** Vitamin B12 eksikliği tanısında total tiyol için ROC eğrisi

Disülfit için optimum kesme değeri 19 olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %55,7 duyarlılık ve %43,5 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 6).

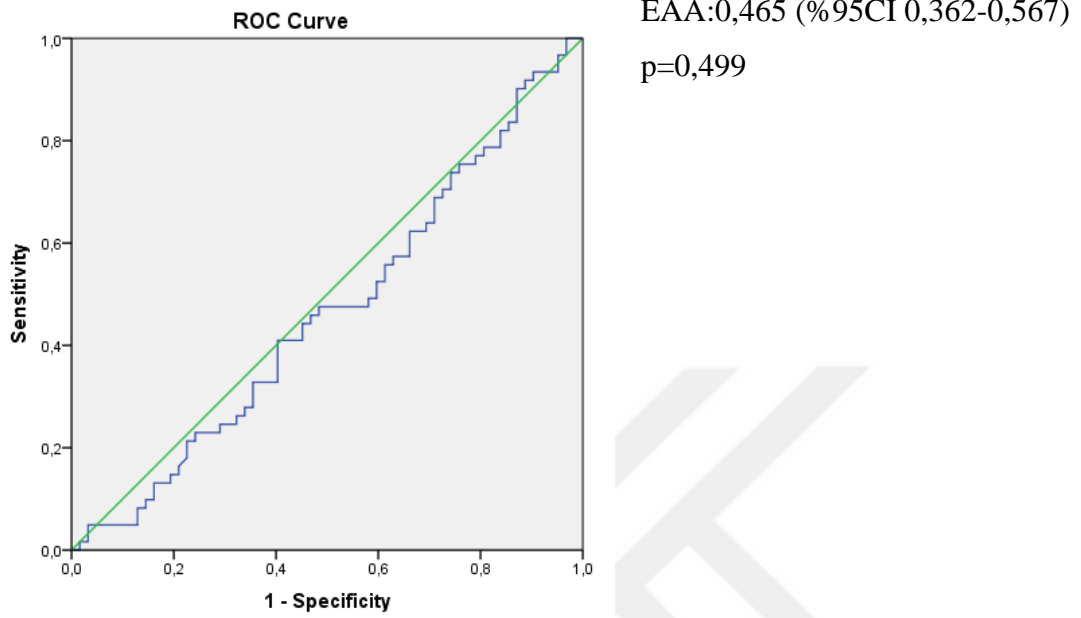


EAA:0,465 (%95CI 0,363-0,568)

p=0,504

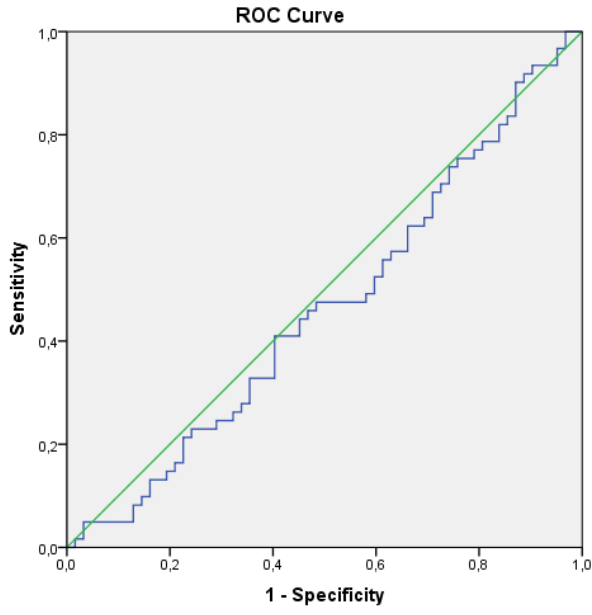
**Şekil 6.** Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfit için ROC eğrisi

Disülfit/nativ tiyol oranı için optimum kesme değeri 5,2 olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %47,5 duyarlılık ve %51,6 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 7).



Şekil 7. Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfit/nativ tiyol oranı için ROC eğrisi

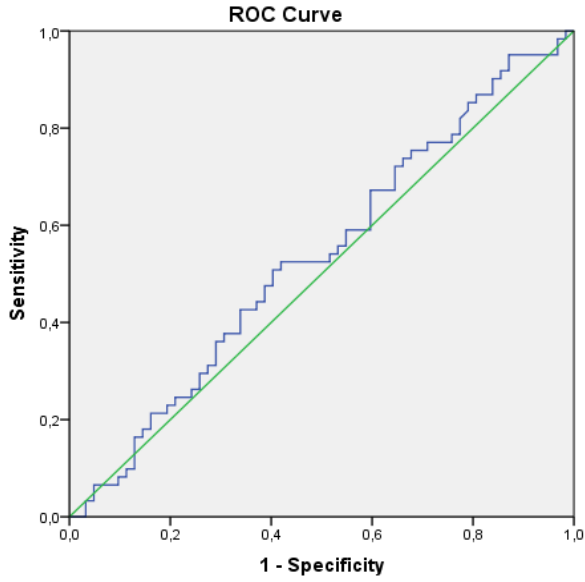
Disülfit/total tiyol oranı için optimum kesme değeri 4,7 olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %47,5 duyarlılık ve %51,6 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 8).



EAA:0,465 (%95CI 0,362-0,567)  
p=0,498

**Şekil 8.** Vitamin B12 eksikliği tanısında disülfid/total tiyol oranı için ROC eğrisi

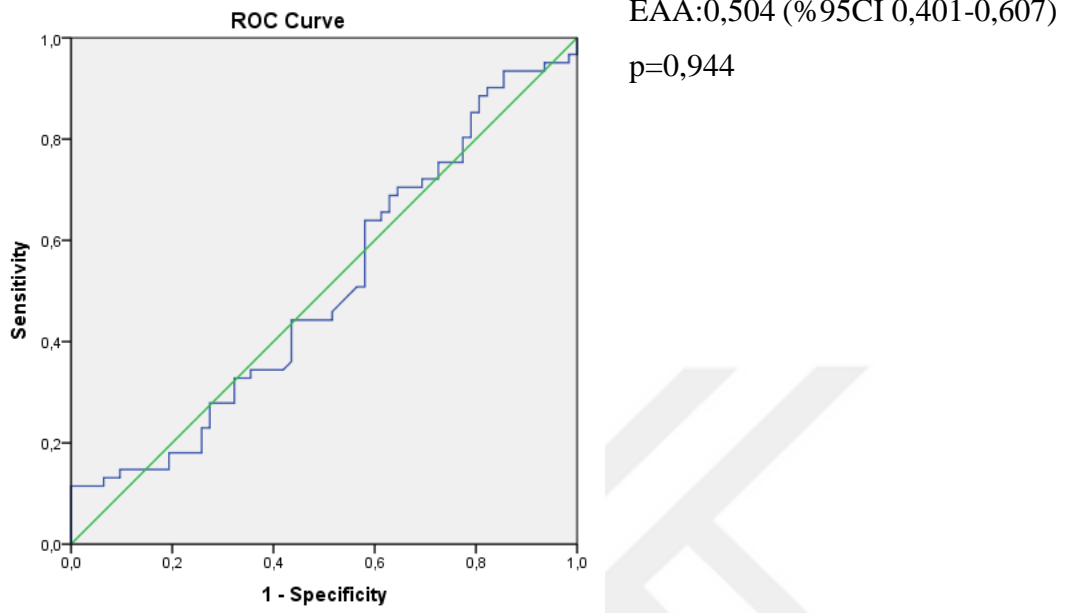
Nativ tiyol/total tiyol oranı için optimum kesme değeri 91 olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %50,8 duyarlılık ve %59,7 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 9).



EAA:0,535 (%95CI 0,433-0,638)  
p=0,499

**Şekil 9.** Vitamin B12 eksikliği tanısında nativ tiyol/total tiyol oranı için ROC eğrisi

Homosistein için optimum kesme değeri 11,2 µmol/L olarak alındığında vitamin B12 eksikliği tanısında %49,2 duyarlılık ve %45,2 özgüllüğe sahip olduğu saptandı (Şekil 10).



Şekil 10. Vitamin B12 eksikliği tanısında homosistein için ROC eğrisi

## 5. TARTIŞMA

Vitamin B12, hücresel metabolizmalarda rolü olan ve insanlar tarafından sentez edilemediği için dışarıdan diyet ile alınması gereken suda eriyen bir vitamindir (Shipton and Thachil, 2015). Vitamin B12 eksikliği genel olarak hematolojik (pansistopeni), nörolojik (simetrik parestezi ve subakut kombine dejenerasyon) ve gastrointestinal (glossit) bulgular ile seyrederek (Stabler, 2013). İnfant ve çocuklarda; büyüme ve gelişmede gecikme veya gerileme, beslenme güçlükleri, hipotoni, letarji, hiperirritabilite, konvülziyon, tremor, miyokloni, mikrosefali gibi klinik problemlere sebep olabilir (Stabler, 2013). Klasik belirtilerin izlendiği eksiklik tablosu nadiren ortaya çıkar. Ancak, aşikar belirtilerin olmadığı düşük veya sınırda vitamin B12 düzeyi, hayvansal gıda tüketiminin kısıtlı olduğu toplumlarda daha yaygın bir durumdur (Green, 2017). Ekonomik nedenlerle kırmızı et tüketiminin az olduğu ülkemizin günlük pediatri pratiğinde her gün yüz yüze kaldığımız vitamin B12 eksikliğini, yol açabileceği morbiditeler nedeniyle dikkat edilmesi gereken problemlerden biri olduğunu değerlendirdik. Hem belirgin hem de subklinik vitamin B12 eksikliğini, normal vitamin B12 statüsünde olanlara kıyasla artmış pro-oksidan ve azalmış antioksidan durum ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019).

Çocuklarda vitamin B12 eksikliği konusunda, dünya genelinde az sayıda geniş çaplı prevalans çalışmaları bildirilmiştir. ABD-Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması (NHANES) çalışmasında 1999-2004 yılları arasında 12,612 kişinin değerlendirilmiştir. Bu çalışmada alt limit 200 pmol/L kabul edildiğinde vitamin B12 eksikliği sıklığı %10,6 (kadın %12, erkek %9,1) olarak saptandığı bildirilmiştir (Bailey *et al.*, 2011). Ülkemizde ise daha çok il bazında az sayıda çocuğun dahil edildiği lokal çalışmalar mevcuttur. Şanlıurfa ilinde 9-12 yaşları arasında 203 çocukta yapılan çalışmada, vitamin B12 eksikliği prevalansının %10,8 olduğu bildirilmiştir (Koc *et al.*, 2012). İzmir ilinde 1-5 yaş arası 404 çocuğun dahil edildiği çalışmada, vitamin B12 eksikliği sıklığı %23,3 (K/E: 0,88) olduğu bildirilmiştir (Aydogdu Colak

*et al.*, 2012). Erzurum ilinde malnütrisyonu olan 102 çocuğun dahil edildiği çalışmada, vitamin B12 eksikliği sıklığı %7,9 olarak bildirilmiştir (Peker, 2010). Ancak çalışmamızın prevalans çalışması olmaması nedeni ile sonuçlarımıza göre cinsiyet ile ilgili yorum yapılamamıştır. Aydoğdu Çolak ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise, 1-5 yaş arası 404 çocukta vitamin B12 eksikliği prevalansı kızlarda %22,4, erkeklerde %22,6 olarak her iki cinsiyette de benzer oranda bildirilmektedir. Yazarlar bu sonucu literatür ile uyumlu olarak değerlendirmiştir (Aydogdu Colak *et al.*, 2012). Çalışmamızda vaka grubunun %72,1'i kız, %27,9'u erkek idi.

Vitamin B12, santral sinir sistemi de dahil olmak üzere vücuttaki birçok sistem için esansiyel vitaminlerden biridir. Vitamin B12 eksikliğinde parestezi, bulanık görme, baş dönmesi, vibrasyon duyusunda bozulma, hafıza problemleri ve baş ağrısı gibi birçok nörolojik bulgu izlenebilir. Serin ve Arslan tarafından yapılan 9 ay-17 yaş aralığında vitamin B12 eksikliği ve nörolojik semptomu olan 38 çocuğun dahil edildiği çalışmada, çocukların 11'inde (%28,9) baş ağrısı şikayeti olduğu bildirilmiştir (Serin and Arslan, 2019). Başka bir çalışmada vitamin B12 seviyesi ile gerilim tipi baş ağrısı arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur. Çalık ve ark. tarafından gerilim tipi baş ağrısı olan 75 çocuk hasta ile 49 sağlıklı kontrolü karşılaştırdıkları çalışmada, hasta grubunun vitamin B12 düzeyi anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p=0,003$ ). Hasta grubunda vitamin B12 eksikliği sıklığı (%24), kontrol grubundan (%8) anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,021$ ) (Calik *et al.*, 2018). Akçaboy ve ark. tarafından süt çocukluğu döneminde vitamin B12 eksikliği olan hastaların dahil edildiği çalışmada en sık görülen semptomlar, solukluk (%25), iştahsızlık (%20), gelişim geriliği (%15) ve yorgunluk (%10) iken; bulgular, enfeksiyonlar (%30) ve hipotoni (%25) olarak bildirilmiştir. Akçaboy ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada hastaların %25' inde nörolojik belirti ve semptomlar bildirilmiştir (Akcaboy *et al.*, 2015). Çalışmamızda hasta grubumuzdaki çocukların %16,3'ünün hastaneye başvuru semptomu baş ağrısı olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımızın, Serin ve Arslan'nın yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla benzer olduğu saptanmıştır. Ayrıca Akçaboy ve ark. tarafından yapılan çalışmaya benzer şekilde hastaneye başvuru semptomlarından olan iştahsızlık, çalışmamızda %13,1 oranında saptanmıştır.



Düşük gelir düzeyine sahip ülkelerde vitamin B12 eksikliği büyük oranda vitamin B12'den zengin hayvansal gıdaların az tüketilmesi ve muhtemelen gastrointestinal enfeksiyonlar ile ilişkilidir (Green *et al.*, 2017). Gelir düzeyi yüksek olan gelişmiş ülkelerde ise, vitamin B12 eksikliği açısından majör risk faktörü otoimmün bir hastalık olan pernisiyöz anemidir. Pernisiyöz anemi prevalansı Avrupa ülkelerinde yaklaşık %4'tür ve sıklığı yaş ile birlikte artmaktadır (Chan, Low and Lee, 2016). Bir atrofik gastrit formu olan pernisiyöz anemide, otoimmün olarak gastrik paryetal hücreler parçalanır. Böylelikle intrinsik faktör üretimi yapılamaz ve vitamin B12'nin emilimi azalır. Tanısında kullanılan intrinsik faktöre karşı oluşmuş antikörlerin tespiti %95-100 spesifite, %50-60 sensitiviteye sahiptir (Sukumar and Saravanan, 2019). Bizim çalışmamızda, vitamin B12 eksikliği tanısı konulan çocukların yaklaşık %80'i hayvansal gıda tüketmekteydi ve beslenme özellikleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Vaka grubumuzdaki eksikliğin diyet ile alım yetersizliğinden ziyade vitamin B12'nin emilim bozukluğuna bağlı olabileceği düşünüldü. Ancak, çalışmamızda intrinsik faktör antikörleri veya Schilling testi yapılmadığı için hastaları emilim problemi ve pernisiyöz anemi açısından değerlendiremedik.

Vitamin B12 eksikliğinde hemen bütün kan hücreleri etkilenmektedir. Pansitopeni, MCV artışı ve anizositoza sekonder RDW artışı yaygın laboratuvar bulgularıdır (Green, 2017). Çalışmamızda, tam kan sayımı parametreleri açısından vaka ve kontrol grupları arasında RDW hariç anlamlı fark yoktu. Vaka grubunda Hgb, MCV, RDW, WBC, nötrofil ve trombosit değerleri normal laboratuvar aralığındaydı.

Akçaboy ve arkadaşlarının bildirdiği süt çocuklarını kapsayan çalışmada %80 hastada anemi, %15 hastada lökopeni, %35 hastada nötropeni, %10 hastada trombositopeni saptandığı bildirilmiştir (Akçaboy *et al.*, 2015). Diyarbakır'da yapılan, 130 çocuk içeren çalışmada bisitopeni ve pansitopeni araştırılırken 35 hastada vitamin B12 düzeyleri 29 -113 pg/mL tespit edilmiştir (Sarbay, 2019). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde pansitopeni ve bisitopeni etiyolojisinde ilk akla gelmesi gereken etyolojinin vitamin B12 eksikliği olması gerektiği vurgulanmıştır (Sarbay, 2019). Bizim çalışmamızda, vitamin B12 eksikliği olan çocukların %24,7'sinde anemi, %3,2'sinde lökopeni mevcuttu ve trombositopenisi olan hasta yoktu. Çalışmaya alınan Sakaryalı

çocukların ailelerinin sosyo-ekonomik düzeyi, görece yüksek olan Marmara bölgesinde olması bu tür ileri derece komplikasyonların daha az görülmesinin sebebi olabilir. Bunun yanı sıra yukarıda sözü edilen çalışmalara oranla vitamin B12 ortalama düzeyimizin daha yüksek olması da hematolojik komplikasyonları görmememizin sebebi olabilir.

Homosistein ve MMA, vitamin B12 bağımlı reaksiyonlarda substrat oldukları için vitamin B12 eksikliğinde bu iki molekülün düzeylerinin artması duyarlı birer göstergedir. Vitamin B12 eksikliği olan hastaların %90'ından fazlasında düzeyleri yükselir (Green, 2017). Bizim çalışmamızda, vitamin B12 eksikliği olan hastaların homosistein düzeyleri ortalaması üst sınıra yakın olmasına rağmen normal aralıktaydı.

Folat düzeylerinin homosistein artışı üzerinden oksidatif stres ile ilişkili olabileceği iddia edilmiştir (Hoffman, 2011). Cheng ve arkadaşları 44 hepatoselüler kanser hastası ve 56 sağlıklı kontrol ile folat ve oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Hasta grubunun folat, vitamin B6, homosistein, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz düzeyleri kontrol grubundan daha düşük, malondialdehid, TAC ve glutatyon S-transferaz aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Tümör cerrahisi sonrası hasta grubunun oksidatif stres belirteçleri, kontrol grubunun seviyelerine gerilemiş ancak hasta grubunda folat ile homosistein ve oksidatif stres belirteçleri arasında korelasyon saptanmamıştır (Cheng *et al.*, 2016). Bizim çalışmamızda, folat düzeyleri açısından vaka ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu. Korelasyon analizinde, vaka grubunda folat düzeyi ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (Tablo 9). Çalışmamızda, folat ve homosistein seviyeleri normal aralıkta idi. Oksidatif stres sürecinde, folatın homosistein üzerinden etki gösterebileceği düşünüldüğünde, hasta grubumuzda homosistein düzeyi artmamasının bu sonuca katkıda bulunduğu kanaatindeyiz.

Vitamin B12 bağımlı enzim metiyonin sentaz, hücre sel oksidatif duruma oldukça duyarlıdır ve daha düşük metiyonin sentaz aktivitesi, antioksidan glutatyon üretimini arttırırken aynı anda 200'den fazla metilasyon reaksiyonunu azaltarak metabolik aktiviteyi geniş ölçüde etkiler (Muratore *et al.*, 2013). Oksidatif stres, pro-oksidan bileşenlerin antioksidan tamponlama kapasitesini aşması durumunda gelişen tablo olarak tanımlanır. Vitamin B12 gibi ekzojen antioksidanlar oksidatif stresin

azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Bir sistematik derlemede, vitamin B12'nin potansiyel antioksidan özellikleri beş grupta sınıflandırılmıştır (van de Lagemaat, de Groot and van den Heuvel, 2019): Başta süperoksit olmak üzere ROS moleküllerini doğrudan temizlemek, Glutasyon seviyelerini koruyarak ROS temizliğini dolaylı olarak stimüle etmek, İmmün cevap ile indüklenen oksidatif stresten korunmak için sitokin ve büyüme faktörü üretiminin modülasyonu, Homosistein ile indüklenen oksidatif stresin azaltılması, AGE ürünlerinin sebep olduğu oksidatif stresin azaltılması. Aynı derlemede, yakın zamanda vitamin B12'nin oksidatif stres ile ilişkisinin araştırıldığı toplam 15 çalışmanın (13 erişkin insan, 2 hayvan) sonuçları incelenmiştir. Bu çalışmaların 9'unda (%60) vitamin B12'nin antioksidan özellikleri olduğu, 1'inde olmadığı saptanmış, 5 çalışmanın sonuçlarının ise net olmadığı yorumu yapılmıştır. Yazarlar, çalışma sonuçlarını karşılaştırırken birtakım metodolojik kısıtlılıklar olduğunu ifade etmişlerdir. Nitekim, yöntem (vaka-kontrol, kesitsel ve retrospektif), örneklem (insan, hayvan), vitamin B12 değerlendirme yöntemi (serum vitamin B12 düzeyi, plazma homosistein, serum ve/veya idrar MMA) ve kullanılan oksidatif stres belirteci (glutasyon, süperoksit dismutaz, ROS, eritrosit katalaz, malondialdehid, total oksidan ve antioksidan durum, oksidatif stres indeksi) açısından çalışmalar oldukça heterojendir. Örneğin, dört çalışmada vitamin B12 düzeyi değerlendirmesi sadece serum MMA ve/veya plazma homosistein düzeyi ile gerçekleştirilmiştir (Solomon, 2015) (Ghosh *et al.*, 2016)(Solomon, 2016)(Bito *et al.*, 2017).

Misra ve arkadaşları vitamin B12 eksikliği olan 51 erişkin hasta ve 53 sağlıklı kontrolün oksidatif stres durumunu plazma glutasyon, malondialdehid ve TAC düzeyleri üzerinden değerlendirmiş ve bu belirteçlerin hasta grubunda subakut kombine dejenerasyon ile ilişkisini araştırmıştır. Hasta grubunda glutasyon ve TAC seviyeleri anlamlı düzeyde daha yüksek, malondialdehid seviyesi anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. Benzer bulgular, subakut kombine dejenerasyonu olan (n=20) ve olmayan vitamin B12 hastaları arasında da izlenmiş, vitamin B12, homosistein ve folat düzeyleri ile oksidatif stres belirteçleri arasında anlamlı korelasyon izlenmemiştir (Misra *et al.*, 2017).

Literatürde, vitamin B12 ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi spesifik olarak çocuklarda inceleyen az sayıda çalışma vardır. Aşkar ve arkadaşlarının bildirdiği çalışmada, 15 vitamin B12 eksikliği anemisi olan, 15 demir eksikliği anemisi olan ve 15 sağlıklı çocuğun oksidatif durumu tiobarbitürik asit deriveleri ve total antioksidan kapasite yöntemleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hasta gruplarında kontrol grubuna göre tiobarbitürik asit deriveleri düzeyleri daha yüksek, total antioksidan kapasite düzeyleri daha düşük bulunmuştur (Aşkar *et al.*, 2017). Literatürdeki diğer çalışmalarda spesifik bir hastalık tablosunda vitamin B12 ile oksidatif stres arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bertoglio ve arkadaşlarının bildirdiği çift-kör, plasebo kontrollü klinik çalışmada, otizm tanısı olan 30 çocuğa (3-8 yaş) 12 haftalık metilkobalamin tedavisi uygulanmış ve glutasyon düzeyi ile oksidatif stres durumu değerlendirilmiştir. Otizm açısından 9 çocukta klinik düzelmeye izlenmiş ve bunlar “cevap veren” grup olarak değerlendirilmiştir. Bu grubun tedavi öncesi ve sonrası glutasyon düzeyi ( $p=0,008$ ) ve redükte/okside glutasyon oranı ( $p=0,028$ ) açısından anlamlı yükselme tespit edilmiştir. Sonuç olarak, metilkobalamin tedavisi ile otizm hastalarının bir kısmında muhtemelen oksidatif stresin azalması ile klinik düzelmeye olabileceği yorumu yapılmıştır (Bertoglio *et al.*, 2010). Otizm spektrum bozukluğu olan çocukların DNA'yı metilleme becerilerinin azaldığı ve oksidatif stres belirteçlerinin arttığı bildirilmiştir (Hendren *et al.*, 2016). Hücrel metilasyon reaksiyonları ve antioksidan savunması için önemli bir metabolik kofaktör olan vitamin B12'nin önemi aşikardır. Bu nedenle oksidatif stresi artırmaya yatkınlığı oluşturan homosistein düzeyi tüm çocuklarda bakılmalı ve yüksek ise hızlıca düzeltmek için oral/dilaltı tedavi yerine parenteral tedavi tercih edilmelidir. Bizim çalışmamızda, vaka grubunda homosistein düzeyi normal aralıktaydı ve otizm tanısı alan çocuk yoktu.

Literatür taramasında, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidatif stresin tiyol/disülfid dengesi üzerinden değerlendirildiği bir çalışmaya ulaşamadık. Bu sebeple, sonuçlarımızı doğrudan diğer çalışmalarla karşılaştırmadık.

Vitamin B12'ye bağımlı enzimler, azalmış metilasyon kapasitesine ve metabolit toksisitesine neden olur (Huemer and Baumgartner, 2019). Vitamin B12 eksikliğinde oksidatif stres böylece artar. Hindistan'da içme suyunda arseniğe maruz kalanlarda B12 eksikliği olduğu ve antioksidan olan aminothiollün de azaldığı tespit edildi. Bu

oksidatif strese homosistein artışının katkıda bulunduğu da anlaşıldı (Mukherjee *et al.*, 2016). Buradan hareketle homosisteini artırmayan bir vitamin B12 eksikliğinin, oksidatif stresi artırmayacağı, dolayısıyla antioksidan kapasiteyi de artırmayacağı öngörülebilir. Bizim çalışmamızda vitamin B12 eksikliği tespit ettiğimiz hastaların homosistein düzeyi artmadığı için nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol oranı, disülfid/total tiyol oranı ve nativ tiyol/total tiyol oranında kontrol grubuna göre bir değişiklik olmadığı kanaatindeyiz (Tablo 5).

Tiyoller, sülfhidril kalıntılarının varlığı ile karakterize edilen organik sülfür türevleri (merkaptanlar) sınıfıdır. Biyolojik sistemlerde tiyollerin, antioksidan savunma ağını koordine etmede merkezi bir rol de dahil olmak üzere çok sayıda işlevi vardır (Sen and Packer, 2000). Proteinlerdeki sülfür içeren sistein ve metiyonin gibi aminoasitlerin tiyol grupları oksijen radikallerinin primer hedef noktasıdır. Oksijen radikalleri ile tiyol grupları oksitlenerek reversible disülfid bağlarına dönüşür (Köseoğlu *et al.*, 2018). Bu dönüşüm radikal aracılı protein oksidasyonunun en erken belirtisidir. Oksidatif stres sistein kalıntılarının oksidasyonu ile disülfid oluşumuna neden olur. Bu oluşan disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına indirgenir. Bu dinamik tiyol-disülfid homeostazını sağlar (Erel and Neselioglu, 2014). Dinamik tiyol-disülfid homeostazi antioksidan koruma, apoptoz, enzim aktivitesinin düzenlenmesi ve detoksifikasyon gibi birçok mekanizmada rol almaktadır. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidan-antioksidan dengesini tiyol/disülfid sistemi üzerinden değerlendirilmeyi amaçladığımız bu çalışmada, vaka ve kontrol grupları arasında tiyol/disülfid dengesi parametreleri açısından anlamlı fark bulunmadı (Tablo 5).

Yaş ilerledikçe; obezite, fazla yağlı ve şekerli diyet, işlenmiş gıdalar, radyasyon, sigara, diğer tütün ürünleri, alkol, bazı ilaçlar, hava kirliliği ve pestisitler gibi oksidatif stres kaynaklarına maruziyet artmaktadır (Vatner *et al.*, 2020). Giustarini ve arkadaşlarının 21-92 yaş aralığında 41 sağlıklı birey ile yaptıkları çalışmada, yaş ile tiyoller arasında negatif, disülfidler arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Morimoto ve arkadaşlarının 2-15 yaş aralığında 77 çocuk ve 7 sağlıklı erişkin ile bildirdikleri bir çalışmada oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile yaş arasındaki ilişki araştırılmıştır. Oksidatif durum hidrojenperoksit ölçümü (reaktif oksijen metabolitleri deriveleri), antioksidan potansiyel ise III değerlikli demirin II değerlikli demire indirgeme

kapasitesi ile hesaplanmıştır. Çocuklarda yaş ile oksidatif durumun negatif korele olduğu, antioksidan potansiyelin ise yaş ile korelasyon göstermediği saptanmıştır. Antioksidan kapasitenin göstergesi olarak değerlendirilen antioksidan durum/oksidatif potansiyelin yaş ile pozitif korele olduğu bulunmuştur. Çocuklar yaş gruplarına göre değerlendirildiklerinde, 2-6 yaş grubunun oksidatif durumunun; 7-11 yaş, 12-15 yaş ve erişkinlerden anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Yazarlar, çocuklarda oksidatif stres değerlendirmesinde yaşın hesaba katılmasının önemini vurgulamışlardır (Morimoto *et al.*, 2019). Çalışmamızda ise literatür ile kısmen uyumlu olacak şekilde, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda yaş ile nativ tiyol ve antioksidan kapasitenin göstergesi olarak değerlendirilebilecek total tiyol düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (r: 0,28, p: 0,029, Tablo 8).

Korelasyon analizinde, tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile vitamin B12 ve homosistein düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo 8). Fakat trombosit düzeyi ile disülfid/tiyol oranları arasında pozitif yönde (r:0,314, p:0,017), nativ/total tiyol oranı arasında ise negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı (r:-0.314, p:0,017, Tablo 10). Benzer bir zayıf ilişki lökosit sayısı ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında da izlendi (r: 0,263, p: 0,046, Tablo 10). Diğer bir ifade ile hem trombosit hem de lökosit sayısının artması, artmış oksidatif stres durumu ile ilişkili bulundu. Elmas ve arkadaşları bir çalışmada 65 obez ve 64 sağlıklı çocuk ile oksidatif stres belirteci olarak tiyol/disülfid dengesini ve bunun inflamatuvar kardiyovasküler belirteçler ile ilişkisini değerlendirmiştir. Obez grupta nativ ve total tiyol daha düşük, disülfid, disülfid/tiyol oranları ve CRP düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile lökosit düzeyi arasında korelasyon izlenmezken, çalışmamıza benzer şekilde trombosit ile disülfid/tiyol oranları arasında pozitif, nativ/total tiyol oranı arasında ise negatif korelasyon bildirilmiştir. Yazarlar, bu durumun obeziteye eşlik eden kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu yorumunu yapmışlardır (Elmas *et al.*, 2017).

Nativ tiyol/total tiyol oranı, oksidatif stresin azaldığını gösteren bir parametredir (Öktem *et al.*, 2021). Çalışmamızda, vaka grubunda trombosit ve lökosit düzeyleriyle nativ tiyol/total tiyol oranı arasında negatif yönde korelasyon olduğu saptandı (sırasıyla, r: -0,312, p: 0,017 ve r: -0,263, p: 0,046, Tablo 10). Vitamin B12

eksikliğinde genelde azalması beklenen trombosit ve lökosit sayısının, nativ tiyol/total tiyol oranını artırması beklenmekte olup bu da oksidatif stresten korunma mekanizması ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Al-Daghri ve arkadaşları birinci basamak sağlık kuruluşlarına başvuran 364 sağlıklı birey (yaş aralığı: 8-59) ile bildirdikleri bir çalışmada vitamin B12 ile Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) üzerinden inflamasyon arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Erişkinlerde vitamin B12 ile TNF- $\alpha$  arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır (r: -0,24, p<0,01). Yazarlar, yeterli vitamin B12 düzeylerinin sağlanması ile inflamasyon ilişkili kardiyometabolik risklerin azaltılabileceği yorumunu yapmışlardır (Al-Daghri *et al.*, 2016).

Demir eksikliği veya demir eksikliği anemisi tablosu oksidatif stres ile ilişkili bulunmasına rağmen bu tabloların oksidatif stresin başlamasındaki rolü net değildir. Dokulara yetersiz oksijen sunulması ile inflamatuvar mediyatörlerin salınmasındaki artış sonucu oksidatif stres geliştiği düşünülmektedir (Jalambo *et al.*, 2018). Çalışmamızda, vaka grubunda Hgb düzeyi ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon izlenmezken, kontrol grubunda Hgb düzeyi ile antioksidan kapasiteyi yansıtan nativ ve total tiyol seviyeleri arasında pozitif yönde korelasyon bulundu (r: 0,343, p: 0,008, Tablo 13).

Regresyon analizinde, vitamin B12 ve homosistein düzeyleri üzerine nativ tiyol, disülfid ve nativ tiyol/total tiyol bağımsız değişkenlerinin etkilerinin bulunmadığı saptandı (Tablo 14 ve Tablo 15). Dolayısıyla bu çalışma sonucunda hipotezimiz reddedilmiş oldu.

Neonatal dönemi kapsayan bir çalışmanın ROC analizinde vitamin B12 eksikliğini tespit edebilme açısından homosistein için kesme değeri 4,77  $\mu\text{mol/L}$  (%68,4 duyarlılık, %58,3 özgüllük) olarak hesaplanmıştır (Yetim *et al.*, 2019). Bizim çalışmamızda vitamin B12 eksikliğini tespit edebilme açısından homosistein için kesme değeri 11,2  $\mu\text{mol/L}$  (%49,2 duyarlılık, %45,2 özgüllük) olarak hesaplanmıştır.

Ülkemizden Güney ve arkadaşlarının bildirdiği bir çalışmada vitamin B12 eksikliği olan 40 erişkin hasta ve 40 erişkin sağlıklı kontrolün verileri kullanılarak TAC, TOS ve oksidatif stres indeksi parametreleri kullanılarak oksidatif stres durumu değerlendirilmiş. Hasta grubuna bir aylık vitamin B12 tedavisi uygulanmış ve bu

parametreler tedavi öncesi düzeyleri ile karşılaştırılmış, hasta ve kontrol grubu arasında değerlendirilen oksidatif stres belirteçleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Benzer şekilde tedavi öncesi ve sonrası oksidatif stres belirteçleri düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Yazarlar, bu sonucun tedavi sonrası değerlendirmenin erken dönemde yapılması ve az sayıda hastanın dahil edilmiş olması ile ilişkili olabileceği yorumunu yapmışlardır (Güney *et al.*, 2015). Bizim çalışmamızda da sadece tedavi öncesi durumu saptamak amaçlanmış olup homosisteini artırmayan vitamin B12 eksikliğinin oksidatif strese yol açmadığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidatif stres durumunu tiyol/disülfid dengesi parametreleri üzerinden değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada, vitamin B12 eksikliği olan çocuklar ve kontrol grubu arasında bu parametreler açısından anlamlı fark bulmadık. Vitamin B12'nin oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerinden sorumlu olan faktörlerden birisi olan homosistein düzeyleri açısından hasta ve kontrol grupları arasında fark yoktu. Vitamin B12 eksikliği sınırı 200 ng/L alındığında; homosisteini artırmayan bir vitamin B12 eksikliğinin, tiyol disülfid dengesini değiştirmedeği saptanmıştır.



## 6. SONUÇLAR

1. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda en sık başvuru semptomları baş ağrısı (%16,3), iştahsızlık (%13,1) ve unutkanlığı (%11,4).
2. Vitamin B12 eksikliği olan çocuklar ile kontrol grubu arasında beslenme özellikleri açısından anlamlı fark yoktu.
3. Homosistein, nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol oranı, disülfid/total tiyol oranı ve nativ tiyol/total tiyol oranı açısından vaka ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
4. Vaka ve kontrol grupları arasında folat, ferritin, Hgb, MCV, trombosit, WBC ve nötrofil düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı. RDW değeri, vaka grubunda anlamlı düzeyde daha düşük bulundu.
5. Vaka grubunda vitamin B12, homosistein, folat ve ferritin düzeyleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.
6. Vaka grubunda yaş değeri ile nativ tiyol ve total tiyol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif yönde korelasyon saptandı.
7. Vaka grubunda Hgb, MCV, RDW ve nötrofil düzeyleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon saptanmadı.
8. Vaka grubunda trombosit sayısı ile disülfid/nativ tiyol ve disülfid/total tiyol değerleri arasında pozitif korelasyon, nativ tiyol/total tiyol değerleri arasında negatif korelasyon saptandı.
9. Vaka grubunda WBC sayısı ile disülfid/nativ tiyol ve disülfid/total tiyol değerleri arasında pozitif korelasyon, nativ tiyol/total tiyol değerleri arasında negatif korelasyon saptandı.

10. Çoklu doğrusal regresyon analizinde vitamin B12 düzeyleri üzerine total tiyol, disülfid, WBC, hemoglobin, trombosit sayısı, MCV, RDW ve homosistein bağımsız değişkenlerinin etkilerinin bulunmadığı saptandı.

11. Homosisteini artırmayan bir vitamin B12 eksikliğinin, oksidatif stresi artırmayacağı, dolayısıyla antioksidan kapasiteyi de artırmayacağı öngörülebilir.



## 7. KAYNAKLAR

- Akcaboy, M., Malbora, B., Zorlu, P., Altinel, E., Oguz, M. M. and Senel, S. . (2015). Vitamin B12 Deficiency in Infants. *Indian J. Pediatr.*, 82(7):619–624.
- Al-Daghri, N. M., Rahman, S., Sabico, S., Yakout, S., Wani, K., Al-Attas, O. S., Saravanan, P., Tripathi, G., McTernan, P. G. and Alokail, M. S. . (2016). Association of vitamin B12 with pro-inflammatory cytokines and biochemical markers related to cardiometabolic risk in Saudi subjects. *Nutrients*, 8(9).
- Altinel Acoglu, E., Erel, O., Yazilitas, F., Bulbul, M., Oguz, M. M., Yucel, H., Karacan, C. D. and Senel, S. . (2018). Changes in thiol/disulfide homeostasis in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr. Int.*, 60(6):593–596.
- Aşkar, T., Büyükleblebici, O., Hismioğulları, A. and Hünkerler, Z. . (2017). Oxidative Stress, Hecpidin and Nesfatin-I Status in Childhood Iron and Vitamin B12 Deficiency Anemias. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 26(4):621–625.
- Ayar, G., Sahin, S., Yazici, M. U., Neselioglu, S., Erel, O. and Bayrakci, U. S. . (2018). Effects of Hemodialysis on Thiol-Disulphide Homeostasis in Critically Ill Pediatric Patients with Acute Kidney Injury. *Biomed Res. Int.*, 2018.
- Ayar, G., Sahin, S., Atmaca, Y. M., Yazici, M. U., Neselioglu, S. and Erelc, O. . (2019). Thiol-disulphide homeostasis is an oxidative stress indicator in critically ill children with sepsis. *Arch. Argent. Pediatr.*, 117(3):143–148.
- Aydogdu Colak, A., Anli, M., Toprak, B., Kose, E. and Ustuner, F. . (2012). B12 vitamin level in children and its relationship with complete blood count parameters. *J. Dr. Behcet Uz Child. Hosp.*, 2(2):75–79.

- Bailey, R. L., Carmel, R., Green, R., Pfeiffer, C. M., Cogswell, M. E., Osterloh, J. D., Sempos, C. T. and Yetley, E. A. . (2011). Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *Am. J. Clin. Nutr.*, 94(2):552–561.
- Balci, Y. I., Karabulut, A., Gürses, D. and Çövüt, I. E. . (2012). Prevalence and risk factors of anemia among adolescents in Denizli, Turkey. *Iran. J. Pediatr.*, 22(1):77–81.
- Bertoglio, K., Jill James, S., Deprey, L., Brule, N. and Hendren, R. L. . (2010). Pilot study of the effect of methyl B12 treatment on behavioral and biomarker measures in children with autism. *J. Altern. Complement. Med.*, 16(5):555–560.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. . (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J.*, 5(1):9–19.
- Biswas, S., Chida, A. S. and Rahman, I. . (2006). Redox modifications of protein-thiols: Emerging roles in cell signaling. *Biochem. Pharmacol.*, 71(5):551–564.
- Bito, T., Misaki, T., Yabuta, Y., Ishikawa, T., Kawano, T. and Watanabe, F. . (2017). Vitamin B 12 deficiency results in severe oxidative stress, leading to memory retention impairment in *Caenorhabditis elegans*. *Redox Biol.*, 11:21–29.
- Çakıcı, E. K., Eroğlu, F. K., Yazılıtaş, F., Bülbül, M., Gür, G., Aydoğ, Ö., Güngör, T., Erel, Ö., Alk, M. and Elhan, A. H. . (2018). Evaluation of the level of dynamic thiol/disulphide homeostasis in adolescent patients with newly diagnosed primary hypertension. *Pediatr. Nephrol.*, 33(5):847–853.
- Calik, M., Aktas, M. S., Cecen, E., Piskin, I. E., Ayaydin, H., Ornek, Z., Karaca, M., Solmaz, A. and Ay, H. . (2018). The association between serum vitamin B12 deficiency and tension-type headache in Turkish children. *Neurol. Sci.*, 39(6):1009–1014.
- Chan, C. Q. H., Low, L. L. and Lee, K. H. . (2016). Oral Vitamin B12 replacement for the treatment of Pernicious Anemia. *Front. Med. Frontiers Media S.A.*, 1.

- Chan, W., Almasieh, M., Catrinescu, M. M. and Levin, L. A. . (2018). Cobalamin-Associated Superoxide Scavenging in Neuronal Cells Is a Potential Mechanism for Vitamin B12-Deprivation Optic Neuropathy. *Am. J. Pathol.*, 188(1):160–172.
- Cheng, S. B., Liu, H. T., Lin, P. T., Lai, C. Y. and Huang, Y. C. . (2016). Folate and Vitamin B-6 status are not associated with homocysteine, oxidative stress and antioxidant capacities in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 70(7):855–858.
- Devalia, V., Hamilton, M. S. and Molloy, A. M. . (2014). Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. *Br. J. Haematol.*, 166(4):496–513.
- Elmas, B., Karacan, M., Dervişoğlu, P., Kösecik, M., İşgüven, Ş. P. and Bal, C. . (2017). Dynamic thiol/disulphide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in obese children and its relationship with inflammatory-cardiovascular markers. *Anatol. J. Cardiol.*, 18(5):361–369.
- Erel, O. and Neselioglu, S. . (2014). A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin. Biochem.*, 47(18):326–332.
- Erenler, A. K. and Yardan, T. . (2017). Clinical utility of thiol/disulfide homeostasis. *Clin. Lab.*, 63(5–6):867–870.
- Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H. H. W. and Ghezzi, P. . (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxidants Redox Signal.*, 23(14):1144–1170.
- Friso, S., Udali, S., De Santis, D. and Choi, S. W. . (2017). One-carbon metabolism and epigenetics. *Mol. Aspects Med.*, 54:28–36.

- Ghosh, S., Sinha, J. K., Putcha, U. K. and Raghunath, M. . (2016). Severe but not Moderate Vitamin B12 Deficiency impairs lipid Profile, induces adiposity, and leads to adverse gestational Outcome in Female c57Bl/6 Mice. *Front Nutr*, 3:22.
- Giden, R., Gökdemir, M. T., Erel, Ö., Büyükaşlan, H. and Karabağ, H. . (2018). The relationship between serum Thiol levels and thiol/disulfide homeostasis with head trauma in children. *Clin. Lab.*, 64(1–2):163–168.
- Green, R., Allen, L. H., Bjørke-Monsen, A. L., Brito, A., Guéant, J. L., Miller, J. W., Molloy, A. M., Nexø, E., Stabler, S., Toh, B. H., Ueland, P. M. and Yajnik, C. . (2017). Vitamin B12 deficiency. *Nat. Rev. Dis. Prim.*, 3:17040.
- Green, R. . (2017). Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood*, 129(19):2603–2611.
- Green, R. and Datta Mitra, A. . (2017). Megaloblastic Anemias: Nutritional and Other Causes. *Med. Clin. North Am.*, 101(2):297–317.
- Güney, T., Alişık, M., Akinci, S., Neşelioğlu, S., Dilek, I. and Erel, O. . (2015). Evaluation of oxidant and antioxidant status in patients with vitamin B12 deficiency. *Turkish J. Med. Sci.*, 45(6):1280–4.
- Guzelcicek, A., Cakirca, G., Erel, O. and Solmaz, A. . (2019). Assessment of thiol/disulfide balance as an oxidative stress marker in children with  $\beta$ -thalassemia major. *Pakistan J. Med. Sci.*, 35(1):161–165.
- Halil, H., Tuygun, N., Aksoy, E., Erel, O. and Karacan, C. D. . (2019). Serum Thiol-Disulphide Levels in Epileptic Pediatric Patients. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 22(1):65–68.
- Hendren, R. L., James, S. J., Widjaja, F., Lawton, B., Rosenblatt, A. and Bent, S. . (2016). Randomized, placebo-controlled trial of methyl B12 for children with autism. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.*, 26(9):774–783.

- Herrmann, W. and Obeid, R. . (2012). Cobalamin deficiency. *Subcell. Biochem.*, 56:301–322.
- Hoffman, M. . (2011). Hypothesis: Hyperhomocysteinemia is an indicator of oxidant stress. *Med. Hypotheses*, 77(6):1088–1093.
- Honzik, T., Adamovicova, M., Smolka, V., Magner, M., Hrubá, E. and Zeman, J. . (2010). Clinical presentation and metabolic consequences in 40 breastfed infants with nutritional vitamin B12 deficiency - What have we learned?. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, 14(6):488–495.
- Huemer, M. and Baumgartner, M. R. . (2019). The clinical presentation of cobalamin-related disorders: From acquired deficiencies to inborn errors of absorption and intracellular pathways. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 42(4):686–705.
- Jalambo, M., Karim, N., Naser, I. and Sharif, R. . (2018). Effects of iron supplementation and nutrition education on haemoglobin, ferritin and oxidative stress in iron-deficient female adolescents in Palestine: Randomized control trial. *East. Mediterr. Heal. J.*, 24(6):560–568.
- Jones, D. P. and Liang, Y. . (2009). Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic. Biol. Med.*, 47(10):1329–1338.
- Kaman, A., Aydın Teke, T., Gayretli Aydın, Z. G., Karacan Küçükali, G., Neşelioğlu, S., Erel, Ö. and Tanır, G. . (2019). Dynamic thiol/disulphide homeostasis and pathogenesis of Kawasaki disease. *Pediatr. Int.*, 61(9):913–918.
- Kara, S. S., Erel, O., Demirdag, T. B., Cura Yayla, B. C., Gulhan, B., Neselioglu, S., Polat, M., Kalkan, G., Tapisiz, A. and Tezer, H. . (2017). Alteration of thiol-disulphide homeostasis in acute tonsillopharyngitis. *Redox Rep.*, 22(5):205–209.
- Karamshetty, V., Acharya, J. D., Ghaskadbi, S. and Goel, P. . (2016). Mathematical modeling of glutathione status in type 2 diabetics with vitamin B 12 deficiency. *Front. Cell Dev. Biol.*, 4(MAR).

- Koc, A., Cengiz, M., Ozdemir, Z. C. and Celik, H. . (2012). Paraoxonase and arylesterase activities in children with iron deficiency anemia and vitamin B 12 deficiency anemia. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 29(4):345–353.
- Köseoğlu, H., Alışık, M., Başaran, M., Yürekli, Ö. T., Solakoğlu, T., Tahtacı, M., Ersoy, O. and Erel, Ö. . (2018). Dynamic thiol/disulphide homeostasis in acute pancreatitis. *Turkish J. Gastroenterol.*, 29(3):348–353.
- Kurt, A. N. C., Demir, H., Aydın, A. and Erel, Ö. . (2018). Dynamic thiol/disulphide homeostasis in children with febrile seizure. *Seizure*, 59:34–37.
- van de Lagemaat, E., de Groot, L. and van den Heuvel, E. . (2019). Vitamin B12 in Relation to Oxidative Stress: A Systematic Review. *Nutrients*, 11(2):482.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P. and Victor, V. M. . (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 1245049.
- Merriman, N. A., Putt, M. E., Metz, D. C. and Yang, Y. X. . (2010). Hip Fracture Risk in Patients With a Diagnosis of Pernicious Anemia. *Gastroenterology*, 138(4):1330–1337.
- Michaud, M., Balardy, L., Moulis, G., Gaudin, C., Peyrot, C., Vellas, B., Cesari, M. and Nourhashemi, F. . (2013). Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 14(12):877–882.
- Misra, U. K., Kalita, J., Singh, S. K. and Rahi, S. K. . (2017). Oxidative Stress Markers in Vitamin B12 Deficiency. *Mol. Neurobiol.*, 54(2):1278–1284.
- Mohamed, M., Thio, J., Thomas, R. S. and Phillips, J. . (2020). Pernicious anaemia. *BMJ*, 24:369.
- Moreira, E. S., Brasch, N. E. and Yun, J. . (2011). Vitamin B12 protects against superoxide-induced cell injury in human aortic endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 51(4):876–883.



- Morimoto, M., Hashimoto, T., Tsuda, Y., Kitaoka, T. and Kyotani, S. . (2019). Evaluation of oxidative stress and antioxidant capacity in healthy children. *J. Chinese Med. Assoc.*, 82(8):651–654.
- Morkbak, A. L., Hvas, A. M., Milman, N. and Nexø, E. . (2007). Holotranscobalamin remains unchanged during pregnancy. Longitudinal changes of cobalamins and their binding proteins during pregnancy and post-partum. *Haematologica*, 92(12):1711–1712.
- Mukherjee, A. K., Manna, S. K., Roy, S. K., Chakraborty, M., Das, S. and Naskar, J. P. . (2016). Plasma-aminothiols status and inverse correlation of total homocysteine with B-vitamins in arsenic exposed population of West Bengal, India. *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, 51(11):962–973.
- Muratore, C. R., Hodgson, N. W., Trivedi, M. S., Abdolmaleky, H. M., Persico, A. M., Lintas, C., De La Monte, S. and Deth, R. C. . (2013). Age-Dependent Decrease and Alternative Splicing of Methionine Synthase mRNA in Human Cerebral Cortex and an Accelerated Decrease in Autism. *PLoS One*, 8(2).
- Obeid, R., Shannan, B. and Herrmann, W. . (2011). Advanced glycation end products overload might explain intracellular cobalamin deficiency in renal dysfunction, diabetes and aging. *Med. Hypotheses*, 77(5):884–888.
- Oberley, M. J. and Yang, D. T. . (2013). Laboratory testing for cobalamin deficiency in megaloblastic anemia. *Am. J. Hematol.*, 88(6):522–526.
- Öktem, A., Zenciroğlu, A., Özyazıcı, A., Bidev, D., Özçelik, E., Dilli, D. and Erel, Ö. . (2021). Yenidoğan Dönemi Pnömoni Vakalarında Dinamik Tiyo/Disülfid Dengesi. *Turkish J. Pediatr. Dis.*, 15(1):1–6.

- Ozler, S., Oztas, E., Tokmak, A., Ergin, M., Isci, E., Eren, F., Pehlivan, S., Neselioglu, S. and Yilmaz, N. . (2016). The association of thiol/disulphide homeostasis and lipid accumulation index with cardiovascular risk factors in overweight adolescents with polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*., 84(4):516–523.
- Peker, N. A. . (2010). . Malnütrisyonlu Hastalarda Anemi Prevalansı ve Etiyolojisi. Atatürk Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, Erzurum (Danışman Prof. Dr. Mustafa Büyükavcı).
- Pisoschi, A. M. and Pop, A. . (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.*, 97:55–74.
- Roberts, R. A., Smith, R. A., Safe, S., Szabo, C., Tjalkens, R. B. and Robertson, F. M. . (2010). Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 276(2):85–94.
- Sarbay, H. . (2019). Comparison of the severity of cytopenias with etiologic factors in patients with pancytopenia and bicytopenia. *Pan Afr. Med. J.*, 34.
- Sen, C. K. and Packer, L. . (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, 72(2 SUPPL.).
- Serin, H. M. and Arslan, E. A. . (2019). Neurological symptoms of vitamin b12 deficiency: Analysis of pediatric patients\*. *Acta Clin. Croat.*, 58(2):295–302.
- Shipton, M. J. and Thachil, J. . (2015). Vitamin B12 deficiency - A 21st century perspective. *Clin. Med. J. R. Coll. Physicians London*. Royal College of Physicians, 145–150.
- Sibrian-Vazquez, M., Escobedo, J. O., Lim, S., Samoei, G. K. and Strongin, R. M. . (2010). Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107(2):551–4.

- Solomon, L. R. . (2005). Cobalamin-responsive disorders in the ambulatory care setting: Unreliability of cobalamin, methylmalonic acid, and homocysteine testing. *Blood*, 105(3):978–985.
- Solomon, L. R. . (2015). Functional cobalamin (vitamin B12) deficiency: Role of advanced age and disorders associated with increased oxidative stress. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 69(6):687–692.
- Solomon, L. R. . (2016). Low Cobalamin Levels as Predictors of Cobalamin Deficiency: Importance of Comorbidities Associated with Increased Oxidative Stress. *Am. J. Med.*, 129(1):115.e9-115.e16.
- Sönmezışık, F. . (2009). . B 12 Vitamini ve Holotranskobalamin Düzeylerinin Serum Lipid Peroksidasyonu ile İlişkisi. Uludağ Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, Bursa, (Danışman: Prof. Dr. Esmâ Gür).
- Stabler, S. P. . (2013). Vitamin B12 deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 368(2):149–160.
- Stouten, K., Riedl, J. A., Droogendijk, J., Castel, R., Van Rosmalen, J., Van Houten, R. J., Berendes, P., Sonneveld, P. and Levin, M. D. . (2016). Prevalence of potential underlying aetiology of macrocytic anaemia in Dutch general practice. *BMC Fam. Pract.*, 17(1):1–8.
- Sukumar, N. and Saravanan, P. . (2019). Investigating vitamin B12 deficiency. *BMJ*, 365:1865.
- Temel, İ. and Özerol, E. . (2002). Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.*, 9(2):149–157.
- Turell, L., Radi, R. and Alvarez, B. . (2013). The thiol pool in human plasma: The central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic. Biol. Med.*, 65:244–253.
- Tyagi, N., Sedoris, K. C., Steed, M., Ovechkin, A. V., Moshal, K. S. and Tyagi, S. C. . (2005). Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, 289(6 58-6).

- Uçaktürk, S. A., Allşık, M., Uğur, Ç., Elmaoğulları, S., Mengen, E. and Erel, Ö. . (2018). Dynamic Thiol/Disulphide Homeostasis in Children and Adolescents with Non-Autoimmune Subclinical Hypothyroidism. *Med. Princ. Pract.*, 27(1):44–48.
- Uysal, P., Avcil, S., Neşelioğlu, S., Biçer, C. and Çatal, F. . (2018). Association of oxidative stress and dynamic thiol-disulphide homeostasis with atopic dermatitis severity and chronicity in children: a prospective study. *Clin. Exp. Dermatol.*, 43(2):124–130.
- Vatner, S. F., Zhang, J., Oydanich, M., Berkman, T., Naftalovich, R. and Vatner, D. E. . (2020). Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. *Ageing Res. Rev.*, 64:101194.
- Yazilitaş, F., Oztek-Celebi, F. Z., Erel, Ö., Çaklı, E. K., Allşık, M. and Bülbül, M. . (2019). Dynamic Thiol/Disulphide Homeostasis in Children with Nephrotic Syndrome. *Nephron*, 142(1):17–25.
- Yetim, A., Aygün, E., Yetim, Ç., Ucar, A., Karakaş, Z., Gökçay, Gülden, Demirkol, M., Ömer, B., Gökçay, Gülbin, Baş, F., Erginöz, E. and Dağoğlu, T. . (2019). Measurement of serum vitamin B12-related metabolites in newborns: implications for new cutoff values to detect B12 deficiency. *J. Matern. Neonatal Med.*, 2:1–9.
- Zubarioglu, T., Kiykim, E., Cansever, M. S., Neselioglu, S., Aktuglu-Zeybek, C. and Erel, O. . (2017). Evaluation of dynamic thiol/disulphide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in maple syrup urine disease patients under treatment. *Metab. Brain Dis.*, 32(1):179–184.

## 8. ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Vitamin B12 insan vücudunda sentezlenemeyen, temel olarak hayvansal gıdalar ile dışarıdan alınması gereken suda eriyen bir vitamindir. Vitamin B12 eksikliğinde farklı mekanizmalar üzerinden oksidatif stres gelişmektedir. Tiyoller, karbon atomuna sülfür (S) ve hidrojen (H) atomunun bağlanması ile oluşan sülfidril (-SH) grubu içeren organik bileşiklerdir. Bu moleküller, oksidatif strese oldukça duyarlıdır ve insan vücudundaki en önemli antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidatif stres belirteci olarak tiyol/disülfid dengesinin araştırılması amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Çalışmaya vitamin B12 eksikliği olan 61 çocuk hasta ve 62 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak dahil edildi. Katılımcıların vitamin B12, homosistein, tam kan sayımı ve tiyol/disülfid dengesi parametreleri ölçüldü. Grupların klinik ve laboratuvar parametreleri karşılaştırıldı. Tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile vitamin B12 ve homosistein arasındaki ilişki araştırıldı.

**BULGULAR:** Gruplar yaş ve cinsiyet dağılımı açısından benzerdi. Medyan vitamin B12 düzeyi hasta grubunda 179 (98-199) ng/L, kontrol grubunda 298 (201-965) ng/L idi. Medyan homosistein düzeyi hasta grubunda 11,2 (0,08-64,3) µmol/L, kontrol grubunda 12 (4,5-26,6) µmol/L idi. Her iki grupta homosistein düzeyleri medyan değerleri normal aralıktaydı. Hasta ve kontrol grubu arasında; homosistein, nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol oranı, disülfid/total tiyol oranı ve nativ tiyol/total tiyol oranı açısından anlamlı fark saptanmadı. Hasta ve kontrol grubunda, tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile vitamin B12 ve homosistein düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

**SONUÇ:** Hasta grubumuzda vitamin B12 düzeyinin belirgin düşük olmaması nedeniyle homosistein düzeyinde ciddi artış olmadığı düşünülmüştür. Homosisteini artırmayan bir vitamin B12 eksikliğinin, oksidatif stresi artırmayacağı, dolayısıyla antioksidan kapasiteyi de artırmayacağı öngörülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Homosistein, Oksidatif stres, Tiyol/disülfid dengesi, Vitamin B12.

## 9. ABSTRACT

### Thiol Disulphide Balance in Children with Vitamin B12 Deficiency

**Introduction and Objective:** Vitamin B12 is a water-soluble vitamin that cannot be synthesized in the human body and must be taken externally with mainly animal foods. Oxidative stress develops in vitamin B12 deficiency through different mechanisms. Thiols are organic compounds containing sulfhydryl (-SH) groups formed by bonding sulfur (S) and hydrogen (H) atoms to the carbon atom. These molecules are highly sensitive to oxidative stress and are considered one of the most important antioxidants in the human body. In this study, it was aimed to investigate the thiol/disulphide balance as a marker of oxidative stress in children with vitamin B12 deficiency.

**Materials and Methods:** 61 pediatric patients with vitamin B12 deficiency and 62 healthy children as a control group were included in the study. Vitamin B12, homocysteine, complete blood count and thiol/disulphide balance parameters of the participants were measured. The relationship between thiol/disulphide balance parameters and vitamin B12 and homocysteine was investigated.

**Results:** The groups were similar in terms of age and gender distribution. Median vitamin B12 level was 179 (98-199) ng/L in the patient group and 298 (201-965) ng/L in the control group. Median homocysteine level was 11.2 (0.08-64.3)  $\mu\text{mol/L}$  in the patient group and 12 (4.5-26.6)  $\mu\text{mol/L}$  in the control group. Median values of homocysteine levels were within the normal range in both groups. Between the patient and control groups; no significant difference was found in terms of homocysteine, native thiol, total thiol, disulphide, disulphide/native thiol ratio, disulphide/total thiol ratio and native thiol/total thiol ratio. There was no significant correlation between thiol/disulphide balance parameters and vitamin B12 and homocysteine levels in the patient and control groups.

**Conclusion:** It was thought that there was no serious increase in homocysteine level, since the vitamin B12 level was not significantly low in our patient group. It can be predicted that a vitamin B12 deficiency that does not increase homocysteine will not increase oxidative stress and therefore will not increase antioxidant capacity.

**Keywords:** Homocysteine, Oxidative stress, Thiol/disulphide balance, Vitamin B12.

## 10. EKLER

### EK1: ETİK KURUL ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 28.06.2019-E.8505



T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı :16214662/050.01.04/93  
Konu :Etik Kurul Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih ORHAN  
Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Pediatri Anabilim Dalı

İlgi : 19.06.2019 tarihli ve 93 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "Vitamin B12 Eksikliği Olan Çocuklarda Tiyol-Disülfid Dengesi" isimli klinik araştırma başvuru dosyanız ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; etik ve bilimsel açıdan bir sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir ve uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Cemil BİLİR  
Etik Kurulu Başkanı

EK :  
26.06. 2019 tarih ve 01 sayılı Etik Kurul Kararı (3 sayfa)

Güvenli Elektronik  
İmzalı Aslı ile Aynıdır.  
28.06.2019

Evrak Doğrulama İçin : <http://193.140.253.232/envision/Sorgula/BejgeDogrulama.aspx?V=BENUB07FB>

Fakülte Klinik Araştırmalar 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](mailto:tip@sakarya.edu.tr) Elektronik Ağ: [www.tip.sakarya.edu.tr](http://www.tip.sakarya.edu.tr)

