



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MERSİN BÖLGESİNDE VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT
DÜZEYLERİNE AİT REFERANS ARALIKLARININ
BELİRLENMESİ**

**Dr. Mete Sabri GÜNGÖREN
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Lülüfer TAMER**

MERSİN-2008



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MERSİN BÖLGESİNDE VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT
DÜZEYLERİNE AİT REFERANS ARALIKLARININ
BELİRLENMESİ**

**Dr. Mete Sabri GÜNGÖREN
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Lülüfer TAMER**

**Bu Tez BAP-TF-TTB(LT).2004-3 Kodlu Proje Olarak Mersin
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.**

MERSİN-2008

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve sosyal alanda yol gösteren, bilgi ve deneyimleriyle her türlü desteği veren ve bu çalışmayı yönlendirip sorunların çözümünde yardımcı olan, değerli hocam Prof. Uğur Atik'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmanın oluşmasında olağanüstü bilgi ve yardımıyla bana destek olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Lülüfer Tamer'e teşekkür ederim

Biyokimya eğitiminin sağladığı olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni yönlendirip destekleyen Doç. Dr. Gürbüz Polat, Doç. Dr. Gülçin Eskandari, Doç. Dr. Burak Çimen ve Yrd. Doç. Dr. Necati Muşlu'ya teşekkür ederim.

Kalıcı dostluklar kurduğum ve birlikte güzel günler geçirdiğim çalışma arkadaşlarım ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük emeği geçen teknisyen arkadaşlarımla tüm Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına yardımları için teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca istatistiksel konularda yardımlarını sunan Sayın İlter Helvacı'ya teşekkür ederim.

Her zaman desteklerini yanımda hissettiğim beni her zaman başaracağıma inandıran , Annem, Babam, Ablam ve Filiz'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. ÖZET	5
2. İNGİLİZCE ÖZET	6
3. GİRİŞ VE AMAÇ	7
4. GENEL BİLGİLER.....	9
4.1. Vitamin B ₁₂	9
4.1.1. Vitamin B ₁₂ 'nin Yapısı ve Terminolojisi	9
4.1.2. Vitamin B ₁₂ Emilimi, Taşınması ve Metabolizması.....	12
4.1.3. Vitamin B ₁₂ 'nin İşlevleri.....	16
4.1.3.1. Metiyonin Sentaz	16
4.1.3.2. Metil Malonil Koenzim A Mutaz	18
4.1.4. Vitamin B ₁₂ Eksikliği.....	19
4.1.4.1. Hematolojik Bulgular	20
4.1.4.2. Nöropsikiyatrik Bulgular	21
4.1.4.3. Gastrointestinal Sistem (GİS) Bulgular	21
4.1.5. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinde Tedavi	22
4.2. Folik Asit.....	23
4.2.1. Folik Asit Yapısı ve Terminolojisi	23
4.2.2. Folik Asidin Diyet Kaynakları ve Emilimi	25
4.2.3. Folik Asitin Taşınımı	27
4.2.3.1. Plazmada Folik Asitin Taşınması	27
4.2.3.2. Eritrositlerde Taşınım	29
4.2.4. Folik Asitin İşlevleri	30
4.2.4.1. Metiyonin Sentezi.....	31
4.2.4.2. Timidilat Sentezi.....	32
4.2.4.3. Glisin Sentezi	33
4.2.4.4. Histidin Katabolizması.....	33
4.2.4.5. Pürin Sentezi.....	34
4.2.5. Folik Asit Eksiklik Nedenleri.....	35
4.2.6. Folik Asit Eksikliğinin Laboratuvar ve Klinik Bulguları	36
4.2.7. Folik Asit Eksikliğinin Tedavisi	37
4.3. Referans Aralığı	38
4.3.1. Referans Aralığı Tanımı.....	38
4.3.2. Referans Bireylerin Seçimi	40
4.3.2.1. Referans Bireyleri ve Dışlama Kriterleri	40
4.3.2.2. Referans Kitlesinin Gruplandırılması.....	42

4.3.3. Referans Aralık Tayininde Veri Sayısının Önemi ve Kullanılan İstatiksel Yöntemler	43
4.3.4. Referans Dağılımının İncelenmesi.....	44
4.3.5. Referans Aralığı Tayininde İstatiksel Yöntemler	44
4.3.5.1. Parametrik Yöntemler	45
4.3.5.2. Parametrik Olmayan Yöntemler	45
5. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER	47
5.1. Çalışma Grubu	47
5.2. Araç ve Gereçler	47
5.3. Yöntemler	47
5.3.1. Vitamin B ₁₂	47
5.3.2. Folik Asit	49
5.4. İstatistiksel Analizler	50
6. BULGULAR	51
6.1. Referans Grubunun Genel Özellikleri.....	51
6.2. Referans Grubunun Cinsiyete göre Ortalama B ₁₂ ve Folik Asit Düzeyleri ve Dağılımlarının incelenmesi	51
6.3. Referans Grubunun Alt Gruplara Ayrılması ve Alt Grupların Dağılımlarının İncelenmesi	53
6.3.1. Referans Grubunun B ₁₂ Vitamin Düzeylerine Ait Alt Gruplar ve Dağılımlarının İncelenmesi.....	53
6.3.2. Referans Grubunun Folik Asit Düzeylerine Ait Alt Gruplar ve Dağılımlarının İncelenmesi.....	58
6.4. Aynı Yaş Gruplarında B ₁₂ ve Folik Asit Düzeylerinin Cinsiyetler Arasındaki Farkın Anlamlılık Düzeyinin İncelenmesi	62
6.5. Örnek Referans Grubunda B ₁₂ ve Folik Asit Düzeylerine Ait Referans Aralıkların Hesaplanması.....	64
7. TARTIŞMA.....	67
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	74
9. KAYNAKLAR	75
10. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	83
11. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	86
12. TABLOLAR DİZİNİ.....	88
13. EKLER.....	89
EK:1 Aydınlatılmış Onam Formu	89
EK:2 Hasta Anket Formu	90

ÖZET

Büyüme geriliklerinin tanısında, anemilerin ve bazı nörolojik hastalıkların ayırıcı tanısında B₁₂ ve folik asit vitamin test isteklerine rutinde sık başvurulur. Klinik biyokimya laboratuvarlarında kullanılan biyokimya testlerinin yorumlanmasında referans aralıklarına başvurulmaktadır. B₁₂ ve folik asit vitamin düzeyleri, coğrafi bölge, ırk, cinsiyet ve yaş gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Bu çalışmanın amacı; Mersin ili populasyonunda B₁₂ ve Folik asit vitaminlerine ait referans değerlerinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre belirlenmesidir.

Çalışmaya, B₁₂ vitamini referans aralığı çalışması için 1710, Folik asit referans aralığı çalışması için de 1721 kişi dahil edilmiştir. B₁₂ ve Folik asit vitamin düzeyleri, E-170 Modular System cihazında analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda B₁₂ vitamini serum referans değerleri 0-9 yaşlarında (erkek/kadın: 164-925 pg/ml), 10-19 yaşlarında (erkek/kadın: 55-585 pg/ml), 20-29 yaşlarında (erkek/kadın: 136-466 pg/ml), 30-39 yaşlarında (erkek: 107-469 pg/ml; kadın: 105-542 pg/ml), 40-49 yaşlarında (erkek: 97-482 pg/ml; kadın: 101-572 pg/ml), 50-59 yaşlarında (erkek: 91-459 pg/ml; kadın: 98-516 pg/ml), 60 üzeri yaşlarda (erkek: 51-529 pg/ml; kadın: 99-537 pg/ml) olarak saptanmıştır. Folik asit serum referans değerleri 0-9 yaşlarında (erkek/kadın 5-19 ng/ml), 10-19 yaşlarında (erkek/kadın: 3-13 ng/ml), 20-29 yaşlarında (erkek/kadın: 2-12 ng/ml), 30-39 yaşlarında (erkek: 3-11 ng/ml; kadın: 4-13 ng/ml), 40-49 yaşlarında (erkek: 4-13 ng/ml; kadın: 4-15 ng/ml), 50-59 yaşlarında (erkek/kadın: 3-16 ng/ml), 60 üzeri yaşlarda (erkek/kadın: 3-15 ng/ml) olarak saptanmıştır.

Çalışma sonuçlarımıza göre B₁₂ ve folik asit vitamin düzeyleri bölgeye ve beslenme şartlarına göre farklı yaş gruplarında ve cinsiyette farklılık göstermektedir. Çalışma sonuçları her laboratuvarın kendi bölgesindeki populasyona uygun değerlerin kullanılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: B₁₂ Vitamini, Folik asit, Referans Aralık, Anemi, Prevalans.

ABSTRACT

Serum vitamin B12 and folic acid levels are frequently used in routine analysis of the diagnosis of growth deficiency, and the differential diagnosis of anaemia and some of the neurologic diseases. In clinical biochemistry laboratories, reference intervals are used in interpretation of biochemical tests. Serum vitamin B12 and folic acid levels can vary due to the factors of geographical district, ethnicity, sex and age. The aim of this study was to determine the reference intervals of serum vitamin B12 and folic acid levels for all age and sex groups.

1710 healthy individuals were included for vitamin B12 reference analysis, and 1721 healthy individuals were included for folic acid reference analysis in this study. Both serum levels of vitamin B12 and folic acid were analyzed by E-170 Modular System. Vitamin B12 reference intervals were found as 164-925pg/ml at the ages of 0-9, 55-585pg/ml at the ages of 10-19, 136-466pg/ml at the ages of 20-29 in both male and female groups. At the ages of 30-39 reference intervals of vitamin B12 were found as 107-469pg/ml in the male group and 105-542pg/ml in the female group, at the ages of 40-49 the reference intervals were found as 97-482pg/ml in the male group and 101-572pg/ml in the female group, at the ages of 50-59 the reference intervals were found as 91-459pg/ml in the male group and 98-516pg/ml in the female group, at the ages of 60 and over the reference intervals were found as 51-529pg/ml in the male group and 99-537pg/ml in the female group. Folic acid reference intervals were found as 5-19ng/ml at the ages of 0-9, 3-13ng/ml at the ages of 10-19, 2-12ng/ml at the ages of 20-29 in both male and female groups. At the ages of 30-39 reference intervals of folic acid were found as 3-11ng/ml in the male group and 4-13ng/ml in the female group, at the ages of 40-49 the reference intervals were found as 4-13ng/ml in the male group and 4-15ng/ml in the female group, at the ages of 50-59 the reference intervals were found as 3-16ng/ml, at the ages of 60 and over the reference intervals were found as 3-15ng/ml in both male and female groups.

As a result of our study, serum vitamin B12 and folic acid levels vary according to the geographic district, age groups and gender. Consequently, our results show that assessment of the reference values in that population is of utmost importance in order to evaluate the right reference level range of that population.

Key Words: B₁₂ vitamin, Folic acid, Reference interval, Anemia, Prevalence

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Yüksek yapılı organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için yalnızca karbohidrat, protein ve yağ gibi makromolekülleri almaları yeterli değildir. Bu moleküllerin kullanılabilmesi ve bazı özgül işlevleri için vitamin gibi yardımcı maddelere gereksinimleri vardır¹. Vitaminler, organizmanın büyüme, üreme ve organ işlevlerinin sürdürülebilmesi için diyetle miligram ya da mikrogram seviyesinde mutlaka dışarıdan alınması gereken organik bileşiklerdir¹⁻⁵. Vitaminler olmaksızın enzimlerin büyük bir bölümü katalitik işlevlerini yerine getiremez ve inaktif durumda kalırlar².

Günümüzde vitaminlerle doğrudan ilişkili 100'den fazla hastalık bilinmektedir. Bu yüzden vitamin eksikliklerinde çeşitli ciddi bozukluklar görülebilmektedir. Öte yandan herhangi bir hastalık olmaksızın memeli organizmasındaki bir çok metabolik olayın optimum düzeyde yürütülebilmesinde de vitaminlerin önemli rol oynadığı görülür. Güvercinlerde beriberi hastalığının besinlerle tedavi edildiğini belirleyen Polonyalı kimyacı 1911 yılında vitamin kelimesini ilk kez kullanmıştır. "Vita" Latince, hayat anlamında, "amin" son eki ile de amin sözcüğü kastedilir, yani vitaminler yaşam için gerekli aminlerdir. Daha sonra çok sayıda amin yapısında olmayan vitamin bulunmasına rağmen isim aynı kalmıştır^{2,4,6}.

B₁₂ vitamini ve Folik Asit normal sağlık ve gelişme için gerekli olan önemli iki vitamindir. Bu vitaminler DNA öncüllerinin sentezinde rol oynarlar. Folik asit bu rolünü direkt etki ile gösterirken, B₁₂ vitamini folik asit metabolizmasında düzenleyici rol oynayarak DNA öncüllerinin sentezinde indirekt bir etkiye sahip olması ile gösterir. DNA öncülleri, gerek kan yapımı için gerekse bağışıklık işlevi için önemlidirler⁴.

Gerek büyüme geriliklerinin teşhisinde ve gerekse anemilerin ve bazı nörolojik hastalıkların ayırıcı tanısında B₁₂ vitamini ve folik asit test isteklerine rutinde sıklıkla başvurulur. Referans değerler bilinmeden laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi ve klinik açıdan yorumlanması tıbbi açıdan doğru olmayabilir⁴. Klinik laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar referans aralığı değerlerine bakılarak değerlendirilir. Birçok klinik laboratuvar kendi referans aralıklarını kendileri belirlemek yerine geçerliliği olmayan geleneksel yöntemlerle bu sorunu çözmeye çalışmakta veya üretici firmaların kendi

cihazları için tanımladığı referans aralıklarını kullanmaktadırlar. Bu değerler ise gerçekte ülkemiz popülasyonunu ne kadar yansıtmaktadır? Bu sorunun net bir cevabı yoktur, ancak burada uygulanması gereken en doğru yol, klinisyenin sonuçlardan verimli bir şekilde yararlanabilmesi için sonuçların her laboratuvara özgü, doğru ve güvenilir referans aralıkları içerisinde sunulmasıdır. B₁₂ vitamini ve folik asit değerleri bölgeden bölgeye, halkın beslenme durumuna ve mevsimsel değişikliklere bağlı farklılık gösterebilir. Diğer yandan bu vitaminler için yapılan referans değer çalışmaları genellikle cinsiyet ve yaş farkı gözetilmeksizin ifade edilmektedir^{7,8}.

Bu çalışmada, Mersin ili popülasyonunda B₁₂ ve Folik asit vitaminlerine ait referans değerlerinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre belirlenmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Vitamin B₁₂

4.1.1. Vitamin B₁₂'nin Yapısı ve Terminolojisi

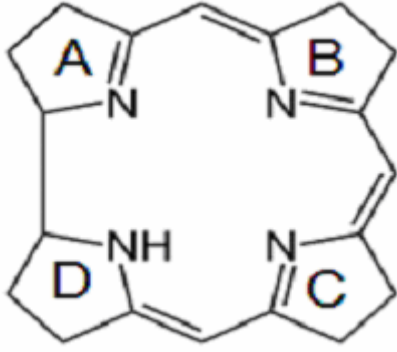
DNA sentezinde önemli bir koenzim rolü üstlenen B₁₂ vitamini özellikle normal hematopoezin sürdürülmesi ve sinir sisteminin devamlılığının sağlanması için gereklidir⁹.

1925 yılında demir eksikliği olan köpeklerin besinlerine karaciğer eklenmesinin kan hücrelerinin oluşumuna yardımcı olduğu bulunmuştur. Bir yıl sonra ilk kez kırmızı kan hücrelerinin oluşumunu etkileyen bir hastalık olan pernisiyoz aneminin (PA) (Addison-Biermer hastalığı) diyetle karaciğer alınması ile başarılı bir şekilde tedavi edildiği saptamıştır. Sekiz yıl sonra, anemiye karşı karaciğer tedavisindeki çalışmalar tıp ve fizyoloji dallarında nobel ödülü kazanmıştır¹⁰.

1930'larda normal olarak mide sıvısında yer alan intrinsik faktör (IF) bulunmuştur ve bu maddenin şiddetli anemisi olan hastaların midesinde bulunmadığı saptanmıştır. Bu hastalara düzenli olarak karaciğer yedirildiğinde iyileşme görüldüğünden IF'ün hayvanların karaciğerlerinde bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. 1948-1949'da yapılan çalışmalar ile sığır karaciğerinden kırmızı kristalize saf vitamin B₁₂ elde edilmiş ve tanımlanmıştır. 1955 yılında da vitamin B₁₂'nin kristal yapısı x ışını kristallografisi kullanılarak gösterilmiştir. Bu çalışma 1964 yılında nobel kimya ödülünü kazanmıştır¹⁰⁻¹².

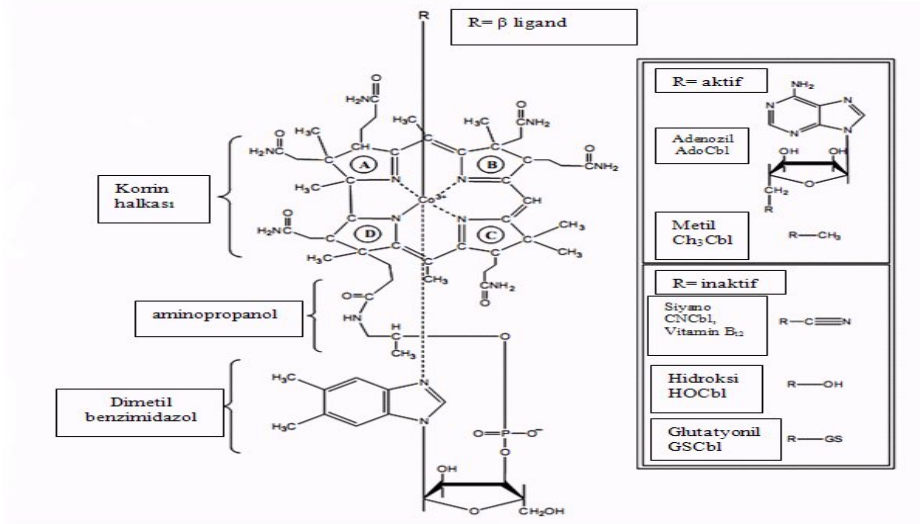
Vitamin B₁₂ suda çözünen 8 adet B grubu vitamininden birisi olup ayrıca yapısında metal atomu ihtiva eden tek vitamindir^{12,13}. B₁₂ vitamini jenerik ismini taşıyan, bir grup fizyolojik olarak aktif bileşik kobalt atomu içermesinden dolayı kimyasal olarak kobalamin veya korrinoidler olarak sınıflandırılırlar^{6,13-16}.

B₁₂ vitamini merkezde yer alan kobalt atomunu çevreleyen tetrapirrol (A,B,C,D) halkalarından ve kobalt atomuna bağlı yan zincirlerden oluşmuştur^{3,15,17}. Kobalt ve diğer yan zincirler olmadan kobalamin tetrapirrol halkasına korrin halkası adı verilir (Şekil 1)^{18,19}. Kobalt, korrin halka sistemiyle yapıya bağlanmıştır. Bu yapı Hem'de bulunan porfirin halkasına benzer^{1,19,20}. Fakat korrin yapısında, dört pirol halkasından iki tanesi (A ve D) arasında metilen köprüsü yerine doğrudan doğruya birbirlerine bağlı olmasıyla Hem'den farklılık gösterir^{19,21}.



Şekil 1. Korrin halka yapısı¹⁸.

Korrin halkası düzleminin altında kalan yani kobalt atomunun α -ligandına 5,6 dimetilbenzimidazol ribozid bağlanır, fakat bazen 5 hidroksibenzimidazol, adenin veya benzer gruplar da bağlanabilir^{10,20}. 5,6 dimetilbenzimidazol ribozidin bir tarafı kobalt atomuna bağlanırken, riboz fosfat parçası ise korrin halkasının D parçasında bulunan amino propanal yan zincirine bağlanır^{1,10,15}. α -ligand yapısının kesin olarak işlevi bilinmemekle beraber 2003 yılında yapılan çalışmalar ile α -ligandın koenzim bağlanmasında ve kataliz görevleri olduğu ileri sürülmüştür¹⁰.



Şekil 2. Vitamin B₁₂ yapısı⁹.

AdoCbl= Adenozilkobalamin, CH₃Cbl= Metilkobalamin, CNCbl= Siyanokobalamin, OHcbl= Hidroksikobalamin, GSCbl= Glutatyonilkobalamin.

Korrin halkası düzleminin üstünde ise kobalt atomunun yani β ligandına (altıncı koordinasyon pozisyonu); şekil 2'de görüldüğü gibi R grubuna değişik grupların bağlanması ile vitamin B₁₂'nin değişik formları oluşur. Metil (-CH₃) grubu bağlanırsa metilkobalamin, 5'deoksiadenozin grubu bağlanırsa deoksiadenozilkobalamin, hidroksil (-OH⁻) grubu bağlanırsa hidroskobalamin, su (-H₂O) bağlanırsa aquakobalamin, glutatyonil (-GS) grubu bağlanırsa glutatyonilkobalamin, siyanid (-CN) grubu bağlanırsa siyanokobalamin olarak adlandırılırlar^{1,15,19,20,22}.

Kimyasal olarak B₁₂ vitamini siyanokobalamin anlamına gelir. Farmakolojik bir terim olarak insanlarda aktif olan tüm kobamidler B₁₂ vitamini olarak adlandırılır. Hematolojik bir terim olarak da kobalamin ve B₁₂ vitamini birbirlerinin yerine kullanılabilir⁹.

Siyanokobalamin, hidroskobalamin, glutatyonilkobalamin biyolojik olarak aktif olan metilkobalamin ve adenzilkobalamin için prekürsör görevi görürler^{1,9,22}. Bu aktif koenzimler metabolik reaksiyonlara katılırlar. Siyanokobalamin bu grupta bulunan bileşikler içinde en dayanıklı formdur ve genellikle ticari olarak satılan vitamin B₁₂ preparatları da bu bileşiği içermektedir^{9,10,15,16,21}.

Siyanokobalaminin molekül ağırlığı 1355'dir ve 20°C sıcaklıktaki suda çözünürlüğü ise 1.2 g/dl'dir^{1,15}. Koyu kırmızı, iğne şeklinde kristalli bir bileşik olan siyanokobalamin, 200°C'nin üstünde renk değiştirir, 300°C'nin üstünde ise erir. 100°C'de ve pH 4-7 arasında ise stabildir. Siyanokobalamin; ışığa, alkaliye ve redüksiyon ajanlarına karşı hassastır¹. Siyanokobalamin sulu çözeltilerde 278, 361 ve 550 nm'lerde ayırt edici bir absorpsiyon spektrumu gösterir. Bu spektrum pH'dan bağımsızdır, ancak siyanokobalamin IF'e bağlanırsa spektrumda değişiklikler meydana gelir. Siyanokobalaminin sulu çözeltilerdeki stabilitesi ve ayırt edici absorpsiyon spektrumu nedeni ile hassas ve doğru konsantrasyonlarda siyanokobalamin hazırlanabilmekte ve serum kobalamin seviyesinin ölçümünde kalibratör gibi kullanılabilir¹⁵.

Plazmada majör olarak metilkobalamin bulunurken (%60-80) dokularda ise majör olarak 5'deoksiadenozil kobalamin bulunmaktadır^{3,11,15}.

4.1.2. Vitamin B₁₂ Emilimi, Taşınması ve Metabolizması

İnsanlar, vitamin B₁₂'nin de novo sentezini gerçekleştirme yeteneğine sahip değildirler¹⁰. Sadece bazı bakteriler ve küf mantarları tarafından sentezi yapılabilmektedir^{9,10}. Toprak ve kontamine suda bulunurlar. Kolonda bulunan bakteriler tarafından da sentez edilirse de burada üretilen B₁₂ vitamini hem emilim alanının distalinde gerçekleşmesi açısından hem de yetersiz miktarlarda sentezlenmesi nedeniyle vücudun ihtiyaç duyduğu miktarları karşılayamaz^{9,20}. Bu nedenle insanlar vitamin B₁₂ prekürsörlerini gıdalarla almak zorundadırlar^{9,10}. Hayvansal proteinler ile yakından ilişkili olan B₁₂ vitaminin önemli besin kaynakları arasında et ürünlerinden özellikle karaciğer, böbrek, beyin ve kas, deniz ürünleri, süt, süt ürünleri ve yumurta bulunmaktadır. Bitkiler ise B₁₂ vitamini kaynağı değildirler^{6,9,16}.

Günlük ihtiyaç erişkinlerde 2 µg, 0-1 yaş arasında 0.3-0.5 µg, 1-10 yaş arasında giderek artan miktarda 0.7-1.5 µg'a kadar çıkmaktadır. Gebelik süresinde özellikle ikinci trimesterde 0.5 µg/gün, üçüncü trimesterde ise 1 µg/gün ilave vitamin B₁₂ alınması gerekmektedir. Laktasyon esnasında günlük ihtiyaç 2.5-3 µg'a kadar çıkmaktadır⁹.

Normal bir diyet günde ortalama 5-15 µg kadar B₁₂ vitamini içermektedir. İnsanlarda ortalama olarak depo edilen B₁₂ vitamini miktarı yaklaşık 2 mg kadar olup bunun önemli kısmı karaciğerde depo edilmekte, 1 mg kadarına yakını da kas, kemik, böbrek, kalp, beyin ve dalak gibi organlarda depo edilir^{16,20}. Günlük kayıp ise depo edilen miktarın %0.1'i kadardır⁹.

Vitamin B₁₂'nin emiliminde aktif ve pasif olmak üzere iki mekanizma vardır.

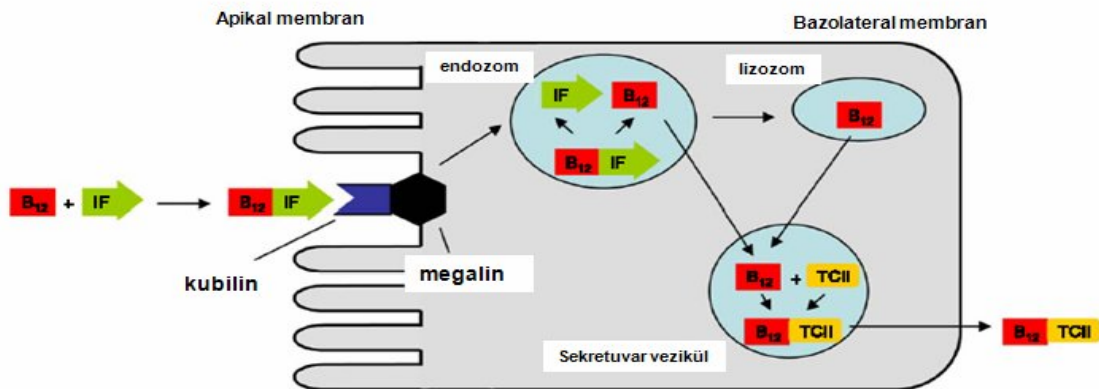
İnce barsaklara suprafizyolojik miktarlarda (>500 µg/gün) vitamin B₁₂ ulaştığında direkt olarak jejunum ve ileumdan pasif emilim gerçekleşir. Yaklaşık oral alımın %1 kadarı bu yolla gerçekleşmektedir^{11,16}.

Vitamin B₁₂'nin majör emilim yolu olan aktif mekanizma ise, hayvansal gıdalarda bulunan vitamin B₁₂'nin proteinlere bağlı olarak mideye alınması ile başlar. Midedeki hidroklorik asit ve bir proteolitik enzim olan pepsin ile proteine bağlı olan vitamin B₁₂, protein kısmından ayrılarak midede serbest hale geçer^{1,16,17}. Serbest haldeki vitamin B₁₂'nin büyük bir kısmı, tükürük ve midenin parietal hücrelerinden salgılanan kobalofiline diğer adıyla R-proteinlerine bağlanır ve geriye kalan az miktar ise IF'e bağlanır²⁰.

R proteini, glikoprotein yapısındadır ve tükürük, süt, mide sıvısı ve safra gibi sekresyonlarda, fagositlerde ve plazmada bulunur. R proteini kendisine bağlı olan B₁₂ vitamininin intestinal bakteriler tarafından kullanımını engelleyerek aynı zamanda immün sistem savunmasında da rol oynarlar. Duedonumda, R proteinine bağlı diyet kaynaklı kobalamine, safradan salınan kobalamin-R protein kompleksi de katılır²³.

Kobalamin pankreatik proteazların yardımıyla intestinal lümende serbest hale gelir. Serbest haldeki kobalamin, pankreatik sıvıda bulunan bikarbonatın pH değerini değiştirmesinin de etkisiyle IF'e bağlanır^{16,20}. Duedanal pH'da IF, R proteinininden daha yüksek bir affinite ile vitamin B₁₂ bağlar. Bu yüzden pankreasın bikarbonat salgılanmasını etkileyen durumlar, vitamin B₁₂ eksikliğinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır²⁰.

Vitamin B₁₂-IF kompleksi proteolitik sindirime dirençlidir. IF'den başka maddeler de B₁₂ vitaminini bağlayabilir fakat hiçbiri intestinal duvara götürecek taşıma işlevini yapamaz²⁰. IF; glikoprotein yapısında olup yaklaşık olarak moleküler ağırlığı 50000'dir. 1 mol IF, 1 mol vitamin B₁₂ bağlar. Bağlanma reaksiyonu oldukça spesifik olup ilişki sabiti yaklaşık olarak 4x10⁹'dur. Oda sıcaklığında bu reaksiyon dakikalar içinde dengeye ulaşır ve pH 3 gibi asidik pH'lardan dahi etkilenmez. Vitamin B₁₂-IF kompleksi ileumun distal 80 cm'lik kısmına kadar parçalanmadan gelir. Distal ileuma geldiğinde ise vitamin B₁₂ mukoza epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan kubilin adı verilen 460 kDa'luk spesifik reseptörüne bağlanır^{22,24}.



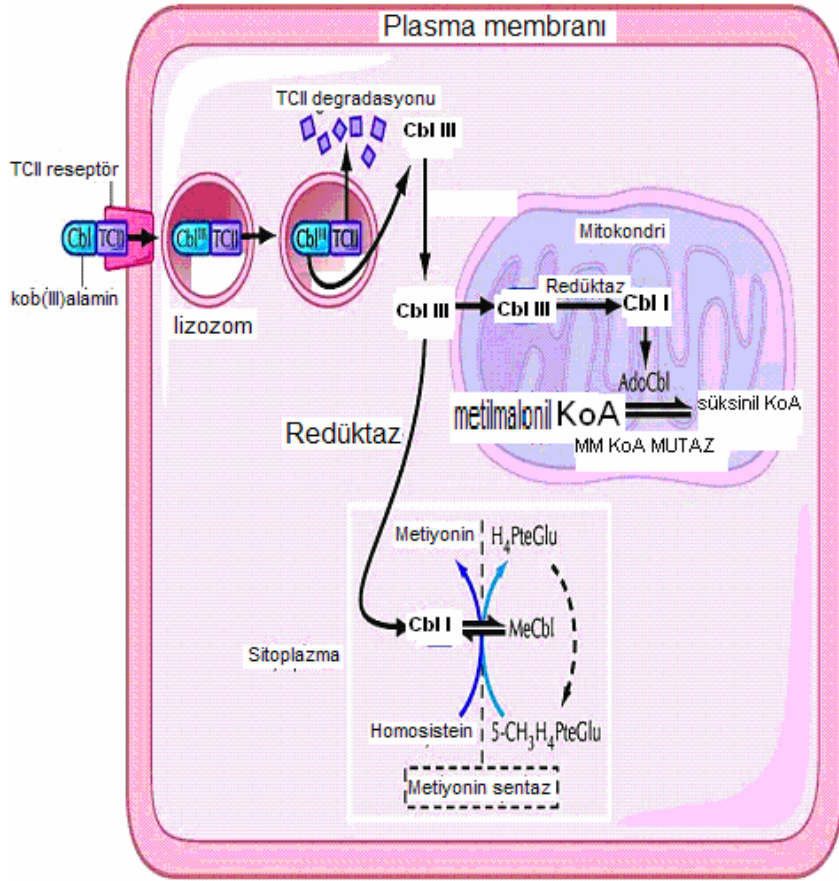
Şekil 3. Vitamin B₁₂'nin ince barsaktan emilim mekanizması²⁵.

IF: İntrensik faktör, TC-II: Transkobalamin II.

IF-vitamin B₁₂ kompleksinin kubilin reseptörüne bağlanabilmesi için Ca²⁺ iyonu ve pH'nın 5.5-7.5 arasında olması gerekmektedir^{20,24,26,27,28}. Vitamin B₁₂, IF-vitamin B₁₂ kompleksinden reseptozom adı verilen asidik veziküllerde ayrılarak TC-II'ye bağlanır²². IF ise lizozomlar tarafından parçalanır²⁸.

TCII-vitamin B₁₂ kompleksi dolaşıma salınır. Reseptör aracılığıyla gerçekleşen endositoz, TCII-vitamin B₁₂ kompleksi özellikle karaciğer, kemik iliği ve diğer dokuların plazma membranında bulunan TC-II reseptörleri tarafından hücre içine alınır²³. TC-II reseptörleri hem apo TC-II'ye (TC-II) hem de holo TC-II'ye (B₁₂—TC-II kompleksi) bağlanır, fakat reseptörün holo TC-II için ilişki sabiti (K_a) apo TC-II den 2 kat daha büyüktür²². Hücre içine alınan TCII-vitamin B₁₂ kompleksi lizozomlarda parçalanarak kobalamin serbest hale gelir^{1,22}.

Hepatosit reseptörlerinin kapasitesinden daha yüksek miktarlarda vitamin B₁₂ alındığında böbrekler tarafından idrarla atılır. Yaklaşık 2 mg kadar olan vitamin B₁₂ rezervi vücudun 2000 günlük ihtiyacını karşılamaya yetecek bir seviyedir. Bu nedenle vitamin B₁₂'nin diyet kaynaklarında azalma veya emilim mekanizmasındaki bozulma ile gelişen vitamin B₁₂ eksikliği en az 5 yıl kadar sonra görülmektedir¹⁵.



Şekil 4. TCII-vitamin B₁₂ kompleksinin lizozomlara alınması¹⁹.

Cbl: Kobalamin, TC-II: Transkobalamin II, AdoCbl: Adenozilkobalamin, MeCbl: Metilkobalamin, Metilmalonil KoA: Metilmalonil koenzim A, Süksinil KoA: Süksinil koenzim A, MM-KoA mutaz: Metilmalonil koenzim A mutaz, H₄PteGlu: Tetrahidrofolat, 5-CH₃H₄PteGlu: 5-metil tetrahidrofolat.

Gıdalardaki vitamin B₁₂'nin % 65-75 kadarı emilir. Vitamin B₁₂'nin günde 1.4-9 µg'ı karaciğerden safraya geçerek barsaklara gönderilir ve 2/3'ü barsaklar tarafından tekrar geri emilir ve enterohepatik dolaşıma katılır. Safradaki vitamin B₁₂'nin feçes ile atılımı yaklaşık 0.4 µg/gün'dür. Vitamin B₁₂ enterohepatik dolaşımı IF'e bağlıdır. IF yokluğunda vitamin B₁₂'nin tamamı feçesle atılır. Pernisioz anemili kişilerde vitamin B₁₂ eksikliğinin gelişimi hızlıdır (1-3 yıl). Fekal vitamin B₁₂'nin kaynağı; gıda ve safradan absorbe edilmemiş vitamin B₁₂, dökülmüş hücreler, gastrik ve intestinal sekresyonlar ve intestinal bakteriler tarafından sentezlenen vitamin B₁₂'dir¹⁹.

Farmakolojik yüksek doz alınmadığı sürece idrarla atılımı çok düşüktür. Diğer atılma yolları deri ve diğer vücut sekresyonlarıdır. İnsanda böbrek ve safra ile kayıp total vücut deposunun % 0.1-0.2'dir. Bu miktar günlük diyet ile karşılanmaktadır¹⁹.

4.1.3. Vitamin B₁₂'nin İşlevleri

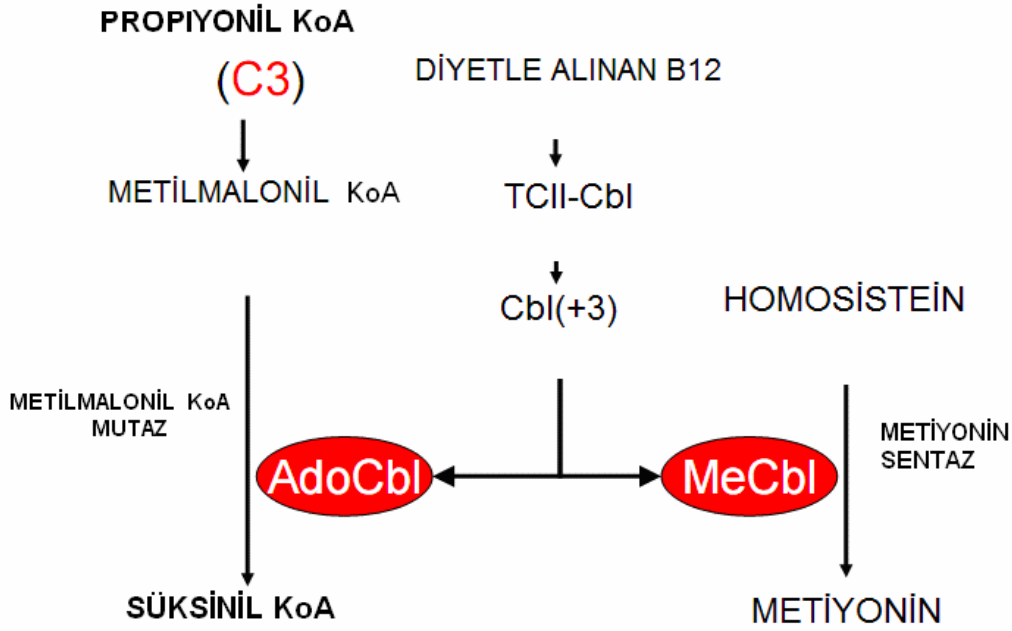
Kobalaminde bulunan kobalt (Co) atomunun vücutta 3 farklı oksidasyon hali vardır. Bunlar kobaltın +1, +2, ve +3 değerlikli formlarıdır. Hem doğada bulunan hem de vitaminin ticari preparat şekillerinden biri olan siyanokobalaminde bulunan siyanid, kobalamin (Co³⁺) atomu ile kompleks yapar. Hidroksikobalaminin de ticari preparatları bulunmaktadır. Kobaltın +3 değerlikli formundan vücutta kullanılabilir koenzim formlarına dönüşmesi için gereken redüksiyon, NADH bağımlı redüktazlar tarafından gerçekleştirilir²⁰.

İnsanlarda kobalamin metiyonin sentaz (MS) ve metilmalonil KoA mutaz (MM-CoA Mutaz)^{10,29} enzimleri için kofaktördür.

4.1.3.1. Metiyonin Sentaz

Metilkobalamin, homosisteinin metiyonine çevrilmesinde aracılık eden metiyonin sentaz enzimi için gerekli olan kobalamin formudur¹⁹. Bu enzim hem insanlarda hem de bakterilerde bulunur. Bakteriler ve insanlara ait olan enzimlerin amino asit dizilerinde %55 benzerlik vardır ve kataliz mekanizmalarında da benzerlik bulunmaktadır¹⁰.

Metilkobalamin, metiyonin oluşturmak üzere N⁵-metil tetrahidrofolattan homosisteine metil grubu aktarılmasında ara ürün olarak görev yapar. Bu reaksiyon bozulacak olursa folat mekanizması da etkilenir. Vitamin B₁₂ eksikliği olan kişilerde DNA sentez hataları ve megaloblastik yapılanma görülür²⁹. Kobalamin eksikliğinde metil transferi olmaz ve dolaşımdan alınan konjuge olmamış N⁵-metil tetrahidrofolattan, diğer tetrahidrofolat formlarına çevrilemez ve artmaya başlar. Bu durum folat tuzak hipotezi olarak adlandırılır⁹.



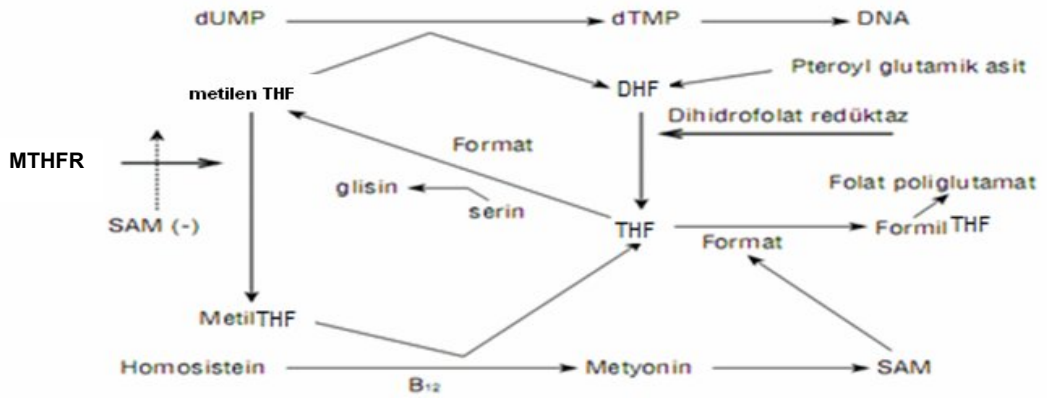
Şekil 5. Kobalaminin kofaktör olarak bulunduğu reaksiyonlar¹⁹.

Propiyonil KoA: Propiyonil koenzim A, Metilmalonil KoA: Metilmalonil koenzim A, Süksinil KoA: Süksinil koenzim A, AdoCbl: Adenozikobalamin, MeCbl: Metilkobalamin, Cbl: Kobalamin, TCII-Cbl: transkobalamin II kobalamin kompleksi.

Metiltetrahidrofolat, poligamaglutamat sentetaz enzimi için zayıf bir substrat olduğundan çoğunluğu konjuge olmamış halde bulunur ve konjuge olmamış metiltetrahidrofolatın hücre içinde kalabilmesi mümkün değildir ve sonuç olarak hücreden yavaşça dışarı sızar⁹. Doku folat eksikliği gelişmesi sonucunda megaloblastik hematopoez ortaya çıkar. Kobalamin eksikliğinde normal veya yüksek serum folat düzeylerine rağmen, konjuge olan formun konjuge olmayana göre doku içinde belirgin olarak düşük olması folat tuzak hipotezi ile açıklanabilir. Bu, kobalamin eksikliği olan hastalarda yüksek doz folatın kısmi hematolojik remisyon oluşturmasını da açıklayabilir²⁹.

Formik Asit ve S-adenozilmetiyonin (SAM) sentezi için de metiyonin gereklidir. Deoksiürüditin deoksitimidilata çevrilmesi gibi pürin sentezinde gerekli olan formik Asit, aktif folat koenzimi üretiminde kullanılır. Kobalamin ve folat eksikliğine bağlı megaloblastik değişiklikler deoksitimidilat üretimindeki eksikliğe bağlıdır.

Homosisteinin metiyonine dönüşümünün bozulması, kobalamin eksikliğinde görülen nörolojik komplikasyonlardan kısmi olarak sorumludur. Bu reaksiyon sonucu oluşan metiyonin, miyelin sentezi için gerekli olan kolin ve kolin içeren fosfolipidlerin üretimi için gereklidir. Kobalamin eksikliği folat metabolizmasından bağımsız olarak da demiyelizasyona bağlı sinir sistemi hasarı ve nörolojik bulgulara neden olabilmektedir. Metiyonin eksikliğinin sonucu olarak S-adenozilmetiyonin açığı meydana gelir. SAM aynı zamanda bir metilen THF redüktaz inhibitörüdür. THF redüktaz inhibe edilemediğinden metil THF yapımı bu yolla da artmaktadır. SAM, miyelin içinde gerekli olabilen bazı transmetilasyon reaksiyonlarında da yer alır. Bu durum B₁₂ vitamini eksikliğinde oluşan nöropatileri açıklamada ileri sürülen hipotezlerden birini açıklamaktadır⁹. Nöronal metabolizmada SAM'nin de büyük önem taşıdığı düşünülmektedir²⁹.



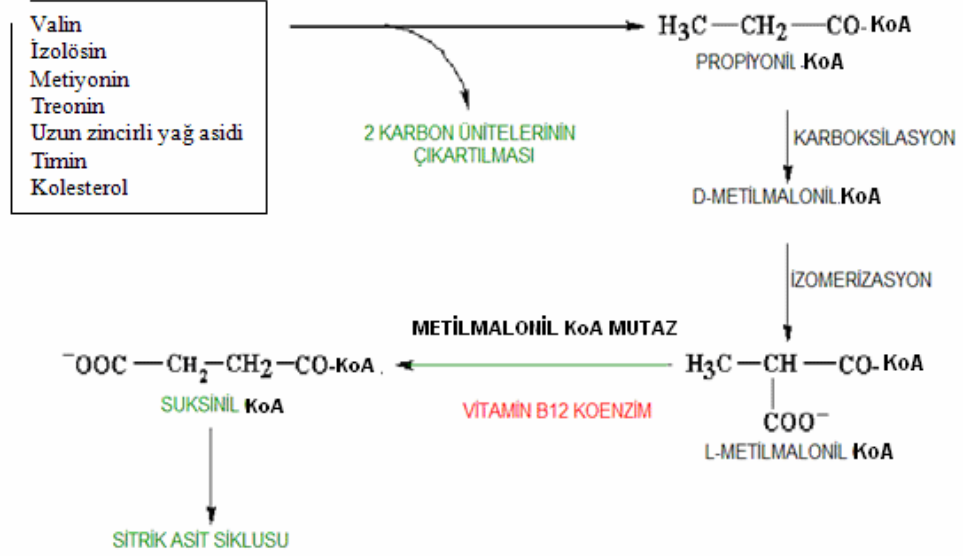
Şekil 6. B₁₂ vitamini ve folik asitin birlikte rol oynadıkları metabolik reaksiyonlar⁹. DNA: Deoksiribonükleik asit, dUMP: Deoksiüridin monofosfat, dTMP: Deoksitimidin monofosfat, DHF: Dihidrofolik asit, THF: Tetrahidrofolik asit, Metilen THF: Metilen Tetrahidrofolat, Metil THF: metil tetrahidrofolat, SAM: S-adenozil metiyonin, MTHFR: Metilen tetrahidrofolat redüktaz, Formil THF: Formil tetrahidrofolat.

4.1.3.2. Metil Malonil Koenzim A Mutaz

Kobalaminin kofaktör olarak rol aldığı bir diğer reaksiyon ise metilmalonil KoA'nın süksinil KoA'ya dönüşümü olup bu reaksiyonda adenzilkobalamin kullanılır. Bakteri ve memeli sistemlerinde adenzilkobalamine bağımlı tek

enzim metilmalonil KoA mutazdır (MM-KoA Mutaz). Adenozilkobalamin bağımlı metilmalonil KoA Mutaz mitokondriyal matrikste bulunur¹⁰.

Bu kofaktörün yokluğunda metilmalonil KoA ve prekürsörü olan propiyonil KoA'nın dokudaki düzeyleri belirgin olarak artar¹.



Şekil 7. Propiyonil koenzim A'nın süksinil koenzim A'ya dönüşüm reaksiyonları³⁰. Propiyonil CoA: Propiyonil koenzim A, Metilmalonil CoA: Metilmalonil koenzim A, Metilmalonil CoA mutaz: Metilmalonil koenzim A mutaz.

4.1.4. Vitamin B₁₂ Eksikliği

Vitamin B₁₂'nin, DNA sentezinde ve nörolojik işlevlerde önemli rol üstlenmesi nedeni ile eksikliğinde hematolojik ve nöropsikiyatrik hastalıklar görülür. Erken tanı ve tedavi ile bu komplikasyonlar genellikle geri döndürülebilir^{17,31}.

Vitamin B12 eksikliğinin tüm populasyon içinde gerçek yaygınlığının ne olduğu belirsizdir. Fakat görülme sıklığı yaş artışı ile birlikte paralellik gösterir. Vitamin B₁₂ yetmezliği 60 yaşın üzerinde yaklaşık %10-15 sıklıkla görülür^{25,32,33}. Bu yaşlarda görülen bazı zihinsel bozukluklar ve depresyonun bu nedenle oluşabileceği düşünülmektedir.

Tablo 1. Vitamin B₁₂ eksikliğinin nedenleri

Yetersiz Alım ^{31,34}		
Malabsorbsiyon	Gastrik nedenler	<ul style="list-style-type: none">▪ Pernisiyöz anemi^{29,31,34}▪ Gastrik cerrahi²⁹▪ Kostik madde hasarı⁹▪ Disfonksiyonel intrinsik faktör³⁴
	İntestinal nedenler	<ul style="list-style-type: none">▪ Bakterilerin Aşırı Kolonizasyonu^{34,35}▪ İleumu Etkileyen Hastalıklar³⁴▪ Diphyllobothrium Latum³⁴▪ İlaç (kolşisin, neomisin, etanol, omeprazol)▪ Zollinger-Ellison Sendromu²⁹▪ Immerslund-Grasbeck Sendromu⁹
Diğer nedenler	<ul style="list-style-type: none">▪ Pankreas Hastalıkları²⁹▪ Hemodiyaliz³⁴▪ AIDS³⁴▪ Nitröz Oksit⁹	

Vitamin B₁₂ eksikliğinde hematolojik, nöropsikiyatrik, gastrointestinal belirtiler vardır⁹.

4.1.4.1. Hematolojik Bulgular

Vitamin B₁₂ eksikliğinin hematolojik etkileri folat eksikliğindekilere benzer ve DNA sentezindeki bozulma sonucunda gelişir. Vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı hematolojik bulguları, folat eksikliğine bağlı hematolojik bulgulardan ayırmak oldukça zordur. En sık başvuru nedeni anemi ile ilgili semptomlardır. B₁₂ eksikliğinde polimorfonükleer lökositlerin hipersegmentasyonu, makrositik ve hiperkromik eritrositler, Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) artışı, Eritrositlerin İçerdiği Ortalama Hemoglobin Miktarı (MCH) artışı, Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyon Yüzdesi (MCHC) artışı, alyuvar sayısında azalma, cildin soluklaşması, çabuk yorulma, hızlı soluk alma ve palpasyon bulguları gözlenir. Kemik iliği hücreleri etkilendiğinden nötropeni ve trombositopeni görülebilir. Megaloblastik anemi vitamin B₁₂ eksikliğinin klasik bulgusudur. Fakat yeni çalışmalarda vitamin B₁₂ eksikliği olan kişilerde, anemi ve makrositoz bulgusunun çoğu kez olmadığı bildirilmiştir. Vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı komplikasyonlar, vitamin verilmesi ile tamamen düzelir^{40,41}.

4.1.4.2. Nöropsikiyatrik Bulgular

Vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı gelişen nörolojik belirtiler aneminin süresi ve derinliği ile ilişkisizdir ve ciddi anemisi olanlarda nörolojik belirtilerin ya hiç olmadığı ya da çok az olduğu gösterilmiştir^{9,40}. Nörolojik komplikasyonlar en endişe verici durumdur²³. Ayrıca ilerleyen olgularda tedaviden etkilenmeme riski de taşımaktadır⁹. 60 yaşından büyük kimselerde sıkça nörolojik tablo ortaya çıkar⁴¹. Yapılan çalışmalarda vitamin B₁₂ eksikliğinin, normal kemik iliği ve kan hücre değerlerine rağmen psikiyatrik bozukluk yapabileceği belirtilmiştir⁴².

Nöropsikiyatrik komplikasyonlar vitamin B₁₂ eksikliği olan kişilerin %35'inde bulunur³³. Nörolojik semptomları bulunan hastaların %25-33'ünde tek klinik bulgu nöropatidir⁴⁰. Vitamin B₁₂ eksikliği çoğunlukla periferik sinirleri ve daha sonra spinal kordu etkiler^{41,43}. Erken periferik nöropati döneminde el ve ayaklarda pareteziler oluşur ve bu en erken nörolojik belirtidir^{9,23}. Bunu güçsüzlük ve pozisyon duyusu bozukluğu izler. Duruş bozuklukları ortaya çıkabilir⁹. Reflekslerde azalma veya artma özellikle Romberg ve Babinski belirtileri pozitif olabilir ve kas güçsüzlüğü saptanabilir^{9,23}. Arka kordon tutulumu vibrasyon his kusuruna yol açar. Yan kordon tutulumuna bağlı olarak da spastisite, reflekslerde hiperaktivite ve ekstansör plantar yanıtlar görülebilir⁹.

Psikiyatrik belirtiler arasında konfüzyon, ajitasyon, iritabilite, negativizm, hallüsinasyon, somnolans, demans, konsantrasyon kaybı, bellek kayıpları, dikkat eksikliği ve apati gibi belirtiler sayılmaktadır³³. Mesane ve barsak sfinkterleri üzerinde kontrolün bozulması, uyku problemleri ve empotans gelişebilir^{23,41}. Ayrıca olguların %0.5'inde optik atrofi ve retrobulbar nörit, oftalmopleji gibi göz bozuklukları ve ortostatik hipotansiyon bildirilmiştir. Myelopati tek başına vakaların %12'sinde mevcut iken, kombine myelopati ve nöropati olguların %41'inde mevcuttur. Bilateral serebral disfonksiyon ise nörolojik semptomlu hastaların %8.1'inde bulunur^{9,40,41}.

4.1.4.3. Gastrointestinal Sistem (GİS) Bulguları

Vitamin B₁₂ eksikliği olan hastalarda GİS bulgularına oldukça sık rastlanır. GİS epiteli aynı kemik iliğinde olduğu gibi sürekli yenilenme potansiyeline sahip ve artmış DNA sentezi nedeniyle vitamin B₁₂ eksikliğine son derece hassastır^{23,34}.

GİS belirtilerindeki sıklığın diğeri bir nedeni de malabsorbsiyona neden olan GİS hastalıklarının çoğu zaman vitamin B₁₂ eksikliğine de yol açmasıdır. Vitamin B₁₂ eksikliğinin nörolojik komplikasyonları GİS'de otonomik disfonksiyona neden olabilir ve sonuçta motilite bozuklukları, anoreksi, meteorizm, kabızlık, diyare, iştahsızlık, glossite bağlı dilde ağrı, şişlik, kızarıklık, tat almama, hunter dili (kırmızı-papillar atrofik dil) görülebilmektedir^{23,34}.

4.1.5. Vitamin B₁₂ Eksikliğinde Tedavi

Tedaviye başlama kriterleri:

- a) Serum B₁₂ vitamin düzeyleri 200 pg/ml'nin altında olan hastalar.
- b) Serum B₁₂ vitamin düzeyleri 200 pg/ml'den yüksek ama 400 pg/ml'den düşük ve ek olarak yüksek metilmalonik asit ve/veya homosistein düzeyleri olan hastalar.

Altta yatan hastalığın özgün tedavisinin dışında kobalamin eksikliğinin asıl tedavisi replasman tedavisidir. Sorun büyük oranda malabsorbsiyon olduğundan hastalara genellikle siyanokobalamin formunda intramuskuler parenteral tedavi veya oral tedavi uygulanır²⁹.

Parenteral tedavi: Başlangıç tedavisinde 1000 µg/gün bir hafta süresince verilir ve daha sonra bir ay 1000 µg/hafta dozunda tedaviyle sürdürülür. İdame tedavisi olarak da 1000 µg/ay şeklinde eksiklik nedeni düzeltilinceye kadar veya pernisiyoz anemi gibi sebeplerde hayat boyu devam edilir¹⁹.

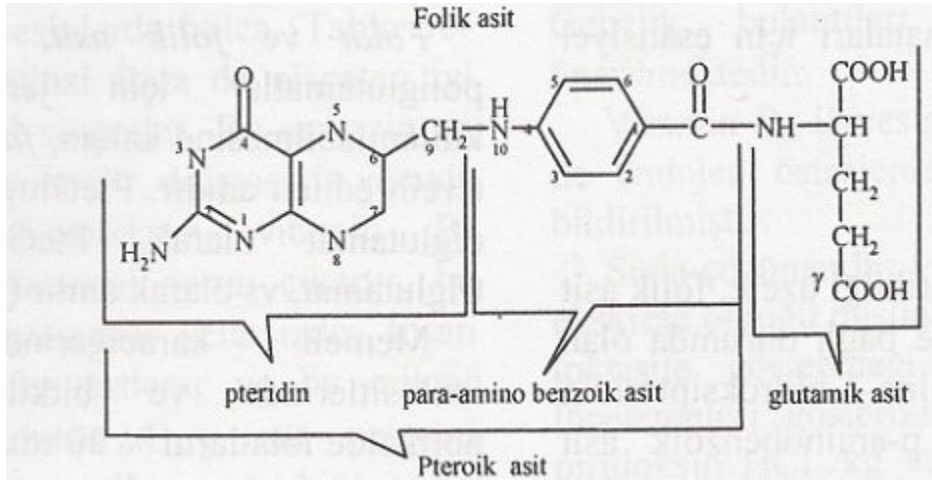
4.2. Folik Asit

4.2.1. Folik Asit Yapısı ve Terminolojisi

1931 yılında, Hindistan'da hamileliğin ileri dönemlerinde gözlenen makrositik aneminin maya tedavisine cevap verdiği görülmüştür^{44,45}. Adını ilk kez 1941 yılında ıspanaktan izole edilmesi sebebiyle yaprak anlamına gelen "folium" dan alan folik asitin streptococcus lactis R (S. Faecalis) için büyüme faktörü olduğu gösterilmiştir. 1943 yılında ilk kez bileşik saf kristal halinde sentez edilmiştir⁴⁴.

Folat veya folik asit; pteroiik asit ile ilişkili ve birbirine benzer vitamin aktivitesine sahip bileşiklere verilen genel bir addır^{1,16,44}. Folisin terimi ise, biyolojik olarak aktif folik asit için kullanılır¹.

Folik asitin yapısında, pteridin halkası, p-amino benzoik asit (PABA), α-glutamik asit ve tek karbonlu gruplar (formil, metil, metilen gibi) bulunur¹. İnsanlar PABA'yi sentez edemezler veya ilk glutamik asiti yapıya ekleyemezler²¹. Pteridin halkası ve PABA pteroiik asidin parçalarıdır ve eğer L-α-glutamik asit ile konjuge olursa bu yapıya "pteroglutamik asit" de denilir^{1,29,44}.

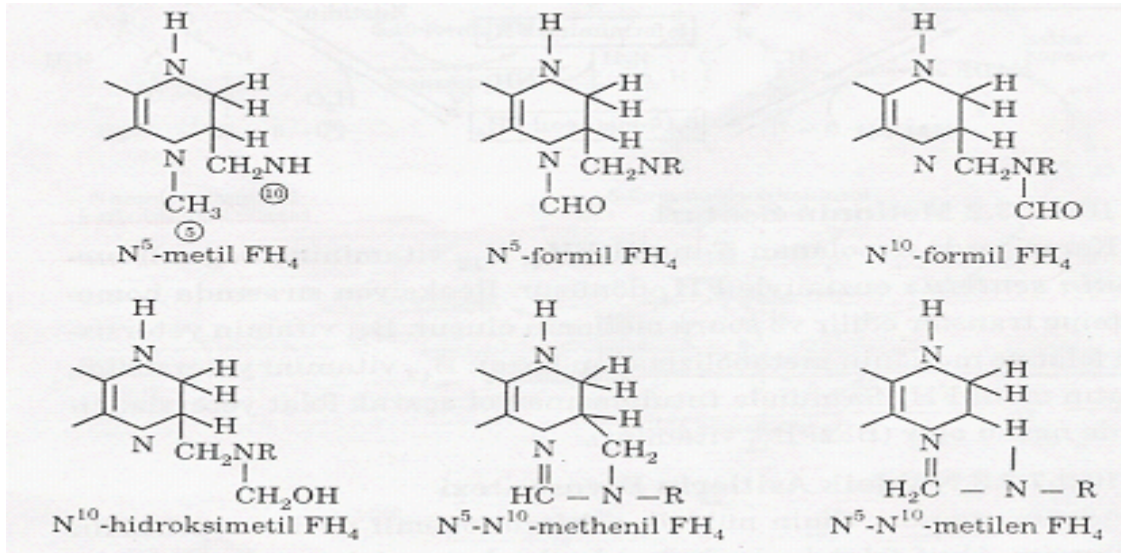


Şekil 8. Folik asidin yapısı¹¹.

Pteridinin yapısında primidin ve prazin halkaları bulunur¹. Pteroglutamik asidin prazin halkasının 7 ve 8 numaralı pozisyonlarına hidrojen iyonlarının eklenmesi ile gerçekleşen redüksiyon ile dihidrofolik asit (DHF) veya 5-6-7-8 numaralı pozisyonlara hidrojen iyonlarının eklenmesi ile gerçekleşen redüksiyon

ile tetrahidrofolik asit (THF) oluşur^{1,15}. Pteridin halka p-amino benzoil-poli- λ -glutamata bağlanır. Bu bağ nedeniyle folik asit esansiyeldir¹¹.

Doğal olarak folik asit, poliglutamat molekülleriyle konjuge halde bulunur. Eklenecek olan glutamat yapı, glutamatın gama karboksil grubuna peptit bağla bağlanır diğer glutamatla ise α -amino grubundan bağlanır^{1,46}. Doğada bulunan folatlar, pteroglutamik asitten üç yol ile farklılaşabilir. 1) Glutamat rezidülerinin eklenmesi (poliglutamat). 2) Dihidro veya THF'lara redüksiyon. 3) Metil (-CH₃), formil (-CHO), metilen (=CH₂), methenil (=CH₄) gibi tek karbon ünitelerinin, N⁵ veya N¹⁰ pozisyonundaki atomlara eklenmesi (Şekil 9). Doğada yüz elliden fazla folik asit formu bulunmuştur¹.



Şekil 9. 5-metil-THF ve THF moleküllerinin N⁵ ve/veya N¹⁰ pozisyonundaki farklı radikalleri¹.

Folik asit alkali çözeltilerde floresans ışın yayar ve maksimum absorbanlarını 256, 282 ve 365 nm' lerede gösterir^{6,15}.

Doğal folatların çoğunluğu poliglutamat şeklindedir. Biyokimyasal açıdan poliglutamatlar ile monoglutamatlar birbirlerine benzerdir fakat poliglutamatlar doğal koenzimdirler¹⁵. Metabolik reaksiyonlara katılabilmesi için poliglutamat formundaki folatın, DHF ve THF formlarından birisine indirgenmesi gerekir^{6,9}. Sadece redükte formlar biyolojik olarak aktiftirler. İnsanlarda serum veya diğer

vücut sıvılarında çeşitli folik asit şekilleri bulunmasına karşın başlıca bulunan form N⁵-metil THF'tir.

Memelilerin karaciğerinde, eritrositlerinde, lenfositlerinde ve bitkilerde bulunan poliglutamatlar, folatların % 90'nını oluşturur¹¹.

Birçok metabolik reaksiyonda tek karbonlu birimlerin taşıyıcısı olarak görev yapan folik asit, kolin, serin, glisin, pürin ve deoksitimidin monofosfat (dTMP) gibi bileşiklerin biyosentezi için gerekli bir vitamindir⁶.

4.2.2. Folik Asidin Diyet Kaynakları ve Emilimi

İnsanlar folatı sentez etme yeteneğine sahip değildirler. Bu yüzden gereksinimlerini çeşitli diyetlerden karşılamak zorundadırlar. Birçok değişik bitki ve bakteri tarafından sentezlenebilirler²⁹. Folattan zengin diyet kaynakları arasında; maya özü, karaciğer, böbrek ve diğer sakatatlar, yeşil yapraklı sebzeler ve turuncgiller bulunmaktadır. Bununla beraber daha az oranlarda olsa da ekmek, patates ve süt ürünlerinde de bulunması nedeni ile bu gıda maddeleri de folat ihtiyacını karşılamaya katkıda bulunurlar^{6,45,47}.

Gıdalarla yeterli miktarda folik asit alınabilmesi için diyetin içeriği ve hazırlanma şekli önemlidir. Gıdalarla alınan folik asitin kaynatma ve pişirme esnasında vitamin özelliğinin % 50-90'ı kaybolmaktadır^{9,29,47}. Ayrıca pişirme esnasında fazla miktarda su kullanılması da folatın yıkılmasına neden olur⁴⁷.

Doğada genelde poliglutamat şeklinde bulunan folatlar, bitkilerde en çok pteroyilheptaglutamat, karaciğerde ise pteroyilpentaglutamat formunda görülürler²⁰. Folat, besinlerde genellikle 5-metil THF, 10-formil THF ve türevleri şeklinde bulunur^{45,48}. 5-metil THF besin folatlarında ve ekstrasellüler sıvı içinde en fazla bulunan formdur ve hızlıca 5-metil 5-6 dihidrofolata okside olur^{45,49}. Bu okside olan form total besin folatının önemli bir kısmını göstermektedir⁴⁵. 5-metil 5-6 dihidrofolat, postprandiyal gastrik (pH 3,5) ortamda hızlıca parçalanırlar (t_{1/2}=16.9 dk). Aynı asidik ortamda 5-metil THF ise daha stabil kalır (t_{1/2}=273.6 dk)⁴⁹. Gastrik lümene aktif olarak askorbik asitin salınması asite duyarlı olan 5-metil 5-6 dihidrofolatın asite dirençli 5-metil THF'a redükte olmasında kritik öneme sahiptir⁴⁴. Bu mekanizma besin folatlarının biyoyararlanımlarını optimize edebilme açısından önemli bir role sahiptir⁴⁴. 5-metil THF güneş ışığında asit ortamda olduğundan daha az stabildir¹¹.

Folatın intestinal emilim mekanizması tam anlamıyla anlaşılmış değildir²⁰. Besin folatlarının, enterositlerin fırçamsı membranlarından emilimi transmembran pH gradiyentine bağlı anyon değişim mekanizması ile gerçekleşen bir aktif transport olayıdır. Bu mekanizma doyurulabilir bir mekanizmadır^{1,45}. Folat intraluminal pH'da anyonik yapıdadır ve hidroksil anyonu ile yer değiştirir⁴⁵. Emilim jejunumun her yerinde olmakla birlikte en etkili şekilde jejunumun proksimal kısmında gerçekleşmektedir^{31,45}.

Gıdalarda bulunan folik asitin, yüksek bir polar özelliğe sahip glutamik asid rezidu zincirleri ile konjuge halde bulunması vitaminin barsaktaki emilimini bozar^{6,29}. Bu nedenle emilmeden önce bu poliglutamat halindeki folatlar enterositlerde nötral pH'da bulunan membrana bağımlı bir enzim olan pteroil- λ -glutamilhidrolaz (konjugaz) ile katalize edilerek folik asitin, monoglutamat ve diglutamat (folik asit) formlarına hızlıca hidrolize olurlar ve enterositlerin içinde de metilasyona uğrayarak 5-metil THF'a metabolize edildikten sonra dolaşıma katılırlar^{6,13,15,29,45}. Bu işlem iki aşamada NADPH-bağımlı dihidrofolat redüktaz ve THF redüktaz enzimlerinin yardımıyla gerçekleşir¹. Eğer poliglutamat halindeki folat enterosit içine değiştirilmemiş şekilde girecek olursa lizozomal hidroliz ile lizozomlarda monoglutamat folat formuna çevrilebilir fakat bu yolağın önemi daha azdır²⁰.

Pteroil- λ -glutamilhidrolaz enzimi besin folatlarının verimli bir şekilde emilebilmesi için gereklidir fakat folik asit veya 5-formil-THF gibi vitaminin ilaç formlarının bu enzime ihtiyaçları yoktur. Pteroil- λ -glutamilhidrolaz enzimi sadece λ -glutamil bağına etki eder ancak proteinlerde ve polipeptidlerde görülen α -peptit bağlarını katalize etme yeteneği yoktur¹³. Enzim bir çinko metallo enzimi olduğundan, çinko yetersizliği folat emilimini azaltır ve çinkonun vücutta azalmasına ve artmasına hızlı bir biçimde cevap verir. Folat glutamatlarının test dozlarının intestinal emilimi, bazı araştırmacılara göre vücutta çinko beslenme durumunu belirlemek için duyarlı bir belirteçtir¹¹.

Plazmada en çok bir monoglutamat olan N⁵-metil-THF bulunur. Plazmada en çok bu forma özgü hücre içine alım reseptörleri mevcuttur^{13,29,45}. Enterositlerde çeşitli monoglutamatların bu yapıya dönüştüğü düşünülmektedir¹. N⁵-metil-monoglutamat THF'in, biyolojik açıdan daha yararlı olan ve nukleotid sentezinde kullanılacak olan monoglutamat THF'a çevrilmesi için B₁₂ bağımlı metiyonin sentaz enzimi gereklidir. THF- monoglutamat, folat glutamat sentaz

enzimi için tercih edilen folat formudur ve bu enzim glutamat parçalarını oligo- λ -glutamil-THF oluşturmak üzere konjuge eder. Bu reaksiyonun ürünü çoğunlukla heksaglutamil-THF ve pentaglutamil-THF'dir⁴⁵.

Hücre içinde N⁵-metil grubu kobalamin gerektiren bir reaksiyon ile uzaklaştırılır ve folat yeniden poliglutamat formuna çevrilir. Bu büyük moleküler yapıyla hücre içinde poliglutamat formunda tutulabilirler^{1,29}.

Günlük alınması gereken folat miktarı erişkin bayan ve erkekte yaklaşık 400 μ g/gün, çocuklar için 150-200 μ g/gün, hamile bayanlarda ihtiyacın artması ile birlikte 600 μ g/gün ve emziren annelerde ise 500 μ g/güne kadar alınması gerekmektedir¹⁶. Beslenmesi normal bir kişi, günde yaklaşık 5-40 μ g arasında idrarla vitamini atar. Erişkin bir erkekte total vücut düzeyi 5-10 mg kadardır¹. Vitaminin biyolojik yarılanma ömrü 100 gündür, günlük doku dönüşümü ise 37.5 μ g kadardır^{1,15}. Folatın emilimindeki bir bozulma sonrası birkaç ay içinde eksiklik belirtileri gözlenmeye başlar^{1,15,29}. Fazla miktarda alınan folat ise idrar ve dışkı ile atılır⁴⁷. Metabolize olan folatın sadece % 20'si feçeste bulunur, emilmeyen miktar 60-90 μ g'dır¹⁶.

4.2.3. Folik Asitin Taşınımı

4.2.3.1. Plazmada Folik Asitin Taşınması

Barsaklardan emildikten sonra 5-metil-monoglutamat-THF portal dolaşıma salınır. Büyük bir çoğunluğu karaciğer tarafından alınır bununla birlikte bir kısmı safraya verilir ve enterohepatik dolaşım ile tekrar plazmaya alınır. Enterohepatik dolaşım plazma folat düzeyinin sürekliliği için önemlidir. 5-metil-monoglutamat-THF'in plazma seviyesi 3-30 ng/ml'dir. Folat eksikliğinden kısa bir süre sonra vitamin ihtiyacını karşılamak amacıyla hücrelerde ve enterohepatik dolaşımda bulunan monoglutamat folat havuzundan, gereken miktarlar sağlanmaktadır. Dokuların folat alımındaki azalma hücrede depo edilen poliglutamat formundaki folatların azalmasına ve poliglutamat folatların hidrolizi ile de monoglutamat türevlerine dönüşüm artar. Bu işlem, plazmada kullanılan 5-metil-THF seviyesini arttırmaktadır. 5-metil-THF, reseptör aracılı endositozis mekanizması ile de renal proksimal tübüllerden emilir ve 5-metil-THF'in dolaşımda bulunan miktarına katkıda bulunur. Pteroil- λ -glutamilhidrolaz ile plazmaya salınan her bir poliglutamat monoglutamat forma çevrilir. Karaciğer folat regülasyonunda temel rol oynamaktadır^{1,45,50}.

Endojen indirgenmiş plazma monoglutamatların ancak %30-40 kadarı nonspesifik düşük affiniteli bağlayıcı proteinlere bağlanır. Genellikle bu protein ($K_d \sim 1 \text{mM}$) albumindir⁴⁵.

Plazmada miktarı daha az olmakla beraber monoglutamatlar; folik asit eksikliğinde, hamilelikte, kronik granulositik lösemi, üremi, akut hepatit ve siroz gibi karaciğer hastalıklarında ve umbilikal kord kanı serumunda, artabilen ve daha yüksek bir affiniteye ($K_d \sim 1 \text{nM}$) sahip olan folat bağlayıcı proteinlere de (FBP) bağlanabilir^{6,45,51}. Bu proteinler α -2 makroglobulin ve transferindir. Hamilelik esnasında meydana gelen folat eksikliğinde bu proteinlerin bağlanma oranları artar ayrıca α -2 makroglobulinden transferrine doğru artan bir şekilde bağlanma oranları da değişir⁴⁵.

Folat bağlayıcı proteinler; süt, plazma veya serum, beyin-omurilik sıvısı, tükürük, idrar, karaciğer, böbrek, ince barsak, dalak, plasenta, koroid pleksus, nötrofil, granulosit, kanser hücreleri gibi çeşitli sıvı ve dokulara dağılmıştır^{1,45,52}. FBP, folik asitin redükte formundan çok okside folat monoglutamat ve poliglutamat formlarını bağlar. FBP'lerin metil THF'a bağlanması zayıf olmakla birlikte diğer redükte folatlardan daha fazla bağlanır. FBP'lerin pteroyil glutamik asite (PGA) bağlanması hızlıdır, pH bağımlı olmakla birlikte ısıdan etkilenmez ve yavaş bir ayrılma oranına sahiptir. FBP'ler 30 dakika ısıtılmak ile bozulurken, 6M üre konsantrasyonunda ise FBP'nin PGA'ya bağlanması inhibe olur. Dietilaminoetil selüloz kromatografisi ile yapılan çalışmalar neticesinde FBP'ler beta globulin fraksiyonunda bulunmuş ve folat eksikliği olan serumda normal seruma göre 8 kattan daha fazla miktarda bulunduğu saptanmıştır⁵¹.

Folat eksikliğinin erken döneminde FBP ölçülebilirken folik asit replasmanının hemen sonrasında ise ölçülemezler⁵¹. FBP'ler saflaştırılmış ve biyokimyasal özellikleri tanımlanmış olmasına rağmen folat dağılımında, taşınmasında ve hücre içine alınmasında nasıl bir fizyolojik işlevi olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Buna karşın folat bağlayıcı proteinlerin renal filtrasyon ile folat kaybında ve bakteri etkisine karşı savunma rolü oynadıkları düşünülmektedir¹⁵.

Vitamin B₁₂'den farklı olarak folik asite ait olan emilim ve transport proteinlerinin yokluğuna bağlı bir klinik hastalık bildirilmemiştir^{6,15}.

4.2.3.2. Eritrositlerde Taşınım

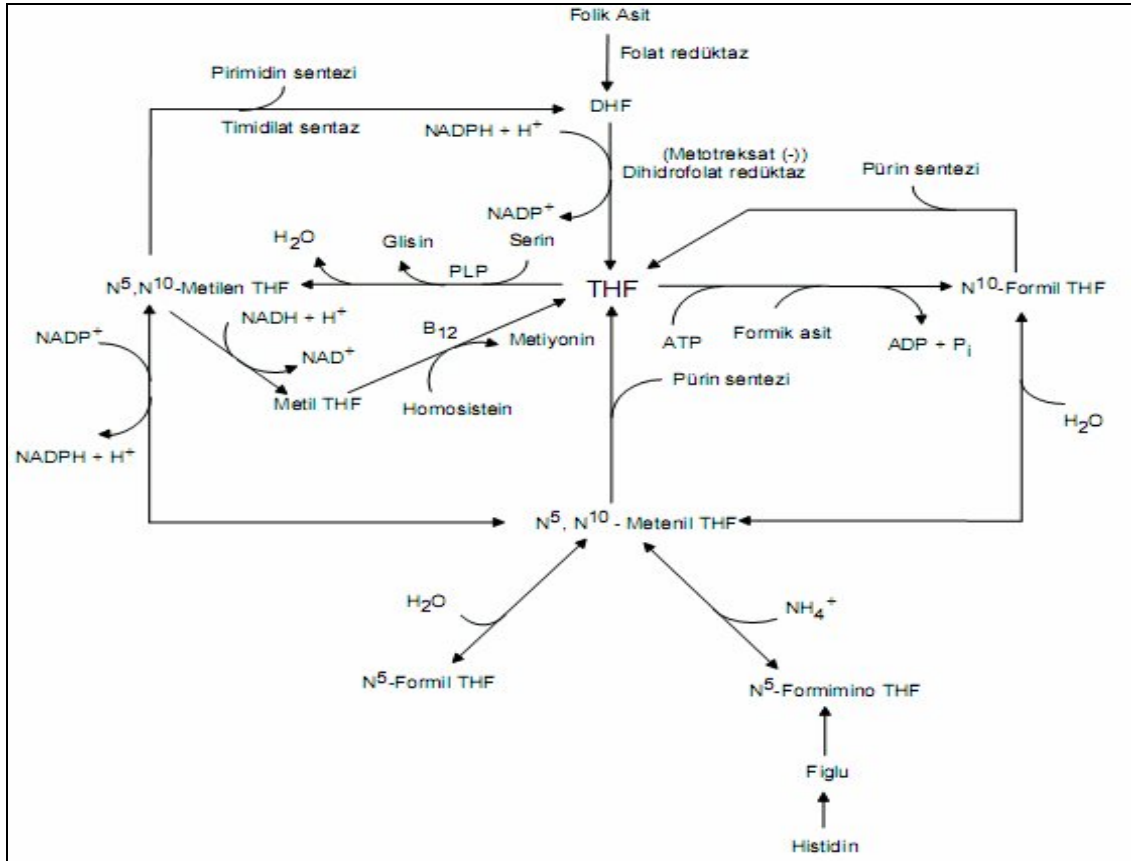
Folat, kemik iliğinde eritropoez sırasında eritroblastların içine alınır. Eritrosit içi folat çoğunlukla 5-metil THF ve formil THF şeklindedir. Birçok çalışma neticesinde elde edilen bilgiler doğrultusunda çoğunlukla eritrosit içindeki folatlar -penta ve hekza- poliglutamat şeklindedir⁴⁵. Poliglutamatlar, deoksihemoglobinin $\beta_1\beta_2$ bölgesine difosfogliserat ile yarışmaya girerek bağlanır. Bağlanma poliglutamat rezidu sayısının çoğalması ile artmaktadır. Poliglutamatlar oksihemoglobine bağlanamazlar fakat pteridin halkası çıkartılır ise p-amino benzoyilpoliglutamat kısımları ile bağlanabilirler. Bunun nedeninin ise çok büyük bir parça olan pteridin halkasının küçük olan $\beta_1\beta_2$ bölgesinden içeriye giremeyeceği sanılmaktadır. $\beta_1\beta_2$ bölgeleri, oksihemoglobinde (T-form) deoksihemoglobinden (R-form) daha fazla olduğu için folatın Hb-folat bağlayıcı bölgelerinden içeriye girişine engel olur⁵³.

Oksihemoglobinden oksijenin çıkartılması ister direkt yolla (N_2 ile) isterse indirekt yolla (askorbik asit ile hemolizat asiditesinin artırılması) olsun daha fazla miktarda deoksihemoglobin üretimine neden olur. Bu olaya bağlı olarak deoksihemoglobin folata bağlanacak ve ölçülebilir eritrosit içi folat konsantrasyonu artacaktır. Buna karşı eğer Hb oksijenlenip oksihb oluşursa eritrosit içi folat konsantrasyonları düşecek ve buna rağmen oksihb tetrameri folatı bağlamayacaktır⁵³.

Eritrosit içi folat konsantrasyonu radyometrik bağlanma yöntemleri ile yapılan çalışmalarda 140-450 ng/ml arasındaki bir aralıkta yer aldığı saptanmıştır. Eritrosit içi folatın bilinen bir metabolik işlevi yoktur. Uzun süreli folat homeostazı için tampon görevi gördüğü düşünülmektedir. Eritrosit içi folat seviyeleri, serumda hafif hemolizli durumlarda artan hatalı yüksek seviyelerinden de daha yüksek bulunur. Eritrosit içi folat, plazma folatı gibi folat durumunu göstermek için kullanılmasına rağmen yeni alınmış besin folatından etkilenmezler, plazma folatı ise (özellikle metil THF) kısa dönemlik diyetin etkilerini oldukça iyi yansıtır. Yaşlı eritrositlerin içindeki folatlar retikuloendotelial hücreler tarafından alınarak karaciğere taşınır ve enterohepatik siklus aracılığı ile periferel dokulara dağılmak için safraya verilir^{16,45}.

4.2.4. Folik Asitin İşlevleri

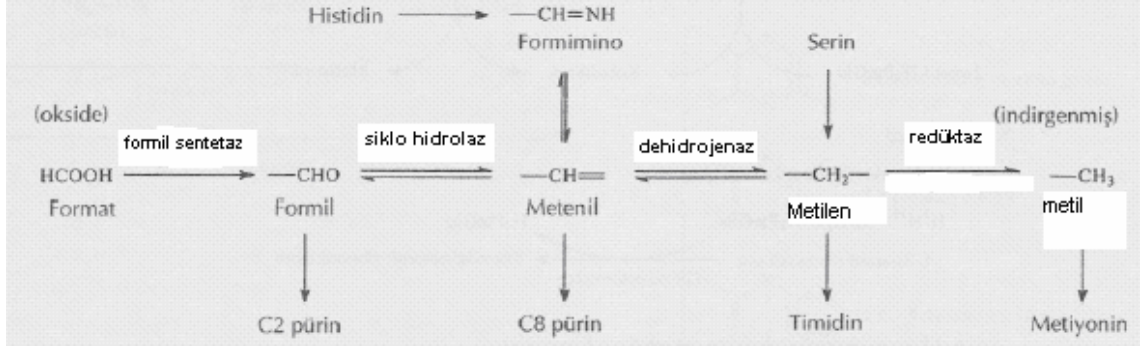
Folik asit, hücre bölünmesi ve protein sentezi için kritik öneme sahiptir¹⁶. Folik asit ve kobalaminler metabolik açıdan birbirleri ile yakından ilişkilidir⁴⁷. Folat koenzimleri tek karbonlu yapıların değişik organik bileşiklere taşınmasında gereklidirler Tek karbon bileşiklerin kaynağı genellikle glisin, N⁵-N¹⁰ metilen THF oluşturmak üzere THF'la tepkimeye giren serin ve histidin katabolizmasında yer alan N⁵-formimino THF ve glutamik asit oluşturmak üzere THF'a formimino grubu veren formiminoglutamik asittir²⁹. Bu türevler değişik tek karbon yapılar içeren THF türevlerinin oluşturduğu dönüştürülebilir donör havuzuna girişi sağlar. Bu havuzun içerdiği maddeler, tek karbon yapılarını, sonuçta makromolekül sentezinde kullanılan yapım bloklarına dönüşen metabolik ara ürünleri oluşturan bileşiklere verebilmektedir²⁹. Bu gruplar metil (-CH₃), metilen (-CH₂-), formimino (-CH=NH), formil (-CH=O) ve metenil (-CH=)'dir^{1,29}. Aktarılan tek karbonlu birimin kimyasal yapısına bağlı olarak farklı folatlar kullanılır^{15,16}.



Şekil 10. THF metabolizmasında yer alan reaksiyonların şematik gösterimi⁵⁴

Flavin adenin dinukleotid (FADH₂) ve nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) gibi koenzimlerin yer aldığı çeşitli elektron transferi

reaksiyonlarında görev yapan folik asit türleri birbirine dönüşebilmektedir¹⁵. N⁵-N¹⁰ metilen ile N¹⁰ formil şekilleri arasında tepkime geri dönebilir olmasına karşın, metilen'in metil'e ve serbest THF'nin formil THF reaksiyonları geri dönüşümsüzdür. N⁵ metilTHF'in serbest THF dönüşümü için kobalamine gerek duyulur¹⁵.



Şekil 11. Folat formlarının metabolizması ve birbirlerine çevrilmesi⁶.

Folik asit birçok metabolik reaksiyonda hayati rol oynar. Metiyonin sentezi, timidilat sentezi, serinin glisine çevrilmesinde, histidin katabolizmasında ve pürin sentezi gibi beş önemli tepkimede işlev görürler¹.

4.2.4.1. Metiyonin Sentezi

Şekil 12'de görüldüğü gibi karaciğerde depolanan N⁵-metil THF, B₁₂ vitaminine bağlı metiyonin sentetaz enzimiyle THF'a dönüşür. Reaksiyon sırasında metil grubu homosistein'e transfer edilerek metiyonin oluşur⁵⁵.

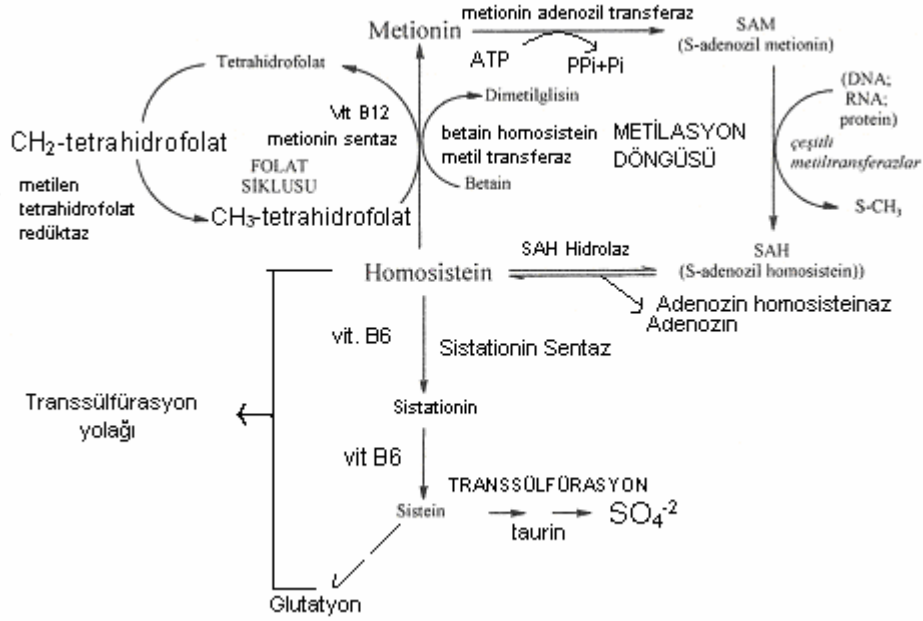
Metiyonin, ATP ile aktive edilerek guanidinoasetat, nukleik asit, nörotransmitter, fosfolipid ve hormonlar gibi metil alıcıları için primer metil kaynağı olan SAM'i oluşturur. Hücrede SAM konsantrasyonu azalırsa N⁵-metil THF'ın sentezi artarken, sistatyonin sentezi de suprese olur⁵⁵.

Metiyonin sentetazın veya metilen THF redüktazın defekti sonucu homosistein metiyonine çevrilemez, homosistinüri gelişir⁵⁵.

MTHFR, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir ve 656 aminoasitten oluşur. MTHFR enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde (homosistein transsülfürasyon ve remetilasyon yollarını kullanarak metabolize olur) görev yapar⁵⁶.

MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır. Hiperhomosisteinemi ve homosisteinürinin

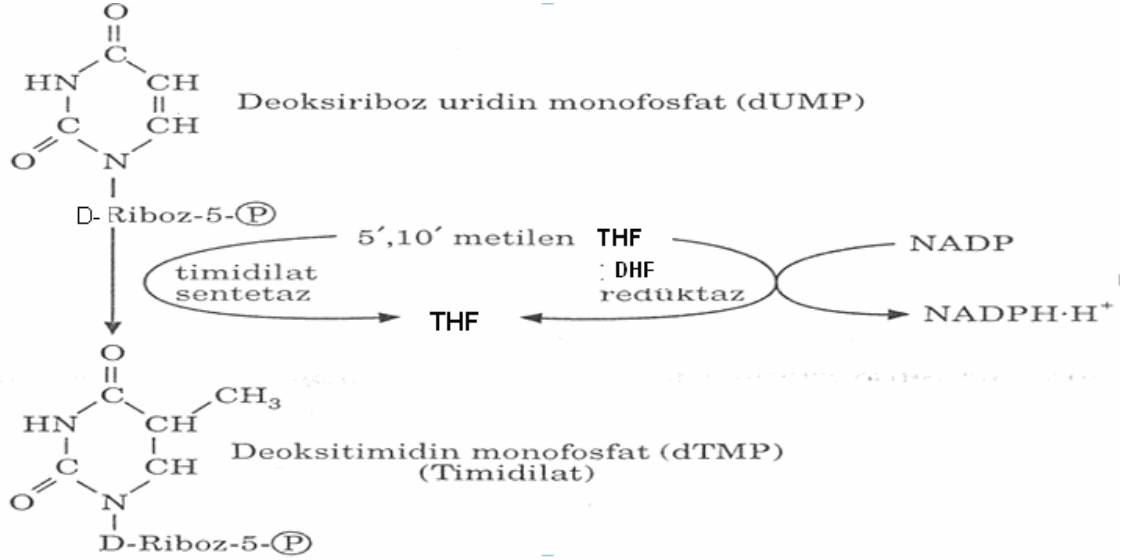
ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, inme, tromboz gibi klinik özellikler görülür⁵⁶.



Şekil 12. Metiyonin Sentezi¹⁵.

4.2.4.2. Timidilat Sentezi

THF, pirimidin metabolizmasında sadece timidin nükleotid sentezi için kullanılmaktadır⁵⁴. Pirimidin nükleotid sentezinde, deoksiüridilat monofosfat (dUMP) N⁵-N¹⁰ metilen THF'un metil grubunu alarak deoksitimidilat monofosfat'a (dTMP) çevrilir. Bu olaydan sorumlu olan ve DNA oluşumunda hız sınırlayıcı enzim olan timidilat sentaz'dır (Şekil 13)⁴⁵. Bu reaksiyonda folat sadece tek karbon ünitelerini taşımaz, aynı zamanda iki hidrojen ve metilen karbonunun metile indirgenmesini de sağlar. Tek karbon ünitelerinin transferi N⁵-N¹⁰ metilen THF'dan olur¹.



Şekil 13. Timidilat sentezi¹

THF: Tetrahidrofolat, DHF: Dihidrofolat, NADP: Nikotinik Adenin Difosfat, NADPH+H: Redükte Nikotinik Adenin Difosfat, D-Riboz-5 P: Deoksiriboz 5 Fosfat

4.2.4.3. Glisin Sentezi

Folat koenzimleri serinin glisine dönüşümünde de rol oynarlar. Hidroksimetil transferaz enzimi serinin THF ve formaldehite transferini katalize ederek 5-10 metilen THF ve glisin oluşumu gerçekleştirir

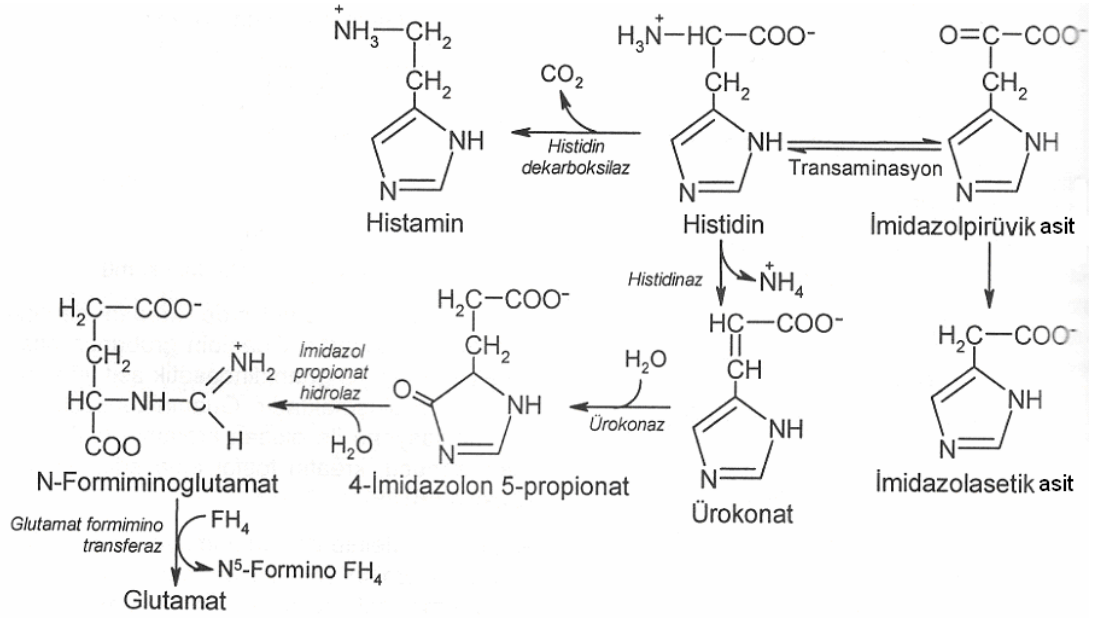


Şekil 14. Glisin sentezi¹.

THF: Tetrahidrofolat, PLP: Pridoksal Fosfat

4.2.4.4. Histidin Katabolizması

Histidin katabolizmasında şekil 15'te görüldüğü gibi metabolik bir ara ürün olan N⁵-formiminoglutamat (FİGLU) formiminotransferaz/siklodeaminaz gibi iki işlevli bir enzim ile katalize edilir. İlk önce formimino grubunun (CH=NH) THF'a transfer edilmesi ile glutamat ve 5-formimino THF oluşur^{1,45,57}.

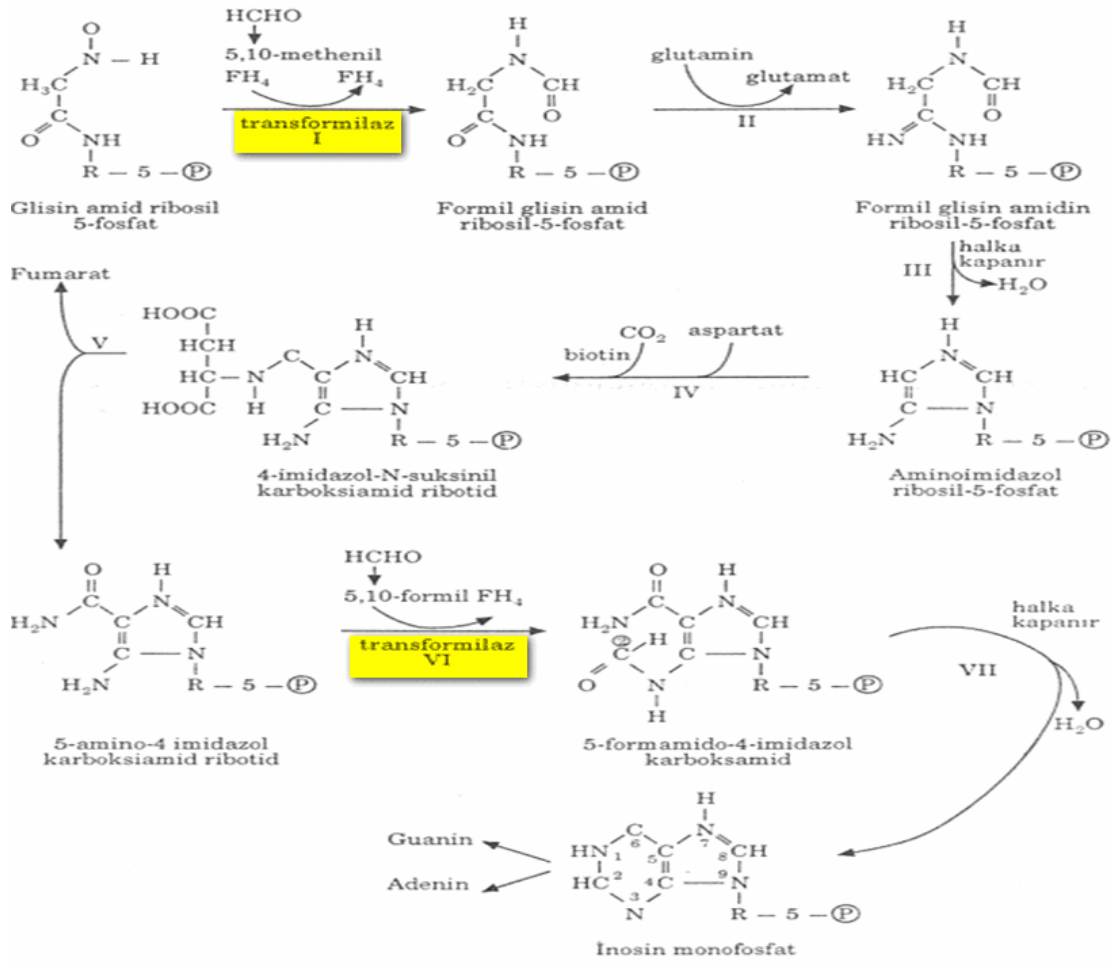


Şekil 15. Histidin metabolizması⁵⁷.

4.2.4.5. Pürin Sentezi:

İnsan ve diğer memelilerde pürin nükleotidleri, nükleik asitlerin monomerik prekürsör gereksinimini karşılamak ve pürinlere ait diğer işlevleri için sentez edilirler⁵⁴.

Aktif folat enzimlerinden formil ünitesi taşıyıcılar, pürin halkasının 2,8 pozisyonlarına tek karbon ünitelerinin katılması için gereklidir. 10- formil THF ve 5-10- metenil THF pürin molekülündeki bu pozisyona spesifik formil vericileridir⁵⁴.



Şekil 16. Pürin biyosentezi¹.

4.2.5. Folik Asit Eksiklik Nedenleri

Amerikan Gıda ve İlaç Derneği'nin talimatı ile 1988'den bu yana tüm zenginleştirilmiş tahıl ürünlerine folik asit eklenmekte olup buna bağlı olarak folik asit eksikliği insidansı belirgin olarak azalmıştır²⁹. Folik asit eksikliğine, kobalamin eksikliğinden daha fazla bir oranla yanlış beslenme neden olmaktadır. Gastrointestinal sistem bozukları benzerdir, ancak pernisiyöz anemiye göre daha yaygın ve ciddi olabilir. İshal sık görülür, şeliozis ve glossit bulunabilir. Ancak kobalamin eksikliğinden farklı olarak nörolojik bozukluk oluşmamaktadır²⁹.

Folik asit eksiklik nedenlerini 4 ana gruba ayırabiliriz.

Tablo 2. Folik asit eksiklik nedenleri

Alım eksikliği ^{9,29}	<ul style="list-style-type: none">• Yaşlılık• Alkolizm• Hiperalimentasyon• Hemodiyaliz
Emilim kusuru ^{9,45}	<ul style="list-style-type: none">• Tropikal sprue• Çölyak Hastalığı• Rejyonel Enterit• Whipple Hastalığı• Amiloidoz• Skleroderma• Barsak Rezeksiyonları• Diabetes Mellitus
Artmış ihtiyaç ^{1,9,29,47}	<ul style="list-style-type: none">• Gebelik• Laktasyon• Adölesan• Myeloproliferatif hastalıklar• Hipertiroidi
İlaçlara bağlı eksiklik ^{1,16,29}	<ul style="list-style-type: none">• Metotreksat• Primetamin• Triamteren• Trimetoprim• Primetamin• İzoniazid• Sikloserin• Sulfazalazin• Kolestiramin• Oral Kontraseptifler• Fenitoin• Primidon• Fenobarbital• Difenilhidantoin• Karbamazepin

4.2.6. Folik Asit Eksikliğinin Laboratuvar ve Klinik Bulguları

Folat eksikliğinin majör klinik semptomu megaloblastik anemidir¹³. Folat veya kobalamin eksikliğine bağlı gelişen hematolojik değişiklikler birbirinden ayırt edilemezler⁴⁷.

Megaloblastik anemide oluş sırasına göre gelişen biyokimyasal bulgular şunlardır: İlk olarak düşük bir serum folatı gözlenir. Nötrofillerin hipersegmentasyonu ve idrarda FİGLU miktarında artış, eritrosit içinde folat seviyesinde azalma, makroovalositler, megaloblastik kemik iliği ve en sonunda anemi gelişir. Serum folat düzeyleri folat eksikliğinin erken bir belirteci olmasına rağmen sıkça normal doku depolarına rağmen düşük görülebilmektedir. Uzun dönemde folat eksikliği olmasına karşılık tetkikten önceki birkaç gün içinde folik asit alınmış ise serum folat seviyeleri normal bulunabilmektedir. Vitamin B₁₂

bağımlı basamak sonrasında folat depolanması gerçekleştiği için hem B₁₂ hem de folat eksikliğinde eritrosit folatında düşüklük görülür. Eritrosit folat seviyeleri folat eksikliği için en iyi laboratuvar indeksi olarak kabul edilir. Eritrosit folat düzeyleri tetkikten önceki 2-3 aylık süre ile ilgili eksikliği serum folat düzeyine göre daha iyi yansıtır. Buna karşılık hızla gelişen folat eksikliğinde eritrosit folatı normal bulunabilir. Kobalamin eksikliği olan olguların yarısına yakınında da eritrosit folatı normalin altında olabilmektedir⁹. Hem eritrosit folatı hem de serum folatının tetkiklerde birlikte istenmesinin sebebi eritrosit folatının depolardaki seviyeyi, serum folatının ise dolaşımdaki miktarı daha iyi göstermesindedir. Serumda ve idrarda homosistein seviyelerinin yükselmesi folat eksikliğinde meydana gelir. Genellikle serbest ve proteine bağlı formların hepsinin toplamını veren total homosistein seviyeleri ölçülür⁴⁷. Ancak bu bulgu B₁₂ vitamini eksikliğinden ayırım için yeterli değildir. Ayrıca idrarda FİGLU atılımı da B₁₂ vitamini eksikliğinde de artabileceğinden spesifik olmayan bir testtir. Buna karşılık deoksiüridin supresyon testi metil THF ile düzeliyor ise hastada folat eksikliğinden söz edilebilir⁹.

4.2.7. Folik Asit Eksikliğinin Tedavisi

Kobalamin eksikliğinde olduğu gibi folat eksikliğinin tedavisi de yerine koyma tedavisidir²⁹. Folat eksikliğinde fizyolojik dozlarda (200 mg/gün) folik asit verilmesi bile hematolojik yanıt oluşturmaya yeterlidir⁹.

Önerilen şekli ile tedavide uygulanan doz 1 mg/gün şeklindedir. Malabsorbsiyonlu olgularda bile bu dozun oral verilmesi ile sonuç alınabilmektedir⁹. Parenteral olarak folat verilmesi nadiren gerekir. 2-3 haftalık tedavi ile depolar dolabilir. Ancak eğer gereksinim devam ediyor veya eksikliğe neden olan patoloji (hemolitik anemi, malabsorbsiyon, kronik malnutrisyon) sürekli ise idame tedaviye gerek vardır. İdame dozu olarak 0.25-0.50 mg/gün yeterlidir. Ayrıca hastalara yeterli miktarlarda folat içeren uygun diyet almaları önerilir. Gebelere ise 1 mg/gün dozunda folat verilmelidir. Gebelerde folik asit eksikliğine ek olarak kobalamin eksikliği de varsa bu durumda üç ay ara ile 1 mg kobalaminin de tedaviye eklenmesi önerilmektedir. Folik asit tedavisine hematolojik yanıt kobalamin eksikliğindeki gibidir^{9,29}.

4.3. REFERANS ARALIĞI

4.3.1. Referans Aralığı Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization; WHO), sağlıklı olmayı sadece hastalık durumunun yokluğu şeklinde değil, fiziksel, mental, sosyal refah durumlarını da göz önünde bulundurarak tanımlamaktadır⁵⁸.

Bireyde sağlıklı olup olmama kararına referans verilere başvurularak karar verilmektedir. Referans veriler anamnezlerden, muayenelerden ve laboratuvar sonuçları gibi destek incelemelerden elde edilebilir^{58,59}. Biyokimyasal testler, klinik tanının konmasında, tedavinin takibinde, prognozunda, taramada, yer almaktadır⁸.

Biyokimya laboratuvarlarında biyokimya testlerinin yorumlanmasında referans aralığına başvurulmaktadır⁶⁰. Bir referans bireyinde belirli bir fenotipin gözlemlenmesi ya da ölçülmesi ile elde edilen değere referans değeri denir^{7,8}. Örnek bir popülasyondan seçilen referans bireylerin hepsinin oluşturduğu topluluğuşa, referans kitlesi denir. Referans kitlesinden elde edilen değerler bir dağılım oluşturacak ve bu dağılıma istatistiksel analizler uygulandığı zaman da dağılımın belli bir bölümünü içine alan alt ve üst değerler elde edilmiş olacaktır. Böylece alt ve üst değerlerin içine alındığı kesim dağılımın belli bir yüzdesini ifade edecektir. Günümüzde bu kavramları açıklarken normal değer ya da normal aralık sözcükleri kullanılmamaktadır. Çünkü normal terimi kişiden kişiye göre değişebilecek bir kavramı anlatır, öyle ki bireyden bireye değişebilen bu değerlerin hangisinin normal olarak tanımlanması gerektiğini belirlemek çok zordur⁶¹. Referans değerler teriminin, normal değerler teriminin farklı anlamlar içerebilmesi nedeniyle kullanılmasının daha doğru olacağı sonucuna varılmıştır. Normal terimini açıklamak için bazı tanımlamalar yapılmıştır^{8,62,63,64}. Bu tanımlamalar:

- 1) Bireyin kendi normali: Sağlıklı döneminde bireyden elde edilmiş değer.
- 2) Optimum sağlık durumundaki bireylerden elde edilmiş verilere dayalı değerler.
- 3) Cohort (eş grupları) normalleri: Hastanın grubunu temsil eden sağlıklı toplulmdan elde edilen değerler.
- 4) Genel toplum normalleri: Hastanın seçildiği toplumun tüm fertlerini temsil eden gruptan elde edilen normaller.

- 5) İstatistiksel olarak: Gaussian dağılıma uyan veriler grubu (biyolojik veriler çoğunlukla normal dağılım gösteren çan eğrisi grafiğine uymaz)
- 6) Epidemiyolojik olarak: Toplum taramalarında çok görülen değerler normal olarak kabul edilmektedir.
- 7) Klinik olarak: Normal sözcüğü belirli bir hastalığın ya da hastalık gelişme riskinin yokluğunu gösterir.

Bir testin bir birey için normal değerinin ne olduğu, ancak o test o bireye uygulanarak anlaşılabilir. Bu değer in önceden biliniyor olması tercih edilir⁸.

Bireyin hangi sağlık durumunun normal olarak kabul edileceği zor bir karar aşamasıdır. Bunu belirledikten sonra da, bir kişiden elde edilen değerlerin bir başka kişiyle benzeşmesi düşük bir olasılıktır. Bu sebeple, en ideal referans değere ulaşabilmek için, kişinin kendisine ait eski sonuçları ile değerlendirme yapılmasıdır ancak herkes için bu koşulun sağlanması zor ve masraflıdır. Bu yapılacak olsa bile kişi hayatının farklı dönemlerinde farklı sağlık durumlarında olabileceği dikkate alınmalıdır⁶⁵. Bulgu veren bir patolojiye sahip olmayan bireyler, normal olarak kabul edilecek olursa, bu bireylerden elde edilen referans değerlerini, hasta olan kişilerin test sonuçlarını değerlendirmek için kullanmak ise yanlış referans aralığı kullanmaktan başka birşey olmayacaktır. Bu nedenlerden dolayı, "normal" terimi kullanılmasından uzaklaşmıştır, karşılaştırmada temel alındığı için, "referans" teriminin kullanılmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür^{62,63}. Referans aralıklarını belirlerken de normal bireylerin değil, referans bireylerden elde edilen değerlerin kullanılmasının daha uygun olacağı kabul edilmesi gereken bir gerçektir. Sonuç olarak; referans bireyi, iyi belirlenmiş kriterler kullanılarak seçilen kişi; referans aralığı ise, bu bireylerden oluşturulan örnek referans dağılımının belirli istatistiksel yöntemlerin kullanılması sonucunda elde edilen referans değerlerinin tanımladığı aralık olarak düşünmeliyiz⁸.

Her bireyin yaşadığı topluma göre değerlendirilmesi önemlidir, her laboratuvara kendi toplumuna ait referans değerlerini bulması ve uygulaması önerilmelidir. Fakat, bilinmelidir ki her laboratuvarın bu işi yapması ve uygulaması oldukça zaman kaybına ve masrafa neden olacaktır. Bu nedenle, belirli kriterlere göre seçilmiş bölgelerden elde edilecek homojen referans grupları oluşturularak, referans aralıklar hesaplanabilir. Laboratuvarlar arasında kullanılan analiz yöntemlerine ve cihazlara göre birbirlerine çevrilebilirler. Önemli olan husus,

referans aralıkların, kullanıldıkları toplumu temsil edebilme özelliğinin ne olduğudur⁶².

4.3.2. Referans Bireylerin Seçimi

4.3.2.1. Referans Bireyleri ve Dışlama Kriterleri

Referans bireylerinin seçimi aşaması, referans aralığının saptanmasında ki en önemli aşamalardan biridir. Bunun için referans birey tanımını, sağlık veya ilgilenilen hastalık ile ilgili kriterlerin iyi bilinmelidir⁵⁸. Referans bireyler muayene edilen adaylar arasından tanımlanmış kriterlere uyanların seçilmesi ile gerçekleştirilir. Referans popülasyonu bir çalışmada olması istenen, hedeflenen bir grubu temsil eder. Bu popülasyon kişinin kendisi olabileceği gibi, sağlıklı kabul edilen popülasyon ya da hastane popülasyonu da olabilir^{60,66}.

Referans popülasyonundan belli kriterler dikkate alınarak elde edilecek bireylerin oluşturduğu topluluğa örnek referans kitlesi denir. Örnek referans kitlesini oluşturacak bireylerin seçimi için doğrudan ve dolaylı örneklendirme yöntemi adı verilen iki yöntem kullanılabilir⁸.

Doğrudan örneklendirme; IFCC (International Federation of Clinical Chemistry; Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Federasyonu) tarafından önerilen ve bazı kriterler kullanılarak hasta seçiminin yapılmasıdır. Bu kriterlere dışlama kriterleri denilmektedir⁸.

Referans bireyler seçilirken dikkate alınması gereken dışlama kriterleri arasında; alkol alımı, yakın zamanda kan vermek veya almak, hipotansiyon veya hipertansiyon, reçeteli veya reçetesiz ilaç kullanımı, ilaç bağımlılığı, yakın zamanda hastalık hikayesi, gebelik, emzirme, obezite, sigara, vitamin kullanımı, yoğun egzersiz, yakın zamanda ameliyat olmak, kronik hastalıklar, oral kontraseptif kullanımı yer almaktadır⁷.

Bu kriterler IFCC tarafından önerilen ve ayrıca NCCLS' nin (National Committee for Clinical Laboratory Standards; Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi) ilgili dökümanlarında da belirtilen dışlama kriterleridir. Her birey seçilirken bu faktörlerin etkisi altında olup olmadığına bakılmalıdır. Bu kriterler seçim esnasında uygulamanın yönüne göre iki şekilde kullanılabilir: Test öncesi örnekleme (Apriori) yönteminde dışlanma kriterleri bireyler seçilirken kullanılır. Test sonrası örnekleme (Aposteriori) yönteminde ise elde bir veri kitlesi vardır ve bu kriterler sonradan kullanılır^{7,8}.

Apriori yönteminde ileriye dönük bir dışlanma, aposteriori yönteminde ise geriye dönük bir dışlanma söz konusudur⁵⁸. Aposteriori yöntemine göre dışlanmanın yapılabilmesi için elimizde çok iyi şekilde düzenlenmiş bir veritabanına sahip olunması gereklidir⁸.

IFCC ve NCCLS'nin referans değerlerin hesaplanması ile ilgili standartları, referans bireylerin doğrudan örneklendirme yöntemiyle seçilmelerini önermektedir. Ancak doğrudan örneklendirme yönteminin uygulama zorluğu ve masraflı olması sebebiyle çok fazla kullanılmamaktadır. Birçok laboratuvar verilerini bu kriterlere göre düzenleyemediği için dolaylı yöntem daha fazla kullanılmaktadır⁸.

Bir başka yöntem ise dolaylı örneklendirmedir. Bu yöntemde ise elimizde bir veri kitlesi var, bu veri grubu dışlama kriterlerine göre bir ayıklama yapılmadan olduğu gibi alınır⁸.

Dolaylı örneklendirme yönteminde laboratuvarlarda elde sonuçların büyük bir kısmı tam olarak Gaussian bir dağılım göstermeseler bile normale yakın bir dağılım görülmektedir. Çok fazla aşırı uç değer veya gruplaşma olmamak şartı ile bu dağılımda bulunan Gaussian tipe uyan bölümler alınabilir. Bunu gerçekleştirebilmek için, dolaylı örneklendirme yöntemi ile elde edilen verilerin değerlendirilebilmesi için çeşitli istatistiksel analiz yöntemleri geliştirilmiştir⁸. Bu yöntemlerin bazı dezavantajları vardır. Çünkü kullanılacak birden fazla yöntem vardır ve elde edilen alt ve üst referans değerler kullanılan yöntemdeki matematiksel metodlara bağlı olacaktır. Bir başka dezavantajı ise; elde edilen referans aralıkları o hastanenin belli bir zaman dilimini göstermekte ve bu değerler hastaneden hastaneye farklılıklar gösterebilmektedir⁶⁷. Bu şekilde elde edilen referans değerlerin daha geniş bir popülasyona uygulanmasında sakıncalar çıkabileceği düşünülmektedir⁸.

Referans aralığı hesaplanırken dolaylı örneklendirme yolu kullanılacaksa veri toplanması aşamasında uyulması gerekenler⁸;

1) Kullanılacak olan örnek dağılım, referans popülasyonunun bir parçası olmalıdır. Hastane popülasyonu dışındakiler değerlendirilmeye alınmamalıdır.

2) Örnek referans dağılımı ünimodal olmalı, dağılımın içinde homojeniteyi bozacak gruplaşmalar olmamalıdır.

3) Verilerin yoğunlaştığı bölge, dağılımın moduna uygun olmalıdır.

Dolaylı örnekleme, doğrudan örnekleme yönteminden daha kolay bir yöntemdir. Ancak dağılımda birden fazla modun olduğu bir görünüm ortaya çıkarsa, hasta tanısı ve demografi kullanılarak muhtemel gruplaşmalar engellenmelidir⁸.

Sonuçta her iki yolla da örnekleme yapılabilmekte ve bu yöntemlere göre seçilen referans bireyler de farklı istatistiksel metotlarla değerlendirilebilmektedir. Doğru bir veri seçimi yapılırsa dağılımlarda gruplaşmaya ve uç değerlere daha az rastlanacaktır. Kullanılan bir diğer kriter de hastanın taburcu olduğu esnadaki kayıtlara geçen tanısıdır. Bu tanı yardımıyla hastanın tüm test sonuçları yerine sadece bazı test sonuçları dışlanmakta ve tanıda belirtilen patolojinin etkilemediği test sonuçları örnek referans kitlesine dahil edilmektedir⁶⁸.

4.3.2.2. Referans Kitlesinin Gruplandırılması

Referans aralığı hesaplanırken elimizde bulunan verileri gruplara ayırmamızın gerekli olup olmadığı fikrine karar vermek oldukça önemlidir⁵⁸. Elde edilen verilerin Gaussian dağılıma uyması arzu edilir. Ancak biyolojik veriler sıklıkla Gaussian dağılıma uymazlar. Buna sebep, dağılım içinde modülasyona yol açabilecek faktörlerin olabileceği düşünülmektedir⁸. Gruplara ayırma da ki amaç, bireyler arasındaki olabilecek varyasyonların en aza indirilmesidir. Sınıf- içi varyasyon ne kadar az olursa daha dar ve doğru referans aralığı hesaplanabilir. Sınıflar arasında istatistiksel açıdan farklılık görülürse elde edilen referans değerleri alt gruplara ayrılarak dağılımdaki homojenitenin sağlanmalıdır⁵⁸. Dağılımlardaki gruplaşmaya veya alt gruplara ayrılmaya neden olan faktörler arasında; yaş, cinsiyet en fazla olmak üzere ırk, coğrafi yerleşim, gebelik, kan grubu, açlık ve tokluk, sigara ve alkol, beslenme alışkanlığı, eksersiz, örnek alım saati, postür, menstruel siklus yer almaktadır⁸.

Dikkat edilecek olursa gruplara veya alt gruplara ayırma kriterlerinden bazılarının aynı zamanda gruptan dışlama kriterleri olarak da kullanılabilir^{58,69,70}.

4.3.3. Referans Aralık Tayininde Veri Sayısının Önemi ve Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Referans aralıklarının belirlenmesi çalışmalarında kullanmamız gereken veri sayısının ne kadar olması gerektiği de oldukça önemli bir aşamadır. Veri sayımızın çok olması referans aralık değerlerimizin daha doğru ve güvenilir olmasını sağlayacaktır. Referans aralığının saptanmasında kullanılacak istatistiksel yöntemler parametrik ve parametrik olmayan yöntemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Her iki yöntemden hangisinin kullanılacağına, dağılım tipine ve veri sayısına baktıktan sonra karar verilmelidir. Bu nedenle önce dağılım tipinin ne olduğunun saptanması gerekmektedir. Bunun için dağılıma etki edebilecek uç değerler ve veri sayısı gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Olası etkileri en aza indirebilmek ve metodumuzun güvenilir olmasını sağlayabilmek için kullanılması gereken veri sayısı ne olmalıdır⁸?

İstatistikte verilerin analiz edilmeleri için gerekli veri sayısını hesaplama yöntemleri belirlenmiştir⁷¹. Normal dağılım (Gaussian) ve normal olmayan dağılımlar (Gaussian olmayan) çeşitli örnek sayılarında incelenmiştir. Gaussian dağılımlarda kullanılan veri sayısı daha düşük olabilmekte, ancak bunun olması içinde dağılımın iyi tanımlanması gerekmektedir. Çünkü Gaussian olmayan dağılımlar düşük veri sayılarında güvenilir olmayan sonuçlar vermektedir. Yapılan çalışmalara göre, referans aralığının hesaplanabilmesi için 120 verinin yeterli olduğu saptanmıştır^{7,8}. Bu veri sayısında dağılımın %2,5 - %97,5'inci noktalarına denk gelen yerler saptanmış olacaktır. Normal olmayan dağılımdaki, merkezi %95 alan içindeki verilerin, hem referans aralık sınırları hem de referans aralık sınırlarının %90 güven aralıklarının hesaplanması için yeterli olduğu kabul edilmektedir⁸.

NCCLS, parametrik olmayan yöntemlerde, 120 verinin %90 güven aralığı için yeterli olacağını ileri sürmektedir⁸. %95 güven aralığında 153 veri ve %99 güven aralığında ise 198 verinin gerektiği ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada 20, 40, 60, 80, 100, 120 veri sayılarında parametrik olmayan, parametrik transformasyon ve bu iki metodun modifiye tipleri kullanılmıştır⁷². Kullanılan modifiye yöntemler özellikle orijinal yöntemleri, düşük veri sayılarında da uygulanabilir hale getirmek için geliştirilmiştir. 120 veri kullanıldığında yöntemler arasında çok az fark varken veri sayısı düştüğü zaman özellikle parametrik olmayan yöntemlerin etkisi azalmaktadır. 120 verinin altındaki veri

sayılarında modifiye parametrik olmayan yöntemler ile iyi sonuçlar alınmıştır. Parametrik yöntemlerle, en az 30 veri ile de çalışma yapılabileceğinin mümkün olduğunu ileri sürülmektedir. Veri sayısının artması dağılımın Gaussian dağılıma benzemesini arttırmakta fakat dağılımda da aşırı uç değerlerin artmasına neden olmaktadır⁷.

Sonuç olarak, eğer dağılımımızı gaussian dağılıma dönüştüremiyorsak 120'nin altında ki veri sayılarında çalışma yapmak zor olacaktır. Böyle durumlarda ya modifiye parametrik olmayan yol kullanılmalı yada 120 veri sayısına ulaşp modifiye edilmemiş parametrik olmayan yöntemler kullanılmalıdır².

Bir dağılımda uç değerlere her zaman rastlanabilir. Dağılımda uç değerlerin çıkartılması için Dixon metodu, Blok prosedürü, Standart Sapmanın kullanılması, Grubbs T istatistiği, Boxplot Çizimlerinde Cut-Off Bulma Yaklaşımı gibi bazı istatistiksel metodlar kullanılabilir⁷.

4.3.4. Referans Dağılımın İncelenmesi

Histogram haline getirilen veriler görsel olarak kolayca incelenebilmektedir. Histogramın incelenmesi istatistiksel tekniklerin yanlış kullanımını engelleyebilmektedir. Dağılım histogramda incelenirken dikkat edilmesi gereken hususlar vardır⁵⁸. Bunlar;

- 1) Aşırı uç verilerin olup olmamasına bakılmalıdır.
- 2) Birden fazla tepe noktası bulunan bimodal veya polimodal dağılımlar birden fazla alt grubun bulunduğu göstergesidirler. Böyle durumlarda referans bireylerinin seçimindeki kriterler yeniden değerlendirilmeli ve yaş, cinsiyet ve diğer faktörlere göre gruplara ayırma işlemleri tekrar gözden geçirilmelidir.

4.3.5. Referans Aralığı Tayininde İstatistiksel Yöntemler

Referans aralığı tayininde kullanılan parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerin de kendi içerisinde birçok modifiye yöntemleri bulunmaktadır. Bu modifikasyonlar yöntemin gücünün artırılması ve daha düşük veri sayılarında da doğru ve güvenilir sonuçlar vermesi için yapılmaktadır. Bu modifikasyon yöntemlerini gaussian dağılıma dönüşemeyen dağılımlar için kullanırız, çünkü normal bir dağılımda rahatlıkla Gaussian yöntemler (parametrik yöntemler)

kullanabilir ve bu yöntemler düşük veri sayılarında da doğru sonuçlar verebilmektedir. Ancak biyolojik verilerde Gaussian olmayan dağılımlara daha sık rastlanması nedeniyle daha çok parametrik olmayan yöntemler kullanılmaktadır ve bu yöntemlerin dezavantajı daha yüksek veri sayılarına ihtiyaç duymasıdır. Modifikasyon yöntemleri ile bu problemler aşılmaya çalışılmıştır^{7,73}.

4.3.5.1. Parametrik Yöntemler

Gaussian dağılımlar; ortalama değer, standart sapma, medyan gibi dağılımın şeklini belirten parametreler tarafından tanımlanırlar. Gaussian dağılımlarda parametrik yöntemler kullanılır. Bu yöntem non-parametrik yöntemlere göre daha zor bir yöntemdir. Bununla beraber elde edilen güven aralıkları daha dar çıkmaktadır. Parametrik yöntemler iki gruba ayrılırlar^{8,58}.

- 1- Parametrik yüzde tahmini yöntemi
- 2- Parametrik tolerans aralığı yöntemi

Parametrik yüzde tahmin yönteminde, %2,5-%97,5'lik bir bölgenin sınırlarını oluşturan alt ve üst değerler aranmaktadır. Bu bölge dağılımın %95'ini yansıtır⁷.

Parametrik tolerans aralığı yönteminde ise, dağılımın %95'i belli bir olasılık içerisinde tanımlanır. %90'ın altında olasılıklarda Parametrik tolerans aralığı yöntemi ile çok geniş referans aralıklarının ortaya çıktığı görülmüştür. Bunu ancak çok yüksek veri sayıları ($n \geq 1000$) kullanıldığı takdirde engelleyebiliriz. Elde edilen %95'lik bölge dağılımda farklı yerlerde lokalize olabilmektedir⁹. Referans aralığının çok geniş tutulması testin tanısal gücünün azalmasına neden olmaktadır. Tam tersine %95 olasılıkta ise çok dar bir aralık ortaya çıkmaktadır. Bu nedenlerden dolayı bu yöntem, Parametrik yüzde tahmini yöntemine göre daha az tercih edilmektedir^{7,63}.

4.3.5.2. Parametrik Olmayan Yöntemler

Parametrik olmayan yöntemleri 3 gruba ayırabiliriz⁸:

- 1) Parametrik olmayan yüzde tahmini yöntemi
- 2) Parametrik olmayan tolerans aralığı yöntemi
- 3) Modifiye parametrik olmayan yöntemler

Gaussian olmayan dağılımlarda kullanılabilmesi en büyük avantajdır. Bu sayede referans bireylerinin seçimi daha kolay hale gelmektedir. Referans bireyler seçimi, bu yöntemle ile hiçbir kritere bağlı olmadan alınır. Parametrik olmayan yöntemler için veri sayısının 120 olması gerektiği önerilmektedir, düşük denek sayılarında ise oldukça yetersizdirler. Bu problemin aşılması için modifiye yöntemler geliştirilmiştir⁸.

5. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. ÇALIŞMA GRUBU

Bu çalışma Mart 2005 - Nisan 2007 tarihleri arasında Mersin ili merkezinde yaşamakta olan 0-88 yaşları arasında 920'si erkek, 898'si kadın olmak üzere toplam 1818 sağlıklı birey üzerinde yapılmıştır.

Araştırmaya katılan tüm bireyler araştırma hakkında bilgilendirilmiş, bu amaçla hazırlanan Aydınlatılmış Onam Formu (EK-1) okutulmuş, onayları alınmıştır.

EK-2'de verilen Hasta Anket Formu düzenlenerek bütün bireylerde doldurulduktan sonra dışlama kriterleri göz önüne alınarak kan örnekleri alınmıştır.

Çalışmaya katılan bireylerden vitamin B₁₂ ve Folik asit ölçümü için kan örnekleri, sabah 08:00-10:00 saatleri arasında içeriksiz cam biyokimya tüplerine alınmıştır ve örnekler 15-20 dakika bekleme süresinden sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası serumlar ayrıştırılarak bekletilmeden B₁₂ ve Folat düzeyleri, B₁₂ (Cat. No. 04745736-190, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany) ve Folik asit (Cat. No. 03253678-122, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany) kitleri kullanılarak E-170 Modular System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında analiz edilmiştir.

5.2. ARAÇ ve GEREÇLER

1. E-170 Modular System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).
2. Santrifüj (Nüve RF 1215, Sigma 3-16).
3. 8.5 ml'lik düz tüp (BD Vacutainer SST II Advance).
4. Otomatik pipet (Eppendorf Research).
5. Vitamin B₁₂ Kiti: B₁₂ (Cat. No. 04745736-190, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany).
6. Folik asit Kiti: FOLATE II (Cat NO. 03253678-122, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany).

5.3. YÖNTEMLER

5.3.1. Vitamin B₁₂

Vücut sıvılarında B₁₂ vitamin seviyesinin tespitinde indirekt ve direkt yöntemler kullanılmaktadır⁶.

B₁₂ vitamini eksikliğinin değerlendirilmesinde, idrar ve serum metilmalonik asit düzeyleri, plazma homosistein miktarının ölçümü, IF ve antiparietal hücre antikolların tespiti ve B₁₂ vitamini emilim (Schilling) testleri indirekt yöntemler arasında yer almaktadır. Direkt yöntemler arasında ise yarışmalı protein bağlayıcı ve immunometrik yöntemler ile vitamin B₁₂ düzeyi analizi yer almaktadır⁶.

Bu çalışmada, E-170 Modular system (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazı kullanılarak vitamin B₁₂ analizi için spesifik intrinsik faktör kullanılarak yarışmalı prensibe dayalı elektrokemiluminesans yöntemi kullanılmıştır. Yöntemin prensibi; örnekte bulunan B₁₂ vitamini ile ortama eklenen biyotin ile işaretlenmiş olan B₁₂ vitamini, rutenyum işaretli intrinsik faktör kompleksinde (tris(2,2' bipiridil) rutenyum (II) - kompleks (Ru(bpy)₃²⁺)) bulunan bağlanma bölgelerine yarışma esasına dayanmaktadır.

Yöntem:

1. İnkübasyon: 15 µl örnek pretreatment 1 ve 2 solusyonları ile inkube edilerek, bağlı olan vitamin B₁₂'nin ayrılması sağlanır.

2. İnkübasyon: Önişleme alınan örnek ile rutenyum işaretli intrinsik faktör birlikte inkube edilir. Örnekteki analit konsantrasyonu ile orantılı olarak Vitamin B₁₂-bağlayıcı protein kompleksi oluşur.

3. İnkübasyon: Streptavidin kaplı mikropartikül ve biyotin ile işaretli B₁₂ vitamini eklenmesinden sonra hala boşta kalan rutenyum işaretli intrinsik faktörler rutenyum işaretli intrinsik faktör-vitamin B₁₂-biyotin kompleksini oluştururlar.

Reaksiyon karışımı ölçüm hücresi içine aspire edilir ve burada mikropartiküller elektrotlar tarafından manyetik olarak yakalanırlar. Bağlı olmayan cisimler ProCell solusyonu ile uzaklaştırılır. Elektrotlara uygulanan voltaj ile kemiluminesans bir ışık emisyonu oluşturur ve multifotometre yardımıyla bu ışıma ölçülür.

Cihaza özel geliştirilen 2 nokta kalibrasyon ve reaktif barkodu yolu ile sağlanan kalibrasyon eğrisi ile de konsantrasyon saptanır.

5.3.2. Folik Asit

Vücut sıvılarında Folik asitin seviyesinin tespitinde B₁₂ vitamininde olduğu gibi direkt ve indirekt yöntemler kullanılmaktadır.

Folik asit eksikliğinin değerlendirilmesinde, deoksiüridin supresyon testi, homosistein ve formiminoglutamik asit gibi metabolitlerinin ölçümü indirekt yöntemler arasında yer almaktadır. Plazma ve eritrositlerde direkt Folik asit ölçümünün yapıldığı direkt metodlar da vardır⁶.

Bu çalışmada, E-170 Modular System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazı kullanılarak folik asit için spesifik doğal folik asit bağlayıcı protein kullanarak yarışmalı test prensibine dayalı elektrokemiluminesans yöntemi kullanılmıştır. Yöntemin prensibi; örnekteki folik asit sonradan eklenen biotinle işaretlenmiş folik asit ile rutenyum işaretli folik asit bağlayıcı protein kompleksinde (tris(2,2' bipiridil)rutenyum(II)-kompleks (Ru(bpy)₃²⁺)) bulunan bağlanma bölgeleri için yarışır.

Yöntem:

1. İnkübasyon: 30 µl örnek pretreatment 1 ve 2 solusyonları ile inkübe edilerek endojen folik asit bağlayıcı proteinlere bağlı olan folik asitin ayrılması sağlanır.
2. İnkübasyon: Önışleme alınan örnek ile rutenyum işaretli folik asitin bağlayıcı protein ile birlikte inkübe edilerek folik asit kompleksi oluşur. Örnekteki analit konsantrasyonu ile orantılı olarak folik asit-folik asit bağlayıcı protein kompleksi oluşur.
3. İnkübasyon: Streptavidin kaplı mikropartikül ve biotin ile işaretli folik asitin eklenmesinden sonra hala boşta kalan rutenyum işaretli folik asit bağlayıcı protein, rutenyum işaretli folik asit bağlayıcı protein-folik asit-biyotin kompleksini oluştururlar.

Reaksiyon karışımı ölçüm hücresi içine aspire edilir ve burada mikropartiküller elektrotlar tarafından manyetik olarak yakalanırlar. Bağlı olmayan cisimler ProCell solusyonu ile uzaklaştırılır. Elektrotlara uygulanan voltaj ile kemiluminesans bir ışık emisyonu oluşturur ve multifotometre yardımıyla bu ışımaya ölçülür.

Cihaza özel geliştirilen 2 nokta kalibrasyon ve reaktif barkodu yolu ile sağlanan ana eğri ile sonuçlar saptanır.

5.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde, ilk olarak B₁₂ vitamini ve Folik asit'e ait tanıtıcı istatistikler yapılmıştır. Bu çalışmada tanımlayıcı istatistiksel analizler için Biyoistatistik A.D'da lisanslı olarak kullanılan SPSS 11.5.1 (statistical packages for social sciences) programı kullanılmıştır

İkinci aşamada yer alan değişkenlere ait verilerin normal dağılımına uygunluğunun kontrolü için Kolmogorov-Smirnov Testi kullanılmıştır. Bu test sonucuna göre her bir parametrenin cinsiyetler açısından anlamlı bir farkı olup olmadığına bakılması için normal dağılan verilerde Independent Samples Testi (student-t), normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Üçüncü aşamada verilerimizin dağılımlarını histograma aktararak görsel olarak incelenmesi sağlanmıştır.

Son olarak, Medcalc 8.2.0.3 programı ile normal dağılım gösteren veriler için Parametrik Persentil Yöntemi, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Non-Parametrik Persentil Yöntemi kullanılarak her parametre için ayrı referans aralık değerleri hesaplanmıştır.

6. BULGULAR

6.1. Referans Grubunun Genel Özellikleri

Çalışmamızın örnek referans kitlesini, 0-88 yaşları arasında 920'si erkek ve 898'si kadın olmak üzere, toplam 1818 kişi oluşturmuştur. Ancak çalışmaya alınan 1818 kişiden sadece B₁₂ vitamini için 1710 kişi, Folik asit için ise 1721 kişinin sonuçları referans aralık çalışmasında kullanılmıştır. Bu fark, preanalitik faktörler ve istatistiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından kaynaklanmaktadır. Çalışma grubuna ait olguların genel özellikleri tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Çalışma grubuna ait olguların genel özellikleri.

Yaş grubu	Vitamin	n		Toplam
		Erkek	Kadın	
0-9	B ₁₂ vitamini	113	116	229
	Folik asit	119	115	234
10-19	B ₁₂ vitamini	130	113	243
	Folik asit	116	119	235
20-29	B ₁₂ vitamini	130	130	260
	Folik asit	135	129	264
30-39	B ₁₂ vitamini	116	122	238
	Folik asit	114	124	238
40-49	B ₁₂ vitamini	113	126	239
	Folik asit	114	124	238
50-59	B ₁₂ vitamini	112	123	235
	Folik asit	119	122	231
60 ve üzeri	B ₁₂ vitamini	152	114	266
	Folik asit	162	109	271

n: veri sayısı

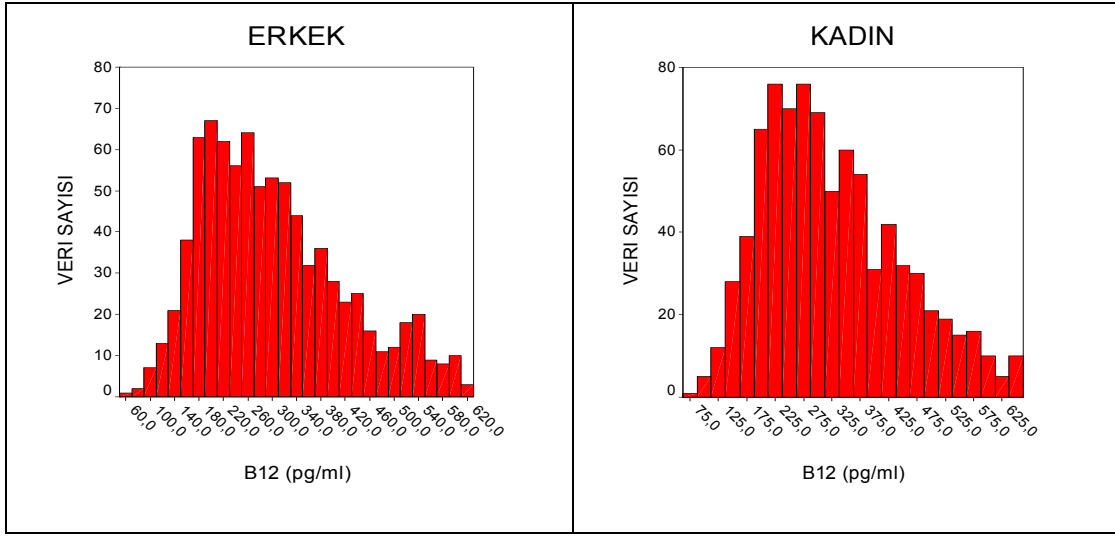
6.2. Referans Grubunun Cinsiyete göre Ortalama B₁₂ ve Folik Asit Düzeyleri ve Dağılımlarının incelenmesi

Çalışma grubumuzu oluşturan örnek referans kitlesi yaş gruplarına ayrılmadan sadece cinsiyete göre gruplandırılmış, aşırı uçlar atıldıktan sonraki halinde B₁₂ ve Folik asit vitamin düzeylerine ait ortalama değerler tablo 4'de, B₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogramları şekil 17'de ve Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramları şekil 18'de verilmiştir

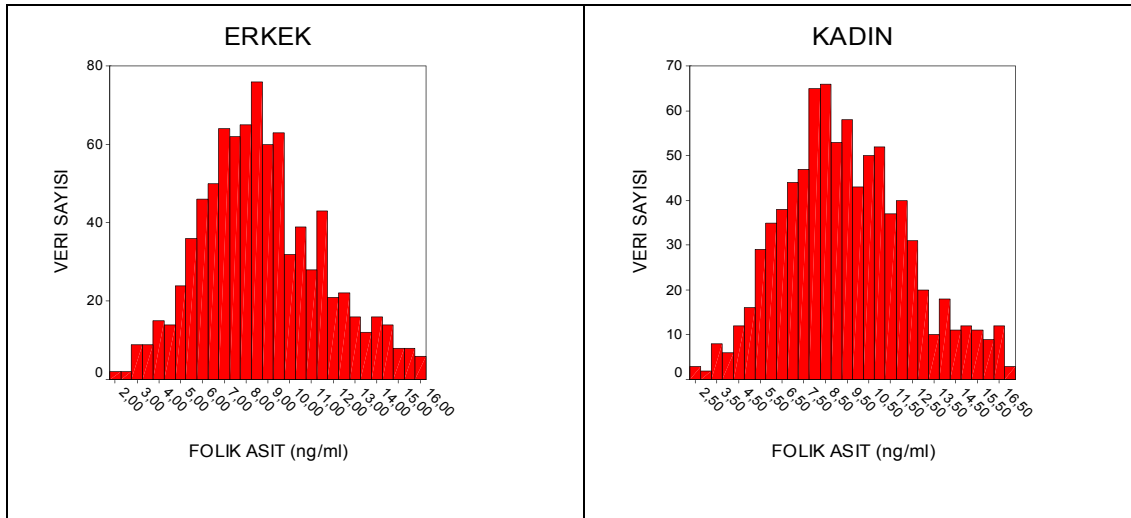
Tablo 4. B₁₂ ve Folik Asit düzeylerine ait ortalama değerler

Test	Cinsiyet	n	\bar{x}	S.S
B ₁₂ Vitamini (pg/ml)	Erkek	845	301,6	117,4
	Kadın	836	325,3	121,0
Folik Asit (ng/ml)	Erkek	862	8,7	2,8
	Kadın	841	9,5	2,9

n: veri sayısı; \bar{x} : ortalama; S.S: standart sapma



Şekil 17. B₁₂ Vitamini Düzeylerine Ait Dağılım Histogramı



Şekil 18. Folik Asit Düzeylerine Ait Dağılım Histogramı.

Tablo 4, şekil 17 ve 18'de görüldüğü gibi erkek bireylere ait B₁₂ vitamini ve Folik asit düzeylerinin ortalama değerleri kadın bireylerin ortalama değerlerinden daha düşük bulunmuştur (p<0.05).

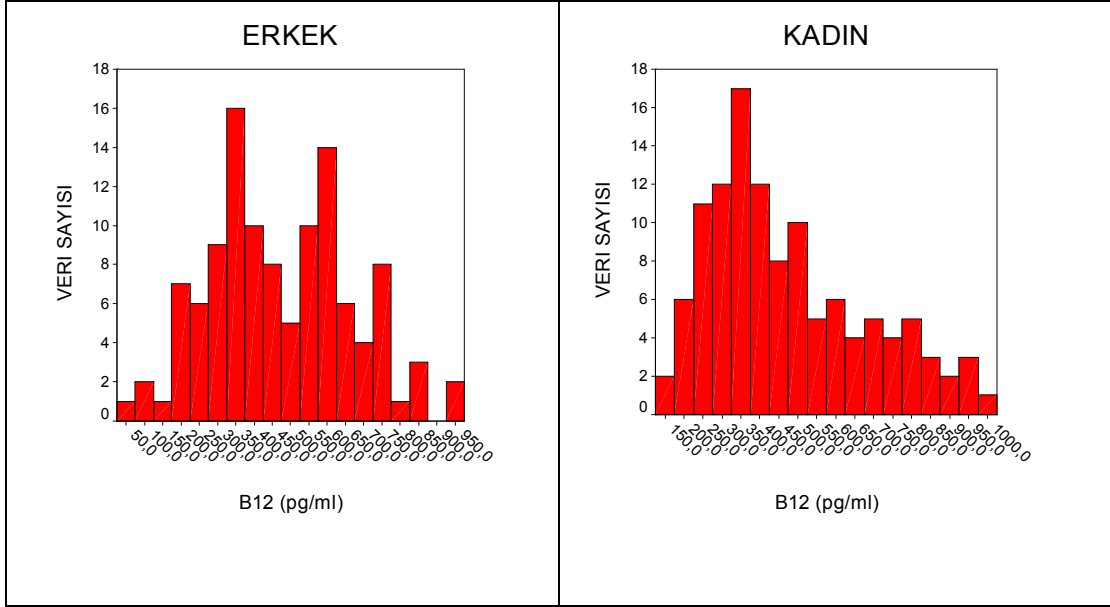
6.3. Referans Grubunun Alt Gruplara Ayrılması ve Alt Grupların Dağılımlarının İncelenmesi.

Örnek referans kitlesinin B₁₂ ve Folik asit düzeylerine ait referans değerlerinin yaş ve cinsiyet gibi dağılımın alt gruplara ayrışmasına neden olabilecek faktörlerden etkilenmemesi için veriler 0-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60 ve üzeri yaş olmak üzere 7 ayrı gruba ve daha sonra her bir grup erkek - kadın olmak üzere tekrar 2 gruba ayrılmıştır.

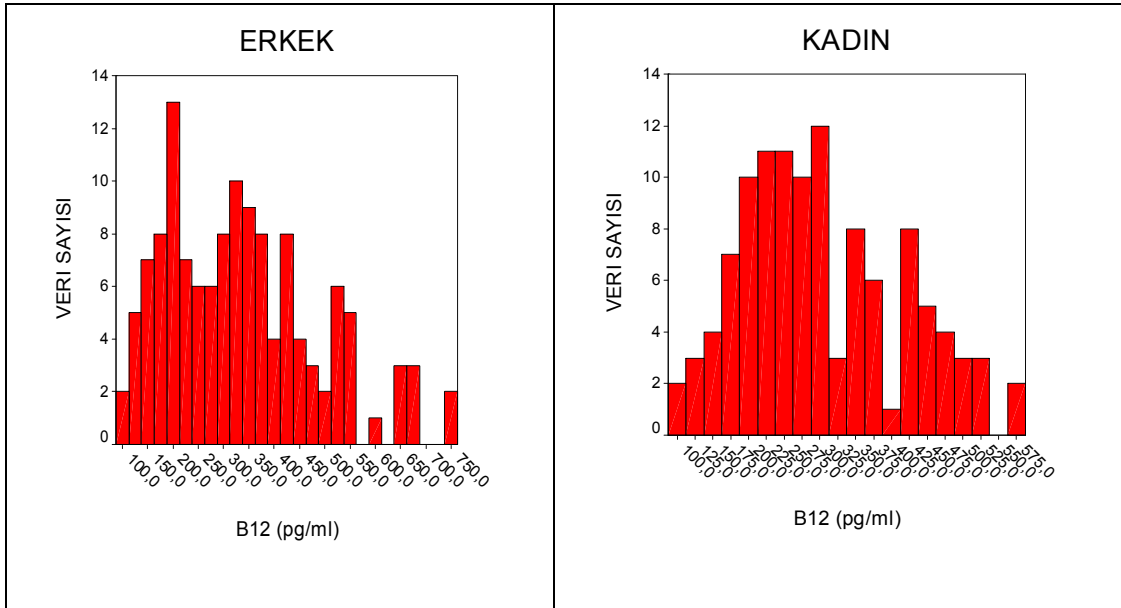
Elde edilen veriler SPSS programı ile yaş gruplarına ve cinsiyetlere göre alt gruplara ayrıldıktan sonra her bir alt grubun kendi tanıtıcı istatistiksel verileri bulunmuştur. Tanıtıcı istatistiksel değerler olarak bilinen ortalama değerleri, standart sapmaları, veri sayıları ve histogramları aşırı uç değerler hiç kalmayana kadar boxplot yöntemiyle atıldıktan sonra hesaplanmıştır. Her bir yaş grubunda dağılımlarının görsel olarak da incelenebilmesi için ayrı ayrı histogramları yapılmıştır. Daha sonra dağılımın normal dağılıp dağılmadığına Kolmogorov Smirnov testi (p<0,05) ile anlamlılık düzeyine bakılarak B₁₂ vitamini ve folik asit düzeyinin alt gruplarda normal dağılım gösterip göstermediği incelenmiştir.

6.3.1. Referans Grubununun B₁₂ Vitamin Düzeylerine Ait Alt Gruplar ve Dağılımlarının İncelenmesi.

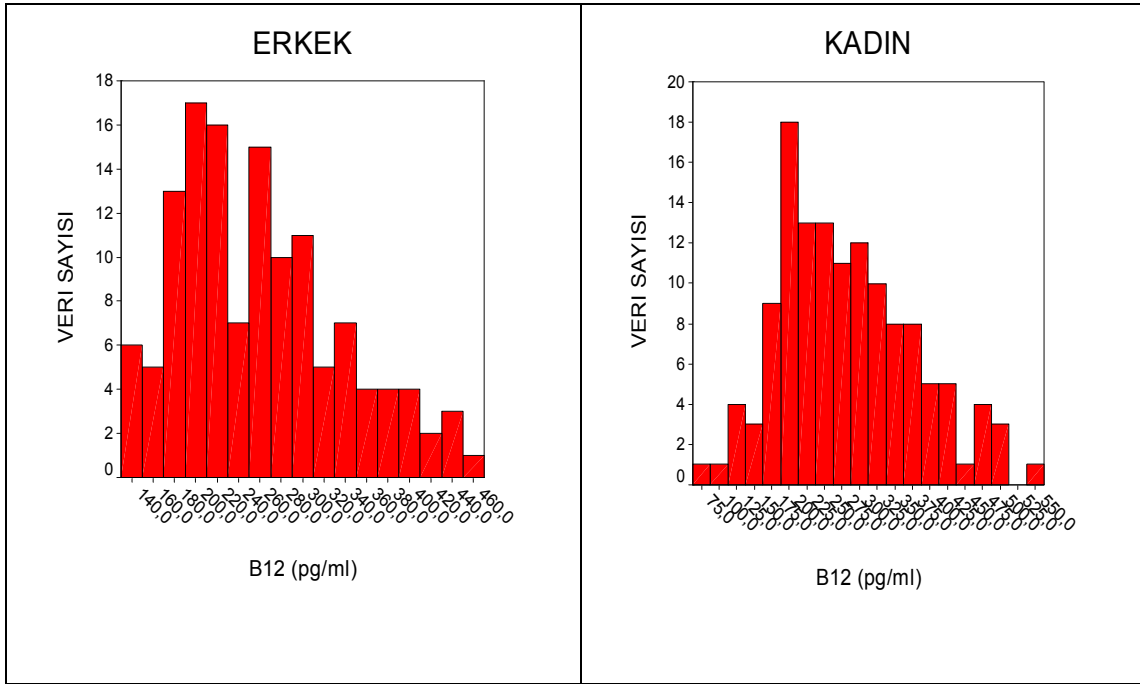
Örnek referans grubunun B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramları şekil 19-25'de, tanıtıcı istatistiksel veriler ise tablo 5'de verilmiştir.



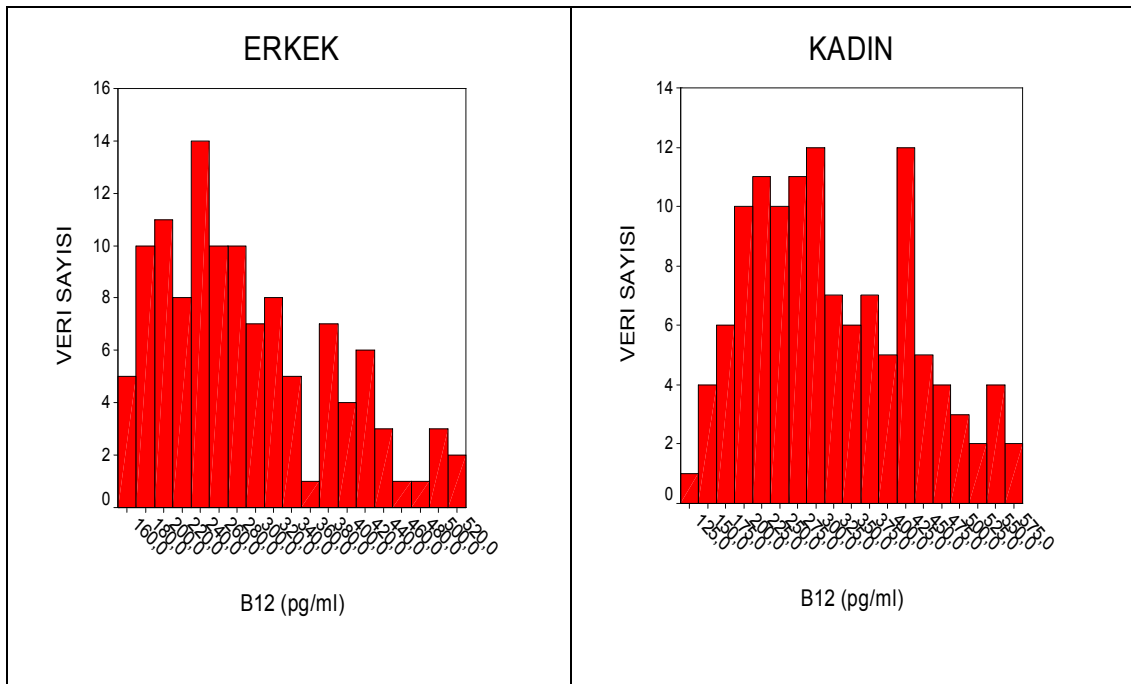
Şekil 19. 0-9 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



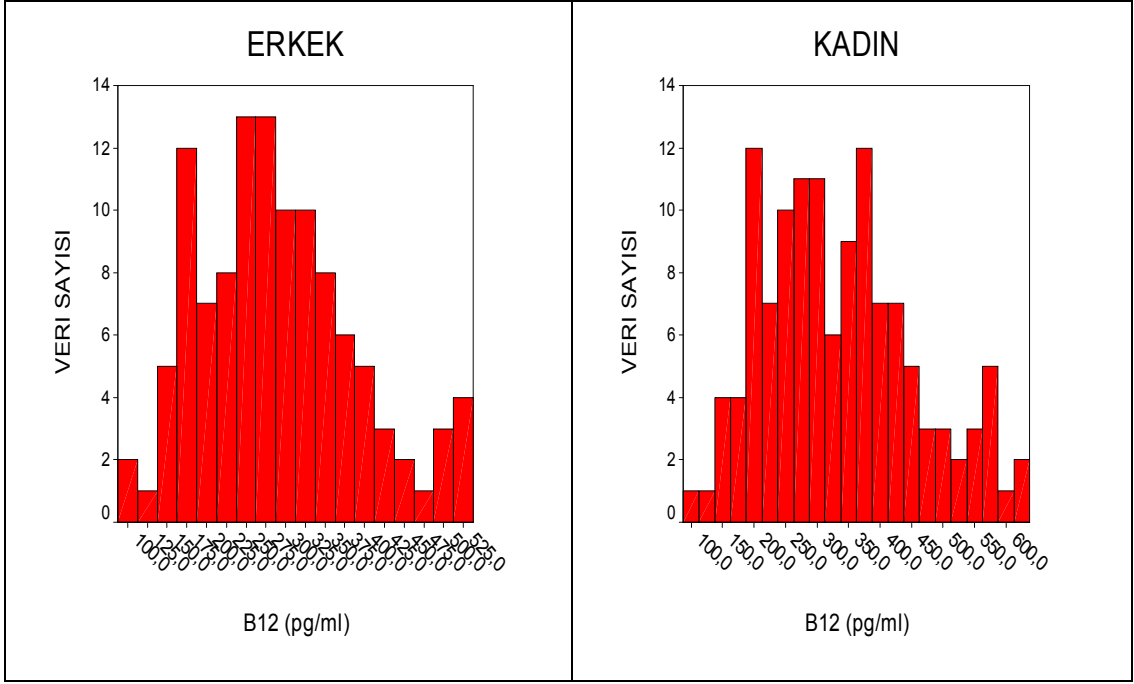
Şekil 20. 10-19 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



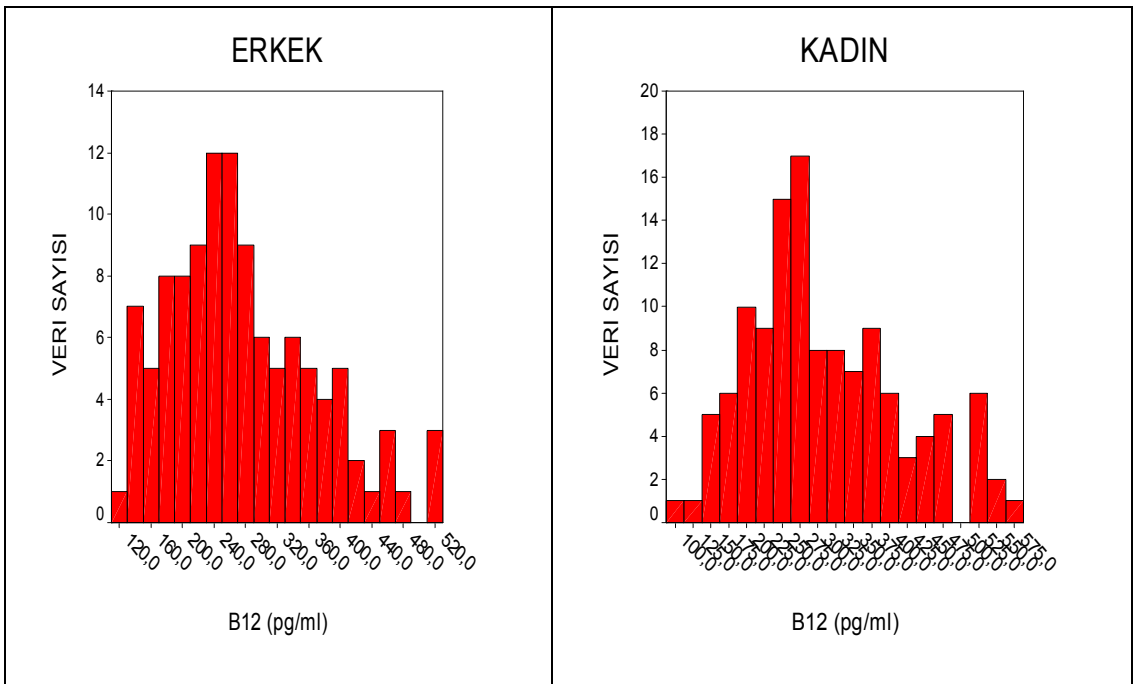
Şekil 21. 20-29 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



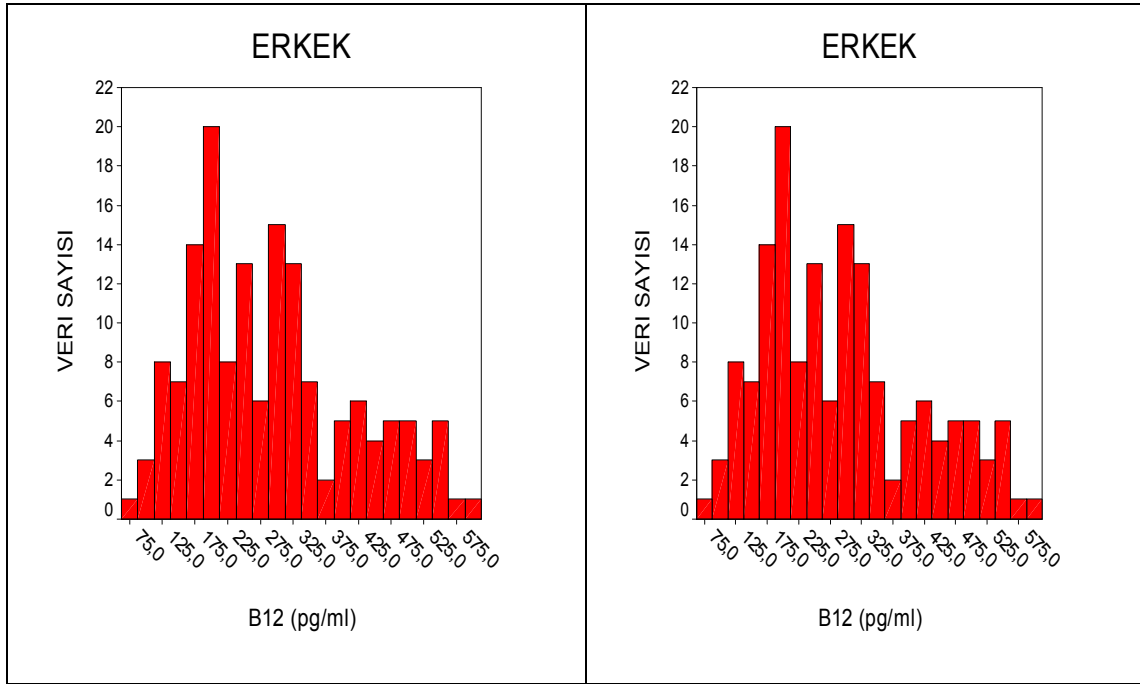
Şekil 22. 30-39 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 23. 40-49 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 24. 50-59 yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 25. 60 ve üzeri yaş grubu B₁₂ vitamin düzeylerine ait dağılım histogramı.

Tablo 5. B₁₂ vitamin düzeylerine ait tanıttıcı istatistiksel veriler (p<0.05).

Yaş grubu	cinsiyet	n	\bar{x}	S.S	p
0-9	Erkek	113	473,1	192,2	0,173*
	Kadın	116	471,5	207,5	0,000
10-19	Erkek	130	335,2	151,0	0,097*
	Kadın	113	303,6	112,7	0,022
20-29	Erkek	130	259,5	77	0,002
	Kadın	130	282,3	95,4	0,035
30-39	Erkek	116	288,5	92,3	0,002
	Kadın	122	323,7	111,5	0,006
40-49	Erkek	113	290,0	98,2	0,200*
	Kadın	126	336,8	120,2	0,045
50-59	Erkek	112	275,5	93,7	0,020
	Kadın	123	307,5	106,6	0,010
60 ve üzeri	Erkek	152	290,4	122,1	0,001
	Kadın	114	315,2	113,4	0,055*

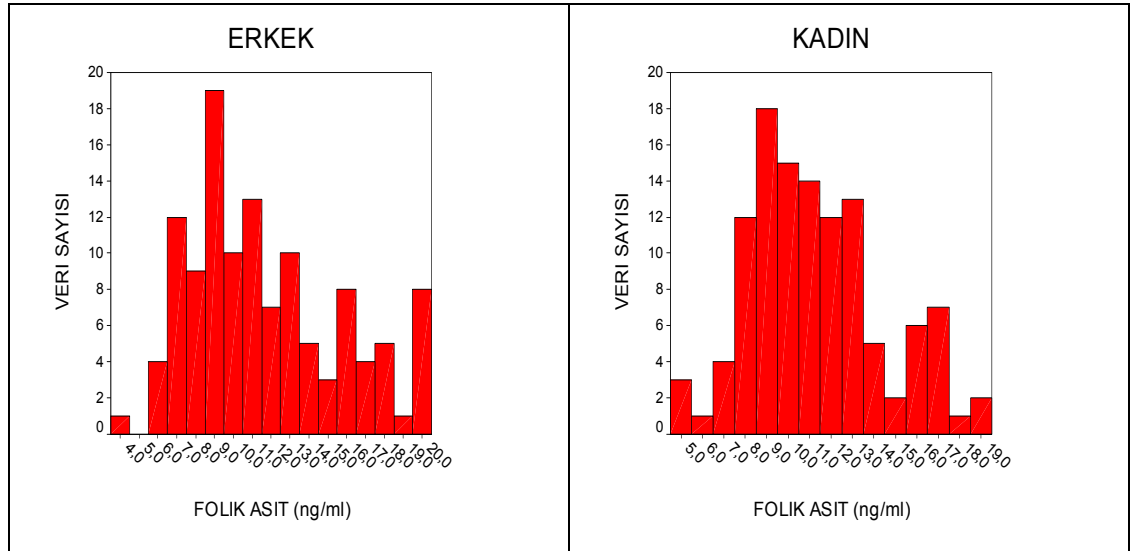
n: veri sayısı, \bar{x} : ortalama değer (pg/ml), S.S: standart sapma, p: anlamlılık değeri, *:normal dağılım

Tablo 5’de görüldüğü gibi B₁₂ vitamin düzeylerine ait en düşük ortalama değerler 20-29 yaş grubu erkek ve kadınlarında en yüksek ortalama değerler

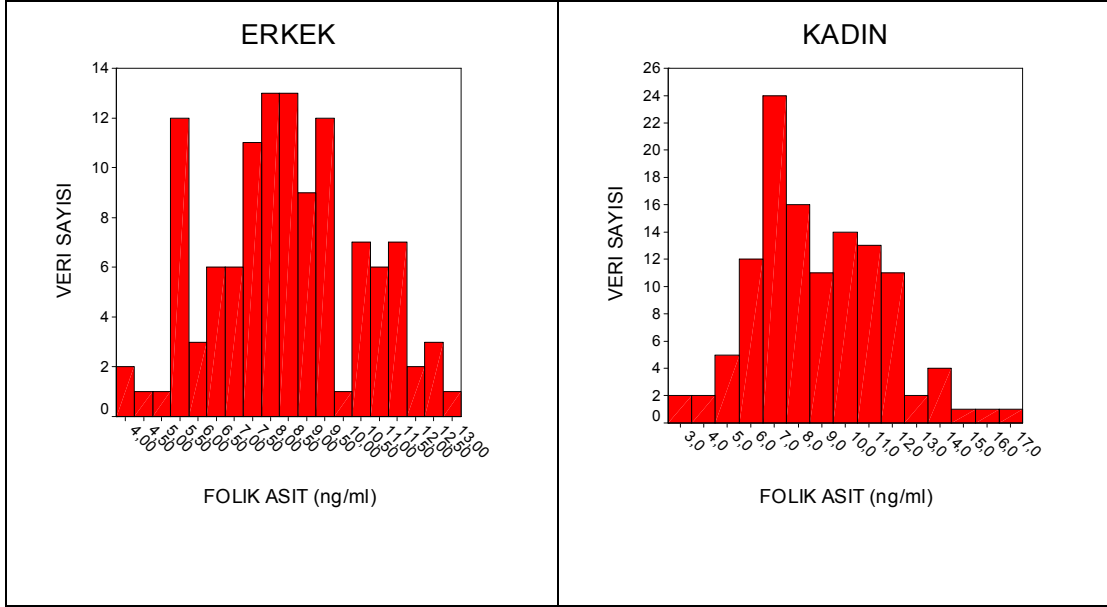
ise 0-9 yaş grubu erkek ve kadınlarında görülmüştür. Tablo 5’de ki Kolmogorov Smirnov testine ait p değerlerine göre 0-9, 10-19, 40-49 yaş grubu erkekler ve 60 üzeri yaş grubu kadınlara ait B₁₂ vitamin değerleri normal dağılım göstermektedir. 20-29, 30-39, 50-59 ve 60 üzeri yaş grubu erkeklerinde, 0-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49 ve 50-59 yaş grubu kadınlarında B₁₂ vitamin değerleri normal dağılım göstermemektedir.

6.3.2. Referans Grubunun Folik Asit Düzeylerine Ait Alt Gruplar ve Dağılımlarının İncelenmesi.

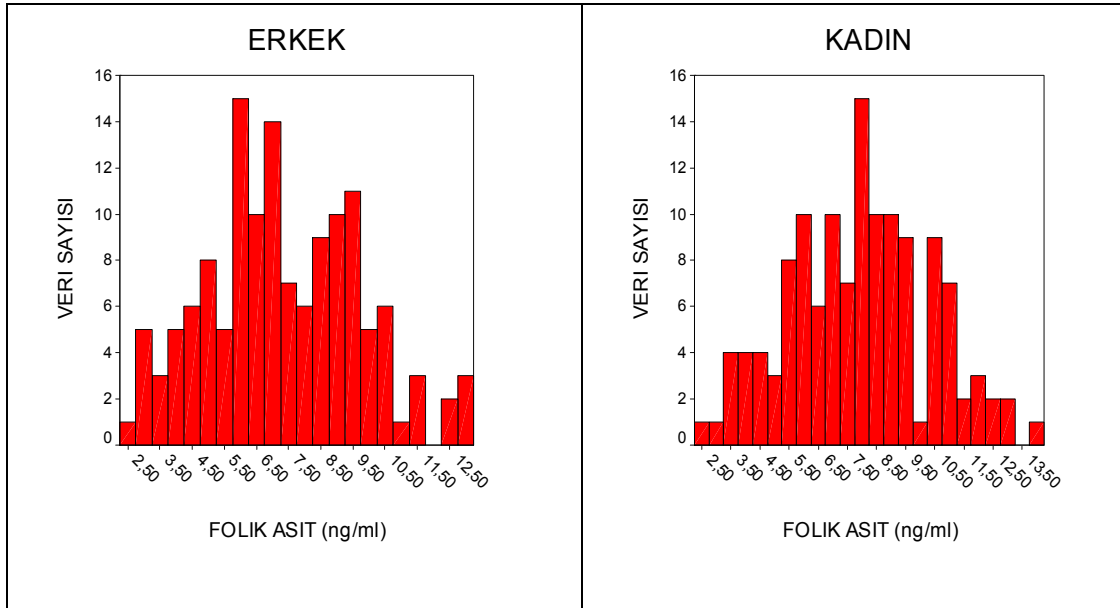
Örnek referans grubunun Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramları şekil 26-32’de, tanıtıcı istatistiksel veriler tablo 6’de verilmiştir.



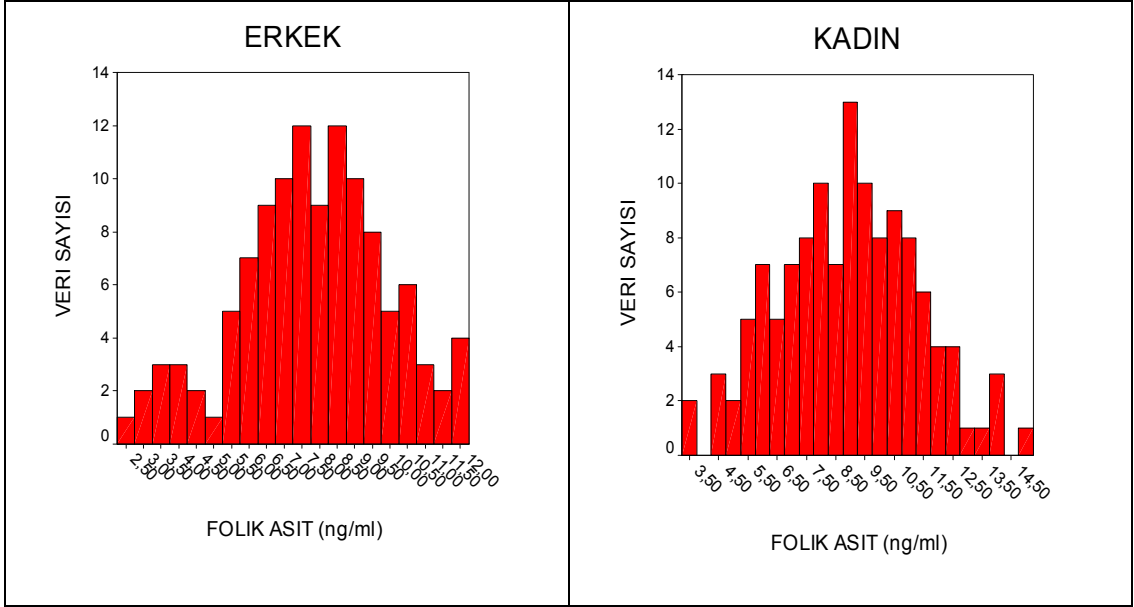
Şekil 26. 0-9 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



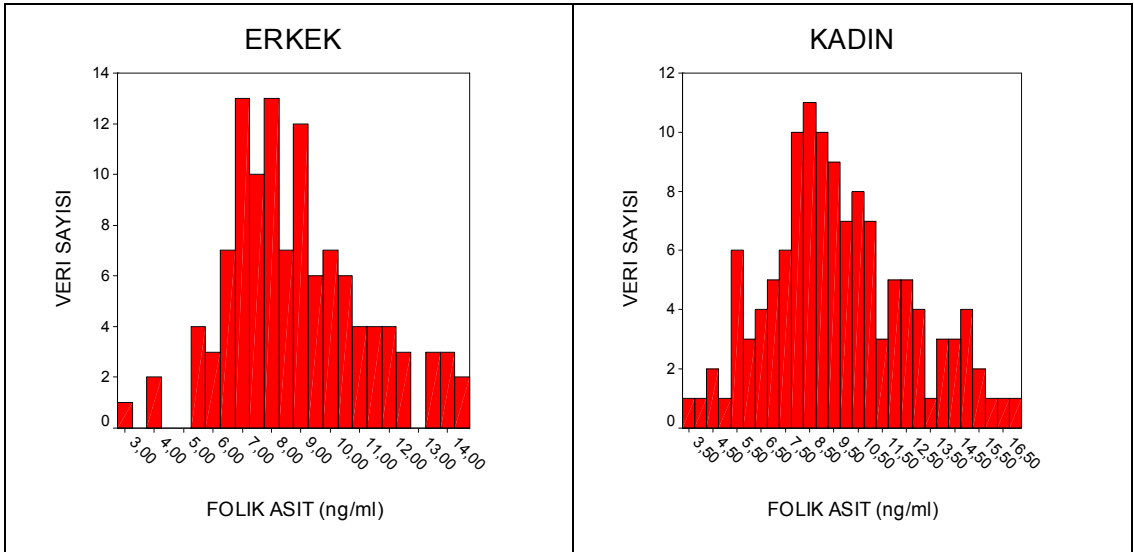
Şekil 27. 10-19 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



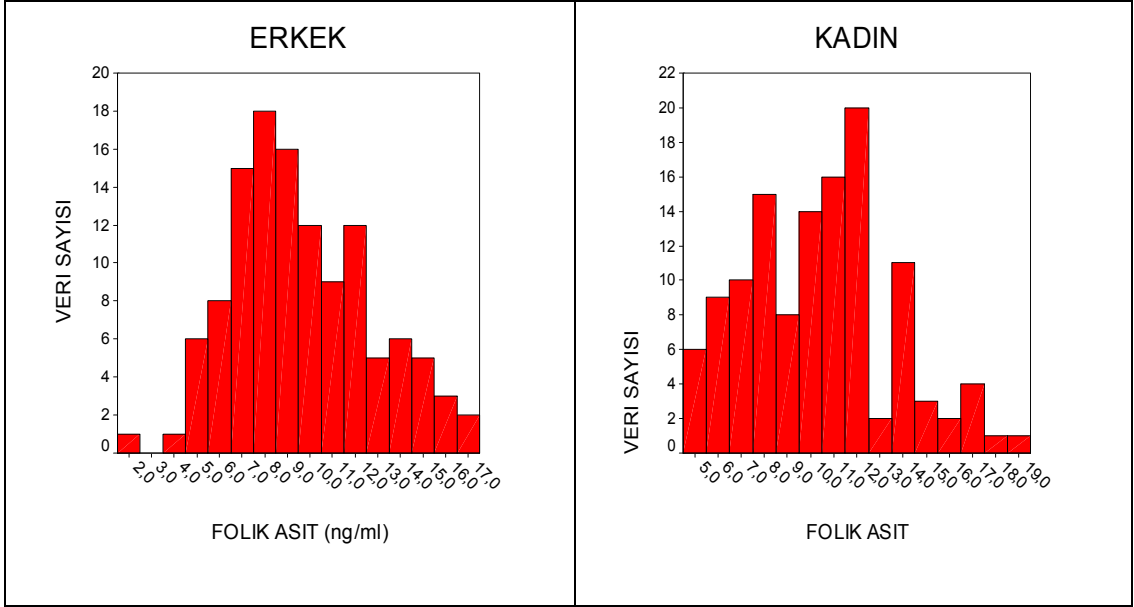
Şekil 28. 20-29 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



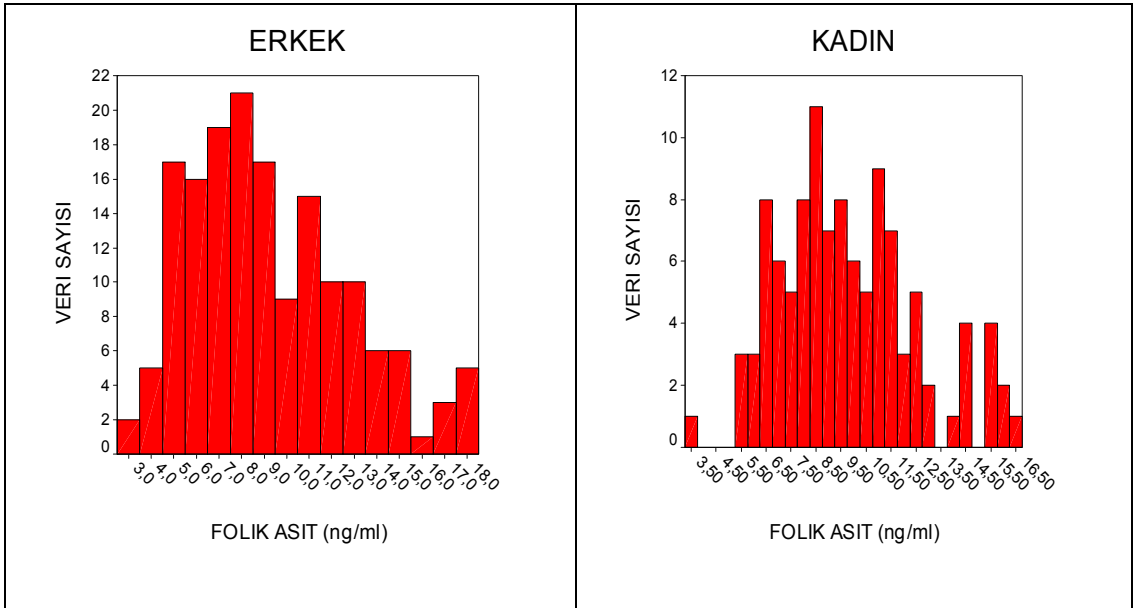
Şekil 29. 30-39 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 30. 40-49 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 31. 50-59 yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.



Şekil 32. 60 ve üzeri yaş grubu Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.

Tablo 6. Folik asit düzeylerine ait tanıtıcı istatistiksel veriler (p<0.05).

Yaş grubu	cinsiyet	n	\bar{x}	S.S	p
0-9	Erkek	119	11,7	3,97	0,000
	Kadın	115	11,5	3,13	0,027
10-19	Erkek	116	8,42	2,04	0,200*
	Kadın	119	8,82	2,67	0,029
20-29	Erkek	135	7,33	2,38	0,200*
	Kadın	129	7,90	2,40	0,200*
30-39	Erkek	114	7,79	2,12	0,200*
	Kadın	124	8,92	2,38	0,200*
40-49	Erkek	114	8,86	2,36	0,020
	Kadın	124	9,73	2,91	0,200*
50-59	Erkek	119	9,60	3,07	0,023
	Kadın	122	10,3	3,14	0,200*
60 ve üzeri	Erkek	162	9,30	3,53	0,001
	Kadın	109	9,75	2,75	0,200*

n: veri sayısı, \bar{x} : ortalama değer (ng/ml), S.S: standart sapma, p: anlamlılık değeri, *: normal dağılım.

Tablo 6’da görüldüğü gibi folik asit ortalama değerleri en düşük 20-29 yaş grubu erkek ve kadınlarında, en yüksek ortalama değerleri ise 0-9 yaş grubu erkek ve kadınlarında görülmüştür. Tablo 4’da ki Kolmogorov Smirnov testine ait p değerlerine göre 10-19, 20-29, 30-39 yaş grubu erkekleri, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59 ve 60 üzeri yaş grubu kadınlara ait Folik asit değerleri normal dağılım göstermektedir. 0-9, 40-49, 50-59, 60-69 yaş gruplarında erkeklerinde, 0-9 ve 10-19 yaş grubu kadınlarında Folik asit değerleri normal dağılım göstermemektedir.

6.4. Aynı Yaş Gruplarında B₁₂ ve Folik Asit Düzeylerinin Cinsiyetler Arasındaki Farkın Anlamlılık Düzeyinin İncelenmesi.

7 farklı yaş grubuna ve ardından cinsiyete göre ayrılan B₁₂ ve Folik asit vitamin değerlerine ait verilerden elde edilen sonuçlar için cinsiyetlere göre farklı referans değer vermenin gerekip gerekmediğine karar vermek amacıyla iki normal dağılıma sahip olan verinin karşılaştırılması için Independent Samples Testi (student-t), en az bir tane normal dağılıma sahip olmayan veri varsa ikisinin karşılaştırılması için de Mann-Whitney U testi ile % 95 güven aralığında p<0.05 anlamlılık düzeyinde istatistik çalışması yapıldı. Tablo 7’de B₁₂ vitamini

düzeylelerine ait, tablo 8’de ise Folik asit düzeylelerine ait aynı yaş gruplarında ki bireylerde cinsiyetler arası anlamlılık dereceleri verilmiştir ($p<0.05$). B₁₂ vitamini için dağılım tipi tablo 3’deki, Folik asit için dağılım tipi tablo 4’deki Kolmogorov Smirnov testine ait p değerlerine bakılarak saptanmıştır.

Tablo 7. B₁₂ vitamininin aynı yaş gruplarında ki bireylerde cinsiyetler arası anlamlılık düzeyi ($p<0.05$).

Yaş grubu	cinsiyet	Dağılım tipi	Yöntem	p
0-9	Erkek	Normal	Mann Whitney U	0,614
	Kadın	Normal değil		
10-19	Erkek	Normal	Mann Whitney U	0,207
	Kadın	Normal değil		
20-29	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,062
	Kadın	Normal değil		
30-39	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,017*
	Kadın	Normal değil		
40-49	Erkek	Normal	Mann Whitney U	0,003*
	Kadın	Normal değil		
50-59	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,022*
	Kadın	Normal değil		
60 ve üzeri	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,042*
	Kadın	Normal		

*: fark anlamlı. (her cinsiyet için ayrı ayrı değer verilmeli)

Tablo 8. Folik asitin aynı yaş gruplarında cinsiyetler arası anlamlılık düzeyi ($p < 0.05$).

Yaş grubu	cins	Dağılım tipi	Yöntem	p
0-9	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,858
	Kadın	Normal değil		
10-19	Erkek	Normal	Mann Whitney U	0,429
	Kadın	Normal değil		
20-29	Erkek	Normal	Student t	0,054
	Kadın	Normal		
30-39	Erkek	Normal	Student t	0,000*
	Kadın	Normal		
40-49	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,017*
	Kadın	Normal		
50-59	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,08
	Kadın	Normal		
60 ve üzeri	Erkek	Normal değil	Mann Whitney U	0,069
	Kadın	Normal		

*: fark anlamlı. (her cinsiyet için ayrı ayrı değer verilmeli)

B₁₂ vitamini düzeyleri için 0-9, 10-19 ve 20-29 yaş gruplarında cinsiyetler arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. 30-39, 40-49, 50-59 ve 60 üstü yaş gruplarında ise anlamlı bir fark bulunmuştur.

Folik asit düzeyleri için ise 0-9, 10-19, 20-29, 50-59 ve 60 yaş üzeri yaş gruplarında cinsiyetler arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. 30-39 ve 40-49 yaş gruplarında ise anlamlı bir fark bulunmuştur.

6.5. Örnek Referans Grubunda B₁₂ ve Folik Asit Düzeylerine Ait Referans Aralıkların Hesaplanması.

Aşırı uçlar atıldıktan sonra SPSS'deki B₁₂ ve Folik asit verileri medcalc programına aktararak referans aralıkları hesaplanmıştır. Medcalc programı ile referans aralıkların hesaplanabilmesi için ilk önce dağılımların tipine bakılarak referans aralıkların parametrik mi yoksa parametrik olmayan yöntem kullanılarak bulunması gerektiğine karar verilmiştir. Bunun için Kolmogorov

Smirnov testi $p < 0,05$ fark anlamlılık düzeyine bakılmıştır. Bu değer altındaki değerlerde, program parametrik olmayan yöntem ile referans değerlerin bulunmasına ve bu sonuçların kullanılmasını, $p > 0,05$ 'in üstündeki p değerlerinde ise parametrik yöntem ile referans değerlerin bulunmasına ve bu sonuçların kullanılması önermektedir. Bu çalışma sonucunda örnek referans grubumuza ait B₁₂ vitamini için elde edilen referans değerler tablo 9'da, Folik asit için elde referans değerler ise tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 9. B₁₂ vitamin düzeylerine ait referans aralık değerleri ($p < 0,05$).

Yaş	Cinsiyet	Dağılım Tipi P<0.05	Referans Aralık Değerleri
0-9	E=K	0.026*(NP)	164,15 - 925,93
10-19	E=K	0,118	55,47 - 585,57
20-29	E=K	0,041*(NP)	136,5 - 466,8
30-39	E	0,124	107,62 - 469,41
	K	0,181	105,18 - 542,14
40-49	E	0,588	97,49 - 482,41
	K	0,378	101,99 - 572,44
50-59	E	0,280	91,81 - 459,08
	K	0,097	98,56 - 516,34
60 ve üzeri	E	0,098	51,23 - 529,63
	K	0,406	99,92 - 537,43

*(NP): parametrik olmayan yöntem kullanılması önerildi. E: Erkek; K: Kadın

Tablo 10. Folik asit düzeylerine ait referans aralık değerleri ($p < 0,05$).

YAŞ	CİNSİYET	DAĞILIM TİPİ P<0.05	Referans Aralık Değerleri
0-9	E=K	0,013*(NP)	5,71-19,93
10-19	E=K	0,506	3,94-13,31
20-29	E=K	0,907	2,89-12,32
30-39	E	0,984	3,63-11,95
	K	0,995	4,26-13,57
40-49	E	0,282	4,24-13,47
	K	0,572	4,02-15,43
50-59	E=K	0,171	3,87-16,09
60 ve üzeri	E=K	0,092	3,10-15,81

*(NP): nonparametrik yöntem kullanılması önerildi. E: Erkek; K: Kadın

B₁₂ vitamini için 0-9, 10-19, 20-29 yaş gruplarında cinsiyetler arası fark anlamlı bulunmadığı için erkek ve kadınlarda tek referans değer , 30-39, 40-49, 50-59 ve 60 yaş üzeri örnek grubumuzda ise cinsiyetler arası fark anlamlı bulunduğu için erkek ve kadınlara ayrı ayrı referans değerler verilmesi kararı verilmiştir (Tablo 9).

Folik asit için ise 0-9, 10-19, 20-29, 50-59 ve 60 yaş üzeri örnek gruplarında cinsiyetler arası bir farklılık görülmediği için bu yaş grupları için erkek ve kadınlarda tek referans değer, 30-39 ve 40-49 yaş gruplarında ise cinsiyetler arası fark anlamlı bulunduğu için erkek ve kadınlara ayrı ayrı referans değerler verilmesi kararı verilmiştir (Tablo 10).

7. TARTIŞMA

B₁₂ vitamini ve Folik asit, hematopoetik hücrelerde, gastrointestinal, ürogenital ve sinir sisteminde DNA sentezi gibi oldukça önemli yollarda rol alırlar. Eksikliklerinde ciddi ve farklı klinik bulgular görülür ve hızlı proliferen olan tüm dokular etkilenirler⁷⁵⁻⁷⁸.

B₁₂ vitamini ve Folik asit eksikliğinin görülme sıklığı; irksal, çevresel, sosyoekonomik düzey, yaş, cinsiyet ve beslenme alışkanlıklarına göre farklılıklar gösterir⁷⁵⁻⁷⁷.

Irksal farklılıkların B₁₂ vitamini seviyeleri üzerine etkileri incelendiğinde, siyahların beyazlara göre daha yüksek değerlere sahip olduğu bildirilmektedir⁷⁹. Amerika Birleşik Devletlerinde sağlıklı beyaz kişiler ile Güney Amerika kökenli siyah göçmenler karşılaştırıldıklarında benzer şekilde farklı ırk ve toplumlarda B₁₂ vitamin seviyelerinin farklı olduğu gösterilmiştir⁸⁰. Siyahlarda yüksek serum B₁₂ vitamini seviyelerini transkobalamin (özellikle TC-II) seviyelerindeki yüksekliğe bağlı olduğu ileri sürülmektedir⁸¹. Doymamış kobalamin bağlama kapasiteleri ve toplam kobalamin kapasiteleri de yüksek değerlerdedir⁸³. Yüksek kobalamin bağlama kapasiteleri Uganda ve Nijerya popülasyonlarında da gösterilmiştir^{82,83}. Siyahların beyazlara oranla daha yüksek affinite ile kobalamine bağlanan transkobalamin II allele sahip olduğu gösterilmiştir⁸⁴.

Çevresel faktörler de serum B₁₂ vitamini düzeyleri üzerine etkilidir. Nijerya'da yaşayan beyazların Amerikada yaşayan beyazlardan daha yüksek serum kobalamin seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir⁸³. Güney Afrika'da maden ocaklarında çalışan siyahların kentlerde yaşayan siyahlara göre daha yüksek serum kobalamin seviyelerine sahip oldukları bildirilmektedir⁸⁵. Vitamin B₁₂ eksikliğinin beyaz kadınlarda Afrika kökenli Amerikalı kadınlara oranla 2-3 kat fazla olduğu fakat Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda folik asit eksikliğinin beyaz kadınlara oranla 2-3 kat fazla olduğu ileri sürülmektedir⁸⁶.

Meksika'da 2003 yılında 1966 çocuk, 920 kadın üzerinde yapılan incelemede Folik asit eksikliğinin ekonomik durumu iyi olan çocuklarda %2.3, ekonomik durumu kötü olan çocuklarda %11.2 ve kadınlarda ise %5 oranında bulunduğu gösterilmiştir. Folik asit eksikliğinde sosyoekonomik faktörlerin ve beslenme özelliklerinin rol aldığını rapor edilmektedir⁸⁷.

1996 yılında Kostarika'nın çeşitli bölgelerinden yaşları 1-6 arasında olan çocuklarda yapılan çalışmada folik asit eksikliği (<6.0ng/ml) %11.4 olarak

bulunmuştur. Bunun nedeninin beslenme durumuna bağlı olduğu rapor edilmiştir⁸⁸.

B₁₂ vitamini ve Folik asit seviyeleri ülkeden ülkeye yani coğrafik bir farklılık göstermekte ve aynı zamanda etnik yapının da kişinin vitamin düzeylerinde önemli etkisinin olabileceği kanaatini edindirmektedir. B₁₂ vitamini ve Folik asit referans değerleri yaşanan bölgeye, beslenme şartlarına ve kullanılan metoda göre laboratuvar dan laboratuvara da farklılık gösterebildiği için her ülkenin kendi referans aralıklarını çıkarması, hatta laboratuvarların kendi bölgelerindeki popülasyona uygun değerler kullanmalarının önemi ortaya çıkmaktadır. Böylece her toplumun kendi referans aralıklarını belirlemesi yanlış teşhis ve tedavinin önüne geçilebilmesi açısından önemli bir basamaktır.

Çalışmamızda kullandığımız yöntemlerin kit içeriklerinde B₁₂ vitaminine ilişkin referans aralığı Amerika için 211-946 pg/ml, Avrupa için 191-663 pg/ml olarak verilmiştir. Amerika için 8.4-35.2 ng/ml, Avrupa için ise 3.8-16 ng/ml değerleri referans değerler olarak verilmiştir.

Ülkemizdeki bazı laboratuvarların yaygın olarak kullandığı “Tietz’in Klinik Laboratuvar Referans Bilgiler” kitabı ise B₁₂ vitamini için 197-866 pg/ml, Folik asit için ise 4.2-19.9 ng/ml’ler arasını referans aralık değerleri olarak vermiştir⁸⁹.

Çalışmamız sonuçlarını, kit içeriklerindeki Avrupa’ya ait B₁₂ vitamini referans değerlerine göre karşılaştırma yaparsak çalışmaya katılan 1710 kişinin %13,91’inde (238) bu referans değerlerin altında değerlere rastlanmıştır. Tietz’in klinik laboratuvar referans bilgiler kitabındaki değerlere göre karşılaştırma yapıldığında ise 1710 kişinin %16,25’inde (278) bu referans değerlerin altında değerlere rastlanmıştır.

Çalışmamız sonuçlarını, kit içeriklerindeki Avrupa’ya ait Folik asit referans değerlerine göre karşılaştırma yaparsak çalışmaya katılan 1711 kişinin %0,058’inde (1 kişi) bu referans değerlerin altında değerlere rastlanmıştır. Tietz’in klinik laboratuvar referans bilgilerine göre çalışmaya katılan 1711 kişinin %2,98’inde (51 kişi) bu referans değerlerin altında değerlere rastlanmıştır.

Yukarıda çalışma sonuçlarımız ile karşılaştırdığımız referans değerler bizim coğrafyamızı, etnik yapımızı, beslenme alışkanlıklarımızı göstermeyen yurtdışında yapılmış çalışmaların bir sonucu olup farklı coğrafyada yaşayan farklı etnik yapılara sahip farklı beslenme standartları olan kişilere özgü değerlerdir.

B₁₂ vitamini ve folik asit düzeylerine ait referans aralığını saptamaya yönelik bu çalışma sonucunda elde edilen veriler tablo 9 ve tablo 10'da verilmiş olup; Tartışmanın bundan sonraki kısmında ise sadece bizim çalışmamızda bulduğumuz referans değerlerin diğer çalışmalar ile kıyaslaması yapılarak her bir vitamin için ayrı ayrı her toplumun kendi değerlerini bulmasının önemli olduğu vurgulanacaktır.

Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde B₁₂ vitamin eksikliğine bağlı megaloblastik anemi çocuklarda ve yaşlılarda yaygın olarak görülmektedir ve bunun sebebinin daha çok beslenme durumuna bağlı olduğu belirtilmektedir⁹⁰.

Meksika'nın kırsal bölgelerinde yapılan bir çalışmada okul öncesi çocuklar, okul çağındaki çocuklar, erişkinler, hamile ve emziren annelerde %19-41 oranında vitamin B₁₂ eksikliğine rastlanmıştır⁹¹. Bir yıldan beri çinko ve demir takviyesi alan 18 ila 36 aylık bebeklerin %8'inde B₁₂ vitamini eksikliği, %33'ünde ise düşük değerler görüldüğü bildirilmektedir⁹¹. Guatemala'da 7-12 yaşları arasında 128 çocuktan alınan kan örneklerinin %25'inde B₁₂ vitamini 200 pg/ml'den düşük ve %36'sında ise 200-300 pg/ml değerleri arasında bulunmuştur⁹².

Kızlarda büyüme olayının daha erken başlaması nedeniyle daha çok folik asite ihtiyaç olduğu, bunun için de özellikle eritrosit içi folat metabolizmasında B₁₂ vitamini kullanıldığını belirtilmiştir. Bu da çalışmamızda büyüme çağı ile uyumlu 10-19 yaş grubundaki kızların B₁₂ vitamini ortalama değerlerinin erkeklerin B₁₂ vitamini ortalama değerlerine göre daha düşük serum B₁₂ vitamini düzeylerini açıklamaktadır⁹³. (Tablo 5)

1990 yılında Erzurumda Yiğitoğlu'nun 5-14 yaş grubu çocuklarında B₁₂ vitamini ve Folik asite ait referans aralık belirlemeye yönelik tez çalışmasında hem 5-9 yaş hem de 10-14 yaş gruplarında her iki cinsiyet arasında istatistiksel bir farklılığın bulunmaması (p>0.05) nedeniyle referans değerlerinin verilmesinde cinsiyet farkı gözetenmesine gerek olmadığını belirtmiştir⁴. Başka araştırmacılar da B₁₂ vitamini ve Folik Asit referans aralık değerlerinin cinsiyete göre erkek ve kadın olarak ayrılmasına gerek olmadığını belirtmişlerdir^{94,95}. Çalışmamız da bu araştırmacıların çalışmaları ile uyumlu olup 0-9 yaş grubunda ve 10-19 yaş grubunda cinsiyet ayrımı yapılmasına gerek olmadığı saptanmıştır⁴ (Tablo 7-8).

Çalışmamızda 0-9 yaş ve 10-19 yaş gruplarında B₁₂ vitamin düzeyi açısından erkekler kızlara göre daha yüksek konsantrasyonlara sahiptir (Tablo

5). Folik asit düzeyleri açısından ise 0-9 yaş grubu erkeklerde daha yüksek konsantrasyonlar, 10-19 yaş grubunda ise kızlarda daha yüksek konsantrasyonlar görülmüştür (Tablo 6). Bu sonuçlar açısından Yiğitoğlu'nun tezi, Robert ve arkadaşlarının çalışmaları ile bizim B₁₂ vitamini konsantrasyon değerlerimizin 0-9 ve 10-19 yaş gruplarında cinsiyetlere göre karşılaştırmaları açısından uyumludur (Erkek>Kadın) (Tablo 5)^{4,96}. Yiğitoğlu'nun tezi ile bizim çalışmamızı folik asit açısından karşılaştırdığımızda ise Yiğitoğlu 0-9 yaş grubunda kızların erkeklere göre daha yüksek folik asit konsantrasyonlarında olması açısından bizim sonuçlarımızdan farklı, 10-19 yaş grubunda ise kızların erkeklere göre daha yüksek folik asit konsantrasyonlarında olması nedeniyle de aynı sonuçlar bulunmuştur⁴ (Tablo 6).

Pietrzik'in yaptığı çalışmada kızlarda daha düşük B₁₂ vitamin seviyelerini tespit etmesi çalışmamızdaki B₁₂ vitamini seviyeleri ile uyuşmaktadır⁴. Osifo ve arkadaşlarının sonuçlarına göre hem Folik asit hem de B₁₂ vitamini konsantrasyonları kızlarda daha yüksek bulunmuştur bu durum bizim çalışmamızda 10-19 yaş grubumuza ait folik asitin kızlarda erkeklerden daha yüksek konsantrasyonlarda olmasını desteklemektedir⁹³.

Adölesan kızlarda B₁₂ vitamin eksikliği görülme sıklığı yüksek bulunmuş ve bu diyetle yetersiz alıma bağlanmıştır. Nijeryada nöral tüp defekti insidansı ve kardiyovasküler hastalıkların yüksek olmasının Folik asit ve B₁₂ vitamini eksikliğinden kaynaklanabileceğini bildirilmiştir⁹⁶. Bu durumun, değişik bölgelerdeki değişik beslenme şekillerine bağlı olabileceği gibi, çalışmaların yapıldığı farklı mevsim periyodlarına da bağlı olabileceği belirtilmektedir⁴. Özellikle 10-19 yaş grubunda puberteden dolayı kızların daha fazla metabolik ihtiyacına bağlı olarak folik asit depolarından plazmaya daha hızlı folik asit transferi söz konusudur⁹³. Bundan dolayı çalışmamızda 10-19 yaş grubunda kızların erkeklerden daha yüksek ancak istatistiksel yönden anlamlı olmayan (p>0.429) folik asit seviyelerine sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 8). Osifo ve arkadaşları kızlarda büyüme olayının erken başlamasından dolayı daha çok Folik asite ihtiyaç olduğunu, bunun için de özellikle eritrosit içi Folik asit metabolizmasında B₁₂ vitamini kullanıldığını belirtmişlerdir⁹³. Bu da 10-19 yaş grubundaki kızlarda tespit ettiğimiz daha düşük serum B₁₂ vitamini seviyelerini desteklemektedir.

1-18 yaş grubunda B₁₂ vitamin düzeylerini 200-1250 pg/ml arasında olduğunu tespit etmişlerdir⁹⁵. Carmel yaptığı çalışmada 18 yaş grubunda B₁₂ vitamin referans düzeylerini 185-738 pg/ml olarak saptamıştır⁹⁸. Bizim çalışmamızda ise 0-9 yaş grubunda B₁₂ vitamini 164-925 pg/ml, 10-19 yaş grubunda ise 55-585 pg/ml'ler arasında bulunmuştur (Tablo 9). Bu sonuçları bizim verilerimiz ile karşılaştırdığımızda bizim sonuçlarımızın alt referans değerlerinin bu iki çalışmaya göre daha düşük olduğunu tespit ettik.

İlçöl ve arkadaşları 2004 yılında Bursa Uludağ Üniversite hastanesinde 18-40 yaşları arasında 328 sağlıklı bireyden (143 erkek, 185 kadın) almış oldukları kan örneklerini hem parametrik olmayan hemde parametrik yöntemle göre çalışıp B₁₂ vitamini ve folik asite ait referans değerlerini hesaplamışlar ve ardından iki yöntem sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Parametrik olmayan yöntemle göre erkeklerde B₁₂ vitamini için 214-1544 pg/ml, kadınlarda ise 319-1996 pg/ml değerlerini referans aralık olarak bulmuşlardır. Parametrik yöntemlere göre yapılan çalışmalar sonucunda ise B₁₂ vitamini için erkeklerde 210-1591 pg/ml'yi, kadınlar için ise 310-2068 pg/ml'yi referans değer olarak bulmuşlardır¹⁰⁰. Her iki yöntemde de bulunan referans değerlerini çalışmamızdaki B₁₂ vitamini değerleri ile karşılaştırırsak, çalışma sonucunda bulduğumuz alt ve üst referans değerlerimiz bu iki farklı yöntemden elde edilen değerlerden daha düşük olduğunu gözlemledik (Tablo 9). Parametrik olmayan yöntemle göre erkeklerde folik asit için 2.97-17.4 ng/ml, kadınlarda 3.6-22 ng/ml değerlerini referans değer olarak bulmuşlardır. Parametrik yöntemlere göre yapılan istatistiksel çalışma sonucunda erkeklerde folik asiti 2.90-18.26 ng/ml, kadınlarda 3.53-22 ng/ml'yi referans aralık değerleri olarak bulmuşlardır¹⁰⁰. Her iki yöntemde de bulunan referans değerlerini bizim çalışmamızda ki folik asit değerleri ile karşılaştırdığımızda, 20-29 yaş grubumuzda cinsiyet ayırımına gerek olmadığı için elde ettiğimiz tek referans değerininin İlçöl ve arkadaşlarının çalışmasında ki erkek ve kadınlara ait folik asit referans değerlerinden hem alt hem de üst referans değerleri açısından daha düşük olduğunu bulduk. 30-39 yaş grubumuzda ise İlçöl ve arkadaşlarının her iki yöntemle de buldukları referans değerlerine göre erkeklerde daha yüksek alt referans değerlerimiz olduğunu, üst referans değerlerine göre ise daha düşük referans değerlerimiz olduğunu bulduk. Folik asite ait kadın değerlerimizin alt referans değerlerimizin

daha yüksek, üst referans değerlerimizin ise daha düşük olduğunu bulduk¹⁰⁰ (Tablo 10).

İlçöl ve arkadaşlarının 2006 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Hastanesi laboratuvar verilerini kullanarak 18-45 yaş arasındaki kişilerde yaptıkları bir başka çalışmada ise 2245 hasta verisi kullanılarak erkeklere ait folik asit referans değerlerini 2.07-14.87 ng/ml, 2423 hasta verisi kullanılarak kadınlara ait folik asiti referans değerlerini ise 1.98-17.17 ng/ml'ler arasında tespit etmişlerdir. İlçöl ve arkadaşlarının sonuçları ile çalışmamızdaki uyumlu yaş grupları ile karşılaştırdığımızda ise 20-29 yaş grubunda tek bir referans değerimizin olduğunu bizim değerimizin, İlçöl ve arkadaşlarının erkek ve kadınlar için buldukları folik asit referans değerlerine göre daha yüksek alt referans değerlere ve daha düşük üst referans değerlere sahip olduğumuzu belirledik. 30-39 yaş grubunda ise hem erkek hem de kadınlarda folik asit referans değerlerimizin yüksek alt referans değerlere ve daha düşük üst referans değerlere sahip olduğunu belirledik. 40-49 yaş grubunda da aynı şekilde erkek ve kadınlarda folik asit referans değerlerimizin daha yüksek alt referans değerlere ve daha düşük üst referans değerlere sahip olduğunu belirledik¹⁰¹(Tablo 10).

Tanyalçın ve arkadaşlarının B₁₂ vitamini ve Folik asit değerlerine ait referans aralıklarının belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada ise 142'si kadın, 108'i ise erkek olmak üzere 18-40 yaş grubu 250 kişi çalışmaya alınmış B₁₂ vitamini için kadınlarda 101-666.7 pg/ml, erkekler için 100-699.5 pg/ml referans değerlerini bulmuşlardır. Folik asit için ise kadınlarda 3.9-18.1 ng/ml, erkekler için 2.5-17.6 ng/ml arasında referans değerlerini bulmuşlardır. Hem B₁₂ vitamini hem de folik asit açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulmamışlardır. Bu sonuçları bizim çalışmamızdaki bu yaş gruplarına (18-40 yaş) uyan veriler ile karşılaştırdığımızda sadece 30-39 yaş grubuna ait B₁₂ ve Folik asite ait referans değerlerimizin cinsiyetler arası anlamlı bir fark bulunması sebebiyle Tanyalçın ve arkadaşlarının çalışmasındaki sonuçlardan farklı bulunmuştur. Tanyalçın ve arkadaşlarının B₁₂ vitamini referans değerleri ile bizim değerlerimizi karşılaştırdığımızda 20-29 yaş grubumuza ait değerlerimizin alt referans değerler açısından daha büyük değerler olduğunu, üst referans değerleri açısından ise daha küçük değerlerimiz olduğunu tespit ettik. 30-39 yaş grubumuza ait B₁₂ vitamini değerlerimiz ile karşılaştırdığımızda ise yine daha

büyük alt referans değerlerimizin olduğunu, üst referans değerler açısından ise daha düşük değerlere sahip olduğumuzu tespit ettik (Tablo 9). Folik asit açısından ise 20-29 yaş grubumuzdaki iki cinsiyete ait tek bir değer hem alt hem de üst referans değerler açısından daha düşük olduğunu tespit ettik. 30-39 yaş grubunda ise erkekler açısından alt referans değerlerimizin daha yüksek olduğunu, üst referans değerlerimizin ise daha düşük olduğunu tespit ettik. 30-39 yaş grubu kadınlar açısından değerlendirdiğimizde ise alt referans değerlerimizin daha yüksek, üst referans değerlerimizin ise daha düşük olduğunu tespit ettik¹⁰² (Tablo 10).

Bu çalışmalar ile bizim çalışmalarımızdan elde ettiğimiz referans değerlerini karşılaştırdığımızda, Mersin ilinde B₁₂ ve Folik asit referans aralık değerlerinin daha düşük ve daha dar referans aralık değerlerine sahip olduğunu gözlemledik.

Çalışma sonuçlarımız ve ülkemizdeki diğer çalışmalar göstermiştir ki, B₁₂ vitamini ve folik asit değerleri bölgeye ve beslenme şartlarına göre farklı yaş gruplarında ve cinsiyette farklılık göstermektedir. Bu da bize her laboratuvarın kendi bölgesindeki popülasyona uygun değerleri kullanmasının önemini ortaya koymaktadır. Her laboratuvarın referans aralıklarını hesaplaması, eğer bütün önerilen adımlar izlendiği takdirde zor, zahmetli, zaman alıcı ve maliyetlidir.

Bölgemizde bu testleri çalışan ve çalışmayı planlayan laboratuvarların bu çalışmada saptanan sonuçları kullanarak zaman, iş gücü, ve maliyet kayıplarını önemli ölçüde azaltabileceği düşüncesindeyiz.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Referans bireyler genel özellikleri açısından değerlendirildiğinde hem B₁₂ hem de folik asit vitamini ortalama değerleri kadınlarda erkeklerden daha yüksek çıkmıştır.
2. Kızlarda gelişimin erken başlamasına bağlı olarak folik asite ihtiyaç duyulduğu özellikle eritrosit içi folat metabolizması için de B₁₂ vitamininin kullanılması nedeniyle 0-9 ve 10-19'lu yaş gruplarında B₁₂ vitamini ortalamalarının düşüklüğü görülmüştür. Zaten bu yaşlardan itibaren kadınlarda B₁₂ vitamini erkek ortalamalarının üzerinde bir değere ulaşmıştır.
3. Hem B₁₂ vitamini hem de folik asit için bazı yaş gruplarında ve cinsiyetler arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. Buda laboratuvar sonuçlarının yanında verilen referans değerlerinin yaş ve cinsiyete bağlı olarak ayrı ayrı verilmesi gerektiğini düşündürmüştür.
4. Referans aralık çalışmalarında veri sayısı ve dağılımın normalliği uygulanacak istatistiksel yöntem ile çok alakalı olduğu için veri sayısının yeterli olması ve çalışmaya alınacak bireylerin iyi seçilmesi dağılımımızın modulasyona uğramamasına ve referans çalışmasının daha güvenilir olmasına neden olur. Kullanılacak yanlış bir yöntemde ise çalışmaya alınacak bireyler uygun olsa bile yine güvenilir olmayan sonuçlara neden olacaktır . Bu yüzden çalışmanın her aşamasında gerekli dikkat ve özen gösterilmelidir.
5. Çalışmamızın doğruluğunu değerlendirebilmek ve değişkenliğini görebilmek için hastane popülasyonunun kullanıldığı daha geniş bir veri sayısına sahip bir çalışma ile karşılaştırılabilir. Ayrıca B₁₂ vitamini ve folik asit mevsim şartlarına uygun olarak alınacak yiyecekler ile vücut konsantrasyonları değişebileceği için bu farklılığın giderilmesi için aynı bölgeden yaz döneminde ve kış döneminde olmak üzere aynı kişilerden iki farklı dönemde kan alınarak mevsimsel değişkenliğin gösterilmesi yararlı olacaktır.

9. KAYNAKLAR

1. Aksoy A. Beslenme Biyokimyası, 1. Baskı, Ankara: Hatipoğlu Basım ve Yayım, 2000: 315-462.
2. Özgünen T, Üstdal M, Hekimlikte Biyokimya: Hangi Test İstenmeli? 1. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi, 1997: 226-240.
3. Ersöz B, Beslenme. Çeviri Editörleri: Menteş G, Ersöz B. Harper'ın Biyokimyası. 22. Baskıdan Çeviri. İstanbul: Barış kitabevi, 1993: 714-726.
4. Yiğitoğlu MR, Bölgemizdeki 5-14 Yaş Grubu Çocuklarında B-12 Vitamini Ve Folik Asit Referans Değerleri İle Diğer Bazı Hematolojik Parametrelerin Araştırılması. Uzmanlık tezi. Erzurum,1990: 1-74.
5. Adam B, Göker Z, Ardıçoğlu Y. Vitaminler. Temel ve Klinik Biyokimya, 1. Baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık, 103-116.
6. Onat T. Vitaminler. Çeviri Editörü: Aslan D. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. Beşinci Baskıdan Çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık,2005: 543-567.
7. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Uzmanlık Tezi. İstanbul,2000:1-110.
8. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2006:1-57.
9. Soysal T. Megaloblastik Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Anemiler Sempozyumu. İstanbul, 2001: 33-47.
10. Leal NA. B12 Metabolisms In Humans. Florida, University of Florida. 2004:1-156.
11. Üstdal M, Karaca L, Testereci H, Kuş S, Paşaoğlu H, Türköz Y. Biyokimya, 1. Baskı, Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2005:841-898.
12. <http://stu.inonu.edu.tr/~hcavdar/bgrubu.html>. Erişim Tarihi:01.10.2007
13. Brody T. Nutritional Biochemistry. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1999:491-692.
14. <http://www.vegsoc.org/info/b12.html>. Erişim Tarihi:02.10.2007
15. McCormick DB, Greene HL. Vitamins. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry. 3th ed. Philadelphia: Saunders,1999: 999-1028.

16. Miller SM, Mears M. Nutritional Status Assesment. In: Anderson SC, Cockayne S. Clinical Chemistry Concept and Applications. New York: Mc Graw Hill, 2003: 579-611.
17. Maralcan M, Ellidokuz E. Vitamin B12 Eksikliği. Güncel Gastroenteroloji 2004; 8/3: 199-204.
18. <http://en.wikipedia.org/wiki/Corrin>. Erişim Tarihi:03.10.2007
19. <http://193.255.230.2/~fidanci/Sunular/VF-Sunular/VF-VitaminB12.pdf>. Erişim Tarihi:04.10.2007
20. Bhavagan NV. Vitamin metabolism. In: Bhavagan NV. Medical Biochemistry. 4th ed. Florida: Hartcourt Academic Press. 2002:901-928.
21. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. Vitaminler. Çeviri editörleri: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's Biyokimya. 2.Baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 1997: 319-342.
22. Seetharam B. How does cobalamin (vitamin B12) enter and traverse mammalian cells? J Biosci. 1987;11:75-80.
23. Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic Anemias. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 12th ed. New York: McGraw Hill, 1991: 1523-1529.
24. Kozyraki R, Fyfe J, Kristiansen M, et al. The İntrinsic Factor- Vitamin B12 Receptor, Cubillin, İs A High-Affinity Apolipoprotein A-1 Receptor Facilitating Endocytosis Of High Density Lipoprotein. Nature Medicine 1999; 5: 656-661.
25. Wolters M, Ströhle A, Hahn A. Cobalamin: A Critical Vitamin İn The Elderly. Prev Med 2004; 39(6): 1256-1266.
26. Verroust PJ, Christensen EI. Megallin And Cubillin- The Story Of Two Multipurpose Receptors Unfolds. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 1867-1871.
27. Hammad SM, Stefansson S, Twal WO, et al. Cubilin, The Endocytic Receptor For İntrinsic Factor- Vitamin B(12) Complex, Mediates High-Density Lipoprotein Holoparticle Endocytosis. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96:10158-10163.
28. Seetharam B, Bose S, Li N. Cellular Import Of Cobalamin (Vitamin B-12). J Nutr 1999; 129: 1761-1764.
29. Çağatay Ü, Güvenç B. Megaloblastik Anemiler. Çeviri Editörü: Sağlıkker Y. Harrison İç Hastalıkları Prensipieri. 15. Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 674-680.

30. <http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastaliklari/files/Dersler/71.pdf>.
erişim tarihi: 04.10.2007
31. Oh RC, Brown DL. Vitamin B₁₂ Deficiency. American Family Physician. 2003; 67(5): 979-986.
32. Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, et al. High Prevalence Of Cobalamin Deficiency İn Elderly Outpatients. J Am Geriatr Soc 1992; 40(12): 1197-1204.
33. Dankı D, Telci Ş, Dilbaz N, Okay İT. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 2006; 16:109-113.
34. Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR, et al. Megaloblastic Anemias Disorders Of İmpaired DNA Synthesis. In: Clinical Hematology. 8th ed. Philadelphia: Lea and Febiger. 1981:559-604.
35. Kurt A. Bölüm 4. Çeviri ed. Ulukaya E. Klinik Biyokimya. Bursa: Güneş ve Nobel kitabevi, 1998:59-74.
36. Lee GR. Pernicious Anemia and Other Causes of Vitamin B₁₂ (Cobalamin) Deficiency. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. Wintrobe's Clinical Hematology. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 1999: 941-958.
37. Kass L. Pernicious Anemia. In: Smith LE. Major Problems in Internal Medicine. Volume 7. Philadelphia. W.B. Saunders. 1976: 116-122.
38. Kuncl RW, Duncan G, Alderson K, Watson D, Alderson K, Rogawski MA, Peper M. Colchicine Myopathy and Neuropathy. N Engl J Med 1987; 316(25): 1562-1568.
39. Palopoli JJ, Waxman J. Colchicine Neuropathy or Vitamin B₁₂ Deficiency Neuropathy. N Engl J Med 1987; 317(20): 1290-1291.
40. Özlü SG. Ailevi Akdeniz Ateşli Olgularında Gen Mutasyonları ve Hastalık Ağırılık Skorlaması İlişkisi; Kolşisin Tedavisinin Kan B₁₂ Vitamini Düzeylerine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2006: 1-69.
41. http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupddrugs/vit_026_2.shtml. Erişim tarihi:15.07.2007.
42. Dommissse J. Subtle Vitamin B₁₂ Deficiency and Psychitary: A Largely Unnoticed But Devastating Relationship? Med hypotheses 1991; 34(2): 131-40.
43. Reynolds E. Vitamin B₁₂, Folic Acid, and The Nervous System. Lancet Neurol. 2006; 5(11): 949-960.

44. Hoffbrand AV, Weir DG. Historical Review. The History Of Folic Acid. Br J Haematol. 2001;113(3): 579-589.
45. Lucock M. Folic acid: Nutritional Biochemistry, Molecular Biology, and Role In Disease Processes. Mol Genet Metab 2000; 71(1-2): 121-138.
46. Bhavagan NV. Nucleotid metabolism. In: Bhavagan NV. Medical Biochemistry. 4th ed. Florida: Hartcourt Academic Press. 2002: 615-644.
47. Miller SM Vitamins. In: Bishop ML, Duben-Engelkirk JL, Fody EP. Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations. 3th Ed. Philadelphia: Lippincott. 1996:581-635.
48. Thien KR, Blair JA, Leeming RJ, Cooke WT, Melikian V. Serum Folates in Man. J Clin Pathol 1977; 30(5): 438-448.
49. Lucock MD, Priestnall M, Daskalakis I, Schorah CJ, Wild J, Levene MI. Nonenzymatic Degradation And Salvage Of Dietary Folate: Physicochemical Factors Likely to Influence Bioavailability. Biochem Mol Med. 1995;55(1):43-53.
50. Steinberg SE. Mechanisms of Folate Homeostasis. Am J Physiol. 1984; 246:319-324.
51. Waxman S, Schreiber C. Characteristics of Folic Acid- Binding Protein in Folate-Deficient Serum. Blood. 1973; 42(2): 291-301.
52. Natsuhori M, Okada M, Ida R, Sasaki K, Shimoda M, Kokue E. Binding Characteristics of Folate to High Affinity Folate Binding Protein Purified from Porcine Serum. J Vet Med Sci. 1999; 61(7): 743-748.
53. Wright AJA, Finglas PM, Southon S. Erythrocyte Folate Analysis: A Cause for Concern? Clinical Chemistry. 1998; 44 (9): 1886-1891.
54. http://www.akdeniz.edu.tr/tip/web/Birimler/Biyokimya/yeni/biyokimya/DersNotlari/PurinPirimidin_metab/Purin_pirimidin_metabolizmasi.pdf Erişim Tarihi: 13.09.2007
55. Selhub J, Miller JW. The Pathogenesis of Homocysteinemia: Interruption of the Coordinate Regulation By S-Adenosylmethionine of the Remethylation and Transsulfuration of Homocysteine. Am J Clin Nutr 1992; 55: 131-138.
56. Dikmen M. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla İlişkisi. Kocatepe Tıp Dergisi. 2004; 5: 9-16.
57. Özer NK. Vitaminler ve Mineraller. In: çev ed. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. 1. Baskı Ankara. Palme yayıncılık. 2002:513-538.

58. Solberg HE. Establishment and Use of Reference Values. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry. 3th ed. Philadelphia: Saunders,1999: 336-356.
59. Boyd JC, Lacher DA. The Multivariate Reference Range: An Alternative Interpretation of Multi Test Profiles. Clin Chem 1982; 259-265.
60. Solberg HE. Using A Hospitalized Population to Establish Reference Intervals: Pros And Cons. Clin Chem 1994; 40(12): 2205-2206.
61. Murphy EA. The Normal and the Perils of The Syleptic Argument. Perspect Biol Med 1972; 15: 566-582.
62. Aslan D. Referans Aralıkların Hesaplanması. In: Gezer S, Güner G, Tuncel P. Klinik Laboratuvarlarda Yöntem Seçimi Değerlendirilmesi ve Laboratuvara Uygulanması. Kurs Kitabı. İzmir; 2000: 80-119.
63. Laleli Y, Akbay A.Referans Aralık Analizi. In: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay Fz. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Ankara; 2000:124-137.
64. Arpacı A. Referans Aralık Analizi. In: Aksoy K, Tuli A, İnal TC ve ark. Klinik Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Güvencesi Eğitim Ve Uygulama Toplantısı-III. Adana,2000:108-115.
65. Haris EK. Effects of intra and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. Clin chem 1974; 20: 1535-1542.
66. Solberg HE, Grasbeck R. Reference Values. Adv Clin Chem 1989; 27: 1-79.
67. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of Statistical Method Use on the Resulting Estimate of Normal Range. Clin Chem 1971; 17: 275-284.
68. Martin HF, Hologgites JV. Reference Values Based on Populations Accessible to Hospitals. In: Reference Values in Laboratory Medicine. Chichester: Wiley. 1981; 233-262.
69. Werner M, Tolls RE. Influence of Sex and Age of Eleven Serum Constituents. J Clin Chem Clin Biochem 1990; 8: 105-115.
70. Ash KO, Clark SJ. The Influence of Sample Distribution and Age on Reference Intervals for Adult Males. Am A J Clin Pathol 1983; 79: 574-581.
71. Horn PS. A Robust Approach to Reference Interval Estimation and Evaluation. Clin Chem 1998; 44: 622-631.

72. Enli Y. Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması. Uzmanlık Tezi. Denizli. 2001; 1-113.
73. Wilk S. Statistical Prediction with Special Reference to the Problem of Tolerance Limits. Ann Math Statist 1941; 13: 400.
74. Somerville PN. Tables For Obtaining Nonparametric tolerance limits. Ann Math Statist 1958; 29: 599.
75. Öncel K, Özbek MN, Onur H, Söker M, Ceylan A. Diyarbakır İlindeki Çocuklarda ve Adölesanlarda B12 Vitamin ve Folik Asit Düzeyleri. Dicle Tıp Dergisi. 2006; 33(3): 163-169.
76. Erdem Ş. Megaloblastik anemiler.In: Büyüköztürk K. İç Hastalıkları. İstanbul. Nobel tıp kitapevi; 1992; 443-448.
77. Müftüoğlu E. Megaloblastik Anemiler. 4. Baskı, Diyarbakır; Şahin yayıncılık. 1995; 53-67.
78. Altay Ç, Çetin M. Megaloblastik Anemiler. Katkı Pediatri Dergisi 1995; 3: 346-362.
79. Kwee HG, Bowman HS, Wells LW. A Racial Difference İn Serum Vitamin B12 Levels. J Nucl Med 1985; 26: 790-792.
80. Saxena S, Carmel R. Racial Differences in Vitamin B12 Levels in the United States. Am J Clin Pathol 1987; 88: 95-97.
81. Fernandez-Costa F, Metz J. A Comparison of Serum Transcobalamin Levels in White and Black Subjects. Am J Clin Nutr 1982; 35: 83-86.
82. Kajubi SK, Okel RM. Absorbtion of Vitamin B12 in Uganda Africans. Afr J Med Sci 1973; 4: 403-408.
83. Fleming AF, Ogunfunmilade YA, Carmel R. Serum Vitamin B12 Levels and Vitamin B12 Binding Proteins of Serum and Saliva of Healthy Nigerians and Europeans. Am J Clin Nutr 1978; 31: 1732-1738.
84. Porck HJ, Frater-Schroder M, Hakkinen AK, Zagalak B, Friedrich W. Transcobalamin II Polymorphism in African Populations, İn Vitamin B12. Berlin, De Gruyter. 1979;863-866.
85. Brandt V, Kerrich JE, Metz J. The Distribution of Serum Vitamin B12 Concentration Groups in South Africa. S Afr J Med Sci 1963; 28:125-131.
86. Stabler SP, Allen RH, Fried LP, et al. Racial Differences in Prevalence of Cobalamin and Folate Deficiencies in Disabled Elderly Women. The American Journal Of Clinical Nutrition. 1999; 70: 911-919.

87. Villalpando S, Montalno-Velarde I, Zambrano N, et al. Vitamins A, C and Folate Status in Mexican Children Under 12 Years and Women 12-49 Years: A Probabilistic National Survey. *Solud Public Mex* 2003; 45: 508-519.
88. Cunningham L, Blanco A, Rodriguez S, Ascencio M. Prevalence of Anemia, Iron, and Folate Deficiency in Children 7 Years Smaller. Costa Rica 1996. *Arch Latinoam Nutr* 2001; 51(1): 37-43.
89. Jacob RA. Section 1: General Clinical Tests. In: Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3th ed. Philadelphia: Saunders. 1995:1-760
90. Katar S. Çocuklarda B12 Vitamin Eksikliği. *Dicle Tıp Dergisi*, 2007; 34(1): 25-28.
91. Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, Martinez H, Lopez P, Munoz E. Vitamin B12 Deficiency and Malabsorption are Highly Prevalent in Rural Mexican Communities. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1013-1019.
92. Allen LH. B Vitamins: Proposed Fortification Levels for Complementary Foods for Young Children. *Journal Of Nutrition* 2003; 133: 3000S-3007S.
93. Osifo BO, Lukannbi FA, Bolodeoku JO. Reference Values for Serum Folate, Erythrocyte Folate and Serum Cobalamin in Nigerian Adolescents. *Trop And Geog Med* 1986; 38: 259-264.
94. Hages M, Pietrzik K. Evaluation of The Folacin Status in Children with Regard to The Cobalamin and Iron Status. 2. Incidence and Severity of Folate Deficiency. *Int J Vitam Nutr Res* 1985; 55: 69-77.
95. Zamani V, Özsoylu S, Sakallı F, Laleli Y. Serum Vitamin B12 Concentrations in Children. *Turk J Pediatr* 1986; 28: 105-110.
96. Robert HC, Dent GA, Tuszyński A. Two Radioassay for Serum Vitamin B12 and Folate Determination Compared in a Reference Interval Study. *Clin chem* 1985; 31(8): 1358-1360.
97. Vanderjagt DJ, Spelman K, Ambe J, et al. Folate and Vitamin B12 Status of Adolescent Girls in Northern Nigeria. *J Nat Med Assoc* 2000; 92: 334-340.
98. Carmel R. Pernicious Anemia . The Expected Findings of Very Low Serum Cobalamin Levels, Anemia, and Macrocytosis are Often Lacking. *Arch Intern Med* 1988; 148(88): 1712-1714.
99. Koç A, Koçyiğit A, Ulukanlıgil A, Demir N. Şanlıurfa Yöresinde 9-12 Yaş Grubu Çocuklarda B12 Vitamini ve Folik Asit Eksikliği Sıklığı ile Bağırsak Solucanlarıyla İlişkisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2003; 48: 308-315.

100. Özarda İlçöl Y, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. Türk Biyokimya Dergisi. 2004; 29(2):183-192.
101. Özarda İlçöl Y, Aslan D. Use of Total Patient Data for Indirect Estimation of Reference Intervals for Clinical Chemical Analytes in Turkey. Clin Chem Lab Med. 2006;44(7):867-876.
102. Tanyalçın T, Aslan D, Kurtulmuş Y, Gökalp N, Kumanlıoğlu K. Reference Intervals of Serum Folate and Vitamin B12 Developed from Data of Healthy Subjects. Accred Qual Assur. 2000; 5:383-387.

10. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AİDS	Acquired İmmune Deficiency Syndrome (Kazanılmış İmmun Eksiklik Sendromu)
ATP	Adenozintrifosfat
C	Askorbik Asit
Ca	Kalsiyum
Cbl	kobalamin
cm	santimetre
Co	Kobalt
KoA	Koenzim A
°C	Santigrat
CH	Metenil
CH ₂	Metilen
CH ₃	Metil
CHO	Formil
CN	Siyanid
Da	Dalton
DHF	Dihidrofolik Asit
dl	Desilitre
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dTMP	Deoksitimidin Monofosfat
dUMP	Deoksiuridin Monofosfat
FADH ₂	Redükte Flavin Adenin Dinükleotid
FBP	Folat Bağlayıcı Protein
FDA	Food And Drug Administration (Amerikan Gıda Ve İlaç Dairesi)
FIGLU	Formiminoglutamik Asit
FADH ₂	Dihidro Flavin Adenin Dinükleotid
g	Gram
GSH	Redükte Glutatyon
GIS	Gastro İntestinal Sistem
H	Hidrojen
Hb	Hemoglobin

HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
IF	İntrinsik Faktör
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry (Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Federasyonu)
K ⁺	Potasyum
K _d	Dissociation Constant (Denge Sabiti)
K _m	Michealis Menten Sabiti
m	Molalite
M	Molarite
MCH	Eritrositlerin İçerdiği Ortalama Hemoglobin Miktarı
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
MCHC	Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyon Yüzdesi
mg	Miligram
ml	Mililitre
MM KoA	Metilmalonil Koenzim A
MS	Metiyonin Sentaz
MTHFR	Metilen tetrahidrolat redüktaz
NADH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP	Okside Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADP-H	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NCCLS	National Commitee for Clinical Laboratory Standards (Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi)
ng	Nanogram
nm	Nanometre
N ₂	Nitrojen
N ₂ O	Nitröz Oksit
OH ⁻	Hidroksil
PA	Pernisiyöz Anemi
PABA	Para Amino Benzoik Asit
PGA	Pteroyil Glutamik Asit
pH	Power Of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
pg	Pikogram
Propiyonil KoA	Propiyonil Koenzim A
RBC	Red Blood Cell (Eritrosit Sayısı)

RNA	Ribonükleik Asit
SAM	S-Adenozil Metiyonin
SAH	S-Adenozil Homosistein
Süksinil KoA	Süksinil Koenzim A
S.S	Standart Sapma
TC-II	Transkobalamin 2
THF	Tetrahidrofolik Asit
t1/2	Half Life (Reaksiyon Yarılanma Ömrü)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
µg	Mikrogram

11. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (Korrin halka yapısı.).....	10
Şekil 2 (Vitamin B ₁₂ yapısı.).....	10
Şekil 3 (Vitamin B ₁₂ 'nin ince barsaktan emilim mekanizması.).....	13
Şekil 4 (TCII-Vitamin B ₁₂ kompleksinin lizozomlara alınması.).....	15
Şekil 5 (Kobalaminin kofaktör olarak bulunduğu reaksiyonlar.).....	17
Şekil 6 (B ₁₂ vitamini ve Folik asitin birlikte rol oynadıkları metabolik reaksiyonlar.).....	18
Şekil 7 (Propiyonil Koenzim A'nın Süksinil Koenzim A'ya dönüşüm reaksiyonları.).....	19
Şekil 8 (Folik asidin yapısı.).....	23
Şekil 9 (5-Metil-THF ve THF moleküllerinin N ⁵ Ve/Veya N ¹⁰ pozisyonundaki farklı radikalleri.).....	24
Şekil 10 (THF metabolizmasında yer alan reaksiyonların şematik gösterimi.).....	30
Şekil 11 (Folat formlarının metabolizması ve birbirlerine çevrilmesi.).....	31
Şekil 12..(Metiyonin sentezi).....	32
Şekil 13 (Timidilat Sentezi).....	33
Şekil 14 (Glisin Sentezi.).....	33
Şekil 15 (Histidin Metabolizması.).....	34
Şekil 16 (Pürin Biyosentezi.).....	35
Şekil 17 (B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogramı).....	52
Şekil 18 (Folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı.).....	52
Şekil 19 (0-9 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogram).....	54
Şekil 20 (10-19 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogram)...	54
Şekil 21 (20-29 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogram)...	55
Şekil 22 (30-39 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogramı)..	55
Şekil 23 (40-49 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogramı)..	56
Şekil 24 (50-59 yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılım histogramı)..	56
Şekil 25 (60 ve üzeri yaş grubu B ₁₂ vitamini düzeylerine ait dağılımhistogramı).....	57

Şekil 26	(0-9 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	58
Şekil 27	(10-19 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	59
Şekil 28	(20-29 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	59
Şekil 29	(30-39 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	60
Şekil 30	(40-49 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	60
Şekil 31	(50-59 yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	61
Şekil 32	(60 ve üzeri yaş grubu folik asit düzeylerine ait dağılım histogramı).....	61

12. TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1....(Vitamin B ₁₂ eksikliğinin nedenleri).....	20
Tablo 2....(folik asit eksiklik nedenleri).....	36
Tablo 3 (Çalışma grubuna ait olguların genel özellikleri).....	51
Tablo 4 (B ₁₂ ve Folik Asit düzeylerine ait ortalama değerler).....	52
Tablo 5 (B ₁₂ vitamin düzeylerine ait tanıtıcı istatıksel veriler).....	57
Tablo 6 (Folik asit düzeylerine ait tanıtıcı istatıksel veriler).....	62
Tablo 7 (B ₁₂ vitamininin aynı yaş gruplarında ki bireylerde cinsiyetler arasıanlamlılık düzeyi).....	63
Tablo 8 (Folik asitin aynı yaş gruplarında cinsiyetler arası anlamlılık ...düzeyi).....	64
Tablo 9 (B ₁₂ vitamin düzeylerine ait referans aralık değerleri).....	65
Tablo 10 (Folik asit düzeylerine ait referans aralık değerleri).....	66

13.EKLER

Ek-1: Aydınlatılmış Onam Formu

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Araştırmamızda, mersin ili merkezinde vitamin B₁₂ ve folik asite ait referans değerlerin ne olduğu araştırılacaktır. Hastalardan alınan serum ve tam kan örneklerinden biyokimyasal ve hematolojik tetkikler yapılarak hem referans değerler bulunacak hemde mersin bölgesinde eksiklik varsa görülme insidansı gibi konularda bilgi sahibi olunacaktır.

Araştırmaya yaklaşık onarlı yaş gruplarından ve cinsiyet göz önünde bulundurularak 120' şerli hastadan en az 1680 hastadan kan örnekleri alınacaktır.

Çalışmamız sırasında hastalara, araştırmamızla ilgili olarak herhangi bir ilaç verilmeyecek, herhangi bir tıbbi müdahalede bulunulmayacak, sadece alınan kandan çalışma yapılacaktır.

Araştırmaya sadece gönüllü olanlar katılacaktır. Gönüllüler araştırmamızın herhangi bir aşamasında araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahiptir. Gönüllünün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabilir.

Yukarıdaki, gönüllü araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya katılmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin

Adı Soyadı:..... İmzası;

Adresi (varsa telefon no, faks no):.....

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı Soyadı:..... İmzası:.....

Ek 2: Hasta Anket Formu**FOLİK ASİT / VİT. B12 MERSİN BÖLGESİ REFERANS ARALIK
ÇALIŞMASI**

AD- SOYAD		TARİH	
YAŞ		PROTOKOL NO	
CİNSİYET	E: (...) K: (...)	AĞIRLIK	
ADRES		MESLEK	
HİPERTANSİYON	VAR: (...) YOK: (...)	DİABET	VAR: (...) YOK: (...)
KANSER		DİĞER HASTALIKLAR	
GEÇİRİLMİŞ AMELİYATLAR		KULLANDIĞI İLAÇLAR	
BESLENME ALİŞKANLIĞI	ET : (...) SEBZE : (...) KARIŞIK : (...)	KEÇİ SÜTÜ	KULLANIYOR : (...) KULLANMIYOR : (...)
EMZİRME	VAR: YOK:	GEBELİK	VAR : (...) YOK : (...)
SİGARA	KULLANIYOR : (..) KULLANMIYOR:(..)	ALKOL	KULLANIYOR : (..) KULLANMIYOR : (..)
EKSTREMİTELERDE UYUŞMA	VAR : (...) YOK: : (...)	DENGE KAYBI	VAR : (...) YOK : (...)
İSHAL/KABIZLIK	VAR : (..) YOK : (..)	İŞTAH KAYBI	VAR : (...) YOK : (...)
HALSİZLİK	VAR : (...) YOK : (...)	UNUTKANLIK	VAR : (...) YOK : (...)