



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ İLE TAM KAN SAYIMI
PARAMETRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN
ARAŞTIRILMASI**

YAVUZ UZUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi EVİN KOCATÜRK**

Eskişehir

2021



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN B12 EKSİKLİĞİ İLE TAM KAN SAYIMI
PARAMETRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN
ARAŞTIRILMASI**

YAVUZ UZUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi EVİN KOCATÜRK**

**Eskişehir
2021**

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda öğrenim gördüğüm yüksek lisans sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen ve bana bu alanda gelişme fırsatı veren başta tez danışmanım olan Dr. Öğr. Üyesi Evin KOCATÜRK'e, tezimin istatistiklerinin hazırlanmasında çok emeği olan Doç. Dr. Hüseyin KAYADİBİ'ne, bu süreç boyunca her aşamasında büyük katkısı olan Prof. Dr. Hava ÜSKÜDAR TEKE'ye, Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Küskü KİRAZ'a ve Öğr. Gör. Ahmet MUSMUL'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Sema USLU'ya, Prof. Dr. Özkan ALATAŞ'a, Prof. Dr. Güngör KANBAK'a ve Doç. Dr. Fahrettin AKYÜZ'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Yavuz UZUN

15 Haziran 2021

ÖZET

Vitamin B12 Eksikliği ile Tam Kan Sayımı Parametreleri Arasındaki İlişkilerin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada tam kan ve retikülosit sayımı sonucu elde edilen veriler ile vitamin B12 eksikliği arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem: Araştırmaya, retrospektif olarak Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda MCV'si 90 fL ve folik asit düzeyi 4.6 ng/mL'nin üzerinde saptanan gönüllüler çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin, vitamin B12 ve tam kan sayımı sonuçları kaydedildi ve retikülosit sayımı yapıldı. Gönüllüler vitamin B12 ve hemoglobin düzeylerine göre gruplandırıldı.

Bulgular: Gönüllüler vitamin B12 düzeyi göre yapılan grupta gruplar arasında RBC, HCT, MCH, MCHC, WBC, RET-HE, RBC-HE ve Delta-HE parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (sırasıyla $P=0,004$, $P=0,008$, $P=0,001$, $P=0,002$, $P=0,029$, $P<0,001$, $P=0,005$, $P=0,008$). Vitamin B12 düzeyi düşük olan grupta, RBC ve HCT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Vitamin B12 düzeyi ile RBC ve HCT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif yönlü korelasyon bulundu. Gönüllüler anemisi olan ve olmayanlar şeklinde gruplandığında, gruplar arası vitamin B12, RBC, HCT, MCV, RDW-SD, RDW-CV, NRBC#, NRBC%, RET%, IRF, LFR, MFR, HFR, Hypo-HE ve Hyper-HE parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulundu. Vitamin B12 düzeyi anemisi olan grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Sonuç: Çalışma sonuçları, Vitamin B12 eksikliği kararında serum vitamin B12 düzeyinin tek başına yeterli olmadığını ve yeni parametrelerin de rutin kullanıma girmesi gerekliliğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Vitamin B12 eksikliği, Tam kan sayımı, Retikülosit sayımı

SUMMARY

Investigation of Relationship Between Vitamin B12 Deficiency with Whole Blood Count Parameters

Aim: In this study, data obtained from whole blood and reticulocyte count with the relationship between vitamin B12 deficiency were aimed.

Method: The research was conducted retrospectively Eskişehir Osmangazi University Health Practice and Research Hospital in Medical Biochemistry Laboratory. MCV was measured above 90 fL and folic acid level above 4.6 ng/ml volunteers identified were included in the study. The results of vitamin B12 and a whole blood count of the volunteers included in the study were recorded and reticulocyte counts were made. Volunteers were grouped according to their vitamin B12 and hemoglobin levels.

Results: A statistically significant difference was found between the groups in terms of RBC, HCT, MCH, MCHC, WBC, RET-HE, RBC-HE and Delta-HE parameters in the grouping of volunteers according to vitamin B12 levels (respectively $P=0,004$, $P=0,008$, $P=0,001$, $P=0,002$, $P=0,029$, $P<0,001$, $P=0,005$, $P=0,008$). In the group with low vitamin B12 levels, RBC and HCT levels were found to be statistically significantly higher. A statistically significant negative correlation was found between vitamin B12 level with RBC and HCT levels. When grouped in the form of volunteers with and without anemia, vitamin B12 between the groups, RBC, HCT, MCV, RDW-SD, RDW-CV, NRBC#, NRBC%, RET%, IRF, LFR, MFR, Hypo-HE and Hyper-HE parameters were found to be statistically significant. In the group with vitamin B12 level anemia was found to be statistically significantly higher.

Conclusion: The results of the study suggest that the serum vitamin B12 level alone is not sufficient in the decision of vitamin B12 deficiency and that new parameters should be used routinely.

Key words: Vitamin B12 deficiency, Whole blood count, Reticulocyte count

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Vitamin B12	
2.1.1. Molekül yapısı ve genel özellikleri.....	2
2.1.2. Vitamin B12'nin sentezi.....	3
2.1.3. Vitamin B12'nin gereksinimi.....	5
2.1.4. Vitamin B12'nin besinsel kaynakları.....	5
2.1.5. Vitamin B12'nin emilimi.....	6
2.1.6. Vitamin B12'nin taşınımı.....	7
2.1.6.1. Transkobalamin 1.....	7
2.1.6.2. Transkobalamin 2.....	8
2.1.7. Vitamin B12'nin fizyolojik önemi ve fonksiyonu.....	8
2.1.7.1. Homosisteinin remetilasyonu.....	8
2.1.7.2. Metilmalonil KoA'nın izomerizasyonu.....	9
2.2. Vitamin B12 Eksikliği.....	10
2.2.1. Megaloblastik anemi.....	11
2.2.2. Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri.....	16

2.2.2.1. Yetersiz alım.....	17
2.2.2.2. Emiliminde bozuklukları.....	17
2.2.2.3. Transport bozuklukları.....	18
2.2.2.4. Sentez bozuklukları.....	18
2.2.2.5. İlaçlar.....	18
2.2.3. Vitamin B12 metabolizmasının değerlendirilmesinde	
kullanılan testler.....	19
2.2.3.1. Serum vitamin B12 düzeyi.....	19
2.2.3.2. Serum homosistein düzeyi.....	20
2.2.3.3. Serum MMA ve idrar MMA düzeyleri.....	20
2.2.3.4. Serum holotranskobalamin ölçümü.....	20
2.3. Tam Kan Sayımı.....	20
2.3.1. Tam kan sayım ve ölçüm tarihçesi.....	21
2.3.2. Tam kan sayımı cihazlarında kullanılan yöntemler.....	21
2.3.2.1. Empedans yöntemi.....	21
2.3.2.2. Optik scatter yöntemi (Işık saçılması yöntemi).....	22
2.3.2.3. Radyo dalgaları yöntemi.....	23
2.3.3. Tam kan sayımı parametreleri.....	23
2.3.3.1. Eritrosit sayısı ve eritrositle ilişkili parametreler.....	23
2.3.3.2. Lökosit sayısı ve lökosit alt birimleri.....	27
2.3.3.3. Trombosit sayısı ve trombosit indeksleri.....	28
2.3.3.4. Tam kan sayımında kullanılan yeni parametreler.....	29

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	33
3.1. Araştırmanın örnekleme.....	33
3.2. Yöntem.....	34
3.2.1. Vitamin B12 ölçüm metodu.....	34
3.2.2. Tam kan ve retikülosit sayımı.....	35
3.3. İstatistiksel analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR.....	50

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Günlük Alınması Tavsiye Edilen Vitamin B12 Miktarları.....	5
Tablo 2.2. Anemilerin Ortalama Eritrosit Hacmine Göre Sınıflandırılması.....	12
Tablo 2.3. Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri.....	16
Tablo 2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısında Kullanılan Laboratuvar Testleri.....	19
Tablo 2.5. Anemi Tanısında Yaşa ve Cinsiyete göre Hemogloblin.....	26
Tablo 2.6. Lökosit ve Alt Birimlerinin Referans Aralıkları.....	27
Tablo 2.7. Trombosit ve İndekslerinin Referans Aralıkları.....	29
Tablo 4.1. Vitamin B12 Düzeylerine Göre Grupların Demografik Bilgileri ve Laboratuvar Test Sonuçları.....	38
Tablo 4.2. Vitamin B12 Eksikliğinde Araştırılan Eritrosit Parametrelerinin Korelasyonları.....	41
Tablo 4.3. Vitamin B12 Eksikliğinde Araştırılan Trombosit ve Lökosit Parametrelerinin Korelasyonları.....	42
Tablo 4.4. Vitamin B12 Eksikliğinde Araştırılan Retikülosit Parametrelerinin Korelasyonu.....	43
Tablo 4.5. Hb Düzeylerine Göre Grupların Demografik Bilgileri ve Laboratuvar Test Sonuçları.....	44

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Vitamin B12 Yapısı.....	3
Şekil 2.2. Vitamin B12 Sentezin Basamakları.....	4
Şekil 2.3. Vitamin B12'nin Emilimi.....	7
Şekil 2.4. Metiyonin Sentaz Enziminin Vitamin B12 Metabolizmasındaki Rolü.....	9
Şekil 2.5. Metilmalonil KoA Mutaz Enziminin Vitamin B12 Metabolizmasındaki Rolü.....	10
Şekil 2.6. Kemik İliği İncelemesinde Görülen Dev Metamyelosit.....	12
Şekil 2.7. Kemik İliği İncelemesinde Görülen Dev Bant Yapısı.....	13
Şekil 2.8. Kemik iliği İncelemesinde Görülen Hipersellülarite.....	13
Şekil 2.9. Kemik iliği İncelemesinde Görülen Hipersegmentasyon.....	13
Şekil 2.10. Periferik Yaymada Görülen Makroovalist.....	14
Şekil 2.11. Periferik Yaymada Görülen Anizositoz ve Poikilositoz.....	14
Şekil 2.12. Periferik Yaymada Görülen Bazofilik Noktalanma.....	14
Şekil 2.13. Periferik Yaymada Görülen Gözyaşı Hücresi.....	15
Şekil 2.14. Periferik Yaymada Görülen Howell Jolly Cisimciği.....	15
Şekil 2.15. Periferik Yaymada Görülen Cabot Halkası.....	15
Şekil 2.16. Periferik Yaymada Görülen Hipersegmente Nötrofil.....	16
Şekil 2.17. Empedans Yöntemi ile Tam Kan Sayımı Çalışma Yöntemi.....	22
Şekil 2.18. Trombosit ve Eritrosit Histogramı.....	22
Şekil 2.19. Optik Scatter Yöntemi ile Tam Kan Sayımı Çalışma Yöntemi.....	23
Şekil 2.20. RDW'nin İki Farklı Kullanım Şeklinin Histogramda Görülmesi.....	25
Şekil 2.21. RBC Histogramında MicroR ve MacroR.....	29
Şekil 2.22. Retikülosit Kanalındaki RET-He ve RBC-He.....	30
Şekil 2.23. RET Saçılım Grafîği.....	31
Şekil 2.24. Retikülosit Kanalındaki Hypo-He ve Hyper-He.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
DELTA-HE	: Delta Hemoblobin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Hb	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
HFR	: Yüksek Floresan Oranı
HYPER-HE	: Hiperkromik Eritrosit Yüzdesi
HYPO-HE	: Hipokromik Eritrosit Yüzdesi
IG	: Olgunlaşmamış Granülosit
IRF	: Olgunlaşmamış Retikülosit Fraksiyonu
LFR	: Düşük Floresan Oranı
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoblobini
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoblobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MFR	: Orta Floresan Oranı
MPV	: Ortalama Trombosit Hacmi
NRBC	: Çekirdekli Kırmızı Kan Hücresi
PCT	: Plateletkrit
PDW	: Trombosit Dağılım Genişliği
P-LCR	: Trombosit-Büyük Hücre Oranı
PLT	: Trombosit
RBC	: Kırmızı Kan Hücresi
RBC-HE	: Eritrosit Hemoglobin Eşdeğeri
RDW-CV	: Eritrosit Dağılım Genişliği-Katsayı Varyasyon
RDW-SD	: Eritrosit Dağılım Genişliği-Standart Sapma
RET	: Retikülosit
RET-HE	: Retikülosit Hemoblobin Eşdeğeri
RNA	: Ribonükleik Asit
THD	: Türk Hematoloji Derneği
tRNA	: Taşıyıcı Ribonükleik Asit
WBC	: Beyaz Kan Hücresi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vitamin B12 organizmada önemli reaksiyonlarda görev alan bir vitamindir. Eksikliği megaloblastik anemi gibi hematolojik sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Doğru tanısı tespit edilemediği takdirde vitamin B12 eksikliğinin ilerlemesi sonucu geri dönüşü olmayan hasarlar da görülmektedir. Tüm dünyada yaygın olması ile birlikte ülkemizde de insanların yaklaşık %30'unda vitamin B12 eksikliğinin görülmesinden dolayı serum vitamin B12 düzeyleri oldukça önemlidir.

Tanısında standart test olarak kabul edilen serum vitamin B12 düzeyi ölçülmektedir. Bu yöntem ile vitamin B12'nin bütün formları ölçülmektedir. Hücre içindeki aktif formlarını ölçemediğinden serum vitamin B12 düzeyleri tanısında özgüllüğü de yüksek değildir. Bu nedenle serum vitamin B12 düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Bu çalışmada ise tam kan sayımı ve retikülosit sayımı düzeylerinin, vitamin B12 eksikliği arasındaki ilişkileri araştırılmak istenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vitamin B12

Kobalamin olarak da bilinen vitamin B12 suda çözünen bir vitamindir. Organizmada bağışıklık sisteminde, protein metabolizmasında, sinir sisteminde ve kemik iliğinde kan hücrelerinin yapımında görevlidir (Santos vd., 2018; Samur, 2018).

1948 yılında Rickets ve arkadaşları karaciğerden anemi hastalığını tedavi edici etki sağlayan bir madde izole etmiştir. Bu kırmızı renkli kristal maddeye antianemik vitamin veya vitamin B12 adı verilmiştir. Hodgkin, aynı yıl B12 vitamininin moleküler yapısını tanımlayarak Nobel tıp ve fizyoloji ödülünü kazanmıştır (Rickets vd., 1948).

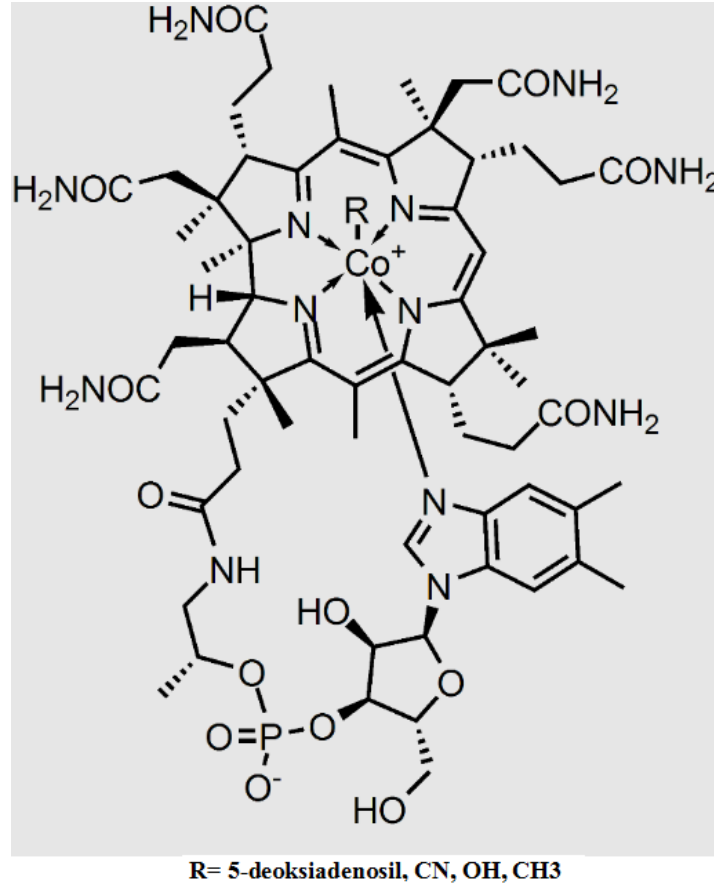
2.1.1. Molekül Yapısı ve Genel Özellikleri

Vitamin B12, korrin halka sistemine sahip olup yapısında kobalt iyonu içerdiğinden metalloprotein özelliği olan tek vitamindir (Yılmaz, 2019). Vitamin B12'nin bu yapısı porfirin halkası ile oldukça benzemekle birlikte korrin yapısındaki dört pirol halkasının doğrudan birbiri ile bağlı olması ile porfirin yapısından ayrılmaktadır (Carmel vd., 2015).

Vitamin B12 yapısında bulunan R gruplarına göre farklı formlara sahiptir. R grubunun metil grubu (CH_3) olması ile metilkobalamin, 5'-deoksiadenozin grubu olması ile deoksiadenozilkobalamin oluşmaktadır. Bu iki form vitamin B12'ye koenzim fonksiyonu kazandırmaktadır. Literatürde vitamin B12 terimi yaygın olarak tercih edilse de kobalamin terimi insanlardaki koenzim fonksiyonuna sahip tüm korrinleri ifade ettiğinden, bu şekilde isimlendirilmesi daha spesifiktir (Ferrier, 2019). Vitamin B12'nin dolaşımda görülen formu metilkobalamin, hücre içinde görülen formu ise 5'-deoksiadenozilkobalamin'dir (Güngören, 2008).

Vitamin B12'nin R grubu hidroksil grubu (OH^-) olursa hidroksikobalamin, glutatyonil (GS) grubu olursa glutatyonilkobalamin ve siyanid (CN) grubu olursa siyanokobalamin olarak isimlendirilir. Oluşan bu yapılar aynı zamanda vitamin B12'nin inaktif formlarıdır (Şekil 2.1.) (Güngören, 2008; Özkanay, 2020). Bu formlar vitamin B12'nin aktif formları için prekürsör görevi görmektedirler.

Siyanokobalamin grupta yer alan bileşikler arasında en dayanıklı formu olduğundan genellikle ticari B12 preparatların yapısını oluşturmaktadır (Güngören, 2008).



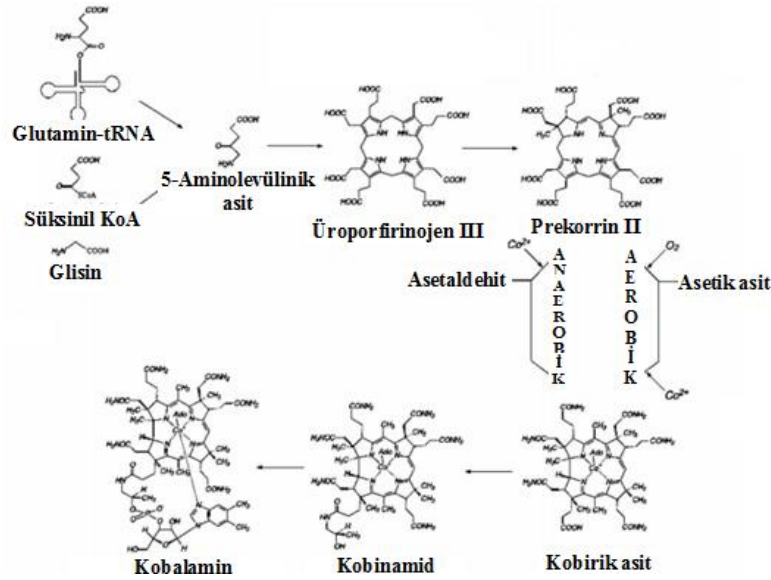
Şekil 2.1. Vitamin B12 Yapısı (Özkanay, 2020)

2.1.2 Vitamin B12'nin Sentezi

Vitamin B12 sentezi, anaerobik veya aerobik biyosentetik yollar ile gerçekleşmektedir. Anaerobik yolda; *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas shermanii* ve *Salmonella typhimurium*, aerobik yolda ise *Pseudomonas denitrificans*, vitamin B12 sentezini gerçekleştirmektedir (Goraya vd., 2015; Çuhadar, 2021).

Vitamin B12 sentezi, glutamat'ın C-5 iskeletinden başlamaktadır. İlk aşamada tRNA'ya bağlı glutamat, glutamil-tRNA redüktaz enzimi ile glutamat-1-semialdehit'e indirgenir. Glutamat-1-semialdehit'in yapısındaki aldehit, molekül içindeki C-1'e geçmesiyle süksinil KoA ve glisin ile tetrapirölün ilk prekürsörü 5-aminolevulinik asit'i oluşturmaktadır. Daha sonra iki molekül 5-aminolevulinik asitin kondansasyonu ile porfobilinojen sentezlenmektedir (Goraya vd., 2015). Dört tane porfobilinojenin pirol halkalarının polimerleşmesi ile ilk siklik ara ürün,

üroporfirinojen III oluşturulur. Üroporfirinojen III'de C-2 ve C-7'de metilasyona uğrayarak koenzim sentezinin son ortak ürünü prekorrin-2'yi meydana getirmektedir (Goraya vd., 2015). Prekorrin-2 oluşum basamağından sonra ise vitamin B12 sentezi iki yola ayrılmaktadır. Anaerobik yolda ATP gereksinimi olmadan kobalt şelasyonu gerçekleşirken, aerobik yolda bu şelasyon için dokuz ön basamak ve ATP gereksinimi söz konusudur. Prekorrin-2'nin 20. karbon atomu anaerobik yolda asetaldehit olarak halkadan uzaklaştırılırken, aerobik yolda asetik asit olarak uzaklaştırılır ve kobirik asit sentezi gerçekleştirilir. Sentezlenen kobirik asit, yapısındaki D halkasının propiyonik asit yan zincirine bir aminopropanol kolunun bağlanmasıyla kobinamid'e dönüşmektedir (Goraya vd., 2015; Çuhadar, 2021). Vitamin B12 sentezinin son adımında ise dimetil benzimidazol (DMB),kobinamid'e bağlanarak vitamin B12'yi sentezlemektedir (Şekil 2.2.) (Goraya vd., 2015).



Şekil 2.2. Vitamin B12 Sentezin Basamakları (Goraya vd., 2015)

İnsanlarda ilgili genler bulunmadığından vitamin B12 sentezi gerçekleşmemektedir (Murray vd., 2009; Antony, 2018). Kolon bakterileri tarafından vitamin B12 sentezi olsa da bu sentezin emilim bölgesinin distalinde gerçekleşmesi ve yetersiz düzeylerde olması nedeniyle organizmanın ihtiyaç duyduğu miktarlar karşılanamamaktadır (Güngören, 2008). Bu nedenle organizmada önemli fonksiyonlara sahip olan vitamin B12'nin dışarıdan besinler ile alınması zorunludur yani vitamin B12 esansiyel bir vitamindir.

2.1.3. Vitamin B12'nin Gereksinimi

Erişkinlerde günlük alınması gereken vitamin B12 miktarı 2-2.5 mikrogram (μg) arasındadır. Bu miktar yaşa ve özel durumlara göre farklılık göstermektedir. Örneğin günlük gereksinim gebelikte 2,6 $\mu\text{g/gün}$ iken emzirme döneminde 2,8 $\mu\text{g/gün}$ 'e kadar çıkmaktadır (Tablo 2.1.) (Elçi, 2012; Pehlivan, 2020).

Tablo 2.1. Günlük Alınması Tavsiye Edilen Vitamin B12 Miktarları. (Pehlivan, 2020)

Yaş	Mikrogram (mcg) /gün
0-6 Ay	0,4
7-12 Ay	0,5
1-3 Yaş	0,9
4-8 Yaş	1,2
9-13 Yaş	1,8
14-18 Yaş	2
Erişkin	2,4
Gebelik	2,6
Emzirme Dönemi	2,8

2.1.4. Vitamin B12'nin Besinsel Kaynakları

Vitamin B12 için en önemli kaynaklar kırmızı et, karaciğer, balık eti, tavuk eti, süt ürünleri ve yumurtadır. Bu gıdaların pişirilmesi ile içeriğindeki vitamin B12 miktarının %60'a kadar azaldığı bildirilmiştir (Ali, 2002).

2.1.5. Vitamin B12'nin Emilimi

Vitamin B12'nin emilimi pasif ve aktif mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Ağızdan alınan vitamin B12'nin ortalama % 70'i emilmekte (Elçi, 2012), bu emilimin de sadece % 1'i pasif mekanizmalar ile gerçekleşmektedir.

Pasif emiliminde suprafizyolojik miktarlarda (500 µg/gün) ince bağırsağa gelen vitamin B12, jejunum ve ileumdan direk olarak emilmektedir (Miller, 2003).

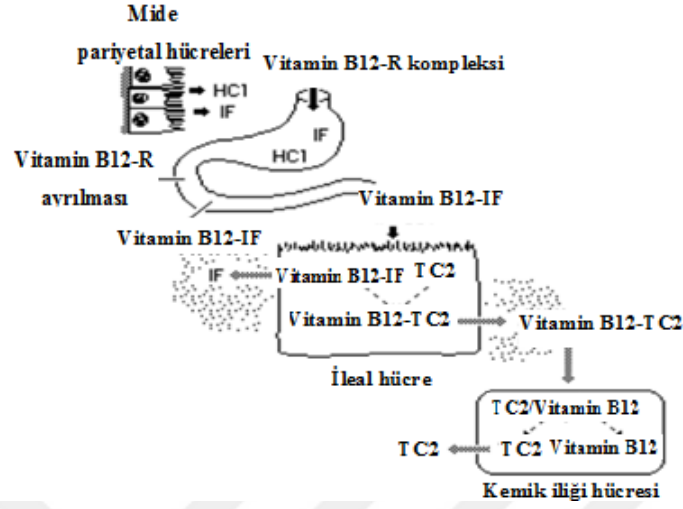
İnce bağırsağın ileum kısmında gerçekleşen ana emilim yolu olan, aktif emilim daha kompleks bir yoldur. Vitamin B12'nin fizyolojik alımlarında emilim bu yolla gerçekleşmektedir. Aktif emilim, mide pariyetal hücrelerinden salgılanan intrinsek faktöre (İF) bağlıdır (Ali, 2002; Dündar, 2003).

Hayvansal gıdalardaki proteine bağlı olarak taşınan vitamin B12, midede bulunan asitler (hidroklorik asit, gastrik asit) ve proteolitik enzimler tarafından serbest hale gelerek aktif emilim başlamaktadır (Miller, 2003; Erduran vd., 2011). Serbest hale gelen vitamin B12, mide ve tükürük bezindeki pariyetal hücrelerden salgılanan glikoprotein yapısındaki R proteini (tükürük haptokorrini)'ne bağlanmaktadır. R proteini, vitamin B12 ile bağlanarak İF salınımını uyarır. R proteini ayrıca vitamin B12'nin intestinal bakteriler tarafından kullanılmasına engel olmaktadır. Oluşan vitamin B12-R proteini kompleksi daha sonra duodenumda tripsin başta olmak üzere pankreatik enzimler tarafından R proteininden ayrılır (Babior vd., 2003; Lanzkowsky, 2016). R proteininden ayrılarak tekrar serbest hale gelen vitamin B12, bu sefer de İF'e bağlanır (Lanzkowsky, 2016). Vitamin B12-İF kompleksi, kalsiyum varlığında ve nötral pH ortamında enterositlerde bulunan reseptörlere bağlanarak endositozla hücre içine alınmaktadır. Distal ileumda bulunan bu reseptörlerin en önemlisi kübilin'dir. (Lanzkowsky, 2016).

Reseptöre bağlı vitamin B12 hücre içine alındıktan sonra İF'ten ayrılmaktadır. Reseptozom olarak adlandırılan asidik veziküllerde transkobalamin 2 (TC 2)'ye bağlanmaktadır. Transkobalamin 2 taşıyıcı proteini ile vitamin B12 önce mukozal kapillere ve daha sonra portal vene geçmekte böylelikle karaciğere taşınmaktadır (Şekil 2.3.) (Glader, 2004; Koç, 2013; Lanzkowsky, 2016).

B vitaminlerin aksine vitamin B12 vücutta depolanır ve gerektiğinde dolaşıma salınır (Güngören, 2008). B12 vitamini depolarının %90'ı karaciğerde, az miktarı da böbrek, dalak, kalp ve beyindedir (Yılmaz, 2019). Yetişkinlerde ve büyük çocuklarda

depolanan vitamin B12 düzeyi yaklaşık 4 yıllık ihtiyacı karşılayacak miktardadır (Ali, 2002).



Şekil 2.3. Vitamin B12'nin Emilimi (Koç, 2017)

2.1.6. Vitamin B12'nin taşınımı

Vitamin B12'nin kandaki taşınmasında iki protein görev almaktadır. Bu taşıyıcı proteinler transkobalamin 1 ve transkobalamin 2'dir (Fyfe vd., 2004).

2.1.6.1. Transkobalamin 1

Haptokorrin olarak da isimlendirilen transkobalamin 1, glikolize olmuş bir taşıyıcı proteindir (Carmel vd., 2015). Kobalaminin hem emiliminde hem de dolaşımda taşınmasında rol alır. Dolaşımdaki vitamin B12'nin %75-95'i transkobalamin 1'e bağlanmaktadır. Transkobalamin 1, vitamin B12 formlarından sadece metilkobalamini bağlayabilmektedir (Dolu, 2017). Transkobalamin 2'ye göre afinitesi oldukça yüksek olsa da hücre yüzeyinde spesifik reseptörleri olmadığından vitamin B12-transkobalamin 1 kompleksi hücre içine girememektedir (McCaddon vd., 2003; Nasreddine vd., 2006; Carmel vd., 2015).

Transkobalamin 1, esas olarak granülositlerden ve az miktarda epitelyal ve duktal hücrelerden sentezlenmektedir (Hardlei vd., 2009; Lanzkowsky, 2016). Kronik myeloid lösemi durumunda vitamin B12'nin yüksek seviyelerde ölçülmesinin nedeni artan transkobalamin 1 miktarıdır (Lanzkowsky, 2016).

2.1.6.2. Transkobalamin 2

Dolaşımdaki vitamin B12'nin temel taşıyıcı proteindir (Miller vd., 2006). Hepatosit, endotel ve enterositler tarafından sentezlenmektedir (Pehlivan, 2020). İnce bağırsaktaki ve depolanmış vitamin B12'yi dokulara taşıyan glikolize olmamış transkobalamin 2, plazma dışında beyin omurilik sıvısı ve seminel sıvıda da bulunmaktadır (Miller vd., 2006; Dolu, 2017). Dolaşımda, transkobalamin 2'ye vitamin B12'nin metilkobalamin ve adenozykobalamin formlarının her ikisi de bağlanmaktadır (Dolu, 2017). Transkobalamin 2'ye vitamin B12 bağlanması durumunda, vitamin B12-transkobalamin 2 kompleksi oluşmakta, oluşan bu komplekse, holotranskobalamin (Holo-TC) denilmektedir. Holotranskobalamin, metabolik olarak aktif olan vitamin B12 formudur (Chanarin, 2000).

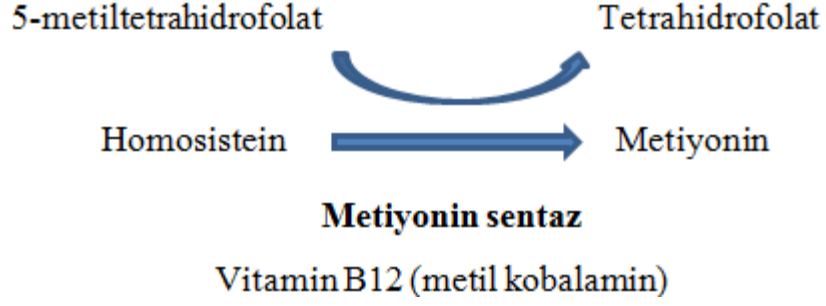
Transkobalamin 2, dolaşımdaki vitamin B12'nin yalnızca %5-25'lik kısmını bağlamaktadır (Chanarin, 2000). Hücre yüzeyinde bulunan reseptörleri ile etkileşime girerek düşük konsantrasyonlardaki vitamin B12'yi bile hücre içine taşımaktadır (Dolu, 2017).

2.1.7. Vitamin B12'nin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonu

Vitamin B12, insan vücudunda görevli iki önemli enzim reaksiyonu için temel koenzimdir (Nielsen vd., 2012). Bu reaksiyonlardan birincisi homosisteinin remetilasyonu, ikincisi ise metilmalonil KoA'nın izomerizasyonudur (Çağatay vd., 2004).

2.1.7.1. Homosisteinin Remetilasyonu

Metiyonin sentaz enzimi, homosisteini sinir sisteminin bütünlüğünün sağlanmasında büyük öneme sahip metiyonine dönüştürmektedir (Wong, 2015). Bu reaksiyonda vitamin B12'nin sitoplazmada bulunan formu metilkobalamin koenzim olarak görev yapmaktadır (Şekil 2.4.) (Olteanu vd., 2001; Çağatay vd., 2004).



Şekil 2.4. Metiyonin Sentaz Enziminin Vitamin B12 Metabolizmasındaki Rolü
(Çağatay vd., 2004)

Metiyonin, sentezlendikten sonra adenozeillenerek S-adenozilmetiyonin (SAM)'e dönüşmektedir. SAM ise transmetilasyon reaksiyonları (DNA, RNA, lipid ve nörotransmitter metilasyonu), miyelin sentezi ve nörotransmitter regülasyonunda görevlidir (Clarke vd., 2001; Issac vd., 2015).

Bu reaksiyon aynı zamanda vitamin B12 ile folatın kesiştiği noktadır (Olteanu vd., 2001) ve reaksiyonunda metil vericisi olan 5-metiltetrahidrofolat (5-MTHF)'tan tetrahidrofolat (THF) sentezlenmektedir (Rasmussen vd., 2001). THF metil transferi ile DNA sentezinde görev alır (Nielsen vd., 2012).

2.1.7.2. Metilmalonil Koa'nın İzomerizasyonu

Metilmalonil Koa'nın izomerizasyonu ve süksinil Koa'ya dönüşümü mitokondride metilmalonil Koa mutaz enzimi ile gerçekleşmekte (Şekil 2.5.) (Ferrier, 2017) ve bu reaksiyonda vitamin B12'nin mitokondride bulunan formu 5'-deoksiadenozil kobalamin görev almaktadır (Leal, 2004). Oluşan süksinil Koa ise Krebs döngüsüne katılarak, enerji üretimi ile yağ ve protein ihtiyacının karşılanmasında görev almaktadır (Wong, 2015).



Metilmalonil CoA mutaz

Vitamin B12 (deoksiadenozil kobalamin)

Şekil 2.5.Metilmalonil KoA Mutaz Enziminin Vitamin B12 Metabolizmasındaki Rolü (Ferrier, 2017)

2.2. Vitamin B12 Eksikliği

Vitamin B12, vücutta önemli sistemlerde rol alan temel vitaminlerdendir. İki önemli enzimin koenzimi görevindedir. Eksikliği durumunda, hematolojik, nörolojik, gastrointestinal ve psikiyatrik bozukluklar görülmektedir (Boushey vd., 1995; Syed vd., 2013).

Türkiye, vitamin B12'nin yetersiz alındığı ülkeler arasında yer almaktadır. Kadınlardaki B12 vitamin eksikliği erkeklere göre üç kat daha fazla görülmektedir (TÜBER, 2015). Ülkemizde görülen vitamin B12 eksikliğinin en önemli nedenleri hayvansal kaynaklı diyetin yetersiz alınması ve mide epitel yapısının yaşa bağlı olarak bozulmasıdır.

Eksikliği durumunda halsizlik ve nörolojik dejenerasyona bağlı elde ayakta uyuşmalar (parestezi), pozisyon duyularının kaybı ve hematolojik bozukluklar, unutkanlık, kalp çarpıntısı, güçsüzlük, dikkat eksikliği, üşüme, yorgunluk, dil üzerinde şişme, aft, saç dökülmesi ve kilo kaybı görülmektedir (Graner, 1985).

Nörolojik bulgular, vitamin B12 eksikliği olan hastaların % 90'ında görülmektedir. Vitamin B12 eksikliğinde, yeterli metiyonin sentezi olmadığından SAM eksikliği görülmekte, aynı zamanda doku ve plazmada metilmalonik asit ve homosisteinin birikimi ve bunlara bağlı olarak sinir sistemi hasarı ve nörolojik bulgular görülmektedir (Çağatay vd., 2004). Ayrıca DNA ve fosfolipid sentezinin bozulmasının da nörolojik semptomlara neden olduğu ileri sürülmüştür (Sponne vd., 2000).

2.2.1. Megaloblastik Anemi

Vitamin B12 eksikliğine bağlı hematolojik bozuklukların en önemlisi megaloblastik anemidir. Dünyanın her bölgesinde görülmesi ve yaşlanma ile birlikte artışı önemini daha da arttırmaktadır.

Metiyonin sentaz, homosistein'den metiyonin'in sentezi dışında aynı zamanda 5-metiltetrahidrofolat'tan da tetrahidrofolat sentezini katalize etmektedir. Tetrahidrofolat, DNA yapısında bulunan bazların sentezindeki anahtar moleküllerindendir. Tek karbon vericisi rolündedir. Vitamin B12 ve folat eksikliği durumunda, pürin ve pirimidin bazlarının sentezi için gerekli tetrahidrofolat oluşamamaktadır. DNA sentezinde meydana gelen bu defekt nedeniyle kan ve kemik iliği hücrelerinde eritroid serideki öncül hücrelerin tam olarak olgunlaşmadığı, morfolojik anormalliklerin görüldüğü megaloblastik anemi gelişmektedir (Tablo 2.7.) (Snow, 1999; Carmel, 2000; Oski ,2003; Hasanoğlu vd., 2010).

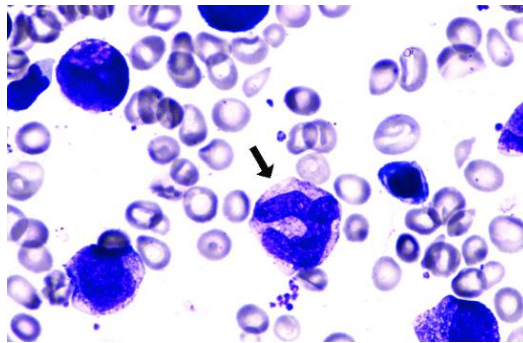
Morfolojik olarak anemiler, ortalama eritrosit hacmi (MCV) değerlerine göre mikrositik, normositik ve makrositik olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. MCV değeri 80 femtolitre (fL) altı mikrositik, 80-100 fL arası normositik ve 100 fL üstü makrositik anemi olarak bilinmektedir (Tablo 2.2.) (Oski, 2003). Megaloblastik anemide eritroid seri öncül hücrelerin DNA içeriği azalsa da RNA içerikleri artmıştır. Bu nedenle eritrosit öncü hücreleri eritropoezin her evresinde normalden daha büyük görünüm kazanır ve megaloblastik anemi morfolojik olarak makrositik anemi grubunda yer alır.

Eritrositlerin çekirdek ve sitoplazma olgunlaşmaları farklı zamanlarda gerçekleşmektedir. Çekirdek gelişmesi bir süre sonra dururken sitoplazma gelişiminin devam etmesi, çekirdek/sitoplazma oranını azalmaktadır. Kromatinlerin normalden daha gevşek ve dağılmış olması da megaloblastik aneminin spesifik özelliğidir (Benhrman, 2004; Barik, 2016).

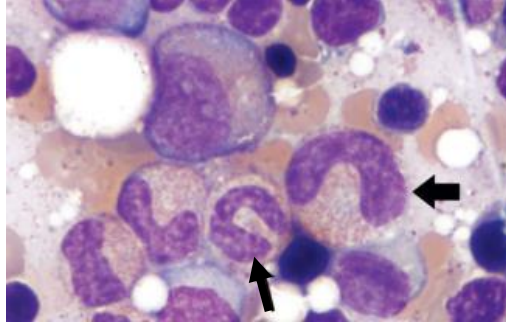
Tablo 2.2. Anemilerin Ortalama Eritrosit Hacmine Göre Sınıflandırılması (Oski, 2003; Atamer, 2004; Schrier, 2018).

Mikrositik anemiler (MCV <80)	Normositik anemiler	Makrositik anemiler (MCV >100)
Demir eksikliği anemisi	Konjenital hemolitik anemi	Megaloblastik anemi -Vitamin B12 eksikliği - Folat eksikliği - Myelodisplastik sendrom
Kronik hastalık anemisi	Kazanılmış hemolitik anemi	
Kronik kurşun zehirlenmesi	Böbrek yetmezliği	Nonmegaloblastik anemi -Hemolitik anemi -Akut kan kaybı -Aplastik anemi -Akut lösemi -Gebelik
Sideroblastik anemi	Akut kan kaybı	
Talasemi	Hemoliz	
Bakır eksikliği	Dalakta göllenme	
Alkol kullanımı	Hipotiroidizm	

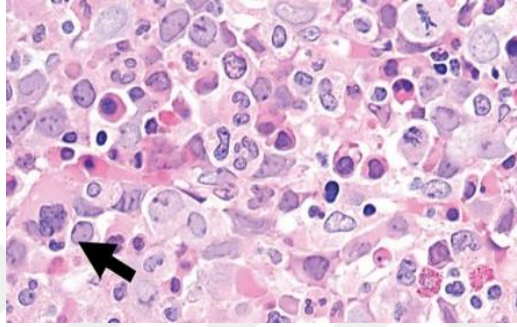
Kemik iliği incelemesinde; dev metamyelosit (Şekil 2.6.) (Wong vd., 2008), band yapıları (Şekil 2.7.) (Carter vd., 2016), eritroid seri hücrelerinde hiperselülerite (Şekil 2.8.) (Daniel vd., 2020) ve megakaryosit çekirdeklerinde görülen hipersegmentasyon (Şekil 2.9.) (Ratnakar, 2013) megaloblastik anemiye işaret etmektedir.



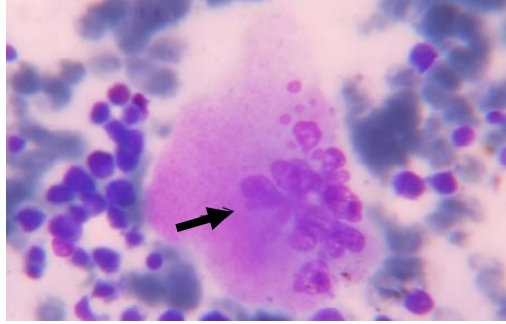
Şekil 2.6. Kemik İliği İncelemesinde Görülen Dev Metamyelosit (Wong vd., 2008)



Şekil 2.7.Kemik iliği İncelemesinde Görülen Dev Bant Yapısı (Carter vd., 2016)

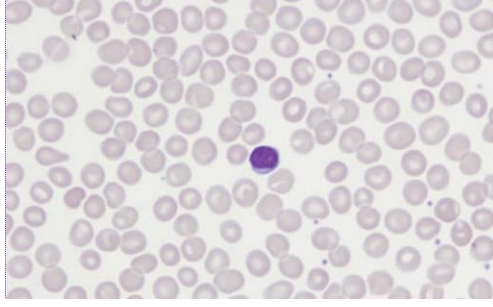


Şekil 2.8.Kemik iliği İncelemesinde Görülen Hipersellülarite (Daniel vd., 2020)



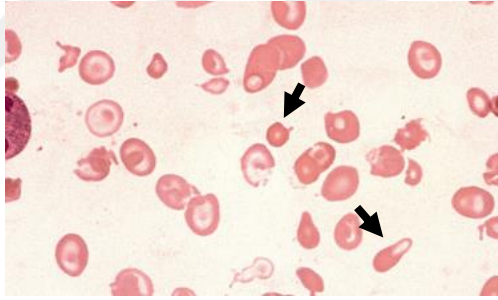
Şekil 2.9.Kemik iliği İncelemesinde Görülen Hipersegmentasyon (Ratnakar, 2013)

Periferik yaymada görülen en erken değişiklik, artan MCV değeri sonucu eritrositlerin makroovalist görünümüdür. Eritrosit yapısının oval bir şekil alması yaşam süresini azaltmaktadır (Şekil 2.10.) (Crayn, 2002; Aslinia vd., 2006).

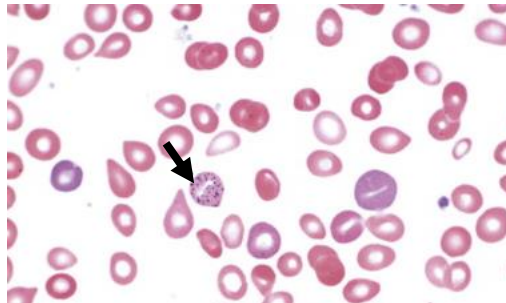


Şekil 2.10.Periferik Yaymada Görülen Makroovalist (Aslinia vd; 2006)

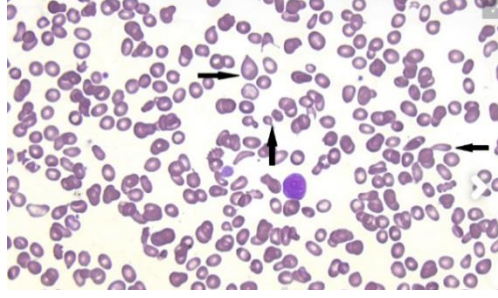
Eritrositte görülen boyut değişikliği (anizositoz) ve anormal şekil bozukluğu (poikilositoz) (Şekil 2.11.) (Bain, 2017), ribozom presipitasyonu sonucu oluşan bazofilik noktalanma (Şekil 2.12.) (Faramarz vd., 2013), gözyaşı hücresi (Şekil 2.13.) (To vd., 2018), DNA artığı olan Howell Jolly cisimciği (Şekil 2.14.) (Scafidi vd., 2021) ve nükleer artık sonucu oluşan cabot halkası (Şekil 2.15.) (Derrick vd., 2018) da periferik yaymada görülmektedir.



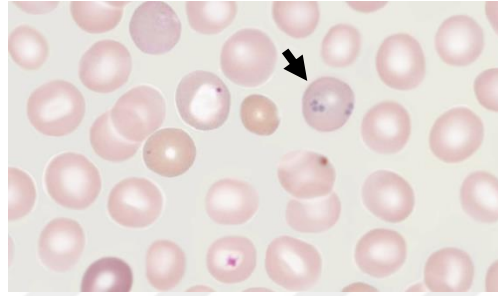
Şekil 2.11.Periferik Yaymada Görülen Anizositoz ve Poikilositoz (Bain, 2017)



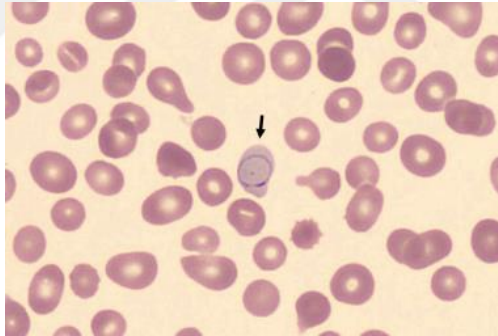
Şekil 2.12.Periferik Yaymada Görülen Bazofilik Noktalanma (Faramarz vd., 2013)



Şekil 2.13.Periferik Yaymada Görülen Gözyaşı Hücresi (To vd., 2018)

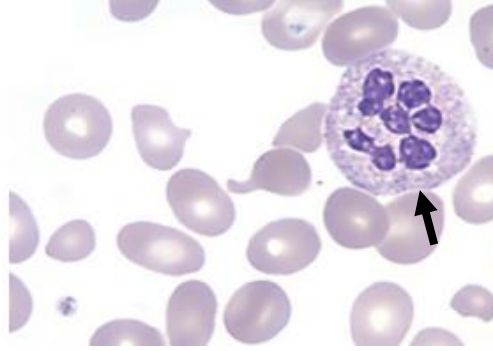


Şekil 2.14.Periferik Yaymada Görülen Howell Jolly Cisimciği (Scafidi vd., 2021)



Şekil 2.15.Periferik Yaymada Görülen Cabot Halkası (Derrick vd., 2018)

Megaloblastik anemide gözlenen hipersegmente nötrofiller de tanıda önemlidir. Ancak kemoterapötik kullanımında, steroid ilaç kullanımında, myelofibrozis ve lösemi hastalarında da hipersegmente nötrofillere rastlanmaktadır (Benhrman, 2004; Daniel vd., 2020). Periferik yaymada 5'ten fazla 5 loblu veya 6 loblu 1 nötrofil görülmesi megaloblastik anemiyi işaret etmektedir (Şekil 2.16.) (Benhrman, 2004; Green, 2017).



Şekil 2.16.Periferik Yaymada Görülen Hipersegmente Nötrofil (Daniel vd., 2020)

2.2.2. Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri

Vitamin B12 eksikliğinin nedenleri 5 ana grupta incelenmektedir (Tablo 2.3.) (Glader, 2004). Bu nedenler; vitamin B12'nin yetersiz alımı, emilim bozukluğu, transport bozukluğu, metabolizma bozukluğu ve kullanılan ilaçlardır (Lanzkowsky, 2016).

Tablo 2.3.Vitamin B12 Eksikliği Nedenleri (Serin vd., 2002; Glader, 2004; Carmel, 2015;Nurlu, 2020)

Yetersiz alımı	Emilim bozuklukları	Transport bozuklukları	Metabolizma bozuklukları	İlaçlar
Malnütrisyon	Pernisiyöz anemi	Transkobalamin 1 eksikliği	Adenozilkobalamin sentezi eksiklikleri	H2 reseptör blokerleri
Vegan diyet	Gastrik atrofi	Transkobalamin 2 eksikliği	Metilkobalamin sentezi eksiklikleri	Proton pompa inhibitörleri
Hafif ovolaktovejetaryen beslenme	Yaşlanma		Kombine adenozil metilkobalamin sentezi eksiklikleri	Metformin
Anne sütü kaynaklı B12 eksikliği	Gastrektomi			Kolşisin
Kötü kontrol edilen fenilketonürik diyet	Bakteri aşırı kolonizasyonu			Neomisin
	Parazitler			Zidovudin
	Kör loop			Kolestramin
	Crohn hastalığı			Etanol
	Whipple hastalığı			
	Zollinger Ellison sendromu			
	Kronik pankreatit			
	Helikobakter pylori enfeksiyonu			

2.2.2.1. Yetersiz alımı

Vitamin B12 alımının günlük 2 mikrogram altında olduğu vegan ve ovolaktovejetaryen diyetlerle beslenen kişilerde vitamin B12 eksikliği sıkça görülmektedir. Bu diyetleri uygulayan annelerin bebekleri de bu durumdan etkilenmektedir (Glader, 2004; Carmel, 2015).

Doğumdan altı ay sonrasına kadar bebeklerde görülen vitamin B12 eksikliğinin en önemli nedeni, anne sütü kaynaklı beslenme yetersizliğidir (Hay vd., 2010; Lanzkowsky, 2016).

Proteinden yoksun fenilketonürik diyet uygulayan kişilerde de kan homosistein ve metilmalonik asit (MMA) değeri yükselir. Kan MMA ve idrar MMA düzeylerinin yükselmesinin nedeninin vitamin B12 eksikliği ile ilişkili olduğu görülmüştür (Serin vd., 2002; Glader, 2004; Carmel, 2015; Vugteven, 2011; Nurlu, 2020).

2.2.2.2. Emiliminde bozukluklar

Vitamin B12 eksikliğinin en sık nedeni intrinsik faktör (İF) eksikliğine bağlı pernisiyöz anemidir. Mide pariyetal hücrelerinin otoimmün hasarı sonucu İF sentezlenemediğinden vitamin B12 Emilimi gerçekleşemez. Bu duruma pernisiyöz anemi denir. Prevalansı yaşla ile birlikte artmaktadır. Gastrektomi sonrası hasar gören mide mukozasında intrinsik faktör salgısı azalmaktadır. Bu durum vitamin B12 Emilimini bozarak vitamin B12 eksikliğine yol açmaktadır (Babior, 1996; Nielsen vd., 2012).

Yaşlılarda malnütrisyon ve vitamin B12'nin absorpsiyon yetersizliği durumlarında da emilim bozukluğu görülmektedir. Diyetle alınan vitamin B12'yi besinlerden ayıran hidroklorik asit ve pepsinin salgılanması yaşlanma ile azalmaktadır (Babior, 1996; Sally vd., 2005; Eren, 2011).

Anatomik anormalliklere (kör loop vb.) bağlı olarak gelişen intestinal staz bağırsaktaki bakterilerin kolonizasyonunu arttırmaktadır. Çoğalan bakteriler ince bağırsakta vitamin B12'yi tüketerek ve *Diplobotrium latum*, *Giardia lamblia* gibi parazitler de ince bağırsakta vitamin B12 ile rekabet ederek vitamin B12 eksikliğine neden olmaktadır (Babior, 1996; Buvat, 2004; Pehlivan, 2020).

Crohn ve Whipple hastalıkları, ileum rezeksiyonu ile distal ileum emilim kapasitesini değiştirerek vitamin B12 eksikliğine neden olmaktadır (Babior, 1996). Zollinger Ellison Sendromu ve kronik pankreatitte ise vitamin B12, intrinsik faktöre daha az bağlanır. Ayrıca oluşan vitamin B12-İF kompleksinin taşınımında da bozukluklar görülmektedir. Bu iki durumda da vitamin B12 emilimi azalması sonucu vitamin B12 eksikliği görülmektedir (Babior, 1996; Pehlivan, 2020).

2.2.2.3. Transport bozuklukları

Transkobalamin 1, dolaşımdaki vitamin B12'nin taşınmasında esas görevli protein olmasına rağmen, vitaminin hücre içine alımında sorumlu olmadığından, eksikliğinde megaloblastik anemi ve nörolojik bulgular gibi klinik tablolar görülmemektedir (Smeltzer vd., 2004).

Transkobalamin 2 ise vitamin B12'nin hücre içine alımında görevli tek proteindir. Transkobalamin 2 eksikliğinde ciddi ölümcül klinik tablolar ortaya çıkmaktadır. Vitamin B12'nin hücrelere taşınımındaki defektlere bağlı olarak ağır anemi, pansitopeni ve ciddi enfeksiyonlar görülmektedir (Glader, 2004).

2.2.2.4. Sentez bozuklukları

CblA, CblB, CblC, CblD, CblE, CblF ve CblG gen mutasyonlarında metilkobalamin ve adenzilkobalamin sentezleri etkilenir. Bu durumlarda megaloblastik anemi dışında homosistinüri ve/veya metilmalonik asidüri izlenmektedir (Lanzkowsky, 2016; Pehlivan, 2020).

2.2.2.5. İlaçlar

H₂ reseptör blokerleri, proton pompa inhibitörleri, metformin, kolşisin, neomisin, zidovudin ve kolestramin gibi ilaçlar ayrıca etanol kullanımı, vitamin B12 eksikliği oluşturmaktadır (Babior, 1996). H₂ reseptör blokerleri ile proton pompa inhibitörleri; mide asiditesini ve intrinsik faktör salgısını azaltarak, metformin; terminal ileumda bulunan kalsiyum bağımlı membran işlevlerini etkileyerek, kolşisin; emilimi sağlayan reseptör fonksiyonlarını bozarak vitamin B12 eksikliğine neden olmaktadır (Stopa vd., 1979; Bahçeci, 2003; Smeltzer vd., 2004; Pehlivan, 2020). Neomisin, zidovudin, kolestramin ve etanol de vitamin B12'nin kullanımını veya emilimini bozar (Pehlivan, 2020).

2.2.3. Vitamin B12 metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan testler

Vitamin B12 eksikliği tanısında; serum vitamin B12, homosistein, holotranskobalamin, serum MMA ve idrar MMA düzeyleri kullanılır (THD, 2011).

Kullanılan bu testlerin kendi aralarında kullanım sıklığı, tanı gücü ve maliyeti Tablo 2.4’de karşılaştırılmıştır (THD, 2011;Yükkaldıran, 2020).

Tablo 2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Tanısında Kullanılan Laboratuvar Testleri (THD, 2011;Yükkaldıran, 2020)

Test	Kullanım sıklığı	Tanıya yardımcılık	Maliyet
Serum vitamin B12	Yüksek	Orta	Ucuz
Serum homosistein	Orta	Yüksek	Orta
Serum MMA	Düşük	Yüksek	Orta
İdrar MMA	Düşük	Yüksek	Orta
Serum holotranskobalamin	Düşük	Çok yüksek	Orta

2.2.3.1. Serum vitamin B12 düzeyi

Vitamin B12 eksikliğinin belirlenmesinde standart testtir (Hvas vd., 2006) ve serum düzeyinin 200 pg/mL’nin altında olması vitamin B12 eksikliği olarak tanımlanır (Baytan vd., 2007).

Serum vitamin B12 ölçümü, metabolik olarak vitamin B12 formlarının tamamını ölçmektedir. Aktif formlarını ölçemediğinden özgüllüğü de yüksek değildir. 100 pg/mL düzeyinin altındaki serum vitamin B12 ölçümlerinde test özgül iken, 100 pg/mL ve üzeri düzeylerdeki serum vitamin B12 ölçümleri için özgül bir test değildir (Kesiktaş vd., 2009), dolayısıyla vitamin düzeyi klinikle paralel olmayabilir (THD, 2011).

Özgüllüğü yüksek olmamasına rağmen, halen vitamin B12 eksikliğinin tanısında evrensel test olarak kabul görmektedir (Carmel vd., 2003). Oral kontraseptif kullanımı gibi bazı durumlarda ise taşıyıcı protein düzeylerinin düşmesinden dolayı serum vitamin B12 düzeyleri düşük ölçülmektedir (THD, 2011).

2.2.3.2. Serum homosistein düzeyi

Serum homosistein ölçümü, vitamin B12 eksikliği tanısının önemli testleri arasındadır (Sinco vd., 2015). Vitamin B12 eksikliği dışında vitamin B6 ve folat eksikliklerinde de yükselmesi tanısal faydasını sınırlamaktadır. Artan serum homosistein düzeyi aynı zamanda yaşlanma, gebelik, hipotiroidi, böbrek fonksiyon bozuklukları ve psikiyatrik bozukluklarla da ilişkilidir (Monsen vd., 2003; Robert vd., 2003; Refsum vd., 2004).

2.2.3.3. Serum MMA ve idrar MMA düzeyleri

Metilmalonil-KoA mutaz aktivitesinin azalmasıyla metilmalonil-KoA, metilmalonil-KoA epimeraz kontrolünde MMA'ya dönüşür. Plazmada biriken MMA daha sonra idrar ile atılır (Allen vd., 1990; Fowler vd., 2008). Vitamin B12 dışında bu metabolizmada başka koenzimin görev almaması, MMA'yı özgül bir biyobelirteç yapmıştır (Klee, 2000).

Serum homosistein, serum MMA ve idrar MMA ölçümlerinin maliyetinin serum vitamin B12 ölçümüne göre daha yüksek olması ve reaktiflerinin kullanım zorlukları vitamin B12 eksikliği tanısında, yeni biyokimyasal tanı parametreleri arayışına neden olmuştur (Snow, 1999).

2.2.3.4. Serum holotranskobalamin ölçümü

Holotranskobalamin, transkobalamin 2 proteinine bağlanmış vitamin B12'yi ifade etmekte (Barbosa vd., 2008) ve ölçümü vitamin B12'nin aktif formunun tespitine imkan vermektedir (THD, 2011). Vitamin B12 eksikliğinde düzeyi 35 pmol/L'nin altına düşmektedir (Şerefhanoglu vd., 2006). Serum holotranskobalamin düzeyinin azalması ise vitamin B12'nin emilim yetersizliğinin yanı sıra transkobalamin 2 protein sentez defektinden de kaynaklanabilmektedir (Metz vd., 1996).

Serum vitamin B12 ölçümüne göre daha yüksek maliyetli olması nedeniyle henüz çok yaygın kullanılan bir tanı testi değildir (THD, 2011; Yükkaldıran, 2020).

2.3. Tam Kan Sayımı

Tam kan sayımı, kanda bulunan hücrelerin sayıları ve oranları hakkında bilgi veren laboratuvar testidir. Kemik incelemesinin dolaylı olarak değerlendirilmesi de

denilmektedir (Mekik, 2021). Klinisyene sağladığı değerli bilgiler ve kolay ulaşılabilir, hızlı, standardize ve nispeten düşük maliyetli bir analiz olması nedeniyle en sık istemi yapılan testler arasındadır (Ünal, 2006; Topçuoğlu, 2018).

2.3.1. Tam kan sayım ve ölçüm tarihçesi

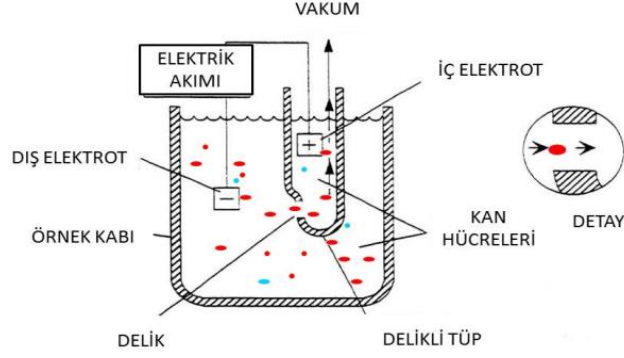
17. yüzyılın başlarında Leeuwenhoek, icat ettiği mikroskop ile kan hücrelerini sayarak basit anlamda ilk kan testini yapmıştır (Ward, 2000). 1932'ye gelindiğinde ise Wintrobe tarafından geliştirilen formüller ile eritrosit (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), hemoglobin ve hematokrit değerlerini hesaplanmıştır (Tracy vd., 2020). 1953'de Wallace Coulter, eritrosit ve trombosit sayısını empedans yöntemi ile ölçmeyi başarmıştır. Daha sonra 1960'da lökosit sayısı, 1970'de trombosit sayısı ve 1980'de eritrosit dağılım genişliği (RDW) ile ortalama trombosit hacmi (MPV) tam kan sayımı parametrelerinin arasında yerini almıştır (Topçuoğlu, 2018).

2.3.2. Tam kan sayımı cihazlarında kullanılan yöntemler

Tam kan sayımı cihazlarında empedans, radyo dalgaları ve optik scatter ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır (Fujimoto, 1999).

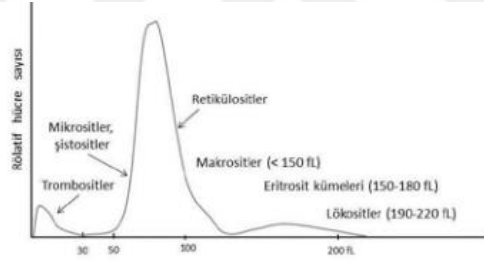
2.3.2.1. Empedans yöntemi

1950'de Wallace Coulter tarafından geliştirilen bir yöntemidir. Normal şartlarda yalıtkan özelliğe sahip kan, iletken izotonik bir sıvı ile seyreltilir. Seyreltilen kan, vakum etkisiyle iki elektrot arasındaki aralıktan geçer. Kan hücreleri bu aralıktan geçerken elektrik direncindeki değişiklikler algılanır. Elektrik direnci yüksekliğinin, hücre büyüklüğü ile doğru orantılı olduğu düşünülerek trombosit ve eritrosit ayrımı yapılır. Lökositlerin de, eritrositlerin hemolizinden sonra aynı prensiple ölçümü gerçekleştirilebilir (Şekil 2.17.) (Kachel, 1982; Falay, 2021).



Şekil 2.17. Empedans Yöntemi ile Tam Kan Sayımı Çalışma Yöntemi (Falay, 2021)

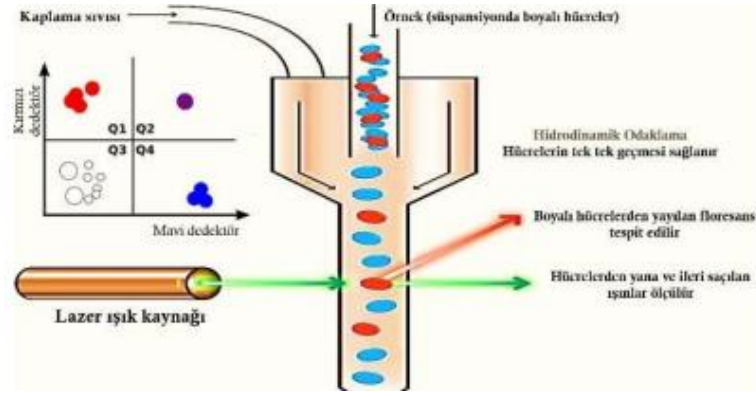
Histogram, x ekseninde hücre hacminin, y ekseninde ise hücre sayısının gösterildiği eğrilerdir. Her hücrenin, iki elektrot arasından geçişi sonucu oluşan sinyaller histogramda görülmektedir. Bu yöntem küçük hacimli trombositler (0-30 fL) ile daha büyük hacimli eritrositlerin (50-300 fL) ayırımında ve bu hücrelerin sayılarının belirlenmesinde kullanılır (Şekil 2.18) (Thom vd., 1970).



Şekil 2.18. Trombosit ve Eritrosit Histogramı (THD, 2011)

2.3.2.2. Işık saçılması yöntemi (Optik scatter yöntemi)

Bu yöntemde hücreler, kanal içerisinden geçerken mercek üzerinden gelen argon iyon lazer ışını, hücrelerin yüzeyine yansyarak ışık saçılmasına sebep olur. Saçılan bu ışın, sistemdeki dedektörler ile algılanarak hücrelerin büyüklük ve içeriğini gösterir. Dar açılı yansıma; hücre büyüklüğünü, geniş açılı yansıma ise hücre yapısını ifade eder. Elde edilen bu bilgiler doğrultusunda scattergram adı verilen grafikler elde edilir (Şekil 2.19.) (Tatsumi, 1985; Daniel, 2004; Zandecki vd., 2007).



Şekil 2.19. Optik Scatter Yöntemi ile Tam Kan Sayımı Çalışma Yöntemi (Daniel, 2004)

2.3.2.3. Radyo dalgaları yöntemi

Empedans yöntemi ile birlikte radyo dalgaları kullanıldığında lökosit sayımı ölçülürken, eş zamanlı olarak da lökositlerin çekirdekleri, çekirdek/sitoplazma oranı ve sitoplazma granülleri hakkında bilgi alınır (Falay, 2021). Kan sayımı cihazları bu yöntemden de yararlanarak lökosit formülünü hesaplamaktadır. Bu yöntem, kısaca VCS teknolojisi denmektedir. V (volüme; hacim), C (conductivity; iletkenlik) ve S (scatter; saçılım) kelimelerinin baş harfleridir. Bu yöntem ile hücrelerin iç yapısı da aydınlatılarak iki boyutlu yapısı belirlenmiş olur (Fujimoto, 1999).

2.3.3. Tam kan sayımı parametreleri

2.3.3.1. Eritrosit sayısı ve eritrosit ilişkili parametreler

Eritrosit, yapısında hemoglobin bulunduran çekirdeksiz kan hücresidir. Akciğer ve dokular arasında oksijen-karbondioksit dengesinin sürdürülmesi ile asit-baz dengesinin devamını sağlar. Ortalama ömrü 120 gündür. Çapı ortalama 5-10 mikron, sayısı ise 4-6 milyon arasında değişmektedir. Bikonkav disk özelliği sayesinde dolaşımında daha kolay hareket edebilme özelliği kazanmıştır (Celkan, 2020).

Eritrosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit dağılım genişliği ve hemoglobin doğrudan kan sayımı cihazları ile ölçülebilirken; ortalama eritrosit hemoglobini, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit sonuçları

birtakım hesaplanmalar sonucunda elde edilir (Prachal, 2010). Anemilerin ayırıcı tanısında eritrosit parametreleri oldukça önemlidir (Brugnara vd., 2015).

Eritrosit sayısı (Red Blood Cell; RBC): Tam kan sayımı cihazında empedans yöntemi kullanılarak ölçülen bir parametredir (Cinaroğlu vd., 2020). RBC referans aralığı kadında $4,0-5,5 \times 10^6/\mu\text{L}$, erkekte ise $4,4-5,5 \times 10^6/\mu\text{L}$ şeklindedir (Fujimoto, 1999; Topçuoğlu, 2018).

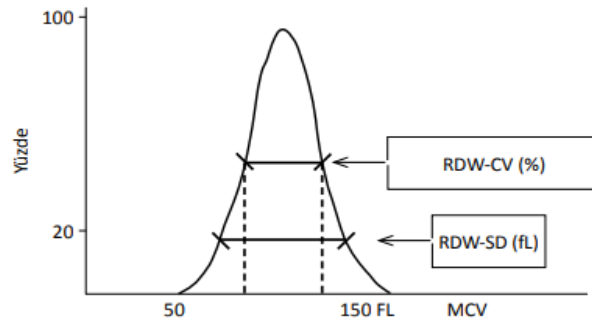
Ortalama Eritrosit Hacmi (Mean Corpuscular Volume; MCV): Eritrositin ortalama hacmini göstermektedir. Klinik ve tanı faydası en yüksek eritrosit indeksidir (Topçuoğlu, 2018). Tam kan sayımı cihazı ile empedans ya da optik scatter yöntemi ile doğrudan ölçülebilmektedir. Wintrobe'nin hesapladığı gibi formülle de manuel olarak hesaplanabilmektedir (Christensen vd., 2009; Lawrence, 2020). Manuel hesaplanmasında hematokrit ve RBC değerlerinden yararlanılır. Kullanılan bu formül, $\text{Hematokrit} \times 10 / \text{Eritrosit sayısı}$ olup birimi femtolitre (fL)'dir. Anemilerin morfolojik sınıflandırılmasında en çok tercih edilen tam kan sayımı parametresidir. MCV'nin referans aralığı 81-94 fL'dir (Fujimoto, 1999; Lanzkowsky, 2016; Celkan, 2020).

Ortalama Eritrosit Hemoglobini (Mean Corpuscular Hemoglobin; MCH): Eritrosit içinde bulunan hemoglobin miktarını ifade etmektedir (Falay, 2021). $\text{Hemoglobin} \times 10 / \text{Eritrosit sayısı}$ formülü ile hesaplanır (Ünal, 2006; Lanzkowsky, 2016). Pikogram (pg) ile ifade edilmektedir (Özet, 2021). MCH değeri MCV ile paralellik gösterdiğinden tanıda benzer fikirler sunmaktadır. MCH'nin referans aralığı 27-33 pg'dır (Oshiro vd., 1990; Topçuoğlu, 2018; Tracy vd., 2020).

Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration; MCHC): Eritrosit içindeki hemoglobinin ortalama konsantrasyonunu gösterir (Özet, 2021). Eritrosit büyüklüğü değişse de bulundurduğu hemoglobin miktarı % 30-35 aralığındadır. Bu nedenle MCHC değeri, tam kan sayımı cihazında kontrol parametresi olarak kullanılmaktadır (Tracy vd., 2020; Falay, 2021). Otomatik ölçümde MCHC hesaplanırken RBC, hemoglobin ve MCV değerleri, manuel hesaplamada ise hemoglobin ve hematokrit değerleri

kullanılmakta ve Hemoglobin x 100 / Hematokrit şeklinde hesaplanmaktadır. MCHC'nin referans aralığı % 32-36'dır (Oshiro vd., 1990; Lanzkowsky, 2016).

Eritrosit Dağılım Genişliği (Red Cell Distribution Width; RDW): Eritrosit histogramından elde edilen istatistiksel bir değerdir. Eritrositlerin çap farklılıklarını gösteren parametredir (Celkan, 2020; Falay, 2021). Anemilerin sınıflandırılmasında MCV değerinden sonraki en anlamlı ikinci parametredir. Özellikle hipokrom mikrositik aneminin tanısında yararlanır. (Mekik, 2021). Ayrıca anemi belirmeden, RDW değerinin yükselmesi erken dönemde tanı konulmasına yardımcı olur (Hendrickson vd., 2006). RDW-CV (RDW-Coefficient Variation) ve RDW-SD (RDW- Standart Deviation) olmak üzere iki farklı istatistiksel yöntemle hesaplanır (Şekil 2.20.) (Celkan, 2020). RDW-CV, eritrosit hacimsel dağılımının standart sapmasını yüzde olarak göstermektedir. Doğrudan ölçülemediği için hem ortalama hücre boyutuna hem de dağılım eğrisinin genişliğine dayalı bir hesaplama kullanılmaktadır (Ekici vd., 2019). RDW-CV'nin referans aralığı % 12,0-12,6'dır. RDW-SD ise eritrosit popülasyon seviyesinin % 20'sindeki en büyük ve en küçük eritrosit hacim farkını ifade etmekte olup doğrudan ölçümü yapılmaktadır ve makrositik ve mikrositik anemi tanısında oldukça duyarlıdır. RDW-SD'nin referans aralığı 29-46 fL'dir (Fujimoto, 1999; Ünal, 2006).



Şekil 2.20. RDW'nin İki Farklı Kullanım Şeklinin Histogramda Görülmesi (Celkan, 2020)

Hemoglobin (Hb): Kanın oksijen taşıyan protein kısmıdır. Eritrosit yapım sürecinin polikromatik eritroblast aşamasından itibaren sentezi başlamakta olup spektrofotometrik yöntem ile ölçümü yapılmaktadır (Topçuoğlu, 2018). Geleneksel ölçüm metodunda potasyum ferrisiyanür, Drabkin solüsyonu kullanılarak

siyanomethemoglobine dönüştürülür ve hemoglobin yoğunluğu fotometrik (540-550 nm) olarak ölçülür (Prchal vd., 2010; Tracy vd., 2020) ve 100 mL kanda yer alan tüm eritrositteki hemoglobinin total miktarını ifade eder, g/dL olarak birimlendirilir (Ünal, 2016).

Değerleri cinsiyet ve yaşa göre de değişiklik göstermektedir (Tablo 2.5.) ve anemi tanısında kullanılan en önemli parametrelerden biridir. DSÖ'ye göre, hemoglobin düzeyinin kadınlarda 12 g/dL'nin, erkeklerde 13 g/dL altında olması anemi olarak tanımlanır (WHO, 2021).

Tablo 2.5. Anemi Tanısında Yaşa ve Cinsiyete Göre Hemoglobin (g/dL) (Ergülen vd., 2001; Kahl vd., 2017).

Yaş ve cinsiyete göre gruplar	Hemoglobin (g/dL)
6 ay-2 yaş	10.5
2 yaş-6 yaş	11.5
6 yaş-15 yaş	12
15 yaş üstü kadın	12
15 yaş üstü erkek	13

Hematokrit (HCT): Total kan miktarının yüzde kaçının eritrositlerin oluşturduğunu gösteren parametredir (Prchal, 2010). Tam kan sayımı cihazları ile ölçümü yapılamamaktadır (Mekik, 2021). $RBC \times MCV / 10$ formülü ile hesaplanır (Tracy vd, 2020).

Hematokrit ile birlikte hemogram değerinin yorumlanmasında bazı basit kurallar bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi üçler kuralıdır ($HCT = Hb \times 3$). Hematokrit referans aralığı kadınlarda % 36,6-44,0, erkeklerde % 40-49,4'tür (Fujimoto, 1999; Celkan, 2020).

Retikülosit sayısı: Retikülosit, kemik iliğinde oluşumunu tamamladıktan sonra periferik kana salınan ve olgunluğunu tamamlayamamış genç eritrosittir. Yapısında çekirdek bulunmasa da çekirdek artıklarından oluşan RNA'sı sitoplazmada yer almaktadır. Dolaşımdaki retikülosit 1-2 gün içerisinde eritrosite dönüşmektedir (Falay, 2021; Yıldız, 2021).

Retikülosit sayısı, kemik iliği yanıtının değerlendirilmesindeki en önemli verilerdendir (Kono vd., 2009). Özellikle MCV değerinin referans sınır değerleri içinde olduğu aneminin, teşhis ve tedavisinde başvurulacak parametredir. Referans aralığı; RET% için 0,5-2, RET# için ise 0,03-0,08'dir (Aygün, 2005; Kono vd., 2009).

Çekirdekli Kırmızı Kan Hücreleri (Nucleated Red Blood Cells; NRBC):

Eritroblastosis sürecindeki olgunlaşmamış çekirdekli eritrositleri ifade etmektedir. Yeni doğanlarda ve anemi, kronik miyeloproliferatif hastalıklar ve talasemi gibi hastalıklarda tespit edilir. Referans aralığı $0,00-0,11 \times 10^6/\mu\text{L}$ 'dir (Otsubo vd., 2005; Lambert vd., 2009; Ochi vd., 2011).

2.3.3.2. Lökosit sayısı ve lökosit alt birimleri

Beyaz küreler olarak da bilinen ve immun sistemin bir parçası olarak görev yapan lökositler, granüler ve agranüler olmak üzere ikiye ayrılır (Kaya, 2013). Granüler hücreler nötrofil, eozinofil ve bazofil iken agranüler hücreler ise lenfosit ve monositlerdir (Mekik, 2021). Eritrositlerin aksine çekirdeğe sahip olan lökositlerin çapı 10-20 mikron arasındadır. Lökosit ve alt birimlerinin referans aralıkları Tablo 2.6'da gösterilmiştir (Ochi vd., 2011).

Tablo 2.6. Lökosit ve Alt Birimlerinin Referans Aralıkları (Kawauchi vd., 2011; Ochi vd., 2011;)

Lökosit ve altbirimleri	Referans aralık	
	Absolü ($10^3/\mu\text{L}$)	Yüzde (%)
WBC	3,91-10,9	100
Nötrofil	2,0-6,7	42,9-78,4
Lenfosit	1,1-3,3	14,1-45,8
Monosit	0,2-0,7	3,3-9,2
Eozinofil	0,0-0,4	0,3-6,2
Bazofil	0,0-0,1	0,3-1,3

2.3.3.3. Trombosit sayısı ve trombosit indeksleri

Megakaryositlerden köken alan trombosit, vücudun en küçük (1-3 mikron) hücresidir. Yapısında çekirdek ve herhangi bir sitoplazmik yapı bulunmamaktadır. Trombositler, kan pıhtılaşmasında görev alan hücrelerdir. Eksikliğinde kanamaya eğilim artarken, yüksek seviyesinde ise tromboz riskini yükseltmektedir. Yaşam süresi ise 8-10 gün arasında değişmektedir (Samsura vd., 2021).

Tam kan sayımı analizlerinde trombosit sayımının yanı sıra MPV (Mean Platelet Volume), PCT (Plateletcrit), PDW (Platelet Distribution Width) ve P-LCR (Platelet Large Cell Ratio) gibi çeşitli trombosit indeksleri de ölçülmekte veya hesaplanmaktadır (Tablo 2.7.) (Babior vd., 2003).

Ortalama Trombosit Hacmi (Mean Platelet Volume; MPV): Eritrosit indeksinde yer alan MCV'ye benzer şekilde ortalama trombosit hacmini göstermektedir. $PCT \times 10000 / \text{trombosit sayısı}$ formülü ile hesaplanır (Segal vd., 2005; Lambert vd., 2009). Trombosit sayısı ile beraber kemik iliği fonksiyonu hakkında bilgi verir. PLT ve MPV arasında ters korelasyon vardır. PLT'nin yüksek olduğu durumlarda MPV değeri düşerken, PLT'nin düşük olduğu durumlarda MPV değeri yükselmektedir (Hoffmann, 2012; Celkan, 2020).

PCT (Plateletcrit): Kandaki trombosit yüzdesini veren parametredir. Trombosit hacminin, toplam kan hacmine oranını ifade eder. $PLT \times MPV / 1000$ formülü ile hesaplanmaktadır. MPV ve PDW değerleri ile ters korelasyona sahip PCT değeri, yaşlanma ile birlikte düşmektedir (Efe vd., 2019).

Trombosit Dağılım Genişliği (Platelet Distribution Width; PDW): Trombosit boyutlarındaki farklılığı gösteren parametredir (Herve vd., 2001). Direkt olarak trombosit büyüklüğündeki değişimi ölçmektedir. Bu değer trombosit aktivasyonu ile değiştiğinden yaşlanma ile de ilişkilidir. MPV değeri ile pozitif korelasyonu olduğu da bilinmektedir (Efe vd., 2019).

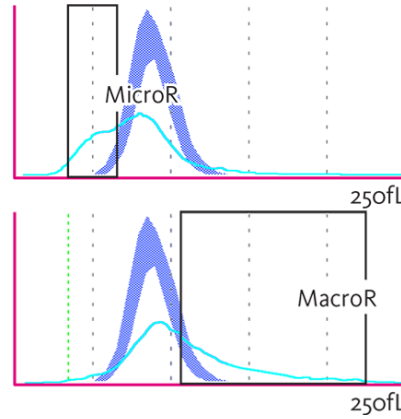
Trombosit-Büyük Hücre Oranı (Platelet Large Cell Ratio; P-LCR): Büyük trombositlerin $>12 \text{ fL}$) bir göstergesi olup, büyük trombositlerin normal boyuttaki trombositlere olan oranıdır. Trombosit aktivitesi ile değişkenlik göstermektedir (Hong vd., 2014; Efe vd., 2019).

Tablo 2.7. Trombosit ve İndekslerinin Referans Aralıkları (Fujimoto, 1999; Babior vd., 2003; Vanvd., 2003)

Trombosit sayısı ve indeksleri	Referans aralık
PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	166-308
MPV (fL)	9,3-12,1
PCT (%)	0,17-0,32
PDW (%)	10-15,5
P-LCR (%)	10,5-45

2.3.3.4. Tam kan sayımında kullanılan yeni parametreler

Mikrositik (MicroR), Makrositik (MacroR): Tam kan sayımı cihazlarında elde edilen eritrosit histogramının üst ve alt alanlarına iki farklı diskriminatör uygulanması ile eritrositlerin mikrositik ve makrositik bölgelerini belirleyen parametrelerdir ve elde edilen üst panel MicroR'yi, alt panel ise MacroR'yi ifade etmektedir (Şekil 2.21.) (Fujimoto, 1999) (Mekik, 2021). MicroR ve MakroR parametreleri, anemi tanısındaki olası sebepleri azaltarak bilgi sağlamaktadır. MicroR'nin referans aralığı % 5,6-11,5 iken MakroR'nin % 0,5-3'tür (Fujimoto, 1999).



Şekil 2.21. RBC Histogramında MicroR ve MacroR (Fujimoto, 1999)

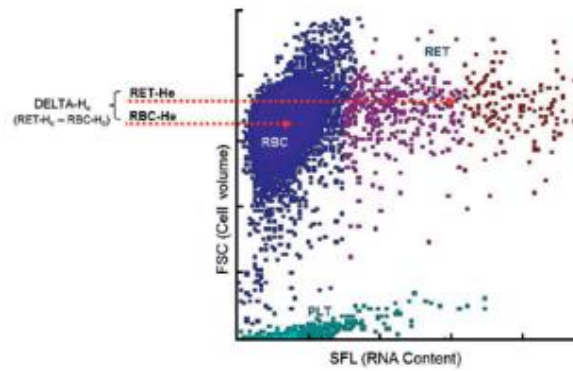
Olgunlaşmamış Granülosit (Immature Granulocyte; IG): Kemik iliğindeki granülosit öncüllerini (myelosit, promyelosit, metamyelosit) kapsayan parametredir (Çelik, 2019). IG'nin yüksek bulunması, enfeksiyonun erken aşamada olduğunu göstermektedir. Bu sayede enfeksiyona bağlı hastalıklar için yeni teşhis fırsatı

sağlamaktadır. Referans aralığı $0,0-0,6 \times 10^6/\mu\text{L}$ ve % $0,0-0,6$ 'dır (Fujimoto, 1999; Lambert vd., 2009).

Retikülosit Hemoglobin Eşdeğeri (Reticulocyte Hemoglobin Equivalent; RET-He): Gelişmiş otomatik kan sayım cihazları, retikülositte bulunan hemoglobin miktarını da ölçebilmektedir. Son zamanlarda klinik uygulamalardaki başarısı kanıtlanmış bir parametredir. Eritropoez sürecindeki demir eksikliğinin teşhisinde en erken parametrelerden biri olup aynı zamanda ucuz ve pratik olması da kullanım sıklığını arttırmaktadır. Referans aralığı $29,8-40,4 \text{ pg}$ 'dır (Fujimoto, 1999; Khandekar vd., 2006; Schoorl, 2016).

Eritrosit Hemoglobin Eşdeğeri (Erythrocyte Hemoglobin Equivalent; RBC-He): Eritrosit yapısındaki hemoglobin içeriğini gösteren parametredir. RET-He sonuçlarına göre % 5-15 oranında artan değerlerdir (Vagdatli vd., 2010). Aynı zamanda RET-He / RBC-He oranı ise RET-He ve RBC-He popülasyonları arasındaki hemoglobin içeriklerinin sapmaları hakkında daha doğru ve hassas sonuçlar sağlar (Hong vd., 2014).

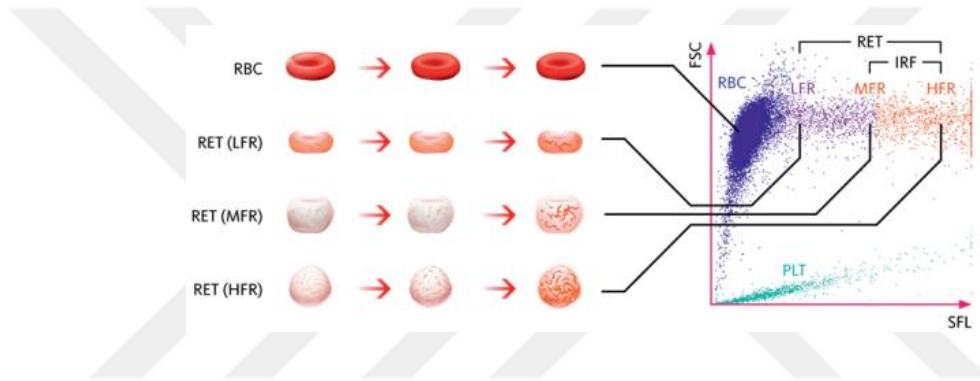
Delta Hemoglobin (Delta-He): RET-He'den RBC-He'nin çıkarılması ile bulunan matematiksel farkı gösteren parametredir. Delta- He değerinin düşmesi anemi başlangıcını göstermektedir (Şekil 2.22.) (Bath vd., 2004; Schoorl, 2016).



Şekil 2.22.Retikülosit Kanalındaki RET-He ve RBC-He (Schoorl, 2016)

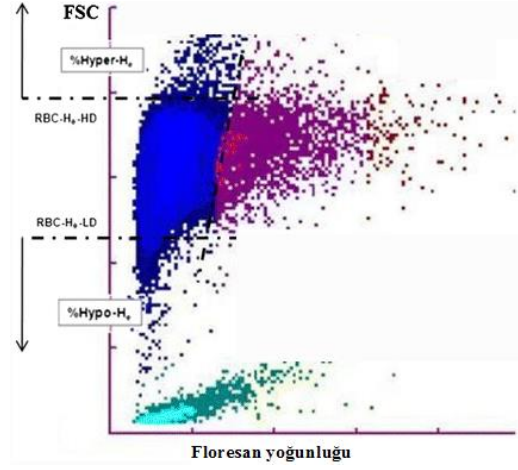
Olgunlaşmamış Retikülosit Fraksiyonu (Immature Reticulocyte Fraction; IRF): Otomatik kan sayımı cihaz kullanımının artması ile ölçümüne başlanmıştır. Kemik iliğinde eritropoez başlangıcını gösteren ilk parametredir. Ayrıca kök hücre nakli ve eritropoetin tedavilerini takibinde kullanılır (Falay, 2021).

Bu ptik scatter yöntemi ile retikülositlerin verdiği floresansa göre; Yüksek Floresan Oranı (High Fluorescence Ratio; HFR) (% 1-2), Orta Floresan Oranı (Medium Fluorescence Ratio; MFR) (% 2-12) ve Düşük Floresan Oranı (Low Fluorescence Ratio; LFR) (%85-98) ölçülür. MFR ve HFR ikisi birlikte IRF değerini vermektedir. Bu parametreler eritropoetik aktiviteyi gösteren retikülosit oranlarıdır (Şekil 2.23.) (Herve vd., 2001; Schoorl, 2016; Falay, 2021).



Şekil 2.23. RET Saçılım Grafiği (Schoorl, 2016)

Hipokromik Eritrosit Yüzdesi (Percentage of Hypochromic Red Cells; Hypo-He), Hiperkromik Eritrosit Yüzdesi (Percentage of Hyperchromic Red Cells; Hyper-He): Hypo-He, hemoglobin içeriğinin 17 pg'den düşük RBC yüzdesini, Hyper-He ise hemoglobin içeriğinin 49 pg'den yüksek RBC yüzdesini ifade etmektedir (Şekil 2.24.) (Mullier vd., 2011; Markis vd., 2016).



Şekil 2.24.Retikülosit Kanalındaki Hypo-He ve Hyper-He (Mullier vd., 2011)

Bu parametreler RBC-He'nin hemoglobin konsantrasyonundan türetilmiştir. Yüksek açılı saçılım (FSC) sinyali baz alınarak hesaplanır. Elde edilen FSC sinyali, özel algoritma ile pikogram birimine çevrilir (Kono vd., 2007). Hypo-He, demir eksikliği tanısında faydası saptanan bir parametredir (Thompson, 2013). RET-He parametresinin aksine, eritrosit yaşam süresinin daha uzun olması nedeniyle demir durumunu daha iyi yansıtmaktadır (Mullior vd., 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'na yapılan başvuru sonucu, etik kurul 16.10.2020 tarih ve 23 sayılı karar neticesi ile çalışmanın yapılması uygun bulundu.

3.1. Araştırmanın Örneklemi

09.11.2020 - 12.03.2021 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda vitamin B12, folik asit ölçümleri ve tam kan sayımı yapılan, MCV'si 90 fL'nin, folik asit düzeyi 4.6 ng/mL'nin üzerinde saptanan ve onamları alınan 150 katılımcı çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme ve dışlama kriterleri aşağıda belirtilmiştir:

Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

1. 18-65 yaş arası olmak
2. Vitamin B12, folik asit ve tam kan sayımı çalışılması
3. MCV'si 90 fL'nin ve folik asit düzeyinin 4,6 ng/mL'nin üzerinde saptanması
4. Aydınlatılmış onam formunun imzalanması

Araştırmadan Dışlama Kriterleri:

1. Gönüllü olmamak
2. Hamilelik
3. Lösemi
4. Multiple myelom
5. Serum kreatinin düzeyi kadınlarda 1,2 mg/dL'nin, erkeklerde 1,3 mg/dL'nin üzerinde olan kişiler
6. Vitamin B12 düzeyi 400 pg/mL üzerinde olan katılımcıların vitamin B12 takviyesi alanları

Çalışmaya dahil edilen katılımcıların, vitamin B12 ve tam kan sayımı sonuçları kaydedildi. Tam kan sayımı için gönderilen numunelerinden retikülosit sayımı yapıldı ve bu ölçüm sırasında elde edilen tüm veriler kaydedildi.

Gönüllüler vitamin B12 düzeylerine göre düşük (Grup 1) ve normal/yüksek (Grup 2), hemoglobin düzeylerine göre de anemisi olan (Grup A) ve olmayan (Grup B) şeklinde gruplandırıldı. Yapılan gruplamada laboratuvarımızda kullanılan referans aralık değerleri göz önünde bulunduruldu. Buna göre vitamin B12 düzeyi için sınır değer 197 pg/ml olarak kabul edildi. Anemi tanısında ise kadınlarda hemoglobin sınır değeri 11,9 g/dL, erkeklerde 13.5 g/dL olarak alındı ve gruplar arası farklar incelendi.

3.2. Yöntem

Serum vitamin B12 ve folik asit ölçümleri elektrokemilüminesans immün ölçüm, *kreatinin ise Jaffe* yöntemi ile Cobas 8000 (c702 ve e802) otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) gerçekleştirildi. Tam kan ve retikülosit sayımları Sysmex XN 1000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japonya) analizöründe yapıldı.

3.2.1. Vitamin B12 ölçüm metodu

Vitamin B12'ye özgü intrinsik faktörün kullanıldığı yarışmalı test prensibi yöntemine dayanmaktadır. Numunede bulunan vitamin B12, reaktif içinde bulunan biotin ile işaretlenmiş B12 vitamini ile rutenyum ile işaretlenmiş intrinsik faktör kompleksindeki bağlanma yerleri için yarışmaktadır.

İlk olarak numunedeki bağlı olan vitamin B12'nin serbest kalması sağlanır. Numune rutenyum ile işaretli intrinsik faktörle inkübe edilir. İnkübasyon sonucunda vitamin B12 bağlayıcı protein kompleksi oluşur. Streptavidin kaplı partikül ve biotin ile işaretlenmiş vitamin B12 ilave edilir. rutenyum ile işaretlenmiş intrinsik faktörün serbest kalan yerlerinin biotin işaretli B12 ile dolması sonucu rutenyum ile işaretlenmiş intrinsik faktör-vitamin B12-biotin kompleksi oluşur. Biotin ile streptavidinin etkileşimiyle tüm kompleks katı faza bağlanır. Oluşan reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Bağlanmamış maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonunu indükler, bu da bir

fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar, 2 noktalı kalibrasyon ile cihaza özel olan bir kalibrasyon eğrisi ile tayin edilir.

3.2.2. Tam kan ve retikülosit sayımları

Tam kan sayımı parametrelerinin ölçümü analiz kanallarında gerçekleştirilir.

RBC/PLT kanalı: Bu kanalda empedans yöntemi ile RBC ve PLT sayımı aynı zamanda HCT, MCV, RDW-SD, RDW-CV, MİCROR, MACROR, PDW, MPV, PCT ve P-LCR parametreleri ölçümü yapılır. Numune enjekte edildikten sonra ölçümün gerçekleşeceği açıklık merkezindeki yolaktan hücreler teker teker geçer. Geçen her hücrenin oluşturduğu sinyal, hücrenin hacmi hakkında bilgi verir ve oluşturulan grafik sayesinde RBC ve PLT ayrımı yapılarak sayımları gerçekleştirilir.

WNR kanalı: WBC, bazofil ve NRBC sayımları bu kanalda yapılır. İlk olarak eritrositlerin hemoliz edilmesi gerekir. Daha sonra kullanılan reaktifler hücre membranlarına girerek şekilsel ve yapısal değişikliğe neden olur. Böylece ışık saçılımında oluşan değişimler ile morfolojik farkları saptanır. Nükleik asit ve organeller de floresan boya ile boyanarak hücrelerin ayrımı ve sayımı gerçekleştirilir.

WDF kanalı: Nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil sayımları ve immatür granülosit ve atipik lenfosit tespitleri bu kanalda gerçekleştirilir. İlk olarak yine eritrositlerin hemoliz edilmesi gerekir. Kullanılan reaktifler hücre membranlarına girerek yapılarını değiştirir. Hücrelerin yapı değişikliklerinin düzeyi, her lökosit hücresinin karakterine bağlıdır. Oluşan bu farklar, yan saçılan ışık kullanılarak tespit edilir. Ayrıca nükleik asitler ve hücre organelleri floresan boya ile boyanır. Floresan şiddeti ile hücrelerin ayrımı yapılır.

RET kanalı: Bu kanalda retikülosit sayısı IRF, LFR, MFR, HFR, RET-HE, RBC-HE, Delta-HE, Hypo-HE ve Hyper-HE parametrelerinin ölçümü yapılır. Nükleik asitler floresan boya ile boyanır. Floresan şiddetindeki farklar ile retikülosit, olgun eritrositlerden ayrılmış olur.

Hb ölçümü: Hemoglobinin ölçülmesinde sodyum lauril sülfat (SLS) kullanılır. İlk olarak kırmızı kan hücreleri hemoliz edilir ve açığa çıkan hemoglobinin hidrofobik grubu ile SLS arasında kurulan bağ nedeniyle üç boyutlu yapıda değişiklikler olur. Hemoglobin yapısındaki divalen demir, oksijenin etkisiyle trivalen demire dönüşür. SLS'nin hidrofilik kısmı trivalen demire bağlanır ve oluşan SLS-hemoglobin kompleksinin absorbanşı 555 nm dalga boyunda okunur.

3.3. İstatistiksel Analiz

Normal dağılıma uyan veriler; ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılıma uymayan veriler ise medyan (25-75%) olarak verildi. Normal dağılım içinde yer alan veriler için; bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Student-t testi, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında One way Anova testi kullanıldı. Normal dağılım içinde yer almayan verilerin iki grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney-U testi uygulandı. Tüm gruplarda sürekli verilerden oluşan değişkenler arasındaki korelasyon analizlerini uygulamak için Pearson ve Spearman korelasyon testleri kullanıldı. Tüm veriler uygun istatistik paket programında değerlendirildi. Minimum istatistiksel anlamı için $P < 0,05$ değeri kriter olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'na başvuran 150 birey çalışmaya dahil edildi. Toplam 150 bireyin 79'u (%53) kadın, 71'i (%47) erkekti.

Katılımcılar, ilk olarak, vitamin B12 düzeylerine göre, vitamin B12 eksikliği olanlar (<197 pg/mL) Grup 1 ve vitamin B12 eksikliği olmayanlar (≥197 pg/mL) Grup 2 olmak üzere iki gruba ayrıldı. Buna göre 46 birey (%31) Grup 1 ve 104 birey (%69) Grup 2'de yer aldı. Vitamin B12 düzeyinin Grup 1'deki ortalama düzeyi 173 (153-183) pg/mL iken Grup 2'deki ortalama düzeyi ise 359 (248-505) pg/mL olarak hesaplandı (P<0.001).

Gruplara göre analizi yapılan katılımcı demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları Tablo 4.1'de gösterildi. Buna göre RBC, HCT, MCH, MCHC, WBC, RET-HE, RBC-HE ve Delta-HE parametrelerinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla P=0,004, P=0,008 P=0,001, P=0,002, P=0,029, P<0,001, P=0,005, P=0,008).

Katılımcılar hemoglobin düzeylerine göre de gruplandırıldı. Bu gruplandırmada anemi kararında kadınlar için Hb sınır değeri 11,9 g/dL, erkekler için 13.5 g/dL olarak alındı ve anemisi olan katılımcılar Grup A'da, anemisi olmayanlar Grup B'de yer aldı. Katılımcıların 20'si (%13) Grup A ve 130'u (%87) Grup B'de bulunmaktadır. Hb düzeyinin Grup A'daki ortalama düzeyi 11,9 ± 1,09 g/dL iken Grup B'deki ortalama düzeyi ise 14,6 ± 1,41 g/dL olarak hesaplandı (P<0.001).

Gruplara göre analizi yapılan katılımcı demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları Tablo 4.5'de gösterildi. Gruplar karşılaştırıldığında vitamin B12, RBC, HCT, MCV, RDW-SD, RDW-CV, NRBC#, NRBC%, RET%, IRF, LFR, MFR, HFR, Hypo-HE ve Hyper-HE parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlılık fark bulundu (sırasıyla P=0,004 P<0,001, P<0,001, P=0,004, P<0,001, P<0,001 P=0,001 P=0,001 P=0,034 P=0,010, P=0,010, P=0,013, P=0,017, P=0,001, P=0,039).

Tablo 4.1. Vitamin B12 düzeylerine göre grupların demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları

	Grup 1 (<197 pg/mL)	Grup 2 (≥197 pg/mL)	P
	(n=46)	(n=104)	
YAŞ (yıl)	53 (40-60)	54 (44-61)	0,281
VİTAMİN B12 (pg/mL)	173 (153-183)	359 (248-505)	<0.001
FOLAT (ng/mL)	7,72 (6,40-10,2)	8,35 (6,16-10,8)	0,454
RBC (10 ⁶ /μL)	4,69 ± 0,48	4,42 ± 0,51	0,004
Hb (g/dL)	14,6 ± 1,59	14,1 ± 1,65	0,114
HCT (%)	43,2 ± 4,20	41,0 ± 4,43	0,008
MCV (fL)	91,3 (90,6-93,1)	92,0 (90,7-94,2)	0,140
RDW-SD (fL)	43,2 (41,7-44,9)	43,6 (42,2-46,5)	0,287
RDW-CV (%)	12,8 (12,3-13,3)	13,0 (12,5-13,4)	0,308
MCH (pg)	32,0 ± 1,23	31,8 ± 1,43	0,001
MCHC (%)	33,7 ± 1,12	34,3 ± 1,03	0,002
NRBC# (10 ⁶ /μL)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,304
NRBC%	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,329
PLT (10 ³ /μL)	249 ± 70	239 ± 74	0,293
MPV(fL)	10,5 ± 0,89	10,3 ± 0,77	0,295
PCT (%)	0,26 ± 0,07	0,25 ± 0,07	0,197

Tablo 4.1. Vitamin B12 düzeylerine göre grupların demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları (Devam Ediyor)

PDW (%)	12,2 ± 2,13	11,8 ± 1,62	0,219
P-LCR (%)	28,6 ± 7,46	27,2 ± 6,22	0,310
WBC (10 ³ /μL)	7,52 ± 2,02	6,72 ± 1,98	0,029
IG%	0,30 (0,20-0,40)	0,30 (0,20-0,50)	0,390
IG# (10 ⁶ /μL)	0,02 (0,01-0,03)	0,02 (0,01-0,03)	0,488
RET# (10 ³ /μL)	0,0647 (0,0548-0,0806)	0,0688 (0,0544-0,0866)	0,257
RET%	1,45 (1,22-1,70)	1,51 (1,24-1,98)	0,071
IRF (%)	8,55 (6,23-11,9)	9,50 (7,13-12,1)	0,182
LFR (%)	91,5 (88,4-93,8)	90,5 (87,9-92,9)	0,172
MFR (%)	7,60 (5,70-10,3)	8,55 (6,60-10,3)	0,213
HFR (%)	0,85 (0,60-1,50)	1,00 (0,50-1,80)	0,303
RET-HE (pg)	32,7 ± 1,41	33,8 ± 1,64	<0.001
RBC-HE (pg)	30,2 ± 1,15	30,8 ± 1,15	0,005
DELTA-HE (pg)	2,50 (1,98-3,00)	2,85 (2,40-3,38)	0,008
HYPO-HE (%)	0,10 (0,10-0,20)	0,10 (0,10-0,20)	0,326
HYPER-HE (%)	0,70 (0,60-0,80)	0,70 (0,60-0,80)	0,120

Mann-Whitney U ortanca (%25-%75), Student-t testi ortalama ± SD

Vitamin B12 ile pozitif yönlü anlamlı korele parametreler; RDW-CV, MCH, MCHC, IG%, RET#, RET%, IRF, MFR, HFR, RET-HE, RBC-HE ve Delta-HE iken, negatif yönlü anlamlı korele parametreler ise RBC, HCT ve LFR'dir (Tablo 4.2., Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.).



Tablo 4.2. Vitamin B12 eksikliğinde araştırılan eritrosit parametrelerinin korelasyonları

		RBC	HCT	MCV	RDW-SD	RDW-CV	MİCROR	MACROR	MCH	MCHC	HGB	NRBC#	NRBC%
VİTAMİN B12	r	-0,232**	-0,222**	0,134	0,152	0,191*	0,043	0,015	0,188*	0,173*	-0,156	0,133	0,126
	P	0,004	0,006	0,103	0,064	0,019	0,598	0,857	0,021	0,034	0,056	0,104	0,124
RBC	r		0,961**	-0,324**	-0,341**	-0,277**	-0,028	0,268**	-0,103	0,120	0,913**	-0,206*	-0,207*
	P		<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,738	0,001	0,210	0,144	<0,001	0,011	0,011
HCTR	r			-0,120	-0,245**	-0,284**	-0,165*	0,393**	0,039	0,122	0,951**	-0,189*	-0,190*
	P			0,144	0,003	<0,001	0,043	<0,001	0,638	0,136	<0,001	0,021	0,020
MCV	r				0,501**	0,173*	-0,390**	0,365**	0,484**	-0,075	-0,128	0,190*	0,192*
	P				<0,001	0,034	<0,001	<0,001	<0,001	0,362	0,117	0,020	0,018
RDW-SD	r					0,883**	0,341**	0,549**	0,103	-0,219**	-0,307**	0,242**	0,238**
	P					<0,001	<0,001	<0,001	0,209	0,007	<0,001	0,003	0,003
RDW-CV	r						0,616**	0,411**	-0,098	-0,176*	-0,342**	0,237**	0,234**
	P						<0,001	<0,001	0,235	0,031	<0,001	0,00	0,004
MİCROR	r							0,143	-0,512**	-0,311**	-0,264**	0,133	0,129
	P							0,081	<0,001	<0,001	0,001	0,105	0,115
MACROR	r								0,226**	-0,034	0,334**	0,117	0,117
	P								0,005	0,680	<0,001	0,155	0,152
MCH	r									0,777**	0,254**	0,077	0,081
	P									<0,001	0,002	0,351	0,327
MCHC	r										0,380**	-0,028	-0,024
	P										<0,001	0,735	0,767
HGB	r											-0,195*	-0,195*
	P											0,017	0,017
NRBC#	r												0,999**
	P												<0,001

**Korelasyon $P < 0,01$, *Korelasyon $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Tablo 4.3. Vitamin B12 eksikliğinde araştırılan trombosit ve lökosit parametrelerinin korelasyonları

		PLT	MPV	PCT	PDW	P-LCR	WBC	IG%	IG#
VİTAMİN B12	r	-0,018	-0,081	-0,041	-0,087	-0,079	-0,097	0,181*	0,091
	P	0,831	0,328	0,623	0,291	0,336	0,238	0,026	0,270
PLT	r		-0,208*	0,932**	-0,162*	-0,196*	0,258**	-0,021	0,089
	P		0,011	<0,001	0,048	0,017	0,001	0,794	0,276
MPV	r			0,075	0,934**	0,993**	0,043	0,004	0,005
	P			0,361	<0,001	<0,001	0,605	0,965	0,950
PCT	r				0,105	0,086	0,280**	0,007	0,116
	P				0,203	0,296	0,001	0,932	0,160
PDW	r					0,957**	0,054	-0,022	-0,014
	P					<0,001	0,514	0,789	0,864
P-LCR	r						0,051	-0,001	0,005
	P						0,538	0,989	0,949
WBC	r							0,215**	0,596**
	P							0,008	<0,001
IG%	r								0,884**
	P								<0,001

**Korelasyon $P < 0,01$, *Korelasyon $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Tablo 4.4. Vitamin B12 eksikliğinde araştırılan retikülosit parametrelerinin korelasyonları

		RET#	RET%	IRF	LFR	MFR	HFR	RET-HE	RBC-HE	DELTA-HE	HYPO-HE	HYPER-HE
VİTAMİN B12	r	0,224**	0,272**	0,200*	-0,203*	0,176*	0,225**	0,251**	0,197*	0,220**	0,139	0,139
	P	0,006	0,001	0,014	0,013	0,031	0,006	0,002	0,016	0,007	0,091	0,091
RET#	r		0,918**	0,539**	-0,539**	0,542**	0,440**	0,268**	0,199*	0,175*	-0,024	0,181*
	P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,015	0,032	0,768	0,026
RET%	r			0,620**	-0,619**	0,624**	0,507**	0,205*	0,181*	0,101	0,122	0,016
	P			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,012	0,026	0,219	0,138	0,846
IRF	r				-1,000**	0,987**	0,878**	0,091	0,089	0,048	0,231**	-0,094
	P				<0,001	<0,001	<0,001	0,271	0,279	0,558	0,004	0,252
LFR	r					-0,986**	-0,880**	-0,089	-0,087	-0,047	-0,232**	0,094
	P					<0,001	<0,001	0,281	0,288	0,571	0,004	0,252
MFR	r						0,809**	0,069	0,076	0,026	0,202*	-0,133
	P						<0,001	0,400	0,358	0,750	0,013	0,104
HFR	r							0,079	0,075	0,050	0,308**	-0,027
	P							0,339	0,361	0,541	<0,001	0,743
RET-He	r								0,781**	0,674**	-0,229**	0,713**
	P								<0,001	<0,001	0,005	<0,001
RBC-HE	r									0,138	-0,388**	0,729**
	P									0,093	<0,001	<0,001
DELTA-He	r										0,057	0,331**
	P										0,491	<0,001
HYPO-He	r											-0,365**
	P											<0,001

**Korelasyon $P < 0,01$, *Korelasyon $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Tablo 4.5. Hb düzeylerine göre grupların demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları

	Grup A (anemisi olan)	Grup B (anemisi olmayanlar)	P
	(n=20)	(n=130)	
YAŞ (yıl)	60 (50-62)	53 (42-59)	0,047
VİTAMİN B12 (pg/mL)	430 (269-528)	232 (182-408)	0,004
FOLAT (ng/mL)	8,60 (5,97-10,2)	7,80 (6,46-10,6)	0,668
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	$3,73 \pm 0,41$	$4,62 \pm 0,42$	<0,001
Hb (g/dL)	$11,9 \pm 1,09$	$14,6 \pm 1,41$	<0,001
HCT (%)	$35,2 \pm 3,37$	$42,7 \pm 3,71$	<0,001
MCV (fL)	93,6 (91,8-95,9)	91,4 (90,7-93,6)	0,004
RDW-SD (fL)	46,3 (43,9-53,1)	43,3 (41,8-45,3)	<0,001
RDW-CV (%)	13,5 (13,0-15,0)	12,9 (12,4-13,2)	<0,001
MCH (pg)	$32,03 \pm 2,01$	$31,5 \pm 1,30$	0,146
MCHC (%)	$33,9 \pm 1,41$	$34,1 \pm 1,04$	0,594
NRBC# ($10^6/\mu\text{L}$)	0,00 (0,00-0,01)	0,00 (0,00-0,00)	0,001
NRBC%	0,00 (0,00-0,10)	0,00 (0,00-0,00)	0,001
PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	232 (187-290)	228 (193-283)	0,738
MPV (fL)	$10,4 \pm 0,95$	$10,3 \pm 0,79$	0,862
PCT (%)	0,25 (0,18-0,31)	0,24 (0,20-0,30)	0,732

Tablo 4.5. Hb düzeylerine göre grupların demografik bilgileri ve laboratuvar test sonuçları (Devam ediyor)

PDW (%)	11,6 ± 2,15	12,0 ± 1,75	0,452
P-LCR (%)	27,4 ± 7,56	27,7 ± 6,50	0,868
WBC (10 ³ /μL)	6,41 (4,37-8,87)	6,66 (5,70-8,12)	0,621
IG%	0,45 (0,20-0,68)	0,30 (0,20-0,40)	0,068
IG# (10 ⁶ /μL)	0,03 (0,01-0,05)	0,02 (0,01-0,03)	0,216
RET# (10 ³ /μL)	0,0642 (0,0513-0,0920)	0,0666 (0,0551-0,0837)	0,772
RET%	1,77 (1,30-2,38)	1,48 (1,21-1,75)	0,034
IRF (%)	11,8 (8,83-16,4)	8,90 (6,68-11,6)	0,010
LFR (%)	88,2 (83,6-91,2)	91,1 (88,4-93,3)	0,010
MFR (%)	10,0 (7,80-12,0)	8,05 (6,08-10,2)	0,013
HFR (%)	1,40 (0,70-3,78)	0,90 (0,50-1,50)	0,017
RET-HE (pg)	33,6 ± 2,34	33,4 ± 1,53	0,735
RBC-HE (pg)	30,7 (30,1-31,2)	30,7 (29,9-31,3)	0,954
DELTA-HE (pg)	2,70 (1,93-4,20)	2,70 (2,30-3,23)	0,951
HYPO-HE (%)	0,25 (0,10-0,58)	0,10 (0,10-0,20)	0,001
HYPER-HE (%)	0,60 (0,53-0,70)	0,70 (0,60-0,80)	0,039

Mann-Whitney U ortanca (%25-%75), Student-t testi ortalama ± SD

5. TARTIŞMA

Vitamin B12 ile anemi arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Makrositik anemi grubunda yer alan megaloblastik aneminin en sık nedeninin vitamin B12 eksikliği olduğu bilinmektedir (Nielsen vd., 2012). Vitamin B12 eksikliği görülme oranları toplumlara göre değişiklik gösterse de çoğu zaman bu oran % 40'lara kadar çıkmaktadır (Emen vd., 2013).

Literatürlerde vitamin B12 eksikliği için belirlenen referans sınır değer 200 pg/mL olarak kabul edilmektedir. Bu değer altındaki vitamin B12 düzeyleri, anemi riskini işaret etmektedir (Puca vd., 2020; THD, 2021). Vitamin B12 eksikliği ile ilgili yapılan çalışmalar genelde vitamin B12 eksikliği (≤ 200 pg/mL) var/yok olmak üzere iki gruba göre ayrılarak yapılmıştır (Marin vd., 2010; Akış vd., 2020). Bu çalışmada da literatürle uyumlu şekilde laboratuvarımızda kullandığımız referans aralığı göz önünde bulundurularak gruplama yapıldı ve vitamin B12 eksikliği olanlar (< 197 pg/mL) Grup 1'de, vitamin B12 eksikliği olmayanlar (≥ 197 pg/mL) Grup 2'de yer aldı ve gruplar arası farklar incelendi (Bkz. Tablo 4.1).

Vitamin B12 eksikliği oranı %35 olarak bulunun çalışma sonuçları incelendiğinden ilk dikkat çeken bulgu gruplar arasında hemoglobin değerleri arasında fark saptanması ve Grup 1 için Hb ortalama değeri $14,6 \pm 1,59$ iken Grup 2'nin $14,1 \pm 1,65$ olmasıydı. Katılımcılar seçilirken MCV değerlerinin 90 fL ve üzerinde olması, folik asit düzeylerinin 4.6 ng/mL'nin üzerinde ve olası diğer makrositer anemi nedenlerine sahip hastaların araştırma dışı bırakılması nedeniyle, vitamin B12 düzeyi düşük olan katılımcılarda MCV yüksekliği ile birlikte Hb düzeylerinde düşüklük bulma beklentimiz karşılanmadı. Aynı şekilde beklentilerimizin tersine Grup 1'de RBC ve HCT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek (sırasıyla $P=0,004$ ve $P=0,008$) ve vitamin B12 düzeyi ile RBC ve HCT düzeyleri arasında negatif yönlü anlamlı korelasyon bulundu (Tablo 4.2) (sırasıyla $r=-0,232$, $P=0,004$; $r=-0,222$, $P=0,006$).

Vitamin B12 eksikliğinde görülmesi beklenen hafif pansitopeni tablosu (retikülositopeni, nötropeni, trombositopeni) (Ocakçı, 2012) çalışmamızda gözlenmedi, RET# ve PLT değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliği olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında PCT ve PDW parametrelerinde gruplar arasında istatistiksel

anlamli fark bulunmazken, MPV de anlamli fark bulunmuştur (Abuhandan vd., 2014). Bu çalışmada ise MPV, PCT, PDW, P-LCR de istatistiksel olarak gruplar arasında anlamli fark tespit edilemedi.

Yapılan çalışmalara (Brugnara, 2021; Buke vd., 2021) paralel olarak bu çalışmada da WBC düzeylerinin vitamin B12 eksikliğinde arttığı gözlemlendi ve bu artışın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli olduğu tespit edildi ($P=0,029$).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda (Buke vd., 2020; Bose vd., 2021) vitamin B12 eksikliğinin tespitinde anlamli olabileceği belirtilen RDW-SD ve RDW-CV parametreleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli fark görülemedi. Literatürde (Yazar, 2017; Bolann vd., 2020) vitamin B12 eksikliğinde artışı gözlenen MCH ve MCHC parametrelerinde, bu çalışmada gruplar arası anlamli fark saptandı ancak her iki parametre de Grup 1’de Grup 2’ye göre daha düşük bulundu (sırasıyla $P=0,001$, $P=0,002$).

Vitamin B12 eksikliğinin tespitinde vitamin B12 ölçümünün yanında her ne kadar tam kan sayımı parametrelerinin anlamlılığı araştırılsa da tek başına vitamin B12 eksikliğine işarete yetersiz kalmaktadır (Thomson vd., 2010). Bu nedenle, yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliği tanısında daha önce kullanılmayan tam kan parametrelerinin dışında, retikülosit sayımı ve indekslerinin kullanılmaktadır (Emen vd., 2013). Bildiğimiz kadarıyla RET-HE, RBC-HE ile bu iki indeksin farkını ifade eden Delta-HE parametrelerinin vitamin B12 eksikliğinde incelendiği ilk araştırma olan bu çalışmada, parametrelerin üçünün de vitamin B12 eksikliği olan grupta (Grup 1) daha düşük olduğu bulundu ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli fark saptandı (sırasıyla $P<0,001$, $P=0,005$ ve $P=0,008$). Çalışmamızda aynı zamanda bu parametreler ile vitamin B12 düzeyi arasında pozitif yönlü anlamli korelasyon saptandı (Tablo 4.4) (sırasıyla $r=0,251$, $P=0,002$; $r=0,197$, $P=0,016$; $r=0,220$, $P=0,007$). Demir eksikliği anemisinde anlamli olduğu gösterilen (Maconi vd., 2009; Toki vd., 2017) bu parametrelerin vitamin B12 eksikliğinde de yeni bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünüldü.

Laboratuvarımızda kullanılan Hb referans aralık alt değeri göre kadınlarda 11,9 g/dL, erkeklerde 13,5 g/dL kesim noktası olarak alınarak katılımcılar anemisi olan (Grup A) ve olmayan (Grup B) şeklinde gruplandırıldı ve gruplar arası farklar incelendi (Bkz. Tablo 4.5). RBC, HCT, MCV, RDW-SD, RDW-CV, Hb, RET%,

IRF, LFR, MFR, HFR ve Hypo-HE parametrelerinde gruplar arasında anlamlı farklar tespit edildi. Vitamin B12 düzeyi beklenenin aksine anemisi olan grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($P=0,004$).

Sonuç olarak, vitamin B12 düzeyine göre yapılan sınıflama ile gruplar arasında beklenen bulguların saptanmaması, katılımcıların anemisi olan ve olmayan şeklinde ikiye ayrılarak yapılan incelemede de vitamin B12 düzeylerinin anemisi olan grupta yüksek çıkması, aneminin tek nedeni olarak düşündüğümüz vitamin B12 eksikliği kararında serum vitamin B12 düzeyinin tek başına yeterli olmadığını ve bu çalışma ile vitamin B12 metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan diğer parametrelerin de rutin kullanıma girmesi gerekliliğini düşündürmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Vitamin B12 eksikliği olduğu düşünölen bir hastada ilk ve en yaygın kullanılan laboratuvar testi serum vitamin B12 düzeyinin ölçümüdür (Carmel vd., 2003, Hvas vd., 2006). Serum vitamin B12 ölçümü, vitamin B12 formlarının tamamını ölçmektedir. Aktif formlarını ölçemediğinden özgüllüğü de yüksek değildir (Kesiktaş vd., 2009), dolayısıyla serum vitamin B12 düzeyi ile vitamin B12 eksikliğinde gözlenen bulgular her zaman paralellik göstermeyebilir (Baytan vd., 2007). Hastada klinik olarak vitamin B12 eksikliği olduğu halde, serum vitamin B12 düzeyine bakılarak eksikliğin olmadığı düşünölebilir (Burtom, 2021). Holotranskobalamin ya da MMA ölçümü gibi vitamin B12 metabolizmasının değeriendirilmesinde bilinen parametrelerin rutin olarak laboratuvarıa çalışılması sağlanmalı ve yeni parametrelerin ve/veya indekslerin bulunmasına yönelik çalışmalar arttırılmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abuhandan, M., Gümüş, G., Solmaz, A., Güzel, B., 2014, Vitamin B12 Eksiliğinde Hastalarda Ortalama Trombosit Volümün Değerlendirilmesi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (Journal of Harran University Medical Faculty) Cilt 11. Sayı 3.
- Acıbadem Web ve Yayın Kurulu. (2021). *B12 Vitamini Eksikliği*. <https://www.acibadem.com.tr/ilgi-alani/b12-vitamini-eksikligi/#genel-tanitim>.
- Akman. N. (2001), Erişkinde Anemilere Yaklaşım. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Anemiler Sempozyumu; :9-16.
- Akış, M., Kant, M., Işık, İ., Teke Kısa, P., Köse, E., Arslan, N., & İşlekel, H. (2020). Annals Express: Functional vitamin B12 deficiency in phenylketonuria patients and healthy controls: An evaluation with combined indicator of vitamin B12 status as a biochemical index. Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine,
- Ali, R. (2002), *II. Hematoloji İlk Basamak Kursu*, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Antalya.
- Ali, R. (2002). *B12 Vitamini: Anemiden vasküler sorunlara...* XXIX. Ulusal Hematoloji Kongresi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Bursa.
- Allen RH, Stabler SP, Savage DG et al. Diagnosis of cobalamin deficiency 1: usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. The American Journal of Hematology 1990; 34: 90–98.
- Altıparmak MR, Hamuryudan V, Sonsuz A.Cerrahpaşa İç Hastalıkları. 2.Baskı. İstanbul Tıp Kitabevi. 2012;187-320.
- Antony AC. *Megaloblastic Anemias* [Internet]. Twenty-Fir. Vol. 12,Hematology: Basic Principles and Practice. Elsevier Inc.; 2018. 514-545.e7 p.
- Aslinia, F.; Mazza, JJ, Yale, SH.,2006, Megaloblastic Anemia and Other Causes of Macrocytosis, Clin Med Res. 2006 Sep; 4(3): 236–241.
- Asok C.Antony. Megaloblastic Anemias. Williams hematology sixth edition. USA, 2001. pp 519-556.
- Atamer T. (2004), Anemik hastaya yaklaşım. Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi; 2 (2): 89-95.
- Aygun B. Disorders of platelet. In: Lanzkowsky P, ed. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. fourth ed. San Diego, California.2005:250.
- Ayrancı, E., 2020, “Medikal Yoğun Bakım Ünitesinde Takip Edilen Hastalarda Mortalite ile Tam Kan Sayımı Parametrelerinin İlişkisi”, Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- Azık, FA., Topal, Y., Azık, TE., B12 vitamini ve/veya folik asit eksikliğinde hematolojik belirtiler olmadan nörolojik bozukluklar ortaya çıkar mı?, Pam Tıp Derg 2015;8(2):166-170.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Babior B BH. Megaloblastic Anemias. Kurt JI, Eugene B, Jean DW et al (eds.). In: Harrison's Principles of Internal Medicine Thirteenth Edition New York 1996:1726-32.
- Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic anemias, In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. Section 2. Disorders of hematopoiesis, 15th ed. New York. McGraw-Hill Companies 2003; 674-680.
- Bahçeci M. Oral antidiyabetik ilaçlar ve yeni uygulamalar. İstanbul, Diabetes mellitusun modern tedavisi. Büyükbeşe matbaacılık, 2003; 35-54.
- Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. N Engl J Med 2005; 353: 498–507.
- Bain, B.J. (2017). Blood Cell Morphology in Health and Disease. Dacie and Lewis Practical Haematology, 61–92.
- Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL et al. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women, European Journal of Clinical Nutrition 2008;62: 1010–1021.
- Barik, S. "Megaloblastic Anemia: A Drug-Induced Disorder." J Blood Disord Transfus 7.359 (2016): 2.
- Bath P, Algert C, Chapman N, Neal B. Association of mean platelet volume with risk of stroke among 3134 individuals with history of cerebrovascular disease. Stroke 2004;35(3):622-6.
- Baytan, Birol, et al. "Çocukluk çağında vitamin B12 eksikliği klinik bulgular ve tedavi." Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2007; 33: 61-64.
- Benhrman RE. Nelson Textbook of pediatrics. 17th ed., 2004; 1611-14.
- Benoist B, Erin McLean, Egli I, Cogswell M (Eds). Worldwide prevalence of anaemia 1993 2005 WHO Global Database on Anaemia. Geneva: WHO, 2008.
- Beutler E, : Examination of the blood. In Williams Hematology Mc Graw Hill, Sixth edition, 2001.
- Bose, S., Banerjee, S., Chattopadhyay, J., Manna, M., Rai, V., 2021, Red Cell Distribution Width with Clinical Significance of B12 Deficiency Anemia: A Mini Case Report, Volume 4 | Issue 3 | Article 1126.
- Boushey CJ, Beresford S, Omenn G, Notulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. JAMA 1995;274:1049–57.
- Braunstein, EM., 2020, Megaloblastic Macrocytic Anemias, *Johns Hopkins School of Medicine*.
- Briani C, Dalla Torre C, Citton V, Manara R, Pompanin S, Binotto G, et al. Cobalamin deficiency: clinical picture and radiological findings. Nutrients. 2013;5(11):4521-39.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Briggs C, Carter J, Lee HS, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) guideline for worldwide point-of-care testing in haematology with special reference to the complete blood count. *Int J Lab Hem* 2008;30:105-116.
- Brugnara C, Oski FA, Nathan DG. Diagnostic approach to the anemic patients. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE (eds). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*, 8th ed, Orkin SH, Fisher DE, Look T, Lux SE, Ginsburg D, Nathan DG, et AL (Eds), WB Saunders, Philadelphia 2015. p.293.
- Burns C. Automation in Hematology. In: McKenzie SB, ed. *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey, Pearson Education, 2004:815-857.
- Burtom. (2021). *Homosistein. Test Bilgileri*. <https://www.burtom.com.tr/ozel-burtom-laboratuvari/test-bilgileri/homosistein>.
- Buttarello M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 45–54.
- Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 104–16.
- Buvat DR. *Use of metformin is a cause of vitamin B12 deficiency*. *Am Fam Physician*. 2004 Jan 15; 69 (2): 244.
- Büke, Ö., Erol, Ö., Bostan, G., 2020, Comparison of hemogram parameters according to the severity of Vitamin B12 deficiency in children aged three months-16 years, *Progress in Nutrition* 2020; Vol. 22, N. 3.
- Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med*. 51:357-375, 2000.
- Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. *Update on cobalamin, folate, and homocysteine*. *HematologyAm Soc Hematol Educ Program* 2003;62-81.
- Carmel R, Watkins D, Rosenblatt DS. Chapter 10 – *Megaloblastic Anemia* [Internet]. Eighth Edi. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Elsevier Inc.; 2015. 308-343.e11 p.
- Carter, C. M., Cregar, L. C., & Aulbach, A. D. (2016). Cytological Bone Marrow Cell Differential Counts and Morphologic Findings in Healthy Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*) from Nonclinical Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*, 45(2), 267–274.
- Celkan, TT., (2020), “Hemogram bize neler söyler?”, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
- Chanarin I. *A history of pernicious anaemia*. Historical Review. *Br J Haematol*. 2000;111(2):407–15.
- Christensen, RD, Henry E, Jopling J, Wiedmeier SE. The CBC: reference ranges for neonates. *Semin Perinatol*. 2009; 33(1):3-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Clarke, S, Banfield K: *S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases*. In Carmel R, Jacobsen DW, editors: Homocysteine in health and disease, Cambridge, 2001, Cambridge University Press p. 63–78.
- Cohen, HJ, Silberstein LE, et al. eds. Hematology: basic principles and practice. 4th ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 2005.
- Crayn, Elizabeth MD. Vitamin B12 deficiency; recognition and management. Primary Care Case Reviews 2002; 5(2): 53-60.
- Çağatay, Ü, Güvenç B. *Megaloblastik Anemiler*. Çeviri Editörü: Sağlık Y. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri. 15. Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 674-680.
- Çelik, HT., (2019), “Yenidoğan Sepsisi Tanısında Delta Nötrofil İndeksinin Yeri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D. Neonatoloji Bilim Dalı.
- Çetin, M. (2010), *Kalıtsal megaloblastik anemiler*, XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji Ünitesi-Ankara.
- Çetin, M. (2014), Hematopoetik kök hücre ve hematopoez, Erciyes Ü. Tıp Fak. Hematoloji BD.
- Çoban, E., Akın, M., Aykut, A., Timurağaoğlu, A. (2004), Yaşlı hastalarda anemi sıklığı ve morfolojik olarak dağılımı, 1304-2947 / 1307-9948, 131-132, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya.
- Çuhadar, G. (2021), *Yetişkin bireylerde serum folat ve b12 vitamini düzeyleri ile duygudurum ve beslenme durumu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme Ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme Ve Diyetetik Yüksek Lisans Programı, Ankara.
- Daniel, S. Socha, MD, Sherwin I. DeSouza, MD, Aron Flagg, MD, Mikkael Sekeres, MD, MS and Heesun J. Rogers, MD, PhD, Cleveland Clinic Journal of Medicine March 2020, 87 (3) 153-164.
- David S, Rosenthal M. Evaluation of the peripheral blood smear. 2019.
- Derrick, L. Goubeaux, Weijie Li, Cabot rings and marked anisopoikilocytosis in Imerslund-Gräsbeck syndrome, Children’s Mercy Hospital, The American Society of Hematology, *Blood* (2018), 131 (1): 153.
- Dharmarajan TS, Norkus EP. Approaches to vitamin B12 deficiency; early treatment may prevent devastating complications. Postgraduate Med 2001; 110: 99-105.
- Dolu, S. (2017). Dahiliye polikliniğine başvuran B12 vitamini eksikliği tespit edilen hastalarda pernisiyöz aneminin etyolojideki rolü ve oral replasman tedavisinin yeri, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Antalya.
- Dündar, S. Megaloblastik anemiler, İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S Editörler. İç Hastalıkları. Bölüm 10. *Hematolojik hastalıklar*, 2. Baskı. Ankara. Güneş Kitabevi 2003; 1795-1799.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Efe, S, Asker İ. İnal V. Karma Yoğun Bakımda Takip Edilen Kritik Hastalarda Platelet İndekslerinin Prognostik Değeri. Yoğun Bakım Derg, 2019; 10(1):13-7.
- Ekici Günay, N. & Günay, N. (2019). The distribution indices of erythrocytes: which one for acute ischemic stroke? Turkish Journal of Biochemistry, 0(0). doi:10.1515/tjb-2019-0103.
- Ekmekçi, Y. (2016), Geçmişten Günümüze Eritropoezi Uyarıcı Ajanlar, Güven Hastanesi Nefroloji Kliniği.
- Elçi HT, *Nutrisyonel vitamin b12 eksikliği olan çocuklarda tani ve izlemde hemoreolojik parametrelerin incelenmesi*, uzmanlık tezi, Denizli, 2012;1-70.
- Emen, B., Öztürk, Y., Eren, MA., Özdemir, E., Mztrük, F., Düzenli, E., Sariaslan., D., 2013, B12 Vitamin Eksikliği Bulunan Hastalarda Etiyolojik Faktörler İle Laboratuvar Verileri Arasındaki İlişkinin Geriye Dönük Değerlendirilmesi, Tepecik Eğit Hast Derg 2013; 23 (1): 19-23.
- Erduran E, Özbek N. Megaloblastik anemi In: Pediatrik Hematoloji Anak S, et al İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd Şti 2011; p.185-209.
- Erdöl Ş. *Önemli Bir Halk Sağlığı Problemi: Vitamin B12 Eksikliği An important public health problem: Vitamin B12 deficiency*. Güncel Pediatri. 2017;15(2):26.
- Erduran E, Özbek N. Megaloblastik anemi In: Pediatrik Hematoloji Anak S, et al İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd Şti 2011; p.185-209.
- Eren AA, *Ege hastanesi polikliniklerine başvuran hastalarda serum vitamin b12 ve folik asit, homosistein değerleri ile nöropsikiyatrik şikâyetlerin ilişkisi*, “Ufuk üniversitesi” Tıpta uzmanlık tezi, Ankara, 2011; 1-75.
- Ergülen, S., Saygun, M., Çöl, M., Sayan, M. (2001), *Ankara Üniversitesi Öğrencilerinde Anemi Sıklığı, Etkili Faktörler Ve Beslenme Alışkanlıkları Üzerine Bir Araştırma, Beslenme Ve Diyet Dergisi / J Nutr And Diet* 30(2): 24-31.
- Ertem , M., (2018)., “Örneklerle Tam Kan Sayım Çıktılarının Değerlendirmesi”, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, 62. Türkiye Milli Pediatri Kongresi , 14-18 Kasım 2018; Antalya.
- Falay, M., (2021), Tam Kan Sayımı, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Laboratuvarı.
- Faramarz Naeim, F; Rao, PN., Song, SX; Grody, WW. Disorders of Red Blood Cells Anemias, Atlas of Hematopathology, 2013, Pages 675-704.
- Felson, S., 2021, What is a Reticulocyte Count Test?, WebMD Medical Reference.
- Ferrier, D.R, *Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry*, Seventh Edition, Wolters Kluwer 2017. p.375-77.
- Ferrier DR. Lippincott *Görsel Anlatımlı Çalışma Kitapları: Biyokimya*. 7. baskı. Ulukaya E, editor. Nobel Tıp Kitabevleri; 2019. 379–81 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Finkelstein JD. *Folate and Homocysteine Metabolism and their roles*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2007;45: 1694–1699.
- Fowler, B., Leonard, J.V., Baumgartner, M.R., 2008. Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias. J. Inherit. Metab. Dis. 31, 350–360 ([PubMed]).
- Fujimoto, K., 1999, Measurement in hematology analyzers manufactured by sysmex Corporation. Sysmex, J. International, 22; 43-60.
- Fyfe JC, Madsen M, Hojrup P, Christensen EI, Tanner SM, de la Chapelle A, et al. *The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless*. Blood. 2004 Mar;103(5):1573–9.
- Garrow TA: Betaine-dependent remethylation. In Carmel R, Jacobsen DW, editors: *Homocysteine in health and disease*, Cambridge, 2001, Cambridge University Press p. 145–152.
- Gibson R. *Principles of nutritional assessment*. New York: Oxford University Press; 1990;460-86.
- Glader B. *Anemias of Inadequate Production*, Section 2, Chapter 446 In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds) Nelson Textbook of Pediatrics (17th edition). Philadelphia: Saunders, 2004; 1612-3.
- Goraya JS, Kaur S, Mehra B. *Neurology of Nutritional Vitamin B12 Deficiency in Infants: Case Series From India and Literature Review*. Journal of child neurology. 2015;30(13):1831 7.
- Gök, F. (2011), Uzmanlık Tezi, Megaloblastik Anemi Ve Tiroid Fonksiyon Bozukluğunun Cinsiyet Ve Menopoz İle İlişkisi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- Graner, JL. (1985). Addison, *pernicious anemia and adrenal insufficiency*. 133(9):855-880.
- Green R. *Screening for vitamin B12 deficiency: caveat emptor*. Ann Intern Med. 1996 Mar 1;124(5):509-11.
- Green R. Review Article Vitamin B 12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. 2017;129(19):2603–11.
- Guliyev, Z. (2019), Uzmanlık Tezi, Dispeptik Şikayetler İle Başvuran Hastalarda Demir Eksikliği Anemisi İle Endoskopik Bulguların Klinik, Laboratuvar Ve Patolojik Olarak İlişkilerinin Karşılaştırılması, T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Uygulama Ve Araştırma Merkezi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı.
- Gümrüdü, Y., Serin, E., Özer, B., Kayaselçuk, F., Kul, K., Cengiz, Pata, Güçlü, M., Gür, G., & Boyacıoğlu, S. (2003). Predictors of vitamin B-12 deficiency : Age and helicobacter pylori load of antral mucosa Vitamin B 1 2 eksikliğinin prediktörleri : yaş ve antral mukozanın helicobacter pylori yükü.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Gündoğdu, S., Oygen., Ş., Çalım, A., Damar, AD., Borlu, F., 2010, Megaloblastik anemi tedavisine cevapta retikülosit-trombosit ilişkisi, Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni, Cilt: 44, Sayı: 4, 2010 / The Medical Bulletin of Şişli Etfal Hospital, Volume: 44, Number 4.
- Güngören, MS. (2008). *Mersin bölgesinde vitamin b12 ve folik asit düzeylerine ait referans aralıklarının belirlenmesi*, Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.
- Halterman JS, Kaczorowski JM, Aligne CA Auinger P, Szilagyi PG. Iron deficiency and cognitive achievement among school-aged children and adolescents in the United States. *Pediatrics* 2001; 107(6): 1381-6.
- Hannibal, Luciana, et al. "Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B12 deficiency." *Frontiers in Molecular Biosciences* 3 (2016): 27.
- Hardlei TF, Nexø E. A new principle for measurement of cobalamin and corrinoids, used for studies of cobalamin analogs on serum haptocorrin. *Clin Chem*. 2009;55(5):1002–10.
- Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A. Anemiler. In: Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A, eds. *Temel Pediatri*. 1th edition. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2010;975981.
- Hay G, Clausen T, Whitelaw A, Trygg K, Johnston C, Henriksen T, et al. *Maternal Folate and Cobalamin Status Predicts Vitamin Status in Newborns and 6-Month-Old Infants*. *J Nutr*. 2010;140(3):557–64.
- Hendrickson JE, Desmarests M, Deshpande SS, Chadwick TE, Hillyer CD, Roback JD, et al. Recipient inflammation affects the frequency and magnitude of immunization to transfused red blood cells. *Transfusion*. 2006;46(9):1526-36.
- Herve P, Humbert M, Sitbon O, Parent F, Nunes H, Legal C et al. (2001) Pathobiology of pulmonary hypertension: the role of platelets and thrombosis. *Clin Chest Med* 22(3):451–458.
- Hoffmann J. Reference range of mean platelet volume. *Thrombosis research*. 2012;129(4):534-5.
- Homas D Coates M. Laboratory evaluation of neutrophil disorders Jun 2020.
- Hong H, Xiao W, Maitta RW. Steady increment of immature platelet fraction is suppressed by irradiation in single-donor platelet components during storage. *PLoS One* 2014;9(1):e85465.
- Hvas A-M, Nexø E. *Diagnosis and treatment of vitamin B 12 deficiency*. An update. *Haematologica* 2006;9: 1506-12.
- Jakubik LD, Cockerham J, Altmann AR, Grossman MB. The ABCs of pediatric laboratory interpretation: understanding the CBC with differential and LFTs. *Pediatr Nurs* 2003; 29: 97–103.
- Ileana, HS., Rafeal, MR., Mauro BS, 2007, Prevalence of mild serum vitamin B12 deficiency in rural and urban Costa Rican young adults, *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 22(6).

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Issac TG, Soundarya S, Christopher R, Chandra SR. *Vitamin B12 deficiency: an important reversible co-morbidity in neuropsychiatric manifestations*. Indian J Psychol Med. 2015;37(1):26-9.
- John, RG., Graff, P., 2020, Megaloblastic Anemia, Atlas of Diagnostic Hematology, Pages 47-51.
- Kacheal, V., Siznig of cells by the electrical resistance pulse technique. Cell anlysis 1, chapter 7.
- Kahl L, Hughes HK. Johns Hopkins Hospital The Harriet Lane Handbook, 21. Edition, Chapter 14, Elsevier, Nobel Kitapevleri, 2017:365.
- Kara, E., Ebinç, S., Ekinci, Ö., Demir, C., (2016), Megaloblastik Anemi Tanılı 34 Hastanın Laboratuvar Parametreleri Açısından Değerlendirilmesi, Van Tıp Derg Cilt:23, Sayı:1.
- Kargın NÇ, Marakoğlu K. Çocuklarda ve Adolesanlarda Anemiye Yaklaşım. Türkiye Klinikleri J Fam Med Special Topics 2016; 7: 12-6.
- Kaya Z. Tam kan sayım çıktılarının yorumlanması. Dicle Tıp Dergisi. 2013;40(3):521-8.
- Kaygusuz, I., (2017), Anemiye Yaklaşım, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı.
- Khandekar MM, Khurana AS, Deshmukh DS, Kakrani AL, Katdare AD, Inamdar AK. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. J Clin Pathol 2006;59(2):146-9.
- Klee GG (2000). Cobalamine and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocystein vs vitamin B12 and folat. Clin Chem, 46, 1277-1283.
- Koç, A. (2017), *Genetik Bozukluklarla İlişkili B12 Vitamini Eksiklikleri*, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi BD.
- Koz, M. (2021), Kan Fizyolojisi, Spor Bilimleri Fakültesi, Antrenörlük Eğitimi Bölümü.
- Lambert MP, Poncz M. Inherited platelet disorders. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE, eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7th ed. Philadelphia. Saunders Elsevier, 2009:1463-1483.
- Lanzkowsky, P.(2011), *Megaloblastic Anemia*. In: Manual of Pediatric Hematology and Oncology 5th ed New York: Academic Press :58-86. 46.
- Lanzkowsky P. Chapter 7 – Megaloblastic Anemia [Internet]. Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. Elsevier Inc.; 2016. 84–101 p.
- Lawrence LK Leung M. Approach to the adult with anemia Jun 2020 [updated Apr 10, 2020].
- Leal NA. *B12 Metabolisms In Humans*. Dissertation for Doctora Of Philosophy. University of Florida. Florida 2004:1-156.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP et al. *Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations* The American Journal of Hematology. 1990; 34: 99–107.
- Maconi, M., Cavalca, L., Danise, P., Cardarelli, F., & Brini, M. (2009). *Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: comparison of two methods. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 69(3), 365–370. doi:10.1080/00365510802657673.
- Maralcan, M; Ellidokuz, E. (2004), *Vitamin B12 eksikliği*, Güncel Gastroenteroloji, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Afyon.
- Matthew S Davids M, MMSc. Approach to the adult with lymphocytosis or lymphocytopenia 2019.
- McCaddon A, Hudson P, McCracken C, Ellis R, McCaddon A. *Biological variation of holo-transcobalamin in elderly individuals*. Clin Chem. 2003;49(9):1542–4.
- McLean E, Egli I, Wojdyla D, De Benoist B. . Worldwide prevalence of anaemia, WHO vitamin and mineral nutrition information system, 1993–2005. Public health nutrition. 2009:444-54.
- MEB., (2011), Otoanalizörde Hematolojik Analizler, Tıbbi Laboratuvar, Ankara.
- Mekik, H., (2021), “Temel Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi”, Tekirdağ Tabip Odası.
- Metz J, Bell AH, Flicker L, Bottiglieri T, Ibrahim J, Seal E, Schultz D. *The significance of subnormal serum vitamin B12, concentration in older people: a case control study*. J Am Geriatr Soc 1996;44:1355–1361.
- Milcic TL. The Complete Blood Count Neonatal Netw. 2010 Mar-Apr 1;29(2):109-15.
- 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.
- Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN, et al. *Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency*. Clin Chem. 2006 Feb;52(2):278–85.
- Morkis, IV., Farias, MG., Scotti, L., (2016), “Determination of reference ranges for immature platelet and reticulocyte fractions and reticulocyte hemoglobin equivalent“, Rev Bras Hematol Hemoter. 2016 Oct-Dec; 38(4): 310–313.
- Monsen A-LB, Refsum H, Markestad T, Ueland PM. *Cobalamin status and its biochemical markers methylmalonic acid and homocysteine in different age groups from 4 days to 19 years*. Clin Chem. 2003 Dec;49(12):2067–75.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Mullier, F., Lainey, E., Fenneteau, O., Da Costa, L., Schillinger, F., Bailly, N., Chatelain, B. (2010). Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: results of a multicentre study. *Annals of Hematology*, 90(7), 759–768.
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, et al. *Micronutrients: Vitamins & Minerals*, Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition. The McGraw-Hill Companies, 2009; 467-81.
- Müftüoğlu, O. (2006), Periferik yaymanın yorumlanması ve tanıdaki önemi, 8.ulusal iç hastalıkları kongresi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Hematoloji Bilim Dalı, Diyarbakır.
- Naess A, Mo R, Nilssen SS, Eide GE, Sjursen H. Infections in patients hospitalized for fever as related to duration and other predictors at admittance. *Infection*. 2015; 42:485–92.
- Nasreddine L HN, Sibai A, Hamze M, Parent-Massin D. . *Food consumption patterns in an adult urban population in Beirut*, Lebanon. *Public Health Nutr*. 2006:194-203.
- Nielsen MJ, Rasmussen MR, Andersen CB, Nexø E, Moestrup SK. *Vitamin B12 transport from food to the body's cells--a sophisticated, multistep pathway*. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(6):345-54.
- Nurlu, C. (2020). *Farklı Tedavi Yöntemleri Kullanan Erişkin Tip II Diyabet Hastalarında Vitamin B12 ve MCV Düzeylerinin Karşılaştırılması*, Uzmanlık Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma Ve Uygulama Hastanesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Tokat.
- Obeid R, Herrmann W. *Holotranscobalamin in laboratory diagnosis of cobalamin deficiency compared to total cobalamin and methylmalonic acid*. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(12):1746–50.
- Ocakçı S. Birinci basamakta demir ve B12 eksikliği anemilerine yaklaşım. *Smyrna Tıp Derg* 2012;eksayı1:51-3.
- Olteanu H, Banerjee R. *Cobalamin-dependent remethylation*. In: Carmel R, Jacobsen DW, editors. *Homocysteine in health and disease*. Cambridge UCUP 2001. p. 135–44.
- Oski FA. Differential diagnosis of anemia. In: *Hematology of Infancy and Childhood*. Nathan DG, Oski FA, editors. 5th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 2003; 419-456.
- Otsubo H, Kaito K, Asai O, Usui N, Kobayashi M, Hoshi Y. Persistent nucleated red blood cells in peripheral blood is a poor prognostic factor in patients undergoing stem cell transplantation. *Clin Lab Haematol*. 2005;27:242-6.
- Özet, G., (2021), “Anemilere Yaklaşım”, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Özkan, E., Hüsrevşahi, H., (2018), Çocuklarda Anemiye Yaklaşım, *Klinik Tıp Pediatri Dergisi* Cilt: 10 Sayı: 1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Özkanay, H. (2020). *Vitamin d, vitamin b12, folat ve ferritin parametrelerinin biyolojik varyasyonu*, Uzmanlık Tezi, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Özlü SG. Ailevi Akdeniz Ateşli Olgularında Gen Mutasyonları ve Hastalık Ağırlık Skorlaması İlişkisi; Kolşisin Tedavisinin Kan B12 Vitamini Düzeylerine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2006: 1-69.
- Pehlivan, A. (2020). *6-18 yaş arası çocuklarda nütrisyonel vitamin b12 eksikliğinde oral kobalamin tedavisinin etkinliğinin retrospektif değerlendirilmesi*, Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Trabzon.
- Prchal JT, Levi MM. Williams hematology. New York: The McGraw-Hill Companies; 2010.
- Puca., E., Bitri, S., Dyrnishi, B., Lumi, E., Daka, A., Puca., E., 2020, The association of vitamin B12 deficiency with metformin uses, 22nd European Congress of Endocrinology, volume 70.
- Rakel, R.E., Textbook of Family Practice. Vol. 5. 2011. 3-19.
- Rasmussen, S.A., Fernhoff, P.M., & Scanlon, K.S. *Vitamin B12 deficiency in children and adolescents*, Medical Progress, 2001; 10-7.
- Ratnakar, AV., 2013, Megakaryocytic changes in thrombocytopenia in bone marrow aspiratin, Doctor of medicine, Rajiv Gandhi University of Health Sciences , Bangalore, Karnataka.
- Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al. *Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion*. Clin Chem. 2004 Jan;50(1):3–32.
- Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR, et al: Crystalline vitamin B12. Science 1948; 107:396.
- Robert C. Oh, Cpt, Mc, Usa, U.S., *Army Health Clinic*, Darmstadt, Germany David L.Brown, Maj, Mc, Usa Madigan Army Medical Center, Fort Lewis, Washington Am Fam Physician. 2003 Mar 1;67(5):979-86.
- Ryan DH. Examination of the Blood. In:Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, eds. Williams Hematology. 6 th ed.United States of America. McGraw Hill, 2001:9-16.
- Sağlık Bakanlığı. *Türkiye Beslenme Rehberi (TÜBER)-2015* (2016). Yayın No: 1031, Ankara. 122.
- Sally Fallon and Mary Enig. *Vitamin B12: Vital Nutrient for Good Health*. 30 Jul 2005.
- Samur, G., 2008, VİTAMİNLER MİNERALLER VE SAĞLIĞIMIZ, Hacettepe Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü.
- Santos, J. A., Rempel, S., Mous, S. T., Pereira, C. T., ter Beek, J., de Gier, J.-W., Slotboom, D. J. (2018). *Functional and structural characterization of an ECF-type ABC transporter for vitamin B12*. eLife, 7.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Saxena, S., Weiner, J. M., & Carmel, R. (1988). *Red Blood Cell Distribution Width in Untreated Pernicious Anemia. American Journal of Clinical Pathology*, 89(5), 660–663. doi:10.1093/ajcp/89.5.660.
- Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. *Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. Am J Med*1994; 96:239-246.
- Scafidi, Jason M.; Gupta, Vikas. 2021, *Histology, Howell Jolly Bodies*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Schafer G. *Some New aspects on the interaction of hypoglycemiaproducing biguanides with biological membranes. Biochem Pharmacol* 1976 Sep;25(18):2014-24. 64.
- Schoorl, M., (2016), “Innovative haematological parameters in clinical practice”, *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2016; 41: 6-16.
- Schrier, M. .(2018). Approach to the adult with anemia. https://somepomed.org/articulos/contents/mobipreview.htm?33/12/33985?source=see_link.
- Scott JM, Molloy AM. *The discovery of vitamin B12. Annals of Nutrition and Metabolism*. 2012;61:239-245.
- Seetharam B, Bose S, Li N. *Cellular Import Of Cobalamin (Vitamin B-12). J Nutr* 1999; 129: 1761-4.
- Segal HC, Briggs C, Kunka S, et al. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. *Br J Haematol* 2005; 128: 520–5.
- Serin E, Gumurdulu Y, Ozer B, Kayaselcuk F, Yilmaz U, Kocak R. *Impact of Helicobacter pylori on the development of vitamin B12 deficiency in the absence of gastric atrophy. Helicobacter*. 2002 Dec;7(6):337-41.
- Smetltzer, SC., Bare, B.,(2004), *Ds BLS. Textbook of Medical Surgical Nursing*, Ten edition Tahrán. :261-7.
- Snow CF. *Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. Arch Intern Med* 1999;159:1289-1298.
- Sözer, Ö. (2020). *Keratokonus hastaları ve kontrol grubunda vitamin b12, folat(b9), riboflavin(b2) ve homosistein kan düzeylerinin araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Stopa EG, O'Brien R, Katz M. *Effect of colchicine on guinea pig intrinsic factor vitamin B12 receptor. Gastroenterology*. 1979 Feb; 76 (2):309.
- Syed EU, Wasay M, Awan S. *Vitamin B12 supplementation in treating major depressive disorder: a randomized controlled trial. Open Neurol J*. 2013;7:44-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Şerefhanoglu, S.; Aydoğdu, İ.; Kekili, E.; Kuku, İ. (2006), *Holotranskobalamin u'nin rıa ile ölçümünün megaloblastik anemi tanısındaki değeri ve diğer tanı parametreleri ile karşılaştırılması*, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 32 (1) 9-13.
- Tatsumi, N., 1985, Evaluation of a new blood cell counter with sheath flow system. Cytometry;6, 395-400.
- Thom, R., Kacheal, V., 1970, Fortschritte fuer die elektronishe grössenbestimmung von blutkörperchen blut, 21;48-50.
- Thomson ABR, Sauve MD, Kassam N, Kamitakahara H. Safety of the long-term use of proton pump inhibitors. World J Gastroenterol. 2010 May 21; 16(19): 2323–30.
- Thompson, MA., (2013), A guide to red blood cell indices”, Demos Medical.
- To, M., Villatoro, V., 2018, Tear Cells (Dacrococytes, Teardrops), A Laboratory Guide To Clinical Hematology, 77-78.
- Toki, Y., Ikuta, K., Kawahara, Y., Niizeki, N., Kon, M., Enomoto, M., ... Okumura, T. (2017). *Reticulocyte hemoglobin equivalent as a potential marker for diagnosis of iron deficiency. International Journal of Hematology, 106(1), 116–125.* doi:10.1007/s12185-017-2212-6.
- Topçuoğlu, P., (2018), “Tam kan sayımı ve değerlendirme”, Ankara Üniversitesi Hematoloji BD.
- Tracy I, George M. Automated hematology instrumentation 2020 [updated Mar 30.
- Turgut, B., (2010), “Anemi Klinisyen İçin Ne Kadar Önemli?”, Trakya Univ Tıp Fak Derg 2010;27 Suppl 1:31-34.
- Türk Hematoloji Derneği, (2014), *B12 vitamini eksikliği*, Tanı ve Tedavi Kılavuzu.
- Urrechaga, E., Borque, L., Escanero, jf., (2009), “Potential utility of the new Sysmex XE 5000 red blood cell extended parameters in the study of disorders of iron metabolism”, Clin Chem Lab Med, 47(11): 1411-1416.
- Ünal S. Cecil Texbook of Medicine (L. Goldman, D.Ausiello). 22. Baskı. Güneş Yayın Evi, 2006: 963-75.
- Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, Katsibourlia E, Tsikopoulou F, Labrianou I. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. Hippokratia 2010;14(1):28.
- Van Cott EM, Lewandrowski KB, Patel S, et al. Comparison of glass K3EDTA versus plastic K2EDTA blood drawing tubes for complete blood counts, reticulocyte counts and white blood cell differentials. Lab Hematol 2003;9:10-14.
- Vugteveen I, Hoeksma M, Monsen A-LB, Fokkema MR, Reijngoud D-J, van 68 Rijn M, et al. *Serum vitamin B12 concentrations within reference values do not exclude functional vitamin B12 deficiency in PKU patients of various ages.* Mol Genet Metab. 2011 Jan;102(1):13–7.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Ward PC. The CBC at the turn of the millennium: an overview. *Clinical chemistry*. 2000;46(8):1215-20.
- William F. Kern, MD. Hematology PDQ, 1.Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal yayıncılık, 2005;1-15.
- Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR, et al. *Megaloblastic Anemias Disorders Of Impaired DNA Synthesis*. In: *Clinical Hematology*. 8th ed. Philadelphia: Lea and Febiger.1981:559-604.
- Wong, M. P., Wadsworth, L., Wu, J. K., & Dix, D. (2008). Case 2: A pale infant – not a typical case of iron deficiency. *Paediatrics & Child Health*, 13(6), 507–511. doi:10.1093/pch/13.6.507a.
- Wong CW. *Vitamin B12 deficiency in the elderly: Is it worth screening?* Hong Kong Med J. 2015;21(2):155–64.
- Yazıcı S, Çelik T, Seyrek K. Çocukluk çağında anemi sıklığı. İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Dergisi 2012; 2(1):6-9.
- Yıldız, A, Albayrak M, Erişkinlerde Demir Eksikliği Anemisi Tedavisi. Türkiye Klinikleri Journal of Hematology, 2017. 10(3): s. 182-187.
- Yıldız, M., (2021), “Tam kan sayımı sonuçlarının değerlendirilmesi”, Sanko Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Hematoloji BD.
- Yılmaz, S. (2019). *Vitamin B12 yetersizliğine yaklaşım*. Konuralp Tıp Dergisi 2019;11(3): 482-488.
- Yörük, H. (2020). *Vitamin d, vitamin b12, folat ve ferritin parametrelerinin biyolojik varyasyonu*, Uzmanlık Tezi, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Yu MK, Rodgers GM. *Detection of occult cobalamin deficiency by magnetic resonance imaging*. Am J Hematol 2000; 65:83-84.
- Yükkaldıran, P. (2020), *Suriyeli çocuklarda serum demir, b12 vitamini folat düzeyleri ve anemi ile ilişkileri*, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol* 2007;29:4-20.