

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUKLUK ÇAĞI METFORMİN KULLANIMI VİTAMİN B12
EKSİKLİĞİNE YOL AÇAR MI?

Dr. Özen TAŞ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na
15.06.2018 tarih ve 9L0230003 protokol numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA 2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUKLUK ÇAĞI METFORMİN KULLANIMI VİTAMİN B12
EKSİKLİĞİNE YOL AÇAR MI?

Dr. Özen TAŞ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. F. Tuba EMİNOĞLU

ANKARA 2020

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Özen Taş	Sınav tarihi: 29/06/ 2020
Anabilim/Bilim Dalı	: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
Tez Danışmanı	: Doç. Dr. Fatma Tuba Eminoğlu	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Çocukluk çağı metformin kullanımı vitamin B12 eksikliği yapar mı?	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1 ☒ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı
Unvanı, Adı, Soyadı
Doç. Dr. Fatma Tuba Eminoğlu
Pediatrik Metabolizma Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Merih Berberoğlu
Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Leyla Tümer
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Pediatrik Metabolizma Bilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



ÖNSÖZ

Eğitimim süresince benden bilgisini, deneyimini, özverili yaklaşımlarını esirgemeyen, hekimlik mesleğine dair bana örnek olan başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Saadet Arsan olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Tez yazma süreci boyunca bana bilgisi, sabrı ve anlayışıyla yaklaşan değerli tez danışmanım Doç. Dr. F. Tuba Eminoğlu'na,

Tez döneminde yardımlarını esirgemeyen Dr. Özlem Doğan'a,

Asistanlık sürecinde tanımaktan ve beraber çalışmaktan inanılmaz mutlu olduğum güzel dostlarım ve bu ekip işini keyifle yürütmemi sağlayan tüm arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olduklarını hissettiğim tüm sevdiğim güzel insanlara,

Son olarak tüm hayatım boyunca bana her zaman destek olan, beni yetiştiren, bugünlere gelmemde en büyük katkıya sahip güzel aileme,

Sonsuz teşekkür ve minnetle...

Dr. Özen TAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

BEYAN.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLOLAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Pediatrik Yaş Grubunda Tip 2 Diabetes Mellitus.....	4
2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	4
2.1.2. Tip 2 DM Tanısı.....	6
2.1.3. Pediatrik Tip 2 DM Hastaları için Tedavi Seçenekleri.....	7
2.1.3.1. Metformin.....	8
2.1.3.1.1. Metformin Kullanımı ve Etki Mekanizması.....	8
2.1.3.1.2. Metformin Kullanımının Yan Etkileri.....	9
2.1.3.1.2.1. Gastrointestinal Yan Etkiler.....	9
2.1.3.1.2.2. Laktik Asidoz.....	10
2.1.3.1.2.3. Vitamin B12 eksikliği.....	10
2.1.3.1.2.4. Metformin Kullanımının Sakıncalı Olduğu Durumlar.....	11
2.2. Vitamin B12.....	11
2.2.1. Vitamin B12 Eksikliği.....	14
2.2.1.1. Vitamin B12 Eksikliğinin Belirtileri.....	15

2.2.1.1.1. Hematolojik Belirtiler.....	15
2.2.1.1.2. Gastrointestinal Belirtiler.....	17
2.2.1.1.3. Nöropsikiyatrik Belirtiler.....	17
2.2.1.2. Vitamin B12 Eksikliğinde Biyokimyasal Belirteçler ve Tanısal Testler.....	19
2.2.1.2.1. Serum Vitamin B12 ölçümü.....	19
2.2.1.2.2. MMA Testi.....	21
2.2.1.2.3. Holo-TC-II Testi.....	23
2.2.1.2.4. Homosistein Testi.....	25
2.2.1.3. Vitamin B12 Eksikliği ve Metformin.....	27
2.2.1.3.1. Metforminin Vitamin B12 Düzeyine Etkisi.....	27
2.2.1.3.2. Metformin İlişkili Vitamin B12 Düzey Düşüklüğünün Mekanizması.....	29
2.2.1.3.3. Metforminin Hücrel Vitamin B12 Belirteçlerine Üzerine Etkisi.....	30
2.2.1.3.3.1. Homosistein Düzeyine Etkisi.....	30
2.2.1.3.3.2. MMA Düzeyine Etkisi.....	32
2.3. Metformin İlişkili Vitamin B12 Eksikliği.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Kan Örnekleri.....	36
3.1.1. Vitamin B12 Çalışma Yöntemi.....	37
3.1.2. Aktif B12 Çalışma Yöntemi.....	37
3.1.3. Homosistein Çalışma Yöntemi.....	37
3.1.4. MMA Çalışma Yöntemi.....	37
3.2. İstatistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR.....	39

5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR.....	67
ÖZET.....	69
SUMMARY.....	71
KAYNAKLAR.....	73
EKLER.....	82
EK-1. Hasta Bilgilendirme ve Onam Formu.....	82
EK-2. Çocuk Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu.....	85

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
DM	: Diabet Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EASO	: Avrupa Obezite Çalışmaları Birimi
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GC-MS	: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptit-1
Hb	: Hemoglobin
HbA1c	: Hemoglobin A1c
Holo-TC-II	: Holotranskobalamin-II
IF	: İntrinsik Faktör
KCFT	: Karaciğer Fonksiyon Testleri
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi
MALA	: Metformin ilişkili laktik asidoz
MCV	: Mean Korpusküler Volüme(Ortalama Eritrosit Hacmi)
Metil-THF	: Metil Tetrahidrofolat
MMA	: Metil Malonik Asit
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
TC-I	: Transkobalamin-I
TC-II	: Transkobalamin-II
THF	: Tetrahidrofolat
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 4.1: Olguların cinsiyet dağılımı.....	39
Tablo 4.2: Olguların vücut kitle indeksi (VKİ) ve günlük metformin dozu açısından dağılımı.....	40
Tablo 4.3: Olguların tanılarına göre dağılımı.....	40
Tablo 4.4: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında hemoglobin (Hb) ve MCV değerleri	41
Tablo 4.5: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında Hb ve MCV değerlerinin karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.6: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında Hb, MCV değerlerinin karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.7: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında vitamin B12 değerleri	44
Tablo 4.8: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında vitamin B12 değerlerinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.9: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında vitamin B12 değerlerinin karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.10: Metformin tedavisinin 0., 6.ve 12. ayında homosistein değerleri.....	46
Tablo 4.11: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında homosistein değerlerinin karşılaştırılması.....	46
Tablo 4.12: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında homosistein değerlerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 4.13: Hastaların metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında MMA değerleri ..	47
Tablo 4.14: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında MMA değerlerinin karşılaştırılması.....	48
Tablo 4.15: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında MMA değerlerinin karşılaştırılması.....	49

Tablo 4.16: Hastaların metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında Holo-TC-II değerleri	49
Tablo 4.17: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında Holo-TC-II değerlerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.18: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında değerlerinin Holo-TC-II değerlerinin karşılaştırılması.....	51



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1: Diyetle alınan Vitamin B12'nin emilimi, hedef hücreye taşınması ve hedef hücredeki metabolik yollar.....	13
Şekil 2.2: Kobalamin endositozu ve intraselüler metabolizması.....	14
Şekil 2.3: Kemik iliğindeki megaloblastik çekirdek değişiklikleri.....	16
Şekil 2.4: Vitamin B12 eksikliğine bağlı spinal kordda subakut kombine dejenerasyon görünümü.....	18
Şekil 2.5: D-metilmalonil CoA metabolizması.....	22
Şekil 2.6: Vitamin B12'nin hedef hücreye taşınması.....	23
Şekil 2.7: Hedef hücreye alınan vitamin B12 ve hedef hücredeki metabolik yollar.....	25
Şekil 2.8: Vitamin B12-homosistein ilişkisi.....	26
Şekil 2.9: Metforminin vitamin B12 emilimini engelleme mekanizması.	30
Şekil 4.1: Olguların yaşa göre dağılımı.....	39
Şekil 4.2: Vitamin B12 değerleri ile holo-TC-II değerleri arasındaki korelasyon....	51
Şekil 4.3: Homosistein ile holo-TC-II değerleri arasındaki korelasyon.....	52

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite prevalansının gün geçtikçe artması, hiperinsülinemi ve insülin rezistansına yol açarak, glikoz intoleransına sebebiyet vermektedir. Obezite ile diyabet arasındaki bağlantı insülin direnci ile ilişkilidir. Tip 2 diabetes mellitusun (DM) ortaya çıkışındaki temel mekanizmanın hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İnsülin rezistansı ve glikoz intoleransı, Tip 2 DM gelişiminin patogeneğinde ilk aşama olarak rol oynamakta ve pankreas β -hücre fonksiyonlarında azalma ile Tip 2 DM gelişimi hızlanmaktadır (1). Ağır hiperinsülinemi ve insülin direnci, santral obezite ile paralel seyretmektedir. Obez bireylerde insülinin etkisi normal fizyolojiden farklıdır. İnsülin etkisinin başlamasındaki gecikme ile birlikte insülinin hızlı deaktivasyonu, oral glikoz yükleme sırasında ya da öğünlerde insülinin etkisini azaltarak hiperinsülinemiye rağmen insülin düzeyinde fonksiyonel bir yetmezliğe yol açar.

Avrupa Obezite Çalışmaları Birimi'nin (EASO) 1990-2000 yılları arasında yaptığı çalışmanın verilerine göre; 14-17 yaş arası popülasyonda %16-22 oranında obez veya fazla kilolu birey bulunmaktadır. Aynı çalışmada yıllık obezite prevalansındaki artış %2 olarak bildirilmiştir (2).

Tip 2 DM tüm dünyada insidansı artan kronik metabolik bir bozukluktur. Tip 2 DM'nin halk sağlığındaki yeri ve komplikasyonlarına yönelik yapılan bir araştırmaya göre; 2035 yılı için Fransa ve Belçika'da DM oranının %17, ABD, Birleşik Krallık'ta %22, Kanada'da %31, Avrupa ülkeleri bir arada değerlendirildiğinde ise %3-17 oranları arasında bir artış olacağı öngörülmektedir (3). Tip 2 DM'de kontrolsüz bir süreç söz konusu ise, bu tablonun makrovasküler ve mikrovasküler bir dizi komplikasyona yol açtığı bilinmektedir.

Tip 2 DM ve obezite tedavisinde yaşam tarzı değişikliği, klinik pratikte uzun dönem başarı için önemli olmakla birlikte çoğunlukla tek başına yeterli değildir. Tip 2 DM gelişimini önlemek ve Tip 2 DM tanılı çocuk hastalarda glisemik kontrolü sağlamak açısından alternatif tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Avrupa ve Amerikan

rehberlerinde; Tip 2 DM için metformin ilk basamak farmakolojik tedavi seçeneği olarak önerilmektedir (4).

Metformin; güvenilirliği, etkinliği, metabolik ve kardiyovasküler yararları da göz önünde bulundurulduğunda pediatrik Tip 2 DM ve obezite vakalarında popüler bir seçenek olmaya başlamıştır. Metformin (1,1-dimetilbiguanide-hidroklorid); biguanid türevi insülin sensitize edici antihiperglisemik bir ilaçtır. 10 yaş üzerinde Tip 2 DM vakalarında kullanımı FDA (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi) onaylı bir ajandır (2). Metformin; intraselüler glikojen sentezini stimüle ederek, hepatik glikoz üretimini (glikoneogenezi) ve intestinal glikoz emilimini azaltarak, insülin sensitivitesini artırarak etki göstermektedir. Bunun yanı sıra, kas dokusunda da glikoz kullanımını arttırmaktadır. Yapılan çalışmalara göre diabetik olmayan çocuk ve erişkinlerde metformin kullanımı, azalmış besin alımını da sağlamaktadır (2).

Pek çok klinik yararlanımının yanı sıra metforminin yan etkileri de mevcuttur. Bu yan etkilerden bir tanesi; klinik olarak önemli olan ve saptanıp tedavi edilebilen bir durum olan vitamin B12 düşüklüğüne sebebiyet vermesidir. İlk olarak 1969'da Berchtold ve ark. tarafından en az 3 ay metformin ile tedavi gören obezite/tip 2 DM ile takipli 9 hasta incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda vitamin B12 malabsorbsiyonuna ilişkin kanıtlar bildirilmiştir (5).

1971 de Tomkin ve ark. tarafından yapılan ve 71 erişkin tip 2 diyabet hastasının incelendiği bir diğer çalışmaya göre de; uzun dönem metformin tedavisi almakta olan Tip 2 DM hastalarının 21'inde ilaç ilişkili vitamin B12 malabsorbsiyonu gelişimi saptanmıştır (6). Bu çalışmaların öncülüğünü ettiği diğer pek çok çalışmada da metformin kullanımı ve düşük serum vitamin B12 düzeyleri arasındaki ilişkiye yönelik çeşitli düzeylerde kanıtlar sunulmuştur.

Metformin kullanan hastalarda bildirilen vitamin B12 eksikliği prevalansı %5,8 ve %52 arasında geniş bir aralıkta değişkenlik göstermektedir (7). Bunun nedeni vitamin B12 eksikliğinin taranmasına yönelik hangi parametrelerin kullanılacağı ve ideal "cut-off" değerleri için kesinleşen bir konsensus bulunmamasıdır. Literatürde;

metformin kullanan çocuklarda vitamin B12 düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Son yıllarda Tip 2 DM ve obezite prevalansındaki artış ile paralel metformin kullanımında da belirgin bir artış söz konusudur. Günümüzde metforminin vitamin B12 seviyesini düşürdüğüne dair fikirbirliği mevcuttur. Ancak halen tartışılan konu; metforminin hücresele düzeyde eksikliğe ve bunun sonucunda klinik bulgulara neden olup olmadığı üzerinedir. Vitamin B12 eksikliğini belirlemek için altın standart testlerin olmaması, bu konunun halen tartışılmasına katkı sağlamaktadır.

Bu projedeki amacımız; Tip 2 DM, obezite, insülin direnci nedeniyle metformin kullanan çocuklarda; vitamin B12 eksikliğini oluşup oluşmadığını ve eğer oluşuyor ise hücresele düzeyde bir eksiklik gözlenip gözlenmediğini ve klinik bulguya neden olup olmadığını araştırmaktır. Erişkin dönemde metformin kullanımının vitamin B12 eksikliğine yol açtığına yönelik çok sayıda çalışma olup, literatürde çocukluk çağında bu konuya yönelik yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile; çocuklarda metformin kullanımı sonrasında vitamin B12 eksikliğini gelişip gelişmediğine yönelik biyokimyasal parametreler ile değerlendirmeler yapıp, kliniğe yön verecek açılımlar sağlanması planlanmıştır. Aynı zamanda bu çalışma ile çocuklarda metformin kullanımının güvenilirliği ve metformin kullananlarda vitamin B12 desteğine ihtiyaç olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Pediatric Yaş Grubunda Tip 2 Diabetes Mellitus

2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Tanımı ve Epidemiyolojisi

Tip 2 DM multigenik, multifaktöriyel etiyolojisi ile komplike, kronik bir metabolik hastalıktır. Tip 2 DM tanısı 30 yıl öncesine kadar erişkinlerde sık saptanmakta olup çocuk ve adolesan yaş grubu için ender olarak nitelendirilebilecek sıklıkta idi (8). 1990'ların başında ABD'de çocuklarda ve adolesan yaş grubunda Tip 2 DM tanılı hastalar, yine aynı yaş popülasyonunda tüm DM tanılı hastaların ancak %3'ünü oluşturmaktaydı (9). 2007 yılında Dabelea ve ark. tarafından yapılan bir çalışmaya göre; Tip 2 DM'nin tüm pediatrik diabet vakalarının %20'sini oluşturduğu ve bu vakaların yaklaşık yarısının 15-19 yaş aralığında olduğu bildirilmiştir (10). 1990'ların başından beri çocuk ve adolesan yaş grubunda Tip 2 DM insidansı, obezite prevalansının artışı ile birlikte tüm dünyada artış göstermektedir. Yapılan güncel çalışmalara göre; yeni DM tanılı çocuk ve adolesanların %8-45'i Tip 2 DM tanısı almaktadır (10). 2001-2009 yılları arasında Tip 2 DM prevalansında %30,5 artış olduğu kaydedilmektedir (11).

Tip 2 DM; yatkın bireylerde genetik ve çevresel faktörlerin kompleks bir ilişkisi sonucunda oluşmaktadır. Tip 2 DM gelişimi için risk faktörleri; obezite, aile öyküsü, kız cinsiyet, insülin direncine yatkınlık yapan durumlar olarak sayılabilmektedir.

Obezite; Tip 2 DM gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. ABD'de de yapılan bir çalışmaya göre çocuk ve adolesan yaş grubu Tip 2 DM hastalarının %80'i obez, %10'u fazla kilolu olarak saptanmıştır (12). Görülmektedir ki; obezite ve beraberinde yatkınlık yarattığı insülin direnci tablosu çocuk ve adolesan yaş grubundaki Tip 2 DM prevalansında artışın etyopatogenezinde önemli rol oynamaktadır. Obezite periferik dokularda insülin bağımlı glikoz kullanımına karşı direnci arttırarak Tip 2 DM'ye yatkınlığı arttırmaktadır.

İnsülin direnci obezitenin yaygın bir bulgusu olup; Tip 2 DM, hiperlipidemi, hipertansiyon, akantozis nigrigans, ovaryen hiperandrojenizm ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi klinik tablolar ile ilişkilendirilebilir (8). İlk olarak pankreatik beta hücreleri insülin direncini kompanse edebilmek için insülin sekresyonunu arttırma yoluna giderler; ancak bu durum glikoz intoleransında, patogenezdaki ilk basamağı oluşturmaktadır. Hiperinsülinemi tablosu; diğer taraftan artmış besin alımına ve kilo artışına neden olmaktadır. Sürecin devamında pankreatik beta hücrelerinin fonksiyonu azalmakta olup, yetersiz insülin sekresyonu ile giden glikoz intoleransı sürecine geçiş gözlenmektedir. Bu tablo da Tip 2 DM gelişimi ile devam etmektedir.

Tip 2 DM'nin patogenezinde hiperinsülinemi, insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu rol oynamaktadır. İnsülin direnci patogeneizde önemli olup, obezite gibi insülin direncine yatkınlık yaratan durumlarla Tip 2 DM'nin ilişkisi güçlenmektedir. Önceki çalışmalar; aynı yaş grubu çocuk ve adolesanlarda Tip 2 DM prevalansındaki artışın obezite prevalansındaki artış kadar yüksek olmadığını bildirmektedir. 2003-2004 yılları arasında çocukluk çağı obezite oranları %17'lerdeyken, 2011-2014 yılları arasında ise %9 artış yaparak %26'lara çıkmıştır (13). Bu durum son yıllardaki pediatrik tip 2 DM'li vakalardaki artış ile ilişkili bulunmuştur.

Fagot-Campagna ve ark.'nın Ohio'da 10-19 yaş grubu Afrikan-Amerikan ve beyaz ırkı dahil ettiği bir çalışmada; adolesan yaş grubunda kızların erkeklere göre 1.3-1.7 kat daha fazla Tip 2 DM gelişimine yatkın olduğu bildirilmiştir (14). Adolesan kızlarda görülen bu artmış riskin nedeni, adolesan çağıdaki kızlarda sık görülen polikistik over sendromu (PCOS) ve bu durumun yol açtığı insülin direnci ile ilişkilendirilebilir. PCOS tablosunda, insülin direnci tablonun bir komponenti olarak geliştiği için Tip 2 DM için yatkınlık yaratmaktadır.

Çocukluk çağı Tip 2 DM vakalarının çoğu puberte başlangıcı ile birlikte (ortalama yaş:13,5) tanı almaktadır. Bu durum pubertenin fizyolojik insülin direncine yol açan bir süreç olduğu bilgisini destekleyici niteliktedir (15). Yapılan çalışmalara göre puberte evresinde insülin sensitivitesi, büyüme hormonunun artmış aktivitesine bağlı olarak %30 oranında düşüş göstermektedir (16). Çocukluk çağı Tip 2 DM

vakalarının %40'ı 10-14 yaş arasında, kalan %60'ı ise 15-19 yaş arasında tanı almaktadır (10).

Etiyolojide öne sürülen bir diğer hipotez ise; prenatal dönemde maternal beslenme yetersizliği veya gestasyonel diabete maruz kalmanın metabolik ve hormonal değişikliklere yol açarak çocuklarda ve adolesan dönemde tip 2 DM gelişimine neden olabileceğidir. “Metabolik programlanma” olarak adlandırılan bu durum; yaşamın ileri döneminde obezite ve insülin direncini arttırarak Tip 2 DM gelişimi için risk faktörü olarak değerlendirilmektedir.

2.1.2. Tip 2 DM Tanısı

Tip 2 DM tanısı için kriterler; kan şekeri ölçümleri, bazı semptomların varlığı ve yokluğu üzerine kuruludur (17). Amerikan Diabet Derneği'nin kriterlerine göre aşağıda belirtilen bulgulardan herhangi birinin varlığı diabet tanısı koydurmaktadır.

- Açlık kan şekeri (AKŞ) ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L) $\rightarrow$ Açlık, en az 8 saat kalori içeriği olan oral beslenmenin olmaması olarak tanımlanmaktadır.
- Oral glikoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2. saat kan şekeri ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) OGTT, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) önerdiği şekliyle 1,75 gr/kg eşdeğerinde (maksimum 75 gr) anhidroz glikozun suda çözünmüş preparatıyla yapılmalıdır.
- Hemoglobin A1c (HbA1c) $\geq$ % 6.5 (48 mmol/mol)
- Hiperglisemiye ait klasik semptomları olan hastada herhangi bir zamanda kan şekerinin ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) olması
- * Açık hiperglisemi varlığı tanımlanamadıysa tanı için 2 farklı zamanlı örnekten elde edilen anormal sonuç varlığı gereklidir.

Yeni diabet tanısı alan ve değerlendirmenin başındaki hastalar için Tip 1 DM ve Tip 2 DM ayrımı yapılması gerekmektedir. Tip 2 DM'yi Tip 1 DM'den klinik olarak ayıran en önemli belirtiler; obezite ve insülin direnci bulgularıdır. Ayrıca Tip 2 DM'si olan hastalarda genellikle c-peptit düzeyi yükselmiş olarak saptanır. İnsülin

otoantikörlerinin (adacık hücre ve/veya glutamik asit dekarboksilaz) olmayışı da tipiktir (17).

2.1.3. Pediatrik Tip 2 DM Hastaları için Tedavi Seçenekleri

Çocuklarda ve adolesanlarda Tip 2 DM'nin hem farmakolojik hem de farmakolojik olmayan tedavisi komplikasyonların azaltılmasına yönelik olmalıdır. Çocuklarda yapılan çok sayıda araştırma olmamakla birlikte; elde edilen bilgiler sıkı glisemik kontrolün mikrovasküler komplikasyon riskini azalttığını göstermektedir.

Amerikan Diabet Derneği için tedavi hedefleri (17):

- kilo kaybı;
- egzersiz kapasitesinde artış;
- glisemik düzeyin normalleştirilmesi;
- komorbiditelerin kontrolü (hipertansiyon, dislipidemi, nefropati, hepatik steatoz gibi)

Klinik kanıt sunan pek çok çalışmaya göre; fiziksel aktiviteyi arttırmanın yanı sıra yapılan düzenli egzersiz ile birlikte yaşam tarzı değişikliği tedavide önemli anahtarlardır (17). Yaşam tarzı değişiklikleriyle birlikte farmakolojik tedavi de kullanılabilir. Kullanılacak farmakolojik tedavide amaç; insülin direncini azaltmak, insülin sekresyonunu arttırmak ve diyetle alınan glikozun emilimini azaltmak yönünde olmaktadır. Metformin ve insülin, Tip 2 DM tanılı çocuklarda ve adolesanlarda kullanılabilinen FDA onaylı farmakolojik ajanlardır (18). Metformin 2000 yılında FDA onayı almış olup, en güncel olarak Liraglutide [glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) agonisti, inkretinmimetik türevi] ise Haziran 2019'da FDA onayı almıştır.

2.1.3.1. Metformin

2.1.3.1.1. Metformin Kullanımı ve Etki Mekanizması

Metformin (1,1-dimetilbiguanide-hidroklorid), biguanid türevi insülin sensitize edici bir antihiperglisemik ilaçtır. Aralık 2000’de Tip 2 DM tanılı 10 yaş ve üzeri çocuklarda FDA onayı alan metformin; metabolik olarak stabil olan olgularda, kontraendikasyonun olmadığı durumlarda başlangıç tedavisinde farmakolojik olmayan tedaviye ek olarak (diyet, egzersiz) önerilmektedir (11). Kaslarda, insülin duyarlılığını arttırarak periferik glikoz alımını ve kullanımını düzeltme, intestinal glikoz emilimini geciktirme etki mekanizmaları ile obezite ve insülin direnci tablolarında da tercih edilen bir seçenek olmaya başlamıştır.

Birçok rehberin önerisine göre metformin; diyet ve yaşam tarzı değişikliklerine rağmen glisemik hedeflere ulaşılamayan durumlarda, başlangıç tedavisi olarak seçilmesi önerilen farmakolojik bir tedavi seçeneğidir (19). Kullanımının bu derece yaygınlaşması pek çok ilaç geliştirme programlarınca metformin tedavisinin araştırılmasına önayak olmuştur. Metforminin klinik yararlanımına ilişkin ilk bilgiler, 1995 yılında DeFronzo ve ark. tarafından yürütülen çalışma sonucunda yazılan bir rapordan elde edilmiştir. Bu çalışma kapsamında; kontrolsüz Tip 2 DM tanılı ve sadece diyet tedavisi uygulamakta olan 289 obez hastaya metformin tedavisi (850 mg metformin günde 2 defa ya da eğer tolere edilebiliyor ve AKŞ 7.8 mmol/L üzerindeyse 3x850 mg metformin olacak şekilde) veya plasebo verilmiştir. Yirmi dokuz haftalık süreç sonrası metformin kullanan grubun AKŞ’sinde plasebo ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0.001$). Metformin kullanan grubun AKŞ’sinde 2.9 mmol/L düşüş saptanırken, plasebo alan grupta 0.3 mmol/L yükselme gözlenmiştir. Metformin ile tedavi edilen grupta ortalama HbA1c %8,4’ten (68.3 mmol/mol) %7,1’e (54.1 mmol/mol) gerilemiştir ($p < 0.001$) (20).

Metformin; intraselüler glikojen sentezini stimüle edip, hepatik glikoz üretimini (glukoneogenezi) ve intestinal glikoz emilimini azaltarak ve sonuçta insülin sensitivitesini arttırarak etki göstermektedir. Metformin, kas dokusunda da glikoz

kullanımı arttırmaktadır. Azcona ve ark. tarafından 13'ü kız, 8'i erkek; ortalama yaşları 12,4 olan toplam 21 obez hastaya 6 ay boyunca metformin tedavisi verilmiş olup metformin kullanımının, azalmış besin alımını sağladığı saptanmıştır (1).

Metforminin kan şekerini düzenleyici-düşürücü etkisi, özellikle kan ve karaciğer dokusu üzerindeki etkisiyle sağlanabilmektedir (21,22). Metformin karaciğerde glikoz üretimini glikoneogenezi azaltarak kontrol etmektedir; glikojenoliz üzerinde ise daha az etkisi mevcuttur. Metformin alımıyla birlikte periferik glikoz kullanımı %20-30 artış göstermektedir ki; bu etki de metforminin iskelet kaslarında oksidatif olmayan glikoz kullanımını arttırmasıyla ilişkilidir (23). Bu etki mekanizmalarıyla insülin sensitivitesinde artış meydana gelmektedir. Aynı zamanda glikoz ilişkili toksisitenin azalması indirekt olarak pankreas beta hücreleri üzerinde de fonksiyonları düzeltici etki göstermektedir. Yapılan çalışmalarda metformin kullanan Tip 2 DM hastalarında, pankreatik beta hücre fonksiyonlarında iyileşme gösterilmiştir. Metformin monoterapisi ile HbA1c düzeylerinde ortalama %1,5 düşüş saptanmıştır (24). Toplam 166 vaka sunumu/çalışmanın değerlendirildiği bir derlemede; 18 yaş üstü Tip 2 DM'li popülasyonda metformin kullanımı ile 3-6 ay izlem sonrası HbA1c düzeyinde %1 (10.9 mmol/mol)- %1.5 (16.4 mmol/mol) düşüklük bildirilmiştir (25).

Çocuklarda metformin tedavisinin başlangıç dozu 500 mg/gün, tek doz şeklinde önerilmektedir. Kullanım dozu 1 hafta aralıklarla 500 mg arttırılarak maksimum günlük doz olan 2000 mg'ye 4 hafta sonrasında çıkılabilir. Genellikle 2x1000 mg olarak kullanımı önerilmektedir. Bazı klinisyenler günlük 1000 mg doz ile başlamayı tercih etseler de düşük titrasyonlarla başlanması gastrointestinal olarak toleransı arttırmaktadır (17).

2.1.3.1.2. Metformin Kullanımının Yan Etkileri

2.1.3.1.2.1. Gastrointestinal Yan Etkiler

Metforminin en sık görülen yan etkileri gastrointestinal sistemle ilişkilidir. İshal, bulantı, abdominal distansiyon bunlar arasında sayılabilir. Bu etkiler genellikle geçici, çok ciddi olmayan doz bağımlı etkilerdir ve metformin kullanan hastaların

%50'sinde görülebilmektedir. Metformin başlanan hastaların sadece %5'i düşük dozlarda bile tedaviyi tolere edememektedir (25). Bu semptomlar ilaç dozu düşürülerek azaltılabilmektedir (26, 27). Gastrointestinal yan etkilerin enterositlerde ilaç birikimine bağlı olduğu önesürülmüştür. Yavaş salınımlı formülasyonların (metformin XR) daha az gastrointestinal yan etkiye yol açtığı saptanmıştır (28).

2.1.3.1.2.2. Laktik Asidoz

Biguanid türevi ilaçların daha az sıklıkta görülen ama daha ciddi tablolara yol açan yan etkilerinden biri laktik asidoz tablosudur. 1970'lerde fenforminin (biguanid türevi ilaçların ilk kullanılan formlarından olan bir tür biguanid) kullanımına bu yan etki nedeniyle son verilmiştir. Potansiyel letal etkisi olabilen bu yan etkinin mekanizması; mitokondriyal solunum zincirinin baskılanması ile anaerobik metabolizmanın artması ve beraberinde artmış laktat oluşumu ile açıklanabilir. Fakat bu tablo genellikle ilaç düzeyleri toksik aralığa çıkınca oluşmaktadır. (> 5.0 mg/l [terapötik aralık, $0.5-2.0$ mg/l]) (29). Öte yandan eğer hastada akut/kronik böbrek yetmezliği gibi renal klirens düşüklüğü mevcut ise bu tablonun gelişimi kolaylaşmaktadır. Bu riskin tanımlanması; 1990'larda ABD'de metformin ve biguanid türevi diğer preparatların kullanımını geciktirmiştir (30). Metformin ilişkili laktik asidoz (MALA) tablosuna yılda 100.000'de 3-10 vakada rastlanmaktadır (31). MALA için sayılabilecek diğer risk faktörleri; sepsis, kardiyojenik şok gibi laktat oluşumunu arttıracak klinik tablolardır.

2.1.3.1.2.3. Vitamin B12 eksikliği

Vitamin B12 malabsorpsiyonu, metformin kullanımı sonrası gelişen potansiyel yan etkilerden bir diğeridir ve çok sayıda vaka raporu ya da uzun dönemli kesitsel çalışma sonucu ile kanıtlanmıştır. "Vitamin B12 ve Metformin ilişkisi" bölümünde daha detaylı anlatılacak olup burada kısaca bahsedilecektir. İki yüz elli altı hastanın katılımıyla yapılan ve 52 ay yürütülen randomize kontrollü bir çalışmada vitamin B12 eksikliği (<150 pmol/l) metformin tedavisi verilen 19 hastada (%9,9) saptanırken, plasebo verilen kontrol grubunda 5 hastada (%2,7) tespit edilmiştir. Metformin kullanan grupta 35 hastada (%18,2) ise düşük vitamin B12 değerleri

(150–220 pmol/l) saptanmıştır. Plasebo alan grupta ise bu değer 13 hasta ile % 7’dir (7).

2.1.3.1.2.4. Metformin Kullanımının Sakıncalı Olduğu Durumlar

Metformin; hepatit, siroz, bozulmuş renal fonksiyon, kardiyopulmoner yetersizlik durumlarında laktik asidoza neden olabileceği için kontrendikedir. Bu yüzden klinisyenlerin metformin kullanımından önce bazal karaciğer fonksiyon testleri (KCFT); (alanin aminotransferaz [ALT] ve aspartat aminotransferaz [AST]) ve kreatinin düzeylerini değerlendirmesi önerilmektedir. Eğer KCFT değerleri normalin 2,5 katı üzerinde ya da serum kreatinin düzeyi yüksek saptanır ise metformin tedavisinin başlanmaması düşünülmelidir.

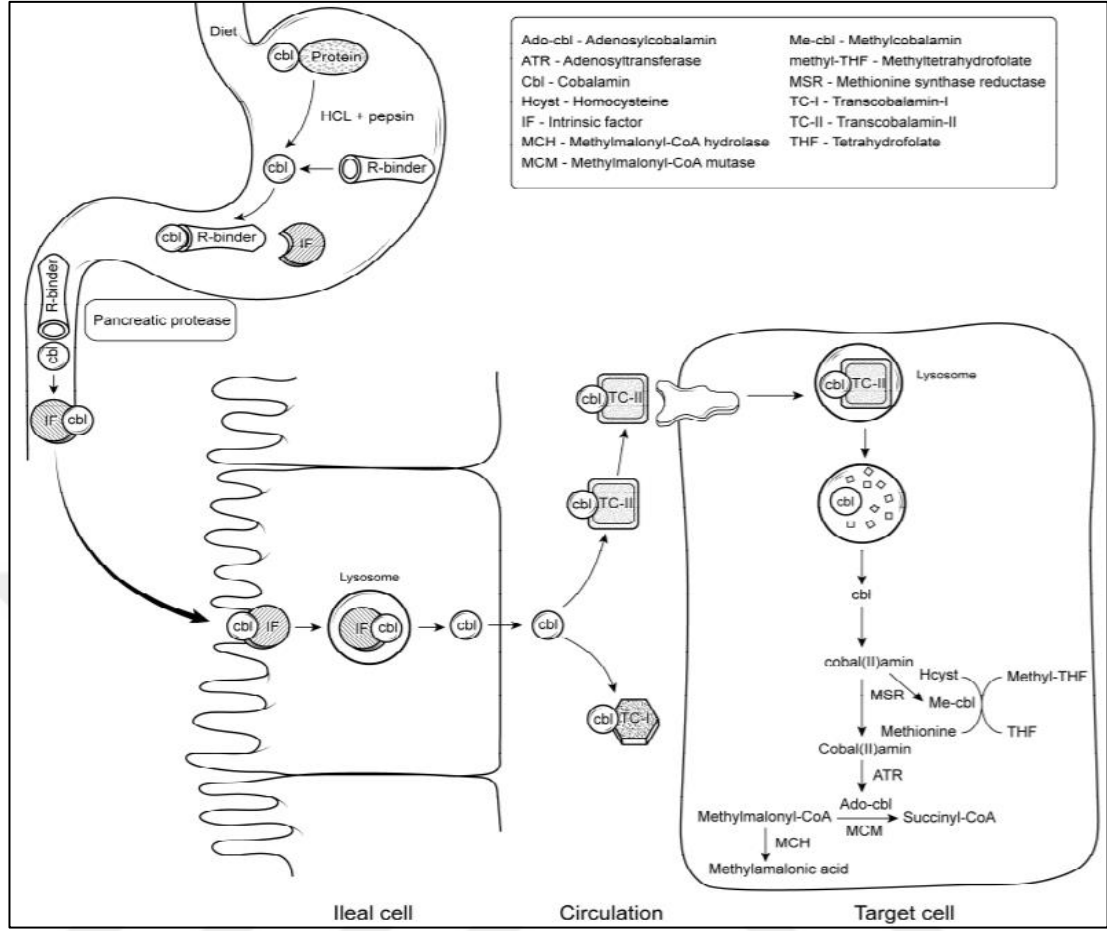
2.2. Vitamin B12

Suda çözünür, kobalt içeren bir vitamin olup hematopoetik, nörokognitif, vasküler sistemlerin optimal çalışması için gereklidir. Vücuttaki metabolik süreçlerde görev alan pek çok enzim için kofaktör işlevi görmektedir. Vitamin B12 terimi, insan vücudunda aktif olan kobalamin türevlerinin tümü için kullanılan genel bir terimdir (siyanokobalamin, hidroskobalamin, metilkobalamin, 5-deoksiadenozil kobalamin) (4).

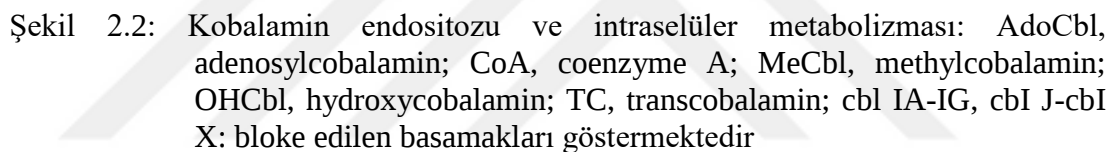
İnsan hücreleri vitamin B12 sentezleyememektedir. Bu nedenle vitamin B12 et, yumurta gibi hayvansal gıdalarla diyet ile alınabilmektedir. Besine bağlı vitamin B12, midede pepsin ve gastrik asit etkisiyle serbestleşir. Proton pompa inhibitörleri ve H2 reseptör antagonistleri gastrik asit baskılanmasına neden olarak vitamin B12 eksikliğine neden olabilir. Serbestleşen vitamin B12 bir çeşit glikoprotein olan R-bağlayıcısına bağlanır, böylelikle mide asiditesinden korunmuş olur. Duedonumda pankreatik proteazların etkisiyle R-bağlayıcısından ayrılır. Daha sonra gastrik parietal hücreler tarafından salınan, glikozile bir protein olan, intrinsik faktöre (IF) bağlanır. IF-vitamin B12 kompleksi terminal duodonuma taşınarak reseptör ilişkili endositozla hücre içine alınır. Önce ileal enterositin apikal yüzeyinde bulunan glikozile bir protein olan kubilin reseptörüne bağlanır. IF-vitamin B12 kompleksinin kubilin reseptör

afinitesi için kalsiyum katyonlarına ihtiyaç vardır. IF-vitamin B12 kompleksi ileal enterosit içinde lizozoma taşınır. Lizozomda IF ayrılır ve vitamin B12'nin sitoplazmaya geçişi sağlanır. Sonrasında vitamin B12 dolaşıma geçer ve transkobalamin-I (TC-I) ve transkobalamin-II'ye (TC-II) (%20-30) bağlanarak hedef hücrelere taşınır. TC-II'ye bağlı vitamin B12 düzeyinin ölçülmesi dolaşımdaki vitamin B12 düzeyinin değerlendirilmesi açısından kullanılabilecek tanısal bir yöntemdir. TC-II – kobalamin kompleksi hücre yüzeyinde bulunan reseptör ile hücre içine alınır ve hedef hücredeki lizozomlara taşınır. Lizozomlarda TC II yıkılır, serbest kalan B12 vitamini aktif formlarına dönüştürülür. Bu aktif formlar; mitokondride adenozilasyon ile oluşan adenozil-kobalamin ve sitoplazmada metilasyon ile oluşan metil-kobalamindir (Şekil 2.1) (4).

Karaciğer ve dalak vitamin B12 için asıl depolanma yerleridir. Karaciğerde 1-1,5 mg vitamin B12 depolanabilir. Vitamin B12; enterohepatik sirkülasyona giren, safra ile salgılanan ve distal ileumdan yeniden emilimi yapılan bir vitamindir. Kobal(II)amin dolaşıma geçip hedef hücreye ulaştıktan sonra aktif metabolitleri olan adenozil-kobalamin ya da metil-kobalamine dönüşür. Metil-THF'den(metil tetrahidrofolat) metil grubu uzaklaştırılarak; tetrahidrofolat (THF) ve metil kobalamin oluşumu sağlanmış olur. Homosistein metil-kobalaminden bir adet metil grubu kabul ettiğinde metionin ve kobal(I)amin oluşumu sağlanır. Bütün bu reaksiyonlarda metil-kobalamin kofaktör olarak kullanılır. Vitamin B12 eksikliğinde; homosisteinden metionin dönüşümü aksamış olur, böylelikle serum homosistein düzeyi artış gösterir (4). Adenozil-kobalamin; ATP bağımlı kobalamin adenozil transferaz enzimi katalizörlüğünde mitokondride sentezlenir. Sentezlenen adenozil-kobalamin metil malonil CoA mutaz enzimi için kofaktör olarak görev yapmakta ve bu tepkimeyle metil malonil CoA, süksinil CoA'ya dönüşmektedir. Vitamin B12 eksikliğinde; bu dönüşüm aksamış olup serum metil malonik asit (MMA) düzeyi artış gösterir (Şekil 2.2) (4).



Şekil 2.1: Diyetle alınan Vitamin B12'nin emilimi, hedef hücreye taşınması ve hedef hücredeki metabolik yollar (4)



Vitamin B12'nin gastrointestinal sistemden emilim mekanizması kompleksdir ve birçok basamak içerir. Bu nedenle; emilim sürecindeki yollardaki herhangi bir aksama vitamin B12 eksikliğine yol açabilir. Vitamin B12 eksikliğine yol açabilecek en sık nedenlerden biri diyetle vitamin B12 alımının yetersizliğidir ve genellikle hayvansal ürün tüketiminde azlık ile ilişkilidir.

14

yol açan başlıca nedenler olarak sayılabilir. Vitamin B12 eksikliği nedenleri aşağıda sistematik olarak sıralanmıştır (32-35).

- Diyetle azalmış alım (örneğin; azalmış hayvansal gıda tüketimi, katı vegan diyeti, vitamin B12 eksikliği olan annenin emzirmesi)
- Azalmış absorpsiyon (örneğin; geçirilmiş gastrik cerrahi, crohn hastalığı, çölyak hastalığı, pankreatik yetmezlik, bakteriyel aşırı çoğalma, paraziter enfeksiyonlar)
- Otoimmün durumlar (örneğin; pernisiyöz anemi)
- Absorpsiyona etki eden ilaç kullanımı (örneğin; metformin, H2 reseptör antagonisti, proton pompa inhibitörü, nitröz oksit)
- Ender görülen genetik hastalıklar (örneğin; kalıtsal IF eksikliği, Imerslund-Grasbeck Sendromu, transkobalamin reseptör eksikliği)

2.2.1.1. Vitamin B12 Eksikliğinin Belirtileri

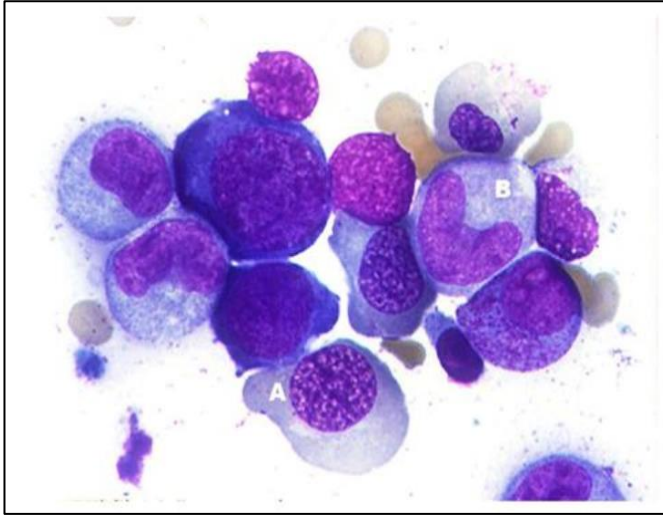
Vitamin B12 eksikliği hematolojik, gastrointestinal, nörolojik ve psikiyatrik pek çok belirti gösterebilmektedir.

2.2.1.1.1. Hematolojik Belirtiler

Hematolojik belirtiler; eritrositlerin kemik iliğinde hızlı bölünmesi ve buna bağlı vitamin B12 eksikliğinde oluşacak nükleik asit üretimindeki aksamadan kaynaklanmaktadır. Vitamin B12 eksikliğine bağlı nükleik asit üretiminde ve DNA sentezinde oluşan yetersizlik, hücre bölünme döngüsünde S fazında uzama ve hücre matürasyonunda duraksamaya neden olmaktadır. Hücre döngüsündeki yavaşlama, DNA fragmanlarının DNA replikasyonu sırasında gecikmiş göçüne bağlanabilir. Bu biyokimyasal tablonun morfolojik yansıması ise; kemik iliğinde megaloblastik değişimler (eritrosit öncül hücrelerinde sitoplazma ve çekirdeğin senkronize olmayan matürasyonunu) olarak görülebilmektedir. Periferik yaymada ise; bazofilik eritroblastların daha olgun eritrosit formlarına baskınlığı gözlenir. Bu durum matürasyon duraksamasını göstermektedir. Matürasyon duraksamasına bağlı olarak görülen farklı derecelerdeki eritroid hiperplazi ve granülositik hipoplazi nedeniyle myeloid/eritroid oranı düşer (<1:1).

Vitamin B12 eksikliği ile birlikte, makrositoz, anemi, pansitopeni tablosu gözlenebilmektedir. Granülosit prekürsörlerindeki megaloblastik değişiklikler; dev metamyelosit ve büyük nal benzeri çekirdek içeren çomak formasyonu olarak sayılabilir (Şekil 2.3). Megaloblastik megakaryositler polilobüle ve normalden büyük çekirdek ve bazen granülasyonu olmayan bir sitoplazmik yapıyla görülebilmektedir (35). Anemi tablosu makrositiktir ve makrositoz başlayan megaloblastik değişim sürecinin ilk bulgusu olabilmektedir. Anizositoz, eritrosit dağılım hacminde artış nedeniyle gözlenip erken dönemde ölçülebilen bir parametredir.

Nötrofiller ise tipik olarak hipersegmentasyon göstermektedir; 3-5 lobdan fazla lob içermektedir. Hipersegmente nötrofiller megaloblastozun en erken bulgularından biri olup, tedavinin ilk birkaç gününde de görülmeye devam edebilir. Nötrofil hipersegmentasyonunun vitamin B12 eksikliğini gösteren sensitif bir bulgu olmadığı yine de akılda tutulmalıdır. Trombositopeni de saptanabilir, ancak klinik semptomu nadiren sebep olur. Megakaryositik değişiklikler sebebiyle trombosit üretimi %10 azalmaktadır, bu da ineffektif trombopoezi göstermekte ve trombosit fonksiyonları anormal olabilmektedir.



Şekil 2.3: (A) Eritroid prekürsör hücrelerde granüler kromatin içeren (tuz-biber görünümü) megaloblastik çekirdek değişiklikleri. (B) Megaloblastik (dev) granülosit prekürsörü (35)

Vitamin B12 eksikliğinde yorgunluk, irritabilite, kognitif fonksiyonlarda azalma gibi nonspesifik semptomlar görülebilmektedir. Bu semptomlar; vitamin B12 eksikliğinin sebebiyet verdiği anemiye bağlanabilir. Özellikle ağır anemide göğüs ağrısı, nefes darlığı gibi semptomlar doku hipoksisine ve/veya organ iskemisine bağlı gözlenebilir.

2.2.1.1.2. Gastrointestinal Belirtiler

Vitamin B12, DNA ve protein sentezi için gerekli olan metil gruplarının temininden sorumlu metionin-homosistein yolağında görev alır. Vitamin B12 eksikliğinin gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri, gastrointestinal yolda hücrelerin hızlı çoğalması ve bu sebeple gözlenen nükleik asit üretimindeki aksama nedeniyledir. Vitamin B12 eksikliği; papillalarda kayıp ile giden ağrılı glossit, bağırsak motilitesinde bozulma, konstipasyon, ishal gibi tablolara sebep olabilir (36).

2.2.1.1.3. Nöropsikiyatrik Belirtiler

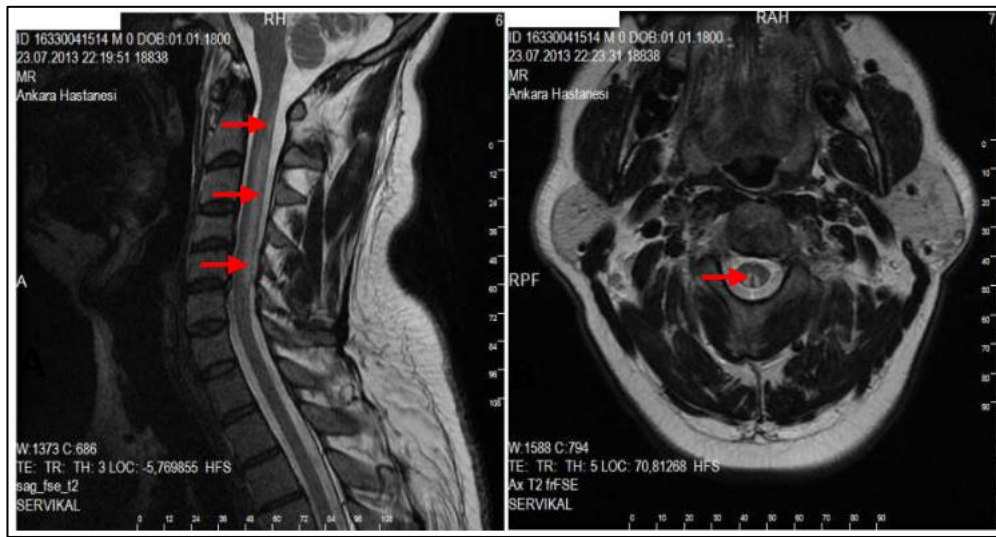
Vitamin B12 eksikliğinde en sık görülen nörolojik bulgular; bilateral simetrik parestezi, uyuşma ve ataksidir (31). Vitamin B12 eksikliğine bağlı oluşan nöropati; simetrik olmasının yanı sıra kollardan çok bacakları etkilemektedir. Vitamin B12 eksikliği nörolojik sistemde; beyaz cevherde, spinal kordun lateral ve posterior kolonlarında demyelinizasyona yol açmaktadır. Hastalarda bu patolojiye bağlı olarak kaslarda progresif güçsüzlük, ataksi, spastisiteye veya paraplejiye ilerleyebilen parestezi tablosu görülebilmektedir.

Görülebilecek diğer nöropsikiyatrik bulgular şu şekilde sıralanabilir:

- Depresyon, duygudurum bozukluğu
- İritabilite
- İnsomnia
- Kognitif fonksiyonlarda yavaşlama, güçlük
- Unutkanlık
- Psikoz

- Görme bozuklukları (optik atrofi ile ilişkilendirilebilir)
- Periferik duysal defisitler
- Güçsüzlük (ciddi eksikliklerde paraplejiye, inkontinans tablosuna kadar ilerleyebilir)
- Bozulmuş pozisyon ve vibrasyon duyusu
- Lhermitte bulgusu (boyun fleksiyonunda ayaklara kadar yayılan ani ağrı hissi)
- Ataksi veya pozitif Romberg testi bulgusu
- Anormal derin tendon refleksleri
- Distoni, dizatri, rijidite gibi ekstrapiramidal semptomlar (36-38)

Nörogörüntüleme genellikle yapılmamaktadır, ancak eşlik eden diğer patolojiler açısından yapıldığı takdirde, spinal kord MR görüntülemesinde; servikal ve torakal spinal kordda vitamin B12 eksikliğine bağlı subakut kombine dejenerasyon saptanabilir (Şekil 2.4) (37,39).



Şekil 2.4: Vitamin B12 eksikliğine bağlı spinal kordda subakut kombine dejenerasyon görünümü: MR servikal görüntülemesinde, servikal kord posterior kesiminde, serviko-medüller bileşke düzeyinden başlayarak, C5-6 düzeyine kadar uzanan, T2 ağırlıklı görüntülerde hiperintens, kontrast tutmayan lezyon (40)

2.2.1.2. Vitamin B12 Eksikliğinde Biyokimyasal Belirteçler ve Tanısal Testler

Vitamin B12 eksikliğinin saptanmasına yönelik tanısal testler; dolaşımdaki vitamin B12 düzeyinin ölçümü ya da hücresel düzeyde eksiklik olması sebebiyle hücre içinde biriken metabolitlerin ölçümü ile yapılabilmektedir.

Vitamin B12 ve holotranskobalamin-II (holo-TC-II) düzeyleri vitamin B12'nin dolaşımdaki kısmını ölçmektedir. Serum homosistein ve MMA ölçümleri ise hücresel vitamin B12 düzeyini gösteren biyokimyasal belirteçler olup, hücresel düzeyde eksiklik durumunda yüksek saptanırlar (4).

Vitamin B12 düzeyini saptamada henüz altın standart bir test yoktur. Kullanılan testlerin spesifite ve sensitiviteyi belirlemede zorluklar yaşanmaktadır. Araştırmacılar tanısal anlamda daha güvenilir sonuçlara ulaşmak için, biyokimyasal belirteçlere yönelik çalışmalarına devam etmektedirler. Bütün çalışmalara rağmen, saptanan ve kıyaslanan her biyokimyasal belirtecin spesifite ve sensitivite açısından farklı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Bu nedenle bir belirtecin altın standart olarak tanımlanması henüz mümkün değildir.

Tanıda kullanılabilecek testler/ biyokimyasal belirteçler şu başlıklar altında incelenebilir:

- Vitamin B12 ölçümü
- MMA testi
- Holo-TC-II testi
- Homosistein testi

2.2.1.2.1. Serum Vitamin B12 ölçümü

Serum vitamin B12 ölçümü, vitamin düzeyini saptamada sensitivitesi yüksek olarak değerlendirilen bir testtir. Vitamin B12 düzeyinin ölçümü kemiluminesans ya da kimyasal ışıltama olarak isimlendirilen yöntemle, semptomatik hastalarda yaklaşık %95 olarak öngörülen bir sensitiviteyle yapılmaktadır; ancak spesifitesinin %80 ya da

daha düşük olduğu bilinmektedir (41). Yapılan çalışmalarda; megaloblastik anemili hastalarda vitamin B12 eksikliği <148 pmol/L olarak kabul edildiğinde, vitamin B12 eksikliğini tespit etmesine yönelik sensitivite %95 olarak bulunmuştur (42, 43). Bolann ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmaya göre ise; vitamin B12 eksikliği eşik taban değer <148 pmol/L olarak kabul edildiğinde, sensitivite %90 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada, tedavi sonrası serum MMA düzeyindeki dşuşn değerlendirilmesi vitamin B12 eksikliğini gösteren altın standart test olarak kabul grmuştur (44). Vitamin B12 eksikliğini değerlendirmede, serum vitamin B12 lmnn MMA lmne göre daha düşük spesifiteye sahip olduğu bildirilmiştir. Clarke ve ark. tarafından yapılan bir çalışmaya göre ise; vitamin B12 eksikliği <200 pmol/L olarak kabul edildiğinde vitamin B12 eksikliğinin saptanmasındaki spesifite %72-75 olarak bulunmuştur (45).

1950’lerde vitamin B12 eksikliğini tanımlayan değer <90 pmol/L olarak kabul edilirken, günümüzde pek çok araştırmada ve klinik değerlendirmede bu değer <148 pmol/L olarak kabul görmektedir (46). Vitamin B12 eksikliği <148 pmol/L olarak kabul edildiğinde vitamin B12 eksikliği olan vakaların %3-5’i kaçırılmaktadır. Vitamin B12 eksikliği<200 pmol/L olarak kabul edildiğinde ise, vitamin B12 eksikliği olan vakalar atlanmamakta ancak yanlış pozitiflik oranları yüksek olarak saptanmaktadır (47).

Bazı durumlarda vitamin B12 düzeyi, eksiklik olmasa bile düşük gözlenmektedir. Folat eksikliği, difenilhidantoin kullanımı, HIV enfeksiyonu, adolesan kızlarda oral kontraseptif kullanımı bu durumlara örnek olarak sayılabilir. Vitamin B12’yi bağlayan proteinlerin üretim azlığı da yanlış olarak düşük değerlerin bulunmasına yol açabilmektedir. Transkobalamin-I (TC-I) proteini dolaşımda bulunan vitamin B12’nin %80’ini taşımakta olup, transkobalamin-I düzeyi de serum vitamin B12 ölçümlerini etkilemektedir. Carmel ve ark. yaptıkları bir çalışma ile; düşük vitamin B12 düzeyi ölçümlerinin %15 kadarının dolaşımda düşük TC-I varlığına bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır (48).

Bazı durumlarda ise serum vitamin B12 düzeyi, eksiklik olsa bile, yanlış negatiflik ile yüksek olarak saptanabilmektedir. Myeloproliferatif süreçler, böbrek

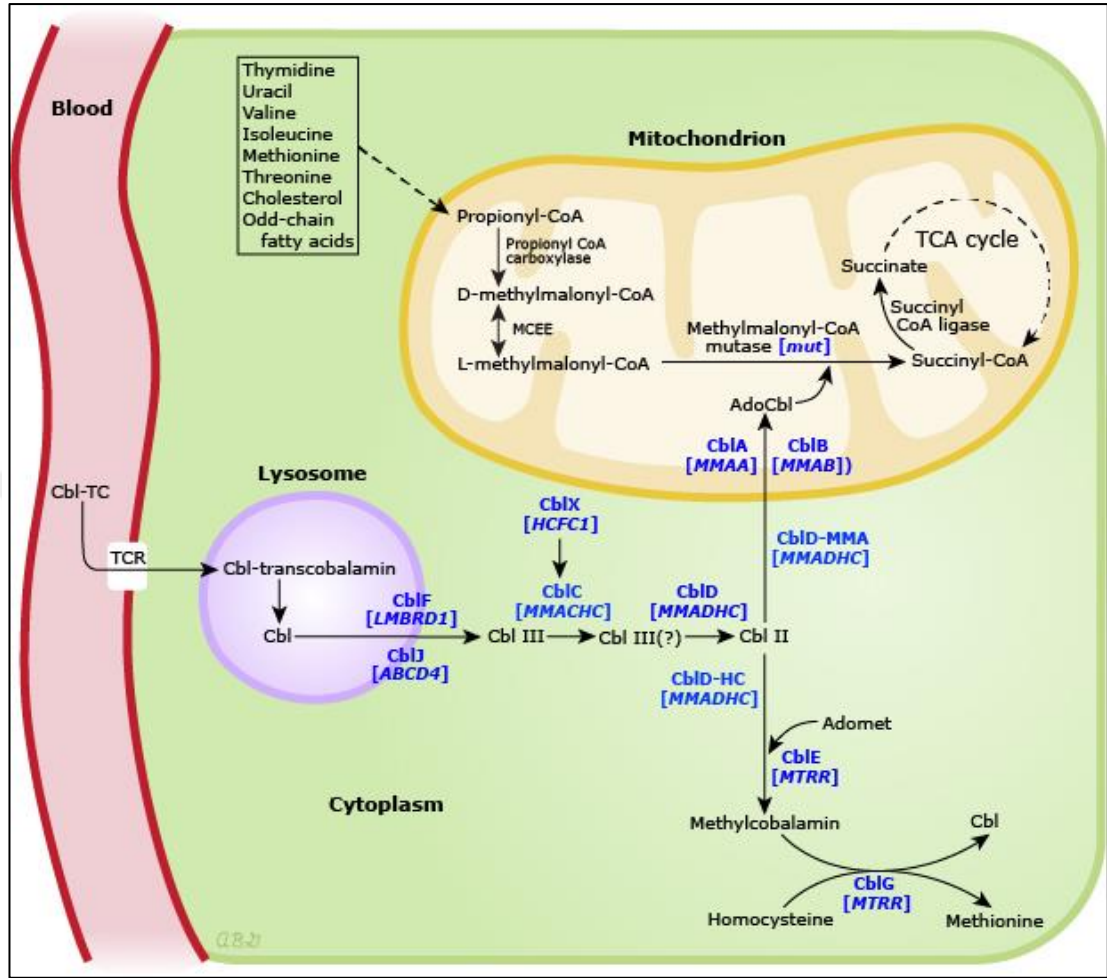
fonksiyonlarında bozukluğa yol açan patolojiler, nitroz oksit maruziyeti, bazı metabolik hastalıklar bu duruma örnek teşkil edebilir (35). Jeffery ve ark. yaptıkları bir çalışma ile yüksek vitamin B12 düzeyi ölçümlerinin (1250 ng/L) %8 kadarının dolaşımda yüksek TC-I varlığına bağlı olduğunu bildirmişlerdir (49).

2.2.1.2.2. MMA Testi

Vitamin B12, metilmalonilCoA'nın süksinilCoA'ya dönüşümü aşamasında görev yapmakta olup, bu süreç aksadığında, serum MMA birikimi olmakta ve bu durum da nöronal membranlarda defektif yağ asidi sentezine yol açmaktadır (Şekil 2.5).

Vitamin B12 eksikliği serum MMA düzeylerinde yükselmeye neden olmaktadır. Bu sebeple serum MMA düzey ölçümü, vitamin B12 düzey ölçümü ile karşılaştırıldığında, hücresel vitamin B12 düzeyi ile ilgili daha güvenilir sonuç vermektedir. MMA; vitamin B12'nin metabolik ya da fonksiyonel düzeyini yansıtmaktadır.

Literatürde vitamin B12 eksikliği için MMA üst referans değerleri; 210-480 nmol/L arasında değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden MMA yüksekliği ile değerlendirilen vitamin B12 eksikliği sıklığı, kullanılan referans değerlerine göre farklılık göstermektedir. Güncel olarak daha ön planda kullanılan referans aralığı ise >370nmol/L tir (50). Pfeiffer ve ark.'nın 3 yaştan üzerinde 7304 olguyu dahil ettiği bir çalışmada örneklemin % 13'ünde vitamin B12 eksikliği saptanmıştır. Bu hastalara verilen vitamin B12 desteği ile MMA düzeyinde elde edilen maksimum gerileme değeri 210 nmol/L olarak belirlenmiştir (51). Fakat düşük referans değeri belirlemek, özellikle MMA ölçümünün vitamin B12 eksikliğinin tespiti için tek test olarak kullanıldığı durumlarda, yanlış pozitifliğe yol açabilmektedir (52).



Şekil 2.5: D-metilmalonil CoA metabolizması

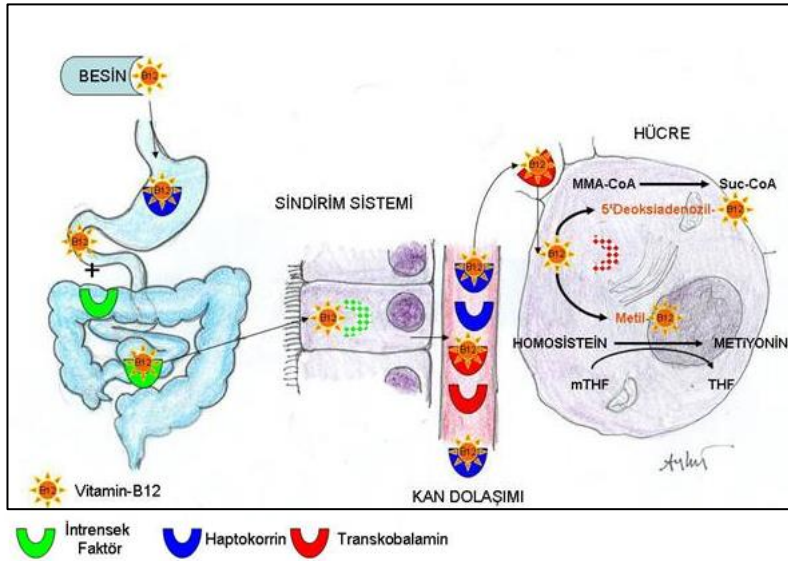
Cbl: cobalamin; TC: transcobalamin; TCR: transcobalamin receptor; LMBRD1: KMBR1 domain-containing 1; ABCD4: ATP-binding cassette subfamily D member 4; HCFC1: host cell factor C1; MMACHC: methylmalonic aciduria and homocystinuria type C; MMADHC: methylmalonic aciduria and homocystinuria type D; MMAA: metabolism of cobalamin associated A; MMAB: metabolism of cobalamin associated B; AdoCbl: adenosylcobalamin; CoA: koenzim A; MCEE: metilmalonil-CoA epimeraz; TCA: tricarboxylic asit; MTRR: 5-methyl-tetrahydrofolat-homosistein methyl-transferase reductase (50 nolu referanstan alınmıştır).

Norveç'te yapılan büyük popülasyonlu bir epidemiyolojik çalışma; serum MMA düzeyinin; kreatinin düzeyi, cinsiyet ve yaştan etkilendiğini ortaya koymaktadır (53). Yapılan çalışmalara göre antibiyotik kullanımı da MMA düzeyini düşürmektedir; bu

da bakteriler tarafından üretilen ve MMA'nın öncüsü olan propionik asit üretiminin baskılanması ile ilişkilendirilmektedir (54). Vitamin B12 eksikliğini saptamada MMA testinin spesifitesi belirsiz olup, henüz vitamin B12 düzeyinin değerlendirilmesi için altın standart bir test değildir. Bu nedenle diğer tanısal testlerle birlikte kullanılması önerilmektedir.

2.2.1.2.3. Holo-TC-II Testi

Vitamin B12 dolaşımında transkobalamin-I (TC-I) ve transkobalamin-II (TC-II) adlı taşıyıcı proteinlere bağlı olarak taşınmaktadır. Dolaşımda bulunan TC-II-vitamin B12 kompleksi holotranskobalamin-II (holo-TC-II) olarak adlandırılmaktadır. Dolaşımdaki vitamin B12'nin %20-30'u holo-TC-II olarak bulunmaktadır geri kalan %70-80'i ise TC-I'e bağlanarak metabolik olarak inaktif bir kompleks oluşturmaktadır (Şekil 2.6) (5).



Şekil 2.6: Vitamin B12'nin hedef hücreye taşınması

Holo-TC-II emilmiş olan vitamin B12'nin ileal enterositte hedef hücreye taşınan kısmını oluşturduğu için, serum holo-TC-II düzeyinin ölçümü aslında vitamin B12'nin biyoaktif kısmını yansıtmaktadır (55). Chen ve ark. yaptıkları çalışmada, holo-TC-II düzeyi dolaşımdaki vitamin B12 düzeyi açısından majör bir gösterge

olarak tanımlanmaktadır. Aynı çalışmanın sonuçları vitamin B12'nin emiliminin serum holo-TC-II düzeyinden etkilediğini de göstermektedir (56).

Nexo ve ark. nın sağlıklı popülasyonda yaptıkları bir çalışmada hastalara günlük oral 500 µg vitamin B12 verilmiştir. Çalışmanın ilk 3 gününde holo-TC-II düzeylerinde %50 oranında bir artış saptanmıştır (57). Bu çalışma ile; holo-TC-II düzeyinin vitamin B12 düzeyini göstermekte iyi bir gösterge olduğu indirekt de olsa kanıtlanmıştır. Yapılan pek çok çalışma ile holo-TC-II ölçümünün serum vitamin B12 düzeyinin yansıtıcısı olduğu kabul görmektedir (58,59). Ancak holo-TC-II ölçümünün spesifitesi için henüz kesin bir görüş bulunmamaktadır (59).

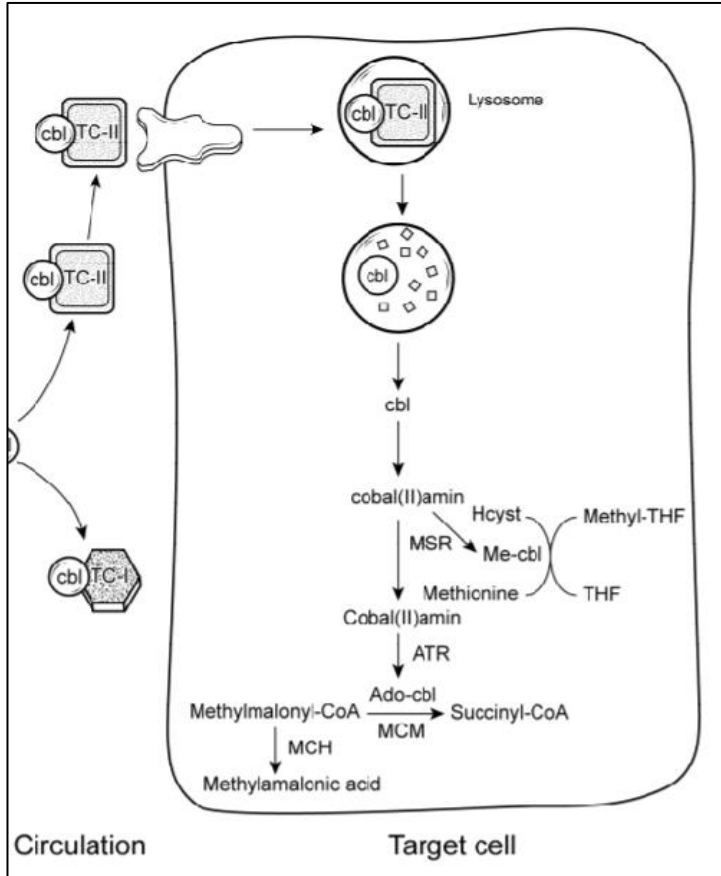
Serum holo-TC-II'nin referans aralıkları büyük farklılıklar göstermektedir. Laboratuvarlar 11 pmol/L ve 41 pmol/L arasında farklı referans aralıkları kullanmaktadır (59). Referans aralıklarının yapılacak çalışmaların sonuçları ile desteklenerek sensitivite ve spesifitesinin artırılması önerilmektedir.

Renal yetmezlik tablosunun yükselmiş holo-TC-II düzeyi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (60). Loikas ve ark.'nın yaptığı bir çalışmaya göre ciddi renal yetmezlik durumlarında vitamin B12 ve holo-TC-II'nin serum düzeyleri etkilenmektedir (61). Aynı zamanda holo-TC-II düzeyleri folat düzeyi, oral kontraseptif kullanımı, myelodisplazi gibi durumlar ve bazı hematolojik bozukluklardan da etkilenmektedir (62). Holo-TC-II düzeyinin ölçümleri; yarılanma ömrünün 6 dakika olması ve diyetle alınan vitamin B12 düzeyine bağımlılık göstermesi sebebi ile değişkenlik gösterebilmektedir (63).

Rutin ölçümler ve çalışmalarda kısıtlı kullanımı, referans düzeyi ile ilgili sistematik araştırmaların olmaması, diyetteki vitamin B12 düzeyine göre serum düzeyinde değişkenlik gözlenmesi holo-TC-II testinin vitamin B12 düzeyinin tespiti için kullanımına yönelik güvenilir bir test olmasının önündeki kısıtlılıklardır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar; holo-TC-II'nin dolaşımdaki biyoaktif vitamin B12 düzeyini göstermesi sebebiyle, vitamin B12 eksikliğinin tespitinde önemli bir gösterge olarak değerlendirilmektedir (57).

2.2.1.2.4. Homosistein Testi

Hedef hücrelerde; vitamin B12 ve kobalamin türevleri bir dizi reaksiyona girmektedir. Metionin sentetaz enzimi ile metiltetrahidrofolattan homosisteine metil grubu transferi yapılarak tetrahidrofolat ve metionin üretimi sağlanmaktadır. Bu tepkimede vitamin B12 kofaktör olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.7).

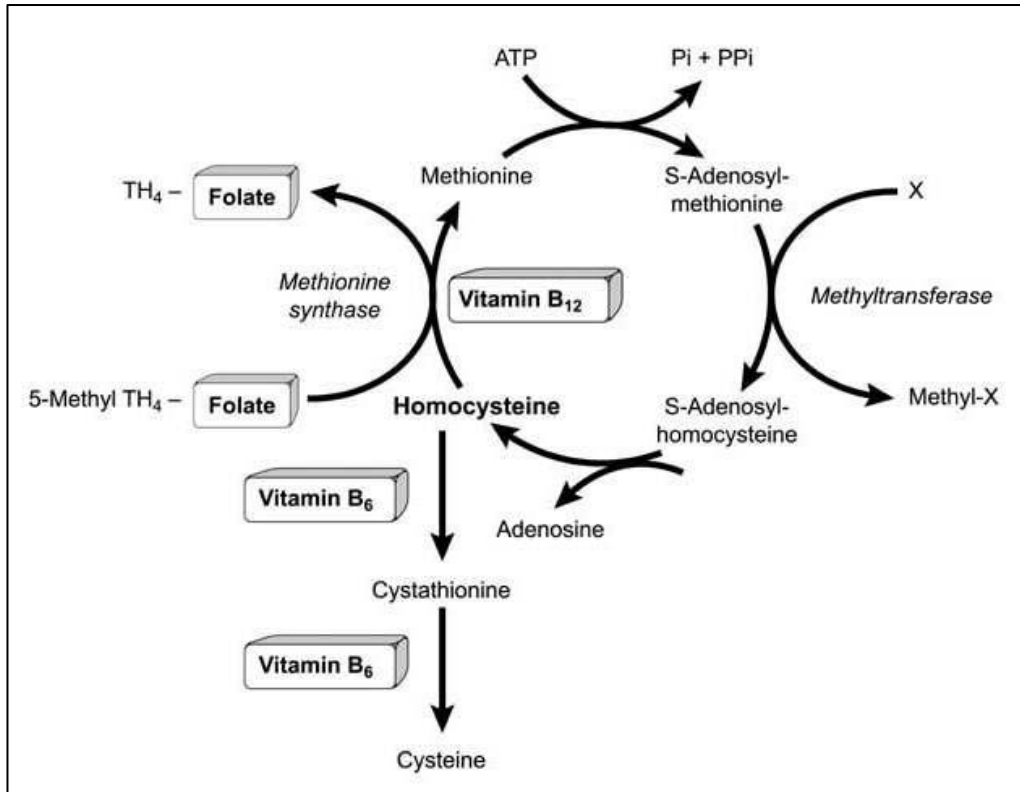


Şekil 2.7: Hedef hücreye alınan vitamin B12 ve hedef hücredeki metabolik yollar (4)

Vitamin B12'nin hedef hücrelerde yer aldığı metabolik yollar göz önüne alındığında; serum homosistein düzeyi; vitamin B12'nin hücresel durumunu gösteren önemli bir parametredir. Vitamin B12 eksikliği durumunda, serum homosistein düzeylerinde yükselme beklenen bir durumdur. Ancak yapılan çalışmalarda homosistein referans aralıklarının, yaş ve folat düzeyleri de gözönüne alınarak belirlenmesi önerilmektedir (64). Homosistein protein sentezinde kullanılmayan bir amino asittir ve metionin metabolizmasında yer almaktadır. Homosisteinin metionine

metilasyonu metionin sentaz enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu tepkimede metil kaynağı metil-THF olup; folat döngüsü ve homosistein metabolizması kesişmektedir. Bu sebeple homosistein düzeyi folat düzeyinden etkilenmektedir. Homosistein düzeyini değiştiren bir diğer parametre de yaştır. Yao ve ark. larının 535 sağlıklı gönüllüde yaptığı bir çalışmada; olgular 6 farklı yaş grubuna bölünerek incelenmiştir. Bu olgularda serum homosistein düzeylerinin, yaş artışına paralel olarak artış gösterdiği saptanmıştır (65). Vitamin B6 eksikliklerinin de homosistein düzeyini arttırdığı bilinmektedir (Şekil 2.8) (66-68).

Serum homosistein ölçümünün vitamin B12 eksikliğinde tanısal bir test olarak kullanımı serum MMA ölçümü ile benzer sensitiviteye sahiptir (64). Serum homosistein düzeyinin ölçümünün; vitamin B12 eksikliğinin tespitine yönelik spesifitesi ise kısıtlı kalmaktadır. Örneğin; folat eksikliği, renal yetmezlik, serum homosistein düzey yüksekliğine yol açan durumlar arasında sayılabilir (69,70). Bu sebeple; homosistein düzey ölçümünün hücresel vitamin B12 düzeyini gösteren diğer testler ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Böylelikle testlerin kısıtlılıkları en aza indirilebilir.



Şekil 2.8: Vitamin B12-homosistein ilişkisi

2.2.1.3. Vitamin B12 Eksikliği ve Metformin

İlk kez Berchtold ve ark. 1969'da yaptıkları bir çalışmayla en az 3 ay metformin kullanmakta olan hastalarda vitamin B12 emiliminin düşük olduğunu saptamıştır (5). Tomkin ve ark. ise 1971'de yaptıkları çalışmayla metformin kullanan hastaları 6 yıla kadar takip edip, metformin kullanımı ile ilişkili vitamin B12 eksikliğini ortaya koymuşlardır (6). Günümüzde metformin kullanımıyla serum vitamin B12 düzeylerinde düşüş olması üzerine fikir birliği bulunmaktadır. Hala tartışılmakta ve araştırılmakta olan konu ise; metforminin hücresele düzeyde vitamin B12 eksikliğine sebebiyet verip vermediği, klinik bulgulara neden olup olmadığı ve vitamin B12 eksikliğinin oluşum mekanizması üzerinde yoğunlaşmaktadır. Başlıca sorunlardan biri; vitamin B12 düzeyini güvenilir ve doğru belirleyen altın standart bir testin olmayışdır ve bu durum vitamin B12 eksikliğinin değerlendirilmesinde zorluğa neden olmaktadır.

2.2.1.3.1. Metforminin Vitamin B12 Düzeyine Etkisi

Metformin kullanımının vitamin B12 düzey düşüklüğü ile ilişkisi yapılan pek çok çalışmada tanımlanmıştır (71,72). Yetişkin popülasyonda yapılan randomize kontrollü çalışmalarda birkaç ay metformin kullanımının serum vitamin B12 düzeylerinde anlamlı olarak değerlendirilen düşüklüğe sebep olduğu kanıtlanmıştır (73). İlk olarak Berchtold ve ark.'nın yaptığı çalışma ile ortaya konan metformin ilişkili vitamin B12 eksikliği etkisi, daha sonra Tomkin ve ark.'nın yaptığı çalışma ile desteklenmiştir (5,6). Daha sonra yapılan pek çok çalışma da metformin-vitamin B12 eksikliği ilişkisini desteklemektedir. Çocukluk yaş grubunda ise bu konu üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Erişkinlerde yapılan kesitsel çalışmalarda, metformin kullanımına atfedilen vitamin B12 düzey düşüklüğünün prevalansı %17,8-26,8 arasında değişkenlik göstermektedir (71-75). Reinstattler ve ark.'larının yaptığı çalışmada; hepsi 50 yaş üzeri metformin kullanan 575 tip 2 DM hastası ile metformin kullanmayan 1046 tip 2 DM hastası karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ortalama metformin kullanım süresi 5 yıldır. Bu hastalarda metformin kullanan grupta vitamin B12 eksikliği gelişme

prevalansı %5,8 iken, metformin kullanmayan grupta ise vitamin B12 eksikliği prevalansı %2,2 olarak saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (71). Hermann ve ark. tarafından ortalama 2200 mg/g metformin kullanan 53 hastada yapılan bir çalışmada ise, uzun dönem metformin kullanan hastalarda hiç metformin kullanmayan hastalara göre vitamin B12 eksikliği gelişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (72). Şahin ve ark.'nın yaptıkları çalışmaya erişkin yaş grubu 165 tip 2 DM hastası dahil edilmiş, hastalara 2x850 mg/doz metformin tedavisi verilmiş ve 6 hafta sonra serum vitamin B12 düzeyleri ölçülmüştür. Yapılan ölçümlere göre; vitamin B12 düzeylerinde 20.2 pg/ml düşüklük saptanmış fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (73). Wuffele ve ark.'nın yaptıkları randomize kontrollü bir çalışmaya toplam 390 tip 2 DM ile takipli erişkin yaş grubunda hasta dahil edilmiştir. Bu çalışmada ise; 194 hastaya 16 hafta boyunca 3x850 mg/doz metformin tedavisi verilirken, 196 hastaya plasebo verilmiştir. Çalışmanın sonunda metformin kullanımının vitamin B12 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşe sebep olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca; uzun süreli metformin kullanımının, yani metformin kümülatif dozunun vitamin B12 düzeyindeki etkisine yönelik ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (74).

De Jager ve ark.'nın yürüttüğü 4,3 yıl süren randomize kontrollü çalışmaya ise; tip 2 DM ile takipli erişkin yaş grubu hastalar dahil edilmiştir. Hastalara 3x850 mg/doz metformin verilirken kontrol grubu hastalara plasebo verilmiştir. Bu çalışma; metformin ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğü ile ilgili en güçlü kanıtlar sunan çalışma olmuştur. Bu çalışmada metformin ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğü prevalansı %19 olarak saptanmış ve metformin kullanımında kümülatif dozun vitamin B12 düzey düşüklüğü ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ayrıca; metformin kullanım süresi ile vitamin B12 düzey düşüklüğünde progresif artış olduğunu kanıtlayan ilk araştırma olmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada, metformin ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğünün farmakolojik destek ihtiyacı gerektirdiği de savunulmuştur (7).

Singh ve ark.'nın tip 2 DM ile takipli erişkin yaş grubunda yaptıkları bir çalışmaya metformin kullanmakta olan 84 tip 2 DM hastası ve metformin kullanmayan 52 tip 2 DM hastası dahil edilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre en az 1 yıl süreyle

metformin kullanan grupta metformin kullanımı ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğü kanıtlanmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada kümülatif metformin dozu ile vitamin B12 düzeylerindeki düşüklük derecesi arasında pozitif korelasyon olduğuna dair sonuçlar da elde edilmiştir (76).

Sato ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise ortalama 2,9 yıl boyunca 1100 g/gün metformin kullanmakta olan 62 erişkin tip 2 DM ile takipli hasta ile, metformin tedavisi kullanmayan 46 erişkin tip 2 DM hastası karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada günlük metformin dozu ile vitamin B12 düzeyleri arasındaki negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunurken; metformin kullanım süresi yani metformin kümülatif dozu ile vitamin B12 düzeyleri arasında ilişki saptanmamıştır (77).

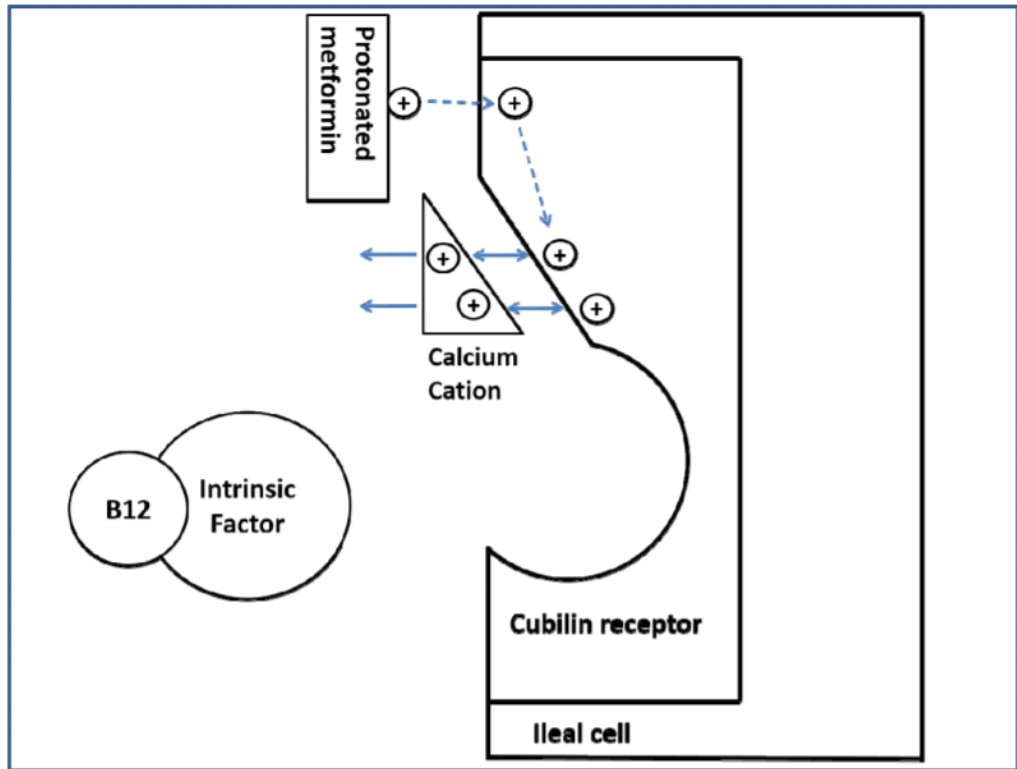
Tüm bu çalışmalar ışığında metformin kullanım süresi ve dozu ile vitamin B12 düzeyi arasındaki ilişki netlik kazanmamıştır.

2.2.1.3.2. Metformin İlişkili Vitamin B12 Düzey Düşüklüğünün Mekanizması

Metforminin vitamin B12 emilimi üzerine etkisiyle ilgili pek çok mekanizma öne sürülmüştür. İlk olarak metforminin; intestinal bakteriyel yük artışına neden olarak IF-vitamin B12 kompleksinin intestinal emilim yüzeyine bağlanmasını azalttığı ileri sürülmüştür (78). Diğer mekanizma ise; metforminin intestinal motiliteyi azaltarak, vitamin B12 emiliminde azalmaya yol açtığına dairdir (79, 80).

Bauman ve ark. tarafından yapılan çalışma ise güncel olarak kabul gören ve etki mekanizmasını daha net bir şekilde açıklayan çalışma olmuştur. Bu çalışmaya göre; metformin kalsiyum katyonunu antagonize ederek kalsiyum ilişkili IF-vitamin B12 kompleksinin ileal kubilin reseptörüne bağlanmasını ve böylelikle emilimini engellemektedir (Şekil 2.9). Bu çalışmaya erişkin yaş grubunda toplam 21 tip 2 DM hastası dahil edilmiştir. Hastaların 14'üne 3 ay metformin verilmiş, 7'sine metformin verilmemiştir. Metformin verilen hastalar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ilk 3 ayda vitamin B12 ve holo-TC-II düzeylerinde tedrici olarak ve istatistiksel olarak anlamlı düzey düşüklüğü saptanmıştır. Çalışmada sonraki 1 ay boyunca, metformin almakta olan gruba ve kontrol grubuna oral kalsiyum desteği sağlanmıştır. Bu bir ayın

sonunda, holo-TC-II değerleri tekrar llm ve metformin almakta olan grupta kontrol grubuna göre holo-TC-II düzeylerinde %53 artış saptanmıştır. Bu çalışmada; hızlı hidrojen nefes testi ile aslında önceden ne sürülen bir mekanizma olan bakteriyel yk artışının olmadığı da gösterilmiştir (81). Protonlanmış metformin molekülünün ileal membranda hidrokarbon çekirdeğe ilerleyerek membran yüzeyini pozitif yüklü hale getirip, aynı elektriksel yüke sahip kalsiyum katyonunun itme etkisine maruz kaldığı ne sürülmüştür (şekil 2.9) (77).



şekil 2.9: Metforminin vitamin B12 emilimini engelleme mekanizması, metforminin kalsiyum katyonunu antagonize etmesi ile IF-vitamin B12 kompleksinin kalsiyum bağımlı ileal kubilin reseptörüne bağlanması işlemi engellenmekte ve böylelikle vitamin B12 emilim bozukluğuna neden olmaktadır (81)

2.2.1.3.3. Metforminin Hücresel Vitamin B12 Belirteçlerine zerine Etkisi

2.2.1.3.3.1. Homosistein Düzeyine Etkisi

Wulffele ve ark.'nın 30-80 yaş arası toplam 400 tip 2 DM ile takipli hastada yaptıkları randomize kontrollü bir çalışmada, 12 hafta süreyle hastaların yarısına 2500

mg/g metformin, kontrol grubuna da placebo verilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; metformin kullanan grupta kontrol grubuna göre vitamin B12 düzeyinde %14'lük bir düşüş saptanmış olup, homosistein düzeyinde ise %4'lük artış saptanmıştır (74). Sato ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, metformin kullanmakta olan erişkin Tip 2 DM hastalarında vitamin B12 düzeyi ile homosistein düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır (77). Wile ve ark. tarafından erişkin Tip 2 DM ile takipli hastalarda yapılan bir çalışmada da, en az 6 ay metformin kullanan ve metformin kullanmayan hastalar karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada kümülatif metformin dozu ve homosistein düzeyleri arasında pozitif korelasyon varlığına dair kanıtlar sunulmuştur (82). Hoogeveen ve ark. tarafından yapılan bir başka araştırmada ise; en az 6 ay, 500-2550 mg/g metformin kullanan tip 2 DM ile takipli 40 erişkin hasta ile metformin kullanmayan 71 erişkin tip 2 DM hastası karşılaştırıldığında metformin kullanan grupta daha yüksek homosistein düzeylerine ulaşılmıştır (83).

De Jager ve ark.'nın yürüttüğü 52 ay süren randomize kontrollü çalışmaya tip 2 DM ile takipli toplam 390 erişkin hasta dahil edilmiştir. Bu çalışmada hastaların bir kısmına 2550 mg/gün metformin, kontrol grubuna ise plasebo verilmiştir. Bu çalışma metformin ilişkili vitamin B12 düzeyi düşüklüğü ile ilgili en güçlü kanıtlar sunan çalışma olmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, metformin kullanan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında metformin kullanan grupta homosistein düzeylerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Metformin kullanan grupta vitamin B12 eksikliği gelişen hastalar değerlendirildiğinde ise, bu hastalarda saptanan homosistein düzey artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (7).

Tam tersi sonuçlar elde edilen çalışmalar da mevcuttur. Tayland'da yapılan kesitsel bir çalışma; 152 erişkin tip 2 DM hastasında metformin tedavisinin serum homosistein, vitamin B12 üzerine etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada 88 hastaya en az 6 ay metformin verilmiş ve 64 sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve metformin kullanımının homosistein düzeyini etkilemediğine ilişkin sonuçlar sunulmuştur (84).

Carlsen ve ark. tarafından polikistik over sendromu olan ve 16 hafta metformin tedavisi kullanan 18 hastada yapılan randomize kontrollü çalışmada metformin kullanımının homosistein düzeyini etkilemediğine yönelik sonuçlar elde edilmiştir

(75). Reinstatler ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise; metformin kullanan 575 erişkin tip 2 DM hastası ile metformin kullanmayan 1046 erişkin tip 2 DM'li hasta karşılaştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada; metformin kullanan grup ile kullanmayan kontrol grubu arasında homosistein düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (71).

2.2.1.3.3.2. MMA Düzeyine Etkisi

Vitamin B12 eksikliğini belirlemede kullanılan diğer testlerden MMA düzeyi serumda sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) testi, serumda yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi, kapiller elektroforez yöntemi ve idrarda gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC-MS) yöntemi ile saptanır (85).

Wile ve ark. periferik nöropatisi olan tip 2 DM hastalarını dahil ettikleri çalışmalarında metformin kullanımının vitamin B12, homosistein, MMA düzeyleri üzerine etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmada uzun dönem metformin kullanımının vitamin B12 malabsorbsiyonuna yol açıp, serum MMA, homosistein düzeylerinde yükseliğe sebep olarak diyabetik hastalarda periferik nöropati tablosunu ağırlaştırdığı hipotezi savunulmuştur. Wile ve ark.'nın yaptıkları bu vaka-kontrol çalışmasında; en az 6 ay metformin alan toplam 59 Tip 2 DM hastası ve metformin almayan 63 tip 2 DM hastası karşılaştırıldığında metformin kullanan grupta idrarda daha yüksek MMA düzeyleri bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca literatürde ilk defa metforminin kümülatif dozu ve serum MMA düzeyi arasındaki istatistiksel olarak anlamlı ilişki tanımlanmıştır (82).

Ancak aksi görüşleri savunan çalışmalar da mevcuttur. İngiltere'de yapılan kesitsel bir çalışmada 6 ay metformin kullanan tip 2 DM ile takipli 152 hasta, metformin almayan 50 tip 2 DM hastası ile karşılaştırılmış ve serum MMA düzeylerine ilişkin istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (86). Carlsen ve ark.'nın polikistik over sendromu olan ve metformin kullanan hastalarda yaptığı randomize kontrollü çalışmada, 16 hafta süresince metformin kullanımının serum MMA düzeyini etkilemediğine yönelik sonuçlar elde edilmiştir (75). Benzer şekilde Greibe ve ark.

tarafından yapılan bir çalışmada en az 6 ay 1,5-2,5 gr/g metformin kullanan 29 polikistik over tanılı hasta ile 23 metformin kullanmayan polikistik over hastası değerlendirildiğinde, metformin kullanan grupta serum MMA düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır (87).

MMA ölçümü yüksek teknoloji gerektirmesi, böbrek fonksiyonlarının azalmasından etkilenmesi, yanlış pozitif değerler görülebilmesi sebepleriyle değerlendirmede zorlukları olan bir yöntemdir.

2.3. Metformin İlişkili Vitamin B12 Eksikliği

Erişkin çalışmalarıyla sunulan kanıtlar ile metformin kullanımının vitamin B12 eksikliğine neden olduğuna yönelik güncel bir fikirbirliği mevcuttur. Ancak literatürde, çocukluk çağı ve adolesan popülasyonda metformin kullanımı ile vitamin B12 düzey ilişkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamaktadır. Metformin kullanımı ile ilişkilendirilen vitamin B12 eksikliğinin sıklığı; kullanılan biyokimyasal parametrelere, bu parametrelerin seçilen referans aralıklarına göre farklılık göstermektedir. Benzer şekilde; çalışılan örneklem özelliklerinin (obez bireyler, Tip 2 DM ile takipli hastalar, metabolik sendromla takipli hastalar, vb.) ve çalışma ilişkili faktörler (kan alım teknikleri, kan örneklerinin saklanma koşulları) de yine sonucu etkileyen nedenlerdendir. Metformin ilişkili vitamin B12 eksikliğine yönelik yapılan çalışmalarda henüz açığa kavuşturulamayan noktalar ise; metformin kullanımının hücresel düzeyde vitamin B12 eksikliğine neden olup olmadığı ve tespit edilen eksikliğin klinik bulgulara yol açıp açmadığıdır.

Son yıllarda çocuk ve adolesan yaş grubunda obezitenin artış gösteren prevalansı ve beraberinde gözlenen insülin direnci tablosu Tip 2 DM gelişimine sebep olmaktadır. Bu nedenle bu yaş grubunda metformin kullanım sıklığında belirgin artış gözlenmektedir. Ancak literatürde çocukluk çağı ve adolesan popülasyonda metformin kullanımı ve vitamin B12 düzey ilişkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

Metformin ilişkili vitamin B12 eksikliğine yönelik literatürde erişkin yaş grubunda yapılan pek çok büyük ölçekli çalışma bulunmakla beraber, elde edilen

sonuçlar önemli farklılıkları ve zıtlıkları barındırmaktadır. Çocukluk ve adolesan dönemde metformin kullanımı ve vitamin B12 eksikliğine etkisini araştıran çalışmaların olmaması konuyu aydınlatmada bir eksiklik olarak değerlendirilebilir ve bunu araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu bağlamda; biz de bu çalışma ile, çocukluk çağında metformin kullanımı ve vitamin B12 düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın etik kurul onayı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 12.02.2018 tarihli oturumunda, 03-124-18 karar numarası ile alınmıştır. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na 15.06.2018 tarihinde projemize destek kararı verilmiştir (Protokol No.19L0230003).

Çalışmamıza Ocak 2017- Mart 2019 tarihleri arasında AÜTF Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran, yaşları 10-18 yaş arası (ortalama 13,8) değişen, en az 6 ay süreyle ve en az 500 mg/gün dozunda olmak üzere değişen dozlarda metformin kullanan 40 çocuk dahil edildi. Olgularda metformin tedavisi öncesi, 6. ve 12. aylarda serum homosistein, vitamin B12, holo-TC-II ve plazma MMA düzeyleri ölçüldü.

Hastaların primer hastalıklarına yönelik bilgiler dosyalarından not edildi. Metformin başlanmadan önce ve sonrası endokrin poliklinik takipleri sırasında bakılan tam kan sayımları, açlık insülin, HbA1c değerleri hasta dosyalarından incelenerek bilgiler kaydedildi.

Vitamin B12 eksikliğine neden olan ve sonuçları etkileyebilecek ek hastalığı olanlar (Örn: kalıtsal IF eksikliği, Imerslund-Grasbeck Sendromu, transkobalamin reseptör eksikliği, inflamatuvar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı, pankreatik yetmezliği gibi) çalışma dışı bırakıldı. Herhangi bir proton pompa inh, H2 blokör kullanımı veya vitamin B12 desteği alan olgular kaydedildi ve çalışma dışı bırakıldı.

VKİ, yaşa ve cinsiyete göre 85 persentil üstünde ve 94 persentil altında olanlar fazla kilolu olarak kabul edildi. VKİ; yaş ve cinsiyete göre 95 persentil üstünde olanlar obez olarak kabul edildi (2).

Tip 2 DM tanısı için Amerikan Diabet Derneği'nin kriterleri kullanıldı. Aşağıdaki kriterlerden herhangi birinin karşılanması ile diabet tanısı konuldu:

- Açlık kan şekeri (AKŞ) ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
- Oral glikoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2. saat kan şekeri ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)
- Hemoglobin A1c (HbA1c) $\geq \% 6.5$ (48 mmol/mol)
- Hiperglisemiye ait klasik semptomları olan hastada herhangi bir zamanda kan şekerinin ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)

Metabolik sendrom tanısı ise DSÖ'nün aşağıda belirtilen kriterlerine göre konuldu:

Obezite	VKİ > 95 p
Anormal glikoz dengesi	Aşağıdakilerden birisi; • Açlık hiperinsülinemisi (prepubertal ≥ 15 mU/L, midpubertal ≥ 30 mU/L, postpubertal ≥ 20 mU/L) • Bozulmuş açlık glukozu (≥ 100 mg/dl) • Bozulmuş glukoz toleransı (OGTT sırasında glukoz 140-200 mg/dl)
Hipertansiyon	Sistolik kan basıncının yaş ve cinsiyete göre ≥ 95 persentil
Dislipidemi	Aşağıdakilerden biri: • Yüksek trigliserid • Düşük HDL kolesterol (35 mg/dl) • Yüksek total kolesterol

Serum vitamin B12 < 150 pmol/L vitamin B12 eksikliği, serum vitamin B12 150-200 pmol/L kısmi vitamin B 12 eksikliği; serum homosistein ≥ 10 umol/L hiperhomosisteinemi, plazma MMA yüksekliği $> 0,4$ umol/L, serum holo-TC-II için alt sınır ise $< 42,48$ pmol/L olarak kabul edildi (42,64,85).

3.1. Kan Örnekleri

Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan kan örnekleri takip eden 1 saat içinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Metabolizma Bölümü'nde

‘Nüve 1200’ marka santrifüj cihazı ile 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi; plazma ve serumları ayrıldı. Kan örnekleri katkısız eppendorf tüplerine alınarak laboratuvarımızda -80 °C’de depolanarak muhafaza edildi. Çalışma yapılacağı zaman örnekler biyokimya laboratuvarımızda ve 2 farklı merkezde uygun kitler ve yöntemler kullanılarak çalışıldı.

3.1.1. Vitamin B12 Çalışma Yöntemi

Serumda vitamin B12 düzeyleri DXI 800 Unicel (Beckmann Coulter, USA) immunassay otoanalizöründe, yarışmalı protein bağlama yöntemiyle çalışıldı. Sonuçlar pmol/L cinsinden verildi.

3.1.2. Aktif B12 Çalışma Yöntemi

Serum holo-TC-II düzeyleri ARCHITECT (Abbott Laboratories, Abbott Park, USA) kemilüminesans mikropartikül immunassay otoanalizatöründe çalışıldı. Düzeylerin çalışma sırasında serum örnekleri ve paramanyetik mikropartikül kaplı anti-holo-TC-II preparatları birleştirildi. Serumda mevcut holo-TC-II, anti-holo-TC-II preparatına bağlandı. Kemilüminesans reaksiyonu ölçümü sonrası holo-TC-II değerleri sonuçları pmol/L cinsinden verildi.

3.1.3. Homosistein Çalışma Yöntemi

Serum homosistein düzeyleri ARCHITECT (Abbott Laboratories, Abbott Park, USA) kemilüminesans mikropartikül immunassay otoanalizatöründe çalışıldı. Test örneğinde, reaksiyon kuyularında rekombinant antijenler ile kaplı mikropatiküller mevcuttu. Örnekler çalışıldıktan sonra, sonuçlar; kemilüminesans reaksiyonu ölçümü sonrası holo-TC-II değerleri sonuçları umol/L cinsinden verildi.

3.1.4. MMA Çalışma Yöntemi

Plazma MMA düzeyleri LC-MS/MS (sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi) yöntemiyle AB Sciex (University of Toronto,

USA) analizatöründe çalışıldı. Ultra performans sıvı kromatografi cihazı sayesinde örnekler; fizikokimyasal özelliklerine göre ayrıldı, moleküler kütle dedektörü ile analiz edildi. Kütle spektrometreleri molekülleri iyonizasyon işlemi ile uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürdüler. Birinci kuadropol filtrede kütle/yük oranına göre ayrılan moleküller collision gaz adı verilen azot gazı ile parçalanmaya tabi tutuldu. İkinci kuadropol filtrede parçalanma sonucu oluşan iyonların üzerinden miktar teşhisi yaparak sonuçlar; umol/L cinsinden verildi.

3.2. İstatistiksel Analiz

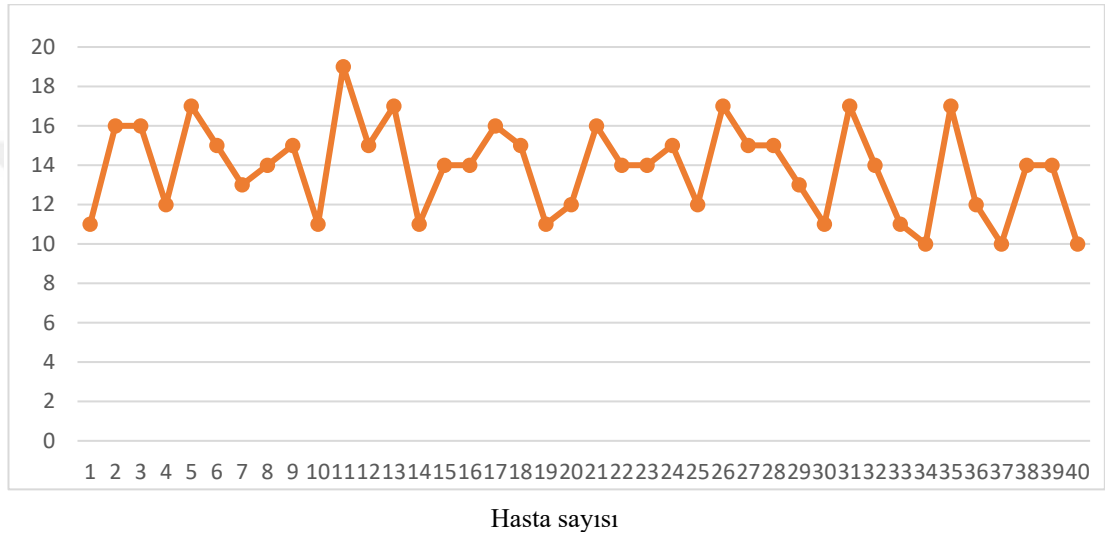
Veriler IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corp., Amonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli veriler için birim sayısı(n), ortalama, standart deviasyon, ortanca, minumum ve maksimum değerler ile, kesikli veriler yüzde(%) ile verildi.

Hastaların 0., 6. ve 12. ay parametre ölçümlerinin değerlendirilmesinde ve karşılaştırılmasında tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. İki parametrelili grupların karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan veriler için Bağımlı Gruplarda T-testi kullanıldı. Üç veya daha fazla grubun karşılaştırılmasında normal dağılıma uymayan değişkenlerde Friedman testi kullanıldı. İki grubun karşılaştırılmasında normal dağılıma uymayan değişkenlerde Wilcoxon testi kullanıldı. İki sayısal değer arası ilişkinin saptanmasında normal dağılım göstermeyen değişkenlerde ise Spearman korelasyon analizi kullanıldı.

$p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 40 olgu dahil edilmiş olup olguların %60'ı 6 aylık izleme devam ederken; 12. ayda ise hastaların %28'i takibe devam edebildi. İncelenen hastaların en küçüğü 10, en büyüğü 19 yaşında idi ve ortalama yaş $13,8 \pm 2,3$ idi (Şekil 4.1). Olguların %60'ı kız, %40' ı ise erkek olup Tablo 4.1'de olguların cinsiyet dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Olguların yaşa göre dağılımı

Tablo 4.1: Olguların cinsiyet dağılımı

	Cinsiyet		Toplam
	Kız	Erkek	
Hasta sayısı (n)	24	16	40
Yüzde (%)	60	40	100

Olguların ortalama vücut kitle indeksi $31,3 \pm 4,9$ olarak bulundu. Olgulara başlanan ve kullanmakta oldukları metformin dozu ortalaması $1043 \pm 190,6$ mg/gün olarak saptandı (Tablo 4.2). Bir olgu 500 mg/gün, 1 olgu 1700 mg/gün, 1 olgu 2000 mg/gün, 37 olgu ise 1000 mg/gün metformin kullanmakta idi.

Tablo 4.2: Olguların vücut kitle indeksi (VKİ) ve günlük metformin dozu açısından dağılımı

	Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)
Vücut Kitle İndeksi (VKİ)	40	31,3±4,9	31,9(22-42,2)
Metformin Dozu (mg/gün)		1043±190,6	1000(500-2000)

Olgular tanıları açısından değerlendirildiğinde bozulmuş glikoz tanısı 35’inde (%88), metabolik sendrom 2’sinde (%5), tip 2 diabetes mellitus 1’inde (%3), PCOS tanısı 3’ünde (%7,5) saptandı. Olguların 23’ünde (%57,5) obezite saptanırken, 14’ü (%35) fazla kilolu idi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Olguların tanılarına göre dağılımı

	Hasta sayısı(n)	Yüzde (%)
Bozulmuş glikoz toleransı varlığı	35	87,5
Obezite tanısı varlığı	23	57,5
Fazla kilolu	14	35
Metabolik sendrom tanısı varlığı	2	5
Tip 2 DM tanısı varlığı	1	3
PCOS tanısı varlığı	3	7,5

Metformin tedavisi başlanmadan önce 39 hastada bakılan tam kan sayımından elde ettiğimiz hemoglobin değeri (Hb) ortalaması 14,3±1,3 g/dL, MCV ortalaması 81,4±4,5fL olarak saptandı. Ölçülen en düşük Hb değeri 11,8 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,8 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 73 fL, en yüksek MCV değeri 93,9 fL olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde Hb ve MCV ortalamaları olguların %68’inde (n=27) ölçülmüş olup, Hb ortalaması 14,4 ±1,4 mg/ dL, MCV ortalaması 82,6±4,6 fL olarak bulundu. Ölçülen en düşük Hb değeri 12,1 g/dL, en yüksek Hb değeri 17 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 75,9 fL, en yüksek MCV değeri 92,9 fL olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde Hb ve MCV

ortalamları olguların %33'ünde (n=13) ölçülmüş olup, Hb ortalaması $14,6 \pm 1,4$ mg/dl, MCV ortalaması $83,5 \pm 3,5$ fL olarak saptandı. Ölçülen en düşük Hb değeri 12,3 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,7 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 78,9 fL, en yüksek MCV değeri 89,5 fL olarak bulundu (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Hastaların metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında elde edilen hemoglobin (Hb) ve MCV değerleri ve dağılımı

		Hasta sayısı (n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)
0. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	39	$14,3 \pm 1,3$	14,1(11,8-16,8)
	MCV (fL)		$81,4 \pm 4,5$	80,7(73-93,9)
6. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	27	$14,4 \pm 1,4$	14,2(12,1-17)
	MCV (fL)		$82,6 \pm 4,6$	81,2(75,9-92,9)
12. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	13	$14,6 \pm 1,4$	14,2(12,3-16,7)
	MCV (fL)		$83,5 \pm 3,5$	81,9(78,9-89,5)

Elde edilen verilerde olgulardan 0. ay ve 6. ay Hb değerleri bulunanlar (tüm olguların %68, n=27) ancak 12. ay ölçümleri bulunmayanlar kendi içinde incelendiğinde, hemoglobin değeri (Hb) 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $14,4 \pm 1,2$ g/dL, MCV ortalaması $82 \pm 4,5$ fL olarak saptandı. Ölçülen en düşük Hb değeri 11,8 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,8 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 74,7 fL, en yüksek MCV değeri 93,9 fL olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde Hb ortalaması $14,4 \pm 1,4$ mg/dL, MCV ortalaması $82,2 \pm 4,6$ fL olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük Hb değeri 12,1 g/dL, en yüksek Hb değeri 17 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 75,9 fL, en yüksek MCV değeri 92,9 fL olarak bulundu. Bu veriler değerlendirilirken Bağımlı gruplarda T-test kullanılarak elde edilen sonuçlarda 0. ve 6. ay Hb ve MCV değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,72$; $p=0,71$ $p>0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında Hb ve MCV değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	27	14,4±1,2	14,2(11,8-16,8)	0,72
	MCV (fL)		82±4,5	81,6(74,7-93,9)	0,71
6. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)		14,4±1,4	14,2(12,1-17)	0,72
	MCV (fL)		82,2±4,6	81,2(75,9-92,9)	0,71

0., 6., 12. ay Hb değerleri bulunan olgular (tüm olguların %32'si, n=13) ayrıca değerlendirildiğinde hemoglobin değeri (Hb) 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $14,9 \pm 1,1$ g/ dL, MCV ortalaması $83,4 \pm 4$ fL olarak saptandı. Ölçülen en düşük Hb değeri 13,5 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,8 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 77,6 fL, en yüksek MCV değeri 89,7 fL olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde Hb ortalaması $14,8 \pm 1,3$ mg/dL, MCV ortalaması $82,8 \pm 4,1$ fL olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük Hb değeri 13 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,7 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 77,6 fL, en yüksek MCV değeri 89,8 fL olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde Hb ortalaması $14,6 \pm 1,4$ mg/dL, MCV ortalaması $83,6 \pm 3,6$ fL olarak saptandı. Ölçülen en düşük Hb değeri 12,3 g/dL, en yüksek Hb değeri 16,7 g/dL olarak bulundu. Ölçülen en düşük MCV değeri 78,9 fL, en yüksek MCV değeri 89,5 fL olarak bulundu. Bu sonuçlar Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi ile değerlendirilmiş olup 0., 6. ve 12. ay Hb ve MCV değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,81$; $p=0,44$ $p>0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında Hb, MCV değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	13	14,9±1,1	14,6(13,5-16,8)	0,81
	MCV (fL)		83,4±4	83(77,6-89,7)	0,44
6. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)		14,8±1,3	14,9(13-16,7)	0,81
	MCV (fL)		82,8±4,1	81,5(77,6-89,8)	0,44
12. ay	Hemoglobin (Hb) (g/dl)		14,6±1,4	14,6(12,3-16,7)	0,81
	MCV (fL)		83,6±3,6	83,3(78,9-89,5)	0,44

Metformin tedavisi başlanmadan önce vitamin B12 düzeyi 38 hastada ölçülmüş olup ortalaması 168±58 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 73 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 348 pmol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde vitamin B12 değeri olguların %63'ünde (n=25) ölçülmüş olup ortalaması 158±48 pmol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 57 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 258 pmol/L olarak saptandı. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde vitamin B12 değeri olguların %38'inde (n=15) ölçülmüş olup ortalaması 188±130 pmol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük Vitamin B12 değeri 98 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 634 pmol/L olarak bulundu (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında vitamin B12 değerleri

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)
0. ay	Vitamin B12 (pmol/L)	38	168±58	157(73-348)
6. ay		25	158±48	156(57-258)
12. ay		15	188±130	162(98-634)

Elde edilen verilerde olguların 0. ay ve 6. ay vitamin B12 değerleri bulunan ancak 12. ay ölçümleri bulunmayanlar (tüm olguların %60'ı, n=24) kendi içinde incelendiğinde vitamin B12 değeri 0. ay ortalaması bu olgular özelinde 156 ± 44 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 73 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 232 pmol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde vitamin B12 ortalaması 155 ± 47 pmol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 57 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 258 pmol/L olarak bulundu. Bu veriler değerlendirilirken Bağımlı gruplarda T-test kullanılarak elde edilen sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,939$; $p>0,05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında vitamin B12 değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Vitamin B12 (pmol/L)	24	156 ± 44	155(73-232)	0,939
6. ay			155 ± 47	148(57-258)	

0, 6, 12. ay vitamin B12 değerleri bulunan olgular (tüm olguların %28'i, n=11) ayrıca kendi içinde değerlendirildiğinde vitamin B12 değeri 0. ay ortalaması bu olgular özelinde 164 ± 37 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 117 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 232 pmol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde vitamin B12 ortalaması 153 ± 32 pmol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 116

pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 214 pmol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde ise olguların vitamin B12 ortalaması 154 ± 40 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük vitamin B12 değeri 98 pmol/L, en yüksek vitamin B12 değeri 200 pmol/L olarak bulundu. Bu sonuçlar Friedman analizi ile değerlendirildiğinde, 0., 6. ve 12. ay vitamin B12 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,529$; $p>0,05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında vitamin B12 değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Vitamin B12 (pmol/L)	11	164 $\pm$ 37	161(117-232)	0,529
6. ay			153 $\pm$ 32	148(116-214)	
12. ay			154 $\pm$ 40	162(98-200)	

Metformin tedavisi başlanmadan önce homosistein değerleri 37 hastada ölçülebilmüş olup ortalaması $10,7 \pm 3$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük homosistein değeri 6,1 umol/L, en yüksek homosistein değeri 21,9 umol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde homosistein değeri olguların %63'ünde ($n=25$) ölçülebilmüş olup ortalaması $10,6 \pm 3,5$ umol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük homosistein değeri 6,6 umol/L, en yüksek homosistein değeri 20,7 umol/L olarak saptandı. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde homosistein değeri olguların %38'inde ($n=15$) ölçülebilmüş olup, ortalaması $11,8 \pm 6,7$ umol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük homosistein değeri 5,4 umol/L, en yüksek homosistein değeri 35,1 umol/L olarak bulundu (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Metformin tedavisinin 0., 6.ve 12. ayında homosistein değerleri

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)
0. ay	Homosistein (umol/L)	37	10,7±3	10(6,1-21,9)
6. ay		25	10,6±3,5	9,7(6,6-20,7)
12. ay		15	11,8±6,7	9,8(5,4-35,1)

Elde edilen verilerde olguların 0. ay ve 6. ay homosistein değerleri bulunan ancak 12. ay ölçümleri bulunmayanlar (tüm olguların %60'ı, n=24) kendi içinde incelendiğinde olguların 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $11\pm3,1$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük homosistein değeri 7,2 umol/L, en yüksek homosistein değeri 21,9 umol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde homosistein ortalaması $10,6\pm3,6$ umol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük homosistein değeri 6,6 umol/L, en yüksek homosistein değeri 20,7 umol/L olarak bulundu. Bu veriler değerlendirilirken Wilcoxon testi kullanılarak elde edilen sonuçlarda 0. ve 6. ay homosistein değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,097$; $p>0,05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında homosistein değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Homosistein (umol/L)	24	$11\pm3,1$	10,1(7,2-21,9)	0,097
6. ay			$10,6\pm3,6$	9,6(6,6-20,7)	

0, 6, 12. ay homosistein değerleri bulunan olgular (tüm olguların %28'i, n=11) kendi içinde değerlendirildiğinde homosistein değeri 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $11\pm1,8$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük homosistein değeri 8,4 umol/L, en yüksek homosistein değeri 14,2 umol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde homosistein ortalaması $11,2\pm3,6$ umol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük homosistein değeri 7,7 umol/L, en yüksek homosistein değeri 20,7 umol/L olarak bulundu. Metformin

tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde ise olguların homosistein ortalaması $12,2 \pm 7,9$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük homosistein değeri 7,4 umol/L, en yüksek homosistein değeri 35,1 umol/L olarak bulundu. Bu sonuçlar Friedman analizi ile değerlendirilmiş olup, 0., 6. ve 12. ay homosistein değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,307$; $p>0,05$) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. Ayında homosistein değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı(n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Homosistein (umol/L)	11	$11 \pm 1,8$	10,6(8,4-14,2)	0,307
6. ay			$11,2 \pm 3,6$	10,5(7,7-20,7)	
12. ay			$12,2 \pm 7,9$	9,8(7,4-35,1)	

Metformin tedavisi başlanmadan önce bakılan, parametrelerden olan MMA değerleri 37 hastada ölçülmüş olup ortalaması $0,4 \pm 0,3$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 1,4 umol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde MMA değeri olguların %63'ünde ($n=25$) ölçülebilmüş olup ortalaması $0,3 \pm 0,2$ umol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 1 umol/L olarak saptandı. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde MMA değeri olguların %38'inde ($n=15$) ölçülebilmüş olup ortalaması $0,3 \pm 0,2$ umol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 0,6 umol/L olarak bulundu (Tablo 4.13).

Tablo 4.13: Hastaların metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. Ayında MMA değerleri

		Hasta sayısı (n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)
0. ay	MMA (umol/L)	37	$0,4 \pm 0,3$	0,3(0,1-1,4)
6. ay		25	$0,3 \pm 0,2$	0,2(0,1-1)
12. ay		15	$0,3 \pm 0,2$	0,3(0,1-0,6)

Elde edilen verilerde olguların metformin tedavisinden önceki MMA değerleri ve tedavinin 6. ayına ait değerleri bulunan ancak 12. ay ölçümleri bulunmayanlar (tüm olguların %58'i, n=23) kendi içinde incelendiğinde olguların 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $0,4\pm0,2$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 1 umol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde MMA ortalaması $0,3\pm0,1$ umol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 0,4umol/L olarak bulundu. Bu olgular değerlendirilirken Wilcoxon testi kullanılarak elde edilen sonuçlarda 0. ve 6. ay MMA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$; $p<0,05$) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14: Metformin tedavisinin 0. ve 6. ayında MMA değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0.ay	MMA (umol/L)	23	0,4 $\pm$ 0,2	0,3(0,1-1)	0,001
6. ay			0,3 $\pm$ 0,1	0,2(0,1-0,4)	

0, 6, 12. ay MMA değerleri bulunan olgular (tüm olguların %28'i, n=11) kendi içinde değerlendirildiğinde MMA değeri 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $0,4\pm0,3$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 1 umol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde MMA ortalaması $0,3\pm0,1$ umol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,2 umol/L, en yüksek MMA değeri 0,4 umol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde ise olguların MMA ortalaması $0,3\pm0,2$ umol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük MMA değeri 0,1 umol/L, en yüksek MMA değeri 0,6 umol/L olarak bulundu. Bu sonuçlar Friedman analizi ile değerlendirildiğinde 0., 6. ve 12. ay MMA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,086$; $p>0,05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. Ayında MMA değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	MMA (umol/L)	11	0,4±0,3	0,3(0,1-1)	0,086
6. ay			0,3±0,1	0,3(0,2-0,4)	
12. ay			0,3±0,2	0,3(0,1-0,6)	

Metformin tedavisi başlanmadan önce bakılan Holo-TC-II değerleri 37 hastada ölçülebilmüş olup ortalaması 59,3±30 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 17,3 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 128 pmol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde Holo-TC-II değeri olguların %63'ünde (n=25) ölçülebilmüş olup ortalaması 53,2±20 pmol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 19,9 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 123 pmol/L olarak saptandı. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde Holo-TC-II değeri olguların %38'inde (n=15) ölçülebilmüş olup ortalaması 57,6±31 pmol/L olarak bulundu. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 19 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 128 pmol/L olarak bulundu (Tablo 4.16).

Tablo 4.16: Hastaların metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. ayında Holo-TC-II değerleri

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)
0. ay	Holo-TC-II (pmol/L)	37	59,3±30	55,3(17,3-128)
6. ay		25	53,2±20	51(19,9-123)
12. ay		15	57,6±31	49(19-128)

Elde edilen verilerde, olguların metformin tedavisinden önceki Holo-TC-II değerleri ve tedavinin 6. ayına ait değerleri bulunan ancak 12. ay ölçümleri bulunmayanlar (tüm olguların %60'ı, n=24) kendi içinde incelendiğinde olguların 0. ay Holo-TC-II ortalaması bu olgular özelinde 52,5±27 pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 22,5 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 128 pmol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra

bakılan 2. ölçümlerde Holo-TC-II ortalaması $53,5 \pm 21$ pmol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 19,9 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 122,9 pmol/L olarak bulundu. Bu parametreler değerlendirilirken Wilcoxon testi kullanılarak elde edilen sonuçlarda 0. ve 6. ay Holo-TC-II değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,219$; $p>0,05$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: Metformin tedavisinin 0. ve 6. Ayında Holo-TC-II değerlerinin karşılaştırılması

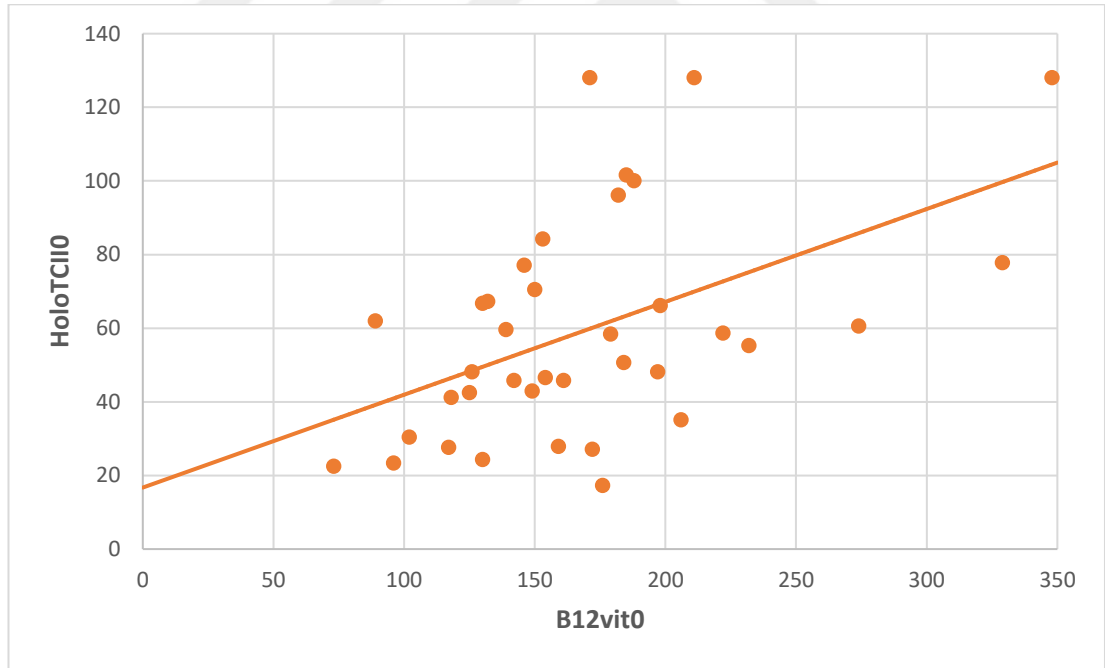
		Hasta sayısı (n)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Holo-TC-II (pmol/L)	24	52,5 $\pm$ 27	45,8(22,5-128)	0,219
6. ay			53,5 $\pm$ 21	52,1(19,9-122,9)	

0., 6. ve 12. ay Holo-TC-II değerleri bulunan olgular (tüm olguların %28'i, n=11) kendi içinde değerlendirildiğinde Holo-TC-II değeri 0. ay ortalaması bu olgular özelinde $57,2 \pm 26$ pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 24,3 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 101,6 pmol/L olarak bulundu. Aynı olgularda metformin tedavisine başlandıktan 6 ay sonra bakılan 2. ölçümlerde Holo-TC-II ortalaması $52,7 \pm 26$ pmol/L olarak ölçüldü. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 19,9 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 122,9 mol/L olarak bulundu. Metformin tedavisine başlandıktan 12 ay sonra bakılan son ölçümlerde ise olguların Holo-TC-II ortalaması $54,1 \pm 28$ pmol/L olarak saptandı. Ölçülen en düşük Holo-TC-II değeri 19,1 pmol/L, en yüksek Holo-TC-II değeri 120,1 pmol/L olarak bulundu. Bu sonuçlar Friedman analizi ile değerlendirildiğinde, 0., 6. ve 12. ay Holo-TC-II değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,913$; $p>0,05$) (Tablo 4.18).

Tablo 4.18: Metformin tedavisinin 0., 6. ve 12. Ayında Holo-TC-II değerlerinin karşılaştırılması

		Hasta sayısı (n)	Ortalama±SS	Ortanca (min-maks.)	p değeri
0. ay	Holo-TC-II (pmol/L)	11	57,2±26	50,7(24,3-101,6)	0,913
6. ay			52,7±26	50,3(19,9-122,9)	
12. ay			54,1±28	48,6(19,1-120,1)	

Çalıştığımız biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiyi saptayabilmek için korelasyon inceleyen analizi Spearman analizi ile yapıldı. Metformin tedavisinden önce bakılan vitamin B12 değeri ile MMA ve homosistein değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.133$, $p=0.143$; $p>0,05$). Metformin tedavisinden önce bakılan vitamin B12 değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında pozitif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.003$; $p<0,05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Vitamin B12 ile holo-TC-II değerleri arasındaki pozitif yönlü korelasyon

Metformin tedavisi sonrası parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde 6. aydaki vitamin B12 değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.070$, $p=0.313$; $p>0,05$). 6. ayda saptanan vitamin B12

değerleri ile MMA değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.027$; $p<0,05$). 6.ayda bakılan parametreler arasındaki korelasyonlar incelenmeye devam edildiğinde MMA değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.092, p=0.101$; $p>0,05$). Homosistein değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.003$; $p<0,05$).

Metformin tedavisi sonrası 12. aydaki parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde, vitamin B12 değerleri ile MMA değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.822$; $p>0,05$) ancak vitamin B12 değerleri ile homosistein değerleri arasında negatif yönlü korelasyon ($p=0.020$; $p<0,05$) ve vitamin B12 değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında pozitif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.004$; $p<0,05$). 12.ayda bakılan parametreler arasındaki korelasyonlar incelenmeye devam edildiğinde; MMA değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.955, p=0.115$; $p>0,05$). Homosistein ile holo-TC-II değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.025$; $p<0,05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Homosistein ile holo-TC-II değerleri arasındaki negatif yönlü korelasyon

5. TARTIŞMA

Obezite tablosu, vücut kitle indeksinin yaş ve cinsiyete göre 95 persentilin üzerinde olması olarak tanımlanır (88). Tüm dünyada obezite sıklığı çocuklarda ve adolesanlarda artmaktadır ve bu tablo obeziteye bağlı artmış komorbiditeleri de beraberinde getirmektedir. 2000 yılında yapılan Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Anketi, Amerika Birleşik Devletleri'nde çocukluk yaş grubunun üçte birinin fazla kilolu veya obez olarak kabul edilebilecek oranda olduğu ve %17'sinin ise obezite kriterlerini karşıladığı sonucuna varmıştır (88). Obez çocuk ve adolesanlar özellikle hiperinsülinemi, insülin rezistansı, prediabet ve Tip 2 DM açısından artmış risk altındadırlar (89).

Metformin kullanımı; hücrelerde insülin sensitivitesini artırır ve hepatik glikoz üretimini azaltır (90). Metformin, son yıllarda obezite tedavisinde ve insülin rezistansı ile takipli hastalarda yaşam tarzı değişikliklerinin yanı sıra ek farmakoterapi seçeneği olarak kullanılmaktadır. 2000 yılından itibaren metforminin obez çocuk ve adolesan hastalarda kilo kaybına yönelik etkisini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır. Her çalışma; yapıldığı popülasyon, yöntemi, kurgusu ile birbirinden farklı olup; 2014 yılında yapılan ve 14 randomize kontrollü çalışmayı inceleyen bir derleme şu an bilim dünyasında kabul görmekte olan özeti sunmuştur. On sekiz yaş ve altı çocukluk çağı obezitesinde metformin kullanımını araştıran bu derlemede; 6 ay metformin kullanımı sonucu bazal VKİ'ye göre, VKİ değerlerinde 1,4 kat istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Bu çalışmaya dahil olan popülasyon gruplara ayrılarak incelendiğinde ise; bu düşüşün; VKİ 35'in altında olan, akantozis nigrigansın mevcut olduğu, diyet ve egzersiz programı uygulayıp bunda başarısız olan hastalarda, kız cinsiyet ve adolesan yaş grubunda daha belirgin olduğu bulunmuştur. Bu derleme; metformin kullanımının yaşam tarzı değişiklikleri ile birlikte desteklendiği durumlarda, VKİ ölçümlerindeki azalmanın belirgin olduğunu da vurgulamaktadır (91).

Seifarth ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise; VKİ'nin 27 kg/m² üzerinde olduğu erişkin yaş grubu katılımcılara en yüksek 2500 mg/gün doza kadar, toplam 6 ay metformin tedavisi verilmiş; aynı kriterleri sağlayan 45 katılımcı ise metformin

tedavisi başlanmadan 6 aylık izleme alınmıştır. Metformin tedavisi alan grupta ortalama kilo kaybı; 5.8 ± 7.0 kg olarak bulunurken kontrol grubundaki katılımcılarda ortalama 0.8 ± 3.5 kg kilo alımı söz konusu olmuştur. İnsülin rezistansı olan katılımcılarda daha fazla kilo kaybı görüldüğü sonucu elde edilmiştir. Kilo kaybı oranı yaş, cinsiyet ve VKİ ile ilişkili bulunmamıştır (92).

Obezite; insülin direnci tablosuna yol açarak glikoz intoleransına neden olmaktadır. Obezite nedeniyle gelişen insülin rezistansı ve glikoz intoleransı tablosu, Tip 2 DM gelişiminin patogenezinde ilk aşama olarak rol oynamaktadır. Çocukluk yaş grubunda obezite prevalansının giderek artmasıyla insülin rezistansı, glikoz intoleransı ve tip 2 DM tablolarında da artış gözlenmektedir (1).

Metformin, hem çocuklarda hem erişkinlerde tip 2 DM'nin birinci basamak farmakolojik tedavisinde tercih edilen popüler bir seçenektir. Amerikan Diyabet Akademisi'nin önerisine göre; tip 2 DM tanısı konulduğunda, kontraendikasyon olmadığı tüm durumlarda, metformin yaşam tarzı değişiklikleriyle desteklenerek monoterapi seçeneği olarak başlanmalıdır. Metformin güvenli, etkili, ucuz bir tedavi seçeneği olup, tip 2 DM tablosunun yol açtığı kardiyovasküler komorbiditeleri de azaltmaktadır (93). Ancak metformin kullanımı ile karşılaşılabilecek çeşitli yan etkiler mevcut olup; bu yan etkilerin en önemlilerinden biri de, vitamin B12 eksikliğidir. Erişkin popülasyonda yapılan çalışmalarla günümüzde, metforminin vitamin B12 seviyesini düşürdüğüne dair fikirbirliği mevcuttur. Ancak halen tartışılan konu; metforminin hücresel düzeyde eksikliğe ve bunun sonucunda klinik bulgulara neden olup olmadığı üzerinedir. Vitamin B12 eksikliğini belirlemek için altın standart testlerin olmaması, bu konunun halen tartışılmasına katkı sağlamaktadır.

Vitamin B12 eksikliği tanısı optimal olarak, saptanan düşük serum vitamin B12 düzeyleri ve eksikliğin yol açtığı klinik semptomlarla birlikte konmaktadır. İlk defa Berchtold ve ark.'larının 1969 yılında yaptıkları çalışma ile metformin kullanımının vitamin B12 eksikliğine yol açtığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada diabeti ve obezitesi olan 21 hasta incelenmiş olup; 3000 mg/gün dozda metformin tedavisi verilmiştir. Hastalarda üriner vitamin B12 atılımı, D-ksiloz seviyeleri ve kan lipidleri ölçülmüştür. Dokuz hastaya metformin tedavisine başlandıktan 2-3 ay sonra Schilling

testi yapılmıştır. Metformin tedavisi ile vitamin B12 ve D-ksiloz emilimlerinde patolojik düşüş tespit edilmiştir (5).

Yapılan çalışmalarda vitamin B12'nin serum düzeylerinin referans aralıkları ile ilgili uzlaşa sağlanamamıştır. Robert ve ark.'nın yaptığı bir çalışmaya göre serum vitamin B12 değeri için alt sınır 150 pmol/L olarak saptanmıştır (94). Wuffele ve ark.'nın erişkin tip 2 DM hastaları ile yaptığı çalışmada ise; serum vitamin B12 düzeyi için alt sınır 180 pmol/L olarak belirlenmiştir. Bu çift-kör randomize kontrollü çalışmada toplam 16 hafta boyunca 196 hastaya ortalama 2163 mg/gün metformin verilirken, 194 hastaya ise plasebo verilmiştir. Metformin verilen hastalarda homosistein düzeyinde ortalama 1.10 μ mol/L artış ($p=0.04$), vitamin B12 düzeyinde ortalama 47.4 pmol/L ($p=0.001$) düşüş saptanmıştır (74).

Erişkinlerde yapılan çalışmalara göre; metformin kullanımının yol açtığı vitamin B12 eksikliği tablosu %5,8 ile %52 arasında değişkenlik gösteren geniş bir aralıkta saptanmaktadır (7). De Jager ve ark. tarafından yapılan bir çalışmaya insülin tedavisi alan 385 tip 2 diyabet hastası dahil edilmiştir. Bu hastalardan yaş ortalaması 64 olan, %42 si erkek, %58'i kadın toplam 194 hastaya 4 yıl boyunca 2550 mg/gün dozunda metformin tedavisi verilmiş; yaş ortalaması 59 olan, %50'si erkek, %50'si kadın toplam 191 hastaya ise plasebo verilmiştir. Plasebo ile karşılaştırıldığında metformin alan grupta vitamin B12 düzeyinde ortalama %19 azalma ($P<0.001$), homosistein düzeyinde ortalama 5% artış ($P=0.091$) saptanmıştır. Hastanın yaşı, diyabet süresi, önceki metformin kullanımı öyküsü ve cinsiyet sonuçlarla ilişkili bulunmamıştır. Bu çalışmanın kısıtlılıkları arasında, olguların metformin ilişkili gastrointestinal yan etkilere maruz kalmış olabileceği ve buna bağlı olarak diyet danışmanlığı almış olabileceği sayılmıştır. De Jager ve ark. literatürde bildirilen, metformin kullanan olgulardaki vitamin B12 eksikliği tablosunun %5,8 ile %52 arasında büyük değişkenlik göstermesinin hastaların diyet içeriği ile ilişkili olabileceğini savunmuşlardır (7).

Kos ve ark. tarafından 2003-2009 yılları arasında Loyolo Üniversitesi Tıp Merkezinde yapılan retrospektif bir çalışmada yaşları 20-93 arasında değişen ve VKİ'leri ortalaması 33.1 kg/m² olan tip 2 DM ile takipli 706 hasta incelenmiştir. Bu

hastalardan %42'sine metformin tedavisi verilmiş olup; metformin kullanan grupta kullanmayan gruba göre vitamin B12 düzeylerinde 84 pg/mL düşüş saptanmış olup; bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (95).

Yakın zamanda yapılan Diyabet Önleme Programı Çalışması'nda, 3,2 yıl boyunca bir grup hastaya plasebo (PLA) (n=1082), bir grup hastaya da metformin (2x850 mg) (MET) (n=1073) verilmiştir. Metformin verilen grupta çalışma süresi uzatılarak 9 yıl daha metformin tedavisi kullanılmıştır. Vitamin B12 düzeyleri plasebo ve metformin alan grupta 5. yılda (n=857, n=858) ve 13. yılda (n=756, n=764) değerlendirilmiştir. Hastalar 5. yılda değerlendirildiğinde vitamin B12 düzeyleri ortalaması 546±337 pg/ml olarak saptanmış; hastaların %4,3'ünde (n=37) vitamin B12 eksikliği (≤ 203 pg/mL) bulunmuştur ($p < 0,01$). Hastalar 13. yılda değerlendirildiğinde vitamin B12 düzeyleri ortalaması 616±504 pg/ml olarak saptanmış; hastaların %7,4'ünde (n=56) vitamin B12 eksikliği (≤ 203 pg/mL) bulunmuştur ($p = 0,19$). Metformin ilişkili vitamin B12 eksikliğinin 5. yılda istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen, 13. yılda istatistiksel olarak anlamlı olmayışı 13. yılda takipte olan hastaların 7'sine vitamin B12 enjeksiyonu verilmiş olmasına bağlanılmıştır. Bu çalışmada metformin kullanımı ile vitamin B12 eksikliği ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre metformin kullanan hastaların periyodik olarak vitamin B12 düzeyleri yönünden taranmasını önerilmektedir (96).

Beulens ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ortalama 1306 mg/gün metformin kullanan 550 erişkin tip 2 DM hastası 64 aylık bir süreçte değerlendirilmiştir. Vitamin B12 eksikliği için alt sınır 148 pmol/L olarak belirlenmiş olup; bu hastalarda çalışma sonunda vitamin B12 eksikliği sıklığı %28,1 olarak saptanmıştır. Günlük metformin dozunda her 1 mg artışın, vitamin B12 düzeylerinde günlük 0,042 pmol/L azalmaya sebep olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$). Aynı zamanda bu çalışmada; hastaların kullanmakta oldukları metformin tedavisinin hem günlük dozu hem de kümülatif dozu daha düşük vitamin B12 seviyeleriyle ilişkili bulunmuştur (97).

Jiwoon ve ark. tarafından yapılan retrospektif başka bir çalışmada; ortalama 10,1 yıl tip 2 DM nedeniyle ortalama 1339±479 mg/gün metformin kullanan 1111 hastanın %22,2'sinde (n=247) vitamin B12 eksikliği (< 300 pg/ml) geliştiği görülmüştür.

Günlük metformin kullanım dozları <1000 mg, 1000-1500 mg arası, 1500-2000 mg arası ve 2000 mg üstü olarak değerlendirildiğinde vitamin B12 düzey düşüşleri %1.72 ($P=0.080$), %3.34 ($P<.001$) ve % 8.67 ($P<.001$) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada günlük daha fazla miktarda metformin kullanımının vitamin B12 eksikliği ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu saptanmıştır. Metformin kullanım süresinin ise vitamin B12 eksikliği ile ilişkisi saptanmamıştır (98).

Bizim çalışmamızda da serum vitamin B12 düzeyi için alt sınır 150 pmol/L olarak belirlenmiştir. Hastalarımıza günlük ortalama 1043 mg metformin tedavisi verilmiştir. Hastaların bir kısmı 6. ay ve bir kısmı ise 12. ay kontrollerindeki takiplere gelmedikleri için 0., 6. ay ölçümleri bulunanlar ve 0., 6., 12. ay ölçümleri bulunanlar kendi içinde değerlendirilmiştir. İlk 6 ay takibini tamamlayan 24 hasta kendi içinde değerlendirildiğinde vitamin B12 düzeylerinde düşüş ortalama %0,6 olarak saptanırken; 12 ay boyunca takibe devam eden 11 hastada ise bu düşüş ortalama %6 olarak bulunmuştur. Ancak saptanan bu düzey düşüklüğü her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda 2000 mg/gün metformin tedavisi kullanan 1 hasta varken geri kalan hastalarımızın çoğunluğu 1000 mg/gün metformin tedavisi kullanmakta idi.

Jiwoon ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, günlük metformin dozunun en az 1000-1500 mg/gün arasında olduğunda vitamin B12 düzey düşüklüğü ve eksikliği ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır (98). Bizim çalışmamızda ise olgularımız erişkin çalışmalarına göre düşük doz metformin kullanıyordu. Bu nedenle çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmamış olabilir. Aynı zamanda Diyabet Önleme Programı'nda uzun süre metformin kullanımı ile vitamin B12 düzey düşüklüğü arasında ilişki saptanmış olup, bizim çalışmamızda 12 ayı tamamlayan olgu sayısı 11 idi. Beulens ve ark. ile Jiwoon ve ark. yaptıkları çalışmalarla; metforminin günlük dozunun yüksekliğinin yanısıra kümülatif dozunun yüksek olmasının da daha düşük vitamin B12 düzeyleri ile ilişkisi bildirilmiştir (97,98). Bizim çalışmamızda günlük metformin dozunun yanısıra kümülatif metformin dozu da çok düşüktü. Olgularımızın sayısı ve metformin kullanım süresi göz önüne alındığında bizim çalışmamız ile kesin sonuçlara ulaşmak mümkün değildir. Ancak çocukluk çağında metformin kullanım endikasyonu erişkinlerden farklı olarak daha çok obezite ve

insülin direnci ile ilişkili bulunmaktadır. Obezite ve insülin direncinin normale dönmesi durumunda metformin kullanımına devam edilmemektedir. Bu nedenle metformin kümülatif doz ve kullanım süresi ile vitamin B12 arasındaki ilişkinin kesinleşmesi durumunda, çocukluk ve adolesan döneminde çok uzun süreli metformin kullanımı olmayan olgularda vitamin B12 düzey takibi yapılmasına gerek olmadığı önesürülebilir. Ancak bu konuda daha fazla kanıt sunan hem erişkin hem de çocukluk ve adolesan döneminde yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

Vitamin B12 eksikliğinin en önemli ve sık gözlenen klinik bulguları; megaloblastik anemi ve nöropatidir. Vitamin B12; metionin sentaz enziminin kofaktörü olup homosisteinin metionin dönüşümünde etkilidir. Bu tepkimenin yan ürünü olarak metil-THF, THF'a dönüşmektedir; THF ve ürünleri DNA'yı oluşturan pirimidin sentezinde kullanılmaktadır. Vitamin B12 eksikliğinde; homosistein metionine ve dolayısıyla metil-THF da THF'a dönüşmemektedir. Sonuç olarak; homosistein birikmekte, pirimidin bazıları oluşamamakta, DNA sentezi yavaşlamakta ve megaloblastik anemi oluşmaktadır (99).

Dişabet Öñleme Programı'nın çalışma sonuçlarına göre 9. yılda metformin kullanmaya devam eden hastalarda anemi görölmektedir. Anemi tablosu metformin kullanan grupta daha sık olarak görölmüş fakat vitamin B12 düzeyiyle ilişkisi gösterilememiştir (96).

Jiwoon ve ark. tarafından yapılan çalışmada metformin kullanan 1111 hastanın %22,2'sinde (n=247) vitamin B12 eksikliği ve bu hastaların da 48'inde (%19) vitamin B12 eksikliği ilişkili anemi tablosu saptanmıştır. Bu çalışmada vitamin B12 eksikliği saptanan hastaların ortalama MCV değeri 90,4 fL, vitamin B12 eksikliği saptanmayan hastaların ortalama MCV değeri ise 91,7 fL bulunmuştur. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı değeriendirilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen 1111 hastanın 13'ünde MCV >100 fL olarak saptanmış ve bu hastaların içinden sadece 1'inde vitamin B12 eksikliği bulunmuştur (98). Çalışmada bu durumun yaş, diyet örüntüsü, demir eksikliği anemisi, kronik hastalık anemisi gibi faktörlerden etkilenmiş olabileceği savunulmuştur. Bahsedilen durum yapılan başka çalışmalarla da desteklenmektedir. Vitamin B12 eksikliği nedeniyle anemi gelişen hastaların bile %30'unda normal MCV değeri

görülmektedir. Lindenbaum ve ark. tarafından yapılan çalışmaya göre vitamin B12 eksikliğine bağlı nöropsikiyatrik semptomları olan 141 hastanın 40'ında (%28) anemi ya da makrositoza rastlanmamıştır (100).

Çalışmamızda da hastalarda metformin kullanımı sonrası olası vitamin B12 eksikliği ilişkili anemi değerlendirilmiştir. Çalışmamızda öncelikle metformin ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğü saptanmamıştır. 6 ay süreyle en az 1000 mg/gün metformin kullanan hemogram verileri değerlendirildiğinde olguların metformin tedavisinden önceki Hb değerleri ve 6. ay hemoglobin değerleri (Hb) arasında bir fark bulunmamıştır. 12 ay süreyle en az 1000 mg/gün metformin kullanan hemogram verileri değerlendirildiğinde hemoglobin değerlerinde (Hb) %2 düşüş saptanmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda takip edilen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı Hb düzey düşüklüğü/anemi saptanmamış olması; hastalarda vitamin B12 düzey düşüklüğünün de saptanmamış olmasıyla açıklanabilir. Çalışmamızda başlangıçta hiçbir hastamızda anemi tablosu yoktu. Ancak metformin ilişkili vitamin B12 eksikliği ve buna bağlı gelişebilecek anemi tablosunun araştırılmasının planlandığı çalışmalarda; demir eksikliği, folat eksikliği gibi nutrisyonel eksikliklerin tespiti, hastanın aldığı farmakolojik destekler ve diyet örüntüsünün göz önünde bulundurulması önemlidir; çünkü Hb düzey düşüklüğüne sebebiyet verecek diğer nedenlerin dışlanması çalışma sonuçlarını daha değerli kılacaktır.

Benzer şekilde 12 ay takip edilen hastalarımızın ortalama MCV değerlerinin 0., 6. ve 12. ay için normal sınırlarda olduğu (80-85 fL) görülmektedir. Hastalarımızın hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı anemi ve vitamin B12 eksikliği saptanmamıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da metformin ilişkili vitamin B12 eksikliği ve buna bağlı gelişen anemi tablosunda bile, bu olguların çok azında MCV 100 fL ve üzerinde olup makrositoz tablosu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda vitamin B12 eksikliği tanısında; serum vitamin B12 ölçümü yanında metil malonik asit, homosistein gibi metabolitlerin ölçümünün daha sensitif olacağı öne sürülmüştür. Erken dönem vitamin B12 eksikliği tespiti için MMA

ve/veya homosistein düzeyleri gibi hücresel düzeyde eksiklik hakkında bilgi veren daha sensitif metodlara ihtiyaç duyulmaktadır (75,82-84, 93,99).

Savage ve ark. tarafından vitamin B12 eksikliği saptanan 406 hastada yapılan çalışmada hastaların %98,4'ünde yükselmiş serum MMA düzeyleri, %95,9'unda yükselmiş serum homosistein değerleri saptanmıştır. Bu sonuçlar vitamin B12 eksikliğinde serum MMA ve homosistein düzey ölçümünün sensitivitesini %99,8 olarak saptamıştır (101).

Lindenbaum ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada pernisiyöz anemisi olan ve vitamin B12 tedavisi almayan hastalarda MMA ve homosistein düzeylerinde yükseliş vitamin B12 eksikliği gelişiminden önce saptanmıştır. Bu sonuçlar; serum MMA ve homosistein düzeylerinin dokuda vitamin B12 eksikliği tanısında erken belirleyicilerden olduğunu göstermiştir. Vitamin B12 eksikliği tanısında sadece serum vitamin B12 düzeyinin kullanılması hücresel vitamin B12 eksikliklerinin %50'sini kaçırmaktadır (102). Bu yüzden biz de çalışmamızda serum vitamin B12 düzeyleri ile birlikte serum MMA, homosistein ve holo-TC-II parametrelerini değerlendirdik.

Lindenbaum ve ark.'nın yaptığı diğer bir çalışmada ise serum kobalamin konsantrasyonları < 258 pmol/L olarak saptanan toplam 222 hasta incelenmiştir. Bu hastalarda serum MMA düzeyleri, üst referans sınırına göre ortalama %11,3 artmış olarak saptanmıştır (103). Wile ve ark.'larının yaptığı prospektif bir çalışmada en az 6 aylık süreyle ortalama 2500 mg/gün metformin kullanan erişkin yaş grubundaki 120 tip 2 DM hastası daha önce metformin kullanımı olmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama MMA ve homosistein değerleri metformin kullanan grupta istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$) (104).

Out ve ark.'nın yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada metformin kullanımının vitamin B12 eksikliği yaptığı ve buna bağlı nöropati bulgularını ağırlaştırabildiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada, insülin ile tedavi görmekte olan Tip 2 DM hastalarına 52 haftalık süreç boyunca metformin veya plasebo verilmiştir. Sonrasında hastalarda MMA düzeylerine ve nöropati skorlarına bakılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde ise metformin kullanan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı

vitamin B12 düzey düşüklüğü ile MMA yükseliği saptanmıştır ($p=0.004$, $p = 0.001$; $p <0,05$). Bu çalışma ile metformin kullanımının sadece vitamin B12 düzeylerinde düşüşle değil aynı zamanda progresif serum MMA yükselişi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Serum MMA yükselişi nöropati skorlarında belirgin klinik kötüleşmeye sebebiyet vermektedir. Bu çalışma ile aynı zamanda metformin kullanımı ile ilişkili vitamin B12 eksikliğinin nöropati gibi klinik bulgulara neden olduğunu kanıtlar nitelikte sonuçlara ulaşılmıştır (99).

Wile ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada en az 6 ay metformin kullanan 59 tip 2 DM hastası ile metformin kullanmayan 63 tip 2 DM hastası karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada metformin kullanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek serum MMA düzeyleri saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca literatürde ilk defa metforminin kümülatif dozu ve serum MMA düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki de tanımlanmıştır (82). İngiltere'de yapılan kesitsel bir çalışmada ise; 6 ay metformin kullanan tip 2 DM ile takipli 152 hasta, metformin almayan 50 tip 2 DM hastası ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada metformin ilişkili vitamin B12 düzey düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı bulunurken; serum MMA düzeylerine ilişkin istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (86). Benzer şekilde Greibe ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada en az 6 ay 1,5-2,5 gr/gün metformin kullanan 29 polikistik over tanılı hasta ile metformin kullanmayan 23 polikistik over hastası değerlendirildiğinde, metformin kullanan grupta vitamin B12 düzey düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,003$; $p<0,05$) serum MMA düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır (87).

Bizim çalışmamızda, metformin tedavisi altındayken 6 ay ve 12 ay süreyle izlenen hastaların serum MMA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olabilecek bir fark saptanmadı. Yapılan analizlerde 0., 6. ve 12. ay parametreleri değerlendirildiğinde, MMA ve vitamin B12 düzeyleri arasında korelasyon bulunmadı. Literatürde de metformin kullanımı ile serum MMA düzeyleri arasında ilişkiyi inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Wile ve ark.'nın bahsettiği gibi metforminin kümülatif dozu ile MMA düzeyi arasındaki ilişki göz önüne alındığında bizim çalışmamızdaki olguların metformin kullanım süresi ve dozları düşüktü. Ayrıca olgularımızda; metformin kullanımı ile vitamin B12 düzeyi arasında da ilişki

saptanmamıştı. Bizim çalışmamız ile; ortalama 1000 mg/gün ve ortalama 12 ay süre ile metformin kullanımının çocuk ve adolesanlarda hem hücresel hem de biyokimyasal vitamin B12 eksikliğine yol açmadığı sonucuna varılabilir. MMA düzeylerinin yaş faktöründen etkilendiği bilinmektedir. Sentongo ve ark.'nın yaptığı bir çalışmaya göre antibiyotik kullanımı da MMA düzey değişikliğine neden olmaktadır (53). İntestinal floramızdaki bakteriler MMA'nın prekürsörü olan propionik asiti sentezlemektedirler. Antibiyotik kullanımı ile intestinal floranın baskılanması bu üretimi kısıtlayarak MMA düzeyinin düşük bulunmasına katkıda bulunabilir. Antibiyotik kullanımının yaygın olduğu ülkemiz koşullarını düşündüğümüzde çalışmamız süresince takip etmekte olduğumuz hastalarımızın antibiyotik kullanma durumları, olası antibiyotik kullanımı söz konusu ise ne zaman tedavi almış oldukları sorgulanmamıştır. MMA düzeyinin vitamin B12 eksikliği tespitinde daha sensitif olabilmesi için MMA düzeyini etkileyen bu gibi koşulların göz önünde bulundurulması da gerekmektedir.

Hücreyel vitamin B12 eksikliğinin erken dönem belirleyici parametrelerinden biri de homosistein düzeyidir. Wulffele ve ark.'nın 30-80 yaş arası toplam 400 tip 2 DM ile takipli hastada yaptıkları randomize kontrollü bir çalışmada, 12 hafta süreyle hastaların yarısına 2500 mg/g metformin, diğer yarısına da plasebo verilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; metformin kullanan grupta kontrol grubuna göre vitamin B12 düzeyinde %14'lük bir düşüş saptanmış olup, homosistein düzeyinde ise %4'lük artış saptanmıştır (74). Sato ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, metformin kullanmakta olan erişkin Tip 2 DM hastalarında vitamin B12 düzeyi ile homosistein düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır (77). Wile ve ark. tarafından erişkin Tip 2 DM ile takipli hastalarda yapılan bir çalışmada da, en az 6 ay metformin kullanan ve metformin kullanmayan hastalar karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada kümülatif metformin dozu ve homosistein düzeyleri arasında pozitif korelasyon varlığına dair kanıtlar sunulmuştur (82). Hoogeveen ve ark. tarafından yapılan bir başka araştırmada ise; en az 6 ay, 500-2550 mg/g metformin kullanan tip 2 DM ile takipli 40 erişkin hasta ile metformin kullanmayan 71 erişkin tip 2 DM hastası karşılaştırıldığında metformin kullanan grupta daha yüksek homosistein düzeylerine ulaşılmıştır (83). Bir diğer çalışma da Aroda ve ark.'nın yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada 859'una metformin, 856'sına plasebo verilen erişkin diyabet hastaları 1. yıl takiplerinde

değerlendirilmişlerdir. Metformin kullanmakta olan hastaların homosistein düzeyleri ortalaması 10,8 $\mu\text{mol/L}$ gelirken; kontrol grubunda homosistein düzeyleri ortalaması 10,3 $\mu\text{mol/L}$ olarak sonuçlanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı sonuçlanmıştır ($p<0,01$). Bu çalışmada ayrıca düşük vitamin B12 düzeylerinin daha yüksek homosistein düzeyleri ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (96).

Tam tersi sonuçlar elde edilen çalışmalar da mevcuttur. Tayland'da yapılan kesitsel bir çalışma; 152 erişkin tip 2 DM hastasında metformin tedavisinin serum homosistein ve vitamin B12 üzerine etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada 88 hastaya en az 6 ay metformin verilmiş ve 64 kişilik kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve metformin kullanımının homosistein düzeyini etkilemediğine ilişkin sonuçlar sunulmuştur. Ancak metformin kullanan grupta plazma homosistein düzeyleri değerlendirildiğinde; homosistein düzeyleri ile metformin tedavisi süresi ve metformin dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,014$; $p=0,015$) (84).

Carlsen ve ark. tarafından polikistik over sendromu olan ve 16 hafta metformin tedavisi kullanan 18 hastada yapılan randomize kontrollü çalışmada metformin kullanımının homosistein düzeyini etkilemediğine yönelik sonuçlar elde edilmiştir (75).

De Jager ve ark.'nın yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada 52 ay boyunca 196 erişkin diyabet hastasına 2000 mg/gün metformin, 194 diyabet hastasına ise plasebo verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre metformin kullanan olguların vitamin B12 düzeylerindeki %19'luk düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunurken; homosistein düzeylerinde %5 artış saptanmıştır fakat, bu düzey yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,091$) (7).

Çalışmamızda metformin tedavisi altında takip edilen hastalarda vitamin B12 düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı; aynı şekilde 6 ay boyunca izlenen hastalarda homosistein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. 12 ay boyunca takip edilen olgular değerlendirildiğinde ise homosistein değerlerinde 12. ayda %10,9 artış saptanmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. Carlsen ve ark.'nın yaptığı çalışmaya benzer şekilde olgularımızın

metformin kullanım süresi ve çalışmaya dahil edilen olgu sayısı azdı ve biz de bu çalışma ile benzer şekilde metformin kullanımı ile homosistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık. Ancak metformin tedavisini 12 ay sürdüren olgularda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da elde ettiğimiz artış; daha önceki çalışmalarda da bahsedildiği üzere bu artışın metformin tedavi süresinin uzunluğuyla pozitif ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Bunun yanısıra homosistein düzeylerini etkileyen başka biyokimyasal parametreler ve yaş faktörü de bulunmaktadır. Örneğin; folat, vitamin B2, vitamin B6 eksikliği tablolarında da homosistein düzeylerinde yükselme olmaktadır. Ayrıca renal fonksiyonlar da serum homosistein düzeyini etkilemektedir (66, 67). Çalışmamızda takip ettiğimiz hastalar arasında renal fonksiyon bozukluğu olan bir hastaya rastlanmadı ancak hastalarda homosistein sonuçlarını etkileyebilecek parametrelerden olan vitamin B6 ve folat değerleri literatürdeki diğer çalışmalarla benzer şekilde bakılamadı. Çalışmamızda hem serum vitamin B12 ile homosistein düzeyleri, hem de serum vitamin B12 ile MMA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Bu durum; çalışmamızdaki hasta yaş grubunda, ortalama 12 ay süreyle ve ortalama 1043 mg/gün dozda metformin kullanımının biyokimyasal ve hücresel düzeyde vitamin B12 eksikliği oluşturmadığı tezimizi güçlendirmektedir. Ancak bu yaş grubu için daha büyük hasta grubu içeren ve farklı süre ve dozlarda metformin kullanımını inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.

Valente ve ark. tarafından 63-97 yaşları arasında toplam 700 hastanın dahil edildiği bir çalışmada vitamin B12 eksikliğinde serum vitamin B12 düzeyi, holo-TC-II, homosistein, MMA değerleri araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuca göre holo-TC-II; vitamin B12 eksikliğinde böbrek fonksiyonları düşük hastalarda bile en iyi belirteç olarak saptanmıştır (105). Bu nedenle biz de çalışmamıza fizyolojik olarak aktif vitamin B12 düzeyini gösteren holo-TC-II parametresini dahil ettik.

Greibe ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada polikistik over sendromu tanısı ile izlenen ve metformin kullanan hastalarda vitamin B12 düzeyi değerlendirilmiştir. Toplam 6 ay boyunca 29 hastaya 1500-2500 mg/gün metformin verilirken, 23 hastaya plasebo verilmiştir. Hastalardan metformin tedavi başlangıcının 2. , 4. ve 6. aylarında serum örnekleri alınmıştır. 6 aylık tedavinin sonunda serum vitamin B12 düzeyinde

anlamli düşüş saptanmıştır ($p = 0.003$). Serum kobalamin düzeylerinde azalma saptanmış olmasına rağmen bu çalışmada vitamin B12'nin fizyolojik aktif kısım olarak tariflenen holo-TC-II düzeylerinde düşüş saptanmamıştır (106). Çalışmamızda metformin tedavisi altındayken 6 ay süreyle izlenen hastalar değerlendirildiğinde Greibe ve ark.'nın yaptığı çalışma ile benzer şekilde holo-TC-II düzeylerinde düşüş saptanmamıştır. 12 ay süreyle izlenebilen hastaların hem vitamin B12 düzeylerinde %6 düşüş, hem de Greibe ve ark.'nın yaptığı çalışma ile benzer şekilde holo-TC-II düzeyleri değerlendirildiğinde %5,4 düşüş saptanmıştır. Ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda yapılan analizlerde 6. ay vitamin B12 düzeyleri ve holo-TC-II düzeyler arasında istatistiksel anlamlı bir sonuç elde edilmezken; 12. ayda bu iki parametre arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular ışığında 12 ay ve daha uzun süreli metformin kullanım süresinin vitamin B12 eksikliği ile ilişkili olabileceği öne sürülebilir. Ayrıca bu durumda da; holo-TC-II'nin, eksikliği değerlendirmede en sensitif parametrelerden biri olabileceği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler korelasyon analizleri ile değerlendirildiğinde, 6. ve 12. ay parametrelerinden homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Bu durum; fizyolojik olarak aktif vitamin B12 düzeyini gösteren holo-TC-II'nin azalması halinde dokuda homosistein üretiminin artışı doğrulamaktadır. Ancak holo-TC-II düzeylerinin yarılanma ömrünün 6 dakika olması ve diyetle alınan vitamin B12 düzeyine bağımlılık göstermesi, folat düzeyi, oral kontraseptif kullanımı, myelodisplazi gibi durumlar ve bazı hematolojik bozukluklardan etkilenebileceği unutulmamalıdır ve sonuçlar bu tablolar değerlendirilerek yorumlanmalıdır (62,63). Homosistein düzeyi ile diğer parametrelerin birlikte değerlendirilmesi vitamin B12 eksikliğinin saptanmasında sensitiviteyi arttıracaktır.

Sonuç olarak; 6-12 ay süre boyunca, ortalama 1043 mg/gün metformin tedavisi kullanan, 10-18 yaş arası 40 hastanın dahil edildiği çalışmamızda metformin tedavisinin anemiye yol açmadığı, serum vitamin B12, homosistein, holo-TC-II düzeylerinde ve plazma MMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farka neden olmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızın kısıtlı yönleri; hasta sayımızın az olması, metformin dozunun erişkin hastaların kullandığı doza göre düşük olması ve metformin kullanım süresinin 12 ay süre ile sınırlı olması idi. Aynı zamanda başlangıçta çalışmaya dahil edilen hastaların tamamı 12 ay boyunca izlemlerini tamamlayamadı ve hastaların büyük kısmı takipten çıktı. Ancak bizim pilot çalışmamız; çocukluk çağında ortalama 1000 mg/gün dozunda kullanılan metformin tedavisinin 12 aylık izlemde hem klinik hem subklinik vitamin B12 eksikliğine neden olmadığını göstermektedir. Çalışmamız, bu yaş grubunda yapılan ilk çalışmadır. Hasta sayısı azlığı, takip süresinin sınırlı olması, metformin dozunun yetişkinlerde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında görece düşüklüğü gibi kısıtlılıkları ortadan kaldırmak ve metformin tedavisinin kümülatif dozunun etkisini değerlendirebilmek için bu yaş grubunda yapılacak daha kapsamlı ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Çalışmaya Ocak 2017- Mart 2019 tarihleri arasında AÜTF Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran 10-18 yaş arası, en az 6 ay süreyle ve en az 500 mg/gün dozunda olmak üzere değişken dozlarda metformin kullanan 40 hasta dahil edildi. Hastalardan metformin tedavisinin başlangıcında, 6. ve 12. aylarında Hb, MCV, vitamin B12, MMA, homosistein, holo-TC-II düzeyleri incelendi.

1. 6 ay boyunca takip edilen hastalarda Hb değerlerinde bir değişiklik saptanmadı, 12 ay boyunca takip edilen hastalarda Hb değerlerinde %2 düşüş saptandı ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
2. 6 ay boyunca takip edilen hastalarda vitamin B12 değerlerinde %0,6, 12 ay boyunca takip edilen hastalarda vitamin B12 değerlerinde %6 düşüş saptandı ancak bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,939$, $p=0,529$; $p>0,05$).
3. 6 ay boyunca takip edilen hastalarda vitamin B12 düzeyinin hücrel eksikliğini belirlemede bir belirteç olan homosistein değerlerinde %3,6 düşüş saptandı; bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. 12 ay boyunca takip edilen hastalarda ise homosistein değerlerinde %11 yükselik saptandı ancak bu düzey yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,097$, $p=0,307$; $p>0,05$).
4. 6 ay ve 12 ay boyunca takip edilen hastalar değerlendirildiğinde vitamin B12 düzeyinin hücrel eksikliğini belirlemede kullanılan bir diğer belirteç olan MMA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p=0,086$; $p>0,05$).
5. 6 ay boyunca takip edilen hastalarda aktif vitamin B12 düzeyini gösteren holo-TC-II düzeylerinde yükselme görülmüşken, 12 ay boyunca takip edilen hastalar değerlendirildiğinde holo-TC-II düzeylerinde %6 düşüş saptandı. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
6. Biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; metformin tedavisinden önce bakılan vitamin B12 değeri ile metformin tedavisinden önce bakılan MMA ve homosistein değerleri arasında korelasyon bulunmadı.

($p=0.133$, $p=0.143$; $p>0,05$). Metformin tedavisinden önce bakılan vitamin B12 değerleri ile holo-TC-II arasında ise pozitif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.003$; $p<0,05$).

7. 6. ayda biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; vitamin B12 değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.070$, $p=0.313$; $p>0,05$) 6. ay bakılan vitamin B12 değerleri ile MMA değerleri arasında negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.027$; $p<0,05$). 6.ayda bakılan parametreler arasındaki korelasyonlar incelenmeye devam edildiğinde MMA değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.092$, $p=0.101$; $p>0,05$). Homosistein değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.003$; $p<0,05$).
8. 12. ayda biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; vitamin B12 değerleri ile MMA değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.822$; $p>0,05$) ama vitamin B12 değerleri ile homosistein değerleri arasında negatif yönlü korelasyon ($p=0.020$; $p<0,05$) ve vitamin B12 değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında pozitif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.004$; $p<0,05$). 12.ayda bakılan parametreler arasındaki ilişki incelenmeye devam edildiğinde; MMA değerleri ile homosistein ve holo-TC-II değerleri arasında korelasyon bulunmadı ($p=0.955$, $p=0.115$; $p>0,05$). Homosistein ile holo-TC-II değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulundu ($p=0.025$; $p<0,05$).

ÖZET

Amaç: Literatürde, çocukluk ve adolesan yaş grubunda metformin kullanımı ile ilişkili vitamin B12 eksikliğini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada metformin kullanan çocuk ve adolesan yaş grubunda, metformin kullanımının serum vitamin B12, MMA, homosistein ve holo-TC-II düzeyleri üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza Ocak 2017- Mart 2019 tarihleri arasında AÜTF Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran, yaşları 10-18 yaş arası (ortalama 13,8) değişen, en az 6 ay süreyle ve en az 500 mg/gün dozunda olmak üzere değişen dozlarda metformin kullanan 40 çocuk dahil edilmiştir. Olgularda metformin tedavisi öncesi, 6. ve 12. aylarda serum homosistein, vitamin B12, holo-TC-II ve plazma MMA düzeyleri ölçüldü. Metformin kullanan olguların 6. ve 12. ay ölçümleri metformin tedavisi başlanmadan önce ölçülen parametreler ile karşılaştırılmıştır. Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 istatistik paket programında değerlendirilmiştir.

Bulgular: Ortalama yaşı 13,8 olan, en az 6 ay, ortalama 1043 mg/gün metformin kullanan 40 olgu değerlendirildiğinde, hiçbir hastada tedavi öncesi ve sonrasında anemi ve makrositoz tablosu gözlenmemiştir. Altı ay boyunca takip edilen hastalar (tüm olguların %60'ı, n=24) kendi içinde incelendiğinde, vitamin B12 düzeylerinde %0,6'lık düşüş bulunmuş, fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. 12 ay boyunca takip edilen hastalar (tüm olguların %28'i, n=11) kendi içinde değerlendirildiğinde ise vitamin B12 düzeylerindeki düşüş %6 olarak bulunmuş bu düzey düşüklüğü de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Altı ay boyunca takip edilen hastalar kendi içinde incelendiğinde, homosistein düzeylerinde yükseklik saptanmamıştır. On iki ay boyunca takibe devam eden hastalar kendi içinde değerlendirildiğinde ise homosistein düzeylerinde %10,9 yükseklik saptanmış olup, bu düzey yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. MMA değerleri incelendiğinde ise; 6 ay ve 12 ay boyunca takibe devam eden hastalarda tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmamıştır. Holo-TC-II düzeyleri değerlendirildiğinde, 6 ay boyunca takibe devam eden hastalarda düzey düşüklüğü saptanmazken; 12 ay boyunca takibe devam eden hastalarda saptanan

%5,4'lük düzey düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Çalışmamızda araştırdığımız parametreler arasında yapılan korelasyon analizlerinde; metformin tedavisinin 0. ayında ve 12. ayında vitamin B12 ve holo-TC-II değerleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Tedavinin 6. ayında vitamin B12 değerleri ile MMA değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulunmuştur. Onikinci ay vitamin B12 değerleri ile homosistein değerleri arasında ise negatif yönlü korelasyon bulunmuştur. Bunun yanısıra, 6. ay ve 12. ay homosistein değerleri ile holo-TC-II değerleri arasında da negatif yönlü korelasyon bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç: Çalışmamız çocukluk ve adölesan yaş grubunda metformin ilişkili vitamin B12 eksikliğini değerlendiren ilk çalışmadır. Altı-12 ay süre boyunca, ortalama 1043 mg/gün metformin tedavisi kullanan, 10-18 yaş arası 40 hastanın dahil edildiği çalışmamızda, metformin tedavisinin anemiye yol açmadığı, serum vitamin B12, homosistein, holo-TC-II düzeylerinde ve plazma MMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farka neden olmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda günlük metformin dozunun yanısıra kümülatif metformin dozu da çok düşüktü. Olgularımızın sayısı ve metformin kullanım süresi göz önüne alındığında bizim çalışmamız ile kesin sonuçlara ulaşmak mümkün değildir. Ancak çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında, çocukluk ve adolesan döneminde 12 aydan uzun süreli metformin kullanmayan ve ortalama 1000 mg/gün metformin tedavisi uygulanan olgularda vitamin B12 düzey takibi yapılmasına gerek olmadığı öne sürülebilir.

Anahtar kelimeler: Metformin, obezite, tip 2 DM, vitamin B12, insülin direnci

SUMMARY

Objective: In literature, there are no documented studies examining the relationship between metformin usage and vitamin B12 deficiency in childhood and adolescence period so far. In this prospective study, children and adolescents who are taking metformin therapy are chosen as study population and the effects of metformin on the blood vitamin B12, MMA, homocysteine and holo-TC-II levels.

Materials and Methods: Forty patients (average age is 13,8), who are being followed up at Ankara University, Faculty of Medicine, Pediatric Endocrinology and Adolescent Department between January 2017-March 2019, with the diagnoses of insulin resistance, type 2 DM, impaired glucose tolerance, obesity and taking at least 500 mg/day dosage of metformin therapy for at least 6 months, are included in this study. Blood samples are drawn before the initiation of metformin therapy and 6, 12 months after the initiation of the therapy in order to examine the effect of metformin therapy on blood vitamin B12, MMA, homocysteine and holo-TC-II status. The data are evaluated with IBM SPSS Statistics 22.0 statistics program.

Results: Through 40 patients who are averagely at 13,8 years old and taking approximately an average 1043 mg of metformin therapy daily; no anemia or macrocytosis were found. When the patients who have been followed up for 6 months (60 % of all the patients, n=24) were evaluated, 0,6 % decline in the levels of vitamin B12 is found but this decline had no significance statistically. On the other hand; patients who have been followed up for 12 months (28 % of all the patients, n=11) were evaluated separately and 6% decline in the levels of vitamin B12 was found but also this decline was not statistically significant. No increase was documented in the homocysteine levels when the patients who have been followed up for 6 months (60 % of all the patients, n=24) were evaluated. Patients who have been followed up for 12 months (28 % of all the patients, n=11) were evaluated separately and 10,9 % increase in the levels of homocysteine was found but also this rise was not statistically significant. When MMA levels were evaluated 6 months and 12 months after the initiation of the therapy, there found no rise. When holo-TC-II levels were evaluated, in the patients who were followed up for 6 months (60 % of all the patients, n=24) no

decline was found whereas for the patients who were followed up for 12 months (28 % of all the patients, n=11) a decline of 5,4% was found which was not statistically significant. Vitamin B12 and holo-TC-II levels were compared with their status before metformin therapy and the reductions were seen in both of them which were not statistically significant. In the MMA levels no difference were found, on the other hand homocysteine levels were elevated which was not also statistically significant. Positive correlation was found between the levels of vitamin B12 and holo-TC-II in the 0th and 12th month of the therapy. There was negative correlation between 6th month vitamin B12 and MMA levels when compared. Besides, 6th and 12th month homocysteine and holo-TC-II levels were negatively correlated. There was also negative correlation between vitamin B12 and homocysteine levels when compared 12 months after initiation of metformin therapy.

Discussion: This study is important in the mean of being the first study in which vitamin B12 deficiency related to metformin therapy is examined. Forty patients between 10-18 years-old, who were given 1043 mg metformin therapy daily, were included in our study. These patients were followed up 6 to 12 months. As a result it is found that; metformin therapy did not cause anemia and any statistically significant changes in vitamin B12, homocysteine, MMA, holo-TC-II levels. In our study's design both daily and cumulative dosages of metformin therapy were low indeed. When the patient number included and the duration of the study is taken into consideration; in this study, it is not possible to achieve certain, unchangeable results. In our study it can be concluded that; in childhood and adolescence period for patients who are taking metformin therapy less than 12 months and 1000 mg/daily dosages, following up for probable vitamin B12 deficiency is not a necessity.

Key words: Metformin, obesity, type 2 DM, vitamin B12, insuline resistance

KAYNAKLAR

1. Azcona-Sanjulian MC, Lamban AC, Ruiz BL. Six-Month Therapy with Metformin in Association with Nutritional and Life Style Changes in Children and Adolescents with Obesity. *International Journal of Pediatric Research*. 2015; 1:1-6.
2. Baker JL, Farpour-Lambert NJ, Nowicka P, Pietrobelli A, Weiss R. Evaluation of the overweight/obese child-practical tips for the primary health care provider: recommendations from the Childhood Obesity Task force of the European Association for the Study of Obesity. *Obesity Facts*. 2010; 3: 131-137.
3. Van Dieren S, Beulens JW, van der Schouw YT, Grobbee DE, Neal B. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2010; 17(1):3-8.
4. Marwan Awad A. Metformin and Vitamin B12 Deficiency: Where Do We Stand?. *J Pharm Pharm Sci*. 2016; 19(3): 382-398.
5. Berchtold P, Bolli P, Arbenz U, Keiser G. Disturbance of intestinal absorption following metformin therapy. *Diabetologia*. 1969; 5:405-412.
6. Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA. Vitamin-B12 status of patients on long-term metformin therapy. *Br Med J*. 1971; 2(5763):685-687.
7. De Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffele MG, van der Kolk J, Bets D, Verburg J, Donker AJM, Stehouwer CD. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ*. 2010; 340:218-221.
8. Temnaneanu OR, Trandafir LM, Purcarea. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: a relatively new clinical problem within pediatric practice. *J Med Life*. 2016; 9(3): 235-239.
9. Pinhas-Hamiel O, Dolan LM, Daniels SR. Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J Pediatr*. 1996; 128:608-615.
10. Dabelea D, Bell RA, Writing Group for the SEARCH for Diabetes in Youth Study Group, D'Agostino RB Jr, Imperatore G, Johansen JM. Incidence of diabetes in youth in the United States. *JAMA*. 2007; 297:2716-2724.
11. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, Bell R, Badaru A, Talton JW, Crume T, Liese A, Merchant AT, Lawrence JM, Reynolds K, Dolan L, Liu L, Hamman R. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA*. 2014; 311:1778-1786.

12. Liu LL, Lawrence JM, Davis C, Liese AD, Pettitt DJ, Pihoker C, Dabelea D, Hamman R, Waitzfelder B, Kahn HS. Prevalence of overweight and obesity in youth with diabetes in USA: the SEARCH for Diabetes in Youth study. *Pediatr Diabetes*. 2010; 11:4-12.
13. Ogden C, Carroll M, Lawman H, Fryar C, Kruszon-Moran D, Kit B, Flegal K. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014. *JAMA*. 2016; 315:2292-2299.
14. Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, Burrows NR, Geiss LS, Valdez R, Beckles GL, Saaddine J, Gregg EW, Williamson DF, Narayan KM. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. *J Pediatr*. 2000; 136:664-672.
15. Ball GD, Huang TT, Gower BA, Cruz ML, Shaibi GQ, Weigensberg MJ, Goran MI. Longitudinal changes in insulin sensitivity, insulin secretion, and beta-cell function during puberty. *J Pediatr*. 2006; 148:16-22.
16. Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC, Lauritano AA, Tamborlane WV. Impaired insulin action in puberty. A contributing factor to poor glycemic control in adolescents with diabetes. *N Engl J Med*. 1986; 315:215-219.
17. Ahmann A, Aroda V, Barbour V, Bellomo G, Beck RW, et al. American Diabetes Association Diabetes Care 2019; 42: 148-164.
18. Copeland KC, Silverstein J, Moore KR, Prazar GE, Raymer T, Shiffman RN, Springer S, Thaker VV, Anderson M, Spann SJ, Flinn SK. Management of newly diagnosed type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in children and adolescents. *Pediatrics*. 2013; 131:364-382.
19. Williams G. Management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*. 1994; 343:95-100.
20. DeFronzo RA, Goodman AM, The Multicenter Metformin Study Group. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1995; 333:541-549.
21. Giannarelli R, Aragona M, Coppelli A, Del Prato S. Reducing insulin resistance with metformin: the evidence today. *Diabetes Metab*. 2003; 29:28-35.
22. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, Inzuucchi SE, Schumann WC, Petersen KF, Landau BR, Shulman GI. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2000; 49: 2063-2069.
23. Riccio A, Del Prato S, Vigili de Kreutzenberg S, Tiengo A. Glucose and lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes. Effect of metformin. *Diabetes Metab*. 1991; 17:180-184.

24. Ferner RE, Rawlins MD, Alberti KGMM. Impaired B-cell responses improve when fasting blood glucose concentrate is reduced in noninsulin-dependent diabetes. *Quat J Med.* 1988; 250:137-146.
25. Bennett WL, Maruthur NM, Singh S, Segal JB, Wilson LM, Chatterjee R, Marinopoulos SS, Puhon MA, Padmini R, Block L, Nicholson WK, Hutfless S, Bass EB, Bolen S. Comparative effectiveness and safety of medications for type 2 diabetes: an update including new drugs and 2-drug combinations. *Ann Intern Med.* 2011; 154:602-613.
26. Bouchoucha M, Uzzan B, Cohen R. Metformin and digestive disorders. *Diabetes Metab.* 2011; 37:90-96.
27. Davidson MB, Peters AL. An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med.* 1997; 102:99-110.
28. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia.* 2016; 59:426-435.
29. DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA. Metformin-associated lactic acidosis: current perspectives on causes and risk. *Metabolism.* 2016; 65:20-29.
30. Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med.* 1996; 334:574-579.
31. Richy FF, Sabido-Espin M, Guedes S, Corvino FA, Gottwald-Hostalek U. Incidence of lactic acidosis in patients with type 2 diabetes with and without renal impairment treated with metformin: a retrospective cohort study. *Diabetes Care.* 2014; 37:2291-2295.
32. Stabler SP. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med.* 2013; 368:149-160.
33. Hunt A, Harrington D, Robinson S. Vitamin B12 deficiency. *BMJ.* 2014; 349:522-526.
34. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency--an update. *Haematologica.* 2006; 91:150-156.
35. Green R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood.* 2017; 1506-1512.
36. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. *Br J Haematol.* 2014; 166:496-513.
37. Green R, Datta Mitra A. Megaloblastic Anemias: Nutritional and Other Causes. *Med Clin North Am.* 2017; 101:297-317.
38. Pittock SJ, Payne TA, Harper CM. Reversible myelopathy in a 34-year-old man with vitamin B12 deficiency. *Mayo Clin Proc.* 2002; 77:291-294.

39. Hemmer B, Glocker FX, Schumacher M, Deuschl G, Lücking CH. Subacute combined degeneration: clinical, electrophysiological, and magnetic resonance imaging findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998; 65:822-827.
40. Görgülü Ü, Ergün U, Kavak P, İnan L, Yoldaş T. Vitamin B12 Eksikliğine Bağlı “Subakut Kombine Dejenerasyon”: Bir Olgu Nedeniyle Gözden Geçirme. *GMJ*. 2016; 27: 32-36.
41. Oberley MJ, Yang DT. Laboratory testing for cobalamin deficiency in megaloblastic anemia. *Am J Hematol*. 2013; 88:522-526.
42. Carmel R. Cobalamin, the stomach, and aging. *Am J Clin Nutr*. 1997; 66(4):750-759.
43. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Lindenbaum J. Assay of methylmalonic acid in the serum of patients with cobalamin deficiency using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest*. 1986; 77(5):1606-1612.
44. Bolann BJ, Solli JD, Schneede J, Grottum KA, Loraas A, Stokkeland M, Stallemo A, Schjoth A, Bie RB, Refsum H, Ueland PM. Evaluation of indicators of cobalamin deficiency defined as cobalamin-induced reduction in increased serum methylmalonic acid. *Clin Chem*. 2000; 46(11):1744-1750.
45. Clarke R, Sherliker P, Hin H, Nexo E, Hvas AM, Schneede J, Birks J, Ueland PM, Emmens K, Scott JM, Molloy AM, Evans JG. Detection of vitamin B12 deficiency in older people by measuring vitamin B12 or the active fraction of vitamin B12, holotranscobalamin. *Clin Chem*. 2007; 53(5):963-970.
46. Chanarin I. The megaloblastic anaemias. Oxford, United Kingdom: Blackwell Scientific Publishing. 1979; 2: 232-234.
47. Yetley EA, Pfeiffer CM, Phinney KW, Bailey RL, Blackmore S, Bock JL, Brody LC, Carmel R, Curtin LR, Durazo-Arvizu RA, Eckfeldt JH, Green R, Gregory JF, Hoofnagle AN, Jacobsen DW, Jacques PF, Lacher DA, Molloy AM, Massaro J, Mills J, Nexo E, Rader JI, Selhub J, Sempos C, Shane B, Stabler S, Stover P, Tamura T, Tedstone A, Thorpe SJ, Coates PM, Johnson CL, Picciano MF. Biomarkers of vitamin B-12 status in NHANES: a roundtable summary. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94(1):313-321.
48. Carmel R. Mild transcobalamin I (haptocorrin) deficiency and low serum cobalamin concentrations. *Clin Chem*. 2003; 49(8):1367-1374.
49. Jeffery J, Millar H, Mackenzie P, Fahie-Wilson M, Hamilton M, Ayling RM. An IgG complexed form of vitamin B12 is a common cause of elevated serum concentrations. *Clin Biochem*. 2010; 43(1-2):82-88.
50. Saudubray JM, Baumgartner M, Walter J. Disorders of Cobalamin and Folate Transport and Metabolism. *Inborn Metabolism Diseases Diagnosis and Treatment*. 2016; 6(27):386.

51. Pfeiffer CM, Caudill SP, Gunter EW, Osterloh J, Sampson EJ. Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(2):442-450.
52. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jul; 94(1):348-358.
53. Vogiatzoglou A, Oulhaj A, Smith AD, Nurk E, Drevon CA, Ueland PM, Vollset SE, Tell GS, Refsum H. Determinants of plasma methylmalonic acid in a large population: implications for assessment of vitamin B12 status. *Clin Chem.* 2009; 55(12):2198-2206.
54. Sentongo TA, Azzam R, Charrow J. Vitamin B12 status, methylmalonic acidemia and bacterial overgrowth in short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009; 48(4):495-497.
55. Quadros EV. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol.* 2010; 148(2):195-204.
56. Chen X, Remacha AF, Sarda MP, Carmel R. Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81(1):110-114.
57. Nexø E, Hoffmann-Lücke. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(1): 359-365.
58. Goringe A, Ellis R, McDowell I, Vidal-Alaball J, Jenkins C, Butler C, Worwood M. The limited value of methylmalonic acid, homocysteine and holotranscobalamin in the diagnosis of early B12 deficiency. *Haematologica.* 2006; 91(2):231-234.
59. Morkbak AL, Heimdal RM, Emmens K, Molloy A, Hvas AM, Schneid J, Clarke R, Scott JM, Ueland PM, Nexø E. Evaluation of the technical performance of novel holotranscobalamin (holoTC) assays in a multicenter European demonstration project. *Clin Chem Lab Med.* 2005; 43(10):1058-1064.
60. Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High serum cobalamin levels in the clinical setting--clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol.* 2001; 23(6):365-371.
61. Loikas S, Koskinen P, Irjala K, Lopponen M, Isoaho R, Kivela SL, Pelliniemi TT. Renal impairment compromises the use of total homocysteine and methylmalonic acid but not total vitamin B12 and holotranscobalamin in screening for vitamin B12 deficiency in the aged. *Clin Chem Lab Med.* 2007; 45(2):197-201.

62. Wickramasinghe SN, Ratnayaka ID. Limited value of serum holo-transcobalamin-II measurements in the differential diagnosis of macrocytosis. *J Clin Pathol.* 1996; 49(9):755-758.
63. Herbert V. Staging vitamin B-12 (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59(5):1213-1222.
64. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, Johnston C, Engbaek F, Schneede J, McPartlin C, Scott JM. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem.* 2004; 50(1):3-32.
65. Yao Y, Gao LJ, Zhou Y, Zhao JH, Lv Q, Dong JZ, Shang MS. Effect of advanced age on plasma homocysteine levels and its association with ischemic stroke in non-valvular atrial fibrillation, *J Geriatr Cardiol.* 2017; 14(12): 743–749.
66. Van Guldener C, Stam F, Stehouwer CD. Homocysteine metabolism in renal failure. *Kidney Int Suppl.* 2001; 78:234-237.
67. Ubbink JB, van der Merwe A, Delport R, Allen RH, Stabler SP, Riezler R. The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism. *J Clin Invest.* 1996; 98(1):177-184.
68. Hustad S, Ueland PM, Vollset SE, Zhang Y, Bjørke-Monsen AL, Schneede J. Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect modification by the methylene tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Clin Chem.* 2000; 46(8):1065-1071.
69. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(3):613-621.
70. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: usefulness of serum methyl malonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol.* 1990; 34(2):90-98.
71. Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley GP. Association of biochemical B(12) deficiency with metformin therapy and vitamin B(12) supplements: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care.* 2012; 35(2):327-333.
72. Hermann LS, Nilsson B, Wettre S. Vitamin B12 status of patients treated with metformin: a cross-sectional cohort study. *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2004; 4:401-404.
73. Sahin M, Tutuncu NB, Ertugrul D, Tanaci N, Guvener ND. Effects of metformin or rosiglitazone on serum concentrations of homocysteine, folate, and vitamin B12 in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2007; 1(2):118-123.

74. Wulffele MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Borger van der Burg B, Stehouwer CDA. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J Intern Med.* 2003; 254(5):455-463.
75. Carlsen SM, Kjøtrod S, Vanky E, Romundstad P. Homocysteine levels are unaffected by metformin treatment in both nonpregnant and pregnant women with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2007; 86(2):145-150.
76. Singh AK, Kumar A, Karmakar D, Jha RK. Association of B12 deficiency and clinical neuropathy with metformin use in type 2 diabetes patients. *J Postgrad Med.* 2013; 59(4):253-257.
77. Sato Y, Ouchi K, Funase Y, Yamauchi K, Aizawa T. Relationship between metformin use, vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Endocr J.* 2013; 60(12):1275-1280.
78. Liu Q, Li S, Quan H, Li J. Vitamin B12 status in metformin treated patients: systematic review. *PLoS One.* 2014; 9(6):1-6.
79. Caspary WF, Creutzfeldt W. Analysis of the inhibitory effect of biguanides on glucose absorption: inhibition of active sugar transport. *Diabetologia.* 1971; 7(5):379-385.
80. Buvat DR. Use of metformin is a cause of vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician.* 2004; 69(2):264-266.
81. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care.* 2000; 23(9):1227-1231.
82. Wile DJ, Toth C. Association of metformin, elevated homocysteine and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care.* 2010; 33(1):156-161.
83. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD. Does metformin increase the serum total homocysteine level in non-insulin-dependent diabetes mellitus? *J Intern Med.* 1997; 242(5):389-394.
84. Pongchaidecha M, Srikusalanukul V, Chattananon A, Tanjariyaporn S. Effect of metformin on plasma homocysteine, vitamin B12 and folic acid: a cross-sectional study in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai.* 2004; 87(7):780-787.
85. Lakso H, Appelblad P, Schneede J. Quantification of Methylmalonic Acid in Human Plasma with Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Separation and MS Detection. *Clinical Chemistry.* 2008; 54(12), 2028–2035.

86. Chen S, Lansdown AJ, Moat SJ, Ellis R, Goringe A, Dunstan FDJ, Rees JA. An observational study of the effect of metformin on B12 status and peripheral neuropathy. *British Journal of Diabetes and Vascular Disease*. 2012; 12:189-193.
87. Greibe E, Trolle B, Bor MV, Lauszus FF, Nexø E. Metformin lowers serum cobalamin without changing other markers of cobalamin status: a study on women with polycystic ovary syndrome. *Nutrients*. 2013; 5(7):2475-2482.
88. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of high body mass index in US children and adolescents, 1999-2010. *J Am Med Assn*. 2012;307(5):483–490.
89. Kumar S, Aaron S. Review of Childhood Obesity From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. 2017; 92:251–265.
90. Paul Kaplowitz. Is There a Role for Metformin in the Treatment of Childhood Obesity?. *Pediatrics*. 2017; 140 (1): 1-4.
91. McDonagh MS, Selph S, Ozpinar A, Foley C. Systematic review of the benefits and risks of metformin in treating obesity in children aged 18 years and younger. *JAMA Pediatr*. 2014; 168(2):178–184.
92. Seifarth C, Schehler B, Schneider HJ. Effectiveness of metformin on weight loss in non-diabetic individuals with obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013; 121(1):27-31.
93. HEALTHY Study Group, Kaufman F.R, Hirst K, Linder B. Risk factors for type 2 diabetes in a sixth-grade multiracial cohort: the HEALTHY study. *Diabetes Care*. 2009; 32:953-955.
94. Robert C, David L, Fort L. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician*. 2003; 67(5):979-986.
95. Kos E, Liszek M, Emanuele M, Durazo-Arvizu R, Camacho P. Effect of metformin therapy on vitamin D and vitamin B₁₂ levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2012; 18(2):179-84.
96. Aroda VR, Edelstein SL, Goldberg RB, Knowler WC, Marcovina SM, Orchard TJ, Bray GA, Schade DS, Tempresa MG, White NH, Crandall JP, Diabetes Prevention Program Research Group. Long-term metformin use and vitamin B12 deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101:1754-1761.
97. Beulens J, Hart H, Kujis R, Kooijman-Buiting A, Rutten G. Influence of duration and dose of metformin on cobalamin deficiency in type 2 diabetes patients using metformin. *Acta Diabetologica*. 2015; 52:47-53.

98. Jiwoon K, Chul Woo A, Sungsoon F, Hye Sun L, Jong Suk P. Association between metformin dose and vitamin B12 deficiency in patients in type 2 diabetes. *Medicine*. 2019; 98(46): 179-181.
99. Out M, Kooy A, Lehert P, Schalkwijk CA, Stehouwer CDA. Long-term treatment with metformin in type 2 diabetes and methylmalonic acid: post hoc analysis of a randomized controlled 4.3 year trial. *J Diabetes Complications*. 2018; 32:171-178.
100. Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, Marcell PD, Stabler SP, Allen RH. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med*. 1988; 318:1720-1728.
101. 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.
102. Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol*. 1990; 34:99-107.
103. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1994; 60(1): 2-11.
104. Wile DJ, Toth C. Association of Metformin, Elevated Homocysteine and Methylmalonic Acid Levels and Clinically Worsened Diabetic Peripheral Neuropathy. *Diabetes Care*. 2010; 33(1):156-161.
105. Valente E, Scott JM, Ueland PM, Cunningham C, Casey M, Molloy AM. Diagnostic Accuracy of Holotranscobalamin, Methylmalonic Acid, Serum Cobalamin, and Other Indicators of Tissue Vitamin B12 Status in the Elderly. *Clinical Chemistry*. 2011; 57(6):856-863.
106. Greibe E, Trolle B, Bor M, Lauszus F, Nexø E. Metformin Lowers Serum Cobalamin Without Changing Other Markers Of Cobalamin Status: A Study on Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Nutrients*. 2013; 5(7): 2475-2482.

EKLER

EK-1. Hasta Bilgilendirme ve Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Rıza/olur onayı hastaların anne/baba/anne baba yok ise ilgili vasisinden alınacaktır.)

Araştırmanın Adı: Çocukluk çağı Metformin kullanımı vitamin B12 eksikliğine yol açar mı?

Araştırmanın Kolay Anlaşılır Adı: Çocukluk çağı Metformin kullanımı vitamin B12 eksikliğine yol açar mı?

Sorumlu Araştırmacı: Doç.Dr.F. Tuba EMİNOĞLU

Yardımcı Araştırmacı : Dr. Özen TAŞ

Sevgili ebeveyn, katılacak olduğunuz çalışma bir araştırma niteliğindedir. Bu araştırmaya 10-18 yaş grubu aralığında en az 50 çocuğun katılımı planlanmaktadır. Çalışmadan kısaca bahsetmek istemekteyiz.

Metformin adlı ilacı kullanan erişkinlerde yapılmış çalışmalarda ilacın belirli süre kullanımı sonrası vücudumuz için gerekli olan vitaminlerden birinin, vitamin B12 nin eksikliğine yol açabileceği saptanmıştır. Vitamin B12 eksikliği kansızlığa, alyuvar hücrelerimizin yetersiz üretimine yol açmanın yanı sıra unutkanlık, okul başarısında düşüklük gibi durumlara yol açmaktadır. Çocuk yaş grubu için bu konuda, yani ilacın çocuklardaki kullanımında da vitamin B12 eksikliği yapıp yapmayacağını araştıran yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmamızda sizin çocuğunuz gibi metformin kullanan çocuklarda zaten rutin olarak kan alımı ve tetkiki gerekmektedir. Adolesan doktorlarının istediği tetkikler için kan alınmakta iken, çocuğunuzun canını ekstrasdan bir kere daha yakmamak adına çalışmamız için gerekli olan tetkikler için de kan alma düşüncesindeyiz. Sizin çocuğunuz gibi metformin kullanan çocuklarda ilaca bağlı olası vitamin B12 eksikliğinin tespiti için ekstrasdan alınan kanlara ek olarak aynı kan alma seansında, iki biyokimya tüpüne(sarı kapaklı tüp), bir hemogram tüpüne(mor kapaklı tüp)

(toplamda 6 cc), yani fazladan 3 çay kaşığı kadar daha kan örneği alınacaktır. Böylelikle çocuğunuza çalışma kapsamında fazladan kan alma gibi müdahalede bulunulması önlenmiş olacaktır.

Yapılacak bu çalışma kapsamında çocuğunuzdan ilaç başlanmadan önce kan tetkiki alınacaktır. Alınan kan örneklerinde çocuğunuzun ilaç başlanmadan önceki kan değerleri ve vitamin B12 düzeyi görülecektir. İlaç kullanımına başladıktan sonraki 6. Ayda ve 12. Ayda tekrar aynı şekilde kan örnekleri alınarak alınan kan örneklerinde vitamin B12 eksikliği olup olmadığı bakılan laboratuvar sonuçlarıyla araştırılacaktır.

Yine çalışmamızda öngörülen bitirme süresi tüm araştırma için 2 yıl olup çocuğunuzun 0.(metformin başlangıcından önce), 6.,12. Ay kontrollerinde kan örnekleri, belirtildiği gibi tekrarlanacaktır.

Daha önce de belirtildiği gibi çocukluk yaş grubunda buna benzer bir çalışma olmadığı için bu çalışmanın sonuçlarının klinik uygulamalar açısından önemli bilgiler vereceğini düşünüyoruz. Çocuklarda vitamin eksikliğine yol açıp açmadığı bilinecek ve ona göre yararlı tedavi planları öncesinde çizilebilecektir.

Yapılacak araştırma ÜCRETSİZ OLUP SİZDEN VEYA BAĞLI BULUNDUĞUNUZ SİGORTA KURUMUNDAN HİÇBİR ÜCRET TALEP EDİLMEMEYECEKTİR.

Bilgilendirilmiş olur verdiğiniz takdirde, çocuğunuz/yasal temsilcisi olduğunuz birey çalışmaya dahil edilecektir. Çalışma süresince, herhangi bir zamanda hiçbir mazeret bildirmeden olurunuzu geri alma hakkına sahipsiniz ve bundan dolayı çocuğunuzun/yasal temsilcisi olduğunuz bireyin sonraki tıbbi takip ve tedavileri esnasında mevcut haklarından herhangi bir kayba uğraması söz konusu değildir. Araştırma konusuyla ilgili, araştırmaya katılmaya devam etme isteğinin etkilenebileceği yeni bilgiler söz konusu olduğunda, size derhal bilgi verilecektir.

Kaydedeceğimiz çocuğunuzun/yasal temsilcisi olduğunuz bireye ait veriler (muayene bulguları, tetkik sonuçları) gizlilik kurallarına uygun olarak saklanacak ve sonuçlar bilimsel amaçla yayınlandığında, çocuğunuzun/yasal temsilcisi olduğunuz bireyin kimlik bilgileri gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, çocuğunuzun/yasal temsilcisi olduğunuz bireyin ismi ve tıbbi kayıtları gizli tutulacak ve hastane dışında açıklanmayacaktır. Bu belgeyi imzalayarak çocuğunuzun/yasal

temsilcisi olduğunuz bireyin tıbbi bilgilerini bu şartlar altında kullanılmasına izin vermektedir.

Eğer çalışma ile ilgili daha detaylı bilgi almak isterseniz veya çalışma süresince aklınıza takılan bir soru olursa, çalışmanın sorumlu yürütücüsü ve yardımcı araştırmacısı olan Doç. Dr.Tuba EMİNOĞLU ve Dr. Özen TAŞ’a danışabilirsiniz.

Tel: (0 312) 595 5841/ Çocuk Metabolizma Bilim Dalları

Gönüllü Yasal Temsilcisinin Oluru

Bu sayfayı imzalamakla gönüllü olarak çocuğumun/yasal temsilcisi olduğum bireyin bu çalışmaya katılmasını kabul etmiş olacağım konusunda bilgilendirildim. Yukarıdaki bilgileri okudum. Aynı zamanda bana sözlü açıklama da yapıldı. Bu koşullar altında, kendi rızam ile bu çalışmaya çocuğum/yasal temsilcisi oldum bireyin katılmayı kabul ediyorum. Çocuğumun/yasal temsilcisi olduğum bireye ait tıbbi

Gönüllünün yasal temsilcisinin adı soyadı:	Tarih: / /
Adres:	İmza:
Tel:	
Açıklamaları yapan kişinin adı soyadı:	Tarih: / /
	İmza:

kayıtların sağlık otoritelerince incelenebileceğini anladım ve bu kişilere izin veriyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası yasal temsilciye verilecek, bir kopyası araştırmacıda kalacaktır.

EK-2. Çocuk Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

Merhaba sevgili küçük dostum;

Ben bir çocuk doktoruyum ve işimi daha iyi yapabilmem için senin yardımına ihtiyacım var. Sana ve senin gibi birçok çocuğa metformin isimli senin sağlığını iyileştirmek amaçlı bir ilaç başlanacak. Her ilacın olduğu gibi bu ilacın da bizim istemediğimiz kötü etkileri olabiliyor. Bu kötü etkilerden bir tanesi de senin vücudun için gerekli olan bir vitamin olan vitamin B12 isimli bir vitamini azaltması. İşte bu kötü etki daha çok büyüklerde yani 18 yaş üstünde görülmekte. Ancak senin gibi çocuk yaş grubu için bu kötü etkinin olup olmadığını bilememekteyiz, çünkü bu konuda yapılmış bir çalışma yok. Biz de düşündük ki bu ilacın öyle bir etkisi varsa öğrenelim. Bunu yapmamız için senin yardımına ihtiyacımız var.

Küçük dostum, senden muayeneye geldiğinde adolesanda çalışmakta olan doktor abla/abilerin kan alınarak tetkikler yapacak. Biliyorsun ki bu durum çok az canını acıtmakta ama iyileşmen için gerekli olduğu ve senin sağlık durumuna; öncesinde zarar vermemek sonrasında ise sağlığına katkıda bulunmak için önemli, gerekli. Biz de senden canını bir daha acıtmamak için aynı anda ihtiyacımız olan tetkikler için kan almak düşüncesindeyiz. Böylelikle senin canını fazladan yakmamış olacağız. İlaç başlanmadan önce, ilaç başladıktan 6 ay sonra ve ilaç başladıktan 12 ay sonra kontrole geldiğinde alacağımız kan örneklerinde bu ilaca bağlı bir vitamin eksikliğine dair kötü etki oluşmuş mu diye bakacağız. Bunu senden sadece 3 çay kaşığına dolduracak kadar ekstra kan alarak yapacağız. Bu sayede sana ve senin gibi metformin kullanan çocuklarda kötü etkiyi bakacağımız tetkiklerle daha erken saptayacağız. Böylelikle senin gibi olan çocuklara nasıl daha çok yardımcı olabiliriz onu öğreneceğiz. Tabi ki eğer istemezsen bu testlerin hiçbirini yaptırmak zorunda değilsin. Benim anlatmak istediklerimi dinleyerek vakit ayırdığın için çok teşekkür ederim.

ÇOCUĞUN ADI-SOYADI:

İMZASI:

TARİH: