



## ARAŞTIRMA / RESEARCH

### Vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda tiyol disülfid dengesi

Thiol disulfide balance in children with vitamin B12 deficiency

Ece Cansu Okur<sup>1</sup>, Mehmet Fatih Orhan<sup>2</sup>, Bahri Elmas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı, Sakarya, Turkey

*Cukurova Medical Journal 2021;46(3):1278-1284*

#### Abstract

**Purpose:** The aim of this study was to investigate the thiol/disulfide balance as a marker of oxidative stress in children with vitamin B12 deficiency.

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

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

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

**Keywords:** Child, homocysteine, vitamin B12, oxidative stress, thiol/disulfide balance

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidatif stres belirteci olarak tiyol/disülfid dengesinin araştırılması amaçlanmıştır.

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

**Bulgular:** Gruplar yaş ve cinsiyet dağılımı açısından benzerdi. Medyan vitamin B12 düzeyi hasta grubunda 179 (98-199) pg/ml, kontrol grubunda 298 (201-965) pg/ml idi. Hasta ve kontrol grubu arasında; homosistein, nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol oranı, disülfid/total tiyol oranı ve nativ tiyol/total tiyol oranı açısından anlamlı fark saptanmadı. Hasta ve kontrol grubunda, tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile vitamin B12 ve homosistein düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

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

**Anahtar kelimeler:** Çocuk, vitamin B12, homosistein, oksidatif stres, tiyol/disülfid dengesi

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Mehmet Fatih Orhan, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı, Adapazarı/Sakarya, Turkey

E-mail: forhan@sakarya.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 24.04.2021 Kabul tarihi/Accepted: 22.07.2021 Çevrimiçi yayın/Published online: 30.07.2021

## GİRİŞ VE AMAÇ

Vitamin B12 temel olarak; nükleik asit sentezinde, hematopoezde ve sinir sisteminde görev almaktadır. Vitamin B12 eksikliği tanısında kullanılan ek testler Metil Malonik Asit (MMA) ve homosistein ölçümüdür. Bu testler genellikle ilk vitamin B12 ölçümü sınırda veya tutarsız ise kullanılır. Homosistein, başlıca oto-oksidasyon ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini artırmak üzere birçok farklı mekanizma üzerinde Reaktif Oksijen Türleri (ROS) birikmesine sebep olmaktadır<sup>1</sup>.

Oksidatif stres, ROS gibi pro-oksidan bileşenlerin antioksidan tamponlama kapasiteyi aşması durumunda gelişen tablo olarak tanımlanır<sup>2</sup>. Vitamin B12'nin antioksidan özelliklerinin incelendiği birçok çalışma yapılmıştır<sup>3</sup>. Enzimatik olarak işlenmiş B12'nin doğrudan süperoksit toplayıcısı/çöpçüsü olarak davrandığı iddia edilmiştir<sup>4</sup>. Vitamin B12, glutatyon düzeylerinin korunmasını sağlayarak ROS moleküllerinin temizlenmesine dolaylı olarak katkıda bulunmaktadır<sup>5</sup>.

Tiyoller, karbon atomuna sülfür (S) ve hidrojen (H) atomunun bağlanması ile oluşan sülfidril (-SH) grubu içeren organik bileşiklerdir. Bu moleküller, oksidatif strese oldukça duyarlıdır ve insan vücudundaki en önemli antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir<sup>6</sup>. Fizyolojik aerobik metabolizma sonucu organizmada oluşan ROS molekülleri, fazla elektronlarını tiyol içeren bileşiklere aktararak disülfid bağları oluşturur ve onları oksitler. Sistinde bulunan sülfür atomu okside olarak disülfite (-S-S) dönüşmektedir. Oksidan-antioksidan dengenin sağlanması ile oluşan disülfid bağları tekrar tiyollere indirgenebilir. Diğer bir ifade ile: Tiyol disülfid dengesi dinamik bir yapıya sahiptir<sup>7</sup>.

Son dönemlerde, birçok hastalıkta tiyol/disülfid homeostazisinin önemini araştıran çalışmalar bildirilmiştir. Bu dengenin klinik uygulamadaki rolünün araştırıldığı bir derlemede 35 çalışma değerlendirilmiş ve tiyol/disülfid dengesinin vücuttaki koruyucu etkisi olduğu ve birçok hastalıkta tanısal belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir<sup>8</sup>. Pediatrik yaş grubunda ise tiyol/disülfid dengesinin polikistik over hastalığı<sup>9</sup>, akut tonsillofarenjit<sup>10</sup>, obezite<sup>11</sup>, atopik dermatit<sup>12</sup>, epilepsi<sup>13</sup>, hipotiroidi<sup>14</sup>, bazı metabolik hastalıklar<sup>15</sup>, hipertansiyon<sup>16</sup>, kafa travması<sup>17</sup>, juvenil idiyomatik artrit<sup>18</sup>, febril nöbet<sup>19</sup>, akut böbrek hasarı<sup>20</sup>, nefrotik sendrom<sup>21</sup>, Kawasaki hastalığı<sup>22</sup> ve sepsis<sup>23</sup> gibi farklı hastalıklardaki rolü

araştırılmıştır. Ancak, yaptığımız uluslararası literatür taramasında, pediyatrik yaş grubunda vitamin B12 eksikliğinde tiyol/disülfid dengesinin araştırıldığı bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmayla, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidan-antioksidan dengesinin tiyol/disülfid sistemi üzerinden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma; Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniklerinde Temmuz 2018-Temmuz 2019 tarihleri arasında yapılmıştır. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 26.06.2019 tarih ve 01 sayılı etik kurulu kararı ile izin alınmıştır.

### Örneklem

Çalışmaya dahil edilme kriterleri; Vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml altında saptananan, fizik muayene ve semptomlarında enfeksiyon bulgusu olmayan, kronik hastalığı bulunmayan, sürekli ilaç kullanımını olmayan, hemodinamik olarak stabil, şok tablosunda olmayan ve inotrop-vazopressör desteği gerektirmeyen veya uygulanmayan hastalardan çalışmaya katılmayı kabul edenler olarak kabul edilmiştir. Çalışmadan dışlanma kriterleri olarak da kronik hastalığı olan, vitamin B12 üzerine etki edecek kronik ilaç kullanımı olan, G6PD eksikliği olan, katılmayı kabul etmeyen, hemodinamik instabilitesi bulunan, şok tablosunda ve inotrop-vazopressör desteği gereken veya uygulananlar baz alınmış olup bu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışma döneminde kliniğimizde 182 hasta Vitamin B12 eksikliği tanısı almış olup, özellikle mülteci çocukların anamnezlerinin sağlıklı alınmaması ve Suriyeli çocuklarda G6PD oranı yüksek olduğu, ekarte edilemeyeceği için 29 çocuk çalışmaya alınmamıştır. Çalışma tasarımında çalışılacak idrarda Metilmalonik asit düzeyi hizmeti dış laboratuvarından alındığı ve öğleden sonra tetkik gönderilemediği için öğleden sonra tanı alan 72 hasta ertesi gün sırf çalışma için yeniden çağırılmaması için yine çalışma dışı bırakılmıştır. 13 çocuğun yandaş hastalığı olduğu, 7 hastanın da ilave ilaçlar kullanması nedeniyle çalışmaya dahil edilmedi. Böylece çalışmaya, vitamin B12 eksikliği nedeni ile başvuru yapmış, yaşı 0-18 yıl arası olan ve homosistein tetkiki yapılmış 61 hasta dâhil edilmiştir. Benzer yaş ve cinsiyette 62 çocuk kontrol grubu olarak alınmıştır. Katılımcılardan ve velilerinden aydınlatılmış onam alınmıştır.

## Uygulama

Kesitsel bir çalışma olduğu için tanı anındaki Tiyol/Disülfit düzeyi için serum alınarak sonra toplu çalışılmak üzere -80 derecede saklanmıştır. B12 eksikliği saptanan tüm çocuklara tedavi verilmiş olup, çalışma sadece tanı anını kapsadığı için sonraki süreç izlenmemiştir.

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

Hastalardan vitamin B12 (N: 200-883 pg/ml) analizi için antikoagülan içermeyen tüplerde gelen numunelerin pıhtılaşma süreci tamamlandıktan sonra venöz kan numuneleri rutin işleyiş içinde 1500 g de 10 dk santrifüj edildi. Seçilen örneklerin hemolizli ve lipemik olamamasına dikkat edildi. Vitamin B12 düzeyi Abbott Architect I 2000 SR (Abbott Laboratories Abbott Park IL, 60064, USA) cihazında kemilüminesans yöntemle ölçüldü. Kullanılan kitin sınırı 200 pg/ml olduğu için altındaki değerler B12 eksikliği kabul edilmiştir.

Homosistein (N: 5-12 µmol/L) düzeyi Immulite otoanalizatöründe enzyme-linked chemiluminescent immunosorbent assay yöntemi (2000 Siemens, Healthcare Diagnostics, Almanya) ile analiz edilmiştir. Kullanılan kitin sınırı 12 µmol/L üzeri yükseklik olarak kabul edildiği için sınır kite göre alınmıştır.

İdrarda MMA düzeyi ise Agilent GC-MS Spektrometresi (Agilent. Technologies. ABD.) cihazında GC (Gaz Kromatografi) ve MS'nin (Kütle Spektrometresi) kombinasyonu olan GC/MS yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen sonuçların bir kısmı, idrarın transport koşulları nedeniyle ölçülemeyecek düzeyde çıktığı için çalışma dışı bırakıldı.

Vitamin B12 eksikliği olan (homosistein düzeyi bakılmış) hastalardan tiyol/disülfit ölçümü için sarı kapaklı düz tüpe venöz kan örneği tanı anında alındı. Kan örnekleri en geç 15 dk içinde santrifüj edildikten sonra ayrılan serum -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Serum tiyol/disülfit düzeyi yeni geliştirilen otomatik ölçüm metodu ile otomatik klinik kimyasal analiz (Roche, cobas 501, Mannheim, Germany) cihazı ile ölçüldü. Basit (nativ) tiyol düzeyi (-SH) ve total tiyol (-SH+-S-S-) düzeyleri µmol/L birimi ile direkt ölçüldü. Bu ölçümlerden -S-S- (disülfit=total tiyol-nativ tiyol/2), -S-S-/-SH (disülfit/nativ tiyol),

-S-S-/-SH+-S-S- (disülfit/total tiyol) ve -SH/-SH+-S-S- (nativ tiyol/total tiyol) düzeyleri hesaplandı.

## İstatistiksel analiz

Örneklem büyüklüğü G\*Power Version 3.1.9.2 programı ile hesaplanmıştır. Gruplar arasında geniş etki büyüklüğünün (effect size=0.5) fark kabul edilmesi öngörülerek alfa anlamlılık seviyesi 0,05 olmak üzere, %85 güç ile örneklem büyüklüğü her bir grupta 59 katılımcı olacak şekilde hesaplanmıştır.

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

## BULGULAR

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

Çalışma gruplarının laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında, vaka grubunda kontrol grubuna göre serum vitamin B12 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0,001) (Tablo 2). Serum homosistein (p=0,944), nativ tiyol (p=0,877), total tiyol (p=0,935), disülfit (p=0,451), disülfit/nativ

tiyol oranı ( $p=0,511$ ), disülfid/total tiyol oranı ( $p=0,514$ ) ve nativ tiyol/total tiyol oranı ( $p=0,514$ ) açısından vaka ve kontrol grupları arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2). Hasta grubuna alınan 61 çocuğun 27'sinde homosistein de yüksekti.

**Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik ve klinik verilerinin karşılaştırılması**

| Parametre |       | Vaka (n=61)<br>n (%) | Kontrol (n=62)<br>n (%) | p                  |
|-----------|-------|----------------------|-------------------------|--------------------|
| Cinsiyet  | Kız   | 44 (72,1)            | 37 (59,7)               | 0,145 <sup>a</sup> |
|           | Erkek | 17 (27,9)            | 25 (40,3)               |                    |
| Yaş (yıl) |       | 14,3 (0,4-17,8)      | 14,1 (1,8-17,9)         | 0,905 <sup>b</sup> |

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

**Tablo 2. Çalışma gruplarının B12 ve tiyol/disülfid parametrelerinin karşılaştırılması**

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

<sup>a</sup>: Mann-Whitney U testi, <sup>b</sup>: Student t testi

Çalışma gruplarında; vitamin B12 düzeyi, homosistein düzeyi, yaş değeri ve tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında korelasyon analizleri yapıldı. Vaka grubunun vitamin B12 ve homosistein düzeyi ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Yaş değeri ile nativ tiyol ( $r=0,283$ ,  $p=0,027$ ) ve total tiyol ( $r=0,280$ ,  $p=0,029$ ) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı zayıf düzeyde korelasyon saptandı.

Kontrol grubunun vitamin B12 düzeyi, homosistein düzeyi ve yaş değerleri ile tiyol/disülfid dengesi parametreleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı

Çok değişkenli istatistiksel analizlerde vitamin B12 eksikliği ile ilişkili olan veya ilişkili olabileceği düşünülen olası tüm değişkenler aday risk faktörleri olarak doğrusal regresyon modeline dahil edildi. Çoklu doğrusal regresyon analizinde vitamin B12 düzeyleri üzerine total tiyol, disülfid, WBC, hemoglobin, trombosit sayısı, MCV, RDW ve homosistein bağımsız değişkenlerinin etkilerinin bulunmadığı saptandı ( $p>0,05$ ).

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

## TARTIŞMA

Vitamin B12, santral sinir sistemi de dahil olmak üzere vücuttaki birçok sistem için esansiyel vitaminlerden biridir. Homosistein ve MMA, vitamin B12 bağımlı reaksiyonlarda substrat oldukları için B12 eksikliğinde bu iki molekülün düzeylerinin artması duyarlı birer göstergedir. Vitamin B12 eksikliği olan hastaların %90'ından fazlasında düzeyleri yükselir<sup>24</sup>. Bizim çalışmamızda, vitamin B12 eksikliği olan hastaların homosistein düzeyleri ortalaması üst sınıra yakın olmasına rağmen normal aralıktaydı.

Literatürde, vitamin B12 ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi spesifik olarak çocuklarda inceleyen az sayıda çalışma vardır. Aşkar ve arkadaşlarının bildirdiği çalışmada, 15 vitamin B12 eksikliği anemisi olan, 15 demir eksikliği anemisi olan ve 15 sağlıklı çocuğun oksidatif durumu tiobarbitürik asit deriveleri ve total antioksidan kapasite yöntemleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hasta gruplarında kontrol grubuna göre tiobarbitürik asit deriveleri düzeyleri daha yüksek, total antioksidan kapasite düzeyleri daha düşük bulunmuştur<sup>25</sup>. Hücresel metilasyon reaksiyonları ve antioksidan savunması için önemli bir metabolik kofaktör olan B12 vitamininin önemi

aşikardır. Bu nedenle oksidatif stresi artırmaya yatkınlığı oluşturan homosistein düzeyi tüm çocuklarda bakılmalı ve yüksek ise hızlıca düzeltmek için oral/dilaltı tedavi yerine parenteral tedavi tercih edilmelidir. Bizim çalışmamızda, vaka grubunda homosistein düzeyi normal aralıktaydı ve otizm tanısı alan çocuk yoktu. Literatür taramasında, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda oksidatif stresin tiyol/disülfid dengesi üzerinden değerlendirildiği bir çalışmaya ulaşamadık. Bu sebeple, sonuçlarımızı doğrudan diğer çalışmalarla karşılaştıramadık.

Vitamin B12'ye bağımlı enzimler, azalmış metilasyon kapasitesine ve metabolit toksisitesine neden olur<sup>26</sup>. B12 eksikliğinde oksidatif stres böylece artar. Hindistan'da içme suyunda arseniğe maruz kalanlarda B12 eksikliği olduğu ve antioksidan olan aminothiollün de azaldığı tespit edildi. Bu oksidatif strese homosistein artışının katkıda bulunduğu da anlaşıldı<sup>27</sup>. Buradan hareketle homosisteini artırmayan bir B12 eksikliğinin, oksidatif stresi artırmayacağı, dolayısıyla antioksidan kapasiteyi de artırmayacağı öngörülebilir. Bizim çalışmamızda B12 eksikliği tespit ettiğimiz hastaların homosistein düzeyi artmadığı için nativ tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol oranı, disülfid/total tiyol oranı ve nativ tiyol/total tiyol oranında kontrol grubuna göre bir değişiklik olmadığı kanaatindeyiz.

Yaş ilerledikçe; obezite, fazla yağlı ve şekerli diyet, işlenmiş gıdalar, radyasyon, sigara, diğer tütün ürünleri, alkol, bazı ilaçlar, hava kirliliği ve pestisitler gibi oksidatif stres kaynaklarına maruziyet artmaktadır<sup>28</sup>. Morimoto ve arkadaşlarının 2-15 yaş aralığında 77 çocuk ve 7 sağlıklı erişkin ile bildirdikleri bir çalışmada oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile yaş arasındaki ilişki araştırılmıştır. Oksidatif durum hidrojen peroksit ölçümü (reaktif oksijen metabolitleri deriveleri), antioksidan potansiyel ise III değerlikli demirin II değerlikli demire indirgeme kapasitesi ile hesaplanmıştır. Çocuklarda yaş ile oksidatif durumun negatif korele olduğu, antioksidan potansiyelin ise yaş ile korelasyon göstermediği saptanmıştır. Antioksidan kapasitenin göstergesi olarak değerlendirilen antioksidan durum/oksidatif potansiyelin yaş ile pozitif korele olduğu bulunmuştur. Yazarlar, çocuklarda oksidatif stres değerlendirmesinde yaşın hesaba katılmasının önemini vurgulamışlardır<sup>29</sup>. Çalışmamızda ise literatür ile kısmen uyumlu olacak şekilde, vitamin B12 eksikliği olan çocuklarda yaş ile nativ tiyol ve antioksidan kapasitenin göstergesi olarak değerlendirilebilecek total tiyol düzeyleri arasında

pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı (r: 0,28, p: 0,029).

Elmas ve arkadaşları bir çalışmada 65 obez ve 64 sağlıklı çocuk ile oksidatif stres belirteci olarak tiyol/disülfid dengesini ve bunun inflamatuvar kardiyovasküler belirteçler ile ilişkisini değerlendirmiştir. Obez grupta nativ ve total tiyol daha düşük, disülfid, disülfid/tiyol oranları ve CRP düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Tiyol/disülfid dengesi parametreleri ile lökosit düzeyi arasında korelasyon izlenmezken, çalışmamıza benzer şekilde trombosit ile disülfid/tiyol oranları arasında pozitif, nativ/total tiyol oranı arasında ise negatif korelasyon bildirilmiştir. Yazarlar, bu durumun obeziteye eşlik eden kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu yorumunu yapmışlardır<sup>30</sup>.

Nativ tiyol/total tiyol oranı, oksidatif stresin azaldığını gösteren bir parametredir<sup>31</sup>. Çalışmamızda, vaka grubunda trombosit ve lökosit düzeyleriyle nativ tiyol/total tiyol oranı arasında negatif yönde korelasyon olduğu saptandı (sırasıyla, r: -0,312, p: 0,017 ve r: -0,263, p: 0,046). Vitamin B12 eksikliğinde genelde azalması beklenen trombosit ve lökosit düşüklüğünün nativ tiyol/total tiyol oranını artırması beklenmekte olup bu da oksidatif stresten korunma mekanizması ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın en önemli sınırlılığı çalışması planlanan idrarda metil malonik asit düzeyinin teknik nedenlerle çalışılmamış olmasıdır. B12 eksikliğini destekleyecek olan homosistein düzeyinin yüksekliği de vaka grubunun yaklaşık yarısında görülmemiştir. Bu durum gerçek B12 eksikliği olan çocukların çalışmaya alınmamış olma ihtimalini akla getirirse de homosisteini artırmayan bir B12 eksikliğinin tiyol disülfid dengesini değiştirmeyeceği sonucuna bu vesile ile ulaşılabilmektedir.

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

**Yazar Katkıları:** Çalışma konsepti/Tasarımı: MFO, BE; Veri toplama: ECO; Veri analizi ve yorumlama: MFO, BE, ECO; Yazı taslağı: MFO, ECO; İçeriğin eleştirilme incelenmesi: MFO, BE; Son onay ve sorumluluk: ECO, MFO, BE; Teknik ve malzeme desteği: MFO, BE; Süpervizyon: MFO, ECO; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

**Etik Onay:** Bu çalışma için Sakarya Üniversitesi Rektörlüğü Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulundan 19.06.2019 tarih ve 01 sayılı kararı ile etik onay alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

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

**Author Contributions:** Concept/Design : MFO, BE; Data acquisition: ECO; Data analysis and interpretation: MFO, BE, ECO; Drafting manuscript: MFO, ECO; Critical revision of manuscript: MFO, BE; Final approval and accountability: ECO, MFO, BE; Technical or material support: MFO, BE; Supervision: MFO, ECO; Securing funding (if available): n/a.

**Ethical Approval:** Ethical approval was obtained for this study from the Ethics Committee of Sakarya University Rectorate, Faculty of Medicine, with the decision dated 19.06.2019 and numbered 01.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Conflict of Interest:** Authors declared no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** Authors declared no financial support

**Acknowledgement:** This research was supported by Sakarya University Scientific Research Projects Coordinatorship with project number 2019-6-26-01.

## KAYNAKLAR

1. Tyagi N, Sedoris KC, Steed M, Ovechkin AV, Moshal KS, Tyagi SC. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289:H2649-56.
2. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015;97:55-74.
3. Moreira ES, Brasch NE, Yun J. Vitamin B12 protects against superoxide-induced cell injury in human aortic endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2011;51:876-83.
4. Chan W, Almasieh M, Catrinescu MM, Levin LA. Cobalamin-associated superoxide scavenging in neuronal cells is a potential mechanism for vitamin B12-deprivation optic neuropathy. *Am J Pathol.* 2018;188:160-72.
5. Karamshetty V, Acharya JD, Ghaskadbi S, Goel P. Mathematical modeling of glutathione status in type 2 diabetics with vitamin B 12 deficiency. *Front Cell Dev Biol.* 2016;4:16.
6. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:653-69.
7. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:1329-38.
8. Erenler AK, Yardan T. Clinical utility of thiol/disulfide homeostasis. *Clin Lab.* 2017;63:867-70.
9. Ozler S, Oztas E, Tokmak A, Ergin M, Isci E, Eren F et al. The association of thiol/disulfide homeostasis and lipid accumulation index with cardiovascular risk factors in overweight adolescents with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016;84:516-23.
10. Kara SS, Erel O, Demirdag TB, Cura Yayla BC, Gulhan B, Neselioglu S et al. Alteration of thiol-disulfide homeostasis in acute tonsillopharyngitis. *Redox Rep.* 2017;22:205-9.
11. Elmas B, Karacan M, Dervişoğlu P, Kösecik M, İggüven ŞP, Bal C. Dynamic thiol/disulfide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in obese children and its relationship with inflammatory-cardiovascular markers. *Anatol J Cardiol.* 2017;18:361-9.
12. Uysal P, Avcil S, Neşelioglu S, Biçer C, Çatal F. Association of oxidative stress and dynamic thiol-disulfide homeostasis with atopic dermatitis severity and chronicity in children: a prospective study. *Clin Exp Dermatol.* 2018;43:124-30.
13. Halil H, Tuygun N, Aksoy E, Erel O, Karacan CD. Serum thiol-disulfide levels in epileptic pediatric patients. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2019;22:65-8.
14. Uçaktürk SA, Alışık M, Uğur Ç, Elmaoğulları S, Mengen E, Erel Ö. Dynamic thiol/disulfide homeostasis in children and adolescents with non-autoimmune subclinical hypothyroidism. *Med Princ Pract.* 2018;27:44-8.
15. Zubarioglu T, Kiykim E, Cansever MS, Neselioglu S, Aktuglu-Zeybek C, Erel O. Evaluation of dynamic thiol/disulfide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in maple syrup urine disease patients under treatment. *Metab Brain Dis.* 2017;32:179-84.
16. Çakıcı EK, Eroğlu FK, Yazılıtaş F, Bülbül M, Gür G, Aydoğ Ö et al. Evaluation of the level of dynamic thiol/disulfide homeostasis in adolescent patients with newly diagnosed primary hypertension. *Pediatr Nephrol.* 2018;33:847-53.
17. Giden R, Gökdemir MT, Erel Ö, Büyükaslan H, Karabağ H. The relationship between serum Thiol levels and thiol/disulfide homeostasis with head trauma in children. *Clin Lab.* 2018;64:163-8.
18. Altinel Acoglu E, Erel O, Yazılıtaş F, Bulbul M, Oguz MM, Yucel H et al. Changes in thiol/disulfide homeostasis in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Int.* 2018;60:593-6.
19. Kurt ANC, Demir H, Aydın A, Erel Ö. Dynamic thiol/disulfide homeostasis in children with febrile seizure. *Seizure.* 2018;59:34-7.
20. Ayar G, Sahin S, Yazici MU, Neselioglu S, Erel O, Bayrakci US. Effects of hemodialysis on thiol-disulfide homeostasis in critically ill pediatric patients with acute kidney injury. *Biomed Res Int.* 2018; 2018.
21. Yazılıtaş F, Oztek-Celebi FZ, Erel Ö, Çakıcı EK, Alışık M, Bülbül M. Dynamic thiol/disulfide homeostasis in children with nephrotic syndrome. *Nephron.* 2019;142:17-25.
22. Kaman A, Aydın Teke T, Gayretli Aydın ZG, Karacan Küçükali G, Neşelioglu S, Erel Ö et al. Dynamic

- thiol/disulfide homeostasis and pathogenesis of Kawasaki disease. *Pediatr Int.* 2019;61:913–8.
23. Ayar G, Sahin S, Atmaca YM, Yazici MU, Neselioglu S, Erelc O. Thiol-disulfide homeostasis is an oxidative stress indicator in critically ill children with sepsis. *Arch Argent Pediatr.* 2019;117:143–8.
  24. Green R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood.* 2017;129:2603–11.
  25. Aşkar TK, Büyükleblebici O, Hismioğulları A, Hünkerler Z. Oxidative stress, hepcidin and nesfatin-I status in childhood iron and vitamin B12 deficiency anemias. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26:621–5.
  26. Huemer M, Baumgartner MR. The clinical presentation of cobalamin-related disorders: from acquired deficiencies to inborn errors of absorption and intracellular pathways. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42:686–705.
  27. Mukherjee AK, Manna SK, Roy SK, Chakraborty M, Das S, Naskar JP. Plasma-aminothiols status and inverse correlation of total homocysteine with B-vitamins in arsenic exposed population of west bengal, india. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2016;51:962–73.
  28. Vatner SF, Zhang J, Oydanich M, Berkman T, Naftalovich R, Vatner DE. Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. *Ageing Res Rev.* 2020;64:101194.
  29. Morimoto M, Hashimoto T, Tsuda Y, Kitaoka T, Kyotani S. Evaluation of oxidative stress and antioxidant capacity in healthy children. *J Chin Med Assoc.* 2019;82:651–4.
  30. Elmas B, Karacan M, Dervişoğlu P, Kösecik M, İşgüven ŞP, Bal C. Dynamic thiol/disulfide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in obese children and its relationship with inflammatory-cardiovascular markers. *Anatol J Cardiol.* 2017;18:361–9.
  31. Öktem A, Zenciroğlu A, Özyazıcı A, Bidev D, Özçelik E, Dilli D et al. Yenidoğan dönemi pnömoni vakalarında dinamik tiyol/disülfid dengesi. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi.* 2021;15:1–6.