



KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Dr.Mehmet TUNÇ

**“B12 VİTAMİN DÜZEYLERİNİN KLİNİK / ELEKTROFİZYOLOJİK
BULGULARININ, SERUM METİLMALONİK ASİT DÜZEYLERİ İLE
KORELASYONU VE SUBKLİNİK PERİFERİK SİNİR TUTULUMUNUN ORTAYA
ÇIKARILMASI”**

TEZ DANIŞMANLARI

PROF.DR.UFUK ERGÜN

DR.ÖĞR.ÜYESİ.BAHAR SAY

KIRIKKALE

2019

TUTANAKTIR

Fakültemiz Dahiliye Tıp Bilimleri Bölüm Nöroloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan Araştırma Görevlisi Dr. Mehmet TUNÇ'un " B12 vitamin düzeylerinin klinik / elektrofizyolojik bulgularının, serum metilmalonik asit düzeyleri ile korelasyonu ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılması " konulu tezi Tıp Ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. Maddesinin 4. Fıkrası " Jüri en geç bir ay içerisinde uzmanlık öğrencisinin tez savunmasını da alarak tezi inceler ve sonucunu yazılı ve gerekçeli olarak uzmanlık öğrencisi ile program yöneticisine bildirir." hükmü gereğince Araştırma Görevlisi Dr. Mehmet TUNÇ uzmanlık eğitimi tezinde başarılı olmuştur.

Tez Savunma Tarihi: 06.11.2019

ÜYE

Prof. Dr. Ufuk ERGÜN

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Hastanesi
Prof. Dr. Ufuk ERGÜN
Nöroloji Anabilim Dalı
Diy. Tesc. No: 45080

ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Bahar SAY

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi
Nöroloji Anabilim Dalı

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Hastanesi
Yrd. Doç. Dr. Bahar SAY
Nöroloji Anabilim Dalı
Diy. Tesc. No: 81930

ÜYE

Prof. Dr. Canan YÜCESAN

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji
Anabilim Dalı (Kurum Dışı Üye)

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Hastanesi
Prof. Dr. Canan YÜCESAN
Diy. Tesc. No: 81537
Nöroloji Uzmanı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince gerek bilimsel açıdan gerekse insani açıdan ilgi ve desteklerini esirgemeyen, bizlere huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Sayın Prof.Dr.Ufuk ERGÜN'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım klinik hocalarımdan Prof.Dr.Özlem COŞKUN'a, Dr.Öğr.Üyesi.Bahar SAY'a ve Dr.Öğr.Üyesi Murat ALPUA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürem içinde destek ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, bu tezin oluşmasında büyük rol oynayan, eğitimime olan katkılarını, insanlığını ve doktorluğunu hiç unutmayacağım, her zaman örnek alacağım tez danışmanım Sayın Prof.Dr.Ufuk ERGÜN'e sonsuz teşekkür ederim.

Rotasyonlarım sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm eğitimime katkıda bulunan tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve servis personeline teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bana olan desteği ve daimi sevgisi için sevgili eşim Muradiye Merve TUNÇ'a ve varlığı ile beni mutlu eden güzel aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Mehmet TUNÇ

Kırıkkale 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
TABLO DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. Vitamin B12	1
2.2. Vitamin B12 Eksikliğine Yol Açan Nedenler	2
2.3. Vitamin B12 Eksikliğinin Laboratuvar Bulguları	3
2.3.1. Holotranskobalamin Saptanması	4
2.3.2. Metilmalonik Asit (MMA)	4
2.3.3. Homosistein	4
2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Nörolojik Belirtileri	5
2.5. Nöropati	6
2.6. Vitamin B12 ve Nöropati	8
2.7. Periferik Sinir İletimlerinde Isı Değişikliğinin Etkisi / Soğuk Etkisi	9
3. AMAÇ	12
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER	12

4.1. Olgular	12
4.2. Elektrofizyolojik alışmalar	13
4.3. Metilmalonik asit (MMA)	16
4.4. İstatistiksel analiz	16
5. BULGULAR	17
5.1. Sinir İletim alışmalarının Analizi	18
5.1.1. Motor iletiler	18
5.1.1.1. Üst ekstremitte	18
5.1.1.2. Alt ekstremitte	19
5.1.2. Duyu iletileri	21
5.1.3. Soğuk etkisinin incelenmesi	23
5.1.4. MMA ve serum B12 vitamin ilişkisi	28
6. TARTIşMA	29
7. SONUÇ	35
8. KAYNAKLAR	36
9. EKLER	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

MMA:	Metilmalonik asit
Holo-TC:	Holotranskobalamin
GBS:	Guillan Barre sendromu
KİDP:	Kronik inflamatuvar demiyelinizan nöropati
HIV:	İnsan immün yetmezlik virüsü
MÜP:	Motor ünit potansiyeli
AP:	Aksiyon potansiyeli
BKAP:	Bileşik kas aksiyon potansiyeli
DSAP:	Duyusal sinir aksiyon potansiyeli
EMG:	Elektromiyografi
SS:	Standart sapma
ACh:	Asetilkolin

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Polinöropati yapan nedenlerin sınıflandırılması	7
Tablo 2. Soğuk etkisinin periferik sinir sistemi üzerine etkileri	10
Tablo 3. Sıcaklık değişimlerinin aksonal ve demiyelinizan tutulum üzerine etkileri	11
Tablo 4. Duyu iletim çalışmaları için standart kayıt elektrot yerleri, distal ve proksimal uyarı mesafeleri	14
Tablo 5. Motor iletim çalışmaları için standart kayıt elektrot yerleri, distal ve proksimal uyarı mesafeleri	15
Tablo 6. Grupların demografik verileri ve ortalama serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri	18
Tablo 7. Üst ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları	19
Tablo 8. Alt ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları	20
Tablo 9. Duyu iletim çalışmalarının sonuçları	22
Tablo 10. Tüm olgularda sural ve ulnar sinirlerin soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelenmesi	24
Tablo 11. Birinci grupta (G1) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelenmesi	25
Tablo 12. İkinci grupta (G2) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelenmesi	26
Tablo 13. Üçüncü grupta (G3) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelenmesi	27
Tablo 14. Serum MMA ve B12 vitamin düzeylerinin ilişkisi	28
Tablo 15. Serum MMA düzeyi ve B12 düzeyinin soğuk uygulama sonrası ileti hızları değişimi ile ilişkisi	28

ÖZET

Serum B12 düzeyinin normal sınırlarda olduğu durumlarda; MMA ve homosistein kombinasyonu ile fonksiyonel B12 vitamin eksikliğini kanıtlamak mümkündür. B12 vitamin eksikliğinde, periferik sinirlerin etkilenimi klinik veya subklinik olabilir. Çalışmamızda; soğukun periferik sinir iletimi üzerindeki etkilerinden faydalanarak, B12 vitamin düzeylerindeki sinir etkilenimlerini ortaya çıkarmayı ve serum MMA düzeyleri ile desteklemeyi amaçladık.

Serum B12 vitamin düzeylerine göre üç grup oluşturuldu. Serum B12 vitamin düzeyi < 126 pg/mL olan G1'de 13 olgu, 126-250 pg/mL olan G2'de 44 olgu ve 250-500 pg/mL olan G3'de 44 olgu olmak üzere toplam 101 olgu çalışmaya alındı.

Her üç grupta önce rutin sinir iletimleri (üst ekstremitede; sağ median - sol ulnar sinir motor ve duyu iletim çalışmaları, alt ekstremitede; sağ tibial - sol peroneal sinir motor iletim çalışmaları ve sol sural sinir duyu iletim çalışması) yapıldı.

Soğuk uygulama sonrası; sol ulnar sinir motor ve sol sural sinir duyu iletim çalışmaları tekrarlandı.

Soğuk öncesi ve sonrası elde edilen elektrofizyolojik bulguların, serum B12 düzeyleri ile korelasyonu araştırıldı. Ayrıca, serum MMA'nın B12 vitamini ve sinir iletimleri ile korelasyonu değerlendirildi.

Çalışma gruplarının tümünde; soğuk sonrası ulnar sinir motor distal latansında ve F dalga yanıtında uzama, distal segment motor iletim hızında yavaşlama izlendi. Bu bulgular soğukun fizyolojik etkileri olarak değerlendirildi. Yine tüm gruplarda soğuk sonrası sural sinir DSAP amplitüdlerinde artma ve duyu iletim hızlarında azalma izlendi. Ancak sural sinir duyu iletim hızındaki düşüş fizyolojik etkilerden fazlaydı, soğuk ile her üç grupta sural sinir iletim hızları patolojik değere ulaştı. Normalde tüm gruplarda yapılan elektrofizyolojik bulgular yaşa, boya ve cinsiyete göre normal sınırlarda olup polinöropati ile uyumlu değildi. Tüm olgularda soğuk sonrası elektrofizyolojik bulgular duysal lif nöropatisi ile uyumluydu. Sadece soğukun fizyolojik etkisinin yanı sıra B12 vitamin eksikliğinin de bu patolojik süreçte, aksonal ağırlıklı bir etkilenme ile rol aldığını düşünmekteyiz.

B12 vitamini normal referans aralığında olan ancak klinik bulgusu olmayan kişilerde de subklinik periferik sinir duyu lif tutulumunun olduğu kanaatindeyiz. Serum MMA ve B12 vitamin düzeyi arasında ise korelasyon bulamadık.



SUMMARY

It is possible to prove functional vitamin B12 deficiency by the combination of MMA and homocysteine in cases where serum B12 levels are within normal limits. The involvement of peripheral nerves in vitamin B12 deficiency may be clinical and subclinical. In this study, we aimed to reveal nerve involvement in vitamin B12 levels and to support it with serum MMA levels by utilizing the effects of cold application on peripheral nerve conduction.

Three groups were formed according to serum vitamin B12 levels. A total of 101 cases, 13 cases in G1 with serum vitamin B12 levels of < 126 pg / mL, 44 cases in G2 with serum vitamin B12 levels between 126-250 pg / mL and 44 cases in G3 with serum vitamin B12 levels between 250-500 pg / mL, were included in the study.

Routine nerve conduction studies (right median - left ulnar nerve motor and sensory conduction studies in the upper extremity; right tibial - left peroneal nerve motor conduction studies and left sural nerve sensory conduction study in the lower extremity) were performed in all three groups.

After cold application, left ulnar nerve motor and left sural nerve sensory conduction studies were repeated.

The correlation of electrophysiological findings obtained before and after cold application with serum B12 levels was investigated. In addition, the correlation of serum MMA with vitamin B12 and nerve conduction velocities was evaluated.

All of the study groups showed prolonged ulnar nerve motor distal latency and F wave response and a slowdown in distal segment motor conduction velocity after cold application. These findings were evaluated as physiological effects of cold application. Increase in sural nerve SNAP amplitudes and decrease in sensory conduction velocities were observed in all groups after cold application. However, the decrease in sural nerve sensory conduction velocity was more than physiological effects, and sural nerve conduction velocities reached pathological values in all three groups. Normally, electrophysiological findings in all groups were within normal limits according to age, height and sex and were not consistent with polyneuropathy. After cold application, electrophysiological findings were consistent with sensory fiber neuropathy in all cases. In addition to the physiological effect of cold

application alone, we think that vitamin B12 deficiency plays a role in this pathological process with an axonal predominant effect.

We believe that subclinical peripheral nerve sensory fiber involvement is also present in people with normal reference range of vitamin B12 but without clinical findings. We could not find any correlation between serum MMA and vitamin B12 levels.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

B12 vitamini, suda eriyen bir vitamin olup; hematopoez süreci, sinir sistemi fonksiyonlarının sürdürülmesi, gastrointestinal mukozanın intakt kalması ve B12'ye bağımlı diğer metabolik süreçlerin devamı için gereklidir. B12 vitamin eksikliği, hematolojik ve nörolojik/psikiyatrik bozukluklara ve gastrointestinal mukoza değişikliklerine yol açabilen ve sık görülen bir bozukluktur. B12 vitamin eksikliğinin hematolojik prezentasyonu tipik pernisiyöz anemi tablosudur. Ancak nörolojik bulgular, doğrudan B12 eksikliğini işaret edecek kadar spesifik olmayabilir. B12 vitamin eksikliğinde görülebilen nörolojik tablolar; nöropati, miyelopati, demans, nöropsikiyatrik bozukluklar ve optik nöropati gibi geniş bir yelpazede olabilir. Nörolojik semptom ve bulgular genelde hafiftir. Ancak hastaların % 30'unda ciddi sinir sistemi patolojileri görülebilir. Bazı hastalar asemptomatik olsalar bile kan tetkikleri, görüntüleme yöntemleri ve elektrofizyolojik çalışmalar ile B12 vitamin eksikliğine bağlı subklinik tutulum gösterilebilir. B12 vitamin eksikliğinde, asemptomatik periferik sinir tutulumu da olabilir.

Çalışmamızda; B12 vitamin düzeyleri 500 pg/mL ve altında olan asemptomatik gönüllü olgularda, periferik sinir iletimlerini incelemeyi, serum metilmalonik asit düzeyleri ile korelasyonunu ve farklı B12 vitamin serum seviyelerindeki olası subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vitamin B12

Vitamin B12 ilk kez 1948 yılında izole edildi ve pernisiyöz anemiye durduran vitamin olarak tanımlandı. Bu vitamin; hematopoez, sinir sistemi fonksiyonları, intakt gastrointestinal mukozanın korunması ve diğer metabolik reaksiyonların düzenlenmesinde hayati önem taşıyan, suda çözünebilir bir vitamindir. Başlıca kaynakları özellikle et ve yumurta olmak üzere hayvansal proteinlerdir (1). Yiyecekten alınan B12 vitamini proteine bağlıdır, midede asit ve pepsin ile proteinden ayrılır, tükürük ve gastrik sekresyonlardaki haptokorrine bağlanır. Haptokorrin- kobalamin kompleksindeki kobalamin pankreatik proteazlarla serbest hale gelir. Proksimal ileumda, mideden salgılanan intrinsik faktöre bağlanır. Kobalamin-intrinsik faktör kompleksi ileum mukoza hücreleri üzerinde bulunan CUBAM (cubilin + amnionless) reseptörlerine bağlanarak, hücre içine alınır. Portal dolaşıma salındığında transkobalamine bağlanır. Dokularda, çeşitli kimyasal reaksiyonlar için gereken

adenozilkobalamin ve metilkobalamine dönüştürülür (2). Bu vitamin eksikliğine birçok durum neden olabilir. Eksikliği; hematopoetik ve nöropsikiyatrik hastalıklara neden olabileceğinden özel bir klinik öneme sahiptir.

2.2. Vitamin B12 Eksikliğine Yol Açan Nedenler

B12 vitamin eksikliğinin nedenleri dört grupta sınıflandırılabilir (3):

- Diyet eksikliği
 - Risk grupları arasında; alkolikler, vejeteryanlar / veganlar ve yaşlılar bulunmaktadır.
- Malabsorpsiyon
 - İntrinsik faktör (IF) veya pariyetal hücrelerin olmaması nedeniyle (örneğin; pernisiyöz anemi, atrofik gastrit ve postgastrektomi sendromu durumlarında)
 - Gastrik asit yetersizliğinden dolayı B12 vitaminin emilim azlığına neden olan durumlar (örneğin; uzun süre proton pompası inhibitörleri ve H₂ antagonistlerinin kullanımı)
 - İlaç etkileşimleri (örneğin; antibiyotikler, antikonvülsanlar, kolşisin, metformin, N₂O neomisin, biguanitler)
- Bağırsak hastalıkları
 - Bağırsak rezeksiyonu, bağırsak kör lupları, Çölyak hastalığı, Crohn hastalığı, Zollinger-Ellinger sendromu, bağırsak baypass, Imerslund-Grasbeck sendromu
 - Bakteri üremesi (*helicobacter pylori*)
 - Parazit üremesi (*diphyllobothrium latum* infestasyonu)
- B12 vitaminin metabolik kalıtsal hastalıkları

2.3. Vitamin B12 Eksikliğinin Laboratuvar Bulguları

Klinik olarak B12 vitamin eksikliğini saptamada altın standart test yoktur. Eksikliğini gösterilmesi için öncelikle serum düzeyi bakılır.

Serum B12 vitamin düzeyi, bu vitamin tarafından siyanokobalaminin IF'ye bağlanmasına karşı rekabetçi inhibisyona dayanan yöntem ile ölçülür. Bu özellikle B12 vitamin düzeyi < 400 pg/mL olan kişilerde, özgüllüğü ve duyarlılığı olan düşük maliyetli bir testtir. Birçok hastalık (örneğin; folat eksikliği ve multipl miyelom) serum konsantrasyonlarını yanlışlıkla düşürebilir öte yandan; miyeloproliferatif hastalıklar, lösemiler, lenfomalar ve aktif karaciğer hastalıkları gibi bazı klinik durumlar hatalı normal serum değerleri verebilir ve gerçek eksikliğini gizleyebilir. Modern laboratuvar yöntemlerine göre normal serum seviyeleri 200-1000 pg/mL'dir. Serum düzeyi < 200 pg/mL olduğunda eksikliğin belgin bulguları vardır; ancak 450 pg/mL'nin altındaki düzeylerde fonksiyonel eksikliği de olabilir yani normal referans aralığında olan kişiler bu vitamin eksikliğini klinik bulgularını gösterebilir (4).

B12 vitamin eksikliği ile ilgili hematolojik veya nörolojik tabloya sahip hastaların % 99'u normalin alt sınırından (300 pg/mL) daha düşük serum düzeyi göstermektedir. B12 vitamin eksikliği olan hastaların yaklaşık % 5'i normal serum düzeylerine sahiptir ve gerçek eksikliği olan yetişkinlerin % 10'u düşük normal aralıktaki serum düzeylerine sahiptir (1).

Klinik uygulamada, normal serum seviyeleri B12 vitamin eksikliği tanısını desteklememektedir. Normal serum düzeylerine rağmen klinik semptomu olan hastalarda kesin eksikliğini gösteren laboratuvar bulguları; artmış serum metilmalonik asit (MMA) ve homosistein konsantrasyonlarıdır. B12 vitamin düzeyi < 300 pg/mL olan hastaları ortaya çıkarabilir (5). Bununla birlikte, böbrek yetmezliği ve yaş gibi nedenlere bağlı olarak serumda yüksek MMA ve homosistein düzeyleri tespit edilebilir ve bu durum da yanlış pozitifliğe neden olabilir. MMA ve/veya homosistein düzeyleri, böbrek yetmezliği veya artmış metabolitlerin diğer nedenleri bir arada bulunmadıkça, B12 vitamin replasmanı sonrası düzeltilebilir (6).

Bazı yazarlar; serum B12 vitamin düzeyi 350 pg/mL'nin üzerinde olmasını normal kabul etmektedir. Bu nedenle; serum düzeyi 350 pg/mL'nin altında olan hastalarda idrar veya kanda MMA düzeyinin değerlendirilmesini şiddetle önermektedir (7).

2.3.1. Holotranskobalamin Saptanması

Kanda, B12 vitamini esas olarak transkobalamin ve haptocorrin proteinlerine bağlanır, bu nedenle sadece transkobalamine bağlı küçük bir kısım (yaklaşık % 10-25) biyolojik olarak kullanılabilir ve aktiftir (8). Bu transkobalamin ve B12 vitamin kompleksine holotranskobalamin (Holo-TC) adı verilir ve bu vitamin eksikliğinde düzeyi azalır. B12 vitamin eksikliği için, düşük serum Holo-TC düzeyi en erken ve güvenilir belirteç olarak kabul edilir. Serum Holo-TC düzeyi < 35 pmol/L olması B12 vitamin eksikliğinin göstergesidir. Teorik olarak Holo-TC serum B12 vitamininden daha iyi belirteç olduğu düşünülmekle birlikte, plazmadaki kısa yarı ömrü (90 dakika) ve Holo-TC testinin zayıf özgüllüğü gibi durumlardan dolayı pratik anlamda yararlılığı kısıtlıdır (9).

2.3.2. Metilmalonik Asit

Metilmalonik Asit; süksinil KoA oluşturmak üzere B12 vitamini ile reaksiyona giren metabolik bir üründür. Vitamin B12 eksikliği, MMA seviyelerinin önemli ölçüde artmasına neden olur. Serum MMA için normal aralık 50–300 nmol/L'dir. B12 vitamin eksikliğinin erken evrelerinde de teşhisi doğrulayabilen oldukça hassas bir testtir ve aynı zamanda tedavi sonrası takiplerde uygun bir belirteçtir. Normal serum B12 vitamin düzeylerine rağmen, klinik nörolojik ve/veya hematolojik bozukluklar ortaya çıktığında fonksiyonel B12 vitamin eksikliğinin tespit edilmesinde önemlidir. Düzeyi kanda ve idrarda ölçülebilir. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda MMA düzeyi yüksek tespit edilebilir, bu nedenle kreatinin ve üre ile birlikte değerlendirilmesi de önerilir (10, 11, 12).

2.3.3. Homosistein

B12 vitamin eksikliğinin bir başka fonksiyonel parametresi de homosisteindir. Bu potansiyel toksik aminoasit, B12 vitamini gerektiren esansiyel aminoasit olan metiyoninin demetilasyonu sonucu oluşur. B12 vitamin eksikliğinde kanda seviyesi artar. Serum homosistein düzeyi > 10 µmol/L olması kesin olmamakla birlikte B12 vitamin eksikliğini gösterir. Homosistein düzeyi spesifik belirteç değildir, çünkü B6 vitamini ve folik asit eksikliği de seviyesini yükseltebilir. Metilmalonik asit ve homosisteinin birlikte saptanması özellikle tanısal olarak açıklanamayan B12 vitamin eksikliği durumlarında önerilmektedir. Eğer bu metabolitlerin seviyeleri normal sınırlardaysa, B12 vitamini eksikliği % 100 kesinliğe yakın dışlanır (13).

2.4. Vitamin B12 Eksikliğinin Nörolojik Belirtileri

B12 vitamininin nöroloji için önemi rol aldığı enzimatik reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Kolin sentezinde rol alan bir kofaktördür ve miyelin kılıfı için önemli maddeler olan metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşmesinde rol oynar. Eksikliğinde kobalamin bağımlı olan metilkobalamin esteraz enziminin aktivitesindeki azalmaya bağılı olarak artan metilmalonik asit, normal miyelin sentezini azaltmakta ve anormal yağ asitleri nöronal lipitlere katılmaktadır (14). Histopatolojik olarak; öncelikle miyelin kılıflarında şişme, miyelin içi vakuol oluşumu ve miyelin lamellerinde ayrılmalar ortaya çıkar. Patolojik süreç devam ederse miyelin dejenerasyonunu gliozis ve akson hasarı izler (15, 16).

Nörolojik bozukluklar, en erken ve bazı durumlarda ise ilk klinik belirtiler olabilir. İnsidans verileri değişkendir. IOM'a göre (Tıp Enstitüsü, Washington, DC, ABD) klinik olarak ilgili B12 vitamin eksikliği olan kişilerin % 75-90'ı nörolojik bozukluklara sahiptir ve vakaların yaklaşık % 25'inde bunlar B12 vitamin eksikliğinin tek klinik belirtileridir (17).

Nörolojik bozukluklar hematolojik değişikliklerle birlikte veya bunlardan bağımsız olarak ortaya çıkabilir. Kesinleşmiş B12 vitamin eksikliği ve nörolojik tutulumu olan hastaların yaklaşık dörtte birinde hematolojik patoloji saptanmayabilir. İlginçtir ki, hematolojik ve nörolojik hastalıkların şiddeti arasında ters bir korelasyon vardır. Nörolojik bozukluklar ne kadar şiddetli olursa, hematolojik değişiklikler o kadar az anlamlıdır ve bunun tersi de geçerlidir. Bunun nedenleri bilinmemektedir (18).

B12 vitamin eksikliği ile ilişkili nörolojik sendromlar arasında miyelopati, nöropati, nöropsikiyatrik anormallikler ve daha az sıklıkla optik sinir atrofisi bulunmaktadır. Spinal kord tutulumu nörolojik komplikasyonların % 10'unu oluşturur. Subakut kombine dejenerasyonu; medulla spinaliste özellikle servikal ve üst torakal bölgenin posterolateral bölgelerini tutan, klinik olarak simetrik dizestezi, pozisyon ve vibrasyon duyu kaybının eşlik ettiği, tedavi edilmezse spastik paraparezi veya tetraparezi ile sonuçlanan önemli bir miyelopatidir (19, 20).

B12 vitamin eksikliği olan hastaların %25'inde periferik nöropati görülebilmektedir (18). B12 vitamin eksikliği ile ilişkili periferik nöropati semptomları genellikle simetrik parestezi şeklinde olup bacaklarda kollardan daha belirgindir. B12 vitamin eksikliğinde görülen nöropati; % 76'sı aksonal % 24'ü ise demiyelinizan tip özellikler gösterir. Bazı hastalar asemptomatik olsalar bile elektrofizyolojik testler ile subklinik tutulum gösterilebilir. 40

hastalık bir çalışmada, hastaların % 10'unda (N:4), B12 vitamin düzeyi normalin alt sınırında iken, sinir iletilerinin etkilendiği gösterilmiştir (21).

B12 vitamin eksikliğine bağlı optik nöropati görülebilmektedir. Optik sinirdeki lezyonlar, derin anemisi olan yetişkinlerin postmortem incelemelerinde gösterilmiştir. Görme semptomları olmayan derin anemisi olan hastalarda anormal görsel olarak uyarılmış yanıtlar bildirilmiştir, bu da görsel yolda subklinik hasar olabileceğini düşündürmektedir. Optik sinir hastalığı simetrik, ağrısız ve progresif görme kaybı ile karakterizedir. Santral ve merkez içi skotomlar ana oftalmolojik bulgulardır. Tedavinin ilk üç ayında klinik yanıt görülebilir (22).

B12 vitamini ve folik asit tetrahidrobiyopterin (BH4) sentezini uyardığından, eksikliği monoamin nörotransmitter üretimindeki bozukluklar dahil olmak üzere çoklu yollarla nöropsikiyatrik semptomlara neden olabilmektedir. Serumda artan homosistein ve MMA metabolitleri monoamin sentezi üzerine toksik etki yapar ve hatalı miyelin üretimine neden olur (23). B12 vitamini antidepresan özelliklere sahip olduğu bilinen SAM'ın sentezi için de gereklidir (24). Bu nedenle eksikliği, hematolojik belirtiler olmadan da nöropsikiyatrik sendromlarla ortaya çıkabilir. Psikiyatrik hastalıklar arasında; duyu durum bozuklukları (hem depresyon hem de mani), kronik yorgunluk sendromu ve psikoz dikkat çekicidir (25).

B12 vitamin eksikliği, elektroensefalografi anormallikleriyle birlikte dikkat eksikliği, akut mental ve bilişsel değişiklikler ile de ilişkilendirilmiştir (26).

2.5. Nöropati

Polinöropati, periferik sinirlerin aynı nedene ve fizyopatolojik süreçlere bağlı olarak hep birlikte, yaygın şekilde hastalanması ile ortaya çıkan bir klinik tablodur. Hastalık süreçleri ön planda hücre gövdesini etkiliyorsa bir nöronopati, başlıca akson hasarına neden oluyorsa bir aksonopati ve sinir liflerinin miyelin kılıfı primer olarak hasara uğruyorsa bir miyelinopati söz konusudur.

Primer aksonal hasarla seyreden polinöropatiler geniş bir liste oluşturur. Toksik, metabolik ya da nutrisyonel yetersizliğe bağlı polinöropatiler genellikle bu grupta yer alırlar.

En sık rastlanan tanı grupları herediter, inflamatuvar demiyelinizan ve diğer hastalıklara bağlı polinöropatilerdir (diyabet ve diğer metabolik hastalıklar, kobalamin eksikliği gibi nutrisyonel yetmezlikler, toksinler ve kanser). Tablo 1'de polinöropati yapan nedenler özetlenmiştir.

Tablo 1. Polinöropati yapan nedenlerin sınıflandırılması (27)

Metabolik	<ul style="list-style-type: none">• Diyabetes Mellitus• Üremi• Karaciğer hastalıkları• Diğer endokrinopatiler• Vitamin yetersizlikleri (B12 vitamin)
Otoimmün	<ul style="list-style-type: none">• Guillan Barre sendromu (GBS)• Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati (KİDP)• Vaskülit• Monoklonal antikorlarla ilgili nöropati• Pleksopatiler (servikal ve lumbosakral)• Multifokal motor nöropati
Enfeksiyon	<ul style="list-style-type: none">• Herpes zoster• Lepra, Lyme, HIV ve sarkoidoz
Kanser ilişkili	<ul style="list-style-type: none">• Lenfoma ve miyeloma• Ailesel amiloidoz• Paraneoplastik tutulum
İlaçlar veya toksinler	<ul style="list-style-type: none">• Kemoterapi ve radyoterapi maruziyeti• Kurşun ve civa zehirlenmeleri
Mekanik/Kompresif	<ul style="list-style-type: none">• Radikülopati• Mononöropati (Tuzak nöropatiler)
Hereditör	<ul style="list-style-type: none">• Hereditör motor-duyusal nöropati (Charcot-Marie Tooth hastalığı)• Hereditör basınca duyarlı nöropati• Ailesel brakial pleksopati• Ailesel amiloidoz• Porfiri• Diğer nadir polinöropatiler (Fabry hastalığı,

metakromatik lökodistrofi, adrenolökodistrofi, Refsum hastalığı vb.)

İdiopatik

- Kriptojenik duyuşal ve duyuşal-motor nöropati
 - Amyotrofik lateral skleroz
-

2.6. Vitamin B12 ve Nöropati

B12 vitamini ve folik asit, Schwann hücrelerinde akson ve miyelin yapımında önemli rol oynar. Eksikliğinde nöronal hasara bağılı periferik nöropati gelişir. B12 vitamini folik asitten faydalanmayı artırabilen ve sonuç olarak homosistein metabolizmasını kolaylaştıran temel vitaminlerden biridir. Vitamin B12 ve folik asit eksikliği, homosistein metabolizmasının bozulmasını yol açar, Schwann hücrelerinde akson ve miyelin yapımını inhibe eder, sonuç olarak nöronal hasara ve periferik nöropatiye neden olur (28).

Periferik nöropati, B12 vitamin eksikliği olan hastaların % 25'inde görülebilir ve eşlik eden megaloblastik anemili hastalarda insidansı % 40'a kadar çıkabilir. Eksikliğinde görülen periferik nöropatinin % 76'sı aksonal, % 24'ü demiyelinizan ağırlıklı özellikler gösterir. B12 vitamin eksikliğindeki elektrodagnostik çalışmalar; demiyelinizan tip periferik polinöropati (iletim hızının yavaşlaması, uzamış distal latans ve minimum F dalga gecikmesi, iletim bloğı), aksonal tip periferik polinöropati (iletim hızlarında ılımlı yavaşlama, bileşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) ve duyuşal sinir aksiyon potansiyeli (DSAP) amplitüdlerinde düşme) ve normal çalışmaya kadar uzanan sonuçlar ortaya koymuştur (18, 21).

B12 vitamin eksikliği ile ilgili periferik nöropatinin iyileşme oranları % 10 ile % 87 arasında değişmektedir. Ancak, iyileşme tutarsızdır ve süresi birkaç yıla kadar uzayabilir. Merkezi sinir sistemindeki yeniden miyelinizasyon, bu hastaların bazılarında hızlı iyileşmeyi nispeten açıklayabilir. Bununla birlikte yaş da dahil olmak üzere birçok faktör iyileşmeyi etkileyebilir (5, 29, 30).

B12 vitamini eksikliğinde ortaya çıkan nöropati; simetrik olup bacaklarda kollardan daha belirgindir. Çoğı durumda sensorimotor periferik polinöropati olarak karşımıza çıkar, ancak kranyal mononöropatiler (optik veya koku alma), otonom nöropatiler (erektil disfonksiyon, idrar retansiyonu, ortostatik hipotansiyon, ortostatik taşikardi ve bradikardi sendromları, gastroparezi, aşırı terleme vb.) ve kombine formlar (miyelopati ve nöropati) da mümkündür.

Hastalar başlangıçta önce ayaklarda ve bazen de ellerde bir parestezi fark eder, bu da hastalık sürecinde ekstremitelere yayılır. Duyusal bozuklukları motor bozukluklar (kas güçsüzlüğü, felç belirtileri ve motor koordinasyon bozuklukları) izler. Motor ve duyu sinir iletim hızları azalır. Tedavi edilmeyen vakalar paraplejiye kadar ilerleyebilir (17, 22, 31).

2.7. Periferik Sinir İletimlerine Isı Değişikliğinin Etkisi / Soğuk Etkisi

Cilt ısısının azaltılmasının duyu ve motor sinir iletimini etkilemektedir. Sinir iletim hızı üzerine belki de en etkili etmenlerin başında beden ve çevre ısısındaki değişimler gelir. EMG’de en önemli yanlış tanı nedenlerinden birisi, ekstremitayı soğuk iken incelemek ve ısı değişimlerine aldırış etmeksizin değerlendirme yapmaktır. Bir EMG laboratuvarında oda ısısı normal olmasına rağmen, ekstremita ısısı 29°C hatta 26 °C olabilir. Ekstremitayı ısıtıktan sonra EMG yapılması bazı yanlışları önler. Çok uzun bir süredir sinir ve kas fizyolojisi üzerine ısının etkisi deneysel nörofizyoloji çalışmalarından bilinmektedir. Gerçekten deney hayvanında beden ısısının ve incelenen sinir civarındaki ısının düşürülmesi sonucu; tek sinir liflerinde membran yüzeyinde sodyum ve potasyum kanallarının geçirgenliği değişmekte ve bunların sonucunda da önce sinir iletimi ve senkronizasyon bozulmaktadır. Sinir iletim hızı yavaşlaması da kas ve sinir aksiyon potansiyellerini etkilemekte ve motor son plak işlevi bozulmaktadır. Tek bir sinir aksonunda depolarizasyonun Na^+ iyonlarının birden akson içine akması ile gerçekleşir. Aksondaki bu Na^+ akışı voltaja bağımlı kanalların açılması ile meydana gelir. Na^+ iyonlarının ilk hızlı akışından sonra Na^+ kanalları kapanır ve K^+ kanalları açılır. Bu açılma daha az sayıda K^+ iyonunun akson dışına akışına izin verir. Bu da akson membranının polarizasyonunu istirahat düzeyine çeker. Memelilerde aksonlarda K^+ iyonlarının dışarı akışının sinirin repolarize olmasındaki önemi azdır. Tekrarlayan depolarizasyonlarda potansiyel gradyanlarının giderek azalmaması için ATP az ile Na^+ /K^+ pompası, Na^+ dışarıda, K^+ ’u içerde tutmaya çalışarak, istirahat membran potansiyelinin dengede kalmasını sağlarlar. Isı değişimlerinden en fazla etkilenen parametre sinir lifi aksiyon potansiyelinin konfigürasyonudur. Isının azalması ile (soğuma veya soğutma) Na^+ kanallarının açılıp kapanması yavaşlar. Kapanma açılmaya göre daha da yavaştır. Bu fenomenin birden çok etkileri olur. Depolarizasyonun yavaşlaması, o akson için sinir iletim hızını yavaşlatır. Depolarizasyon ve repolarizasyonun yavaşlaması kanal açılma süresini uzatır, bu da aksiyon potansiyeli süresinde uzamaya neden olur. Kanal açıklığının uzaması bu sırada daha fazla sayıda Na^+ iyonunun hücre içine girmesine ve daha uzun bir depolarizasyona yol açar, bu da yanıtın amplitüdünü artırır. Isının artışı ile de aksiyon potansiyelinin konfigürasyonunda değişiklik olur ancak soğuk kadar belirgin değildir. Ayrıca

iletim hızı artar, süresi ve amplitüdü azalır. Genel olarak bakıldığında ise ısı değişimleri duyusal parametreleri motor parametrelere göre daha belirgin etkilemektedir (32, 33, 34, 35, 36, 37).

Sağlıklı insanda soğuk etkisinin periferik sinir sistemi üzerine etkileri Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Soğuk etkisinin periferik sinir sistemi üzerine etkileri (38).

Temel parametreler	
Dinlenme zarı potansiyeli	Hafif
Na ⁺ / K ⁺ pompa aktivitesi	↓
Nöronal depolarizasyon oranı	↓
Toplam içe doğru Na ⁺ akışı	↑
Toplam dışa doğru K ⁺ akışı	↑
Refrakter dönemi	↑
Ca ⁺⁺ sinir terminalinde yarı ömrü	↑
MÜP amplitüdü	↑
Tek uyaranla ACh salınımı	↓
Sinir iletim çalışmaları	
Duyusal genlik	↑
Motor genlik	↑
Süre, müddet	↑
İletim hızı	↓

Sıcaklık değişimlerinin hastalık halinde periferik sinir sistemi üzerine etkileri Tablo 3’de özetlenmiştir.

Tablo 3. Sıcaklık değişimlerinin aksonal ve demiyelinizan tutulum üzerine etkileri (38).

Hastalık tipi ve patogenezi	Sıcaklığın etkisi
Aksonal dejenerasyon	
1.M yanıtı amplitüdü	Duyarlık artar
2.Fibrilasyon potansiyellerinin yoğunluğu	Azalı
3.Fasikülasyon potansiyel amplitüdü	Artar
4.Fasikülasyon potansiyel frekansı	Azalı
5.MÜP amplitüdü	Yetersiz veri
Demiyelinizan	
1.İletim hızı	Sıcaklığın azaltılmış etkisi
2.İletim bloku	Isıtma ile artar

3. AMAÇ

Çalışmamızda; serum B12 vitamin düzeylerinin elektrofizyolojik bulgularının, kan MMA düzeyleri ile korele olup olmadığını araştırmayı ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılmasını amaçladık.

Bilinen hastalığı olmayıp B12 vitamin laboratuvar referans aralığında ve bunun altında olan olgularda (500 pg/mL ve altında) sinir iletim değerlerini araştırmayı elektrofizyolojik olarak olası subklinik nöropatiyi araştırarak, kan metilmalonik asit ve B12 vitamin düzeyi ile ilgili ilişkiyi ortaya koymayı hedefledik.

Çalışmamızda, ayrıca olası subklinik nöropatiyi ortaya çıkarmak için sinir iletim çalışmalarında ısı değişikliği kullanıldı. Ulnar sinir için el bileği ve sural sinir için ayak dorsumuna kısa süreli buz aküsü uygulanmasıyla soğutma işlemi yapıldı.

B12 vitamin düzeylerine göre oluşturulan gruplarda, serum metilmalonik asit düzeyleri de bakıldı. Sinir iletim değerleri, soğuk sonrası iletimleri ile serum metilmalonik asit ve B12 vitamin düzeyleri arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı.

4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

4.1. Olgular

Bu çalışmaya B12 vitamin düzeyi bilinen gönüllü olgular seçildi. Olgular B12 vitamin düzeylerine göre üç gruba ayrıldı. G1: B12 vitamini < 126 pg/mL, G2: 126-250 pg/mL ve G3: 250-500 pg/mL olarak belirlendi (Hastanemizin Biyokimya laboratuvarında B12 vitamininin referans aralığı 126-500 pg/mL'dir). Çalışmaya G1'e 13 G2'ye 44 ve G3'e 44 olmak üzere toplam 101 olgu alındı.

Çalışmaya 18 yaş üstü ve 55 yaş altı hastalar alındı. Bu hastalardan, sinir ileti çalışmalarını etkileyebilecek ayrıntılı anamnez ve nörolojik muayene ile belirlediğimiz hastalık veya özelliklerin bulunması (pleksopati ve radikülopati gibi), bilinen diyabet, akut-kronik böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği ve tiroit hastalıkları gibi polinöropatiye neden olabilecek kronik hastalıklar, malignite öyküsü, daha önce kemoterapi ve radyoterapi kullanımı, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus ve sjögren gibi hastalık seyrinde polinöropati gelişebilecek kronik romatizmal hastalıkları ve elektrolit bozukluğu olan olgular, sinir iletim çalışmalarında; ölçüm uygulanan ekstremitelerinde sinir iletim hızını etkileyebilecek herhangi

bir sinir tuzaklanmasını ve atrofiyi destekleyen verilerin olması ile kronik alkol ve madde kullanımını olanlar dahil edilmedi.

4.2. Elektrofizyolojik çalışmalar

Tüm olgularda sinir iletim çalışmaları Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Nörofizyoloji Laboratuvarında oda sıcaklığında (25 °C) aynı klinisyen tarafından Medelec Synergy elektromiyelografi cihazında gerçekleştirildi.

Elektrofizyolojik çalışmada; ekstremiteler ve oda ısısına dikkat edildi. Ekstremiteleri soğuk olan hastalar ısıtma cihazı yardımıyla ısıtma işlemi yapıldıktan sonra sinir iletim çalışmalarına başlandı. İnceleme öncesinde cilt ve elektrot keçelerinin temizliği yapıldı ve deri rezistansı en aza indirilmeye çalışıldı.

Motor sinir iletim çalışmasında; cihaz teknik olarak 10 Hz – 5 kHz filtreleme ve 5 ms/div süpürme zamanı, uyarı zamanı 0,2 ms ve uyarı frekansı 1/s olarak ayarlandı. Duyu sinir iletim çalışmasında; cihaz teknik olarak filtre aralığı 20 Hz – 2 kHz, süpürme zamanı 1 ms/div, uyarı zamanı 0,2 ms ve uyarı frekansı 1/s olarak ayarlandı.

Hastalarda önce, üst ekstremitelerde; sağ median - sol ulnar sinirlerin motor ve duyu iletim çalışmaları, alt ekstremitelerde; sağ tibial - sol peroneal sinirlerin motor iletim çalışmaları ve sol sural sinir duyu iletim çalışması yapıldı. Soğuk sonrası sol ulnar sinir motor ve sol sural sinir duyu iletim çalışmaları tekrarlandı.

Motor iletim çalışmalarında; motor distal latansı, motor iletim hızı, BKAP amplitüdü ve F dalga latansı ölçümleri yapıldı. Duyu iletim çalışmalarında ise; DSAP amplitüdü ve duyu iletim hızı ölçümleri yapıldı. Duyu sinir iletim çalışmalarında ortodromik yöntem kullanıldı, 8-10 yanıtın averajı alındı.

Median sinir duyu iletim çalışmasında digit II ve palmar sinir ayrı ayrı çalışıldı ancak istatistiksel analiz için veri tabanında sadece palmar duyu değerlendirildi.

Amplitüd ölçümleri temel çizgiden negatif tepeye doğru, duyu ve motor distal latans ölçümleri temel çizgiden ilk negatif çıkışa geçen süre ölçülerek hesaplandı. Yüzeysel elektrot kullanılarak yapılan kayıtlar, dalga amplitüdünün daha fazla artış göstermediği

supramaksimal uyarım ile gerçekleştirildi ve toprak elektrotu kullanıldı. Supramaksimal uyarım için bipolar yüzeysel elektrot ile 300 mV ve 0.1 ms sürelik uyarım kullanıldı.

Çalışma öncesi her bir sinir için standart kayıt elektrot yerleri, distal ve proksimal uyarı mesafeleri belirlendi (Tablo 4 ve 5). Soğuk uygulama; ulnar ve sural sinir trasesi üzerine -18 °C 'de dondurulmuş buz aküleri, sinir trasesini tamamen saracak şekilde cilt üzerine konulması ile yapıldı. EMG cihazının yüzeysel ısı ölçeri kullanılarak hastaların cilt ısılarının 25 °C altına düştüğü teyit edildi. Yeterli sıcaklık düşüklüğüne ulaşılamayan olgularda soğuk uygulama süresi uzatıldı.

Soğuk sonrası ilk uyarıda işaretlenen elektrot ve uyarı noktaları değiştirilmeden iletim çalışmaları tekrarlandı. Soğuk sonrası ulnar sinir motor iletim hızı, BKAP amplitüdü, motor distal latans ve F dalga latansı ve sol sural sinirde DSAP amplitüdü ve duyu iletim hızları kaydedildi.

Tablo 4. Duyu iletim çalışmaları için standart kayıt elektrot yerleri, distal ve proksimal uyarı mesafeleri (39).

Çalışılan sinir	Kayıt elektrotu	Uyarı yeri
Median sinir	El bileğinde orta hattında iki tendon arasından	2.parmak interfalengeal eklem aralığı (digit II) ve avuç içi (palmar)
Ulnar sinir	Bilekte ulnar yandaki fleksör carpi ulnaris tendonunun radial yarısı	5. parmak interfalangial eklem aralığı
Sural sinir	Kayıt elektrotu; gastrokinemius kasının enlemesine genişliğinin ortasından çizilen çizginin hemen laterali	Lateral malleolun inferioru

Tablo 5. Motor iletim çalışmaları için standart kayıt elektrot yerleri, distal ve proksimal uyarı mesafeleri (39).

Çalışılan sinir	Kayıt elektrotu	Uyarı yeri
Median sinir	Abduktor pollicis brevis kasının göbeği	El bileğinde orta hattında iki tendon arasından aktif elektrotun 5.5-6.5 cm proksimalinden, dirsekte brakial arter nabzının ulnar yarısından
Ulnar sinir	Abduktor digiti minimi kasının orta kısmı	El bileğinde kayıt elektrotunun 4-5 cm proksimalinden, Fleksör karpi ulnaris kası tendonun radial tarafından, dirsekte ulnar oluğun 4 cm altından ve dirsel proksimalinde ulnar oluğun 5-6 cm yukarısında
Peroneal sinir	Ekstensör digitorum brevis kası	Ayak bileğinde akti elektrotun 5.5-6 cm proksimali medial ve latera malleoller arasının ortası dizde fibula başının hemen al n
Tibial sinir	Abduktör hallusis kası	Ayak bileğinde aktif kayıt elektrotunun 11-12 cm proksimalinden medial malleolun hemen arkası, Popliteal fossada diz kivrımı orta noktasının hemen mediali

4.3. Metilmalonik asit (MMA)

Tüm olgulardan B12 vitamin metaboliti olan metilmalonik asit için sağ kol antekubital bölgeden yaklaşık 5 cc venöz kan alınıp sarı tüplerde muhafaza edildi. Hastalardan alınan kan örnekleri 30 dk bekletildikten sonra 2000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, sonrasında örnekler çalışılacağı güne kadar – 80 °C'de saklandı.

MMA (Metilmalonik Asit) testi Andy gene (Andy Gene Biotechnology Co. LTD) marka (Seri No: AD20022Hu) kit ile mikroELİSA yöntemiyle çalışıldı. Bütün örnekler aynı anda çalışıldı. Reaktifin ölçüm aralığı 0,5 – 40 pg/mL idi. Örnekler sample dilüent ile 5 kat dilüsyon yapılarak çalışıldı. 200 pg/mL'nin üzerindeki örnekler 10 kat dilüsyonla çalışıldı. Reaktifin sensitivitesi 0,1 pg/mL idi.

Çalışma Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (15 / 01 - 01.10.2018). Bütün hastalardan gönüllü onam formu alındı.

4.4. İstatistiksel analiz

Araştırma verisi SPSS 22.0 istatistik paket programı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama (\pm) standart sapma, ortanca (min-maks), frekans dağılımı ve yüzde olarak sunulmuştur. Kategorik değişkenler için gruplar arasında sıklık bakımından fark olup olmadığı Ki-Kare testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren ölçüm verileri: sağ median sinir BKAP amplitüd distal, sağ median sinir motor iletim hızı distal, sağ tibial sinir motor distal latans, sağ tibial sinir F dalga latans, sağ tibial sinir motor iletim hızı distal, sol peroneal sinir motor distal latans, sol peroneal sinir BKAP amplitüd distal, sol peroneal sinir BKAP amplitüd proksimal, sol peroneal sinir motor iletim hızı distali, sol sural sinir DSAP amplitüdü, soğuk sonrası sol sural sinir DSAP amplitüdü, sol ulnar sinir BKAP amplitüd proksimal ve soğuk sonrası sol ulnar sinir BKAP amplitüd proksimal olarak tespit edilmiştir. B12 vitamin düzeylerine göre olgular 3 gruba ayrılmıştır. Normal dağılım gösterdiği belirlenen sayısal değişkenler gruplar arasında One way ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılığın olması durumunda farkın hangi iki arasındaki farktan kaynaklandığı Post hoc testleri (Bonferroni testi) ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler ise Kruskal Wallis testi değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılığın olması durumunda farkın

hangi iki arasındaki farktan kaynaklandığı Bonferroni düzeltilmiş Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir). Soğuk uygulama öncesi ve sonrası arasındaki ileti değişimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı ise normal dağılım gösteren veriler için Paired T test ile normal dağılım göstermeyen veriler için Wilcoxon Signed Ranks Test ile değerlendirilmiştir. B12 vitamin ve MMA düzeyi arasındaki ilişki spearman korelasyon testi ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın İstatistiksel anlamlılık değeri $p \leq 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

Bu çalışmaya yaş ortalaması $30,8 \pm 10,24$ olan 18-55 yaş arası 63 kadın 38 erkek toplam 101 olgu dahil edilmiştir. Olgular B12 vitamin düzeyine göre 3 grupta değerlendirilmiştir ve grupların B12 vitamin düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Çalışmamızda üç grubun yaşları benzer bulunmuştur ($p > 0,197$). Cinsiyete göre grupların dağılımının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ($p = 0,001$) G2 ve G3'teki hastalar daha çok kadın iken G1'deki dağılımın erkek hastalar lehine daha fazla olduğu saptanmıştır. MMA düzeyleri B12 vitamin grupları arasında değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0,952$). Çalışmada yer alan katılımcıların gruplara göre demografik verileri ve ortalama serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. Grupların demografik verileri ve ortalama serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri

Veri (n)	Total (n:101)	G1 (n:13)	G2 (n:44)	G3 (n:44)	p (G1 vs G2 vs G3)
Yaş (Yıl)					0,197 ¹
ort. ± SS	30,80 ± 10,24	32,69 ± 14,38	28,72 ± 9,27	32,31 ± 9,62	
ortanca (min-maks)	29 (18-55)	24 (19-55)	26 (18-49)	30,5 (19-53)	
Cinsiyet, n (%)					0,001²
Kadın	63 (62)	2 (15)	29 (66)	32 (73)	G1 vs G2:0,004*
Erkek	38 (38)	11 (85)	15 (34)	12 (27)	G1 vs G3:0,001 G2 vs G3:0,644
B12 vit (pg/mL)					<0,001¹
ort. ± SS	246,98 ± 96,34	104,91 ± 12,26	200,22 ± 37,94	335,71 ± 60,90	G1 vs G2:<0,001**
ortanca (min-maks)	241,8 (75,93-483,8)	105,9 (75,93-120)	198,85 (131,9-295,1)	327,95 (254,7-483,8)	G1 vs G3:<0,001 G2 vs G3:<0,001
MMA (pg/mL)					0,952 ¹
ort. ± SS	94,19 ± 133,46	148,84 ± 230,4	88,79 ± 103,4	84,68 ± 125,6	
ortanca (min-maks)	61,52 (3,01-795,19)	39,73 (3,15 – 795,19)	63,88 (13,20 – 495,01)	61,52 (3,01 – 637,69)	

¹Kruskal Wallis Testi (**Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U testi)

²Ki-Kare Testi (* Bonferroni Düzeltmeli Ki-Kare testi)

5.1. Sinir İletim Çalışmalarının Analizi

5.1.1. Motor iletiler

Motor ileti çalışmalarında tüm gruplardan elde edilen veriler yaşa, boya ve cinsiyete göre normal aralıktaydı.

5.1.1.1. Üst Ekstremité

Median sinir iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında farklılık sadece BKAP amplitüd distal için bulundu (p=0,037). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; bu farklılık G2 ve G3 arasından kaynaklanmaktadır (p=0,032) ve BKAP amplitüd distal için G3’de (11,26 ± 2,93) en düşüktü.

Ulnar sinir iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında farklılık sadece F dalga latansı için bulundu (p=0,004). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; farklılığı oluşturan G1’di. G1 ve G2, G1 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0,013, p=0,001) ve G1’in ortalama F dalga latansının en uzun grup olduğu tespit edildi.

Üst ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Üst ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları

	Total (n:101)	G1 (n:13)	G2 (n:44)	G3 (n:44)	P (G1 vs G2 vs G3)
Sağ median sinir					
Motor distal latans (ms)					0,582 ¹
ort. ± SS	3,09 ± 0,47	3,07 ± 0,36	3,03 ± 0,43	3,15 ± 0,54	
ortanca (min-maks)	3,07 (2,34-5,16)	2,97 (2,4-3,5)	3,02 (2,3-4,58)	3,10 (2,4-5,16)	
BKAP amplitüd distal (µV)					0,037²
ort. ± SS	11,99 ± 2,64	12,06 ± 1,73	12,7 ± 2,39	11,26 ± 2,93	G1 vs G2:1,000*
ortanca (min-maks)	11,6 (3,6-18,7)	12,4 (9,6-15,8)	12,4 (8,2-17,6)	11,35 (3,6-18,7)	G1 vs G3:0,980
					G2 vs G3: 0,032
F dalga latansı (ms)					0,104 ¹
ort. ± SS	25,86 ± 1,58	26,57 ± 1,45	25,71 ± 1,76	25,81 ± 1,39	
ortanca (min-maks)	25,36 (21,9-32,1)	26,09 (25-29,3)	25,33 (21,9-32,1)	25,27 (23,7-28,96)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)					0,575 ²
ort. ± SS	59,35 ± 4,13	58,52 ± 3,48	59,79 ± 4,65	59,16 ± 3,78	
ortanca (min-maks)	59,8 (49-69,4)	57,90 (53,9-65,1)	60,65 (49-69,4)	59,25 (50,6-66,5)	
Sol ulnar sinir					
Motor distal latans (ms)					0,564 ¹
ort. ± SS	2,51 ± 0,35	2,5 ± 0,51	2,47 ± 0,32	2,55 ± 0,34	
ortanca (min-maks)	2,5 (1,88-4,01)	2,34 (1,88-4,01)	2,5 (1,93-3,28)	2,5 (1,98-3,33)	
BKAP amplitüd distal (µV)					0,073 ¹
ort. ± SS	12,73 ± 2,06	11,59 ± 2,07	13,04 ± 1,62	12,77 ± 2,36	
ortanca (min-maks)	12,3 (8,2-20,5)	11,7 (8,2-15,4)	12,9 (10,3-17,5)	12,25 (9,1-20,5)	
BKAP amplitüd proksimal (µV)					0,076 ¹
ort. ± SS	11,94 ± 2,1	10,94 ± 2,18	12,30 ± 1,73	11,88 ± 2,33	
ortanca (min-maks)	11,4 (7,3-17,8)	11,1 (7,3-15)	12,15 (9,8-17,8)	11,3 (7,5-17,7)	
F dalga latansı (ms)					0,004¹
ort. ± SS	26,53 ± 1,67	28,01 ± 1,81	26,51 ± 1,64	26,10 ± 1,41	G1 vs G2: 0,013**
ortanca (min-maks)	26,3 (23,4-32,03)	28,02 (25,16-32,03)	26,12 (23,49-29,9)	25,94 (23,85-29,27)	G1 vs G3: 0,001
					G2 vs G3:0,282
Motor iletim hızı distal (m/sn)					0,211 ¹
ort. ± SS	56,47 ± 4,12	54,47 ± 3,83	56,77 ± 4,08	56,75 ± 4,17	
ortanca (min-maks)	55,80 (47,5-71,2)	54,2 (47,5-61,8)	56,3 (50,3-69,8)	55,9 (50,7-71,2)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)					0,052 ¹
ort. ± SS	56,64 ± 15,06	48,50 ± 9,56	57,43 ± 13,22	58,25 ± 17,23	
ortanca (min-maks)	52,6 (30,8-123,4)	48 (36-68,6)	54,1 (32-86,40)	56,7 (30,8-123,4)	

¹Kruskal Wallis Testi (** Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi)

²One Way ANOVA testi (* Post Hoc: Bonferroni testi)

5.1.1.2. Alt Ekstremitte

Tibial sinir motor iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında farklılık motor distal latansı için bulundu (p=0,026). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; bu farklılık G3’den kaynaklanmaktadır. Yapılan ikili karşılaştırma analizleri sonucu G1 ve G3, G2 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0,024, p=0,038) ve G 3’de motor distal latans ortalaması (4,26 ± 0,43) en düşüktü.

Peroneal sinir motor iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında farklılık BKAP amplitüd distal ve proksimal için bulundu (distal için p=0,048, proksimal için p=0,034). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; her iki

parametre için de farklılık G2 ve G3 arasından kaynaklanmaktadır (distal için $p=0,022$, proksimal için $p=0,01$). G2’de BKAP amplitüd distal ($5,54 \pm 1,67$) ve proksimal ($5,28 \pm 1,67$) ortalamaları diğer grupların ortalamasından yüksektir.

Alt ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Alt ekstremitte motor sinir iletim çalışmalarının sonuçları

	Total (n:101)	G1 (n:13)	G2 (n:44)	G3 (n:44)	P (G1 vs G2 vs G3)
Sağ tibial sinir					
Motor distal latans (ms)					0,026¹
ort. \pm SS	4,40 \pm 0,48	4,58 \pm 0,50	4,49 \pm 0,50	4,26 \pm 0,43	G1 vs G2:0,648*
ortanca (min-maks)	4,38 (2,97-5,63)	4,64 (3,91-5,57)	4,53 (3,28-5,63)	4,32 (2,97-5,16)	G1 vs G3:0,024 G2 vs G3:0,038
BKAP amplitüd distal (μV)					0,318²
ort. \pm SS	13,3 \pm 2,51	12,96 \pm 3,30	13,28 \pm 2,31	13,42 \pm 2,50	
ortanca (min-maks)	13,2 (7,2-21,3)	12,3 (9,5-21,3)	13,1 (8,3-19,5)	13,35 (7,2-20,6)	
F dalga latansı (ms)					0,173¹
ort. \pm SS	47,17 \pm 3,46	48,18 \pm 2,83	47,57 \pm 3,59	46,46 \pm 3,43	
ortanca (min-maks)	47,29 (39,06-55,99)	48,65 (44,06-52,40)	47,81 (39,06-54,06)	45,78 (39,11-55,99)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)					0,228¹
ort. \pm SS	48,23 \pm 3,46	48,69 \pm 3,67	47,56 \pm 3,76	48,77 \pm 3,02	
ortanca (min-maks)	48 (40,5-56,9)	48,8 (41,5-54,9)	47,05 (40,5-56,9)	49,4 (41,8-54,7)	
Sol peroneal sinir					
Motor distal latans (ms)					0,081¹
ort. \pm SS	4,04 \pm 0,64	4,38 \pm 0,73	4,06 \pm 0,65	3,93 \pm 0,57	
ortanca (min-maks)	4,01 (2,86-5,68)	4,17 (3,28-5,42)	4,06 (3,07-5,68)	3,77 (2,86-5,63)	
BKAP amplitüd distal (μV)					0,048¹
ort. \pm SS	5,06 \pm 1,76	4,58 \pm 2,09	5,54 \pm 1,67	4,71 \pm 1,66	G1 vs G2:0,133*
ortanca (min-maks)	4,9 (1,2-9)	4,5 (1,2-8,5)	5,7 (2,3-9)	4,3 (2-8,3)	G1 vs G3:0,939 G2 vs G3:0,022
BKAP amplitüd proksimal (μV)					0,034¹
ort. \pm SS	4,76 \pm 1,77	4,27 \pm 2,36	5,28 \pm 1,67	4,39 \pm 1,56	G1 vs G2:0,071*
ortanca (min-maks)	4,5 (0,9-10)	4,2 (0,9-10)	4,95 (1,9-9,7)	4,05 (1,9-8,1)	G1 vs G3:0,819 G2 vs G3:0,010
F dalga latansı (ms)					0,137²
ort. \pm SS	46,69 \pm 4,93	48,16 \pm 4,26	47,37 \pm 3,48	45,48 \pm 6,13	
ortanca (min-maks)	47,03 (17,75-56,09)	48,44 (42-56,09)	47,37 (39,32-55,42)	46,2 (17,75-55,57)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)					0,289¹
ort. \pm SS	53,74 \pm 4,73	51,96 \pm 5,42	53,69 \pm 4,77	54,32 \pm 4,44	
ortanca (min-maks)	53,7 (41,8-68)	49,5 (45,8-61,8)	53,7 (44,7-68)	54,55 (41,8-65,7)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)					0,621²
ort. \pm SS	61,78 \pm 22,81	61,53 \pm 18,87	65,85 \pm 29,37	57,79 \pm 14,67	
ortanca (min-maks)	56,5 (31,4-192)	58,4 (32,3-106,7)	57,05 (31,4-192)	56,05 (32,5-117,3)	

¹One Way ANOVA testi (* Post Hoc: Bonferroni testi)

²Kruskal Wallis Testi

5.1.2. Duyu iletiler

Median sinir duyu iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında, ileti hızları açısından farklılık bulunmazken avuç içi (palmar) DSAP amplitüdü için farklılık bulundu ($p=0,033$). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; bu farklılık G 1'den kaynaklanmaktadır. G1 ve G2, G1 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,023$, $p=0,019$). G1'de DSAP amplitüd düzeyleri diğer iki gruba göre düşük bulundu.

Ulnar sinir duyu iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında, ileti hızları açısından farklılık bulunmazken DSAP amplitüdü için farklılık bulundu ($p=0,009$). Gruplar kendi arasında ikili karşılaştırıldığında; bu farklılık G1'den kaynaklanmaktadır. G1 ve G2, G1 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$, $p=0,024$). G1'de DSAP amplitüd düzeyleri diğer iki gruba göre düşük bulundu.

Sural sinir duyu iletim çalışmasında; elde edilen elektrofizyolojik bulgular üç grup arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Duyu iletim çalışmalarının sonuçları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Duyu iletim çalışmalarının sonuçları

	Total (n:101)	G1 (n:13)	G2 (n:44)	G3 (n:44)	p (G1 vs G2 vs G3)
Sağ Median Sinir - Palmar Sinir					
DSAP amplitüdü (µV)					0,033¹
ort. ± SS	117,9 ± 42,11	95,28 ± 28,83	119,3 ± 37,2	123,47 ± 48,37	G1 vs G2:0,023*
ortanca (min-maks)	118,9 (10,7-189,7)	87,9 (47,4-154,5)	114,3 (14,3-188)	138,55 (10,7-189,7)	G1 vs G3:0,019 G2 vs G3:0,338
İleti hızı (m/sn)					0,393¹
ort. ± SS	55,38 ± 9,22	56,73 ± 7,48	56,7 ± 8,78	53,6 ± 10,01	
ortanca (min-maks)	56,9 (20,9-74,9)	56,9 (43,5-69,8)	57,6 (31,2-74,9)	56,4 (20,9-66,8)	
Sol Ulnar Sinir - V. Parmak					
DSAP amplitüdü (µV)					0,009¹
ort. ± SS	23,38 ± 15,28	12,53 ± 10,89	24,95 ± 15,88	25,02 ± 14,74	G1 vs G2:0,006*
ortanca (min-maks)	23 (1,7-67)	8,3 (2,9-40,7)	25,3 (1,7-67)	24,25 (2,1-66,9)	G1 vs G3:0,024 G2 vs G3:0,858
İleti hızı (m/sn)					0,909¹
ort. ± SS	54,86 ± 3,81	55,19 ± 5,12	55,07 ± 3,49	54,55 ± 3,74	
ortanca (min-maks)	54,5 (44,4-68)	54,5 (49,8-68)	54,4 (50,2-62,5)	54,4 (44,4-62,5)	
Sol Sural sinir					
DSAP amplitüdü (µV)					0,498¹
ort. ± SS	17,55 ± 8,13	19,88 ± 9,31	17,25 ± 8,36	17,17 ± 7,6	
ortanca (min-maks)	15,1 (2,2-43,3)	17,50 (5-40,3)	15,15 (5-43,3)	14,35 (2,2-33,3)	
İleti hızı (m/sn)					0,598¹
ort. ± SS	50,29 ± 5,3	50,39 ± 7,72	50,82 ± 5,17	49,74 ± 4,63	
ortanca (min-maks)	49,7 (37,5 – 67,6)	50,3 (37,5-67,6)	49,7 (40-65,3)	49,4 (40-62,6)	

¹Kruskal Wallis Testi (* Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi)

5.1.3. Soğuk etkisinin incelenmesi

Tüm olgularda soğuk öncesi ve sonrası ulnar sinir iletim çalışmaları değerlendirildiğinde; soğuk sonrası BKAP amplitüd distal ve motor iletim hızı için soğuk öncesine göre ileti hızında meydana gelen değişimlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,387$, $p=0,468$). Motor distal latans ve F dalga latansı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0,001$, $p<0,001$), BKAP amplitüdü proksimal ve motor iletim hızı distal için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p=0,034$, $p<0,001$), (Tablo 10). G1 için ayrıca bakıldığında; Motor distal latans ve F dalga latansı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken ($p=0,007$, $p=0,002$), motor iletim hızı distal için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p=0,002$), (Tablo 11). G2 için ayrıca bakıldığında; Motor distal latans ve F dalga latansı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0,001$, $p<0,001$), BKAP amplitüdü proksimal ve motor iletim hızı distal için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p=0,010$, $p<0,001$), (Tablo 12). G3 için ayrıca bakıldığında ise; Motor distal latans ve F dalga latansı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0,001$, $p<0,001$), motor iletim hızı distal için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$), (Tablo 13).

Tüm olgularda soğuk öncesi ve sonrası sural sinir iletim çalışmaları değerlendirildiğinde; DSAP amplitüdünde ve duyu ileti hızında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 10). DSAP amplitüdünde soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0,001$), duyu iletim hızı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$). Tüm olgularda sural ve ulnar sinirlerin soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelemesi Tablo 10'da gösterilmiştir. Tablo 11, 12 ve 13'de ayrı ayrı gruplar içindeki soğuk öncesi ve sonrası sural sinir iletim çalışmaları değerlendirildiğinde ise benzer şekilde her grup içinde de; DSAP amplitüdünde soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir artış gözlenirken, duyu iletim hızı için soğuk sonrası istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

Tablo 10. Tüm olgularda sural ve ulnar sinirlerin soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelemesi

	Soğuk öncesi	Soğuk sonrası	Değişim Miktarı (Soğuk sonrası-soğuk öncesi)	p (G1 vs G2 vs G3)
Sol Sural Sinir				
DSAP amplitüdü (µV)				<0,001¹
ort. ± SS	17,55 ± 8,13	21,06 ± 8,86	3,5 ± 6,1	
ortanca (min-maks)	15,1 (2,2-43,3)	20,5 (5,4-54,2)	2,7 (-10,1-18,4)	
İleti hızı (m/sn)				<0,001²
ort. ± SS	50,29 ± 5,3	32,74 ± 6,1	-17,55 ± 6,76	
ortanca (min-maks)	49,7 (37,5-67,6)	32 (19,7-52,1)	-17,2 (-45,6 ; -1,7)	
Sol Ulnar Sinir				
Motor distal latans (ms)				<0,001²
ort. ± SS	2,51 ± 0,35	2,73 ± 0,43	0,21 ± 0,27	
ortanca (min-maks)	2,5 (1,88-4,01)	2,66 (1,98 ± 4,27)	0,21 (-0,58-1,1)	
BKAP amplitüd distal (µV)				0,387 ²
ort. ± SS	12,73 ± 2,06	12,65 ± 2,26	-0,08 ± 1,26	
ortanca (min-maks)	12,3 (8,2-20,5)	12,5 (7,9-19,8)	-0,1 (-2,7-5)	
BKAP amplitüd proksimal (µV)				0,034¹
ort. ± SS	11,94 ± 2,1	11,51 ± 2,24	-0,42 ± 1,15	
ortanca (min-maks)	11,4 (7,3-17,8)	11,3 (6,2-18,2)	-0,4 (-3,2-3,2)	
F dalga latansı (ms)				<0,001²
ort. ± SS	26,53 ± 1,67	28,14 ± 2,21	1,61 ± 1,19	
ortanca (min-maks)	26,30 (23,49-32,03)	28,13 (24,17-33,34)	1,41 (-0,16-7,6)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)				<0,001²
ort. ± SS	56,47 ± 4,12	50,86 ± 5	-5,6 ± 4,7	
ortanca (min-maks)	55,8 (47,5-71,2)	50,8 (37,9-64,5)	-5,4 (-26,20-4,6)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)				0,468 ²
ort. ± SS	56,64 ± 15,06	55,73 ± 14,37	-0,91 ± 15,67	
ortanca (min-maks)	52,6 (30,8-123,4)	52 (32-96)	0,0 (-48-48)	

¹Paired T test

²Wilcoxon Signed Ranks Testi

Tablo 11. Birinci grupta (G1) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelemesi

	Soğuk öncesi	Soğuk sonrası	Değişim Miktarı (Soğuk sonrası-soğuk öncesi)	p (G1 vs G2 vs G3)
Sol Sural Sinir				
DSAP amplitüdü (µV)				0,003¹
ort. ± SS	19,88 ± 9,31	26,26 ± 12,91	6,38 ± 6,1	
ortanca (min-maks)	17,5 (5-40,3)	25,6 (7,8-54,2)	3,4 (-3,4-15,2)	
İleti hızı (m/sn)				0,001²
ort. ± SS	50,39 ± 7,72	33,59 ± 7,90	-16,8 ± 5,2	
ortanca (min-maks)	50,3 (37,5-67,6)	33,3 (25-52,1)	-17,4 (-29,2; -9)	
Sol Ulnar Sinir				
Motor distal latans (ms)				0,007²
ort. ± SS	2,5 ± 0,51	2,65 ± 0,55	0,14 ± 0,14	
ortanca (min-maks)	2,34 (1,88-4,01)	2,55 (2,08-4,27)	0,11 (-0,05-0,42)	
BKAP amplitüdü distal (µV)				0,162²
ort. ± SS	11,59 ± 2,07	11,28 ± 2,24	-0,3 ± 1,05	
ortanca (min-maks)	11,7 (8,2-15,4)	11,2 (7,9-16)	-0,4 (-1,8-1,9)	
BKAP amplitüdü proksimal (µV)				0,053¹
ort. ± SS	10,94 ± 2,18	10,26 ± 2,5	-0,67 ± 1,13	
ortanca (min-maks)	11,1 (7,3-15)	10,3 (6,2-15,9)	-0,5 (-2,9-0,9)	
F dalga latansı (ms)				0,002²
ort. ± SS	28,01 ± 1,81	29,84 ± 2,42	1,82 ± 1,2	
ortanca (min-maks)	28,02 (25,16-32,03)	30,16 (25,31-33,34)	1,51 (0-3,7)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)				0,002²
ort. ± SS	54,47 ± 3,83	48,32 ± 3,93	-6,15 ± 3,75	
ortanca (min-maks)	54,2 (47,5-61,8)	46,7 (43,7-56,4)	-5,7 (-12,7-1)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)				0,308²
ort. ± SS	48,5 ± 9,56	53,07 ± 18,39	4,56 ± 17,76	
ortanca (min-maks)	48 (36-68,6)	47,7 (37,8-96)	5,4 (-26,6-48)	

¹Paired T test²Wilcoxon Signed Ranks Testi

Tablo 12. İkinci grupta (G2) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelemesi

	Soğuk öncesi	Soğuk sonrası	Değişim Miktarı (Soğuk Sonrası-Soğuk Öncesi)	p (G1 vs G2 vs G3)
Sol Sural Sinir				
DSAP amplitüdü (µV)				0,004¹
ort. ± SS	17,25 ± 8,36	19,75 ± 7,71	2,5 ± 5,45	
ortanca (min-maks)	15,15 (5-43,3)	19,55 (5,6-39,7)	2 (-10,1-14,1)	
İleti hızı (m/sn)				<0,001²
ort. ± SS	50,82 ± 5,17	32,24 ± 6,1	-18,58 ± 7,44	
ortanca (min-maks)	49,7 (40-65,3)	31,7 (19,7-48)	-18,6 (-45,6;- 1,7)	
Sol Ulnar Sinir				
Motor distal latans (ms)				<0,001²
ort. ± SS	2,47 ± 0,32	2,7 ± 0,42	0,22 ± 0,28	
ortanca (min-maks)	2,5 (1,93-3,28)	2,66 (1,98-3,65)	0,23 (-0,58-0,99)	
BKAP amplitüd distal (µV)				0,873 ²
ort. ± SS	13,04 ± 1,62	12,92 ± 1,96	-0,12 ± 1,32	
ortanca (min-maks)	12,9 (10,3-17,5)	12,75 (9,2-18,5)	0,05 (-2,7-2,5)	
BKAP amplitüd proksimal (µV)				0,010¹
ort. ± SS	12,3 ± 1,73	11,82 ± 2,06	-0,48 ± 1,19	
ortanca (min-maks)	12,15 (9,8-17,8)	11,45 (7,8-18,2)	-0,3 (-2,8-1,7)	
F dalga latansı (ms)				<0,001²
ort. ± SS	26,51 ± 1,64	28,13 ± 2,19	1,61 ± 1,29	
ortanca (min-maks)	26,12 (23,49-29,9)	28,1 (24,48-33,18)	1,37 (-0,16-7,6)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)				<0,001²
ort. ± SS	56,77 ± 4,08	51,12 ± 5,27	-5,64 ± 5,69	
ortanca (min-maks)	56,3 (50,3-69,8)	51,1 (37,9-64,5)	-5,75 (-26,2-4,6)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)				0,246 ²
ort. ± SS	57,43 ± 13,22	55,15 ± 12,31	-2,27 ± 14,05	
ortanca (min-maks)	54,1 (32-86,4)	53,65 (32,9-84)	-2,4 (-38,8-36)	

¹Paired T test²Wilcoxon Signed Ranks Testi

Tablo 13. Üçüncü grupta (G3) soğuk öncesi ve sonrası ileti değişim miktarlarının incelemesi

	Soğuk öncesi	Soğuk sonrası	Değişim Miktarı (Soğuk sonrası-soğuk öncesi)	p (G1 vs G2 vs G3)
Sol Sural Sinir				
DSAP amplitüdü (µV)				0,001¹
ort. ± SS	17,17 ± 7,6	20,83 ± 8,17	3,66 ± 6,54	
ortanca (min-maks)	14,35 (2,2-33,3)	20,3 (5,4-35,4)	2,4 (-9,7-18,4)	
İleti hızı (m/sn)				
ort. ± SS	49,74 ± 4,63	32,99 ± 5,6	-16,75 ± 6,45	<0,001²
ortanca (min-maks)	49,4 (40-62,6)	32 (23,6-46,5)	-16,2 (-30,6;-3,8)	
Sol Ulnar Sinir				
Motor distal latans (ms)				<0,001²
ort. ± SS	2,55 ± 0,34	2,78 ± 0,41	0,22 ± 0,28	
ortanca (min-maks)	2,5 (1,98-3,33)	2,76 (2,03-3,65)	0,21 (-0,42-1,1)	
BKAP amplitüd distal (µV)				0,730 ²
ort. ± SS	12,77 ± 2,36	12,8 ± 2,44	0,02 ± 1,28	
ortanca (min-maks)	12,25 (9,1-20,5)	12,65 (9,1-19,8)	-0,1 (-2,3-5)	
BKAP amplitüd proksimal (µV)				0,089 ¹
ort. ± SS	11,88 ± 2,33	11,58 ± 2,26	-0,29 ± 1,13	
ortanca (min-maks)	11,3 (7,5-17,7)	11,45 (6,5-16,5)	-0,45 (-3,2-3,2)	
F dalga latansı (ms)				<0,001²
ort. ± SS	26,10 ± 1,41	27,66 ± 1,95	1,55 ± 1,09	
ortanca (min-maks)	25,94 (23,85-29,27)	27,83 (24,17-32,81)	1,4 (0,11-5)	
Motor iletim hızı distal (m/sn)				<0,001²
ort. ± SS	56,75 ± 4,17	51,35 ± 4,87	-5,4 ± 3,86	
ortanca (min-maks)	55,9 (50,7-71,2)	51 (40,1-59,6)	-4,9 (-12,9-1,6)	
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)				0,627 ²
ort. ± SS	58,25 ± 17,43	57,08 ± 15,16	-1,17 ± 16,56	
ortanca (min-maks)	56,7 (30,8-123,4)	52 (32-96)	-1,65 (-48-35)	

¹Paired T test²Wilcoxon Signed Ranks Testi

5.1.4. MMA ve B12 vitamin ilişkisi

Tüm olgularda serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri arasında ilişki spearman korelasyon analizi ile incelendi ve anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p=0,984$). Grup bazında ayrı ayrı değerlendirildiğinde de her üç grupta korelasyon bulunamadı (G 1: $p=0,795$ G 2: $p=0,861$ G 3: $p=0,914$), (Tablo 14).

Tablo 14. Serum MMA ve B12 vitamin düzeylerinin ilişkisi

	Total (n:101)	G1 (n:13)	G2 (n:44)	G3 (n:44)
	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)
Serum MMA Düzeyi	-0,002(0,984)	-0,084(0,795)	0,027(0,861)	-0,017(0,914)

r: Spearman korelasyon katsayısı

Serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri ile sural ve ulnar sinirlerde soğuk sonrası ileti değişiklikleri miktarları arasındaki ilişkiler Tablo 15’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre sural ve ulnar sinirlerde soğuk sonrası ileti değişiklikleri miktarlarının Serum MMA ve B12 vitamin düzeyleri ile ilişkili olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Tablo 15. Serum MMA düzeyi ve B12 düzeyinin soğuk uygulama sonrası ileti hızları değişimi ile ilişkisi

Total (n:101)	B12 vit düzeyi	Serum MMA Düzeyi
Sol Sural Sinir		
DSAP amplitüdü değişimi	-0,008(0,940)	-0,086(0,396)
İleti hızı değişimi	0,059(0,082)	0,555(0,417)
Sol Ulnar Sinir		
Motor distal latans (ms)	0,097(0,333)	-0,031(0,762)
BKAP amplitüd distal (μ V)	0,072(0,473)	-0,143(0,156)
BKAP amplitüd proksimal (μ V)	0,064(0,522)	-0,130(0,196)
F dalga latansı (ms)	-0,030(0,767)	0,091(0,366)
Motor iletim hızı distal (m/sn)	0,096(0,339)	-0,120(0,235)
Motor iletim hızı proksimal (m/sn)	-0,046(0,645)	-0,134(0,185)

r: Spearman korelasyon katsayısı

6. TARTIŞMA

B12 vitamin eksikliği hematopoetik bozukluklar ve nörolojik sekeller gibi hayatı tehdit edici hastalıklara neden olabileceğinden özel bir klinik öneme sahiptir.

Sinir sisteminde B12 vitamini miyelin sentezi için gerekli olan metilmalonil CoA mutaz reaksiyonunda koenzim görevi görür. Bu nedenle, B12 vitamin eksikliği birçok merkezi ve periferik sinir sistemi fonksiyon bozukluğuna yol açan hatalı miyelin sentezi ile sonuçlanmaktadır (12). B12 vitamin eksikliği olan hastaların % 25'inde periferik nöropati görülebilir. Periferik sinir tutulumu olan hastalar genelde asemptomatiktir ancak elektrofizyolojik testler ile subklinik tutulum gösterilebilir (21).

B12 vitamini, reaktif oksijen ürünleri üzerinden nöroprotektif bir etki yapar. Bu nedenle, aynı zamanda aksonal rejenerasyonu artırarak; nöronal hasarın tamirinde de rol oynar (40).

Çoğu yazar, B12 vitamin eksikliğine bağlı gelişen nöropati olgularında; akut veya subakut, genellikle simetrik, bazen sinsi başlangıçlı, ılımlı ve ağrısız, demiyelinizasyonun eşlik ettiği ya da etmediği daha çok duyusal ve aksonal ağırlıklı özelliklerle giden polinöropatiyi tanımlamıştır (21). EMG'de ilk beklenen elektrofizyolojik bulgu duyusal sinir iletiminde yavaşlama veya DSAP amplitüdülerinde düşmedir (41, 42). B12 vitamin replasmanı ile sinir iletilerinde düzelme olur (43). Ayrıca, normal serum B12 vitamin/MMA düzeylerinde bile, yüksek doz B12 vitamin replasmanı ile nöropati tedavi edilebilmektedir. B12 vitaminin, nöral fonksiyon üzerine farmakolojik etkileri henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Öyle ki; B12 vitamini, diabetik nöropatide nortriptilinden bile daha etkili bulunmuştur (44).

Atrofik gastrite bağlı B12 eksikliği olan hastalarda yapılan bir çalışmada; periferik sinir iletiminin, B12 düzeyleri ile pozitif korele olduğu, B12 düzeyleri düştükçe periferik iletilerin yavaşladığı gösterilmiş. Bu korelasyon özellikle alt ekstremitelerde ve tibial duyu iletiminde belirgin bulunmuş (43).

Bizim çalışmamızda ise; B12 vitamini en düşük grup olan G1'de, median ve ulnar sinir DSAP amplitüdüleri, diğer iki grup ortalamalarına göre düşük bulundu. Biz, alt ekstremitede düşük B12 düzeylerinde bile duyu iletimlerinde bozulma görmedik.

Alt ekstremitte sural sinir çalışmaları, polinöropati tanısı için değerlidir (45). Bizim çalışmamızda, alt ekstremitede sural duyu iletimi çalışıldı ve grupların hiçbirinde nöropatiye işaret edecek derecede değişiklik görülmedi. Ayrıca grupların yaş aralığı da, sural sinir ileti

değişikliğine yolaçacak düzeyde değildi. B12 eksikliği olan 54 hastalık bir çalışmada; sural sinir iletimleri 39 hastada normal hızda ve 37 hastada ise normal amplitüdde bulunmuştur (46). Bizim çalışmamızda, B12 eksikliğinin alt ekstremitelerde distalde beklenen duyu nöropati bulguları yerine üst ekstremitelerde kompresyon bölgelerinde ileti değişikliği yapması dikkati çekmiştir.

B12 vitamin eksikliğinin ince/ kalın lif nöropatisi yapabildiği bilinmektedir. Literatürde hangi B12 vitamin düzeyinin, eksiklik olarak kabul edileceği konusu net değildir. Bu nedenle birkaç belirteçle birlikte kullanılmasını öneren çalışmalar vardır (47). Bu durum; belki de B12 vitamin eksikliğinin, üst ekstremitelerdeki tuzaklanma bölgelerinde, duyu lifleri daha fazla etkilemiş olabileceğini düşündürür.

B12 vitamin eksikliğine bağlı gelişen nöropati vakaları tedavi edilmezse motor tutulumu kadar ilerleyebilir (48). Çalışmamızda yine soğuk öncesi ilk elektrofizyolojik motor ileti çalışmalarında; G1'de ulnar sinir F dalga latansı ve tibial sinir motor distal latansı diğer iki grup ortalamalarına göre uzun bulundu. B12 vitamin eksikliği demiyelinizasyona katkıda bulunduğu için bu uzamalara neden olabileceğini düşünmekteyiz. Literatürdeki biyopsi destekli en büyük hasta grubuyla yapılan çalışmada; B12 eksikliğinin duyu-motor liflerde, % 11.1 demiyelinizan, % 22.2 aksonal ve kalanında ise mikst tip nöropatiye neden olduğu bildirilmektedir (46).

G1'de peroneal sinir BKAP amplitüd proksimal ve distal ortalamaları diğer iki grup ortalamasına göre düşük bulundu. Bu da motor tutulum ile giden polinöropatiye neden olabileceğini düşündürmektedir. Franques ve ark.'ları B12 vitaminine cevap veren 9 nöropatili hastanın serum B12 vitamin düzeylerini sadece dört hastada düşük bulmuştur ve bu hastaların dördünde sensorimotor (baskın olarak duyusal) aksonal polinöropati, beşinde sadece duyusal nöronopati tespit etmişlerdir. Vitamin B12 tedavisi ile de 2 aydan az bir sürede klinik ve elektrofizyolojik düzelme olduğunu göstermişlerdir (49). Bizim çalışmamızda ise elektrofizyolojik iletiler üç olgu dışında normal sınırlar içerisindeydi. Serum B12 vitamin düzeyi 126 pg/mL'nin altında olan üç olguda elektrofizyolojik incelemede; duyu-motor liflerde alt ekstremitelerde baskın aksonal ağırlıklı özellikler gösteren mikst tip periferik polinöropatisi tespit edildi. Bu bulgular, literatür ile uyumluydu. Çalışma grubunda polinöropati yapan diğer nedenler dışlanmış olduğu için, bu bulgunun B12 vitamin eksikliğine bağlı geliştiği düşünüldü.

Literatürde nöropatisi olan ve vitamin B12 replasmanı verilen olguların replasman öncesi ve sonrasında değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında anlamlı değişiklikler gözlenmiştir. Chi-Ren ve ark.'ları B12 vitamini replasmanının miyelinizasyona katkı sağlayarak polinöropatiyi iyileştirdiğini ve sinir iletim hızlarını arttırdığını bildirmiştir (50). Guo-Tao ve ark.'nın çalışmasında ise; kronik gastriti ve buna bağlı B12 vitamin eksikliği olan 593 hastayı değerlendirmiş ve 162 hastanın elektrofizyolojik iletilerinde periferik polinöropati saptamıştır. Bu hastalara B12 vitamin replasman tedavisi uygulanmış ve 6 ay sonra sinir ileti çalışmalarında belirgin düzelme gözlemlenmişlerdir (46). Merola ve ark.'nın yapmış olduğu bir başka çalışmada ise enteral levodopa / karbidopa jel infüzyonu (Duodopa) ile tedavi edilen Parkinson hastalarında periferik nöropati geliştiğini ve ortalama 9 aylık B12 replasman tedavisi sonrasında elektrofizyolojik ileti çalışmalarında düzelme olduğunu bildirmiştir (51). Biz çalışmamızda B12 vitamin değeri normal laboratuvar referans değeri altındaki olgulara replasman tedavisi başladık ancak elektrofizyolojik ileti çalışmaları tekrar değerlendirilmedi.

Deneysel nörofizyoloji çalışmalarında sinir ve kas fizyolojisi üzerine ısının etkisi gösterilmiştir. Cilt ısısının azaltılmasının duyu ve motor sinir iletimini değiştirdiği iyi bilinmektedir. Esperanza ve ark.'nın yaptığı çalışmada buz paketi, buz masajı ve soğuk suya daldırma olmak üzere 3 farklı modalite kullanarak sural sinir duysal ve tibial sinir motor iletim parametreleri üzerine soğuk etkisini karşılaştırmıştır. Her 3 yöntem de cilt sıcaklığının düşmesine (ortalama 18.2 °C) sebep olmuştur. Buz masajı, buz torbası ve soğuk suya daldırma duysal sinir iletim hızını sırasıyla 20,4 m/s, 16,7 m/s ve 22,6 m/s ve motor sinir iletim hızını sırasıyla 2,5 m/s, 2.1 m/s ve 8.3 m/s azaltmıştır. Sonuç olarak; her 3 modalitenin duysal sinir üzerinde daha fazla etki oluşturduğunu, soğuk suya daldırmanın ise motor sinir iletim hızının azalması ile ilişkili terapötik etkileri göstermekte en etkili yöntem olduğunu bildirmiştir. Ancak buz torbası ve buz masajının etkileri arasında bir fark olmadığını göstermiştir. Literatürde, farklı soğuk modalitelerin motor ve duysal sinir iletim parametreleri üzerindeki etkilerini karşılaştıran ilk çalışma Esperanza ve ark.'nın yaptığı çalışmadır (52). Soğuk uygulamanın sinir ileti sinir iletim değişimleri üzerine yapılan çalışmalara göre; Algafly ve ark.'ı ortalama 26 dakikalık bir buz torbası uygulamışlar ve 10 °C'lik bir cilt sıcaklığı ve duysal plantar sinir iletim hızında % 33'lük bir azalma sağlamışlardır (53). McMeeken ve ark.'ı, 15 dakika boyunca buz torbası kullanarak ulnar motor sinir iletim hızında, 5,6 °C'lik bir cilt sıcaklığında, yaklaşık % 13'lük bir azalma elde etmişler ve bu çalışma sonucunda; ulnar sinir motor iletim hızının azaltılmasında soğuk büyük jel paketlerin daha fazla etkili olduğunu bildirmişlerdir (54). Biz de çalışmamızda soğuk

uygulama olarak cilde zarar vermeyen ve daha önce literatürde uygulanmış yöntem olan buz aküsünü kullandık.

Literatürde yapılan çalışmalar sonucunda aşırı soğuk ($< 15^{\circ} \text{C}$) veya sıcaklığın ($> 46^{\circ} \text{C}$) memeli miyelinli sinirlerde iletimi engelleyebileceği iyi bilinmektedir (55, 56, 57). Bununla birlikte, bu aşırı düşük veya yüksek sıcaklıkların uzun süreli uygulanması sinir yaralanmasına neden olabilir (58, 59). Isı değişimleri ile etkilenen iletilerin kliniğe yansması da şu çalışmalarda gösterilmiştir. Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropatisi (KİDP) olan bir hastada, ateş sırasında ve çeşitli demiyelinizan nöropatileri olan yedi hastada semptomlar belirgin bir şekilde artmıştır, ısınma sonrasında elektrofizyolojik ileti bloklarının belirtisi artmış ve soğuma sonrası azalmıştır (38, 60, 61). Soğuk parezi denilen bu durum yalnızca multifokal motor nöropati (MMN), KİDP vakalarında ve Hirayama hastalarında rapor edilmiştir. MMN'deki soğuk pareziyi açıklamak için Kaji, sadece normal sıcaklıkta hareket eden kalıcı olarak depolarize aksonlar ile inflamatuvar sinir lezyonlarının varlığını varsaymıştır (34).

Sıcaklık azalmasının sinir iletim parametreleri üzerindeki etkilerine değerlendirildiğinde ise önceki elektrofizyolojik çalışmalar; cilt sıcaklığı ile iletim hızı arasında doğrusal ilişki ancak F dalga latansı, BKAP - DSAP amplitüd ve motor distal latansı ile ters bir ilişki olduğunu bildirmiştir (62, 63). Patofizyolojik süreçte; aksonal zarın (64) yapısındaki değişimler ve gerilime duyarlı sodyum ve potasyum kanallarının (65) aktivasyonu veya inaktivasyonu suçlanmıştır. Soğuk etkisinin yarattığı bu fizyolojik değişimlerden yararlanarak Say ve ark.'nın elektrofizyolojik çalışmalarında normal klinik karpal tünel sendromlu olgularda altta yatan demiyelinizan patolojiyi lokal soğuk uygulama ile ortaya çıkarmış, distal latanstaki uzamanın sağlıklı kontrollere göre daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (66). Bizim çalışmamızda da; cilt sıcaklığı değişmesi ile soğuk etkisinin incelendiği ulnar (motor) ve sural (duyu) sinirde fizyolojik değişikliklerin yanı sıra patolojik değişiklikler de bulunmuştur. Çalışmada soğuk uygulama motor sinirlerden yalnızca ulnar sinire uygulandı. Tüm gruplarda soğğun beklenen fizyolojik etkisine uygun olarak ulnar sinir motor distal latansında ve F dalga latansında uzama izlendi.

Literatürde; duysal sinir iletim hızında her cilt sıcaklığı düşüşünde 1.4 ile 2.6 m/s azalma gösterebilirken, motor iletim hızı 1.1 ile 1.5 m/s $^{\circ}\text{C}$ düşebileceği bildirilmiştir (67). Çalışmamızda soğuk sonrası ulnar sinir distal motor iletim hızı azaldı ancak yine normal sınırlar içerisindeydi. Sural sinir duyu iletim hızında ise, normal sınırların altına düşme

olduğunu gözledik. Aslında normal laboratuvar referans değeri 126-505 pg/L olarak bildirilen aralıkta da biz soğuk uygulama ile sural sinir duyu iletim hızında patolojik yavaşlama yani bir subklinik duysal nöropatiyi gözlemledik. Bu durumu; subklinik bir duysal nöropatinin, soğuk uygulama ile açığa çıkarılmış olduğu şeklinde yorumladık.

Yapılan çalışmalarda ısının 1 °C düşmesi ile M yanıtı amplitüdünün % 1.7 oranında artış olabileceğini göstermiştir (67). Çalışmamızda soğuk uygulama sonrasında ulnar sinir BKAP amplitüdülerinde, ne distal ve ne de proksimal segmentlerde anlamlı artış izlenmedi. Soğuk sonrası BKAP amplitüdünde artış olmaması; öncelikle B12 vitamin eksikliğine bağlı subklinik aksonal bir etkilenme olabileceğini düşündürdü.

Bu bulgular için iki açıklama olabilir. Birincisi; çalışmamızdaki olgular, laboratuvar değerleri olarak normal kabul edilen B12 vitamin düzeylerine sahip olmasına rağmen, subklinik aksonal tutulum olabilir. Bu nedenle, BKAP amplitüdülerinde soğuk ile beklenen artış gözlenmemiş olabilir. İkinci yorumumuz ise; B12 vitamin eksikliğine bağlı gelişen polinöropatide ön planda duysal liflerin tutulumu ile giden aksonal dejenerasyon görüldüğü bildirilmektedir (21). Eğer duysal lif tutulumunun ön planda olduğu düşünülürse; soğuk sonrasında motor liflerde beklenen patolojik değişiklikler gözlenmemiş olabilir. Soğuk etkisi ile beklenen amplitüd artışını ise sural sinirde gözledik. Bu bulgu da yorumumuzu destekler nitelikte kabul edilebilir. Çünkü rutin sural sinir duyu iletileri, tüm B12 düzeylerinde (G1, 2 ve 3) etkilenmemiş olarak bulunmuştu. Bu nedenle sural sinir liflerinin, soğuk uygulamaya beklenen yanıtı verdiği yorumu yapılabilir.

B12 vitamin eksikliği olan olgularda laboratuvarında homosistein, holotranskobalamin ve metilmalonik asit düzeylerinin bu vitamin eksikliğini göstermede yol gösterici olabileceği bilinmektedir. B12 vitamini ve MMA ilişkisine dayanan çalışmalara bakıldığında; Harrington ve ark.'nın yaptığı çalışmada; serum B12 vitamin düzeyinin gerçek eksikliğini göstermede yeterince duyarlı olmadığını ve bununla birlikte homosistein konsantrasyonu > 20 mmol / L veya serum metilmalonik asit konsantrasyonu > 280 nmol / L olması B12 vitaminin suboptimal durumunu gösterebileceğini bildirmiştir (68). Darly ve ark.'nın yaptığı çalışmada; Tip 2 diyabeti olan, metformine 6 aydan fazla maruz kalan ve diyabetik periferik nöropatisi olan hastaların düşük serum B12 vitamin düzeyi, buna bağlı artmış serum homosistein ve MMA düzeylerinin klinik olarak daha şiddetli periferik nöropati ile ilişkisi olduğunu bildirmiştir. Metformin kullanımı B12 vitamin eksikliğine neden olduğu için bu hastalarda B12 vitamin replasmanı sonrasında serum MMA ve homosistein düzeylerinin azalacağını

göstermiştir (69). Diyabetik periferik nöropati hastalarında metformin ile kötüleşen nöropati ve artmış serum homosistein ve MMA düzeylerini aynı zamanda Wile DJ ve ark. da bildirmiştir (70). Bununla birlikte Sun AL ve ark.'nın; üriner metilmalonik asit düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada; Tip 2 diyabet hastalarında polinöropatide rol oynayan B12 vitamin eksikliğini erken dönemde üriner MMA ile gösterilebileceğini de bildirmişlerdir (71).

Normal serum B12 vitamin düzeylerine rağmen klinik semptomu olan hastalarda kesin eksikliğini gösteren laboratuvar bulguları; artmış serum metilmalonik asit (MMA) ve homosistein konsantrasyonlarıdır. Ancak bazı yazarlar sadece serum MMA düzeylerinin bile gerçek eksikliğini göstermede yetersiz olduğunu bu yüzden klinik şüphe halinde biyokimyasal belirteçlerin birlikte değerlendirilmesini önermektedir. Her B12 vitamin eksikliğinde serum MMA düzeyi yüksek bulunmayabilir. Bu durumda; diğer bir metaboliti olan holotranskobalamin ile birlikte değerlendirilmesi ve idrar MMA bakılması daha güvenilir sonuçlar verebilir. MMA idrarda biyokimyasal olarak serumdan daha stabildir ve idrarda 40 kat daha fazla konsantrasyona sahiptir (72). Çalışmamızda; B12 vitamini en düşük olan grupta ortalama serum MMA değeri en yüksek bulundu. Ancak tüm gruplarda serum MMA ortalaması literatürde belirtilen 280 nmol/L'nin altında bulundu ve B12 vitamini ile serum MMA arasında korelasyon bulunamadı. İdrar MMA ve/veya B12 vitaminin diğer metabolitleri ile birlikte değerlendirilmesinin yararlı olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızın G1'de hasta sayısının artmasının ve genel olarak daha geniş bir hasta popülasyonu ile çalışılmasının daha yararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca B12 vitamin düzeyinin diğer belirteçlerinin de kombine edilmesi ileride yapılacak çalışmalar için önerilebilir.

7. SONUÇ

Bu çalışmanın, literatür bilgilerine göre bildiğimiz kadarıyla birkaç tane ‘ilk olma’ özelliği vardır.

1. Sinir iletimlerinin, farklı B12 düzeylerinde karşılaştırmalı olarak araştırıldığı ve hasta sayısının bu kadar çok olduğu ilk çalışmadır.
2. Soğuk etkisi ile farklı B12 düzeylerindeki sinir iletimlerinin nasıl etkilendiğini araştıran ilk çalışmadır.
3. B12 ve MMA düzeylerinin sinir iletimleri ile korelasyonun araştırıldığı ilk çalışmadır.

Sonuç olarak;

1. Vitamin B12 normal laboratuvar referans aralığında ve daha düşük değerlere sahip olgularda, periferik sinirlerde subklinik tutulum olabileceğini, soğuk etkisi yoluyla destekleyerek göstermiş olduk.
2. Tüm gruplarda, soğuk sonrası motor iletilerde soğğun beklenen fizyolojik etkileri ortaya çıktı.
3. Yine tüm gruplarda soğuk sonrası sural sinir etkilenmesi, fizyolojik etkilerden fazlaydı. Soğuk ile her üç grupta sural sinir iletim hızları patolojik değere ulaştı. Yani soğuk sonrası duyu lif nöropatisi bulguları ortaya çıktı.
4. B12 vitamin eksikliğinin, soğğun fizyolojik etkisini, duyu liflerde agreve ettiğini düşünmekteyiz.
5. Serum B12 ve MMA düzeyleri arasında korelasyon bulamadık.
6. Serum B12 düzeyleri ile sinir iletim parametreleri arasında ilişki bulunmamakla birlikte; serum MAA düzeyleri ile ulnar sinir motor distal latansı korele bulundu.
7. MMA idrar düzeylerinin, benzer protokolde yeni bir araştırma konusu olabileceği düşünüldü.

8. KAYNAKLAR

1. Antony AC. Megaloblastic Anemias In Hematology: Basic Principles and Practice, 5th ed.; Hoffman R, Benz EJ, Shattil JR; Elsevier Churchill Livingstone: Philadelphia, PA, USA, 2009; Volume 3, p. 491.
2. Kristiansen M, Aminoff M, Jacobsen C, Chapelle A, Krahe R, Verroust PJ, Moestrup SK. Cubilin p12971 mutation associated with hereditary megaloblastic anemia cause impaired recognition of intrinsic factor-vitamin B 12 by cubilin. *Blood* 2000; 96: 405–409.
3. Coelho D, Suormala T, Stucki M, Lerner-Ellis JP, Rosenblatt DS, Newbold RF, Baumgartner MR, Fowler B. Gene identification for the cblD defect of Vitamin B12 metabolism. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1454–1464.
4. Dali-Youcef N, Andres E. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009; 102: 17–28.
5. Saperstein DS, Wolfe GI, Gronseth GS, Nations SP, Herbelin LL, Bryan WW, Barohn RJ. Challenges in the identification of cobalamin-deficiency polyneuropathy. *Arch. Neurol.* 2003; 60: 1296–1301.
6. Carmel R. How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. *Blood* 2008; 112: 2214–2221.
7. Langan RC, Zawistoski KJ. Update on vitamin B12 deficiency. *Am. Fam. Physician* 2011; 83: 1425–1430.
8. Nexo E, Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: Analytical aspects and clinical utility. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 94: 359–365.
9. Schrempf W, Eulitz M, Neumeister V, Siegert G, Koch R, Reichmann H, Storch A. Utility of measuring Vitamin B12 and its active fraction, holotranscobalamin, in neurological Vitamin B12 deficiency syndromes. *J. Neurol.* 2011; 258: 393–401.

10. Lindenbaum, J.; Savage, D.G. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am. J. Hematol.* 1990; 34: 99–107.
11. Savage, D.G.; Lindenbaum, J. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am. J. Med.* 1994; 96: 239–246.
12. Solomon LR. Disorders of cobalamin (Vitamin B12) metabolism: Emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev.* 2007; 21: 113–130.
13. Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2003; 2003, 62–81.
14. Chiara B, Chiara DT, Valentina C, Renzo M, Sara P, Gianni B and Fausto A. Review Cobalamin Deficiency: Clinical Picture and Radiological Findings. *Nutrients* 2013; 5: 4521-4539.
15. Vasconcelos OM, Poehm EH, McCarter RJ, Campbell WW, Quezado ZM. Potential outcome factors in subacute combined degeneration review of observational studies. *J Gen Intern Med* 2006; 21: 1063-8.
16. Karantanas AH, Markonis A, Bisbiyiannis G. Subacute combined degeneration of the spinal cord with involvement of the anterior columns: a new MRI finding. *Neuroradiology* 2000; 42: 115-7.
17. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency ? *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89: 693–696.
18. Healton EB, Savage DG. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine (Baltimore)* 1991; 70: 229–245.

19. Rabhi S, Maaroufi M, Khibri H, Belahsen F, Tizniti S, Berrady R, Bono W. Magnetic resonance imaging findings within the posterior and lateral columns of the spinal cord extended from the medulla oblongata to the thoracic spine in a woman with subacute combined degeneration without hematologic disorders: a case report and review of the literature *J Med Case Reports* 2011; 5: 166.
20. Asano M. Subacute combined degeneration with linear high intensity lesion of columns on MRI. *No To Shinkei* 2001; 53: 1068- 9.
21. Puri V, Chaudhry N, Goel S, Gulat P, Nehru R, Chowdhury D. Vitamin B12 deficiency: A clinical and electrophysiological profile. *Electromyogr. Clin. Neurophysiol.* 2005; 45: 273–284.
22. Sethi NK, Robilotti E, Sadan Y, Neurological manifestations of Vitamin B12 deficiency. *Internet J. Nutr. Wellness* 2005; 2: 1–12.
23. Hutto BR. Folate and cobalamin in psychiatric illness. *Compr. Psychiatry* 1997; 38: 305–314.
24. Papakostas GI. Evidence for S-adenosyl-L-methionine (SAM-e) for the treatment of major depressive disorder. *J. Clin. Psychiatry* 2009; 70: 18–22.
25. Dommissse, J. Subtle vitamin-B12 deficiency and psychiatry: A largely unnoticed but devastating relationship ? *Med. Hypotheses* 1991; 34: 131–140.
26. Lerner V, Kanevsky M. Acute dementia with delirium due to vitamin B12 deficiency: A casereport. *Int. J. Psychiatry Med.* 2002; 32: 215–220.
27. Sommer C, Geber C, Young P, Forst R, Birklein F, Schoser B. Polyneuropathies. *Dtsch Arztebl Int.* 2018; 115 (6): 83-90.
28. Shiran A, Remer E, Asmer I, Karkabi B, Zittan E, Cassel A, Barak M, Rozenberg O, Karkabi K, Flugelman MY. Association of Vitamin B12 Deficiency with

Homozygosity of the TT MTHFR C677T Genotype, Hyperhomocysteinemia, and Endothelial Cell Dysfunction. *Isr Med Assoc J* 2015; 17: 288-292.

29. Nardin RA, Amick ANH, Raynor EM. Vitamin B12 and methylmalonic acid levels in patients presenting with polyneuropathy. *Muscle Nerve* 2007; 36: 532–535.
30. Fine EJ, Soria ED. Myths about vitamin B12 deficiency. *South Med J* 1991; 84: 1475–1481.
31. Lorenzl S, Vogeser M, Müller-Schunk S. Clinically and MRI documented funicular myelosis in a patient with metabolic Vitamin B12 deficiency but normal Vitamin B12 serum level. *J. Neurol.* 2003; 250: 1010–1011.
32. Franssen H, Gebbink TA, Wokke JH, van den Berg LH, Van Schelven LJ. Is cold paresis related to axonal depolarization ? *J Peripher Nerv Syst.* 2010; 15 (3): 227-37.
33. Gordon TR, Kocsis JD, Waxman SG. Electrogenic pump (Na/K-ATP-ase) activity in rat optic nerve. *Neuroscience* 1990; 37: 829–837.
34. Kaji R Physiology of conduction block in multifocal motor neuropathy and other demyelinating neuropathies. *Muscle Nerve* 2003; 27: 285–296.
35. Kapoor R, Davies M, Blaker PA, Hall SM, Smith KJ. Blockers of sodium and calcium entry protect axons from nitric oxide-mediated degeneration. *Ann Neurol* 2003; 53: 174–180.
36. Kiernan MC, Guglielmi JM, Kaji R, Murray NM, Bostock H. Evidence for axonal membrane hyperpolarization in multifocal motor neuropathy with conduction block. *Brain* 2002; 125: 664–675.
37. Priori A, Bossi B, Ardolino G, Bertolasi L, Carpo M, Nobile- Orazio E, Barbieri S. Pathophysiological heterogeneity of conduction blocks in multifocal motor neuropathy. *Brain* 2005; 128: 1642–1648.

38. Rutkove SB. Effects of temperature on neuromuscular electrophysiology. *Muscle Nerve* 2001; 24: 867–882.
39. Ertekin C. Klinik uygulamada duyuşal ve motor sinir iletim alışmaları. Santral ve periferik EMG Anatomi-Fizyoloji-Klinik. İzmir 2006; page 109-152.
40. Sun H, Yang T, Li Q, Zhu Z, Wang L, Bai G, Li D, Li Q, Wang W. Dexamethasone and vitamin B12 synergistically promote peripheral nerve regeneration in rats by upregulating the expression of brain-derived neurotrophic factor. *Arch Med Sci.* 2012; 8: 924–930.
41. Hemmer B, Glocker FX, Schumacher M, Deuschl G, Lucking CH. Subacute combined degeneration: clinical, electrophysiological, and magnetic resonance imaging findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65: 822-7.
42. Yamada K, Shrier DA, Tanaka H, Numaguchi YA. Case of subacute combined degeneration: MRI findings. *Neuroradiology* 1998; 40: 398- 400.
43. Guo-Tao Y, Hong-Ying Z, Yu K, Ning-Ning S, Ai-Qin D. Correlation between serum vitamin B12 level and peripheral neuropathy in atrophic gastritis *World J Gastroenterol* 2018; 24 (12): 1343-1352.
44. Lawrence R. Solomon, Vitamin B12 and peripheral nerve function in elderly adults: ‘Functional’ B12 deficiency as a confounding variable. 2013; VOL. 61, No: 2.
45. Kural MA, Karlsson P, Pugdahl K, Isak B, Fuglsang-Frederiksen A, Tankisi H. Diagnostic utility of distal nerve conduction studies and sural near-nerve needle recording in polyneuropathy. *Clin Neurophysiol* 2017; 128 (9): 1590-1595.
46. Jayantee Kalita, Satish Chandra, Sanjeev K. Bhoi, Ritu Agarwal, Usha Kant Misra, Surala K. Clinical, nerve conduction and nerve biopsy study in vitamin B12 deficiency neurological syndrome with a short-term follow-up. *Nutritional Neuroscience*, Shankar & Anita Mahadevan 2014; 17 (4): 156-163.

47. Kira Leishear, Robert M. Boudreau, Stephanie A. Studenski, Luigi Ferrucci, Caterina Rosano, Nathalie de Rekeneire, Denise K. Houston, Stephen B. Kritchevsky, Ann V. Schwartz, Aaron I. Vinik, Eva Hogervorst, Kristine Yaffe, Tamara B. Harris, Anne B. Newman, Elsa S. Strotmeyer. The Relationship of Vitamin B12 and Sensory and Motor Peripheral Nerve Function in Older Adults. *J Am Geriatr Soc.* 2012; 60 (6): 1057–1063.
48. S.Vogeser M, Müller-Schunk S. Clinically and MRI documented funicular myelosis in a patient with metabolic Vitamin B12 deficiency but normal Vitamin B12 serum level. *J. Neurol.* 2003; 250: 1010–1011.
49. Franques J, Chiche L, De Paula AM, Grapperon AM, Attarian S, Pouget J, Mathis S. Characteristics of patients with vitamin B12-responsive neuropathy: a case series with systematic repeated electrophysiological assessment. *Neurol Res.* 2019; 41 (6): 569-576.
50. Chi-Ren H, Wen-Neng C, Nai-Wen T, Cheng-Hsien L. Serial nerve conduction studies in vitamin B12 deficiency-associated polyneuropathy *Neurol Sci* 2011; 32: 183–186.
51. Merola A, Zibetti M, Rizzone MG, Troiano M, Artusi CA, Angrisano S, Cocito D, Lopiano L. Prospective assessment of peripheral neuropathy in Duodopa-treated parkinsonian patients. *Acta Neurol Scand.* 2014; 129 (1): e1-5.
52. Esperanza H, Sandoval MC, Camargo DM, Salvini TF. Motor and Sensory Nerve Conduction Are Affected Differently by Ice Pack, Ice Massage, and Cold Water Immersion *Research Report* 2010; 581-591.
53. Algafly AA, George KP. The effect of cryotherapy on nerve conduction velocity, pain threshold and pain tolerance. *Br J Sports Med.* 2007; 41: 365–369.
54. McMeeken J, Lewis MM, Cocks S. Effects of cooling with simulated ice on skin temperature and nerve conduction velocity, *Aust J Physiother.* 1984; 30: 111–114.

55. Klumpp D, Zimmermann M. Irreversible differential block of A- and C-fibres following local nerve heating in the cat. *J Physiol* 1980; 298: 471–482.
56. Paintal AS. Block of conduction in mammalian myelinated nerve fibres by low temperatures. *J Physiol* 1965; 180: 1–19.
57. Stecker MM, Baylor K. Peripheral nerve at extreme low temperatures 1: Effects of temperature on the action potential. *Cryobiology* 2009; 59: 12–18.
58. Jia J, Pollock M. Cold nerve injury is enhanced by intermittent cooling. *Muscle Nerve* 1999; 22: 1644–1652.
59. Vujaskovic Z, Gillette SM, Powers BE, LaRue SM, Gillette EL, Borak TB, Scott RJ, Ryan TP, Colacchio TA. Effects of intraoperative hyperthermia on peripheral nerves: neurological and electrophysiological studies. *Int J Hyperthermia* 1994; 10: 41–49.
60. Chaudhry V, Crawford TO, DeRossett SE. Thermal sensitivity in demyelinating neuropathy. *Muscle Nerve* 1993; 16: 301–306.
61. Franssen H, Wieneke GH, Wokke JH. The influence of temperature on conduction block. *Muscle Nerve* 1999; 22: 166–173.
62. Greathouse DG, Currier DP, Joseph BS, Shippee RL, Matulionis DH. Electrophysiologic responses of human sural nerve to temperature. *Phys Ther.* 1989; 69: 914–922.
63. Halar EM, DeLisa JA, Soine TL. Nerve conduction studies in upper extremities: skin temperature corrections. *Arch Phys Med Rehabil.* 1983; 64: 412–416.
64. Luzzati V, Mateu L, Marquez G, Borgo M. Structural and electrophysiological effects of local anesthetics and of low temperature on myelinated nerves: implication of the lipid chains in nerve excitability. *J Mol Biol.* 1999; 286: 1389–1402.

65. Dioszeghy P, Stalberg E. Changes in motor and sensory nerve conduction parameters with temperature in normal and diseased nerve. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992; 85: 229–235.
66. Say B, Ergün U, Turgal E, Yardımcı İ. Cold effect in median nerve conduction in clinical carpal tunnel syndrome with normal nerve conduction studies *Journal of Clinical Neuroscience* 2019; 61: 102–105.
67. Knight KL. *Cryotherapy in Sport Injury Management.* Champaign, IL: Human Kinetics; 1995.
68. Harrington DJ. Laboratory assessment of vitamin B12 status. *J Clin Pathol.* 2017; 70: 168-173.
69. Daryl J. Wile and Cory Toth. Association of Metformin, Elevated Homocysteine, and Methylmalonic Acid Levels and Clinically Worsened Diabetic Peripheral Neuropathy. *Diabetes care.* 2010; 33 (1): 156–161.
70. Wile DJ, Toth C. Association of metformin, elevated homocysteine and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care.* 2010; 33 (1):156-61.
71. Sun AL, Ni YH, Li XB, Zhuang XH, Liu YT, Liu XH, Chen SH. Urinary methylmalonic acid as an indicator of early vitamin B12 deficiency and its role in polyneuropathy in type 2 diabetes. *J Diabetes Res.* 2014; 2014: 921616.
72. Matchar DB, Feussner JR, Millington DS. Isotope-dilution assay for urinary methylmalonic acid in the diagnosis of vitamin B12 deficiency. A prospective clinical evaluation. *Annals of Internal Medicine.* 1987; 106 (5):707–710.

9. EKLER

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	B12 vitamin düzeylerinin klinik/elektrofizyolojik bulgularının, MMA düzeyleri ile korelasyonu ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	Yenişehir Mahallesi Tahsin Duru Caddesi No:14 YAHŞİHAN/KIRIKKALE
	TELEFON	0 318 333 50 10/5733
	FAKS	0 318 224 07 86
	E-POSTA	ketik@kku.edu.tr

BAŞVU RUB İLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ufuk ERGÜN				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Nöroloji				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-				
	DESTEKLEYİCİ	Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>				
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>				
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>				
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>				
Diger ise belirtiniz						
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	B12 vitamin düzeylerinin klinik/elektrofizyolojik bulgularının, MMA düzeyleri ile korelasyonu ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Ekim 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Ekim 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	Ekim 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	ILAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ DİĞER.	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:15/01	Tarih: 01.10.2018					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacının/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Figen ÇOŞKUN	Acil Tıp	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Hakan BOYUNAĞA	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Ebru ERDEMİR	Periodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. M. Faik ÖZVEREN	Beyin ve Sinir Cerrahisi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Gülten KARACA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Aslı Fahriye CEYLAN IŞIK	Tıbbi Farmakoloji	Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:

Acilim Aydınlar

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		B12 vitamin düzeylerinin klinik/elektrofizyolojik bulgularının, MMA düzeyleri ile korelasyonu ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılması							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK	KBB	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk Metin ÇOMU	Fizyoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk PEHLİVANLI	Genel Cerrahi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Burhan BİRİCİ	Serbest Eczacı	Kırıkkale- Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Halil MUTLU	Hukuk	Kırıkkale-Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yakup DOĞAN	Fakülte Sekreteri	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma


Açılım Ayrıdır

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi: 01.10.2018

Toplantı Sayısı: 2018/15

Toplantı Karar No: 15/01

PROJE ADI : “B12 vitamin düzeylerinin klinik/elektrofizyolojik bulgularının, MMA düzeyleri ile korelasyonu ve subklinik periferik sinir tutulumunun ortaya çıkarılması”

PROJEDE GÖREVLİ PERSONEL:

Adı Soyadı : Prof. Dr. Ufuk ERGÜN
Kurumu : Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Email adresi : ufukergun@yahoo.com
Cep Tel : 05323935957

Adı Soyadı : Dr. Öğretim Üyesi Bahar SAY
Kurumu : Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Email adresi : drbaharsay@gmail.com
Cep Tel : 05052668489

Adı Soyadı : Dr. Öğretim Üyesi Nermin DİNDAR BADEM
Kurumu : Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Email adresi : ndindar06@yahoo.com
Cep Tel : 05055017472

Adı Soyadı : Araş.Gör.Dr. Mehmet TUNÇ
Kurumu : Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Email adresi : m_t_u_n_c@hotmail.com
Cep Tel : 05523828606

PROJE ÖZETİ: B12 vitamini (kobalamin), hayvansal gıdalardan özellikle kırmızı ette bulunur. Yiyeceklerle alınan kobalamin proteine bağlıdır, midede asit ve pepsin ile proteinden ayrılır, tükürük ve gastrik sekresyonlardaki haptokorrine bağlanır. Haptokorrin- kobalamin kompleksindeki kobalamin pankreatik proteazlarla serbest hale gelir. Proksimal ileumda, mideden salgılanan intrinsik faktöre (IF) bağlanır. Kobalamin-intrinsik faktör kompleksi ileum mukoza hücreleri üzerinde bulunan CUBAM (cubilin+amnionless) reseptörlerine bağlanarak, hücre içine alınır. Portal dolaşıma salındığında transkobalamine bağlanır. Dokularda, çeşitli kimyasal reaksiyonlar için gereken adenoilkobalamin ve metilkobalamine dönüştürülür. B12 vitamin eksikliğinde metilmalonik asit kan ve idrar düzeyi yükselebilir. Özellikle B12 vitamin

eksikliği düşünülen ancak serum vitamin B12 düzeyi normal olan bireylerde metilmalonik asit yüksekliği yol gösterici olabilmektedir (1).

B12 vitamini santral sinir sisteminde hücre yapısında önemli yer tutar. Eksikliği sık rastlanan ve nörolojik semptomlara neden olabilen bir durumdur. Nörolojik semptomlar arasında kognitif etkilenme, nöropati, ataksi sık gözlenirken, serebrovasküler olaylar, myelopati (2) izole optik nöropati (3) etyolojisinde de gösterilmiştir. Vitamin B12 eksikliğinde MCV, periferik kan yayması, siyanokobalamin düzeyi, serum metil malonik asit, homosistein düzeylerini içeren laboratuvar çalışmaları önemli yer tutar (4). B12 vitamin eksikliğinin saptanması ve tedavisi olası nörolojik tabloların ve tedavisinde, komplikasyonların ve morbiditenin önlenmesinde yer tutar.

İnce lif nöropatisi myelinli A delta lifleri ile myelinsiz C liflerini tutan nöropatik ağrı ve otonomik semptomlara yol açan hayat kalitesini bozabilen bir nöropatidir. Kliniğine dizestezi, hiperestezi, hiperaljezi, allodini gibi semptomlara ek olarak otonom tutulumu bağlı kuru ayak, ayak ülserine gidebilen lezyonlara yol açabilir. Etiyolojisinde sıklıkla diyabet, ve B12 vitamin eksikliği gözlenirken, alkol kullanımı, kemotropotik ajanlar, hemokromatozis, monoklonal gamapati de yer alır. Tanıda elektrofizyolojik test (EMG) deri biyopsisi, otonom testler kullanılmaktadır (5,6).

Kalın myelinli liflerin tutulduğu nöropatilerde elektrofizyolojik çalışmalar ile patoloji rahat gösterilebilirken, ince lif nöropatisinde eksiklik kalabilir. B12 vitamin eksikliğinde myelinli liflerin tutulumuna bağlı ısı değişimleri ile sinir ileti hızları ve patolojik myelinli liflere ait nöropatiyi saptamak kolay olabilmektedir. Ayrıca laboratuvar çalışmalarında B12 vitamin düzeyi normal sınırlarda görülürken nöropati saptanan ancak etyolojide diğer nedenler bulunmayan olgularda olabilmektedir. Bu tür hastalarda kan metilmalonik asit düzeyi de B12 vitamin eksikliğine karşı erken ipucu olabilmektedir.

Bu çalışmada; nöroloji polikliniğine ekstremitelerde dizestezi, hiperestezi, allodini yakınması ile başvuran bilinen hastalığı (DM, ABY / KBY, Tiroid hastalıkları, malignite, elektrolit bozuklukları, romatoid artrit) olmayıp polinöropati ön tanısı olan, rutinde yapılan etyolojik amaçlı kan tetkikleri (biyokimya, hemogram, TFT, B12 vitamin, folik asit) ve EMG tetkiki mevcut olanlardan çalışma grubu seçilecektir. Polinöropatisi EMG ile saptanan ve sadece B12 vitamin düşüklüğü (serum B12 < 126 pg /mL) olan olgulardan bir grup (44 olgu), EMG'de polinöropati saptanmayan ve serum B12 vitamini (500-126 pg/mL) ile diğer laboratuvar düzeyi normal olan 88 birey içeren başka bir grup oluşturulacaktır. B12 vitamin düzeyi ve EMG normal olan 88 kişilik grupta kendi içinde B12 vitamin düzeyi 126-250 pg /mL aralığında olan 44 olgu ve 250-500 pg /mL aralığında olan 44 olgu şeklinde bölünecek ve çalışma için toplam 3 grup oluşturulacaktır. Tüm gruplarda nöropatik semptom etyolojisini açıklamaya yönelik kan metilmalonik asit düzeyi hastanemiz biyokimya laboratuvarına alınacak (BAP bütçesi ile) kit

ile analiz edilecek. Olgulardan daha önce alınan kan örneğinden sarı kapaklı biyokimya tüpünde 5 cc kan örneği ile analiz yapılacaktır. Yine tüm gruplarda tek üst ekstremitede gel pack (sıcak/soğuk uygulama) ile el bileğinde ulnar sinir trasesi üzerinde ve sural sinir trasesi üzerinde birkaç dakikalık deri ısı değişikliği yaratılarak tek elektrik uyarı ile ulnar sural sinir yanıt değişikliğine bakılacak. EMG’de polinöropatiye yönelik protokol tekrar edilmeyecektir. Tüm gruplarda metilmalonik asit, EMG değişiklikleri, B12 vitamin düzeyleri ile karşılaştırılacaktır.

B12 vitamin düzeyi hastanemiz laboratuvar referans değerlerine göre belirlenmiştir.

Gel pack sorumlu araştırmacı tarafından temin edilecektir.

Kaynaklar

1. Ankar A, Bhimji S.Vitamin, B12 (Cobalamin), Deficiency.StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018.
2. Senol MG, Sonmez G, Ozdag F, Saracoglu M Reversible myelopathy with vitamin B12 deficiency.Singapore Med J. 2008
3. Colin Chu, Peter Scanlon.Vitamin B 12 deficiency optic neuropathy detected by asymptomatic screening. BMJ case report. 2016.
4. Snow FC. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. Arch Intern Med. 1999;159:1289–98.
5. Hoeijmakers JG, Faber CG, Lauria G, et al. Small-fibre neuropathies advances in diagnosis, pathophysiology and management. Nat Rev Neurol 2012; 8: 369–379.
6. Nöropatik ağrı tanı ve tedavi kılavuzu. Türk Nöroloji Derneği. 2009.

Proje sorumlusunun Adı – Soyadı – İmza

Prof. Dr. Ufuk ERGÜN
Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Hastanesi
Prof. Dr. Ufuk ERGÜN
Nöroloji Anabilim Dalı
Dip. Teş. No: 45080

Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı