

Araştırma

Kronik Viral Hepatitli Hastaların Serumlarında Holo-Transkobalamin (Aktif B12 Vitamin) İncelenmesi*

Fatma SIRMATEL¹, Öcal SIRMATEL², Güler BUĞDAYCI³, Fatma NUR ERİŞ¹, Sevim DİNÇER⁴

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı

³Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

⁴Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, BOLU

*Bu çalışma X. Ulusal Viral Hepatit Kongresi, 1-4 Mart 2010, Antalya'da poster olarak sunulmuştur.

ÖZET

Kronik viral hepatitlerde erken karaciğer nekrozu ve viral replikasyon tanımlanursa tedavi ile nekroinflamasyon durdurulabilir ve siroz oluşumu önlenir. Kronik karaciğer yetmezliğinde vasküler sızma nedeniyle kanda B12 düzeyinin artması söz konusudur. Bu açıdan hareket ederek serumda aktif B12 göstergesi olan holo-transkobalamin II (Holo TC II), karaciğer hücre harabiyetinin bir göstergesi olarak, kronik viral hepatit B (HBV) ve kronik viral hepatit C (HCV) olgularında tedavi öncesi değerlendirildi. Bu çalışmada amaç Aktif B12 vitaminin gerçek göstergesi olan Holo TC II serum düzeyinin kronik viral hepatitler de karaciğer bozukluğunun ve hücre harabiyetinin göstergesi olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir.

Bir üniversite hastanesinde klinik, serolojik ve histolojik olarak tanımlanan 274 kronik viral hepatit (127 HBV, 17 HCV) olgusu ve 127 sağlıklı kan donörlerinin serumlarında, serum B12 vitamin değerinin en iyi göstergesi olan Holo TC II düzeyi çalışıldı. Hastaların yaş grubu 18-70 arası idi. Kronik viral hepatit olan hastaların serumları tedavi öncesi alındı ve -20°C'de saklandı. Hasta grubunun seçiminde dekompanse siroz, kardiyak, metabolik, hematolojik, gastrointestinal ve oto immün hastalığı olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak sağlıklı kan donörleri seçilerek herhangi bir metabolik, kardiyovasküler, gastrointestinal ve hematolojik hastalığının olmamasına yaş ve cins açısından hasta grubu ile eşleştirmeye dikkat edildi. Çalışma Holo TC II hazır ticari kiti prospektüsü doğrultusunda makro EIA yöntemi ile çalışıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

Yapılan çalışmada kronik viral HBV (42.07 pmol/L) ve HCV hastaları (42.8 pmol/L) arasında Holo TC II düzeyi açısından bir fark bulunmaz iken kontrol grubu (25.7 pmol/L) ile karşılaştırıldığı zaman anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.017$).

Özellikle kronik viral hepatit olgularında hücre harabiyetinin en erken bir belirtisi olarak Holo TC II düzeyi kullanılabilir. Bu durumun daha ileri çalışmalarla kronik karaciğer yetmezliğinde ve hücre harabiyetinde tanı kriteri olarak kullanılabilmesi düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: B12 vitamin, holo transkobalamin, kronik viral hepatitis

SUMMARY

Analysis of Holo-Transcobalamin (Active Vitamin B12) in the Sera of Patients with Chronic Viral Hepatitis

In chronic viral hepatitis, when early hepatic necrosis and viral replication are defined, progression of hepatic necroinflammation can be terminated and cirrhosis can be prevented by therapy. In chronic hepatic failure, an increase in the blood levels of vitamin B12 is observed as a result of vascular leakage. From this perspective, in cases with chronic viral hepatitis B (HBV) and chronic viral hepatitis C (HCV), the indicator of serum active vitamin B12, namely holo-transcobalamin II (Holo-TCII), is interpreted as an indicator of hepatocellular damage prior to treatment. The aim of this study is to evaluate the value of serum Holo-TCII in the diagnosis of hepatic failure and hepatocellular damage in chronic viral hepatitis.

In a university hospital, Holo-TCII, the best indicator of serum vitamin B12, was analyzed in the sera of 127 healthy blood donors and in 274 patients with chronic viral hepatitis (127 HBV patients and 17 HCV patients), who were clinically, serologically and histologically diagnosed. Age distribution of the patients ranged between 18 and 70 years. Serum samples of the patients with chronic viral hepatitis were collected before therapy and kept at -20° C until use. When determining the study group, the patients with decompensated cirrhosis, any cardiac, metabolic, hematologic, gastrointestinal and autoimmune disorders were excluded. As the control group, healthy blood donors without metabolic, cardiovascular, gastrointestinal and hematologic diseases were chosen; age and gender distributions were also considered to be parallel with the patient group. Analyses were performed with commercially available Holo-TCII kits according to the prospectus, using macro enzyme immunoassay method (EIA) method. Results were statistically compared between the groups.

In our study, no difference was determined in terms of holo-TCII levels between chronic HBV (42.07 pmol/L) and HCV patients (42.8 pmol/L), whereas the results of the HBV and HCV patients were found to be significantly higher compared to the control group (25.7 pmol/L, $p < 0.017$).

Holo-TCII can be used as the earliest symptom of cellular damage, particularly in patients with chronic viral hepatitis. Further studies on chronic hepatic failure and cellular damage may also provide information that Holo-TCII can be used as a diagnostic criterion.

Keywords: Vitamin B12, holo-transcobalamin, chronic viral hepatitis

GİRİŞ

Yapısında kobalt metali bulunduğundan B12 vitaminine kobalamin ismi verilir. Multivitamin ilaçlarda B12 vitamini, siyanokobalamin adıyla bulunur. Kobalamin olan B12 vitamini sinir dokusunun sağlığı, eritrosit ve diğer hücrelerde bulunan DNA'nın yapımı için gerekli olan bir vitamindir (1). Siyanokobalamin doğal B12 vitamindir ve hücrelerde DNA yapımında rol alan önemli bir maddedir. Serumda bulunan B12 vitamini transkobalamin ve haptokorrine bağlanır. Karaciğer vücutta bulunan B12 vitaminin büyük kısmını depolar ve son derece yavaş kullanır. Kronik karaciğer hastalığında, serumda B12 vitamini artmakta ve karaciğer hücresine vitamin girememektedir (2, 3). Holotranskobalamin (Holo TC II) kobalaminine bağlanarak B12 vitamin taşınmasına yardımcı olan ve serumda gerçek B12 değerini gösteren bir üründür. Kanda bulunan B12 vitamininin en iyi göstergesi olan Holo TC II özellikle karaciğer yetmezliği olgularında serumda yükselmektedir (4). Bunun nedeni kara-

ciğer hücrelerinin yetersizliğine bağlı olarak B12 vitamininin depo edilmesindeki yetersizlik olarak belirtilmektedir (3, 4, 5). Hatta yapılan bazı çalışmalarda artan serum B12 düzeyi ALT, AST ve GGT yüksekliği ile direkt ilişkili bulunmuştur (5, 6, 7, 8).

Kronik viral hepatit olgularında kronikleşme nedenleri tam olarak açıklık kazanmamıştır. Viral replikasyon karaciğer dokusunda devam ettiği süreçte karaciğer hücre yıkımı olur ve sonra fibrozis gelişir. Kronik viral hepatit olgularında kronikleşme belirtisi olarak karaciğer fibrozisinin artması kriter olarak kabul edilir (6). Kronik viral hepatitlerde erken karaciğer nekrozu ve viral replikasyon tanımlanırsa tedavi ile nekroinflamasyon durdurulabilir ve siroz oluşumu önlenir. Aktif B12 göstergesi olan Holo TC II karaciğer hücre harabiyetinin bir göstergesi olarak kronik viral hepatitlerde bir parametre olarak kullanılabilir mi düşüncesini desteklemek için bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada amaç aktif B12 vitaminin gerçek göstergesi olan serumda Holo TC II düzeyinin kronik viral

hepatit olgularında incelenmesi ve karaciğer hücre harabiyetinin göstergesi olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir.

MATERYAL ve METOT

Çalışmaya alınan olgular kronik viral hepatit B (HBV) ve kronik hepatit C (HCV) olarak ikiye ayrıldı. Kontrol grubu olarak sağlıklı kan donörleri seçildi. Çalışma 2004-2009 tarihleri arasında yazın çalıştığı hastanelere baş vuran hastaların serumlarında yapıldı. Kronik viral hepatit tanısı; altı aydan daha fazla süre ALT yüksekliği (normalden 2 misli), viral marker pozitifliği, karaciğer biyopsisi (fibrozis skorunun >2'den fazla olması) ve abdominal ultrasonografi ile konuldu. Viral marker açısından; kronik HBV için; HBsAg, HBeAg/anti-HBe pozitifliği, HBV DNA >10⁴-10⁵ kopya/mL olması, kronik HCV için anti-HCV ve HCV RNA düzeyinin >10³ kopya/mL olması dikkate alındı. Hasta grubunda siroz olanlar, hematolojik, kardiyolojik, renal, metabolik veya herhangi kronik bir sistem hastalığı olanlar çalışma dışında bırakıldı. Tüm hastaların tedavi öncesi serumları alındı. Tüm hastalar serolojik, biyokimyasal ve histolojik olarak kronik viral hepatit tanısı aldıktan sonra tedavi öncesi anemi, kanda demir ve demir bağlama kapasitesi, ferritin ve serum B12, folik asit açısından incelendi. Tüm hastaların abdominal ultrasonografileri, rutin kan tetkikleri ve kan biyokimyasaları yapıldı.

Kontrol grubu olarak kan bankasına başvuran sağlıklı, herhangi bir yakınması olmayan hasta grubunun yaş grubuna yakın olan son bir ayda alkol almayan olgulardan seçilmesine özen gösterildi. Bu çalışma planlanırken yerel etik kurul onayı alınmıştır.

Hastalardan tedavi öncesi alınan serumlar -20°C'de saklandı ve çalışma sırasında aynı anda çözüldü. Holo-transkobalamin II deneklerin serumunda makro ELISA ile kantitatif olarak pmol/L değeri ile çalışıldı. Kullanılan kit *Holotranskobalamin* (Abbott GmbH & Co. KG) Abbott firması tarafından temin edildi ve tüm deneklerin kan biyokimyası biyokimya laboratuvarında usulüne uygun olarak çalışıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 127 kronik HBV, 17 HCV olgusu alındı. Hastaların yaş aralığı 18-68 (ortalama 35±12.5) ve kadın erkek oranı 55/189 idi. Kontrol grubu olarak seçilen 127 kişinin yaş aralığı 18-72 (ortalama 28±16.8) ve kadın erkek oranı 27/100 olarak düzenlendi. Yapılan karşılaştırmada hastaların enzim yüksekliği ve Holo TC II serum düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Kontrol grubunun zaten karaciğer enzim yüksekliği yoktu. Serum Holo TC II düzeyi kronik HBV ve HCV olgular arasında fark yok iken kontrol grubu ile hasta grubu arasında anlamlı bir fark gösterdi. Sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir.

Bulgular özetlenecek olursa:

1. HBV ve HCV grubu arasında Holo TC II açısından fark yok (p>0.017).
2. HBV ve kontrol grubu arasında Holo TC II açısından fark var (p<0.017)
3. HCV ve kontrol grubu arasında Holo TC II açısından fark var (p<0.017)

Tablo 1: Çalışma gruplarında serum Holo TC II düzeyleri

Grup	Minumum (pmol/L)	Maksimum (pmol/L)	Median (pmol/L)
Kronik HBV (n=127)	12.74	128.00	42.07
Kronik HCV (n=17)	10.54	128.00	42.81
Kontrol (n=127)	8.68	72.54	25.72
Total	8.68	128.00	38.92

İstatistiksel analiz

Yapılan çalışmada Holo TC II, kronik HBV ve HCV olgularında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Hasta grupları ile kontrol grubu

karşılaştırıldığı zaman istatistiksel açıdan Holo TC II düzeyi açısından fark vardı. Yapılan *Kruskal-Wallis* testine göre grupları ikişerli karşılaştırmada *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Burada ikişerli

karşılaştırmada $p < 0.05$ değil $p < 0.017$ alındı. Buna *Bonferroni* düzeltilmesi denir. Bu çalışmada *Bonferroni* düzeltilmesi yapılarak gruplar arasında karşılaştırmada p değeri anlamlı bulundu.

TARTIŞMA

Kronik viral hepatitte karaciğer hücre harabiyeti viral inflamatuvar yanıt sonucu gelişen bir sonuçtur. Halen kronikleşme nedenleri tam olarak anlaşılma-yan kronik viral hepatit olgularında karaciğer parankim hücre harabiyeti, kan biyokimyası (ALT yüksekliği), serolojik (HBsAg, HBeAg/anti-HBe ve anti-HCV pozitifliği), virolojik (HBV de HBV DNA ve HCV de HCV RNA düzeyinin artması) ve histolojik olarak (biyopside fibrozis skorunun >2 olması) tanımlanmaktadır (6, 9).

Hücre içerisinde bulunan B12 vitamini, DNA yapımında rol alan, hücre membranında sinyalizasyon mekanizmasını düzenleyen önemli bir maddedir. Eksikliğinde nöral hücre harabiyeti ile birlikte olan birçok hastalık görülebilir. Vücudun B12 vitamini karaciğerde depo edilerek vücudun ihtiyacı durumunda seruma verilir. Yapılan çalışmalarda serumda aktif B12 vitaminin en iyi göstergesi Holo TC II olduğu gösterilmiştir (7). Gerek karaciğer, gerek serum B12 düzeyinin saptanması Holo TC II düzeyinin tayini ile yapılmaktadır (5, 8).

Karaciğer hastalığında B12 vitaminin seruma sızmasından dolayı serum ve plazmada yüksek bulunduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (2, 4, 8). Yapılan son çalışmalarda karaciğer hücre harabiyeti olmadan kanda B12 vitamin düzeyinin arttığı ve kanda yüksek saptanan siyanokobalamin ve yüksek bilirubinin, hepatosellüler disfonksiyon ve kolestazda iki önemli bir gösterge olduğu rapor edilmiştir (3, 4, 5). Siroz olgularında serumda B12 düzeyi normal olmasına rağmen karaciğerde depoların boşaldığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (4).

Biz yaptığımız çalışmada kronik viral hepatiti olan olgularda serumda Holo TCII düzeyini kontrol grubuna göre yüksek bulduk. Tedavi öncesi kronik viral hepatit tanısı konulan ve karaciğer hücre yıkımı olan bu olguların anemi gibi bir göstergeleri olmamasına rağmen serumlarında Holo TC II düzeyinin artmış olması karaciğer hücrelerinin bir yetmezliğinin göstergesi olabilir. Nitekim karaciğer hücresinde aktif B12 azalması hücre dejenerasyonunun önemli bir belirtisidir. Kronik viral

hepatit olgularında serumda viral yük düşük olmasına rağmen, karaciğer dokusunda viral replikasyon devam etmekte ve nekroinflamasyon ile hasta siroza gidebilmektedir (6, 9). Özellikle ALT normal olan kronik HCV olgularının %40'ında siroz geliştiği rapor edilmiştir (9). Bu durum acaba karaciğer dokusunda B12 vitamini ile ilişkili midir diye araştırılacak önemli bir nokta olabilir. Yapılan kısıtlı Holo TC II çalışmalarında hücre yüzeyinde reseptör düzeyinde etkili olan bu maddenin >50 pmol/L olması gerçek B12 yetmezliği olmadığını <35 pmol/L olması gerçek B12 yetmezliğinin göstergesi olduğunu ortaya koymuştur (10).

Bizim çalışmamızda B12 düzeyi yetmezliği hasta ve kontrol grubunda söz konusu değildir. Gerek kontrol gerek hasta grubunun serumdaki folik asit ve B12 düzeyi normal sınırlarda olmasına rağmen Holo TC II düzeyi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($p < 0.017$).

Zafarullah ve ark. (3) tarafından yapılan bir çalışmada hepatik konjesyonu olan olguların hepatik hücre nekrozu olmadan serumda B12 düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Yazarların kardiyak yetmezliğe bağlı gelişen siroz olgularında serumda saptanan yüksek kobalamin/bilirubin düzeyinin karaciğer dokusundaki kolestaz ve hepatosellüler disfonksiyonun önemli bir göstergesi olduğu belirtilmiş ve hatta karaciğer hücrelerinde hepatik nekroz olmadan artan konjesyonun bir göstergesi olarak serumda artan B12 düzeyi suçlanmıştır.

Kronik HCV olgularında interferon tedavisi sırasında anemi görülmesi Borgia (11) ve ark. tarafından gösterilmiştir. Bizim çalışmaya aldığımız hastalar hiç tedavi almayan olguları ve pernisiyöz veya başka bir nedene bağlı anemi gibi bir yakınmalan yoktu.

Beslenme bozukluğu olan malnütrisyon ve kronik alkoliklerde yapılan çalışmalarda karaciğer hücrelerinde ve endotelinde harabiyet saptanmış ve bunun yetersiz B12 sonucu olduğu gösterilmiştir (12). Özellikle kronik alkolik erkek olgularda karaciğer dokusunda azalan B12 düzeyine karşı, serumda Holo TC II düzeyi yüksek bulunmuş ve karaciğer hücre yıkım göstergesi olan ALT, AST, GGT enzimlerinde yükselmenin serum siyanokobalamin düzeyi ile pozitif bir ilişkisi olduğu belirtilmiştir (4).

Yapılan bu çalışmada savunulan tez karaciğer hücresi içerisine giremeyen B12 vitamini hücre içinde disfonksiyona neden olmakta ve bozulan

karaciğer hücresi B12 vitamini depolayamadığı için zaman süreci içerisinde apoptoza gidiyor olabilir diye düşünülebilir. Şimdiye kadar kısıtlı çalışmalarda kronik karaciğer hasarında serumda B12 düzeyi yüksek bulunmuş ama kronik viral hepatitlerde bu durum incelenmemiştir.

Bu çalışmadan çıkan sonuçlarla karaciğer hücrelerinde depolanamayan vitamin B12, hücre fonksiyonunun bozulmasına yardımcı olmakta ve viral replikasyonla artan inflamasyon hastanın hücre harabiyetinin hızlanmasına neden olmaktadır diye düşünülebilir. Bu çalışmada kanda B12 düzeyi normal olmasına rağmen hasta grubunun serumunda Holo TC II düzeyi sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda kanda gerçek B12 düzeyini gösteren Holo TC II düzeyi olduğu göz önüne alınırsa bu kronik viral hepatitlerde nekrozun bir göstergesi olabilir diye düşünmek gerekir. Yapılan bir çalışmada Holo TC II düzeyi multiple myelom ve siroz olgularında hastalığın progresyonunu gösteren akut faz reaktanı olarak bulunmuş ve bunun bir hepatik retikuloendotelial hücre bozukluğunun periferik yansıması olarak kabul edilmesi gerektiği savunulmuştur (13).

Serumda bulunan Holo TC II ve metilmalonik asit aktif B12 için iyi bir göstergedir. Bir vitamin olan B12 serumda %70-90 haptokorrine bağlanır (10). Serumda B12 vitamin düzeyini en iyi gösteren Holo TC II hücre düzeyinde reseptörde etkili olan aktif bir maddedir ve yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda serum düzeyi <35 pmol/L altında olunca gerçek B12 yetmezliğinin göstergesi olarak tanımlanmaktadır.

Bizim olgularımızda kontrol grubunda Holo TC II ortalama 25.7 pmol/L bulunmuştur fakat hiçbir olguda anemi söz konusu değildir.

Hâlâ tam olarak açıklanamayan kronik karaciğer hastalığında Holo TC II düzeyi yüksek bulunmuştur (13, 14). Daha önceden yapılan sirotik hastalarda karaciğer yetmezliğinde serum Holo TC II düzeyi akut faz reaktanı gibi retikuloendotelial bir bozulmanın sonucu olarak serumda yüksek bulunmuştur (2, 4) ve bu konunun kronik viral hepatit olgularında değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Şöyle ki karaciğer yetmezliğine bağlı artan serum Holo TC II düzeyi yıkıma uğrayan hücrelerde viral replikasyonla birlikte değerlendirilebilir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Canoruç ve ark.(2) özellikle siroz olgularının serumunda B12

düzeyini yüksek bulurken kronik viral hepatit olgularında bu düzeyi normal bulmuştur. Canoruç'un yaptığı çalışmada gerçek aktif B12 çalışması olmadığı için serumda B12 düzeyi normal bulunmuş olabilir. Zaten karaciğer hücre harabiyeti ilerlediği zaman kanda B12 düzeyi artış göstermektedir.

Bizim olgularımız tedavi öncesi, henüz siroz olmayan kronik viral hepatit olguları idi. Bu olgularda serumda gerçek B12 düzeyini gösteren Holo TC II düzeyinin yüksek bulunması karaciğer hücresinin özellikle endotel hücre yetmezliğinin bir belirtisi olarak akut faz reaktanı olarak kullanılabilir mi sorusunu akla getirmektedir.

Nedeni hâlâ tartışmalı olan kronik viral hepatitlerde hücre içerisinde bozulan sinyalizasyon hücrenin hızla yıkımına ve harabiyetine neden olmaktadır (15, 16, 17). Bu durumun hücre içinde viral replikasyon ile hızlanacağı ve karaciğer hücresinin hızla yıkıma uğrayacağı tezini ortaya koyabilir. Bu çalışmadan çıkan sonuçlarla ve ileride yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalarda Holo TC II düzeyi özellikle kronik viral hepatit olgularında kolay hızlı bir serolojik marker olarak karaciğer yetmezliğinin bir belirtisi olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Özata M. *Vitamin, Mineral, Bitkisel Ürün Rehberi*, Gurer Yayınları, 2008, İstanbul
2. Canoruç N, Canoruç F, Aslan Ç ve ark. *Karaciğer hastalarında (siroz ve hepatit) homosistein ve selenyum düzeyleri. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2006; 5: 26-30.*
3. Zafarullah H, Shahbaz A, Alturkmani R, et al. *Elevated serum cobalamin in patients with decompensated biventricular failure. Am J Med Sci 2008; 336: 383-8.*
4. Himmerich H, Angheluescu I, Klawe C, Szegedi A. *Vitamin B12 and hepatic enzyme serum levels correlate in male alcohol-dependent patients. Alcohol Alcohol 2001; 36: 26-8.*
5. Komar VI. *The blood level of cobalamin as an indicator of the functional status of the liver in jaundice of different etiologies. Lab Delo 1991; (9): 11-2.*
6. Lok AS, McMahon BJ. *Chronic hepatitis B: update 2009. Hepatology 2009; 50: 661-2.*
7. Chen X, Remacha AF, Sarda MP, Carmel R. *Influence of cobalamine deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. Am J Clin Nutr 2005; 81: 110-4.*

8. Baker H, Leevy CB, DeAngelis B, Frank O, Baker ER. Cobalamin (vitamin B12) and holotranscobalamin changes in plasma and liver tissue in alcoholics with liver disease. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 235-8.
9. Webster DP, Klenerman P, Collier J, Jeffery KJ. Development of novel treatments for hepatitis C. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:108-17.
10. Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, et al. Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2006; 52: 278-85.
11. Borgia G, Reynaud L, Gentile I, et al. Pernicious anemia during IFN-alpha treatment for chronic hepatitis C. *J Interferon Cytokine Res* 2003; 23: 11-2.
12. Orning L, Rian A, Campbell A, et al. Characterization of a monoclonal antibody with specificity for holo-transcobalamin. *Nutr Metab (Lond)* 2006; 3: 3.
13. Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High serum cobalamin levels in the clinical setting -clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol* 2001; 23: 365-71.
14. Goringe A, Ellis R, McDowell I, et al. The limited value of methylmalonic acid, homocysteine and holotranscobalamin in the diagnosis of early B12 deficiency. *Haematologica* 2006; 91: 231-4.
15. Hagelskjaer L, Rasmussen K. Methylmalonic acid concentration in serum not affected in hepatic disease. *Clin Chem*. 1992; 38: 493-5.
16. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seef LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1147-71.
17. Herrman W, Schorr H, Obeid R, Geisel J. Vitamin B12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 131-6.
18. Liappas IA, Nicolaou C, Chatzipanagiotou S, et al. Vitamin B12 and hepatic enzyme serum levels correlate with interleukin-6 in alcohol-dependent individuals without liver disease. *Clin Biochem* 2007; 40: 781-6.

YAZIŞMA ADRESİ

Prof. Dr. Fatma SIRMATEL
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı
BOLU
e-mail: sirmatel@yahoo.com