

METFORMİN TEDAVİSİNİN SERUM TOTAL VİTAMİN B₁₂, HOMOSİSTEİN VE TRANSKOBALAMİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Abidin Şimşek,¹ Ümit Aydoğan,² Özlem Cığırli,³ Halil Yaman,⁴ Kenan Sağlam⁵

¹ Etimesgut Asker Hastanesi, Birinci Basamak Muayene ve Aile Sağlığı Merkezi, Ankara

² Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Etlik, Ankara

³ Başkent Üniversitesi İstanbul Uygulama ve Araştırma Merkezi Hastanesi İstanbul

⁴ Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

⁵ Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

ÖZET

Amaç: Diabetes Mellitus (DM) ve prediyabet hastalarında sık tercih edilen metforminin nadir olmayan ve hekimler tarafından sıklıkla görmezden gelinen bir yan etkisi de vitamin B₁₂ emilim bozukluğudur. Vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısı için kullanılan serum total vitamin B₁₂ ölçümünün, serum holotranskobalamin (holoTC) ölçümüne göre daha düşük özgüllük ve duyarlılığının olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda, DM ve prediyabet hastalarında 3 aylık metformin tedavisi sonrası serum total vitamin B₁₂, homosistein ve holoTC düzeylerini karşılaştırarak tedavi sonrası vitamin B₁₂ profilini ortaya koymayı amaçladık.

Materyal Metod: Çalışmaya yeni tanı konan 17'si DM ve 13'ü prediyabet hastası olmak üzere toplam 30 hasta alındı. Metformin tedavisi başlanan hastaların başlangıçta ve takiplerinin 3. ayında kan örnekleri alı-

narak serum total vitamin B₁₂, homosistein ve holoTC seviyelerine bakıldı.

Bulgular: Üç aylık metformin tedavisi sonrası serum total vitamin B₁₂ ve holoTC düzeyleri anlamlı olarak azaldı. Serum homosistein düzeyinde ise anlamlı bir artış saptandı. Metformin tedavisi sonrası vitamin B₁₂ eksikliği; serum total vitamin B₁₂ ölçümüne göre 2 hastada (%6,6) tespit edilirken, serum holoTC ölçümüne göre 16 hastada (%53,3) saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda vitamin B₁₂ eksikliğini göstermede serum holoTC ölçümünün total vitamin B₁₂ ölçümüne göre daha özgül ve duyarlı olduğunu ve metformin tedavisi sonrası gelişebilen vitamin B₁₂ eksikliğinin sınırlardan daha sık karşılaşıldığını saptadık.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, prediyabet, metformin, vitamin B₁₂, holotranskobalamin, homosistein Nobel Med 2013; 9(3): 14-21

THE EFFECT OF METFORMIN TREATMENT ON SERUM TOTAL VITAMIN B₁₂, HOMOCYSTEINE AND TRANSCOBALAMIN LEVELS

ABSTRACT

Objective: Metformin, one of the most prescribed drug used in diabetes mellitus (DM) and prediabetic patients, can lead to vitamin B₁₂ malabsorption which is poorly recognized by the majority of physicians. Its known that total serum vitamin B₁₂ is a late, relatively insensitive and unspecific biomarker of deficiency compared to holotranscobalamin (holoTC). In our study we aimed to clear out the vitamin B₁₂ status of type 2 DM and prediabetic patients after treatment with metformin for 3 months by measuring serum total vitamin B₁₂, homocysteine and holoTC levels

Material and Method: A total of 30 newly diagnosed DM (n=17) and prediabetes (n=13) patients received

metformin. In the beginning and after 3 months of therapy, total serum vitamin B₁₂, homocysteine and holoTC measurements were performed.

Results: After 3 months of metformin therapy, subjects demonstrated a significant decrease in serum total vitamin B₁₂ and holoTC. There was a significant increase in serum homocysteine levels. After the treatment with metformin, according to serum total vitamin B₁₂ levels 2 of the patients (6.6%); and according to serum holoTC 16 of the patients (53.3%) had vitamin B₁₂ deficiency.

Conclusions: Compared to serum total vitamin B₁₂, holoTC measurement is more sensitive and specific biomarker of vitamin B₁₂ deficiency which is seen more than we thought after metformin treatment.

Key Words: Diabetes mellitus, prediabetes, metformin, vitamin B₁₂, holotranscobalamin, homocysteine Nobel Med 2013; 9(3): 14-21

GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) tedavisinde günümüzde ilk tercih edilen ilaç olan metforminin, prediyabet hastalarında diyabeti önleme ve geciktirmede olumlu etkileri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.¹ Amerikan Diyabet Derneği (ADA) ve Avrupa Diyabet Çalıştayı Birliği, tip 2 DM'li hastalarda hiperglisemi-yi kontrol altına almak için tanı anında yaşam tarzı değişikliği (beslenme, egzersiz) ile birlikte metformin başlanmasını önermektedir.²

Metformin, hepatik glukoz üretimini baskılayarak ve insülin direncini azaltarak kan şekeri düzeyini düşürür. Değişik zamanlarda yapılan çalışmalarda metformin kullanımının serum vitamin B₁₂ düzeyinde %14 ile %30 arasında değişen oranlarda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir.³⁻⁵

Metforminin sık görülen yan etkileri ise gastrointestinal sistemle ilgili ishal, bulantı, iştahsızlık, gaz ve ağızda metalik tat gibi şikayetlerdir. Bu yakınmalar, tedaviye düşük dozda başlanılıp, doz artışı kademeli olarak yapılarak ve ilacın yemek sonrası alımı sağlanarak azaltılabilmektedir.⁶

Bununla birlikte metforminin potansiyel tehlike oluşturan, bilinen bir diğer yan etkisi ise vitamin B₁₂ emilim bozukluğudur. Metformin tedavisi başlayan hekimlerin çoğu bu yan etkiyi sıklıkla önemsemektedir.⁷

Vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısı tipik olarak serum vitamin B₁₂ seviyelerinin ölçülmesine dayanır. Ancak subklinik hastaların yaklaşık %50'sinin vitamin B₁₂ seviyeleri normaldir. Vitamin B₁₂'nin hücre içine geçişi transkobalamine bağlanmış formunda (holotranskobalamin) (aktif B₁₂) gerçekleşir. Bir grup çalışma holotranskobalamin (HoloTC) ölçümünün vitamin B₁₂ eksikliğinin erken tanısında daha hassas olduğunu göstermektedir.⁸⁻¹⁰

Obeid ve Herrmann'ın 1018 hasta ile yaptıkları çalışmada, serum holoTC seviyesinin total kobalamin seviyesi ile kıyaslandığında vitamin B₁₂ eksikliği tanısında daha iyi duyarlılık ve özgüllük gösterdiğini saptamışlardır.¹¹ Woo ve ark. 184 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, özellikle serum vitamin B₁₂ seviyeleri 151-300 pmol/L düzeyinde olan hastaların tek başına serum holoTC seviyelerinin vitamin B₁₂ eksikliğini saptamada daha yararlı olduğu sonucuna varmışlardır.¹² Robinson ve ark. ise 244 yaşlı hasta üzerinde yaptıkları bir diğer çalışmada holoTC ve depresif sendromlar arasında güçlü negatif bir ilişki saptamışlardır.¹³ Aynı ilişki, total vitamin B₁₂ veya homosistein ile gösterilememiştir. Bu sonucu holoTC'nin

vitamin B₁₂ açısından daha duyarlı ve özgül olmasına bağlamışlardır. Yine lakto-vejeteryan (süt hariç yumurta ve et tüketmeyen) ve lakto-ovo-vejeteryan (süt ve yumurta hariç et tüketmeyen) hastalarla yapılan çalışmada katılımcıların %73'ünde holoTC düşük (<35 pmol/L), %63'ünde MMA (metil malonik asit) yüksek ve %33'ünde homosistein yüksek (>12 µmol/L) bulunmuştur. Aynı çalışmada katı vejeteryanlarda bu oranlar sırasıyla %90, %86 ve %55 olarak tespit edilmiştir.¹⁴

Bununla beraber, Schrempf ve ark. periferik nöropati, kognitif bozukluk, subakut kombine dejenerasyon ve diğer nedenlerle takip edilen 1279 hasta ile yaptıkları çalışmada, artmış MMA seviyeleri ile karşılaştırıldığında holoTC ve total vitamin B₁₂ ölçümlerinin bu hasta gruplarında eksikliği göstermede uygun testler olmadığı sonucuna varmışlardır.¹⁵

Metformin kullanan DM hastalarında %30'lara varan oranlarda vitamin B₁₂ emilim bozukluğu geliştiği uzun zamandır bilinmektedir.^{16,17} 2006 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada metformin kullanım süresi ve dozu ile vitamin B₁₂ eksikliği gelişmesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.¹⁸

Wulfelee ve ark. 353 Tip 2 DM hastası ile yaptıkları randomize, plasebo kontrollü çalışmada, dört aylık kısa süreli metformin kullanımında dahi serum vitamin B₁₂ seviyelerinde anlamlı bir azalma tespit etmişlerdir.¹⁹

Lin ve ark. 2004 yılında 6 yıllık metformin kullanım öyküsü olan bir DM hastasında gelişen derin ven trombozu nedeni olarak, hiperhomosisteinemi ve vitamin B₁₂ eksikliği tespit etmişlerdir. Bu hastada, metformin tedavisi kesilip vitamin desteği yapıldıktan sonraki ikinci yılda bile, serum vitamin B₁₂ seviyeleri normal sınırlarda bulunmuştur.²⁰

Mashavi ve ark.'nın metformin kullanan 60 DM hastası ile yaptıkları çift kör, plasebo kontrollü çalışmada, rastgele verilen vitamin B₁₂, folik asit ve vitamin B₆ desteğinin küçük arter elastikiyet indeksini (SAEI) anlamlı ölçüde artırdığını ve homosistein düzeyinde anlamlı düşüş sağladığını göstermişlerdir.²¹ Bu veriler ışığında, metformin kullanan DM hastalarında serum homosistein düzeyini düşürücü tedavinin damarlar üzerinde yararlı etkileri olacağı sonucuna varmışlardır.

Metformin kullanımına bağlı gelişen vitamin B₁₂ eksikliği, vitamin B₁₂'nin terminal ileumdan geçişi sırasındaki emilim bozukluğuna bağlanmaktadır. Öncele-ri, metforminin bağırsak hareketlerini etkileyerek veya intestinal glukoz seviyesini yükselterek ince bağırsaktaki bakteri oluşumunu artırdığı ve bu bozukluğa neden olduğu düşünülmekteydi.²² Günümüzde →

Tablo 1: Hastaların başlangıç ve metformin tedavisi sonrası antropometrik ve metabolik parametreleri						
		Min.	Maks.	Ort.	ss (±)	p
Ağırlık (kg)	TÖ	64	115	86,57	13,13	< 0,001
	TS	62	105	82,83	11,79	
VKİ (kg/m ²)	TÖ	26,99	41,79	32,39	4,09	< 0,001
	TS	25,31	39,35	31,02	3,84	
AKŞ (mg/dL)	TÖ	109	147	123,6	10,69	< 0,001
	TS	84	128	105,6	10,44	
HbA1c (%)	TÖ	6,1	7,5	6,6	0,38	< 0,001
	TS	5,0	7,1	5,99	0,49	
HOMA-IR	TÖ	1,30	7,56	3,53	1,60	< 0,001
	TS	1,02	4,77	2,51	1,02	
Total Kolesterol (mg/dL)	TÖ	180	242	217,03	16,71	< 0,001
	TS	144	216	192,53	14,98	
LDL (mg/dL)	TÖ	185	139,13	16,34	109	< 0,001
	TS	146	115,96	15,608	78	
HDL (mg/dL)	TÖ	69	43,40	9,27	34	0,008
	TS	75	45,50	11,17	31	
Trigliserid (mg/dL)	TÖ	261	172,40	54,19	80	0,001
	TS	247	149,80	49,01	80	
Kreatinin (mg/dL)	TÖ	1,16	0,96	0,11	0,79	0,036
	TS	1,17	0,93	0,11	0,75	
ALT (U/L)	TÖ	108	31,70	18,56	15	0,447
	TS	66	29,76	10,67	18	
TSH (µIU/mL)	TÖ	6,59	1,99	1,25	0,202	0,006
	TS	2,40	1,28	0,66	0,330	
TÖ: Tedavi Öncesi, TS: Tedavi Sonrası, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein						

Tablo 2: Metformin tedavisi öncesi ve sonrası hemogram, vitamin B ₁₂ ilişkili parametreler						
Parametre		Min.	Maks.	Ort.	ss (±)	p
Hemoglobin (g/dL)	TÖ	12,80	17,20	15,03	1,25	< 0,001
	TS	11,70	16,80	14,32	1,25	
Platelet (x10 ⁹ /µL)	TÖ	176	432	265,4	66,13	0,138
	TS	170	378	253,2	56,55	
Total Vitamin B ₁₂ (pg/L)	TÖ	200,50	462,40	297,33	67,07	< 0,001
	TS	131,50	307,60	236,42	43,31	
HoloTC (pmol/L)	TÖ	17,25	61,35	38,26	13,04	< 0,001
	TS	10,92	46,10	29,11	9,54	
Homosistein (µmol/L)	TÖ	7,50	15,80	10,29	2,28	< 0,001
	TS	8,40	17,80	11,96	2,84	
TÖ: Tedavi Öncesi, TS: Tedavi Sonrası						

daha kabul gören görüş ise metforminin terminal ileumda kalsiyum bağımlı membran işlevini etkilediği yönündedir.²³ İleal hücre yüzeyinde bulunan ve IF-B₁₂ kompleksinin emilimini sağlayan reseptörün de kalsiyum bağımlı olduğu bilinmektedir.²⁴ Bu görüşün en önemli kanıtı ise ağızdan verilen kalsiyum desteğinin metformin ilişkili vitamin B₁₂ emilim bozukluğunu giderdiğini gösteren Bauman ve ark.'larının yaptığı çalışmadır.²⁵ Bu çalışmada, metformin kullanan tip 2

DM'li hastaların diyetine günlük 1,2 g kalsiyum karbonat eklendiğinde metformine bağlı serum holoTC seviyesindeki düşüş durmuş ve serum düzeyleri tekrar yükselmiştir. Fakat aynı artış serum vitamin B₁₂ düzeylerinde tespit edilememiştir.

Bell, 69 yaşında metformin kullanan iyi kontrollü tip 2 DM'li bir hastada, vitamin B₁₂ eksikliği sonucu gelişen periferik nöropatinin tedaviye rağmen bir yıl sonra iyileşme göstermediğini tespit etmiştir.²⁶ Bu nedenle vitamin B₁₂ eksikliği gelişmeden bu hasta grubunda günlük ilave vitamin B₁₂ veya kalsiyum karbonat desteği yapılmasının düzenli vitamin B₁₂ ölçümlerine göre daha pratik ve maliyet etkin olabileceği sonucuna varmıştır.

Bu çalışmanın amacı DM ve prediyabet hastalarında metformin tedavisi sonrası serum vitamin B₁₂, homosistein ve holotranskobalamin seviyeleri arasındaki ilişkiyi saptamaktır.

MATERYAL ve METOD

1. Çalışma grubunun seçimi

Bu çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi (GATA) İç Hastalıkları Polikliniğine, Kasım 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında başvuran, yeni tanı konan tip 2 DM ve prediyabeti olan 30 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir.

2. Çalışmaya dahil olma kriterleri

- 1- ADA 2009 kriterlerine göre Diabetes mellitus tanısı alan hastalar
- 2- Bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve/veya Bozulmuş glukoz toleransı (BGT) olan prediyabet hastaları
- 3- Serum vitamin B₁₂ ≥200 pg/L olan hastalar

3. Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

- 1- 18 yaş altı ve 65 yaş üstü hastalar
 - 2- Gebeler
 - 3- Vitamin B₁₂ eksikliği yapan durumlar (pernisyöz anemi, proton pompa inhibitörü kullanımı öyküsü, mide ve bağırsak cerrahisi öyküsü, atrofik gastrit, malabsorpsiyon sendromları, kronik alkol kullanımı)
 - 4- Kanseri tanısı olan veya tedavisini alan hastalar
 - 5- Psikiyatrik bozukluğu olan hastalar
 - 6- Kronik böbrek ve kronik karaciğer yetersizliği olan hastalar
 - 7- Vitamin B₁₂ eksikliği nedeniyle tedavi almış olan hastalar
 - 8- Daha önce herhangi bir nedenle metformin kullanan hastalar
 - 9- Sistemik ilaç kullanan hastalar (hiperlipidemi, hipotiroit, vb.)
- İç Hastalıkları polikliniğinde muayene edilen her hasta kronik hastalıklar ve ilaç kullanımı açısından ayrıntılı öykü alınarak fizik muayenesi yapıldı. Çalışmaya →

dahil olma kriterlerine uyan hastaların verileri araştırmacı tarafından hazırlanan hasta bilgi formuna kaydedildi. Hastalar çalışma ile ilgili bilgilendirildi ve aydınlatılmış onamları alındı. GATA Yerel Etik Kurulu'nun 1491-707-09/1539 sayı ve 13 Temmuz 2009 tarihli İlaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu raporu ile onay alınmıştır.

Homosistein ve holoTC ölçümü için alınan serum örnekleri ölçüm yapılncaya kadar -80°C'de saklandı. Oluşabilecek gastrointestinal şikayetleri en aza indirebilmek için ilk hafta 850 mg metformin hidroklorür (yalnız akşam dozları) verildi. Sonrasında sabah ve akşam yemeklerinin başlangıcında alınmak üzere günde iki kez 850 mg sabit doz metformin hidroklorür ilaç tedavisi başlandı. Tedavi başlangıcından 3 ay sonra değerlendirme yapılarak bir gecelik açlık sonrası hastaların tetkikleri biyokimya laboratuvarında çalışıldı.

4. Biyokimyasal Ölçümler

Hastaların biyokimyasal parametrelerini ölçmek için gereken kan örnekleri, en az 12 saat açlıktan sonra sabah 9 ile 11 saatleri arasında alındı.

Hastaların tam kan, serum glukoz, üre, kreatinin, AST, ALT, sodyum, potasyum, serbest T3, serbest T4, TSH, lipid profili (total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve trigliserid), vitamin B₁₂, homosistein, HbA1c ve bazal insülin tetkikleri GATA Biyokimya laboratuvarında, serum holoTC ise GATA Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıldı.

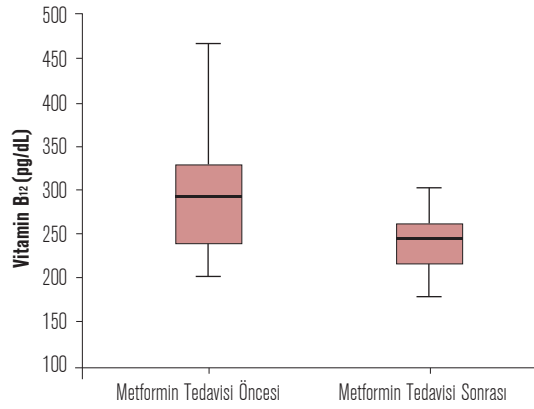
Hemogram için alınan 4 ml kan, K 3 EDTA tüpüne alınarak 1 saat içinde flowsitometri yöntemiyle ABXPENTRO DX120 cihazında ölçüldü.

Serum örneklerinde; AKŞ, kreatinin, total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid değerleri Olympus 2700 AU cihazı kullanılarak ölçüldü. (Olympus Diagnostics, GmbH, Hamburg, Germany). Düşük dansiteli lipoprotein (LDL kolesterol mg/dl=Total kolesterol-(HDL kolesterol+Trigliserid/5) şeklinde hesaplanarak bulundu. Serum bazal insülin değerleri coated tüp yöntemiyle hesaplandı (DPC-USA). HbA1c ve serum homosistein ölçümleri, high-performance liquid chromatography (HPLC) yöntemiyle Shimadzu cihazında yapıldı. Serum vitamin B₁₂ ölçümleri, Unicel DXI 800 cihazı kullanılarak yapıldı (Beckman Coulter, Ireland). Serum holoTC ölçümleri "microparticle enzyme immunoassay" (MEIA) tekniği kullanılarak AxSYM cihazında yapıldı.

Homosistein için normal değerler 5-14 µmol/L olarak kabul edildi. Vitamin B₁₂ için 200 pg/L'nin altı dü-

Tablo 3: Tedavi öncesi serum vitamin B ₁₂ ve holotranskobalamin düzeylerine göre dağılımları				
		HoloTC (pmol/L)		Toplam (n)
		Düşük (<35 pmol/L)	Normal (≥ 35 pmol/L)	
Total Vitamin B ₁₂ (pg/L)	Sınırdan (200-300 pg/L)	11	6	17
	Normal (>300 pg/L)	0	13	13
Toplam (n)		11	19	30

Tablo 4: Tedavi sonrası serum vitamin B ₁₂ ve holotranskobalamin düzeylerine göre dağılımları				
		HoloTC (pmol/L)		Toplam (n)
		Düşük (<35 pmol/L)	Normal (≥ 35 pmol/L)	
Total Vitamin B ₁₂ (pg/L)	Düşük (<200 pg/L)	2	0	2
	Sınırdan (200-300 pg/L)	14	13	27
	Normal (>300 pg/L)	0	1	1
Toplam (n)		16	14	30



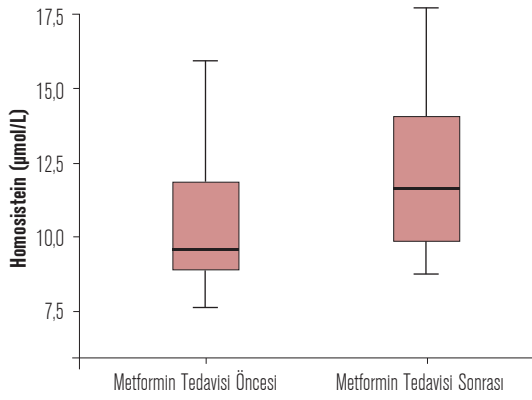
Şekil 1: Metformin tedavisi öncesi ve sonrası serum total vitamin B₁₂ dağılımı

şük değer, 200-300 pg/L arasında değer sınır ve 300 pg/L üstü ise normal değer olarak kabul edildi. Serum vitamin B₁₂ seviyesine göre hastalar düşük, sınır ve normal olarak gruplandırıldı. Serum holoTC için sınır değer, yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi 35,0 pmol/L (65-69) kabul edildi.

5. İstatistiksel Analizler

Tüm veriler bilgisayar ortamına aktararak istatistiksel analizler için SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiksel veriler, ortalama ± standart sapma, % olarak verildi. Sürekli verilerin analizi için öncelikle Kolmogorov Smirnov uyum iyiliği testi ile normallik analizlerine bakıldı. Çalışma sonucunda tüm veriler normal dağılıma uyduğundan parametrik testler kullanıldı. İki grubun karşılaştırılması gerekli olduğunda, bağımlı gruplarda Paired Sample T test, bağımlı olmayan gruplarda Independent Sample T testi kullanıldı. Dikkate alınan değişkenler arasındaki →

**METFORMİN TEDAVİSİNİN
SERUM TOTAL VİTAMİN
B₁₂, HOMOSİSTEİN VE
TRANSKOBALAMİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**



Şekil 2: Metformin tedavisi öncesi ve sonrası serum homosistein dağılımı

ilişki, Pearson korelasyon testi ile araştırıldı. İstatistiksel olarak p değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya GATA İç Hastalıkları Polikliniğine Kasım 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında başvuran, Tip 2 DM veya prediyabet tanısı konan 30 hasta alındı. Hastaların %53,4'ü (n=16) kadın, %46,6'sı (n=14) erkek hastalardan oluşuyordu. Hasta grubunun yaş ortalaması 54,7±9,6 (33-65 yıl) olarak bulundu.

Hastaların tedavi öncesi ve metformin tedavi sonrası bakılan andropometrik/metabolik parametreleri Tablo 1'de ve hemogram, vitamin B₁₂ ilişkili parametreler Tablo 2'de verilmiştir.

Metformin tedavisi sonrası hastaların serum total vitamin B₁₂ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşme saptandı (p<0,001) (Şekil 1).

Hastaların serum homosistein düzeyleri incelendiğinde; metformin tedavisi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edildi (p<0,001) (Şekil 2). Serum holoTC düzeyleri incelendiğinde metformin tedavisi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düşme saptandı (p<0,001) (Şekil 3).

Hastaların tedavi öncesi serum total vitamin B₁₂ ve serum holoTC seviyeleri incelendiğinde; total vitamin B₁₂ düzeyleri sınır değerler içinde olan 17 hastanın 11'inde holoTC seviyesi düşük bulundu (Tablo 3). Tedavi öncesi serum vitamin B₁₂ düzeyi 300 pg/L'den yüksek olan 13 hastanın tamamının serum holoTC düzeyleri de normal sınırlar içinde tespit edildi. Tedavi sonrasında ise total vitamin B₁₂ düzeyleri sınır değerler içinde tespit edilen 27 hastanın 14'ünde holoTC seviyesi düştü (Tablo 4). Buna karşın yalnız bir hastanın hem vitamin B₁₂ hem de holoTC düzeyi normaldi. Hastaların hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası, serum vitamin B₁₂ düzeyi ile serum homosistein düzeyleri

arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki tespit edildi (sırasıyla r=-0,444, p=0,014 ve r=-0,446, p=0,014). Hastaların tedavi öncesinde serum vitamin B₁₂ ve holoTC düzeyleri arasında tedavi öncesi ve sonrası pozitif ilişki bulundu (sırasıyla r=0,752, p<0,001 ve r=0,638, p<0,001). Serum homosistein ve holoTC arasında ise tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında negatif ilişki tespit edildi (sırasıyla, r=-0,678, p<0,001 ve r=-0,850, p<0,001).

TARTIŞMA

Glukoz metabolizma bozukluklarının görülme sıklığı her geçen gün artış göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bu artış özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde endemik boyutlara varmıştır. DM hastalığının öncülü kabul edilen prediyabet ise tedavi edilmediği takdirde 4-6 yıl içerisinde diyabete ilerlemektedir.

Metformin; uzun süreli kullanım deneyimi, düşük maliyeti ve mükemmel güvenilirlik raporları nedeniyle hem DM hastalarında hem de prediyabet hastalarında ilk tercih edilmesi gereken ajandır.²⁷ Ancak metforminin uzun süreli kullanımında özellikle vitamin B₁₂ metabolizması üzerinde ciddi yan etkileri bildirilmektedir. Metformin kullanımı vitamin B₁₂, folat ve holoTC'nin serum düzeylerini azaltırken, serum homosistein ve MMA düzeylerini ise artırmaktadır.

Metforminin vitamin B₁₂ eksikliği oluşturması hakkında birkaç hipotez mevcuttur. Bunlardan en çok kabul göreni; metforminin terminal ileumda kalsiyum bağımlı membran işlevini bozarak vitamin B₁₂ emilimini engellediğini savunan hipotezdir. Ayrıca IF-B₁₂ kompleksinin bağlandığı ileal hücre membran reseptörünün kalsiyum bağımlı olduğu bilinmektedir. Bu durumda metformin kullanımı sırasında IF-B₁₂ kompleksi yeterli dahi olsa ileumdan vitamin B₁₂ emilimi azalmaktadır.²⁸

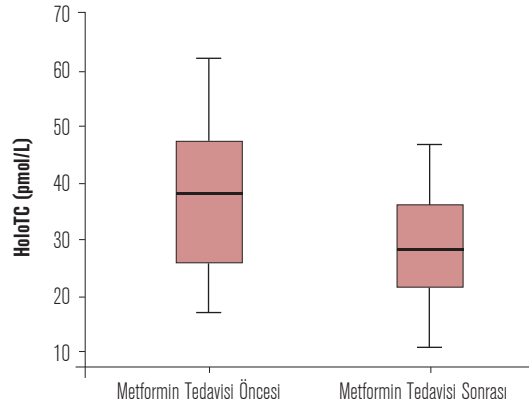
Tomkin ve ark. uzun süreli metformin tedavisi alan 71 DM'li hastanın 4'ünde (%5,63) vitamin B₁₂ eksikliği bulmuşlardı.¹⁶ Filioussi ve ark. ise metformin kullanan 600 DM'li hastanın ortalama 11,8 yıl takibi sonucunda 54 hastada (%9) vitamin B₁₂ eksikliği ve buna bağlı megaloblastik anemi tespit etmişlerdi.²⁹ Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda, hastalarımızda 3 aylık standart doz metformin tedavisi sonrasında %6,6 (n=2) oranında vitamin B₁₂ eksikliği tespit ettik.

Başlangıçta, serum vitamin B₁₂ değerleri sınırda ve normal kabul edilen hastalar çalışmaya dahil edilmişken; çalışmanın sonunda yapılan ölçümlerde bu hastaların %36,6'sında (n=11) serum holoTC düzeyleri anlamlı düşme saptandı. Buna göre, vitamin B₁₂ →

eksikliğini saptamada kullanılan serum total vitamin B₁₂ ölçümü yetersiz kalmış ve çalışma grubundaki hastaların üçte birinde mevcut vitamin B₁₂ eksikliğini gösterememişti. 3 aylık metformin tedavisi sonrasında ise hastaların %53,3'ünde (n=16) serum holoTC düzeylerini düşük saptadık. Serum holoTC ölçümlerine göre, başlangıçta vitamin B₁₂ eksikliği olmayan toplam 19 hastanın metformin tedavisi sonrasında 5'inde (%26,3) vitamin B₁₂ eksikliği gelişti. Bu oran, metformin tedavisi sonrası görülen vitamin B₁₂ eksikliğinin bilinenin çok üzerinde olduğunu düşündürmektedir.

Obeid ve Herrmann 1018 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, holoTC ve MMA ölçümlerine göre vitamin B₁₂ eksikliği tespit edilen 131 hastanın yalnızca 28'inde (%21,3) serum total vitamin B₁₂'yi düşük bulmuşlardı.¹¹ Çalışmamızda ise serum holoTC ölçümü ile vitamin B₁₂ eksikliği tespit edilen toplam 16 hastanın yalnız 2'sinde (%12,5) serum total vitamin B₁₂ düzeyi düşük bulundu. Metformin tedavisi sonrasında serum total vitamin B₁₂ ve serum holoTC düzeylerinde sırasıyla %20,4 ve %23,9 oranlarında anlamlı azalma ve serum homosistein düzeylerinde %16,2 oranında anlamlı artış saptandı. Wulffele ve ark. 353 tip 2 DM hastası ile yaptıkları randomize, plasebo kontrollü çalışmada, dört aylık metformin kullanımı sonrasında hastaların serum total vitamin B₁₂ seviyelerinde ortalama %14 oranında düşme ve homosistein düzeylerinde ise %4 oranında artış saptamışlardır.¹⁹ Vitamin B₁₂ seviyesindeki azalma çalışmamızı desteklerken homosistein düzeyindeki artış sonuçlarımızdan düşük olduğu görüldü. Bu farkın homosistein düzeylerinin birçok faktörden (yaş, cinsiyet, beslenme durumu, sigara içimi, ilaçlar ve hastalıklar) etkilenmesi ile açıklanabileceğini düşündük.²⁰ Mashavi ve ark.'nın metformin kullanan 60 DM hastası ile yaptıkları çift kör, plasebo kontrollü çalışmada rastgele seçilen bir gruba günlük ağızdan folat, vitamin B₁₂ ve B₆ desteği verilirken diğer gruba plasebo verilmek suretiyle arter elastikiyetini ve metabolik parametreleri incelemişlerdir.²¹ Buna göre plasebo alan grupta tedavi öncesine kıyasla vitamin B₁₂ seviyelerinde %6,6 oranında düşme ile homosistein düzeylerinde hafif artış saptamışlardır. Görüldüğü üzere tespit edilen oranlar bizim çalışmamızla karşılaştırılınca daha düşük seviyede idi. Biz bu durumu, çalışmaların yapıldığı ülkelerdeki et, süt ve süt ürünlerinin bizim ülkemize göre daha fazla tüketilmesiyle açıklanabileceğini değerlendirdik.

Metformin tedavisi sonrasında görülen serum homosistein düzeyindeki ortalama 1,67 µmol/L'lik artış, Wulffele ve ark.'nın yaptıkları çalışmada bulduğu artışın yaklaşık dört katıydı.¹⁹ Bununla birlikte homosisteindeki artışın ne kadarı vitamin B₁₂ düzeyindeki azalmaya, ne kadarı da folik asit düzeyindeki azalmaya bağlı olduğu ortaya konamamıştır. Ayrıca homosistein düzeyi



Şekil 3: Metformin tedavisi öncesi ve sonrası serum holoTC dağılımı

yaş, cinsiyet, beslenme durumu, sigara içimi, ilaçlar ve hastalıklardan etkilenmektedir. Bu artışın klinik önemi henüz belirgin olmasa da göz ardı edilemez. 2002 yılında yapılan bir meta-analizde, DM olmayan bireylerin serum homosistein düzeylerinde yaklaşık 3 µmol/L'lik sürekli bir artışın koroner arter hastalığı ve inme riskini sırasıyla %10 ve 20 artırdığı gösterilmiştir.³⁰ Böyle bir riskin DM hastalarında daha yüksek olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur.^{31,32}

Hastaların serum total vitamin B₁₂ düzeyleri normal (>300 pg/L), sınırda (200-300 pg/L) ve düşük (<200 pg/L) olarak sınıflandırılarak incelendiğinde; tedavi öncesi ve sonrasında normal grupta yer alan hastaların tamamının (sırasıyla, n=13, n=1) holoTC seviyeleri normal (>35 pmol/L) tespit edildi. Ancak serum total vitamin B₁₂ düzeyleri sınır değerlerde olan hastaların tedavi öncesinde %64,7'sinin tedavi sonrasında ise %51,8'inde serum holoTC düzeyleri düştü (<35 pmol/L). Bu sonuçlar ışığında serum total vitamin B₁₂ seviyeleri >300 pg/L olduğu durumlarda gizli vitamin B₁₂ eksikliği dışlanabilir. Bununla beraber, serum total vitamin B₁₂ düzeyleri 200-300 pg/L aralığında ise testin hem duyarlılığı hem de özgüllüğü azalmaktadır. Woo ve ark. 184 hasta ile yaptıkları çalışmada, çalışmamıza benzer nitelikte serum total vitamin B₁₂ seviyeleri 151-300 pmol/L ise vitamin B₁₂ profilini değerlendirmek için holoTC ölçümünün daha yararlı olduğunu göstermişlerdir.¹²

Çalışmamızda elde ettiğimiz bir diğer sonuç; serum total vitamin B₁₂, homosistein ve holoTC seviyeleri arasında bulunan anlamlı ilişkiydi. Serum homosistein düzeyi ile hem serum total vitamin B₁₂ hem de serum holoTC düzeyleri arasında negatif yönde korelasyon mevcuttu. Bu durum vitamin B₁₂ eksikliğinde homosisteinin metionine dönüşümünün engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda serum total vitamin B₁₂ ile serum holoTC seviyeleri arasında ise pozitif yönde güçlü bir korelasyon saptandı. Her iki değer birlikte azalması, holoTC'nin vitamin B₁₂'nin kanda taşınan aktif formu olması ile açıklanabilir. Çalışmamızda metformin tedavisinin lipid profili üzerine →

**METFORMİN TEDAVİSİNİN
SERUM TOTAL VİTAMİN
B₁₂, HOMOSİSTEİN VE
TRANSKOBALAMİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

olan etkisi incelendiğinde 3 aylık takip sonucunda serum total kolesterol, LDL ve trigliserid seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlanırken, serum HDL seviyesinde anlamlı bir artış sağlandığı görüldü. Bu azalmalar, total kolesterol için ortalama 24,50 mg/dL, LDL için 24,17 mg/dL ve trigliserid için 22,60 mg/dL olarak tespit edildi. HDL değerindeki artış ise 2,1 mg/dL ölçüldü. Bu sonuçları mevcut literatür verileri destekler nitelikteydi.^{33,34} Metforminin lipid profili üzerine olan bu olumlu etkisi insülin direncindeki azalmayla ilişkilendirilse de kalıcı olmadığı ve metforminin tera-
pötik etkinliğine bağlanamayacağı düşünülmektedir.³⁵ Hastaların metformin tedavisi sonrası tam kan parametreleri incelendiğinde hemoglobin düzeylerinde ortalama 0,71 g/dL'lik bir düşüş saptadık. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte hasta grubunda anemiye yol açacak kadar şiddetli değildi. Vitamin B₁₂ eksikliği sonucu anemi gelişmesi aslında beklenen bir durumdu. Ancak çalışmamızın süresinin 3 ay ile kısıtlı olması nedeniyle hemoglobin düzeylerinde anemiye yol açacak bir düşme gözlemleyemediğimizi düşünmekteyiz.

SONUÇ

Çalışmamızdaki tüm bulgular göz önüne alındığında vitamin B₁₂ eksikliğini göstermede serum vitamin

B₁₂ düzeyi ölçümünün yetersiz kaldığını ve çalışmaya dahil edilen DM ve prediyabet hastaların metformin tedavisi sonrası yarısından fazlasında vitamin B₁₂ eksikliği geliştiğini saptadık.

Türkiye'de gelişmiş ülkelere göre daha az et, süt ve süt ürünü tüketildiği bilinen bir gerçektir. Bu gerçek hastalarda artmış vitamin B₁₂ eksikliği riski açısından göz önüne alınmalıdır.

DM ve prediyabet hastalarının birinci basamakta erken tanı ve tedavisinde ilk tercih edilecek ajan olan metformini hastalarına önerecek olan aile hekimleri, vitamin B₁₂ eksikliği ve anemi açısından da hastalarını takip etmeli ve önlem almalıdır. Vitamin B₁₂ eksikliği sonucunda görülebilecek olan nöropsikiyatrik bulgular, diyabetik nöropati bulguları ile örtüşebildiğinden, hastaları vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı kalıcı nörolojik hasarlardan korumak için düzenli aralıklarla vitamin B₁₂ seviyeleri araştırılmalıdır. Güvenilir metotlarla (serum holoTC, MMA ve homosistein ölçümü gibi) düzenli aralıklarla vitamin B₁₂ eksikliğinin araştırılmasının veya bu ölçümlerin birinci basamakta yapılmasının güçlüğü nedeniyle hastalara profilaktik olarak vitamin B₁₂ desteğinin yararlı olacağını düşünmekteyiz.

İ	İLETİŞİM İÇİN: Özlem Cigertli Başkent Üniversitesi İstanbul Uygulama ve Araştırma Merkezi Hastanesi Oymacı sokak No:7 Altunizade, İstanbul, ozlemcigertli@gmail.com
✓	GÖNDERDİĞİ TARİH: 29 / 05 / 2012 • KABUL TARİHİ: 07 / 12 / 2012

KAYNAKLAR

1. Lilly M, Godwin M. Treating prediabetes with metformin: systematic review and meta-analysis. *Can Fam Physician* 2009; 55: 363-369.
2. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1963-1972.
3. Kos E, Liszek MJ, Emanuele MA, Durazo-Arvizu R, Camacho P. The effect of metformin therapy on vitamin D and B12 levels in patients with diabetes mellitus type 2. *Endocr Pract* 2011; 22: 1-16.
4. Nervo M, Lubini A, Raimundo FV, et al. Vitamin B12 in metformin-treated diabetic patients: a cross-sectional study in Brazil. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57: 46-49.
5. Mahajan R, Gupta K. Revisiting metformin: Annual vitamin B12 supplementation may become mandatory with long-term metformin use. *J Young Pharm* 2010; 2: 428-429.
6. Bailey CJ, Wilcock C, Scarpello JH. Metformin and the intestine. *Diabetologia* 2008; 51: 1552-1553.
7. Bell DS. Metformin- induced vitamin B12 deficiency presenting as a peripheral neuropathy. *South Med J* 2010; 103: 265-267.
8. Lindgren A, Kilander A, Bagge E, Nexø E. Holotranscobalamin-a sensitive marker of cobalamin malabsorption. *Eur J Clin Invest* 1999; 29: 321-329.
9. Tisman G, Vu T, Amin J, et al. Measurement of red blood cell vitamin b12: a study of the correlation between intracellular B12 content and concentrations of plasma holotranscobalamin II. *Am J Hematol* 1993; 43: 226-229.
10. Herbert V, Fong V, Gulle V, Stopler T. Low holotranscobalamin II is the earliest serum marker for subnormal vitamin B12 (cobalamin) absorption in patients with AIDS. *Am J Hematol* 1990; 34: 132-139.
11. Obeid R, Herrmann W. Holotranscobalamin in laboratory diagnosis of cobalamin deficiency compared to total cobalamin and methylmalonic acid. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 1746-1750.
12. Woo KS, Kim KE, Park JS, Park JI, Han JY. Relationship between the levels of holotranscobalamin and vitamin B12. *Korean J Lab Med* 2010; 30: 185-189.
13. Robinson D, O'Luanigh C, Tehee E, et al. Associations between holotranscobalamin, vitamin B12, homocysteine and depressive symptoms in community-dwelling elders. *Int J Geriatr Psychiatry* 2011; 26: 307-313.
14. Hermann 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: 131-136.
15. Schrempf W, Eulitz M, Neumeister V, et al. Utility of measuring vitamin B12 and its active fraction, holotranscobalamin, in neurological vitamin B12 deficiency syndromes. *J Neurol* 2011; 258: 393-401.
16. Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA. Vitamin B12 status of patients on long-term metformin therapy. *Br Med J* 1971; 2: 685-687.
17. Caspary WF, Creutzfeldt W. Analysis of the inhibitory effect of biguanides on glucose absorption: inhibition of active sugar transport. *Diabetologia* 1971; 7: 379-385.
18. Ting RZ, Szeto CC, Chan MH, Ma KK, Chow KM. Risk factors of vitamin B12 deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1975-1979.
19. Wulffélé MG, Kooy A, Leher P, et al. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J Inter Med* 2003; 254: 455-463.
20. Lin HY, Chung CY, Chang CS, Wang ML, Lin JS. Hyperhomocysteinemia, deep vein thrombosis and vitamin B12 deficiency in a metformin-treated diabetic patient. *J Formos Med Assoc* 2007; 106: 774-778.
21. Mashavi M, Hanah R, Boaz M, et al. Effect of homocysteine-lowering

therapy on arterial elasticity and metabolic parameters in metformin-treated diabetic patients. *Atherosclerosis* 2008; 199: 362-364.

22. Caspary WF, Zavada I, Reimold W, et al. Alteration of bile acid metabolism and vitamin B12 absorption in diabetics on biguanides. *Diabetologia* 1977; 13: 187-193.
23. Schafer G. Some New aspects on the interaction of hypoglycemia-producing biguanides with biological membranes. *Biochem Pharmacol* 1976; 25: 2014-2024.
24. Carmel R, Rosenberg AH, Lau KS, Streiff RR, Herbert V. Vitamin B12 uptake by human small bowel homogenate and its enhancement by intrinsic factor. *Gastroenterology* 1969; 56: 548-555.
25. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption Induced by metformin. *Diabetes Care* 2000; 23: 1227-1231.
26. Bell DS. Metformin-induced vitamin B12 deficiency presenting as a peripheral neuropathy. *South Med J* 2010; 103: 265-267.
27. Crandall JP, Knowler WC, Kahn SE, et al. Diabetes Prevention Program Research Group. The prevention of type 2 diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 382-389.
28. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000; 23: 1227-1231.
29. Filioussi K, Bonovas S, Katsaros T. Should we screen diabetes patients using biguanides for megaloblastic anemia? *Aust Fam Physician* 2003; 32: 383-384.
30. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: 6000 events in 30 observational studies. *JAMA* 2002; 288: 2015-2022.
31. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Eysink PE, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin dependent diabetes mellitus: a population-based study. *Arteriscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 133-138.
32. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, et al. Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes: 5-year follow-up of the Horn Study. *Circulation* 2000; 101: 1506-1511.
33. Kurukulasuriya LR, Sowers JR. Therapies for type 2 diabetes: lowering HbA1c and associated cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Diabetol* 2010; 9: 45.
34. Aghahosseini M, Aleyaseen A, Safdarian L, et al. Metformin 2.500 mg/day in the treatment of obese women with polycystic ovary syndrome and its effect on weight, hormones and lipid profile. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 282: 691-694.
35. Bailey CJ. Treating insulin resistance in type 2 diabetes with metformin and thiazolidinediones. *Diabetes Obes Metab* 2005; 7: 675-691.