

Holotranskobalamin ve Vitamin B12 Düzeyleri Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi

Evaluation of the Concordance Between Holotranscobalamin and Vitamin B12 Levels

Didem Barlak Ketİ Sabahattin Muhtarođlu

* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, Kayseri, Türkiye

Başvuru Tarihi: 02 Ağustos 2021

Kabul Tarihi: 29 Aralık 2021

ÖZET

Amaç: Total vitamin B12 eksikliği olan hastalarda; holotranskobalamin (holoTC) düzeylerini analiz ederek total vitamin B12 ve holoTC ölçüm sonuçları arasındaki uyumu değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Serum total vitamin B12 düzeyi düşük çıkan hasta numunelerinden (n=98) rastgele seçilen serum örneklerinde holoTC düzeyi, Architect 2000i analizöründe kemilüminesan mikropartikül immünoassay yöntemiyle analiz edildi. HoloTC eksikliği için <47 pg/mL (<35 pmol/L) cut-off değeri olarak tanımlandı. HoloTC düzeyi bu değerin altında olanlar total vitamin B12 düzeyiyle uyumlu, bu değerin üstünde olanlar ise uyumsuz olarak değerlendirildi.

Bulgular: Serum total vitamin B12 ve holoTC için ortalama \pm standart sapma sırasıyla 147 ± 29 ve 39.29 ± 18.60 pg/mL olarak tespit edildi. HoloTC ve total vitamin B12 düzeyleri arasında anlamlı zayıf bir korelasyon gözlemlendi ($r = 0.249$, $p = 0.013$). Regresyon denklemi; $\text{holoTC} = 15.91 + 0.158 \text{ total vitamin B12}$ şeklinde belirlendi. Total vitamin B12 düzeyi düşük olan 98 hastanın %26'sının holoTC düzeyi yeterliydi.

Sonuç: HoloTC'nin, hastanın kliniği doğrultusunda total B12 yerine kullanımı veya refleks test olarak rutine dahil edilmesi hastaların tanı ve takibinde yararlı olabilir.

Anahtar sözcükler: Holotranskobalamin; vitamin B12; vitamin B12 eksikliği

ABSTRACT

Objective: To evaluate the consistency between total vitamin B12 and holotranscobalamin (holoTC) measurement results by analyzing holoTC levels in patients with total vitamin B12 deficiency.

Didem Barlak Ketİ : <https://orcid.org/0000-0002-1405-6297>
Sabahattin Muhtaroglu : <https://orcid.org/0000-0002-5644-2620>

Yazışma adresi: Didem Barlak Ketİ
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi
Biyokimya, Kayseri, Türkiye
E-mail: dbarlakketi@erciyes.edu.tr

Material and Methods: HoloTC level was analyzed by chemiluminescent microparticle immunoassay method in randomly selected serum samples from patient samples (n=98) whose serum total vitamin B12 level was low. <47 pg/mL (<35 pmol/L) was defined as the cut-off value for active B12 deficiency. Those with holoTC levels below this value were considered consistent with the total B12 levels, and those above this value were considered as inconsistent.

Results: The mean \pm standard deviation for serum total vitamin B12 and a holoTC was 147 ± 29 and 39.29 ± 18.60 pg/mL, respectively. A weak and significant correlation was observed between holoTC and total vitamin B12 levels ($r = 0.249$, $p = 0.013$). The regression equation was determined as $\text{holoTC} = 15.91 + 0.158 \text{ total vitamin B12}$. HoloTC level was sufficient in 26% of 98 patients with low total vitamin B12 levels.

Conclusion: The use of holoTC instead of total vitamin B12 according to the patient's clinic data or the inclusion of holoTC as a reflex test in the routine may be useful in the diagnosis and follow-up of patients.

Key words: Holotranscobalamin; vitamin B12; vitamin B12 deficiency

GİRİŞ

Vitamin B12, metabolizmada metiyonin sentaz ve metil malonil-koenzim A mutazın kofaktörüdür (1). Emilim sonrası dolaşıma katılan vitamin B12'nin yaklaşık %80'i haptokorrine, %10-30'u da transkobalamine bağlanır. Yalnızca transkobalamine bağlı form holotranskobalamin (holoTC), aktif B12) biyolojik olarak aktiftir. Total vitamin B12 düzeyi, hem aktif hem de aktif olmayan (holohaptokorrin) formun toplamını yansıtır (2). Total vitamin B12 analizinde en önemli sınırlamalardan biri, ölçülen kobalaminin çoğunu, haptokorrine bağlı formun oluşturmasıdır. Dolayısıyla total vitamin B12 seviyelerindeki düşüklük her zaman gerçek vitamin B12 eksikliğini yansıtmayabilir ve klinik ile uyumsuz vakalarla karşılaşılabilir. Özellikle haptokorrin konsantrasyonunu artıran veya azaltan durumlar (gebelik, postmenopozal hormon replasman tedavisi, malignite, karaciğer hastalıkları) total vitamin B12 düzeylerinde değişikliğe neden olabilir (3).

Holohaptokorrin ile karşılaştırıldığında holoTC, daha kısa yarılanma ömrüne sahiptir, dolayısıyla holoTC'nin, kobalamin yetersizliğinin en erken göstergelerinden biri olduğu belirtilmektedir (4). HoloTC'yi ölçmek için güvenilir yöntemler kullanıma sunulmuş olup (5), özellikle total vitamin B12 düzeyi gri zonda 200-350 pg/mL (148-258 pmol/L) olan hastalarda kullanımı ön plana çıkmıştır (6). Ancak, klinikle uyumsuz düşük total B12 değeri olan hastalarla da karşılaşmaktadır.

Bu hastalarda holoTC ölçümü klinikle uyumsuz sonuçların yorumlanmasına katkı sağlayabilir. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı, total vitamin B12 eksikliği olan hastalarda; holoTC düzeylerini ölçerek, total vitamin B12 ve holoTC düzeyleri arasındaki uyumu değerlendirmek ve tutarsızlığa neden olabilecek olası faktörleri gözden geçirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kesitsel olarak planlanan bu çalışma, Mart 2017'de Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran ve total vitamin B12 düzeyi düşük çıkan hastalardan rastgele seçilen 19-80 yaş arası (51 kadın ve 47 erkek) toplam 98 hastayı kapsadı.

Yaklaşık bir aylık süre boyunca total vitamin B12 istemi yapılan ve total vitamin B12 eksikliği için belirlenen cut-off değerinin altında olan 98 hastanın serum örneği ayrılarak holoTC ölçümü için -20° C'de yaklaşık 1 ay muhafaza edildi.

Karaciğer yetmezliği olan, glomerüler filtrasyon hızı (GFR) <30 mL/gün ve 18 yaşından küçük hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların yaş, cinsiyet, ilaç kullanımı, otoimmün hastalık, malignite, folik asit eksikliği, vitamin B12 kullanımı, kronik böbrek yetmezliği ve gebelik durumu gibi klinik bilgilerine hastane kayıtlarından ulaşıldı.

Total vitamin B12 eksikliği için cut-off değer 200 pg/mL (148 pmol/L) (7), holoTC eksikliği için <47 pg/mL (<35 pmol/L) olarak tanımlandı (8,9).

Buna göre, vitamin B12 statüsü, her iki ölçümle düşük çıkanlar uyumlu ve holoTC düzeyi yeterli olup (≥ 35 pmol/L) total vitamin B12 eksikliği olanlar uyumsuz olarak değerlendirildi ve % oranı hesaplandı.

Total vitamin B12 için inter-assay %CV değerleri, iki seviye iç kalite kontrol materyalinin birbirini takip eden günlerde (n=20) analiz edilen değerleri kullanılarak hesaplandı. 1.seviye ve 2. seviye için sırasıyla %6.8 ve %4.6 olarak belirlendi. HoloTC için inter-assay %CV değerleri %7.8 ve %6.3 idi.

Serum total vitamin B12 düzeyi, Cobas 8000 immunoassay analizöründe (Roche, Mannheim, Almanya) elektrokemilüminesans yöntemi (ECLIA), holoTC seviyesi Architect 2000i analizöründe (Abbott, ABD) kemilüminesans mikropartikül enzim immunoassay yöntemiyle ölçüldü.

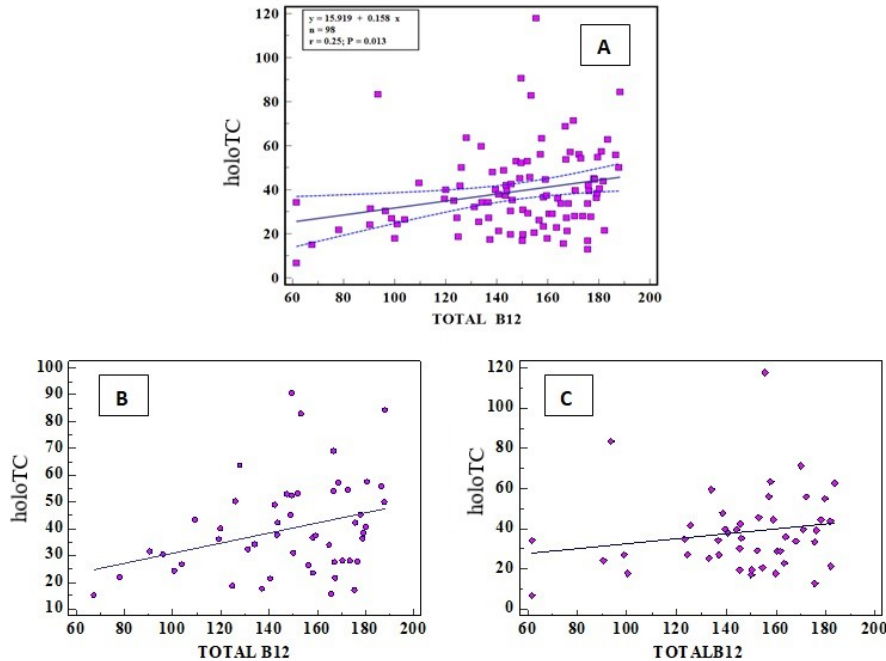
İstatistiksel analiz

Sürekli verilerin normallik analizleri için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Tanımlayıcı ista-

tistiksel veriler; ortalama \pm standart sapma, kategorik değişkenler, n (%) şeklinde gösterildi. Kategorik değişkenlerin analizinde ki-kare testi kullanıldı. İki ölçüm sonucu arasındaki ilişki Pearson korelasyon analiziyle değerlendirildi. İstatistikler için IBM SPSS Statistics 22'den yararlanıldı. Doğrusal regresyon denklemi MedCalc programı ile hesaplandı. P değeri <0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hastaların yaş, cinsiyet özellikleri ile total vitamin B12 ve holoTC düzeyleri Tablo 1'de gösterildi. Total vitamin B12 düzeyleri ile holoTC arasında istatistiksel olarak anlamlı, zayıf bir korelasyon gözlemlendi ($r = 0.250$, $p=0.013$). Doğrusal regresyon denklemi: $\text{holoTC} = 15.91 + 0.158 \text{ total vitamin B12}$ şeklinde tespit edildi (Şekil 1-A). Kadınlarda istatistiksel olarak zayıf bir korelasyon gözlenmesine rağmen, erkeklerde korelasyon tespit edilmedi (Şekil 1-B ve 1-C).



Şekil 1. Serum total vitamin B12 and holoTC arasında korelasyon
A-Tüm hastalar B- Bayan hastalar, $p=0.024$, $r=0.316$; C- Erkek hastalar, $p=0.219$, $r=0.183$),

Figure 1. Correlation between serum total vitamin B12 and holoTC
A-All of patients; B- Female patients $p=0.024$, $r=0.316$; C- Male patients $p=0.219$, $r=0.183$

İki ölçümün uyumsuz olduğu hastaların %40'ını (n=10) erkekler, %60'ını (n=15) kadınlar oluştururken, uyumlu sonuçları olan hastaların %49'unun erkek (n=36), %51'inin kadın (n=37) olduğu tespit edildi. Total vitamin B12 ve holoTC ölçüm sonuçları uyumlu ve uyumsuz olan hastalar arasında cinsiyet açısından farklılık görülmedi (p=0.270).

Düşük serum total vitamin B12 düzeyine sahip olan 98 hastanın, % 74'ünün holoTC düzeyi de düşüktü. 25 hastanın (%26) total B12 değeri düşük olmasına rağmen holoTC sonucu yeterli düzeydeydi (Tablo 2).

Hem total vitamin B12 hem de holotranskobalamin düzeyleri düşük olan hastaların tamamının GFR değeri >60 mL/gün, hiçbir antikonvülzan ve vitamin B12 kullanmıyordu, sadece bir hastanın gebelik durumu vardı ve 7 hastanın folik asit düzeyleri düşük olarak tespit edildi.

Total vitamin B12 düzeyi düşük ancak holoTC değeri yeterli olan hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 3'de gösterildi. 13 hastada uyumsuzluğu açıklayabilecek bir neden belirlenemedi.

Tablo 1. Hastaların demografik verileri, total ve aktif vitamin B12 düzeyleri
Table 1. Demographic data of patients and total and active vitamin B12 levels

Değişkenler	Ortalama ± standart sapma (n=98)
Yaş (yıl)	44.97 ± 17.45
Cinsiyet E/K n (%)	46 (47) / 52 (53)
Total vitamin B12 (pg/mL)	147 ± 29
Aktif B12 (pg/mL)	39.29 ± 18.60

Tablo 2. Total B12 eksikliği olan hastalarda holoTC düzeyleri eksik (uyumlu) ve yeterli olan (uyumsuz) hastaların oranı
Table 2. Proportion of patients with deficient (consistent) and sufficient (inconsistent) holoTC levels in patients with total B12 deficiency

Total vitamin B12 pg/mL	holoTC <47 pg/mL (<35 pmol/L)	holoTC ≥47 pg/mL (≥35 pmol/L)	Toplam
< 200	n=73 (%74) 36 Erkek, 37 Kadın	n=25 (%26) 10 erkek, 15 kadın	n=98

Tablo 3. Total vitamin B12 ve holoTC ölçüm sonucuna göre uyumsuzluk tespit edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri

Table 3. Demographic and clinical characteristics of patients who were found to be inconsistent according to total vitamin B12 and holoTC measurement results

n	Yaş	Cinsiyet	Total vitamin B12	holoTC	Klinik özellik
2	25	K	128	63.6	Gebelik
	31	K	167	53.8	
3	44	K	148	52.9	Vitamin B12 kullanımı
	46	K	181	57.5	
	50	E	172	56.1	
4	38	E	152	53.1	Folat eksikliği (Folat: 3.9) (Folat: 1.6) ve GFR 56 mL/gün (Folat:3.38) ve GFR 52 mL/gün (Folat:3.14)
	76	E	155	118	
	34	E	153	47	
	21	E	180	55	
1	22	K	126	50.1	Epilepsi –Antikonvülzan kullanımı
1	39	K	188	84.3	Kronik böbrek yetmezliği Glomerüler filtrasyon hızı 58 mL/gün
1	31	K	186	55.8	Otoimmün tiroidit
13	47.9 ± 13.6	8 K 5 E	161 ± 17	58.6 ± 9.5	Özellik yok

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı veriler ortalama ± standart sapma şeklinde gösterildi
GFR: Glomerular filtration rate, data were presented as mean ± standard deviation.

TARTIŞMA

Vitamin B12 eksikliğini belirlemek için rutinde total B12 ölçümü kullanılmaktadır. Metil malonik asit (MMA) ve homosistein tanıda yararlanılan diğer testlerdir. Ancak tek başına hiçbir testin yeterli olmadığı belirtilmektedir (3,10).

Aktif B12 olarak da adlandırılan holoTC ölçümünün, fonksiyonel B12 durumunu değerlendirmede daha uygun olduğu ifade edilmektedir (3). Ayrıca holoTC'nin, subklinik B12 eksikliğini tespit etmede total vitamin B12'den daha yüksek tanısal doğruluğa sahip olduğu gösterilmiştir (11). Metabolik vitamin B12 eksikliğini belirlemede total yerine holoTC ölçüldüğünde sensitivitenin %10-20 arttığı bulunmuştur (12).

Bamonti ve ark (13) total vitamin B12 ile holoTC arasında zayıf bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Ancak vitamin B12'nin bu iki formu arasında güçlü korelasyon olduğunu bildiren çalışmalar (14,15) da bulunmaktadır. Chowdhary ve ark (16)'nın yaptığı bir çalışmada, total vitamin B12 düzeyi düşük olan 19 (%29.2) hastanın holoTC değerinin yeterli olduğu tespit edilmiş, başka bir çalışmada total B12 eksikliği olan hastaların %15.7'sinde holoTC düzeyi yeterli bulunmuştur (6).

Bu çalışmada; total vitamin B12 ve holoTC arasındaki korelasyonun gücü ve iki ölçüm arasındaki uyum; çalışmaya dahil edilen popülasyonun özelliklerine, dışlama kriterlerine (gebelik, vitamin B12 kullanımı, demir eksikliği anemisi, kronik böbrek yetmezliği) ve holoTC eksikliği için kullanılan cut-off değerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Nitekim Bamonti ve ark (12) holoTC için cut-off değeri 40 pmol/L olarak aldıklarında iki ölçüm arasındaki uyumun %65 olduğu gözlenmiştir.

Bazı faktörlerin ölçüm sonuçlarını etkilediği bilinmektedir. Total B12 konsantrasyonları, haptokorrin ekspresyon değişikliklerinden (gebelik, postmenopozal hormon replasman tedavisi, malignite, karaciğer hastalıkları) ve otoantikörlerin neden olduğu analitik

interferanstan; holoTC ölçümü transkobalamin II genindeki polimorfizm (Holotranskobalamin konsantrasyonunda artış) ve otoantikörlerden etkilenmektedir (2,3).

Yanlış düşük total B12 düzeyine neden olan faktörler arasında, oral kontraseptif kullanımı, antikonvülzanlar, multiple myeloma, gebelik ve folat eksikliği sayılabilir. Yanlış yüksek total B12 düzeyleri; myeloproliferatif hastalıklar, renal hastalık ve karaciğer hastalığında görülebilir (2).

Vitamin B12 takviyesi, total B12'den ziyade holoTC düzeylerinde artışa yol açar (17,18). HoloTC'nin, dolaşımdaki yarı ömrünün holohaptokorrinden daha kısa olduğu göz önüne alındığında, yüksek fizyolojik vitamin B12 dozlarının tekrarlanan alımları 24 saat içinde holoTC konsantrasyonunu (daha az oranda total vitamin B12'yi) yükseltir (19).

Gebelik gibi haptokorrin ekspresyonunu azaltan durumlar, yeterli holoTC düzeyine rağmen düşük total B12 seviyelerine yol açabilir (20,21). Gebelerde toplam B12 vitamini doğum sonrasına kıyasla termde %50'ye düşer. Buna karşılık, holoTC konsantrasyonları değişmeden kalır (19).

Transkobalamin, moleküler kütlesi 40 kDa olan ve böbrekten süzülen küçük bir proteindir. HoloTC konsantrasyonları böbrek fonksiyonu azaldıkça yükselir. Haptokorrinin moleküler kütlesi daha büyüktür, dolayısıyla total vitamin B12 düzeyleri böbrek yetmezliğinden daha az etkilenir (19,22).

Bu çalışmada total B12 eksikliği olup, holoTC düzeyi yeterli olarak ölçülen hastaların, retrospektif olarak elde edilen klinik verilerinden hareketle numunelerin bir kısmında iki ölçüm sonucu arasındaki uyumsuzluğun olası nedenleri arasında gebelik, B12 takviyesi, folik asit eksikliği, renal yetmezlik, antikonvülzan kullanımı sayılabilir. Tüm hastaların GFR değerleri incelendiğinde iki ölçüm arasında uyumsuzluk olan hastalardan 3'ünün GFR'si 30-60 mL/gün olmasına rağmen, iki ölçüm arasında uyumun olduğu grupta tüm hastaların GFR değeri >60 mL/gündü. Uyumsuzluk belirlenen hastaların

13'ünde tutarsızlığı açıklayabilecek bir özellik belirlenememesine rağmen diğer nedenler (gen polimorfizmi; 776GG veya 776CC genotip) de akla gelmelidir.

Bu çalışmada; kadınlarda, total vitamin B12 ile holoTC arasında belirlenen korelasyonun anlamlı da olsa zayıf olması, her iki ölçümün uyumlu ve uyumsuz olduğu hastalar arasında cinsiyet açısından farklılık olmaması, cinsiyetin sonuçların uyumsuzluğunu açıklamada yetersiz kaldığını göstermektedir. Kadınların aksine, erkeklerde total vitamin B12 düzeyleri ve holoTC arasında korelasyon tespit edilememesinin nedeni yapılacak daha büyük çaplı çalışmalarla netlik kazanabilir.

Çalışmanın sınırlamaları arasında; küçük örnek sayısı, metil malonik asit ölçümünün yapılamamış olması ve sadece total B12 düzeyi düşük olan hastaların çalışmaya alınması sayılabilir.

Sonuç olarak, total vitamin B12 ölçüm değerine göre eksiklik tespit edilen hastaların %74'ünde holoTC ölçümünün de uyumlu olarak düşük çıktığı gözlenmiştir. Ancak gebelik, böbrek yetmezliği, folik asit eksikliği, bazı ilaçların kullanımı gibi holoTC ya da total vitamin B12 ölçüm sonuçlarını etkileyebilecek olası durumların varlığında, uygun olan testin kullanımının ya da refleks test olarak holoTC'nin rutine dahil edilmesinin yanlış düşük sonuçların önlenmesi adına yararlı olabileceği düşüncesindeyiz. Bununla birlikte vitamin B12 ölçümüne interferans oluşturan faktörlerin belirlenmesi ve bu faktörlerin birlikteliğinin sonuçlara nasıl yansıtılmasının anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bilindiği kadarıyla holoTC rutinde kullanılmamakla birlikte, gerekli alt yapı ve ödemeyle ilgili uygulamaların tamamlanmasıyla önemli bir kazanım sağlanacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Stabler SP. "Vitamin B12 Deficiency". N Engl J Med 2013;368(2):149-60.
2. Green R. Indicators for Assessing Folate and Vitamin B12 Status and for Monitoring The Efficacy of Intervention Strategies. Food Nutr Bul 2008;29(2):52-63.
3. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, et al. Vitamin B12 Deficiency. Nat Rev Dis Primers 2017;29(3):17040.
4. Nexø E, Hvas AM, Bleie O, Refsum H, Fedosov SN, Vollset SE, et al. Holo-transcobalamin Is An Early Marker of Changes in Cobalamin Homeostasis. A Randomized Placebo-controlled Study. Clin Chem 2002;48(10):1768-71.
5. Brady J, Wilson L, McGregor L, Valente E, and L. Orning. "Active B12: A rapid, Automated Assay for Holotranscobalamin on The Abbott AxSYM Analyzer," Clin Chem 2008;54(3):567-73.
6. Bondu JD, Nellickal AJ, Jeyaseelan L, Geethanjali FS. Assessing Diagnostic Accuracy of Serum Holotranscobalamin (Active-B12) in Comparison with Other Markers of Vitamin B12 Deficiency. Ind J Clin Biochem 2020;35(3):367-72.
7. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Cobalamin and Folate Disorders. Br J Haematol 2014;166:496-515
8. Obeid R, Herrmann W. Holotranscobalamin in Laboratory Diagnosis of Cobalamin Deficiency Compared to Total Cobalamin and Methylmalonic Acid. Clin Chem Lab Med 2007;45:1746-50.
9. Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN, 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.
10. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for The Diagnosis and Treatment of Cobalamin and Folate Disorders. Br J Haematol 2014;166:496-515.
11. Campos AJ, Risch L, Nydegger U, Wiesner J, Van Dyck MV, Renz H, et al. Diagnostic Accuracy of Holotranscobalamin, Vitamin B12, Methylmalonic Acid, and Homocysteine in Detecting B12 Deficiency in A Large, Mixed Patient Population. Dis Markers 2020;7:1-11.
12. Heil SG, de Jonge R, de Rotte MC F J, Wijnen MV, Heiner-Fokkema RM R, Kobold A C M, et al. Screening for Metabolic Vitamin B12 Deficiency by Holotranscobalamin in Patients Suspected of Vitamin B12 Deficiency: A Multicentre Study. Ann Clin Biochem 2012;49(2):184-9.
13. Bamonti F, Moscato GA, Novembrino C, Gregori D, Novi C, De Giuseppe R, et al. Determination of Serum Holotranscobalamin Concentrations with The AxSYM Active B(12) Assay: Cut-off Point Evaluation in The Clinical Laboratory. Clin Chem Lab Med 2010;48(2):249-53.
14. Aisari FA, Hashmi HA, Mula-Abed WA. Comparison Between Serum Holotranscobalamin and Total Vitamin B12 as Indicators of Vitamin B12 Status. OMJ 2010;25:9-12.

15. Golding PH. Experimental Vitamin B12 Deficiency in A Human Subject: A Longitudinal Investigation of The Performance of The Holotranscobalamin (HoloTC, Active-B12) Immunoassay. Springerplus 2016;184(5):1-17.
16. Chowdhary R, Bhatkulkar P. Comparative Study Of Holotranscobalamin and Total Vitamin B12 As Indicator of Vitamin B12 Status. Paripex - Indian J Res (PIJR) 2018;7(8)34-5.
17. Hvas AM, Morkbak AL, Hardlei TF, Nexo E. The Vitamin B12 Absorption Test, CobaSorb, Identifies Patients Not Requiring Vitamin B12 Injection therapy. Scand J Clin Lab Invest 2011;71:432-8.
18. Knoepfel C, Blanco MM, Nydegger U, Risch L, Renz H and Risch M. Failure of The Holotranscobalamin Assay in Vitamin B12-deficient Patients. J Lab Med 2018;42(4):141-47.
19. Nexo E and Hoffmann-Lu"cke. Holotranscobalamin, A marker of Vitamin B-12 Status: Analytical Aspects and Clinical Utility. Am J Clin Nutr 2011;94(1):359-65.
20. Morkbak AL, Hvas AM, Milman N, Nexo E. Holotranscobalamin Remains Unchanged During Pregnancy. Longitudinal Changes of Cobalamins and Their Binding Proteins During Pregnancy and Postpartum. Haematologica 2007;92(12):1711-2.
21. Sobczyńska-Malefora A, Delvin E, McCaddon A, Ahmadi & Dominic J. Harrington KR. Vitamin B12 Status in Health and Disease: A Critical Review. Diagnosis of Deficiency and Insufficiency- Clinical and Laboratory Pitfalls. Crit Rev Clin Lab Sci 2021;21:1-31.
22. Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High Serum Cobalamin Levels in The Clinical Setting- clinical Associations and Holotranscobalamin changes. Clin Lab Haematol 2001;23:365-71.