

Schilling Testi

Uzm. Dr. Aslı AYAN (DEMİRER)

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp ABD, Ankara

Schilling Testi megaloblastik anemi, vitamin B12 eksikliği ve gastrointestinal malabsorbsiyon tanısı için nükleer tıp laboratuvarları tarafından ortaya atılmış ve günümüzde değerini koruyan testlerden biridir. Ancak doğru sonuçların elde edilmesi ve değerlendirilmesi için prosedürün özelliklerinin tam olarak bilinmesi gereklidir. Vitamin B12 fizyolojisinin, eksiklik nedenlerinin ve ortaya çıkış şekillerinin bilinmesi ile optimal test sonuçları elde edilebilir. Schilling testi, sık istenen bir nükleer tıp tetkiki olmasına rağmen tatmin edici, doğru test sonuçlarının elde edilmesi yanlış pozitif ve yanlış negatif analiz sebeplerinin de bilinmesini gerektirir.

Bu derlemede amaç schilling test algoritmini ve test sonuçlarının yorumlanmasında, yalnızca pozitif ve negatif sonuç sebepleri hakkında klinisyene ışık tutmaktır.

Kobalaminin memeli hücrelerinde bilinen metabolik rolü folik asit koenzimleri ile timidilat formasyonunun oluşturulması ve metilmalonil koenzim A'nın süksinil koenzim A'ya izomerizasyonudur. Vit B12 DNA sentezinin prekürsörüdür. Eksikliğinde RNA ve protein sentezini etkilemeksizin DNA sentezi bozulur. Hücre çekirdeği ve sitoplazmasının maturasyonu uyumsuz hale gelir. İmmatür nukleuslu büyük olgun sitoplazmalı hücreler oluşur (megaloblastozis). Megaloblastik değişiklikler kan ve gastrointestinal sistem gibi hızlı hücre yapım-yıkımının olduğu yerlerde daha baskındır. Nörolojik komplikasyonlarının metilmalonil koenzim A'nın izomerizasyonunun bozulmasıyla ortaya çıkan miyelin metabolizması anormalliğine bağlı olduğu bilinmektedir.

Diyette bulunan kobalaminler gastrik digesyona uğrayarak serbestleştirilir. Midedeki asidik ortamda salıverilen kobalaminler R proteinlerine sıkıca bağlanır. Bu glikoproteinler tükrük ve gastrik sıvıda bulunur (1, 2). Proksimal ince barsakta R proteinlerinden pankreatik proteazlarla ayrışılarak intrinsik faktörle (IF) alkali pH'da bağlanması sağlanır. İntrinsik faktör gastrik pariyetal hücrelerden salgılanan alkali pH'da stabil bir glikoproteindir. Vit B12-intrinsik faktör kompleksi ileumun distal kısmına giderek nötre yakın pH'da ve kalsiyum iyonlarıyla mukozal hücrelerin özgün reseptörlerine bağlanır. İntrinsik faktörden ayrılan Vit B12 mukozal hücrelere alınır. Vit B 12 plazmada transkobalamin I (% 75) ve (TCI) transkobalamin II (% 25) (TCII) ile taşınır. TCI'in B12 yi transfer etme yeteneği zayıftır (3, 4). Daha çok bir depo görevi görür. TCII karaciğer ve makrofajlarda sentezlenir. Abzorbe edilen Vit B12 öncelikle TC II'ye bağlanır (Tablo 1).

Vit B12'nin plazmada normal konsantrasyonu 200-900 pg/μl'dir. Günlük B12 ihtiyacı 1-5 μl'dir. 5000 μg kadan depo edilir, 1500 μg'ı karaciğerdedir. Diyetle bağlı B12 eksikliğinin görülmesi oldukça nadirdir ve ortaya çıkması için yıllar gereklidir. B12 eksikliğinin sık nedenleri arasında IF'ün üretiminin azalması veya fonksiyon bozukluğu, distal ileum-

Tablo 1. Vitamin B12 emilimi ve taşınması

Protein-B12 ⇒ B12+R ⇒ B12-R ⇒ B12-IF Terminal ileum	
Pepsin	Alkali pH ve Ca++ ↓
Gastrik asid	
	Transkobalamin-I(%75)
	Transkobalamin-II(%25)
R=tükrük, safra asidi ve gastrik sekresyonlar	

da B12 emilim bozukluğu veya ince barsak rezeksiyonu vardır (5). Bu hastalıkların tanısında serum B12 düzeyi, Schilling testi, periferik kan veya kemik iliğindeki değişiklikler araştırılır ve B12 tedavisine dramatik retikülosit cevabı tanıyı koydurur (Tablo 2).

Tablo 2. Vitamin B12 eksikliği nedenleri

Vitamin B12 eksikliği nedenleri
• Uygunsuz beslenme
Vejetaryanlar
• Malabsorbsiyon
1) Gastrik: İntrinsik faktör eksikliği, kronik atrofik gastrit (PA), total / subtotal gastrektomi
Zollinger-Ellison Sendromu
2) İntestinal: İleal absorpsiyon alanlarının yokluğu veya disfonksiyonu, Crohn Hastalığı, ileal rezeksiyon, gluten enteropatisi, tropikal sprue, PA'ye bağlı sekonder atrofi
B12 için kompetisyon, bakteriyel aşın çoğalma (kör lup, divertikül), D.latum enfestasyonu
Pankreatik yetmezlik
İlaçlar, alkol, neomisin, PAS, kolçisin, şelatlar
Konjenital selektif B12 malabsorbsiyonu
• Herediter transkobalamin II eksikliği

B12 Absorbsiyon Testleri

B12 vitamini bir kobalt atomu içerdiğinden doğal kobalt atomu, Co57 veya Co58 atomu ile yer değiştirebilir. Bu durum vitamin B12 emilim ve metabolizmasının nükleer tıp yöntemi ile in vivo yada in vitro analizini mümkün kılar.

Günlük verilen radyoaktif B12'nin plazma aktivitesini, fekal ekskresyonunu, üriner ekskresyonunu, hepatik uptake'ini ve siyanokobalaminin tüm vücuttaki tutulumunu ölçerek, gastrointestinal emilim tesbit edilebilir. Ancak plazma aktivitesinin ölçümünde yanlış negatif sonuç şansının fazla olması, fekal ekskresyon için ise 7-10 gün gaita biriktirmek gerekli olduğundan bu yöntemler nadiren kullanılmaktadır (14).

Üriner ekskresyon testi ilk defa Schilling tarafından tanımlanmıştır ve uluslararası hematoloji standardizasyon komitesi tarafından referans metod olarak seçilmiştir. Bu teknik iyi sonuç vermesi, performansının yüksek olması ve 24 saatlik idrar toplamanın nisbeten kolay olması nedeni ile tercih edilmektedir (5, 8, 15).

Schilling Testi Endikasyonları:

- Hematolojik veya nörolojik semptomlar olmasa bile düşük B12 düzeyleri (hastaların 2/3'ünde semptom yoktur veya hafiftir).
- B12 malabsorbsiyonunun tanısını doğrulamak ve sebep olan mekanizmayı tespit etmek.
- Hematolojik değişiklikler (makrositik anemi, trombosit ve BK beyaz küre sayısında hafif azalma, hipersegmente nötrofiller).
- B12 eksikliği riski olan hastalar (post-gastrektomi, ileal hastalık, ailede Pernisiyöz Anemi hikayesi).
- Uzun dönem B12 tedavisi alan hastalarda devam eden B12 absorpsiyon bozukluğu olup olmadığını belirlemek.

Bu test için, hastaya işaretlenmemiş B12 nin doku ve plazmadaki bağlanma yerlerinin doyurulması amacıyla parenteral olarak verilmesinden sonra, Co57 veya Co58 ile işaretlenmiş B12 oral olarak verilir. Sağlıklı kişi işaretli vitamini absorbe edecek ve idrara glomerüler filtrasyonla atacaktır. Schilling testi, verilen dozun ne kadının idrara atıldığını araştırır. Normal olarak bu değer 24 saat için % 9, 48 saat için % 10'un üstüdür.

Bu testten iyi sonuç alabilmek için bazı faktörlere dikkat etmek gerekir:

1. İdrara fekal bulaşımından kaçınılmalıdır. İlk 8-12 saatte B12'nin idrara atılımı maksimumdur. Bu dönemdeki herhangi bir idrar kaybı yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
2. Renal fonksiyon bozukluğu veya idrar retansiyonu olan hastalarda ilk 24 saatte çok miktarda işaretli B12 ekskrete edilir. Bu yüzden 48-72 saatlik idrar biriktirilmesi sağlanmalıdır. Bu yöntem sadece üriner anomalisi olan hastalarda değil idrar biriktirmesinde kuşku duyulan kişilerin testlerinde de uygulanabilir.
3. İdrar biriktirmenin tam olduğunun tesbit edilmesi için üriner kreatinin ölçülebilir. Kreatinin atılımı kas kitlesiyle orantılıdır ve kişiler için oldukça sabit düzeydedir. (15-25 µg/kg/24 saat)
4. Emilimin maksimum olması için hastadan bir gece öncesinden aç gelmesi ve testten sonraki 2 saat için de bir şey yememesi istenmelidir.
5. Hastalar parenteral B12 alıyor, enema veya laksatif kullanıyor olabilir. Hastaların bunları kullanmayı en az 24 saat ile 3 gün önce kesmeleri gerekir).

6. Uzun ömürlü radyoizotoplarla test yapıp yapılmadığı sorgulanmalıdır.

7. Hastaya 1000 µg radyoaktif B12 verildikten 2 saat sonra dokuda ve plazmadaki bağlanma yerlerini doyurmak için 1000 µg B12 intramusküler olarak yapılmalıdır.

8. Test dozu için kullanılan işaretli B12 miktar; intrinsik faktörü sature etmemek için az olmalıdır. Çünkü B12 kitlesi arttıkça emilen fraksiyon azalır. Tüm çalışmalarda verilen B12 dozu sabit tutulmalıdır. Kitlerde bulunan B12 miktar 0.25-1 µg'dır ve kullanılan miktar 2 µg'ı geçmemelidir.

Schilling testi 2 şekilde yapılabilir:

1. İşaretli B12'nin emilimini IF'süz ölçüm Co57'den bağımsız olarak IF veya antibiotik verilip, I.basamağı yorumlanabilir.

2. Vit B12 emilimi dualizotop metodu ile IF veya IF'süz ölçülebilir. Hastaya serbest Co58 siyanokobalamin ve IF ile bağlı Co57 synokobalamin verilir. İdrarda Co57/ Co58 oranı IF ile bağlı ve serbest B12'nin emilimlerini karşılaştırmak için kullanılır. Bu hastanın hastaneye 1 kez gelmesini ve idrar hacminden bağımsız ölçüm yapabilme kolaylığını sağlar. Ancak pahalı bir yöntemdir.

SEKANSİYEL SCHILLING TESTİ

Hasta testin yapılacağı gün 12 saatlik açlık sonrasında gelir ve prosedürden önce mesanesi boşaltılır. Hastaya 0.5-2 µg B12 (0.5mCi Co57 ile işaretlenmiş, T1/2=270 gün, Gamma=122 keV) verilir ve hasta 2 saat daha aç bırakılır. 2 saat sonunda hastaya B12 1000 µg enjekte edilir ve hastaya 24 saatlik idrar biriktirmesi söylenir (12).

Hastanın boyu ve ağırlığı ölçülür ve 24 saatlik idrar hacmi ölçülür. Aynı numaralı, aynı miktarda bir Co57 kapsülünden bir standart solüsyonu 1000 ml'ye tamamlanır. Hasta idranı ve Co57 standart sintilasyon kuyu sayacında sayılıp zemin aktivite çıkarılır ve formülle hesaplanır:

$$\%Co57 \text{ eksresyonu} = \frac{\text{İdrar cpm/ml} \times TIV}{\text{cpm/ml} \times \text{dilüsyon faktörü}}$$

2 gün idrar toplanmışsa, 2.gün idranı da aynı şekilde hesaplayıp sonuçlar total ekskresyon oranını hesaplamak için toplanır.

Eğer Co57 ekskresyonu anormal ise oral IF vererek çalışma 3 gün sonra tekrarlanır.

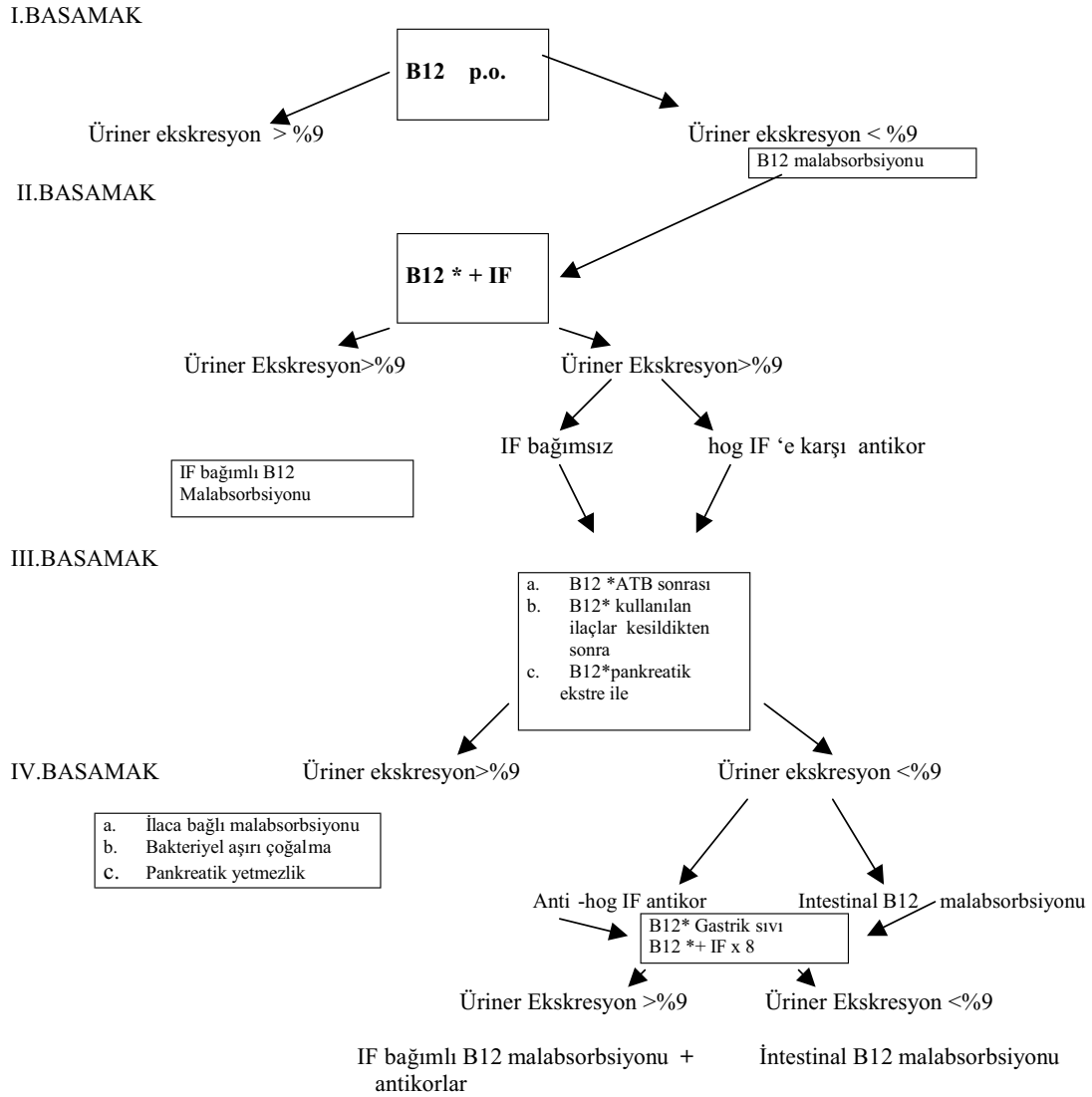
Sağlıklı kimseler verilen B12'nin % 9'dan daha fazlasını idrarla atarlar. % 7-9 arası şüpheli, % 7'nin altı malabzorbsiyon düşündürür.

Sekansiyel Schilling Testi 4 basamakta yapılır. Co57 ile işaretli B12'nin üriner ekskresyonunun % 9'un altında olması B12 malabzorbsi onunu düşündürür. Eğer IF ile test tekrar edildikten sonra üriner ekskresyon beklenen düzeye çıkıyorsa, İF eksikliğine bağlı malabzorbsiyon söz konusudur. Ancak düzelme yoksa malabzorbsiyon IF'den bağımsızdır veya domuz IF 'sine (hog IF) karşı antikorlar söz konusudur. Bu nedenle test IF yerine gastrik sıvı ile veya yüksek doz IF ile tekrarlanır (Şekil 1).

Eğer anormal sonuç elde edilmişse KBY veya yetersiz idrar biriktirme araştırılmalıdır. Hastaya 2.basamak uygulanmalı ve tekrar test edilmelidir.

Eğer 2. basamak değerleri % 9'un üzerinde ise IF eksikliği düşünülür. Ancak test yine % 9'un altında ise o zaman hastanın daha ileri klinik araştırmaya ihtiyacı vardır. İntestinal malabsorbsiyonun daha ileri sınıflandırılması için klinik hikayeye göre geniş spektrumlu antibiotik (tetrasiklin) verilebilir. Eğer antibiotik kullanımı B12 malabsorbsiyonunu düzeltiyorsa, malabsorbsiyondan bakteriyel aşın çoğalma sorumlu tutulur. Pankreas ekstreleri ve sodyumbikarbonat eklenerek ilaçlara bağlı Vit B12 malabsorbsiyonu veya pankreatik yetmezlik, ekarte edilebilir.B12 yetmezliğinin hastanın kullandığı ilaçlara bağlı olduğu düşünülüyorsa, test ilaçlar kesildikten 1-2 hafta sonra tekrarlanır.

Eğer hastada Pernisiyöz Anemiden hala şüphe ediliyorsa ve test için hog IF kullanılmış ise, test IF yerine insan gastrik sıvısı ile denenmelidir. Çünkü hog IF ile daha önce kullandıkları multivitamin preparatları (hog IF içeren) nedeniyle antikorlar oluşmuş olabilir. Eğer insan gastrik sıvısı veya yüksek miktar IF B12 (x8) malabsorbsiyonu düzeltiyorsa IF yetmezliği doğrulanmış olur. Yüksek miktarda IF verilmesine rağmen B12 absorpsiyonu hala anormal ise tanı intestinal malabsorbsiyondur. Pernisiyöz Aneminin bir komplikasyonu olarak ince barsak mukozasında meydana gelen değişiklikler uzun süreli paranteral B12 tedavisini gerektirir. Bu hastalar aylar süren B12 enjeksiyonlarından sonra IF ile verilen B12'i absorbe edebilir hale gelebilirler (6, 7).



Şekil 1. Vitamin B12 malabsorbsiyonunda sekansiyel Schilling testi için ayrıncı tanı algoritmi.

Hastaların % 14'ünde Schilling testi yanlış pozitif olabilir.Bu nedenler sırasıyla:

- Tam olmayan idrar toplanması.
- Renal yetmezlik veya obstrüksiyon (bu hastalarda idrar toplama süresi uzun tutulmalıdır).
- Kronik B12 yetmezliği terminal ileumdan abzorbsiyonu bozabilir. (Bu durum uzun dönem parenteral B12 tedavisi ile düzelebilir).
- 1 µg'dan fazla B12 kullanılması (IF saturasyonu). Kristal formdaki B12'nin emilimi besinlerdeki B12'nin emilimine benzemez.

Proteine bağlı B12'nin emilememesinin en sık sebepleri:

- Yaşlılık
- H2 blokerleri ve demir eksikliği,
- Alkol kullanımı ve folat eksikliği,
- Daha önce benzer enerjide bir radyofarmasötik ile tetkik yapılmış olması,
- Fekal kontaminasyon,

DUAL İZOTOP SCHILLING TESTİ

Bu testte hasta hazırlığı sekansiyel Schilling Testi ile aynıdır. Hastaya aynı anda Co58 B12 (T1/2=71gün 810keV) (0.25µg/0.8µ Ci) ve Co57 B12 (0.25 µg/0.5 µCi) IF kapsülü verilir. 2 saat sonra B12 yapılı ve 24 saatlik idrar toplanır. İdrar örnekleri sayılır, gerekli koreksiyon faktörleri kullanılarak ölçülür.

	Co57 idrar X vol	
%Co57 eksresyonu (IF- bağılı B12) =	—————	%100
	Co57 std X di	
	Co58 idrarX vol /ml	
%Co58 eksresyonu =	—————	%100
	Co58 Xdi	
Elde edilen sonuçlar oranlanır:		
	%Co57 eksresyonu	
Eksresyon Oranı=	—————	X 100
	%Co58 eksresyonu	

Normal bir kimsede Co57 ve Co58'in ekskresyonu aynı ve % 9'un üzerinde olmalıdır. Ancak IF eksikliği olanlar IF'ye bağılı B12'yi daha fazla ekskrete edeceklerdir. İntestinal malabsorbsiyonlu hastalar ise her iki B12'yi anormal miktarda ekskrete edeceklerdir. 24-48 saatten (ekskresyondan bağımsız olarak) IF-bağılı/serbest B12 oranı hesaplanır. Bu oran sağlıklı kimselerde 0.7-1.2 arasındadır. Pernisiyöz Anemide bu oran 1.4'ün üzerindedir (13, 14).

Bu testte minor idrar kayıplar önemli değildir. Hasta için daha kolay bir yöntemdir ve test 24 saat içinde bitirilmiş olur. Ancak tek başına oran kullanıldığında normal kimseler ve intestinal malabsorbsiyon veya kronik renal yetmezlikli hastalar pernisiyöz anemili olarak nitelendirilebilmektedir. Dualizotop testi üzerinde yapılmış bazı çalışmalar pernisiyöz anemili hastalarda normal kişileri zayıf ayırdedebildiğini göstermiştir. Yine in vivo B12'nin 2 izotopik formu olabileceği, bunun da hatalı sonuçlara neden olabileceği ortaya atılmıştır.

İngiltere'de yapılan bir çalışma % ekskresyon ve >1.3 oranı kullanıldığında hastaların % 44'ünün yalnız oran>1.3 kullanıldığında ise % 96.5 doğru olarak tanı aldığını göstermiş ve bu metodun gastrik ve ideal B12 malabsorbsiyonlarının ayırımında yararlı bir test olduğu sonucuna varmışlardır (9).

Schilling testi için bir sınırlama da testte fizyolojik şekilde değil de sıvı serbest B12'yi absorbe edebilen yiyeceklerdeki B12'yi absorbe edemiyor olabirler (11).

Bazı çalışmalarda IF eksikliğinden önce gastrik asit ve enzim sekresyonunun bozulduğu ve hastaların yiyeceklerdeki B12'yi ayıramadığı için B12 malabsorbsiyonu ortaya çıktığı üzerinde durulmuştur (9, 10).

Tablo 3. Schilling testinin değerlendirilmesi (3).

Normal Pernisiyöz Anemi Malabsorbsiyon		
Serbest B12 %	10-40	0-7 <6
Bağılı B12 %	10-42	6-12 <6
Serbest: Bağılı	0.7-1.3	>1.7 0.7-1.3

Bunun için PA'lı hastalarda yumurta sansına eklenerek testin tekrar edilmesi, PA'lı hastalarda her iki testin ancak aklorhidri hastalarda serbest kristalin emilimi normal, yumurtalı olanda ise bozuk olduğunun gösterilebileceği üzerinde durulmuştur. Bu durum Pernisiyöz Aneminin prekürsörü olabilir ve bazı hastalarda anemiden önce gelişebilen nörolojik hasar engellenebilir (8, 11).

Kolumbiya Üniversitesindeki araştırmalar yaşlı kimselerde Vit B12 eksikliğinin sık olduğunu göstermiştir. Eksiklik hastalarda ancak megaloblastik anemi geliştiğinde tesbit edilebilmektedir. Bu evreden önce ise kobalamin eksikliği olan hastalarda nöropsikiyatrik hasar, dezoryantasyon ve konfüzyon bulguları gelişmektedir. 67-96 yaş arasında 548 erkek ve kadının 17 sağlıklı genç kontrol grubu ile karşılaştırılmasında yaşlılarda Vit B12 eksikliği % 40.5 iken genç kontrol grubunda % 17.9 dur iki grup arasında folat açısından önemli fark izlenmemiştir (6). Yaş ile birlikte yiyeceklerdeki B 12 vitamininin emilimi bozulmakta ve vitamin B12 eksikliği ortaya çıkmaktadır (8). Vitamin B12 eksikliği kanda homosisteinin birikmesine neden olmakta-

Tablo 4. Radyofarmasötiklerden organların aldığı radyasyon dozları *Karaciğer kritik organdır (7).

Organ	Co57 B12(mrad/µCi)	Co58B12(mrad/µCi)
Karaciğer*	89.0	133.0
Pankreas	9.6	22.6
Adrenaller	9.3	24.8
Böbrekler	8.5	19.6
Üst kalın barsak	6.7	16.3

dır. Artmış serum homosistein ve türevlerinin konsantrasyonu kalp hastalığı ve inmede artmış bir risk faktörüdür (1, 2). Klinisyenler hematolojik pernisiyöz anemi çalışması tamamlandıktan sonra

Schilling testini istemeleri konusunda uyarılmadığıdır. Schilling testi tekniği hakkında bilgi sahibi olmak daha doğru ve tatmin edici sonuçların elde edilmesi için gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Gotschalk A, Diagnostic Nuclear Medicine, Vol 2, Chapter 43, 699-706, 1988.
2. Datz F, Handbook of Nuclear Medicine, 252-255.
3. Wintrobe MM et al. Production and function of erythrocytes. Clinical Hematology, ed 8, 1981.
4. McIntyre PA: Use of radioisotope techniques in the clinical evaluation of patients with megaloblastic anemia.
5. Schilling RF. Diagnosis of Pernicious Anemia and other vitamin B12 malabsorption syndromes with radioactive vitamin B12. In Blahd WH, editor: Nuclear Medicine, ed 2, New York, McGraw-Hill, 1971.
6. Lindenbaum, John, et al. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 60, July, pp. 2-11, 1994.
7. Allen, Lindsay H. and Casterline, Jennifer. Vitamin B-12 deficiency in elderly individuals: diagnosis and requirements. American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 60, July, 12-14, 1994.
8. Zuckler, L & Rao Chervu, L. Schilling Evaluation of Pernicious Anemia: Current Status. J Nucl Med 25: 11-12, 1984.
9. Atrah HI, Davidson RJL: A survey and critical evaluation of a dual isotope (Dicopac) vitamin B12 absorption test. Eur J Nucl Med 15: 57-60, 1989.
10. Briedis D, McIntyre PA, Judisch J et al. An evaluation of a dual-isotope method for the measurement of vitamin B12 absorption. J Nucl Med 14: 135-141, 1973.
11. Doscherholmen A, Silvis S, McMahon J: Dual isotope Schilling test for measuring absorption of food-bound and free vitamin B12 simultaneously, Am J Clin Pathol 80: 490-495, 1983.
12. ICRP Publication 53: Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals, New York, Pergamon Press 1988.
13. Henkin RE Nuclear Medicine, Vol 1, 450-455, 1996
14. Fairbanks VF, Phylky RL; Tests for pernicious anemia: the "Schilling Test" Mayo Clin Proc 58: 541, 1983.