



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**TÜRK TOPLUMUNDA VİTAMİN D BAĞLAYICI PROTEİN GENOTİPİ VE
PLAZMA 25(OH)D KONSANTRASYONU İLE İLİŞKİSİ**

LUTFİYE KARCIOĞLU BATUR

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. AHMET ÖZAYDIN**

**II. DANIŞMAN
PROF. DR. NEZİH HEKİM**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

Bu çalışma 21.10.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Biyoloji Doktora Programı Doktora Tezi olarak kabul
edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Doç. Dr. Ahmet Özyıldız
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Hüseyin İrez
Bıruni Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Yelda Tarkan
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Nesrin Emekli
Medipol Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Filiz Akbaş
Bezmialem Üniversitesi
Tıp Fakültesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Lutfiye Karcioğlu Batur



İTHAF

Eşim'e, Kızım'a ve Oğlum'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tanıştığımız günden bu yana kendisine her konuda rahatlıkla ulaşabildiğim ve her daim desteğini gördüğüm Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı Başkanı Prof. Dr. Turgut Ulutin'e, doktora eğitimim boyunca bana gösterdiği sabrı, anlayışı ve destekleri için danışmanım Doç. Dr. Ahmet Özaydın'a, çalışma fikrinin ortaya çıkışından çalışmanın tamamlanmasına kadar bilgisini ve deneyimlerini her zaman cömertçe paylaşan, kendisiyle çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli ikinci danışmanım Prof. Dr. Nezih Hekim'e,

LC-MS/MS çalışmalarında destek olan AR-Ge merkezi, Sem Laboratuvar Cihazları Pazarlama Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den Dr. Murat Maviş'e, kan toplama aşamasında destek olan Hemşire Tuğba Torun'a,

Bana inanan ve beni bir an olsun yalnız bırakmayan, eşim Mustafa Kemal Batur'a, gelecek kaygısı gütmeme sebep olarak daha azimli olmamı sağlayan kızım Defne Batur ve oğlum Kuzey Çınar Batur'a, desteklerini ve sevgilerini her daim yanımda hissettiğim Annem'e, Babam'a ve Abilerim'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
DENKLEMLER LİSTESİ.....	Xİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XİV
ÖZET	XVII
ABSTRACT.....	XVIIİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	19
2. GENEL BİLGİLER	21
2.1. D Vitamini	21
2.1.1. D Vitaminin Tanımı ve Tarihçesi	21
2.1.2. D Vitaminin Yapısı ve Kaynakları.....	21
2.1.3. D Vitaminin Metabolizması.....	23
2.1.4. D Vitaminin Etki Mekanizması	25
2.1.5. D Vitaminin Fonksiyonları	30
2.1.6. D Vitamini Eksikliği	31
2.1.7. D Vitamini Fazlalığı.....	32
2.1.8. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri	33
2.2. Serbest D Vitamini.....	33
2.3. Gc geni.....	37
2.4. D Vitamini Eksikliğinin Sağlık Üzerine Etkileri	43
2.4.1. D Vitamini ve İskelet Sistemi	43
2.4.2. D Vitamini ve Kas Fonksiyonları	44
2.4.3. D Vitamini ve Kardiyovasküler Sistem	44
2.4.4. D Vitamini ve Diyabet	44
2.4.5. D Vitamini ve Kanser	45

2.4.6. D Vitamini ve Bağışıklık Sistemi	46
2.4.7. D Vitamini ve Nöropsikiyatri	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
3.1. Örnek Toplama	48
3.1.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri	48
3.1.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri	48
3.2. Çalışmanın Genel Planı.....	48
3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	48
3.2.2. Kemiluminesans Mikropartikül İmmunassay Yöntemi (CMIA) ile Plazma 25(OH)D Seviyelerinin Belirlenmesi.....	49
3.2.3. Kolorimetrik Test Çalışması ile Albümin Konsantrasyonun Ölçümü	49
3.2.4. LC-MS/MS Yöntemi ile Plazma 25(OH)D ve 25(OH)D ₂ Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	50
3.2.5. D Vitamini Bağlayıcı Protein Konsantrasyon Ölçümü.....	51
3.2.6. Periferik Kandan DNA izolasyonu	53
3.2.7. Elektroforezde DNA'ların Görüntülenmesi.....	53
3.2.8. DNA Kalitesinin Ölçümü.....	54
3.2.9. Gerçek Zamanlı PZR	54
3.3. Serbest D Vitamini ve Yararlanılabilir D Vitamini Konsantrasyonlarının Hesaplanması	57
3.4. İstatistiksel Analizler	58
4. BULGULAR.....	59
4.1. Demografik veriler.....	59
4.2. 25(OH)D Değerlerinin Kullanılan Tekniklere Göre Karşılaştırılması	60
4.3. Biyokimyasal Verilerin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması	60
4.4. Biyokimyasal Verilerin Plazma 25(OH)D Sonuçlarına Göre Karşılaştırılması	61
4.5. Gc geni Polimorfizimlerinin Biyokimyasal Veriler ile Karşılaştırılması	61
4.5.1. rs7041 Polimorfiziminin Biyokimyasal Veriler ile Karşılaştırılması	61
4.5.2. rs4588 Polimorfizimi	69
4.6. DBP Fenotiplerine Göre Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması	76
5. TARTIŞMA	81
KAYNAKLAR	88
ETİK KURUL KARARI	99

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	100
ÖZGEÇMİŞ	101



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2- 1: D vitaminin kaynakları.....	23
Tablo 2- 2: D vitamini reseptörü tanımlanan hücre ve dokular.....	26
Tablo 2- 3: D vitamini taşıyıcı proteinlerin D vitamini metabolitleri ile ilişkisini gösteren biyokimyasal parametreler.....	34
Tablo 2- 4: D vitamini bağlayıcı proteinlerin D vitamini ligandlarına afinitesi.....	34
Tablo 2- 5: DBP'nin yaygın fenotipleri ve plazma 25(OH)D ile karakteristik ilişkileri	41
Tablo 2- 6: Bazı popülasyonlarda rs7041 genotipinin polimorfik formların prevalansı	42
Tablo 2- 7: Bazı popülasyonlarda rs4588 genotipinin polimorfik formların prevalansı	42
Tablo 3- 1: 25(OH)D, 25(OH)D ₂ ve iç standardın kütle geçişleri ve MS/MS koşulları	51
Tablo 3- 2: rs4588 ve rs7041 SNP'lerinin yer aldığı diziler.....	56
Tablo 3- 3: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu reaksiyon koşulları	56
Tablo 4-1: Bireylerin demografik verileri	59
Tablo 4-2: Bireylerin CMIA ve LC-MS/MS teknikleri ile ölçülen plazma 25(OH)D değerlerinin karşılaştırılması.....	60
Tablo 4-3: Biyokimyasal verilerinin cinsiyetlere göre karşılaştırılması.....	60
Tablo 4-4: Biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D sonuçlarına göre karşılaştırılması	61
Tablo 4-5: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin D vitamini parametrelerinin karşılaştırılması.....	62
Tablo 4-6: rs7041 polimorfizminin ve biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	63
Tablo 4-7: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları	64
Tablo 4-8: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları	65
Tablo 4-9: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin D vitamini parametrelerinin karşılaştırılması.....	70
Tablo 4-10: rs4588 polimorfizminin ve biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D gruplarına göre karşılaştırılması	71
Tablo 4-11: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları	72

Tablo 4-12: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları	73
Tablo 4-13: Gc geni fenotiplerinin biyokimyasal parametrelere göre karşılaştırılması .	77
Tablo 4-14: DBP fenotiplerinin plazma 25(OH)D konsantrasyonlarına göre dağılımları	78
Tablo 4-15: DBP fenotiplerinin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre dağılımları	78
Tablo 4-16: DBP fenotiplerinin yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre dağılımları.....	79



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2- 1: Kolekalsiferol (Vitamin D3) ve ergokalsiferol (Vitamin D2)'ün yapısı	22
Şekil 2- 2: D vitaminin metabolizması	24
Şekil 2- 3: 25(OH)D'nin plazmada taşınması.....	25
Şekil 2- 4: VDR'nin yapısı	27
Şekil 2- 5: VDR'nin genomik mekanizması.....	28
Şekil 2- 6: Gc genini taşıyan kromozomun yapısı.....	29
Şekil 2- 7: D vitaminin fonksiyonları	30
Şekil 2- 8: Serbest D vitamini, yararlanılabilir D vitamini ve plazma D vitamini	35
Şekil 2- 9: Plazmada bulunan 25(OH)D	35
Şekil 2- 10: Gc geninde bulunan rs7041 ve rs4588'in allelleri	38
Şekil 2- 11: Gc geni fenotiplerinin amino asit kombinasyonu	39
Şekil 2- 12: Gc geni Gc1f, Gc1s ve Gc2 fenotiplerinin oluşumu	40
Şekil 3- 1: Quantikine insan vitamin DBP immunoassay standardının hazırlanması	52
Şekil 3- 2: TaqMan SNP genotipleme test süreci	55
Şekil 4-1: Türk toplumunda rs7041 polimorfizmine göre yüzdelik genotip dağılımı	62
Şekil 4-2: GG genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	66
Şekil 4-3: GG genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonuna göre karşılaştırılması.....	67
Şekil 4-4: GT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	67
Şekil 4-5: GT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	68
Şekil 4-6: TT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	69
Şekil 4-7: TT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	69
Şekil 4-8: Türk toplumunda rs4588 polimorfizmine göre yüzdelik genotip dağılımı	70
Şekil 4-9: AC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	73

Şekil 4-10: AC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	74
Şekil 4-11: CC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	75
Şekil 4-12: CC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması.....	75
Şekil 4-13: Türk toplumunda DBP fenotiplerinin yüzdelik dağılımı dağılımı	76



DENKLEMLER LİSTESİ

Denklem 3-1: Serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının hesaplanması.....	40
---	----



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

1,25(OH)2D: 1,25 Hidroksivitamin D

25(OH)D3: 25 Hidroksivitamin D3. Tezin yazımında kısaltma olarak 25(OH)D olarak geçecektir.

25(OH)D2: 25 Hidroksivitamin D2

ALB: Albümin

[Alb]: Plazma albumin konsantrasyonu

ASW: Afrika soyu

BCG: Bromcresol yeşil

BCP: Bromcresol mor

CE: Optimum çarpışma enerjileri

CEU: Avrupalılar

CHB: Han Çinlileri

CHD: Colorado Metropolitan Denver’da bulunan Çinliler

CMIA: Kemiluminesans mikropartikül immunassay yöntemi

d6-25(OH)D: Kararlı izotop

[DAIb]: Albumine bağlı 25(OH)D konsantrasyonu

DBP: D vitamini bağlayıcı protein

[DBP]: Plazma vitamin D bağlayıcı protein konsantrasyonu

[DDBP]: DBP’ye bağlı 25(OH)D konsantrasyonu

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

ELIZA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

FV: Optimum parçalanma voltajları

Gc: Grup-spesifik bileşen (group-specific component) proteinleri

GIH: Gujarati yerlileri

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

IOM: Tıp Enstitüsü (Institute of Medicine)

IS: İç standart

JPT: Japonlar

kDa: Kilodalton

KALB: D vitamini ve albümin arasındaki afinite sabiti

KDBP: D vitamini ve DBP arasındaki afinite sabiti

L: Litre

LC/ MS-MS: Sıvı kromatografisi - kütle spektrometrisi

LWK: Luhya

MEX: Meksika soyu

mg: Miligram

MKK: Kenyalılar

mL: Mililitre

MRM: Çoklu reaksiyon izleme

NHANES: Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi (National Center for Health Statistics)

nm: Nanometre

OD: Optik densite

PTH: Paratiroid hormon

Psi: Pound-kuvvet saniye bölü inç kare

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

QC: Kalite kontrol

Rpm: Dakikadaki devir sayısı

RXR: Retinoik X reseptörü

sn: Saniye

[Serbest D vitamini]: Serbest 25(OH)D konsantrasyonu

SD: Standart sapma

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

TBE: Tris/borate/EDTA

TSI: Toscani

UV: Ultraviyole

UVB: Ultraviyole B ışını

V: Voltaj

VDR: D vitamini reseptörü

VDRE: D vitamini yanıt elementi

[Yararlanılabilir D vitamini]: Albümine bağlı bulunan ve serbest D vitaminin toplam konsantrasyonu

YRI: Yoruba Afrikalıları

µg: Mikrogram

µm: Mikrometre

µl: Mikrolitre

+ESI: Pozitif elektrosprey iyonizasyonu

ÖZET

KARCIOĞLU BATUR, L. (2019). Türk toplumunda vitamin D bağlayıcı protein genotipi ve plazma 25(OH)D konsantrasyonu ile ilişkisi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Ülkemizdeki bireylerde yaygın olarak D vitamin düşüklüğü olduğu birçok çalışmayla gösterilmiştir. Aslında vücutlarında D vitamini seviyesi düşük sanılan bireylerin serbest D vitaminlerine bakıldığında gerçekten düşük olup olmadığı anlaşılmaktadır. D vitamini taşımada vitamin D bağlayan protein (DBP) ana proteindir ancak albümin ile birlikte dolaşımdaki D vitamini metabolitlerinin %99'a kadarını bağlar. Albüminin 25(OH)D'e olan afinitesi DBP'nin afinitesine göre daha düşük olduğu için plazmada bulunan 25(OH)D'ün ancak %10 kadarını taşır. Serbest D vitamini miktarını belirleyen DBP'dir ve dolaşımdaki 25(OH)D'ün %85 ila %90'ını bağlamaktadır. DBP'i kodlayan Gc geninde meydana gelen polimorfizmler toplumlara göre değişkenlik göstermektedir. Gc'de bulunan iki tek nükleotid polimorfizmi (SNP), rs7041 ve rs4588 farklı fenotiplerin oluşmasına (Gc1f, Gc1s ve Gc2) neden olmaktadır.

Çalışmanın amacı 25(OH)D seviyesi düzeyi düşük olduğu için D vitamin yetmezliği olduğu sanılan bireylerde, bu düşüklüğün Gc genindeki polimorfizmlerden kaynaklandığını göstermektir. Şubat-Mayıs 2019 tarihleri arasında kontrol (check-up) amacıyla hastaneye başvuran, son iki yıl içerisinde D vitamini takviyesi almamış toplam 51 beyaz Türk birey çalışmaya dahil edilmiştir. Plazmada 25(OH)D düzeyleri kemiluminesans mikropartikül immunassay yöntemi ve ayrıca sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemi ile belirlenmiş, albümin konsantrasyonu kolorimetrik test çalışması ile ölçülmüş ve DBP konsantrasyonu tayini quantikine insan vitamin DBP immunoassay ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilmiş olan genomik DNA kullanılarak, rs4588 ve rs7041 tek nükleotid polimorfizimleri (SNP) için genotiplendirme gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir.

Türk popülasyonunda en sık görülen genotip rs7041 SNP'sinde GT genotipi (%49) ve rs4588 için ise AC genotipi (%53) olarak tespit edilmiştir. rs7041 SNP'sine göre GG, GT ve TT genotipli bireylerin sırasıyla %31,25, %60 ve %60'ının plazma 25(OH)D düzeyi düşük ($p = 0,028$, $p = 0,103$ ve $p = 0,262$) iken serbest D vitamini düzeylerine göre %6, %28 ve %20'sinin düşük ($p = 0,033$, $p = 0,052$, $p = 0,486$) ve yararlanılabilir D vitaminlerine göre %43,75, %76 ve %70'inin düşük olduğu ($p = 0,0171$, $p = 0,049$, $p = 0,348$) olduğu tespit edilmiştir. rs4588 SNP'sine göre ise AA genotipe sahip bir bireyin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük görünmesine rağmen serbest ve yararlanılabilir D vitaminleri normal düzeyde çıkmıştır. AC ve CC genotipli bireylerin sırasıyla %52 ve %48'sinin 25(OH)D düzeyi düşük ($p = 0,447$, $p = 0,341$) iken serbest D vitaminine göre %30 ve %9'unun düşük ($p = 0,028$, $p = 0,038$) ve yararlanılabilir D vitaminine göre %70,4 ve %65,2'sinin düşük olduğu tespit edilmiştir ($p = 0,276$, $p = 0,421$).

Bireylerin rs7041 ve rs4588 SNP'lerinin kombinasyonlarından kaynaklanan fenotiplerine bakıldığında, en sık görülen fenotiplerin Gc1s/2 ve Gc1s/1s, nadir görülen fenotipin ise Gc1f/1f olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız Türk popülasyonunda rs7041 SNP'si açısından Avrupa popülasyonunun allel frekanslarıyla benzerliğimizi ve rs4588 SNP'si açısından da Gujarati Kızılderilileri ile benzerliğimizi ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: 25(OH)D; Türk popülasyonu; DBP; Gc geni; D vitamini

ABSTRACT

KARCIOĞLU BATUR, L. (2019). The relationship between the genotype of vitamin D binding protein and plasma 25(OH)D concentration in Turkish population. Istanbul University-Cerrahpasa Institute of Graduate Education, Department of Medical Biology. PhD Thesis. Istanbul.

Many studies have demonstrated that vitamin D is common among the individuals in our country. In fact, it is determined that individuals who are supposed to have low levels of vitamin D in their bodies have really low levels of the bioavailable vitamin D when measured. Vitamin D binding protein (DBP) is the main protein in vitamin D transport, but it binds up to 99% of the circulating vitamin D metabolites together with albumin. Since the affinity of albumin to 25(OH)D is lower than the affinity of DBP, it carries only 10% of 25(OH)D in plasma. It is DBP that determines the amount of free vitamin D and binds 85 to 90% of circulating 25(OH)D₃. The polymorphisms in the Gc gene encoding DBP vary according to races. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs7041 and rs4588 found in Gc gene lead to constitute the different phenotypes (Gc1f, Gc1s and Gc2).

The aim of this study is to show that low levels of 25(OH)D are due to the polymorphisms in DBP gene of individuals who were presumed to have vitamin D deficiency. A total of 51 white Turkish individuals who applied to hospital for check-up between February 2019 and May 2019 and who did not receive vitamin D supplements in the last two years were included in the study. Plasma 25(OH)D levels were determined by chemiluminescence microparticle immunassay method as well as liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS / MS) method, albumin concentration was measured by a colorimetric test, and DBP concentration was determined by quantikine human vitamin DBP immunoassay. Using isolated genomic DNA, genotyping for rs4588 and rs7041 single nucleotide polymorphisms (SNPs) was performed by real-time polymerase chain reaction.

The most common genotype in the Turkish population was GT genotype (49%) in rs7041 SNP and AC genotype (53%) in rs4588. According to rs7041 SNP, plasma 25(OH)D levels of 31.25%, 60% and 60% of individuals with GG, GT and TT genotypes were low ($p = 0.028$, $p = 0.103$ and $p = 0.262$), respectively. 6%, 28% and 20% of them had low levels of free vitamin D ($p = 0.033$, $p = 0.052$, $p = 0.486$) and 43.75%, 76% and 70% had low levels of bioavailable vitamin D ($p = 0.0171$, $p = 0.049$, $p = 0.348$), respectively. According to rs4588 SNP, the plasma 25(OH)D concentration of an individual with AA genotype was found to be low, but free and bioavailable vitamin D levels were normal. While 25(OH)D levels of 52% and 48% of individuals with AC and CC genotypes were low ($p = 0.447$, $p = 0.341$), 30% and 9% of them had lower free vitamin D ($p = 0.028$, $p = 0.038$) and 70.4% and 65.2% of them had lower bioavailable vitamin D ($p = 0.276$, $p = 0.421$), respectively.

Considering the phenotypes of individuals resulting from the combination of rs7041 and rs4588 SNPs, the most common phenotypes were Gc1s / 2 and Gc1s / 1s and the rare phenotype was Gc1f / 1f. Our findings show that the Turkish population has similarity with the allele frequencies of European population in terms of rs7041 SNP and similarity with allele frequencies of Gujarati Indians in terms of rs4588 SNP.

Keywords: 25(OH)D; Turkish population; DBP; Gc gene; D vitamin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

D vitamini eksikliğinin önemli sağlık sorunları oluşturmaları sebebiyle son zamanlarda D vitamini üzerine birçok çalışma yapılmıştır. D vitamini kemik ve mineral metabolizmasında birçok fonksiyona sahip olmanın yanı sıra insan vücudunda hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz gibi çeşitli rollere sahiptir. Düşük plazma 25(OH)D düzeyleri kalp-damar hastalıkları, diyabet ve kanser gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan birçok çalışma 25(OH)D eksikliği ile çeşitli sağlık sorunları arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır (Boland 1986; Holick 2007; Ozfirat ve Chowdhury 2010).

D vitaminin çok büyük bir kısmı (%90-%95) güneş ışınlarının etkisi ile deride sentezlenmektedir (Akpınar ve İçağasıoğlu 2012). Yeteri kadar ve doğru şekilde güneşte kalmanın ilave olarak D vitamini almaya gerek kalmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Kuzey Amerika'da yapılan bir çalışmayla haftada birkaç kere el, yüz ve kolların 5-15 dk güneşte kalmasının vücudun D vitamini ihtiyacını karşılamak için yeterli olduğu gösterilmiştir (Gerdhem ve ark. 2005; Mosekilde 2005).

Ayrıca, mevsimsel değişiklikler ve coğrafik konumun da, güneş ışınlarının etkisi ile deride sentezlenen D vitaminini değiştirdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Kış aylarında yaklaşık 33° enlemin kuzeyinde yaşayanlarda D vitamini sentezi hemen hemen hiç yapılmamaktadır (Wacker ve Holiack 2013a).

D vitamini plazmada 3 farklı şekilde bulunur. Dolaşımdaki 25(OH)D'nin %85 ile 90'nı DBP'ne (Bikle ve ark. 1986), %10- %15'i ALB'ne bağlı olarak bulunur. %1'i ise serbest olarak bulunur. ALB'ne bağlı olarak bulunan ve serbest olarak bulunan bu iki formun toplamı yararlanılabilir D vitaminini oluşturur. Bu nedenle DBP'ne bağlı bulunan 25(OH)D, hedef hücrelere etki edememektedir (Bikle ve Gee 1989; Safadi ve ark. 1999) Oysaki klinikte DBP'ne bağlı olan, ALB'ne bağlı olan ve serbest olarak dolaşımda bulunan 25(OH)D'ün toplamına bakılarak hastaların D vitamini düzeyi hakkında bilgi sahibi olunmaktadır.

Klinik deneyler taşıyıcı proteinlere bağlı olup olmadığını ayırt etmeden toplam 25(OH)D'yi ölçmektedir. Halbuki, beyazlar ile siyahlar karşılaştırıldığında total 25(OH)D seviyesi beyazlara göre siyahlarda daha düşük olmasına rağmen kemik mineral yoğunluğu siyahlarda daha yüksek olup, kemik kırılmaları beyazlara göre daha düşük

orandadır (Bischoff-Ferrari ve ark. 2004; Cauley ve ark. 2005; Hannan ve ark. 2008). DBP’de görülen yaygın polimorfizmler DBP’nin 25(OH)D’ye afinitesini etkilediği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Engelman ve ark. 2008; Sinotte ve ark. 2009).

Bu çalışmanın amacı; 25(OH)D seviyesi düzeyi düşük olduğu için D vitamin yetmezliği veya eksikliği olduğu sanılan bireylerde, bu 25(OH)D seviyesi düşüklüğünün hastanın taşıdığı DBP proteinin kodlayan Gc genindeki polimorfizmlerden kaynaklandığını göstermektir. Bu şekilde özellikle ülkemizde çok yaygın bir şekilde artmış olan D vitamini kullanımının azaltılabileceğini düşünmekteyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. D Vitamini

2.1.1. D Vitaminin Tanımı ve Tarihçesi

Genellikle vücut tarafından sentezlenmeyen ve dışarıdan alınması gereken vitaminler yaşamsal bir öneme sahiptir. Vitaminler suda çözünen ve yağda çözünen vitaminler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. A, E, K vitamini gibi D vitamini de yağda çözünen vitaminlerden biridir (Holick 2007).

D vitaminin sentezinin deride yapılabilir olması, kolesterolden sentezlenebilmesi, mineral dengesinin korunmasındaki düzenleyici görevleri, üretildiği dokudan farklı vücut bölgelerine taşınabilmesi ve buralarda ilgili reseptöre bağlanarak görev yapabilmesi gibi kendine has özelliklerinden dolayı hormon olarak kabul edilebilmektedir (Sözen 2011).

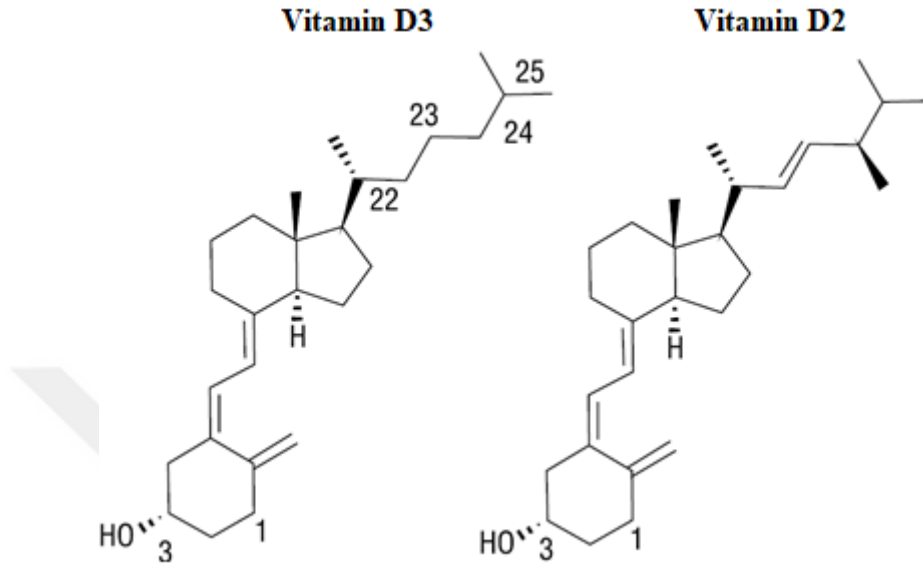
Kronolojik olarak değerlendirildiğinde, güneş ışınlarının tedavideki rolü hakkındaki ilk görüş 1822’de Sniadecki tarafından ortaya atılmıştır (Możowski 1939). 1920’li yıllarda D vitamini, ilk kez “vitamin” olarak sınıflandırılmıştır (DeLuca 2004). 1922’lere gelindiğinde Hess ve Gutman New York’ta çocuklar güneş ışınları ile tedavi etmişlerdir (Hess ve Gutman 1922). 1922’de D vitamini olarak adlandırılan yeni bir vitaminin raşitizmi iyileştirdiği net olarak ortaya koymuştur. (McCollum ve ark. 1922) Goldblatt ve Soames, 1923’de, deride D vitaminin öncülü bulunduğunu ve güneş ışığında yağda eriyen vitaminlerden D vitaminin üretildiğini tespit etmişlerdir (Goldblatt ve Soames 1923). 1931’de D2 vitamini yapısı (Askew ve ark. 1930), 1937’de D3 vitamini yapısı (Windaus ve Bock 1936) tanımlanmıştır. Raşitizm hastalığından insanlarda ilk defa 1960’lı yıllarda Deboot ve Wistler tarafından sözedilmiştir (Dunn 1998). 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra yapılan araştırmalarda ise, D vitamininin bir vitamin değil, prohormon olduğu gösterilmiştir (DeLuca 2004).

2.1.2. D Vitaminin Yapısı ve Kaynakları

D vitamini Endojen ve eksojen kaynaklı olabilir. D vitamininin dolaşımında vitamin D2 (ergokalsiferol) ve vitamin D3 (kolekalsiferol) olmak üzere iki önemli formu vardır (Ozkan ve Doneray 2011).

Vitamin D2, vitamin D3 benzer yapıda olup, D2’nin yan zincirlerinde 22. ve 23. karbonlarda çift bağ bulunması ve 24. karbondan bir metil grubu içermesi ile vitamin D3’den ayrılır (Şekil 2-1) Dört halkadan oluşan D vitamininin, B halkasındaki 5 ile 6. ve

7 ile 8. karbon atomları arasında ikişer çift bağ bulunmaktadır. 9 ile 10. karbon atomları açık halka halinde iken, halkanın diğer A, C, D bölgelerinde ise doymun olan bir halka sistemi ile 8 ya da 9 karbonlu yan kolu bulunan toplamda 27 C mevcuttur (DeLuca 2004).



Şekil 2- 1: Kolekalsiferol (Vitamin D3) ve ergokalsiferol (Vitamin D2)'ün yapısı

Dışarıdan alınan D vitamini hem D2 hem de D3 vitamini olabilir. (Feldman ve ark. 2014). Bitkilerde bulunan vitamin D2 ve hayvan dokularında bulunan vitamin D3, besin yolu ile dışarıdan alınan süt, yoğurt, ekmek, balık yağı, zenginleştirilmiş besin takviyesi veya ilaç takviyesi olarak alınabilmektedir. Bitkilerde bulunan ve bazı farmakolojik preparatlar ve besin takviyeleri de D vitamini metabolik sistemine girebilir (Cheng ve ark. 2003). Somon, uskumru gibi yağlı balık türlerinin yanısıra maydanoz, yosun, tatlı patates, mantar, yulaf ve brokoli gibi bitkisel gıdalara ilaveten yumurta sarısı, tereyağı gibi hayvansal gıdalar D vitamini yönünden oldukça zengindir. Ancak gerek bitkisel gıdalar, gerekse hayvansal gıdalar günlük D vitamini ihtiyacını karşılayamaz (Ataş ve ark. 2008). Dışardan hazır olarak alınan veya vücut tarafından sentezlenen Vitamin D2 veya vitamin D3 yağ hücrelerinde depolanır, ihtiyaç halinde dolaşıma verilir (Holick 2007). D vitamini kaynakları Tablo 2-1’de özet olarak verilmiştir.

Tablo 2- 1: D vitaminin kaynakları

D vitamini kaynakları	D vitamini formu
Güneş ışınları	7-dehidrokolesterol
Bitkisel gıdalar	Vitamin D2 (Ergokalsiferol)
Hayvansal gıdalar	Vitamin D3 (Kolekalsiferol)
İlaçlar	Kalsitriol, alfakalsidiol, kalsipotriol vb

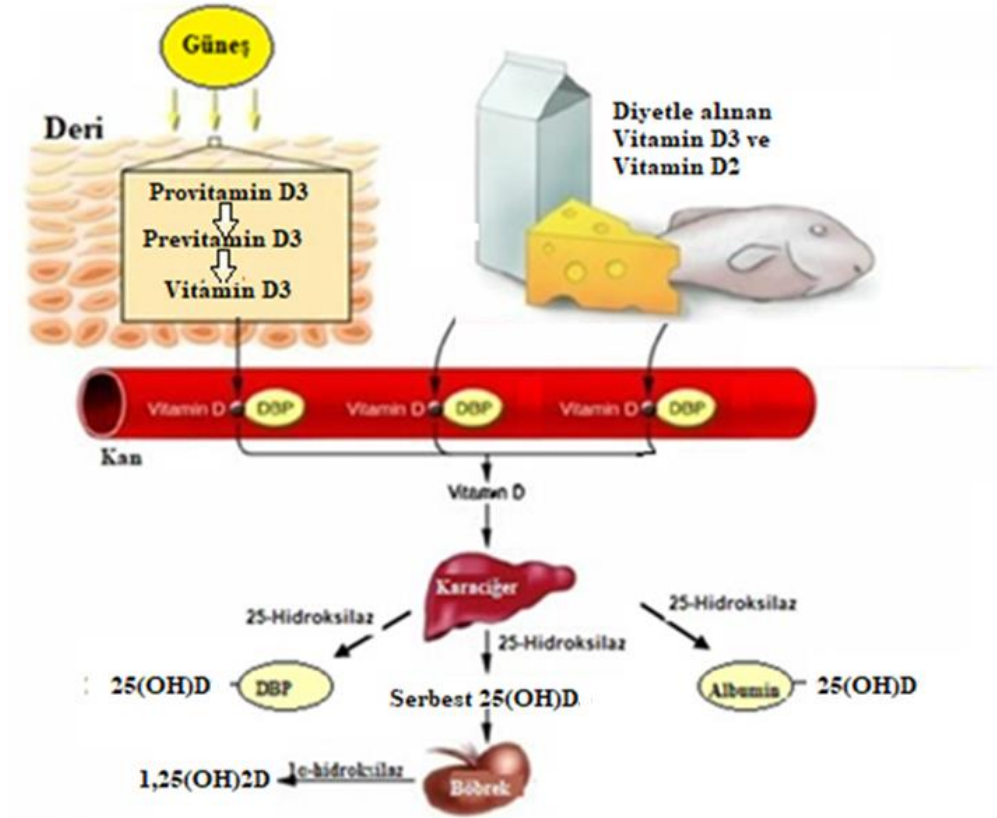
2.1.3. D Vitaminin Metabolizması

D vitamini, sentezinin en önemli kaynağı güneştir. D vitaminin %90-95'i güneş ışınlarının etkisi ile deride dermis ve epidermis tabakalarında 7-dehidrokolesterol (Provitamin D3)'den D3 vitaminin sentezi ile elde edilir (Fidan ve ark. 2014; Holick 2007). D3 vitamini deride enzimatik olmayan yolla epidermin stratum spinosum ve basale tabakalarında en yüksek konsantrasyonlarda bulunan 7-dehidrokolesterol kaynaklı oluşmaktadır. Güneş ışınlarının etkisi ile 290-320 nm dalga boyları arasında ışık sterol B halkasındaki 9 ve 10. karbonlar arasındaki bağları kırarak halkanın açılmasına neden olur. Halkanın açılması sonucu oluşan previtamin D3 (sekosterol halka) cilt sıcaklığının etkisiyle 2-3 günden daha uzun bir sürede D3 vitaminine dönüşür. Ciltten difüzyon yoluyla dolaşıma geçer ve çok büyük bir kısmı DBP'ne bağlanarak taşınır. Güneş ışığına aşırı maruziyet ise previtamin D3'ün biyolojik olarak inaktif formları olan lumisterol3 ve takisterol3 formlarına dönüşmesine neden olur. Melanin gelen ışığın bir kısmını emerek previtamin D3 oluşumunu azaltır. Yaş ile ciltte bulunan 7-dehidrokolesterol miktarının azaldığı da bildirilmektedir. D2 vitamini ise bir bitki sterolü olan ergosterolün benzer şekilde ışığa maruz kalması sonucu meydana gelir (Bhagavan ve Ha 2011).

Hem D3, hem de D2 vitamini biyolojik olarak aktif değildirler. Gerek endojen kaynaklı, gerekse eksojen kaynaklı D vitaminin aktif forma geçebilmesi için öncelikle karaciğer enzimlerinden p-450 ailesinin üyelerinden 25 hidroksilaz enzimi tarafından 25(OH)D'ye dönüşmelidir (Holick 2007).

Karaciğere taşınan D vitamini p-450 ailesinin üyelerinden CYP2R1, CYP2D11 ve CYP2D25 tarafından C-25 bölgesinden hidroksile edilir. D vitamini sentezinde, 25-

hidroksilaz enzimi oldukça önemlidir. Oluşan 25(OH)D'nin bir kısmı enterohepatik dolaşıma katılır (Şekil 2-2). Yapılan çalışmalar 25(OH)D'nin vücudun D vitamini düzeyi hakkında bilgi veren en iyi parametre olduğu bildirilmektedir (Holick 2007; Ozkan ve Doneray 2011). Günümüzde D vitamini düzeyi hakkında bilgi edinmek için plazmadan 25(OH)D'nin seviyesine bakılmaktadır.

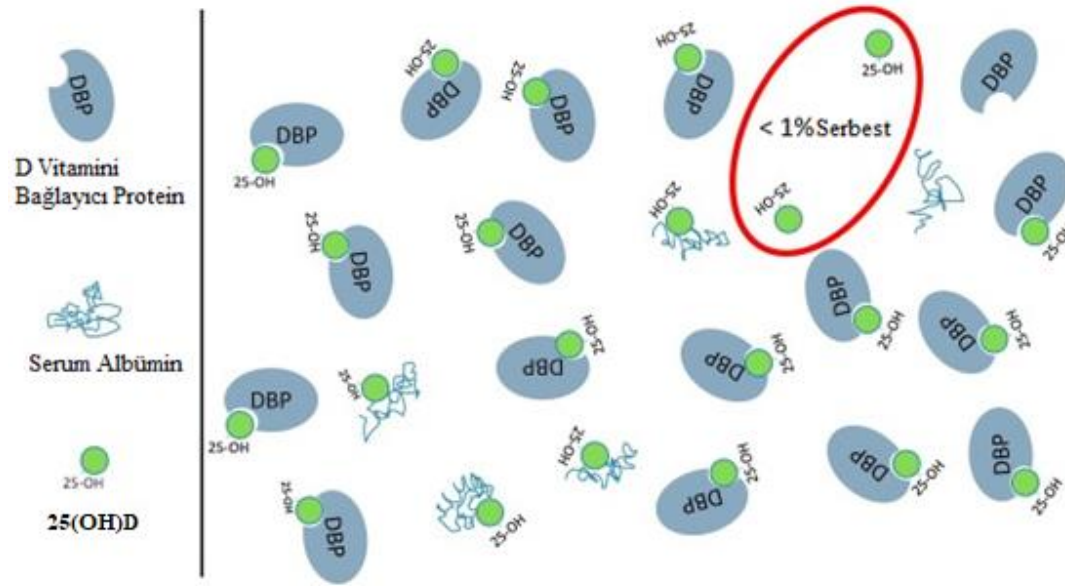


Şekil 2- 2: D vitaminin metabolizması

Oluşan 25(OH)D, D vitamininin kanda bulunan major formudur ve böbreğe taşınır. Böbreklere taşınan 25(OH)D megalin aracılı endositozla hücrenin içine alınır. Megalin, düşük yoğunluklu lipoproteinle ilgili protein 2 olarak da bilinen ve birçok dokunun epitel hücrelerinden eksprese edilen büyük (600 kDa) bir transmembran multiligand reseptörüdür. Megalin koreseptör kubilin (460 kDa) ile birlikte eksprese edildiği zaman endositoz yoluyla içeri alınmasını sağlar (Christensen ve Birn 2002).

Böbrek hücresinin içine alınan 25(OH)D, proksimal renal tübülde 1 α -hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile C-1 bölgesinden hidroksile edilir ve D vitaminin aktif formu olan 1,25(OH) $_2$ D'ye dönüşür (Bhagavan ve Ha 2011).

Dolaşımda 25(OH)D, Gc-Globulin olarak da bilinen spesifik ve yüksek afinite ile DBP'ne (%90), 25(OH)D'nin bir kısmı ise daha düşük afinite ile ALB'ne (%10) bağlanarak taşınır. Çok az bir kısmı ise hiçbir taşıyıcı proteine bağlanmadan serbest olarak taşınır (Şekil 2-3, Bikle ve Schwartz 2019; Tsuprykov ve ark. 2018).



Şekil 2- 3: 25(OH)D'nin plazmada taşınması

2.1.4. D Vitaminin Etki Mekanizması

D Vitaminin etkisini gösterebilmesi için D vitaminin aktif formu olan 1,25(OH) $_2$ D'nin D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanması gerekir. (Haussler ve ark. 2011). 1,25(OH) $_2$ D'nin, reseptörüne bağlanması, D vitamin kontrolündeki genlerin transkripsiyonuna neden olur (Valdivielso ve Fernandez 2006).

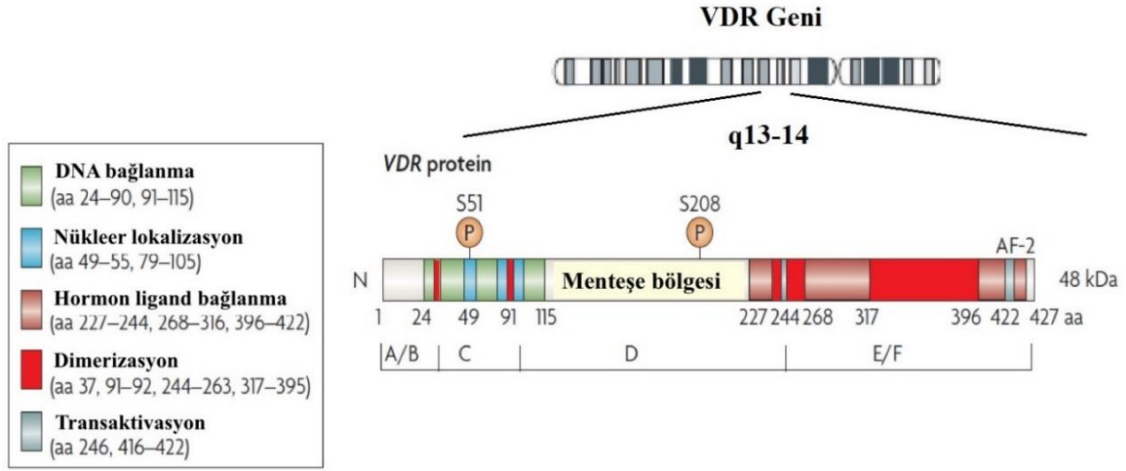
2.1.4.1. Vitamin D Reseptörü (VDR)

Nükleer reseptör süper gen ailesinin bir üyesi olan VDR (Vitamin D Reseptörü), çok sayıda hücrede (Tablo 2-2) bulunmaktadır (Antico ve ark. 2012).

Tablo 2- 2: D vitamini reseptörü tanımlanan hücre ve dokular

Yağ dokusu	Osteoblastlar
Adrenal	Adacık hücreleri
Meme bezi	Distal böbrek hücreleri
Epididimis	Saç folikülü
Karaciğer hücreleri	Hipofiz hücreleri
Akciğer hücreleri	Kolon enterositleri
Neoplastik hücreler	Kondositler
Kalp kası hücreleri	Aort endotel hücreleri
Kemik	Beyin
Kemik iliği	Bağırsak hücreleri
Plasenta	Prostat hücreleri
Aktif T hücreleri	Kulak altı tükürük bezi
Retina	Derinin keratinositleri
Mide	Testis
Tiroid	Uterus

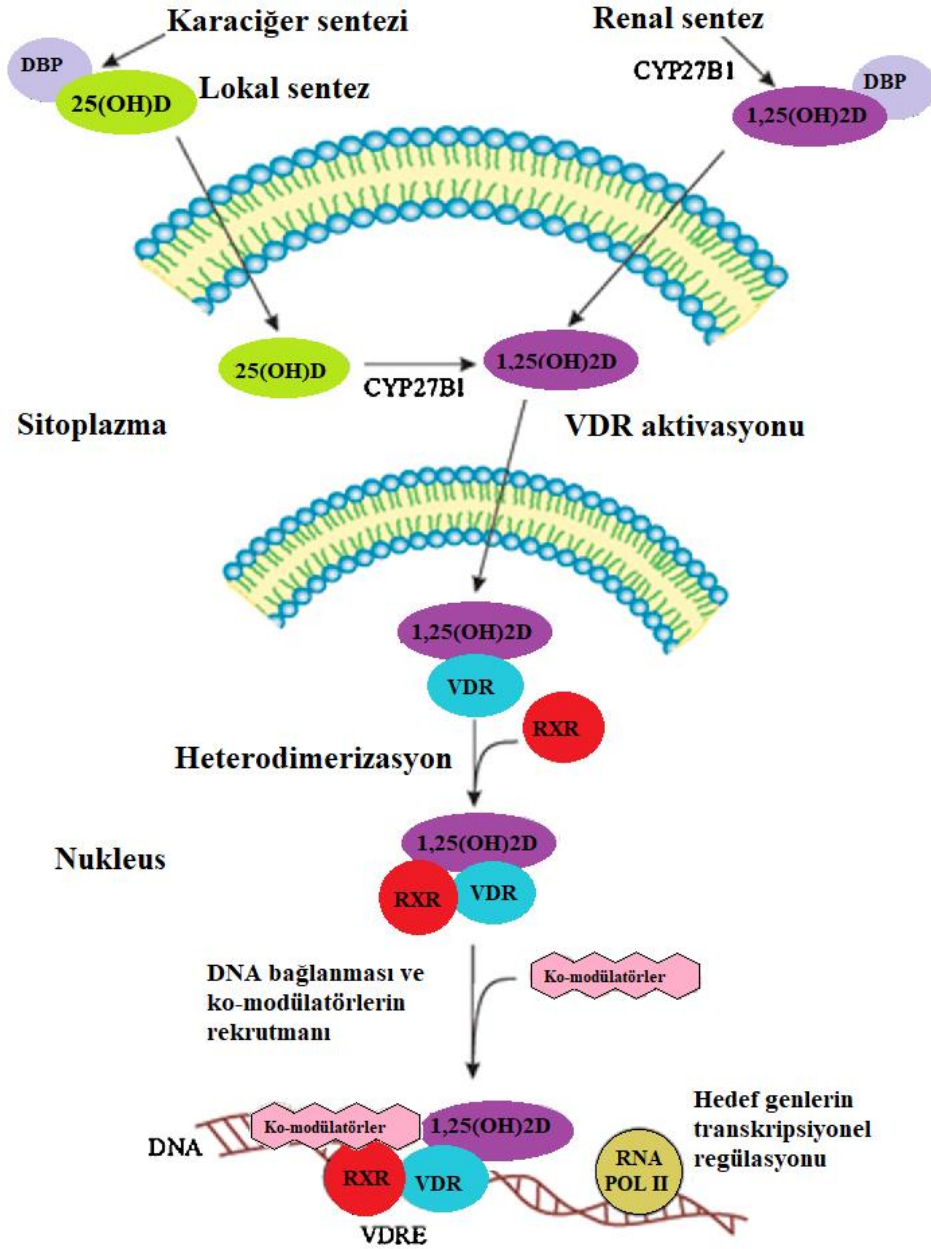
VDR proteini 48,3 kDa ağırlığa sahiptir ve 427 aminoasit uzunluğunda olup diğer reseptörler gibi ligandı bağlandığında aktive olur (Dayangaç 2002). Retinoik asit ve tiroid hormon reseptörüne oldukça benzeyen VDR, steroid hormon reseptör ailesinin bir üyesidir (DeLuca 2004). VDR beş bölgeden (A-E) oluşur (Şekil 2-4).



Şekil 2- 4: VDR'nin yapısı

24 aminoasitten oluşan A/B bölgesi, aktivasyon bölgesi iken 65 aminoasitten oluşan C bölgesi DNA bağlanma bölgesidir. D bölgesi ise 143 amino asitten oluşur ve esnek menteşe görevi görür. 195 aminoasitten oluşan E bölgesi ligand bağlayıcı bölgedir. E bölgesinin içinde yer alan AF2 bölgesi terminal aktivasyon bölgesi olarak görev alır ve koreseptörlerin ve koaktivatörlerin bağlanma bölgesini oluşturur (Liao 2018).

1,25(OH)₂D'nin VDR'ne bağlanır. Bu bağlanma VDR'nin fosforilasyonuna yol açar. Fosforile olan VDR, RXR ile heterodimer veya homodimer oluşturur. Oluşan 1,25(OH)₂D-VDR-RXR heterodimeri hedef genlerin promötöründe yer alan VDRE'ye bağlanır (Koszewski ve ark. 2010). İlgili genlerin aktivasyonuna ya da inaktivasyonuna neden olur (Şekil 2-5, Fathi ve ark. 2019; Valdivielso ve Fernandez 2006).



Şekil 2- 5: VDR'nin genomik mekanizması

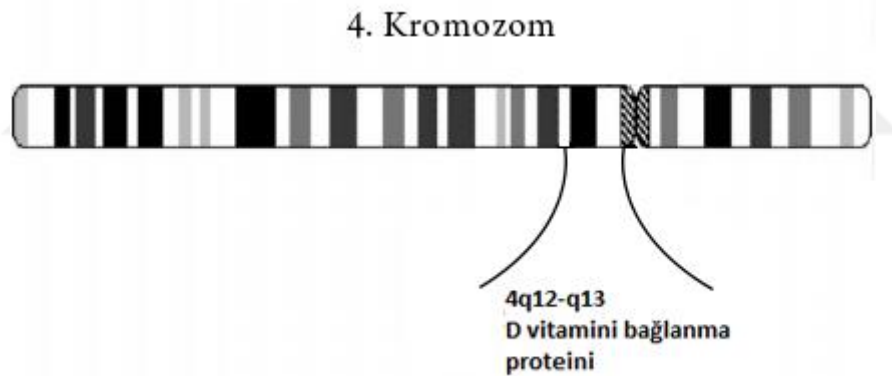
2.1.4.2. Vitamin D Bağlayıcı Protein (DBP)

DBP ilk defa plazmadan 1959'da Hirschfeld tarafından izole edilmiştir (Hirschfeld 1959; Holick ve Chen 2008). Plazmada bulunan multifaktöriyel bir protein olan DBP (Bouillon 2011; Haddad 1995; Speeckaert ve ark. 2006), dolaşımdaki 25(OH)D'ün %85 ile %90' ını bağlaması bakımından D vitamininin taşınmasında oldukça önemlidir (Powe ve ark. 2011). Bunun yanı sıra DBP, anti-inflamatuar ve immün düzenleyici işlevlere de sahip olduğu gösterilmiştir (Anic ve ark. 2014).

DBP glikoprotein yapısında olup 16 amino asitin sık tekrarına ilaveten 458 amino asitten oluşur. DBP'yi kodlayan gen Gc (group-specific component)'dir. Gc geni, 4. kromozomun uzun kolunda yer alır (4q12-q13) ve 35 kb uzunluğundadır, 13 ekzon ve 12 intron içerir (Şekil 2-6, Cooke ve ark. 1991; Fidan ve ark. 2014).

DBP çok sayıda dokuda eksprese edilir ancak karaciğer ana kaynaktır (Cooke ve ark. 1991). DBP, plazma, beyin omurilik sıvısı, seminal sıvı, tükürük ve anne sütünde tespit edilebilirken, DBP ve DBP'ye bağlı 25(OH)D kompleksleri, böbrek, karaciğer, iskelet kası, kalp, akciğer, bağırsak ve kemik gibi çeşitli dokularla plazmadan izole edilebilir (Fidan ve ark. 2014). Çoklu proteazlar, DBP'nin bozulmasını kontrol eder (Engelman ve ark. 2008).

Sağlıklı bireylerde, DBP üretim hızı günde yaklaşık 10 mg/kg olup plazma DBP konsantrasyonu 300-600 mg / ml'ye ulaşır (Cross ve ark. 1997).



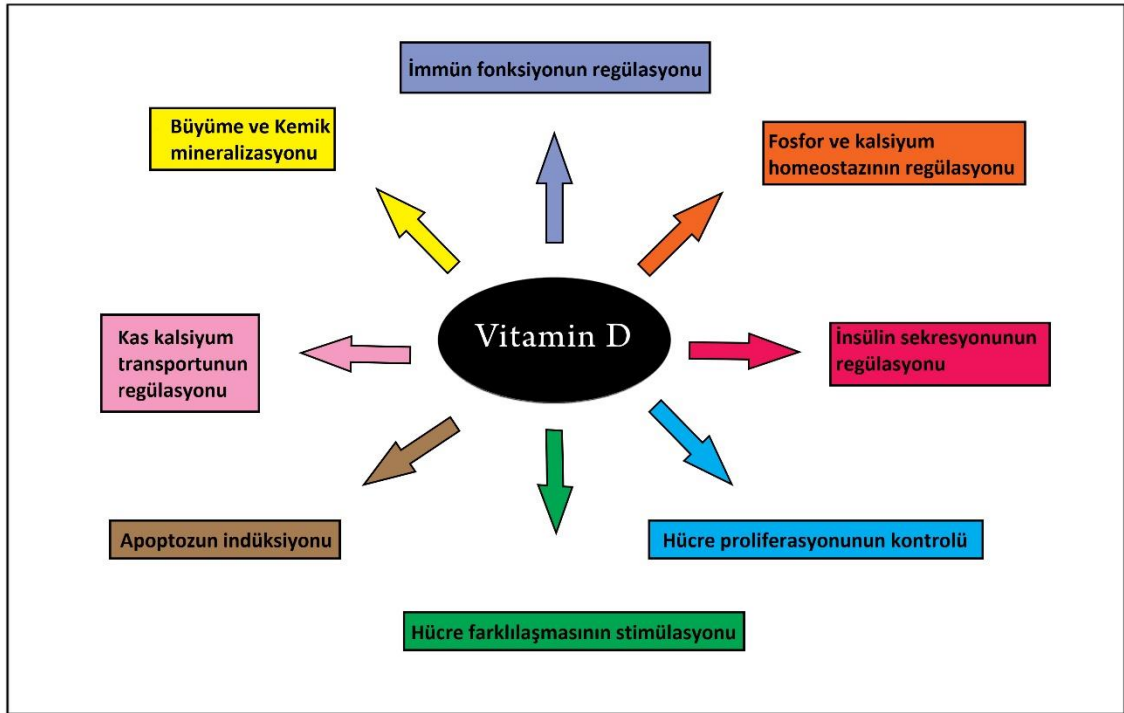
Şekil 2- 6: Gc genini taşıyan kromozomun yapısı

2.1.4.3. Albümin (ALB)

D vitamini taşımada DBP ana proteindir ancak Albümin (ALB) ile birlikte dolaşımdaki D vitamini metabolitlerinin %99'a kadarını bağlar (Bikle ve Schwartz 2019). ALB'nin 25(OH)D'ye olan afinitesi DBP'nin afinitesine göre daha düşük olduğu için plazmada bulunan 25(OH)D'ün ancak %10 kadarını taşır (Tablo 2.4).

2.1.5. D Vitaminin Fonksiyonları

D vitamininin fonksiyonu esas olarak, parathormon ile birlikte organizmanın kalsiyum ve fosfor dengesini sağlamaktır. Bu mineraller, metabolik fonksiyonların yerine getirilmesi ve kemik mineralizasyonu için yeterli seviyede bulunmalıdır (Hatun ve ark. 2003). İnsanlarda D vitaminin temel fonksiyonları Şekil 2-7’de belirtilmiştir (García-Layana ve ark. 2017).



Şekil 2- 7: D vitaminin fonksiyonları

D vitamini olmadığında besinlerle alınan kalsiyumun %10-15'i emilebilmektedir, D vitamini varlığında emilim %30-80'e kadar çıkabilmektedir (Ataş ve ark. 2008). 1,25(OH)₂D ince barsağın deudenum bölgesinden kalsiyum, ileum bölgesinden ise fosfor emilimini arttırmaktadır. D vitamini olmadığında besinlerle alınan fosforun %60'ı emilebilmektedir, D vitamini varlığında fosforun emilimi %80'e kadar çıkabilmektedir. 1,25(OH)₂D, PTH sentezini ve salınmasını azaltırken, hücre çoğalması, farklılaşması, ölümü ve anjiogenezis gibi birçok temel fonksiyonu olan 200'den fazla geni kontrol etmektedir. 1,25(OH)₂D iyi bir immun sistem düzenleyicisidir. Bunun

yanısıra 1,25(OH)2D, insülin yapımını ve myokardial kontraktileti artırırken, renin sentezini azaltabilmektedir (Belkız ve ark. 2008).

2.1.6. D Vitamini Eksikliği

D vitaminin çok büyük bir kısmı endojen olarak sentezlenir. D vitamini ile zenginleştirilmediği sürece diyetle alınan D vitamininin pek önemi yoktur. Temel kaynak güneş ışınlarıdır ve yeterince maruz kalınırsa D vitamini desteği almaya gerek bulunmamaktır. Amerika'nın kuzeyinde yapılan bazı çalışmalar, haftada 2-3 kez el, yüz ve kolları 5-15 dakika güneşe maruz bırakmanın vücudun vitamin D gereksinimini karşılamak için yeterli olabileceğini belirtmektedir (Akpınar ve İçağasıoğlu, 2012). Bunun yanı sıra, güneş ışınlarıyla deride sentezlenen vitamin D'nin mevsimlere ve coğrafik bölgelere göre farklılıklar oluşturabileceği gösterilmiştir. Örneğin yaklaşık 33° enlemin kuzeyinde yaşayan bireylerde kış ayları boyunca hemen hemen hiç vitamin D sentezlenmemektedir (Wacker ve Holick 2013a).

Yapılan bazı çalışmalar ise güneş ışığına maruz kalma süresi fazla olan orta doğulu kadınlar, İsraili dansçılar ve atletler, Avustralyalı jimnastikçiler, Havaii sörfçüler gibi farklı toplumlardan olan sporcularda da D vitamini eksikliği olduğunu bildirilmiştir (Hamilton 2011). Bu durum D vitamini eksikliğini tek başına güneş ışınlarından kaynaklanmayacağını, D vitamini eksikliğinde genetik faktörlerinde etkili olabileceği düşündürmektedir.

Deri pigmentasyonun artması, yaşlılık ve güneş kremlerinin kullanımı gibi pek çok etken endojen olarak D vitaminin sentezini olumsuz yönde etkiler (Holick ve ark. 2011). 30 faktörlü güneş koruma kremlerinin deride D vitamini sentezini %95-98 oranında düşürdüğü belirtilmektedir. 8 faktörlü güneş kremlerinin bile kandaki D vitamini seviyesini ciddi anlamda düşürdüğü belirtilmiştir (Wacker ve Holick 2013b). Yaşlılarda güneş ışınları etkisiyle D vitamini sentezleme yeteneğinin 30 yaş altı yetişkinlere kıyasla 1/4 ile 1/5 oranında azaldığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. D vitaminin esas kaynağı olan güneşin etkisi mevsimlere göre değişkenlik göstermekle birlikte bulut, yoğun ozon, hava kirliliğinden de etkilenir (Tsiaras ve Weinstock 2011).

2010 yılında IOM (Institute of Medicine) tarafından yayınlanan bir raporda, 20 ng ml⁻¹ 25(OH)D'nin kemik sağlığı için yeterli seviye olduğu önerildi. Yayınlanan bu raporda D vitaminin belirtilen seviyede olmasının kemik sağlığı dışında da birçok

yararının olduğu gösterildi (Ross ve ark. 2011). IOM'a göre yeni doğanlarda D vitamini takviyesine hemen başlanılmalı ve ilk 1 yıl boyunca 400 IU devam edilmelidir.

1 yaşından 70 yaşına kadar ise günde 600 IU, 70 yaşın üzerindeki bireylere de ise günde 800 IU D vitamini takviyesini tavsiye etmektedir. Bu dozlar, plazma 25(OH)D seviyesini kemik sağlığı için yeterli olduğu düşünülen 20 ng/mL düzeylerine yükseltebilir. Washington Endokrin Topluluğu ise insan plazmaundaki 25(OH)D'nin kemik ve immünolojik faydalar için 30 ng mL⁻¹ yeterli seviye olduğunu belirtmektedir (Holick ve ark. 2011). Ayrıca yenidoğanlarda ilk 1 yıl için günlük 400 IU ve 1000 IU, 1 yaşından 18 yaşına kadar ise günlük 600-1. 000 IU D vitamini takviyesi yapılması gerekliliğini bildirmektedir. 18 yaş üzeri yetişkinler için ise günlük 10. 000 IU'ye kadar verilmesi güvenli olduğunu ancak günlük 1 500-2. 000 IU D vitamini takviyesini tavsiye etmektedir. Bununla beraber obez bireyler antiepileptik ilaç kullanan bireyler gibi bazı bireylerde belirtilen dozlardan daha fazla doz uygulaması gerekebildiğini bildirmektedir (Wacker ve Holick 2013b).

Yapılan bir çalışmaya göre yetişkinlerde 6 yıl süresince her 2 haftada bir 50. 000 IU (ya da eşdeğer olarak günde 3. 000 IU) D vitamini takviyesi, herhangi bir toksik etki yaratmadan plazma 25(OH)D seviyesini 40-60 ng/mL arasında tutar. Çocuk ya da yetişkinlerde D vitamini takviyesinin artmasının, granulomatoz durumlar (tüberküloz gibi) hariç bilinen bir zararı bulunmamaktadır. Bütün yetişkinlerin 2. 000 IU/gün D vitamini takviyesi alması önerilmektedir (Holick 2012). Öte yandan, genetik hastalıklar gibi D vitamini metabolizmasını etkileyen enzimlerin polimorfizim gibi durumlarda D vitamin toksisite riskinin artabileceği göz ardı edilmemelidir (Wacker ve Holick 2013b).

2.1.7. D Vitamini Fazlalığı

Plazma 25(OH)D konsantrasyonu; 20 ng/mL'nin altına düştüğünde D vitamini eksikliği, 20-29 ng/mL D vitamini yetersizliği, 30 ng/mL'nin üstüne çıktığında D vitaminin yeterli olduğu kabul edilir. 2010 yılında yayınlanan IOM raporuna göre, 25(OH)D için üst sınır 50 ng mL⁻¹ dir (Ross ve ark. 2011). Ancak intoksikasyon (zehirlenme)'dan bahsedebilmek için plazma 25(OH)D'nin 150 ng/mL'nin üzerine çıkması gerekmektedir (Belkız ve ark. 2008). Fakat plazma 25(OH)D' nin bu kadar yüksek seviyeye çıkması çok nadir olarak görülür.

Yenidoğanlarda günde 40. 000 IU, 25(OH)D 1-4 ay takviye alımı, yetişkinlerde ise günde 100 000 IU birkaç ay takviye alımı sonrasında D vitamini intoksikasyonu görülmektedir (Ross ve ark. 2011).

D vitamini intoksikasyonu sindirim kanalından fazla Ca emilmesine neden olur ve hiperkalsemiyle karakterizedir. Kalsiyum başta sinir, kas ve sindirim sistemi gibi birçok dokuda fonksiyon görür. Hiperkalsemi sonucu başlıca yorgunluk, kaslarda güçsüzlük, karın ağrısı, bulantı, peptik ülser, polidipsi, dehidratasyon, hipertansiyon, böbrek yetmezliği gibi birçok farklı durum gelişebilmektedir (Hatun ve ark. 2003).

2.1.8. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri

Vitamin D2 ve D3'ün 30'dan fazla metaboliti bulunmakla birlikte D vitamini seviyesini saptamakta klinik olarak 25(OH)D ve 1,25(OH)2D'nin ölçümünün önemli olduğu ifade edilmektedir. Vücuttaki D vitamini durumunu anlamak için yarılanma ömrü (5-8 saat)'nün oldukça uzun olması ve plazmadan kolayca ölçülebilmesi, ölçüm kolaylığı, güneş ışığı ve diyetle sınırlı dalgalanma göstermesi, sebebiyle 25(OH)D yaygın olarak ölçülmektedir.

Günümüzde 25(OH)D'nin ölçümünde HPLC, radyoimmünoassay, kemilüminesans immünoassay gibi ölçüm yöntemleri de sıklıkla kullanılmakla birlikte referans yöntem kütle spektrometrisi kabul edilmektedir (Barake ve ark. 2012; Farrell ve ark. 2012).

2.2. Serbest D Vitamini

Serbest hormon hipotezi, sadece bağlayıcı proteinlerden salınan hormonların hücrelere girdiğini ve biyolojik etki yarattığını varsaymaktadır (Mendel 1989). DBP kısmen plazmada 25(OH)D'ün deposu görevi görür, D vitamini eksikliğine karşı korur. Bununla birlikte farelere enjekte edilen 1,25(OH)2D'yi de bağlayarak biyolojik aktivitesini de sınırladığı gösterilmiştir (Safadi ve ark. 1999). In vitro da keratonsitler ve monositler üzerine yapılan çalışmada da D vitaminin etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir (Bikle ve Gee 1989; Chun ve ark. 2010). Bu durum 25(OH)D'nin taşıyıcı proteinlere olan afinitesi ile açıklanabilir (Tablo 2-3).

Tablo 2- 3: D vitamini taşıyıcı proteinlerin D vitamini metabolitleri ile ilişkisini gösteren biyokimyasal parametreler

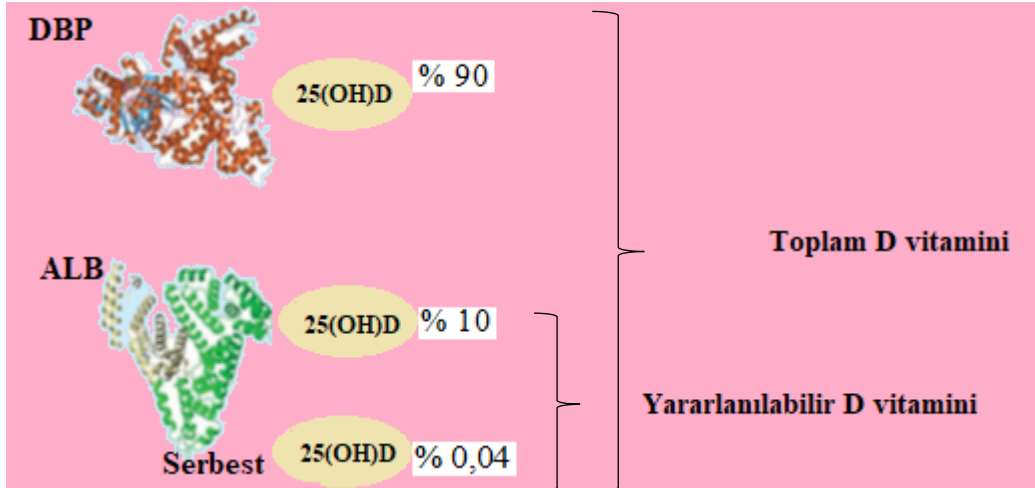
Taşıyıcı Protein	Plazmadaki Protein Konsantrasyonu	Plazmadaki D vitamini metabolitlerinin konsantrasyonu	D vitamini metabolitlerinin bağlanma yüzdesi
DBP	4.5–5.5 μM	50 nM 25(OH)D 0.04–0.19 nM 1,25(OH)2D	90%25(OH)D 85%1,25(OH)2D
ALB	527–753 μM	50 nM 25(OH)D 0.04–0.19 nM 1,25(OH)2D	10%25(OH)D 15%1,25(OH)2D

25(OH)D plazmada taşıyıcı olan proteinlere belirli bir afinite ile bağlanır (Bikle ve ark. 1986, Tablo 2-4). DBP'nin 25(OH)D'ye en yüksek afinite ($7 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$) ile bağlandığı birçok çalışmayla gösterilmiştir (Hirschfeld 1959; Speeckaert ve ark. 2006). Az miktarda 25(OH)D ise daha düşük afiniteye sahip ($6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) ALB'ne bağlanarak taşınır.

Tablo 2- 4: D vitamini bağlayıcı proteinlerin D vitamini ligandlarına afinitesi

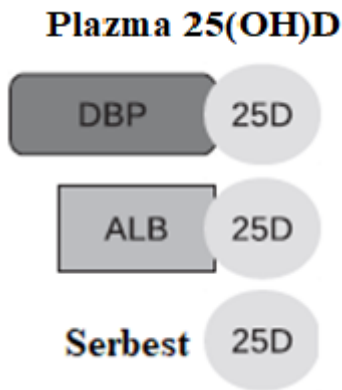
Bağlayıcı Protein	Ligand	Afinite
DBP	25(OH)D	$7 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$
DBP	1,25(OH)2D	$4 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$
ALB	25(OH)D	$6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$
ALB	1,25(OH)2D	$5.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

25(OH)D'nin çok az bir kısmı ise hiçbir proteine bağlanmadan plazmada serbest olarak bulunur.



Şekil 2- 8: Serbest D vitamini, yararlanılabilir D vitamini ve plazma D vitamini

Keratinositlerde, serbest D vitamini metabolitinin girişinin öncelikli olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır (Bikle ve Gee 1989). Ayrıca, bağlanmamış moleküllere ek olarak, hücreler ALB'e daha düşük afinitesi ile bağlanmış D vitamini metabolitleri faydalanabildiğini söyleyen çalışmalar mevcuttur. Bu durumda yararlanılabilir D vitamini, ALB'e bağlı olarak bulunan ve serbest D vitaminin toplamı şeklinde hesaplanabilir (Bhan ve ark. 2012; Powe ve ark. 2011, Şekil 2-9).



Şekil 2- 9: Plazmada bulunan 25(OH)D

Klinik laboratuvarlar hasta plazmasından toplam 25(OH)D düzeyini ölçerler. Oysaki plazmada DBP 25(OH)D'e yüksek afiniteyle bağlı bulunur. D vitamini etkisini gösterebilmesi için aktif 1,25(OH)2D'ye dönüşmesi gerekir ancak aktif 1,25(OH)2D'nin

üretilebilmesi için 25(OH)D'ün hücrenin içine alınması gerekir ancak hücreler DBP'ye bağlı olan 25(OH)D'yi hücrenin içerisine alamaz. 25(OH)D'nin ALB'ne olan afinitesi DBP'nin afinitesine göre daha düşük olduğu için plazmada bulunan 25(OH)D'ün ancak %10 kadarını taşır. Bu düşük afiniteden dolayı ALB 25(OH)D'yi daha kolay bırakır yani daha kolay serbestleşir. Bu sebeple D yararlanılabilir ALB'e bağlı olarak taşınan ve serbest olarak bulunan 25(OH)D'ün toplamı ile hesaplanabilir (Chun ve Nielson 2018).

Tipik olarak sağlıklı bireylerde DBP seviyeleri çok fazla değişiklik göstermez, ancak DBP seviyelerinin değiştiği bazı fizyolojik (gebelik) ve patolojik (karaciğer hastalığı) koşullarda değişkenlik gösterebilir (Bikle ve ark. 1984). Bu durum aynı ligand konsantrasyonuna sahip bireylerin, bağlayıcı protein seviyeleri birbirlerinden farklı olduğu takdirde, biyolojik olarak yararlanımı ve serbest ligand seviyelerinin çok farklı olabileceği fikrini düşündürmektedir. Ancak bu sebeple plazma 25(OH)D seviyesine bakılmak yerine serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini hesaplanmalıdır.

Fareler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda bunu kanıtlar niteliktedir. Dbp (+ / +) fareler, Dbp (+/-) ve Dbp (-/-) farelerle karşılaştırıldığında her 3 durumda da farelerde 25(OH)D ve 1,25(OH)2D seviyeleri ölçülmüş ancak Dbp (+/+) farelerde 25(OH)D ve 1,25(OH)2D seviyeleri normal düzeyde iken, Dbp (+/-) olan farelerde daha az, Dbp (-/-) farelerde ise 25(OH)D ve 1,25(OH)2D miktarları zar zor saptanabilmiştir. Plazmada 25(OH)D seviyesinin de giderek azaldığı gösterilen bu çalışmada ancak kemik kalitesi her tip DBP'ye sahip olan farede normaldi. Sadece D vitamini alımı durdurulduğunda Dbp (-/-) farelerde kemik anomalileri gözleniyordu. Bu durumda DBP nakavt farelerde toplam plazma metabolit seviyeleri D vitamini durumunun doğru biyobelirteçleri olmadığını, DBP' nin 25(OH)D'yi bağlayarak tıpkı bir depo görevi gördüğü ihtiyaç halinde 25(OH)D'yi salılabildiğini gösteriyordu.

Yapılan başka bir çalışmada ise DBP (+/+) farelerde 8. ve 16. haftalara kadar yalnızca D2 vitamini veya D3 vitamini içeren diyetlerle beslemişler ve sonrasında ölçüm yapıldığında bütün metabolitlerin D2 ve D3 formunda olduğunu saptamışlardır. Bu farelerin toplam plazma 25(OH)D seviyeleri benzer olduğunu ancak D2 ile beslenen farelerde fiziksel olarak ölçülen serbest 25(OH)D seviyesinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum muhtemelen DBP'nin D3'e kıyasla D2 'ye daha düşük afinite göstermesinden kaynaklanmaktaydı (Chun ve ark. 2016). İlginç bir şekilde 16. haftaya kadar D2 ile beslenen fareler, D3 vitamini ile beslenen farelere kıyasla, kemik yoğunluğu

ve trabeküler sayıların önemli ölçüde daha yüksek olduğunu gösterildi (Chun ve Nielson 2018). Yapılan bu çalışmada DBP'ye düşük afinite gösteren form (D2) D vitaminin etkileri daha iyi olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır.

D vitamininin endokrin fonksiyonlarını organizmada hormonal formu olan 1,25(OH)2D yönlendirir. 1,25(OH)2D karaciğer ve böbreklerde metabolize edilir fakat endokrin etki şekli görevli olduğu tek mekanizma değildir. 1,25(OH)2D deri, immün sistem hücreleri, intestinal epitel, prostat ve meme gibi doku ve organlarda da parakrin/otokrin fonksiyonlar gösterir. Dolayısıyla laboratuarda plazmada ölçülen 1,25(OH)2D seviyesi, bulunduğu hücrelerde ve dokulardaki D vitamini aktivitesinin tek belirteci olarak kullanılamaz (Bikle ve Schwartz 2019).

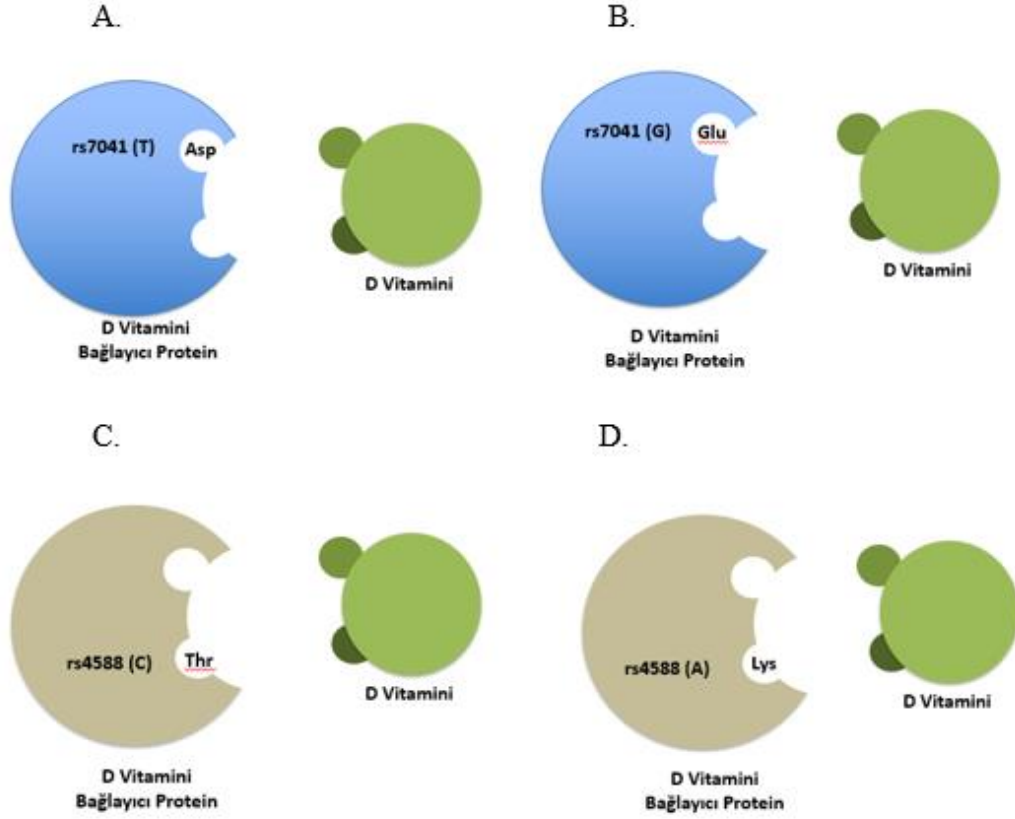
Kan da doğrudan 1,25(OH)2D düzeylerinin ölçümleri, her koşulda 1,25(OH)2D'nin biyolojik olarak aktif bileşenini tam olarak yansıtmayabilir ancak yine de dolaşımdaki 1,25(OH)2D ölçümü klinikte standart bir prosedür haline gelmiştir. Bununla birlikte kısmen kalsiyum ve D vitamini durumunun bir göstergesi olarak dolaşımdaki 1,25(OH)2D seviyelerini ölçmenin klinik uygulaması azalmaktadır. 1,25(OH)2D'nin oldukça dengeli bir prekürsörü olan 25(OH)D'nin klinik durumların çoğunda neden 1,25(OH)2D'den daha yararlı bir D vitamini ve kalsiyum durumu ölçüsü olduğu hala belirlenememiştir (Vieth 2005).

Powe ve arkadaşları plazmada serbest ve yararlanılabilir D vitamini düzeylerini hesaplayabilmiş fakat bir referans aralığı ortaya koymamıştır (Powe ve ark. 2011). 2015 yılında Aloia ve arkadaşlarının Afrikan Amerikalıların plazma 25(OH)D düzeylerini inceledikleri çalışmada beyazlarda serbest 25(OH)D düzeylerinin referans aralığını 2,76-7,74 pg/ml, siyahlarda 2,81-7,69 pg/ml ve toplam 164 bireyde 2,79-7,70 pg/ml olarak belirlemişlerdir (Aloia ve ark. 2015). Her ne kadar bu referans aralıkları serbest 25(OH)D düzeyleri açısından genel geçer veriler olmasa da alt sınırın beyazlar için ortalama 2 pg/ml olabileceğini ve bu değerin altındaki bulgulara sahip bireylerin serbest D vitamini düşük tanısı alabileceğini akla getirmektedir.

2.3. Gc geni

DBP'yi kodlayan Gc geninin toplumlara göre değişkenlik gösterdiği 120'den fazla polimorfizm varyantının olduğu belirtilmiştir (Cleve ve Constans, 1988). Bu polimorfizmlerden en sık 416. ve 420. amino asitlerde rs7041 ve rs4588 olarak

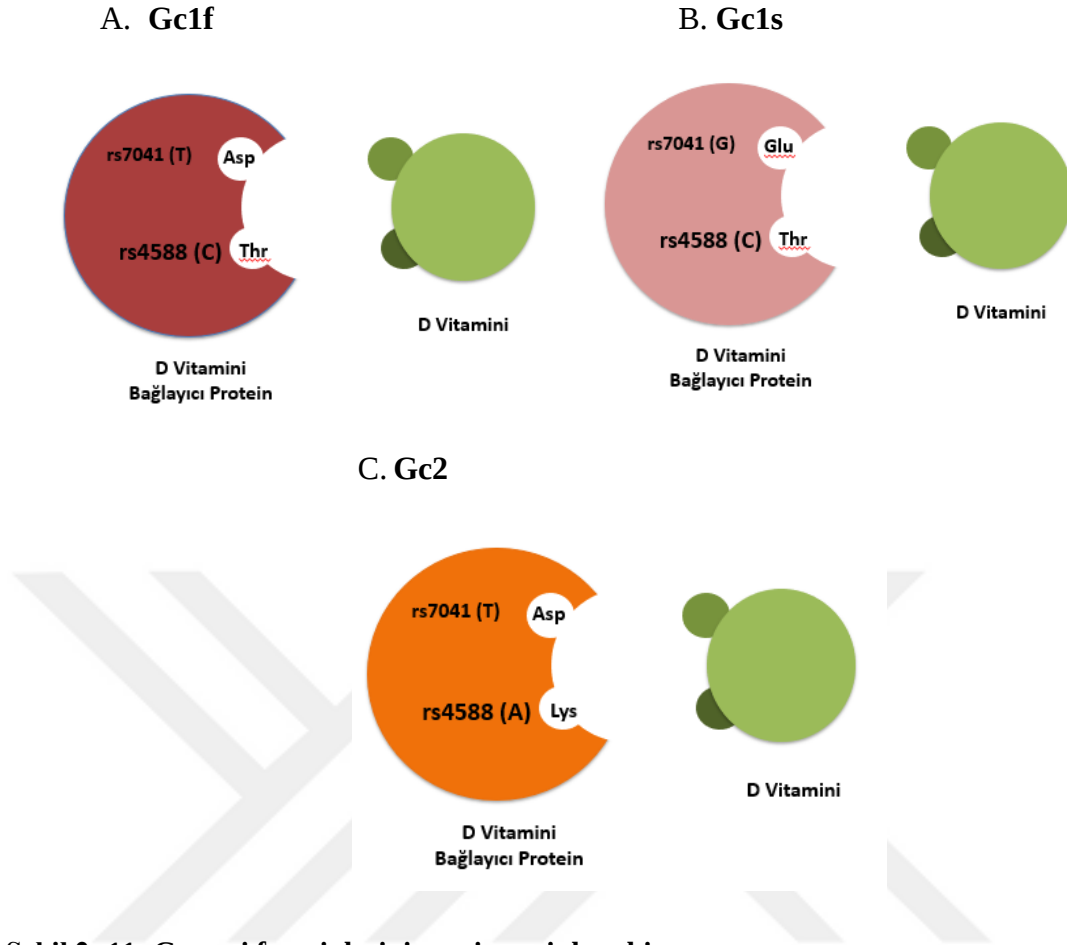
adlandırılan SNP'ler gözlenir (Cooke ve ark. 1991). Bu SNP'ler de kodlanan amino asitler Şekil 2-10'da gösterilmiştir.



Şekil 2- 10: Gc geninde bulunan rs7041 ve rs4588'in allelleri

A. rs7041 (T), Aspartik asiti kodlayan allel. B. rs7041 (G) Glutamik asiti kodlayan allel. C. rs4588 (C) Treonin kodlayan allel. D. Lizin kodlayan allel.

Toplumlarda doğal olarak hem rs7041 hem de rs4588 genotipleri kan gruplarında olduğu gibi birlikte farklı kombinasyonlarda bulunur. Bu kombinasyonlar kan grupları gibi gruplandırılmış ve üç grup olarak tanımlanmıştır. Bu gruplara da Gc1s, Gc1f ve Gc2 olarak farklı isimler verilmektedir (Şekil 2-11).



Şekil 2- 11: Gc geni fenotiplerinin amino asit kombinasyonu

A. Rs7041-T (Asp) ve rs4588-C (Thr) kombinasyonuna sahip bireylere ait (DBP), grup spesifik proteinlerden (Gc), Gc1F olarak tanımlanmıştır. B. Rs7041-G (Glu) ve rs4588-C (Thr) kombinasyonuna sahip bireylere ait (DBP), grup spesifik proteinlerden (Gc), Gc1S olarak tanımlanmıştır. C. Rs7041-T (Asp) ve rs4588-A (Lys) kombinasyonuna sahip bireylere ait (DBP), grup spesifik proteinlerden (Gc), Gc2 olarak tanımlanmıştır.

Bir kişi normal olarak Gc geninin iki kopyasına sahip olduğundan, bu genotiplerinden tanımlanabilen altı olası DBP fenotipin (Gc1f-1s, Gc1f-1f, Gc1f-2, Gc1s-2, Gc1s-1s, Gc2-2) oluşmasını sağlar (Chun ve ark. 2014).

Gc geninden kodlanan DBP protein formları ve varyant kombinasyonları kan gruplarında olduğu gibi gruplandırılmış ve üç genel fenotip olarak tanımlanmıştır (<https://www.snpedia.com/index.php/GC>). Bu varyantlar Gc1f (1f): rs7041(T) + rs4588(C); Gc1s (1s) : rs7041(G) + rs4588(C) ve Gc2 (2) : rs7041(T) + rs4588(A) olarak farklı bilinmektedir (Şekil 2-12). Bazı yayınlarda rs4588 için yerine rs2282679 terimi kullanılmaktadır ancak rs2282679 (A) tipik olarak, rs4588 (C) ile beraber kalıtılmaktadır.

Normalde bir birey Gc geninin iki kopyasına sahip olduğu için SNP genotiplerinden tanımlanan altı DBP fenotipi bulunmaktadır (<https://www.snpedia.com/index.php/GC>):
Bunlar;

1s/1s : rs7041(G;G)

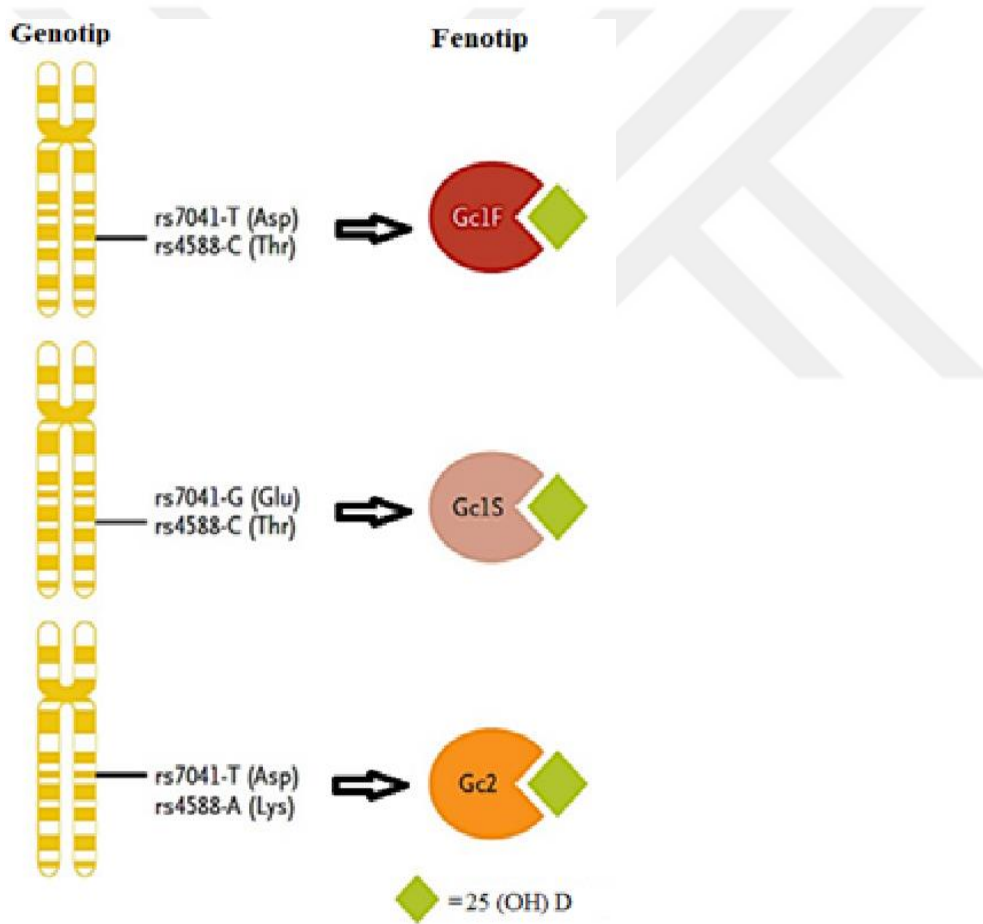
1s/1f : rs7041(G;T) ve rs4588(C;C), veya rs7041(G;T) ve rs2282679(A;A)

1s/2 : rs7041(G;T) ve rs4588(A;C), veya rs7041(G;T) ve rs2282679(A;C)

1f/1f : rs7041(T;T) ve rs4588(C;C), veya rs7041(T;T) ve rs2282679(A;A)

1f/2 : rs7041(T;T) ve rs4588(A;C), veya rs7041(T;T) ve rs2282679(A;C)

2/2 : rs4588(A;A) veya rs2282679(C;C)



Şekil 2- 12: Gc geni Gc1f, Gc1s ve Gc2 fenotiplerinin oluşumu

Bu genin varyantlarının DBP'nin işlevini değiştirerek (Durak 2018; Sinotte ve ark. 2009), plazma 25(OH)D düzeylerini direkt etkilediğine dair birçok çalışma mevcuttur. (Tablo 2-5, Braithwaite ve ark. 2015; Chun ve ark. 2014).

Tablo 2- 5: DBP'nin yaygın fenotipleri ve plazma 25(OH)D ile karakteristik ilişkileri

Fenotip	rs 7041	rs 4588	DBP Seviyesi	25(OH)D'ye Afinitesi
Gc1f	T (D: asp)	C (T: thr)	Düşük	Yüksek
Gc1s	G (E: glu)	C (T: thr)	Yüksek	Orta
Gc2	T (D: asp)	A (K: lys)	Orta	Düşük

New England Tıp Dergisi'nde yapılan bir araştırmaya göre, Gc genindeki değişiklikler, D vitamini fonksiyonundaki farklılıkları ve siyah ile beyaz bireylerde klinik D vitamini eksikliğini açıklamaya yardımcı olabilir (ASN Kidney News | January 2014).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Powe'nin yapmış olduğu araştırmaya göre ise siyahlarda kemik yoğunluğu çok daha fazlayken, klinikte D vitamini biyobelirteci olarak bakılan 25(OH)D daha düşüktür. Beyazlarda 25(OH)D düzeyi (ortalama 25,8 ng/mL) siyahlarda (ortalama 15,6 ng) göre daha yüksek iken, kemik yoğunluğu daha düşüktür. Daha sonra DBP miktarı ölçülmüştür. Siyahlarda DBP miktarı (ortalama 168 µg/mL) çok düşükken, beyazlarda (ortalama 337 µg/mL) daha yüksektir. DBP'nin D vitamininin aktif formunun oluşumunu negatif yönde etkilediği düşünülmüş ve D vitaminini neye göre farklı bağladığı üzerine yoğunlaşmıştır. Sonuçta D vitaminin genotip analizi yapılarak toplumlara göre değişen polimorfik bir gen olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2-6, Tablo 2-7). Siyahlarda ki polimorfik halinin 25(OH)D'ye olan afinitesi daha düşük iken, beyazlarda bulunan formunun afinitesi daha yüksektir. Aynı zamanda siyahlardaki D vitamini fonksiyonlarının beyazlara göre daha iyi olmasının sebebinin bu olduğu düşünülmektedir (Powe ve ark. 2011).

Tablo 2- 6: Bazı populasyonlarda rs7041 genotipinin polimorfik formların prevalansı

Populasyon	G:G (%)	G:T (%)	T:T (%)
CEU*	32,1	49,1	18,8
HCB*	7,3	42,3	50,4
JPT*	8,8	31,9	59,3
YRI*	0,7	15,6	83,7
ASW*	3,5	28,1	68,4
CHB*	7,3	42,3	0,4
CHD*	11,0	45,9	43,1
GIH*	22,8	51,5	25,7
LWK*	0,9	12,7	86,4
MEX*	24,1	50	25,9
MKK*	3,2	38,5	58,3
TSI*	25,5	56,9	17,6

(<https://www.snnpedia.com/index.php/Rs7041>)

Tablo 2- 7: Bazı populasyonlarda rs4588 genotipinin polimorfik formların prevalansı

Populasyon	A:A (%)	A:C (%)	C:C (%)
CEU*	4,5	44,6	50,9
HCB *	8,8	44,9	46,3
JPT*	2,7	43,8	53,6
YRI*	-	8,2	91,8
ASW*	-	9,1	90,0
CHB*	8,8	44,9	46,3
CHD*	10,1	37,6	52,3
GIH*	6,9	49,5	43,6
LWK*	0,9	11	88,1
MEX*	1,8	46,4	51,8
MKK*	2,6	15,5	81,9
TSI*	5,9	39,2	54,9

(<https://www.snnpedia.com/index.php/Rs4588>)

*CEU - Avrupa - Kuzey ve Batı Avrupa soylarından gelen Utah sakinlerinin 180 örneği

*CHB - Han Çin – 90 örneği Pekin'de bulunan Han Çinlileri

- ***JPT** - Japon Tokyo - Tokyo, Japonya'daki 91 Japon örneği
- ***YRI** - Yoruba Afrikalıları - Nijerya'nın Ibadan kentinde 180 Yoruba örneği
- ***ASW** - Afrika soyundan Güneybatı ABD'de 90 örnek
- ***CHD** - Colorado Metropolitan Denver'da bulunan Çinli 100 örnek
- ***GIH** - Houston, Texas'taki Gujarati Yerlilerinden 100 örnek
- ***LWK** - Kenya, Webuye'de bulunan 100 adet Luha örneği
- ***MEX** - Los Angeles, Kaliforniya'da Meksika soyundan 90 örnek
- ***MKK** - Kenya, Kinyawa'daki 180 Masa
- ***TSI** - İtalya'da 100 Toscani örneği

2.4. D Vitamini Eksikliğinin Sağlık Üzerine Etkileri

2.4.1. D Vitamini ve İskelet Sistemi

Rikets, kemik dokusunun henüz gelişmesini tamamlanmadığı (epifizlerin açık olduğu) dönemde kemik minerilizasyon eksikliğine bağlı olarak gelişir. Hem büyüme plağı hem de yeni oluşan trabeküler ve kortikal kemiği etkiler. Bu minerilizasyon eksikliğinin temel kaynağı olarak D vitamini eksikliği olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir (Akman 2009).

D vitamini yetersizliği sebebiyle erken bebeklik döneminde paratiroid hormon cevabının yetersiz olması Ca dengesinin bozulması, hipokalsemi ve rikets gelişimine sebep olur (Shaw ve Pal 2002). D vitamini yetersizliğine bağlı olarak erişkinlerde osteoblastların oluşturduğu kemik yapısının mineralizasyonunda eksiklik görülerek karakterize olan bir diğer kemik hastalığı ise Osteomalazi'dir. Kas güçsüzlüğü, kemik ağrısı, kırıklar ve yürümede zorluk gibi semptomlara neden olur. Biyokimyasal değerlendirmede plazma alkali fosfat ve PTH seviyelerinde yükselme; Ca, P ve plazma 25(OH)D düzeylerinde düşüş görülür (Shaw ve Pal 2002).

D vitamini eksikliğinin osteoporoz, kırık ve düşme için bilinen bir risk faktörü olduğu görülmektedir (Mosekilde 2005). Erişkinlerdeki D vitamini eksikliği osteoklastlar üzerinden kemik yıkımına yol açarak, osteopeni ve osteoporozu hızlandırabilir (Holick 2007). D vitamini takviyesi ile PTH düzeylerini normal sınırlar içerisinde tutarak osteoblastik aktivite arttırılabilir. Kemik mineralizasyonunun bu şekilde desteklenmesi düşme, kırık oluşma riskini anlamlı ölçüde azaltır (Holick 2007). Plazma 25(OH)D seviyesinin 30 ng/ml'dan yüksek olan bireylerde kırık oluşma riskinin daha az olduğunu gösteren veriler bulunmaktadır (Wacker ve Holick 2013b).

2.4.2. D Vitamini ve Kas Fonksiyonları

D vitamininin kas dokusunda hücre büyümesi ve özellikle protein sentezi sürecine etki ederek kas fonksiyonları üzerine etki ettiği iyi bilinmektedir (Boland 1986). Yapılan çalışmalar, azalmış plazma 25(OH)D seviyesi ile kas güçsüzlükleri arasında ilişki olduğu, plazma 25(OH)D seviyesinin <12 ng/ml olduğu hastalarda myopatinin başladığı bildirilmiştir (Reginato ve ark. 1999).

Genetiğe bağlı D vitamini eksikliği olan çocuklarda belirgin kas güçsüzlüğünün günde 800-1.000 IU D vitamini takviyesiyle hızla düzelme görüldüğü ve alt ekstremitelerde kas gücü ve dengede anlamlı derecede iyileşme görüldüğü belirtilmiştir (Muir ve Montero-Odasso 2011).

2.4.3. D Vitamini ve Kardiyovasküler Sistem

D vitamini eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişkili bulunmaktadır (Burgaz ve ark. 2011; Wang ve ark. 2012). D vitamininin eksikliğinde kardiyovasküler hastalıkların ve hipertansiyon riskinin arttığı görülmüştür (Holick 2006). D vitamini eksikliği, sekonder hiperparatiroidizme ve kalsiyum dengesinin bozulmasına neden olmaktadır.

D vitamini eksikliğine bağlı olarak PTH kan basıncını artırarak kardiyovasküler olaylar -ani kardiyak ölüm dahil- ile ilişkilendirilmiştir (Pilz ve ark. 2011).

Yapılan bir çalışmada 3 ay, haftada 3 kez UVB radyasyona maruz kalan hipertansiyonlu bireylerde plazma 25(OH)D seviyelerinin yaklaşık %180 değerinde yükselmiş olduğu, sistolik ve diastolik kan basıncı düzeylerinin ise 6 mmHg oranında düştüğü belirtilmiştir (Krause ve ark. 1998).

Plazma 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml'den küçük olan bireylerde kalp yetmezliği ve periferik arter hastalığı sıklığında artış gözlenmiştir. Bir başka çalışmada ise plazma 25(OH)D seviyesinin 23 ng/ml'den 40 ng/ml'ye çıkarılmasını takiben metabolik veya kardiyovasküler riskler üzerinde olumlu etkisinin gözlenmediği bildirilmiştir (Kendrick ve ark. 2009).

2.4.4. D Vitamini ve Diyabet

İnsanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar ile D vitamini yetersizliği ile tip 1 diyabet arasında ilişki olduğunu belirtmektedir. Erken bebeklik döneminde D vitamini takviyesinin sonradan gelişebilecek olan tip 1 diyabet oluşma riskini %30 düşürdüğünü

göstermiştir (Zipitis ve Akobeng 2008). VDR'nün pankreas β hücrelerinde de var olduğunun belirtilmesiyle, D vitamininin insülin salgı ve sensitivitesini arttırabileceği belirtilmiştir. Vitamin D seviyesinin obez ve tip 2 diyabetli kişilerde daha düşük olduğu görülmüştür (Ozfirat ve Chowdhury 2010). Tip 2 diyabet ve glikoz intoleransının gelişmesinde, D vitamininin insülin direncini azalttığı, sistemik inflamasyon üzerinde olumlu etkisi olduğu ve pankreatik β -hücre fonksiyonunu iyileştirdiği bildirilmektedir (Hu ve ark. 2004).

2.4.5. D Vitamini ve Kanser

D vitaminin yetersizliği ile kanser arasındaki bağlantının varlığına dair bazı veriler bulunurken, yüksek doz D vitaminin takviyesinin kanseri önleyeceğini veya tedavi edeceğini söyleyebilecek kadar kanıt henüz bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalara göre D vitaminin kansere karşı etkisinin ortaya çıkması için plazma 25(OH)D düzeyi 30-150 ng/ml arasında tutulmalıdır. Bunun için gerekli D vitamini dozu ise günlük 1000 IU'dur (Krishnan ve ark. 2003; Lamprecht ve Lipkin 2003).

Vitamin D veya analoglarının hücre proliferasyonunu azaltabildiğini ve bunun için pek çok geni aktif veya inaktif edebildiğini belirtilmiştir (Bouillon ve ark. 2011).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kolon kanserinin, vitamin D yetersizliği ile bağlantısı bulunduğunu söylemektedir. Plazma 25(OH)D seviyesinde her 4 ng/ml'lik yükselişin, kolorektal kanser riskini %6 oranında düşürdüğü yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Chung ve ark. 2010).

Bazı çalışmalar ise, daha yüksek plazma 25(OH)D seviyelerinin pankreas kanseri riskini arttırdığını göstermiştir (Stolzenberg-Solomon ve ark. 2006). Yapılan bazı çalışmalar daha yüksek plazma 25(OH)D seviyesinin prostat kanseri riskini arttırdığını tespit ederken, bazıları ise bu riskte azalma olduğunu belirtmiştir (Gilbert ve ark. 2012). Neoplastik hücreler VDR taşımaktadır. D vitamini yetersizliğinde pankreas, prostat, kolon, akciğer gibi birçok kanserin görülme sıklığında artış gözlemlenmiştir (Feskanich ve ark. 2004).

Kuzey kutbunda yaşayan bireylerde yapılan çalışmalarda prostat, kolon, pankreas, akciğer ve lenfomaya sahip olma ve bu sebepten ölme risklerinin güney kutbunda yaşayan bireylere nazaran daha fazla olduğu bildirilmiştir (Giovannucci 2005; Holick 2006). Prospektif ve retrospektif çalışmalar göstermiştir ki plazma 25(OH)D seviyesi 20

ng/mL'den az olduğunda kolon, prostat ve akciğer kanserlerinden ölüm oranı %30-50 değerinde artış göstermektedir (Giovannucci 2005; Holick 2006).

2.4.6. D Vitamini ve Bağışıklık Sistemi

Vitamin D, immün sistem hücreleri üzerinde de etkilidir. T, B lenfositler, makrofajlar ve dentritik hücreler gibi antijen sunan hücreler VDR'ne sahiptir. Ancak normal seviyede veya normal seviyeye yakın plazma 25(OH)D'ye sahip sağlıklı erişkinlerde, vitamin D takviyesinin üst solunum yolu enfeksiyonu görülme sıklığını düşürdüğü gösterilememiştir. Bunun yanında vitamin D yetersizliği ve otoimmün hastalıklar ile enfeksiyonlar arasındaki bağlantı da tam anlamıyla aydınlatılmamıştır.

Yapılan hayvan çalışmalarına göre 1,25(OH)2D dentritik hücre matürasyonunu engellemekte ve immün düzenleyici olarak etki etmektedir. Bu sebeple D vitamini yetersizliğinin otoimmün hastalık riskini arttırdığı düşünülmektedir (Ponsonby ve ark. 2002). İnsanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda ise, D vitamini yetersizliği ile multipl skleroz (MS) ve tip 1 diyabet arasında bağlantı olduğu iddia edilmiştir (Munger ve ark. 2016).

Bangladeş'te yapılan bir çalışmada D vitamini düzeyi ve alt solunum yolu enfeksiyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre alt solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastanede yatan 1-18 aylık 25 bebek ile aynı köyde yaşayan yaş ve cinsiyeti eşleştirilmiş 25 kontrol bebeğin 25(OH)D düzeyleri karşılaştırılmıştır. Hasta bebeklerde 25(OH)D düzeyi daha düşük saptanmış ve D vitamini eksikliğinin erken çocukluk çağında alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Roth ve ark. 2010).

2.4.7. D Vitamini ve Nöropsikiyatri

Serebellum, hipokampus, talamus, hipotalamus, bazal ganglion, temporal ve orbital bölgelerde VDR varlığı tespit edilmiştir (Walbert ve ark. 2001)

İnvitro bir çalışmada, beyinde (substantia nigra'da) dopamin nöronlarında VDR'nün yoğun ekspresyonunun artmasının adrenal medulla hücrelerinde 1,25(OH)2D etkisiyle dopamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan tirozin hidroksilazın ekspresyonunun arttırdığı bildirilmiştir (Furtado ve ark. 2004).

Parkinson hastalığı ve D vitamini arasındaki ilişki üzerine çelişkili çalışmalar mevcuttur. Kore'de yapılan bir çalışmada VDR polimorfizmiyle parkinson hastalığı

arasında anlamlı bir ilişki olduğu (Kim ve ark. 2005), Çin'liler ile yapılan bir çalışmada ise VDR polimorfizimiyle parkinson hastalığı arasında herhangi bir ilişki olmadığı belirtilmiştir (Lv ve ark. 2012).

Prenatal D vitamini yetersizliğinin şizofreni gibi nöropsikiyatrik hastalıkların riskini yükseltebileceği düşünülmektedir (McGrath 2001). Alzheimer hastalığında sık olarak düşük plazma 25(OH)D seviyesi belirtilmiştir (Balion ve ark. 2012). Depresyon tanısı bulunan, vitamin D yetersizliği olan 243 bireyin katıldığı çalışmada, bir gruba vitamin D takviyesi (40. 000 IU/hafta), diğer gruba da uygulanmış; depresyon semptomları açısından yapılan değerlendirmede iki grup arasında bir fark oluşmadığı görülmüştür (Kjærgaard ve ark. 2012).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örnek Toplama

Bu tez çalışmasında, Şubat-Mayıs 2019 tarihleri arasında Biruni Üniversite Hastanesi'ne kontrol (check-up) amaçlı başvuran bireyler arasından, çalışma kriterlerini sağlayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden 51 bireylerden alınan kan örnekleri çalışıldı.

3.1.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri

- Son 2 yıl içerisinde D vitamini takviyesi almamış olmak
- D vitamini düzeylerini etkileyecek herhangi bir hastalığı bulunmamak
- Siyah olmamak

3.1.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri

- Son 1 yıl içinde kortizon ve türevleri bulunan ilaçlar kullanmış olmak
- Geçmişte kanser ve kalp hastalığı vb. geçirmiş olmak
- Çocuk olmak
- Gebe olmak

Tez çalışması Biruni Üniveristesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu (Karar No: 2017/10-1) tarafından onaylandı.

3.2. Çalışmanın Genel Planı

Çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden bireylere çalışma detaylı olarak açıklandı, çalışmaya alınma ve çalışmadan çıkarılma kriterleri doğrudan kendilerine sorularak protokole uygun olarak gönüllülerden yazılı onayları alındı. Biruni Üniversite Hastanesi biyokimya laboratuvarının hastalara vermiş olduğu değerler dikkate alınarak 25(OH)D değeri 20 ng/ml sınır olarak kabul edilerek bu değerden düşük sonucu olan bireyler düşük, yüksek ve eşit olan bireyler yüksek olarak adlandırılarak toplanan örnekler 2 gruba ayrıldı.

3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Her hastanın Gc geni polimorfizmi ile aynı bireyin serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini hesaplaması yapılacağı için aynı örnek 2 tüpe (EDTA'lı ve

jelli tüpe) alınarak EDTA'lı tüplerden DNA izolasyonu, jelli tüplerden plazma eldesi yapıldı.

EDTA'lı tüpteki tam kan örnekleri (en fazla 3 gün içinde) DNA izolasyonu yapılana kadar +4 °C'de buzdolabında saklandı. Tam kandan DNA izolasyonu sonucu elde edilen DNA örnekleri numaralandırılarak -20 °C derin dondurucuda muhafaza edildi. Çalışma yapılacağı gün çözündürülerek protokole uygun olarak çalışıldı.

Sarı kapaklı jelli tüpteki örnekler 4100 rpm devirde sentrifüj (NF 800R, Nuve, Türkiye) edilmesinin ardından elde edilen plazmalar en fazla 1 saat içinde 3'e (LC/ MS-MS, DBP ve ALB hesaplanması için) ependorflara bölünmüş ve derin dondurucuda -80 °C saklandı. Çalışma yapılacağı gün donmuş DNA' lar çözündürülerek protokollerine uygun olarak hemen çalışıldı.

3.2.2. Kemilüminesans Mikropartikül İmmünassay Yöntemi (CMIA) ile Plazma 25(OH)D Seviyelerinin Belirlenmesi

Biruni Üniversite Hastanesine kontrol amaçlı başvuran bireylerin plazmadaki (total) 25(OH)D seviyesi biyokimya laboratuvarında Architect 25(OH)D tayini, kemilüminesans mikropartikül immün ölçüm prensibine dayanarak yapıldı. Bu çalışmada Abbott Architect i1000SR analizörü (Abbott Laboratuvarları, Amerika Birleşik Devletleri)'nde Architect 25-OH Vitamin D kiti (5P02, Abbott Tanı) kullanıldı.

3.2.3. Kolorimetrik Test Çalışması ile Albümin Konsantrasyonun Ölçümü

Plazma ALB'nin kantitatif tayini kolorimetrik test çalışması (Roche/ Hitachi cobas c, Almanya) ile yapılarak örnekler prosedüre uygun tüplere aktarılarak gerekli numaralandırılması yapıldı.

Test Prosedürü

4.1 pH değerinde ALB bir anyonik boya olan bromkresol yeşiline (BCG) bağlanabilecek kadar yeterli bir katyonik karakter gösterip mavi-yeşil bir kompleks oluşturur.

pH 4.1 ALB+BCG, ALB-BCG kompleksi mavi-yeşil boyanın renk yoğunluğu numune içindeki ALB konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçüldü.

3.2.4. LC-MS/MS Yöntemi ile Plazma 25(OH)D ve 25(OH)D2 Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

25(OH)D ve 25(OH)D2 'nin analizleri, 6470 üçlü kuadrupol kütle spektrometresi (6470A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Amerika Birleşik Devletleri) ile birleştirilmiş bir ikili pompa (G4220A), analitik kolon bölümü (G1316C) ve otomatik örnekleyiciden (G7167B) oluşan Infinity 1290 HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. 25(OH)D ve 25(OH)D2 analitlerinin plazma düzeylerinin belirlenmesi için, CE-IVD sertifikalı valide Jasem D vitamini LC-MS/MS analiz kiti (Sem Laboratuvar Cihazları Pazarlama San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Enstrümantal ölçüm öncesi plazma numuneleri, kit numune hazırlık protokolü uyarınca analize hazır hale getirildi.

3.2.4.1. Test Prosedürü

Jasem D vitamini LC-MS/MS analiz kiti; kalibrasyon eğrisi oluşturmada gerekli dört adet plazma matrisli standarttan oluşan kalibratör seti, iç standart olarak kararlı izotop etiketli d6-25(OH)D solüsyonu, iki farklı konsantrasyon seviyesinden oluşan kalite kontrol plazma örnekleri (QC), hareketli fazlar (hareketli faz A ve B), numune hazırlık reaktifleri (reaktif-1 ve 2) ve vitamin D analizi için spesifik analitik kolon bileşenlerinden meydana gelmektedir. Analitlerin MS/MS dedeksiyonu için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modunda, pozitif elektrosprey iyonizasyonu (+ESI) uygulandı.

Kit numune hazırlık protokolüne uygun olarak, 200 µl kalibratör/QC/örnek bir cam tüpe aktararak 100 µl reaktif-1 eklenip 5 sn boyunca vortekslendi. Bu aşamayı takiben, 25 µl iç standart (IS) ilave edilerek 5 sn daha karıştırma işlemi uygulandı. Protein çöktürmesini gerçekleştirmek için 975 µl reaktif-2, tüpe eklenerek 5 sn süresince vortekslendi ve son adımda ise 5 dk santrifüj işlemi uygulanarak süpernatant bir vialle aktarıldı.

20 °C'ye ayarlanmış kolon bölümündeki analitik kolona, 10 µl numune hazırlığı uygulanmış kalibratör/QC/örnek otomatik örnekleyici vasıtasıyla enjekte edilerek, 0.7 mL/dk akış hızında gradyanlı elüsyonla mobil faz A ve B kullanılarak kromatografik ayırma gerçekleştirildi.

Kromatografik ayırım için uygulanan HPLC elüsyonu şu şekildedir; 3.8 dk boyunca %22 mobil faz A, sonrasında gradyan hemen %2 mobil faz A'ya dönüştürülerek, 2.5 dk boyunca aynı solvent kompozisyonuyla devam edildi. Son olarak analitik kolon, 2.2 dk boyunca %22 mobil faz A ile dengelenerek analiz tamamlandı (toplam çalışma

süresi 8.5 dk). Pozitif iyon modunda ESI kaynağı bulunan Agilent 6470 üçlü kuadropol spektrometresi kullanılarak kütle dedeksiyonu gerçekleştirildi.

Optimum MS/MS dedektör ayarları şu şekildedir; kurutma gazı sıcaklığı 150 °C, kurutma gazı akışı 11 L/dk, nebulizör basıncı 40 psi, kılıf gazı sıcaklığı 300 °C, kılıf gazı akışı 11 L/dk ve 3000 V (+) kapiler voltaj'dır.

25(OH)D ve 25(OH)D2 ile iç standartın kütle geçişleri, optimum parçalanma voltajları (FV) ve optimum çarpışma enerjileri (CE) Tablo 3-1'de verildi. Kantitatif tayinde, 25(OH)D ve 25(OH)D2 pik alanlarının, atanan iç standart pik alanlarına oranı esas alındı.

Tablo 3- 1: 25(OH)D, 25(OH)D2 ve iç standardın kütle geçişleri ve MS/MS koşulları

Bileşik Adı	Öncül İyon	Parçalanma Ürünü	FV	CE	Polarite
25(OH)D2	413.3	395.3*	110	2	Pozitif
25(OH)D2	413.3	355.3	110	2	Pozitif
25(OH)D	401.3	383.3*	120	2	Pozitif
25(OH)D	401.3	365.3	120	4	Pozitif
<i>d</i> ₆ -25-(OH)D (iç standart)	407.3	389.3	120	2	Pozitif

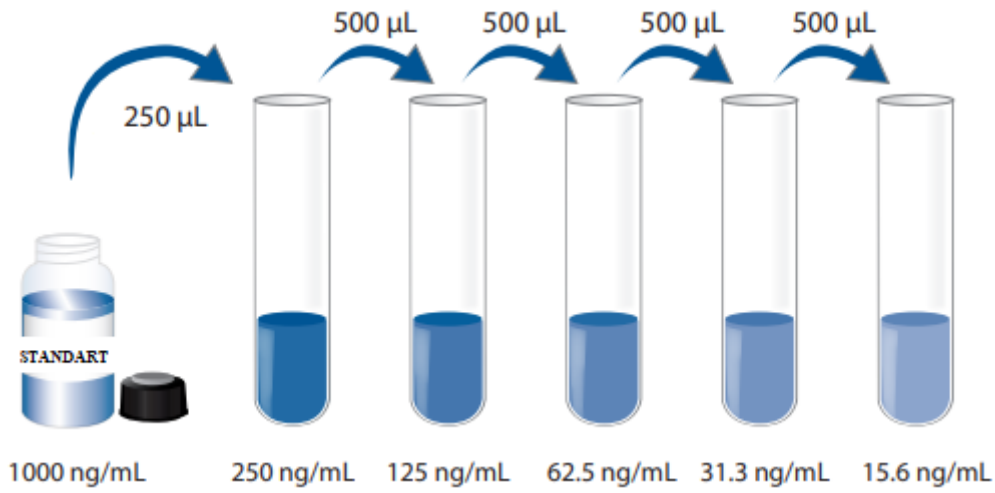
*Kantitatif iyon olarak atanmıştır

3.2.5. D Vitamini Bağlayıcı Protein Konsantrasyon Ölçümü

Plazmada DBP konsantrasyon tayini quantikine insan vitamin DBP immunoassay kiti (Katalog numarası DVDBP0, R&D Sistemleri, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak yapıldı (Mondul ve ark. 2012).

Üretici firmanın kit içerisinde paylaştığı protokole uygun olarak, -80 °C'de bekletilen plazma örnekleri çalışmaya başlamadan hemen önce eritilerek kalibratör seyreltici RD6-11 ile 5000 kat seyreltilmiştir. Reaktifler vitamin DBP standardı ilk olarak 15 dk kadar çalkalanarak hazırlandı. Standartlar 1000 ng/ml olan standarttan (ana stok) seri dilüsyonlar yapıldı. Buna göre içerisinde 750 µl kalibratör seyreltici RD6-11 olan tüpün içerisinde ana stoktan 250 µl eklenerek, içerisinde 500 µl olan tüplere sırasıyla yeni hazırlanan tüpten başlayarak (250ng/ml) dilüsyon yapıldı. Bu şekilde her tüpten 500 µl

alınır bir sonraki tüpe aktarılır. Ana stok dahil her biri 250 ng/ml, 125 ng/ml, 62,5 ng/ml, 31,3 ng/ml, 15,6 ng/ml, içerisinde standart olmayıp sadece kalibratör seyreltici RD6-11 içeren ve negatif kontrol olarak kullanılacak standartla birlikte toplam 7 standart hazırlandı (Şekil 3-1).



Şekil 3- 1: Quantikine insan vitamin DBP immunoassay standardının hazırlanması

3.2.5.1. Test prosedürü

Tüm çalışma standartları ve örnekler önerildiği gibi hazırlanarak her bir kuyuya 100 µl test seyreltici RD1-19 eklendi. Üzerine 50 µl daha önce belirtilen şekilde hazırlanan örnekler eklendi ve son 8 kuyucuğa standartlar dağıtıldı. Örneklerin bulunduğu kuyuların üzeri olası buharlaşmanın önüne geçmek adına yapışkan şerit ile örtülmesinin ardından yatay mikroparka çalkalayıcıda 500 rpm’de 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Her kuyucuk aspire edilmiş ve mikroparka yıkayıcı (BioTek ELx50, Winooski, VT, Amerika Birleşik Devletleri) aracılığı ile yıkandı (3x4 kez yıkama).

Her kuyuya 200 µl vitamin DBP konjugatı eklenerek yine benzer şekilde yapışkan plaka ile örtüldü ve çalkalayıcıda 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her kuyucuk aspire edilip ve mikroparka yıkayıcı ile yıkandı (3x4 kez yıkama). Yıkama sonrasında her kuyuya 200 µl substrat solüsyonu eklenerek örnekler karanlık ortamda, oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında kuyulara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve renk değişimi gözlenmesinin ardından örnek

absorbansları mikropate absorbans okuyucu (BioTek™ ELx800™, Amerika Birleşik Devletleri) aracılığı ile 450 nm dalga boyunda okundu.

3.2.6. Periferik Kandan DNA izolasyonu

Tez çalışmasında tam kandan DNA izolasyonu yapmak için quick- DNA™miniprep plus (zymo resarch, Amerika Birleşik Devletleri) DNA izolasyon kiti kullanıldı. Belirtilen ticari kitin prosedürüne uygun olacak şekilde ependorflar hazırlandı. Kitin ilk açıldığında 1060 µl toz halinde olan proteinaz K'nın üzerine bufferı ekleyerek vortekslenerek hazırlanan proteinaz K 100'er µl PZR tüplerine bölünüp (örnek toplandıkça kısım kısım kullanılacağı için) çalışmada kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Belirtilen kite uygun olarak 200 µl tam kan, 200 µl cell buffer, 20 µl proteinaz K karışımını sırayla ependorfa koyuldu ve 15 sn vortekslendi. Daha önceden ayarlanan 55 °C'de su banyosunda 10 dk bekletilmesinin ardından 420 µl genomik binding buffer eklenerek, 15 sn vortekslenerek, karışım filtreli tüplere aktarıldı. 12 000 g'de 1 dk santrifüj yapılarak alt tüpteki kan döküldü ve filtreli tüpe 400 µl prewash buffer eklenip 12 000 g'de 1 dk santrifüj yapılarak alt tüpler değiştirildi. Filtreli tüpe 700 µl g-DNA washbuffer eklenerek 12 000 g'de 1 dk santrifüj yapılarak alt tüpler tekrar dökülerek filtreli tüpe 200 µl g-DNA washbuffer tekrar eklenip 12 000 g'de 1 dk santrifüj yapıldı. Filtreli tüpler saklama yapılacak olan ependorfların üzerine alınarak 80 µl elution buffer eklenip 5 dk bekletilmesinin ardından 2 defa 12 000 g'de 1 dk santrifüj edildi. İzole edilen DNA'ları içeren ependorflar (1,5 ml'lik ependorf, NEST, Birleşik Krallık), -20 °C derindondurucuda (Vestel NF520, Türkiye) çalışma yapılincaya kadar bekletildi.

3.2.7. Elektroforezde DNA'ların Görüntülenmesi

DNA izolasyonunda herhangi bir aksaklık yaşanıp yaşanmadığını belirlemek için DNA'lar belirli aralıklarla görüntülendi. Görüntüleme sonrası yeni gelen örneklerin DNA izolasyonlarına devam edildi.

Agaroz Jel Hazırlanması, 0,8 gr toz agaroz ve 40 ml TBE buffer (1X) içerisinde çözülerek bir mikrodalga fırında kaynatıldı. Soğumaya bırakılan solüsyonun içerisinde 2 µl etidyum bromür eklenerek daha önceden hazırlanan taraklı elektroforez kaplarına aktararak katılaşmaya bırakıldı. Yaklaşık 20-30 dk sonra oluşan kuyucuklara 1 µl loadingday, 2 µl DNA örneği karışımı yüklendi. Son kuyuya ise Goldbio 1 kb DNA

ladder yüklenip, örnekler 75 volt voltaj altında 40 dk. yürütüldü. Yürütülen DNA örnekleri, görüntüleme cihazı (Gen-Box, imagER™, Türkiye) ile görüntülendi.

3.2.8. DNA Kalitesinin Ölçümü

Tüm örneklerin DNA izolasyonları tamamlanınca spektrofotometrik olarak (UV) kontrol edildi. Buna göre, DNA kalite ve konsantrasyon ölçümleri 2µl DNA kullanılarak nanodrop 2000c (Thermofisher, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı ile gerçekleştirildi. Ölçümler 230nm, 260nm ve 280nm dalga boylarında yapıldı ve DNA konsantrasyon ölçümünün yanısıra, 260/280 nm ve 260/230 nm absorbans oranları hesaplandı.

3.2.9. Gerçek Zamanlı PZR

İzole edilen genomik DNA kullanılarak, rs4588 ve rs7041 SNP'leri için genotiplendirme gerçek zamanlı PZR yöntemi ile taqman problemleri kullanılarak gerçekleştirildi.

3.2.9.1. Taqman Problemlerinin Çalışma Prensipleri

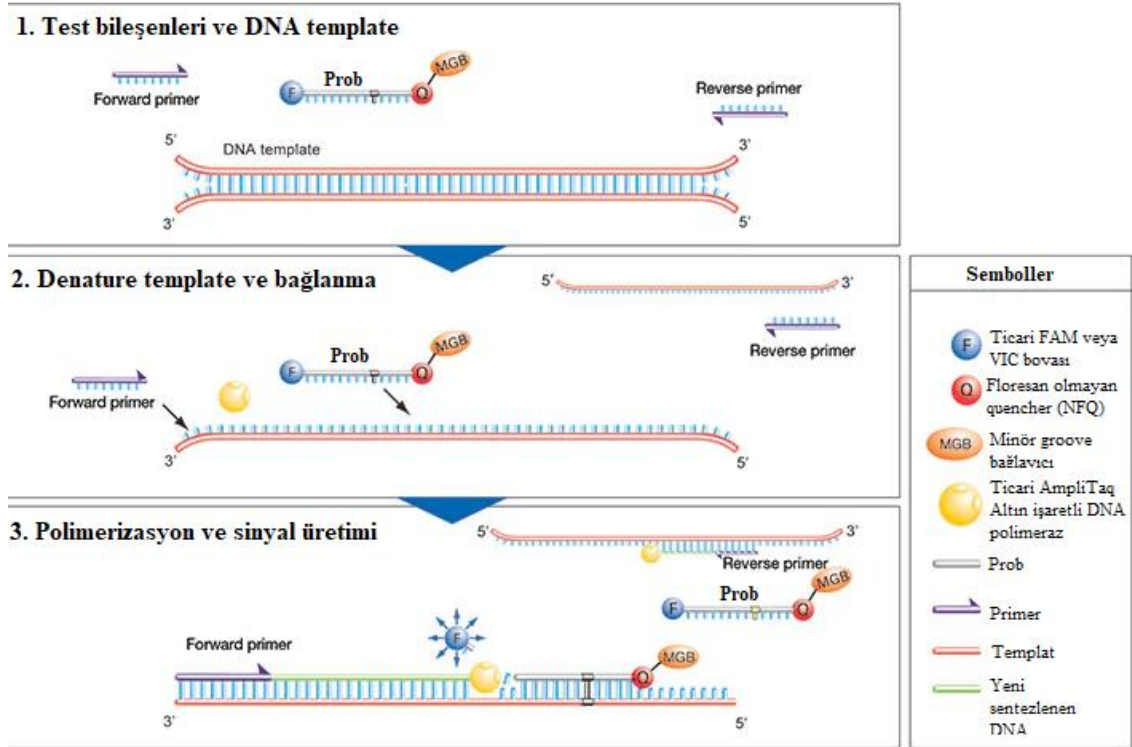
Spesifik primerler ile çoğaltılan DNA dizisi içindeki hedef bölgeye komplementer olarak tasarlanmış olan, bir ucunda floresans boya, diğer ucunda “quencher” taşıyan oligonükleotid problemlerin hedef DNA dizisine bağlanması ve taq polimerazın ekzonükleaz aktivitesi ile degrade edilerek quencher'ın floresans boyadan uzaklaşması sonucunda meydana gelen floresans ışımının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Bu yöntem ile SNP allellerin saptanması amacıyla hedef DNA dizisinin çoğaltılması için forward ve reverse primerler ile tespit edilmesi planlanan allellere spesifik olarak tasarlanmış problemler kullanılmaktadır. Bu primer çiftleri ve problemler, ticari olarak “assay” adı altında temin edilebilmektedir.

Bu tez çalışmasında gerçek zamanlı PZR (BIO-RAD CFX96 Touch, Hercules, CA, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılmış ve ticari olarak temin edilen SNP assayleri ve taqman problemleri için özel master mikslar kullanıldı.

TaqMan® SNP genotiplendirme deneyi, genotiplendirme çalışmalarında kullanılmak üzere iki adet spesifik olmayan SNP allelini ayırt etmek için kullanılmaktadır. Yöntem, ilgilenilen polimorfik diziyi ve allellerin spesifik tespiti için iki boya etiketli problemleri çoğaltmak amacıyla ileri ve geri primerlerin kullanılmasını içermektedir. TaqMan® SNP genotiplendirme testleri genomik DNA örneklerinde spesifik polimorfizmleri büyütme ve

tespit etmek için TaqMan 5' nükleaz kimyasını kullanmaktadır. Her test, bireylerin tek bir nükleotid polimorfizmi (SNP) için genotiplenmesini sağlamaktadır (Şekil 3-2).



Şekil 3- 2: TaqMan SNP genotipleme test süreci

Çalışmada, rs4588 genotiplendirmesi için C_8278879_10 (Applied Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assays_ThermoFisher Scientific) kodlu SNP assayı kullanıldı.

Bu assayde, G alleli için VIC işaretli, T alleli için ise FAM işaretli probalar kullanıldı. Sadece VIC sinyalinin alınması homozigot G allelini, sadece FAM sinyali alınması homozigot T allelini, hem VIC hem FAM sinyalinin birlikte alınması durumunda heterozigot genotipi göstermektedir (Tablo 3-2).

Aynı şekilde, rs7041 genotiplendirmesi için C_3133594_30 (Applied Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assays_ThermoFisher Scientific) kodlu SNP assayı kullanıldı. Bu assayde, A alleli için VIC işaretli, C alleli için ise FAM işaretli probalar kullanıldı. Sadece VIC sinyalinin alınması homozigot A allelini, sadece FAM sinyali alınması homozigot C allelini, hem VIC hem FAM sinyalinin birlikte alınması durumunda heterozigot genotipi göstermektedir (Tablo 3-2).

Her iki SNP için reaksiyon içerikleri ayrı ayrı hazırlandı. Çalışmada esnasında gerçek zamanlı sıcaklık döngüsü reaksiyon koşulları protokole uygun olarak ayarlandı (Tablo 3-3).

Tablo 3- 2: rs4588 ve rs7041 SNP'lerinin yer aldığı diziler

SNP	Baz Dizisi
rs4588	CTTGTTAACCAGCTTTGCCAGTTCC*[G/T]TGGGTGTGGCATCAGGCAATTTTC
rs7041	GCTTTGCCAGTTCCGTGGGTGTGGC*[A/C]TCAGGCAATTTTGCTTTTAGTCGT

* VIC/FAM ile sinyal alınması sağlandı

Gc geni genotiplleme deneyi için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda, reaksiyon başına 10 µl hacim olacak şekilde protokole uygun olarak hazırlandı. Buna göre 5.0 µl TaqPath™ proAmp™ master mix, 0.5 µl TaqMan® SNP genotyping assayi (20X), 4.5 µl'ye kadar genomik DNA (20 ng/µl) eklenerek toplam hacim 10 µl olacak şekilde nükleaz free su eklendi. Protokole uygun şekilde belirtilen reaksiyon koşullarına göre reaksiyon gerçekleştirildi (Tablo 3-3).

Tablo 3- 3: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu reaksiyon koşulları

Reaksiyon Basamakları	Sıcaklık	Süre	Döngü
Okuma öncesi	60 °C	30 sn	Bekletme
İlk denature/ Enzim aktivasyonu	95 °C	5 dk	
Denature	95 °C	15 sn*	40
Anneal/ Uzama	60 °C	60 sn*	
Okuma sonrası	60 °C	30 sn	Bekletme

3.3. Serbest D Vitamini ve Yararlanılabilir D Vitamini Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Çalışmanın deneysel kısmı tamamlandığında 25(OH)D'ün CMIA ve LC-MS/MS yöntemine uygun 25(OH)D konsantrasyonu [Dtotal], kolorimetrik test çalışması ile belirlenen ALB konsantrasyonu [DAlb], ELIZA yöntemi ile ölçülen DBP konsantrasyonu [DDBP] numaralandırılma sistemi dikkate alınarak göre excel programına yazıldı.

Denklem 3-1: Serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının hesaplanması

[Yararlanılabilir D vitamini] = [Serbest D vitamini] + [Albümine Bağlı D vitamini]		
KALB = $6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} (25(\text{OH})\text{D})$		
KDBP = $7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} (25(\text{OH})\text{D})$		
Hesaplama		
1 [DDBP]	=	[Dtotal] – [DAlb] – Serbes D vitamini]
2 [DAlb]	=	Kalb * [Alb] * [Serbest D vitamini]
3 [Serbest D vitamini]	=	[DDBP]: KDBP: [DBPserbest]
4 [DBPserbest]	=	[DBPtotal] – [DDBP]
[Serbest D vitamini]	=	[DDBP]: KDBP: ([DBP] – [DDBP])
[DDBP]	=	[Dtotal] – (Kalb * [Alb] + 1) * [Serbest D vitamini]
[Serbest D vitamini]	=	$\frac{[Dtotal] - (Kalb * [Alb] + 1) * [Dserbest]}{KDBP - ([DBP] - ([Dtotal] - (Kalb * [Alb] + 1) * [Dserbest])}$
$x = [\text{Serbest D vitamini}]$ İkinci derece polinoma uyacak şekilde sadeleştirilebilir ($ax^2 + bx + c = 0$)		
$a = KDBP * Kalb * [Alb] + KDBP$		
$b = KDBP * [DBP] - KDBP * [Dtotal] + Kalb * [Alb] + 1$		
$c = -[Dtotal]$		
[Serbest D vitamini]	=	$[-b + \sqrt{b^2 - 4ac}] : 2a$
[Yararlanılabilir D vitamini]	=	[Serbest D vitamini] + [DAlb]
[Yararlanılabilir D vitamini]	=	(Kalb * [Alb] + 1) * [Serbest D vitamini]

Serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini Denklem 3-1’de verildiği gibi bilgisayarda excel programında hesaplandı. Hesaplanan serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini sonuçları yine excel programına yazılarak istatistiksel analizler yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi GraphPad InStat ver. 3.06 (GraphPad Inc, CA, Amerika Birleşik Devletleri) tanımlayıcı analizler, ortalama ve standart sapma veya medyan ve minimum-maximum veriler kullanılarak sunulmuştur. Tüm grup içi değişkenlerin normallik testi için Kolmogorov-Smirnov distance (KS) testi kullanıldı.

Nümerik değişkenlerden normal dağılım gösterenlerde ikili karşılaştırmalar Paired t test veya Unpaired t test with Welch correction ile karşılaştırılmış, normal dağılım göstermeyenlerde Mann-Whitney test veya Wilcoxon matched pairs signed-ranks test ile karşılaştırılmıştır. Üç veya daha fazla grubun karşılaştırılması normal dağılım gösteren değişkenler için One-way Analysis of Variance (ANOVA) ve çoklu karşılaştırmaları Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test ile, normal dağılım göstermeyen değişkenler ise Kruskal-Wallis Test (Nonparametric ANOVA) ve çoklu karşılaştırmaları Dunn Multiple Comparison test yapıldı. Kategorik değişkenler ikili gruplar için Chi-square Testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik veriler

Biruni Üniversite Hastanesi'ne kontrol (check-up) amacıyla başvuran 51 birey çalışmaya dahil edildi. Bireylerin hiçbirisi dışarıdan herhangi bir vitamin veya mineral takviyesi almamış ve hiçbirinin kanser veya renal hastalık teşhisi bulunmamaktadır. Sürekli ilaç kullanan iki hasta ise hipoparatiroidi ve epilepsi hastalarıdır. Bireylere ait demografik veriler Tablo 4-1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Bireylerin demografik verileri

Özellik	n=51
Yaş (X ± SD)	39,39 ± 12,30
Cinsiyet n (%)	
Erkek	25 (49,1)
Kadın	26 (50,9)
Hastalık Durumu	
Check-up	49 (96,08)
Hipoparatiroidi	1 (1,96)
Epilepsi	1 (1,96)
25(OH)D2	2,97 ± 0,43 ng/ml
25(OH)D	19,92 ± 12,47 ng/ml
ALB (X ± SD)	43,82 ± 2,15 g/L
DBP (X ± SD)	390,24 ± 132,5 mg/L
Serbest D vitamini (pg/ml)	4,28 ± 2,47
Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,74 ± 1,0
Vitamin kullanımı	0
Mineral kullanımı	0
Komorbiditeler	
Kanser	0
Renal hastalıklar	0
Sürekli kullanılan ilaçlar	2

4.2. 25(OH)D Değerlerinin Kullanılan Tekniklere Göre Karşılaştırılması

Biruni Üniversitesi Hastanesi'nde CMIA yöntemiyle ölçülen ve LC-MS/MS teknikleriyle ölçülen plazma 25(OH)D değerleri ölçüm yapılan teknikler açısından karşılaştırıldığında ortalama değerlerinin benzer olduğu görüldü (Tablo 4-2). Bulgularda istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 4-2: Bireylerin CMIA ve LC-MS/MS teknikleri ile ölçülen plazma 25(OH)D değerlerinin karşılaştırılması

Teknik	25(OH)D (ng/ml)
	$X \pm SD$
CMIA	$20,75 \pm 14,2$
LC-MS/MS	$19,92 \pm 12,5$
<i>p</i> değeri	0,434

$X \pm SD$: Ortalama $\pm$ Standart sapma

4.3. Biyokimyasal Verilerin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

Bireylerin cinsiyetlerine göre LC-MS/MS-25(OH)D, ALB ve DBP konsantrasyonlarının ortalamaları karşılaştırıldığında erkek ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmadı ($p > 0,05$). Kadınlarda serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonun ortalamaları erkeklere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p = 0,046$, $p = 0,033$, Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Biyokimyasal verilerinin cinsiyetlere göre karşılaştırılması

$X \pm SD$	Erkek (n=25)	Kadın (n=26)	<i>p</i> değeri
LC-MS/MS-25(OH)D(ng/ml)	$17,51 \pm 10,98$	$22,49 \pm 13,36$	0,152
ALB (g/L)	$43,95 \pm 2,17$	$43,63 \pm 2,26$	0,613
DBP (mg/L)	$383,72 \pm 109,28$	$387,40 \pm 156,71$	0,434
Serbest D vitamini (pg/ml)	$3,58 \pm 1,92$	$4,95 \pm 2,79^*$	0,046
Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	$1,44 \pm 0,75$	$2,03 \pm 1,13^*$	0,033

4.4. Biyokimyasal Verilerin Plazma 25(OH)D Sonuçlarına Göre Karşılaştırılması

CMIA sonuçlarına göre 25(OH)D konsantrasyonları düşük (20 ng/ml'nin altında) ve yüksek (20 ng/ml'nin üstünde) olan bireylerden yüksek olan grubun LC-MS/MS ile hesaplanan 25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının ortalaması, düşük olan gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$). Ancak iki grup ALB ve DBP düzeyleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-4).

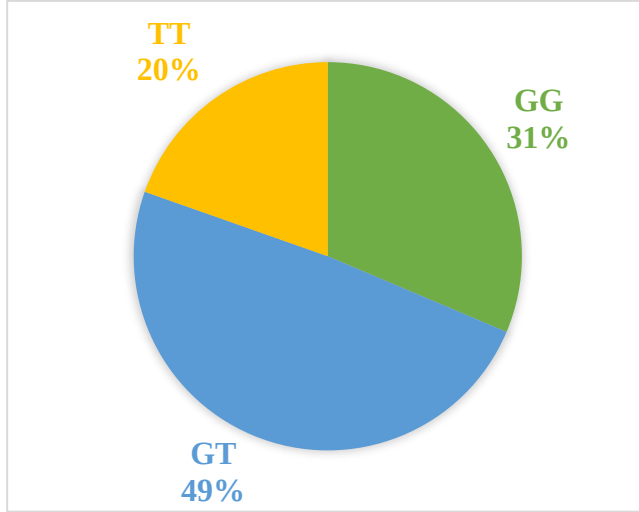
Tablo 4-4: Biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D sonuçlarına göre karşılaştırılması

$X \pm SD$	25(OH)D < 20ng/ml (n=26)	25(OH)D $\geq$ 20ng/ml (n=25)	p değeri
LC-MS/MS-25(OH)D(ng/ml)	11,52 $\pm$ 5,86	28,65 $\pm$ 11,5*	<0,0001
ALB (g/L)	43,72 $\pm$ 2,16	43,92 $\pm$ 2,18	0,736
DBP (mg/L)	390,63 $\pm$ 152,68	389,84 $\pm$ 110,87	0,638
Serbest D vitamini (pg/ml)	2,51 $\pm$ 1,43	6,01 $\pm$ 2,09*	<0,0001
Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,04 $\pm$ 0,60	2,42 $\pm$ 0,87*	<0,0001

4.5. Gc geni Polimorfizimlerinin Biyokimyasal Veriler ile Karşılaştırılması

4.5.1. rs7041 Polimorfiziminin Biyokimyasal Veriler ile Karşılaştırılması

Gerçek zamanlı PZR ile belirlenen Gc genindeki rs7041 polimorfizimine ait üç genotip GG, GT ve TT'dir. 51 hasta arasında en sık görülen genotip GT (%49), en az görülen ise TT (%20) genotipidir (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: Türk toplumunda rs7041 polimorfizmine göre yüzdelik genotip dağılımı

rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin D vitamini parametreleri genotiplere göre karşılaştırıldığında en düşük plazma 25(OH)D konsantrasyonuna GT ve TT genotipli bireylerde rastlandı. Bu değer istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0,01$). Benzer şekilde serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının ortalamaları da GT ve TT genotipli bireylerde, GG genotipli bireylere kıyasla anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0,01$). Ancak DBP düzeyleri açısından üç grup arasında anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-5).

Tablo 4-5: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin D vitamini parametrelerinin karşılaştırılması

SNP Genotipleri				<i>p</i> değeri
	X ± SD			
	GG (n=16)	GT (n=25)	TT (n=10)	
25(OH)D (ng/ml)	27,68 ± 13,69	17,33 ± 10,71*	12,95 ± 5,52*	0,005
DBP (mg/L)	391,83 ± 91,10	409,64 ± 162,41	337,4 ± 98,45	0,134
Serbest D vitamini (pg/ml)	5,73 ± 2,58	3,62 ± 2,20*	2,74 ± 1,36*	0,006
Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	2,35 ± 1,03	1,43 ± 0,85*	1,27 ± 0,65*	0,004

Bu genotiplere göre çalışılan parametrelere bakıldığında plazma 25(OH)D değerleri düşük olan 26 bireyden %19,2'sinin genotipi GG, %57,7'sinin genotipi GT ve %23,1'inin TT olduğu tespit edilirken, yüksek olan 25 bireyde ise 11'inin (%44) genotipi GG, 10'unun (%40) ve 4'ünün (%16) TT olduğu tespit edildi (Tablo 4.6).

Tablo 4-6: rs7041 polimorfiziminin ve biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

Genotip	Parametre	25(OH)D <20ng/ml (n=26)	25(OH)D ≥ 20ng/ml (n=25)	p değeri
GG	LC-MS/MS-25(OH)D(ng/ml)	11,10 ± 6,21	32,76 ± 12,43*	0,0005
	DBP (mg/L)	423,96 ± 132,38	377,22 ± 68,46	0,490
	Serbest D vitamini (pg/ml)	2,26 ± 1,24	6,80 ± 2,14*	0,0005
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	0,94 ± 0,52	2,78 ± 0,84*	0,0005
	n (%)	5 (31,25)	11 (68,75)*	0,028
GT	LC-MS/MS-25(OH)D(ng/ml)	11,46 ± 5,97	26,74 ± 9,32*	0,0005
	DBP (mg/L)	387,0 ± 172,71	432,7 ± 145,07	0,363
	Serbest D vitamini (pg/ml)	2,54 ± 1,49	5,45 ± 1,89*	0,0009
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,05 ± 0,61	2,10 ± 0,77*	0,0022
	n (%)	15 (60)	10 (40)	0,103
TT	LC-MS/MS-25(OH)D(ng/ml)	12,65 ± 5,94	22,14 ± 12,36	0,171
	DBP (mg/L)	350,75 ± 115,7	317,38 ± 76,65	0,762
	Serbest D vitamini (pg/ml)	2,94 ± 1,69	5,25 ± 2,23	0,114
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,22 ± 0,71	2,24 ± 0,99	0,114
	n (%)	6 (60)	4 (40)	0,262
Allel frekansları	G	0,77	0,84	0,455
	T	0,81	0,56	

GG genotipine sahip plazma 25(OH)D değerleri düşük olan bireylerde (n=5), LC-MS/MS-25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini değerleri, yüksek olan bireylere göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,001$). DBP konsantrasyonları açısından iki grup arasında anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-6).

GT genotipine sahip plazma 25(OH)D değerleri düşük bireylerde (n=15), LC-MS/MS-25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini değerleri, yüksek olan bireylere kıyasla anlamlı derecede düşük bulunurken (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p < 0,01$), DBP konsantrasyonları açısından iki grup arasında anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-6).

TT genotipine sahip 25(OH)D değerleri düşük bireylerde (n=6), LC-MS/MS-25(OH)D, DBP, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları, yüksek olan bireylere göre anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$, Tablo 4.6).

Gc genindeki rs7041 polimorfizimli bireylerin plazmadaki serbest D vitamini konsantrasyonları düşük (<2 pg/ml) ve yüksek (>2 pg/ml) olan bireylerin genotip dağılımı ve allel frekansları incelendiğinde üç genotip açısından anlamlı herhangi bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$). Serbest D vitamini düzeyleri yüksek olan bireylerde en sık görülen genotip GT idi ve bu genotipli bireylerin serbest D vitamini düşük ve yüksek olan gruplar arasındaki fark anlamlı bulunurken ($p= 0,033$), GG ve TT genotipli bireyler arasında anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0,052$, $p=0,486$). Serbest D vitamini düşük olan grupta T alleleline fazla rastlanırken, yüksek olan grupta G alleleline fazla rastlandı ancak aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 4-7).

Tablo 4-7: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları

		Serbest D vitamini < 2 pg/ml (n=10) n (%)	Serbest D vitamini > 2pg/ml (n=41) n (%)	p değeri
Genotip dağılımı N (%)	GG	1 (6)	15 (94)	0,052
	GT	7 (28)	18 (72)	0,033
	TT	2 (20)	8 (80)	0,486
Allel frekansları	G	0,80	0,80	0,259
	T	0,90	0,63	

Yararlanılabilir D vitamini düşük ve yüksek olan bireyler genotiplerine göre ayrıldığında, GG ve GT genotipli bireylerin yararlanılabilir D vitamini düşük ve yüksek olan gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilirken (sırasıyla $p=0,0171$, $p=0,049$), TT genotipli bireylerin anlamlı olmadığı tespit edildi ($p=0,348$). Yararlanılabilir D vitaminine göre G ve T allellinin frekansı düşük olan grupta 0,79 olarak, yüksek olan grupta ise sırasıyla 0,83 ve 0,50 olarak tespit edildi. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 4-8).

Tablo 4-8: rs7041 polimorfizmine sahip bireylerin yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları

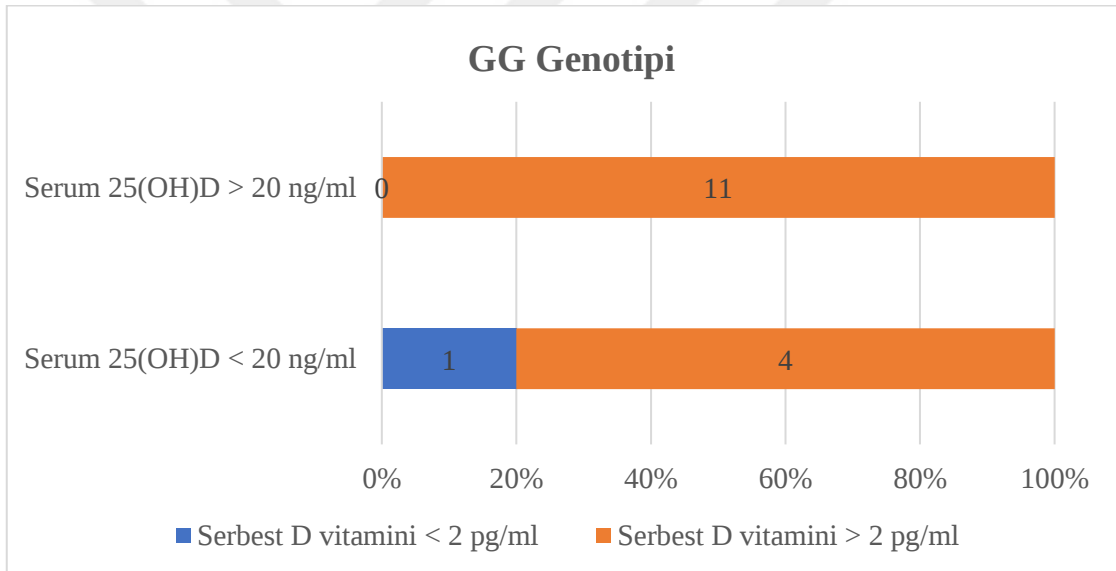
		Yararlanılabilir D < 2 ng/ml (n=33) n (%)	Yararlanılabilir D > 2ng/ml (n=18) n (%)	p değeri
Genotip dağılımı	GG	7 (43,75)	9 (56,25)*	0,0171
	GT	19 (76)	6 (24)*	0,049
	TT	7 (70)	3 (30)	0,348
Allel frekansları	G	0,79	0,83	0,155
	T	0,79	0,50	

Özetle GG genotipe sahip bireylerin %68,75'nin plazma 25(OH)D düzeyi normal, geriye kalan %31,25'nin düşük olduğu görüldü ($p=0,028$, Tablo 4-6). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %94'nün plazma serbest D vitamini düzeyi yüksek iken, %6'sının düşük olduğu belirlendi ($p=0,052$, Tablo 4-7). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %56,25'nin normal sınırlar içinde, %43,75'inin düşük olduğu ($p=0,0171$, Tablo 4-8) tespit edildi.

GT genotipe sahip bireylerin %40'ının plazma 25(OH)D düzeyi normalsınırlar içinde, geriye kalan %60'ının düşük olduğu görüldü ($p=0,103$, Tablo 4-6). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %72'sinin normal sınırlar içinde iken %28'inin düşük olduğu belirlendi ($p=0,033$, Tablo 4-7). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %24'nün normal sınırlar içinde, %76'sının düşük olduğu ($p=0,049$, Tablo 4-8) tespit edildi.

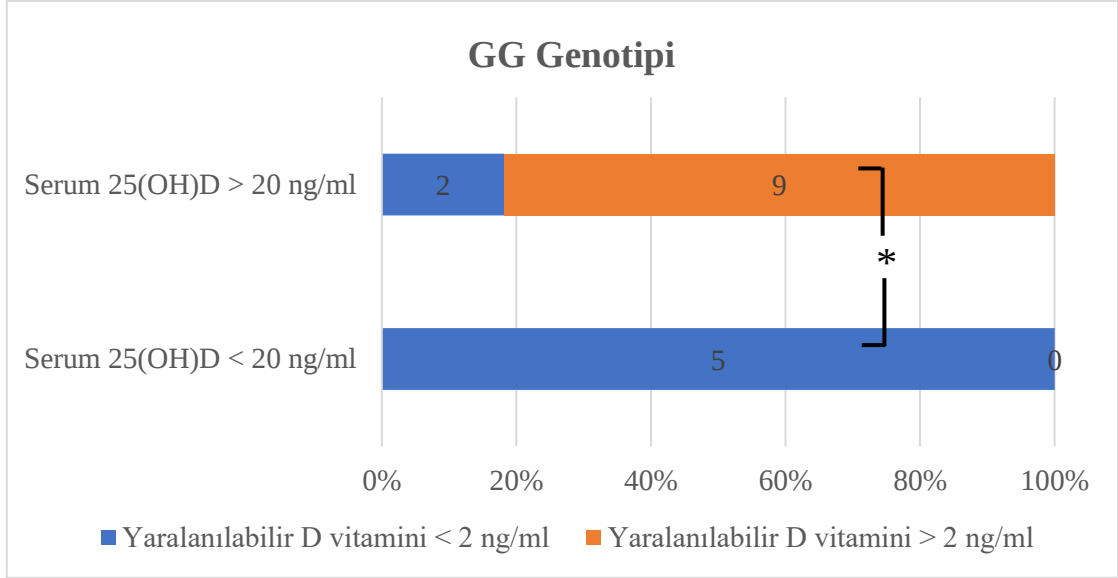
TT genotipe sahip bireylerin %40'ının plazma 25(OH)D düzeyi normal sınırlar içinde iken geriye kalan %60'ının düşük olduğu görüldü ($p= 0,262$, Tablo 4-6). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %80'inin normal sınırlar içinde iken, %2'sinin düşük olduğu belirlendi ($p= 0,486$, Tablo 4-7). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %30'unun normal sınırlar içinde, %70'inin düşük olduğu ($p= 0,348$, Tablo 4-8) tespit edildi.

GG genotipli bireylerin plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarındaki değişim karşılaştırıldığında plazma 25(OH)D konsantrasyonu yüksek olan tüm bireylerde serbest D vitaminin de yüksek olduğu görüldü. Buna karşın düşük olan bireylerin çoğunda serbest D vitaminin yüksek olduğu kaydedildi. Ancak bu farklar anlamlı bulunmadı (Şekil 4-2).



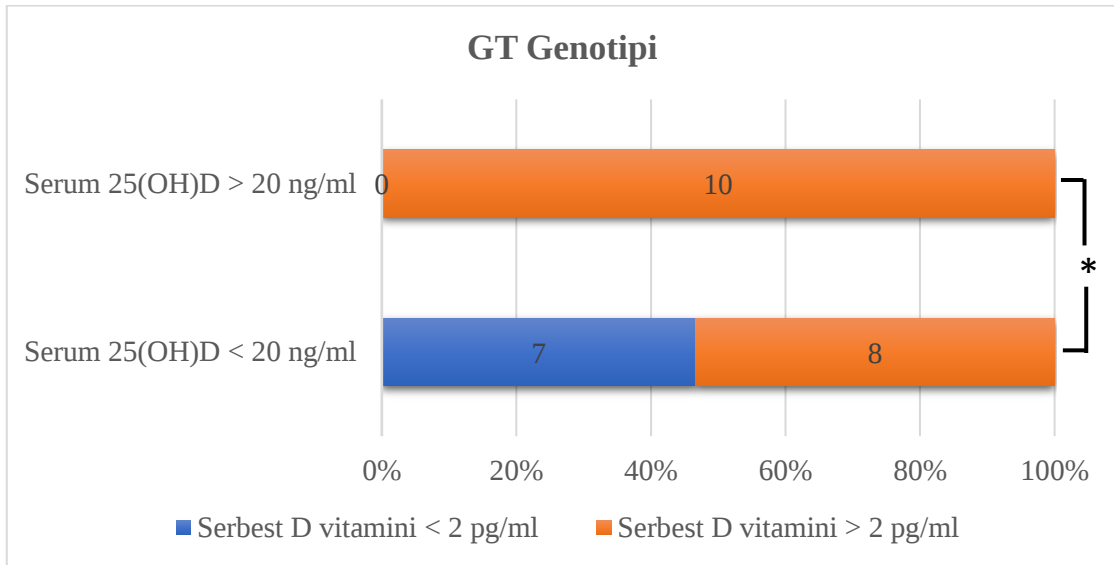
Şekil 4-2: GG genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

GG genotipli bireylerin plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda plazma 25(OH)D düzeyi yüksek olan bireylerin çoğunda yararlanılabilir D vitamini düzeyinin de yüksek olduğu görülürken, 25(OH)D düşük olan bireylerin tümünde yararlanılabilir D vitamini de 2 ng/ml'in altında idi (Şekil 4-3). Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0,05$).



Şekil 4-3: GG genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yaralanılabilir D vitamini konsantrasyonuna göre karşılaştırılması

GT genotipli bireylerin plazma 25(OH)D düzeyi ve serbest D vitamini düzeyindeki değişim karşılaştırıldığında 25(OH)D düzeyi yüksek olan tüm GT genotipli bireylerde serbest D vitaminin de yüksek olduğu görüldü. Düşük olan bireylerde ise serbest D vitaminin yüksek olduğu ve bu farkın anlamlı olduğu kaydedildi ($p < 0,05$, Şekil 4-4).

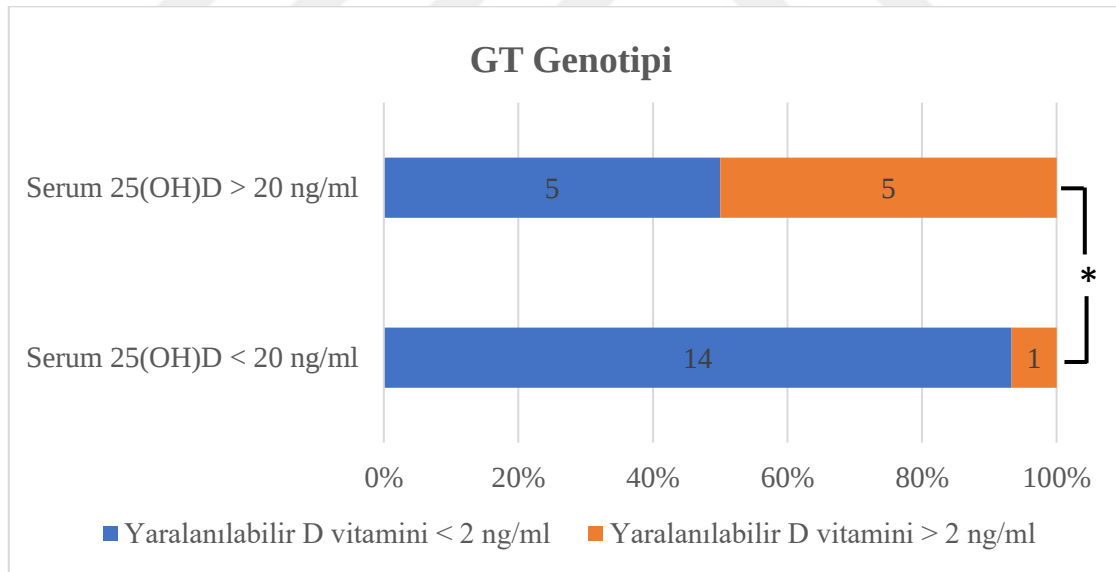


Şekil 4-4: GT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

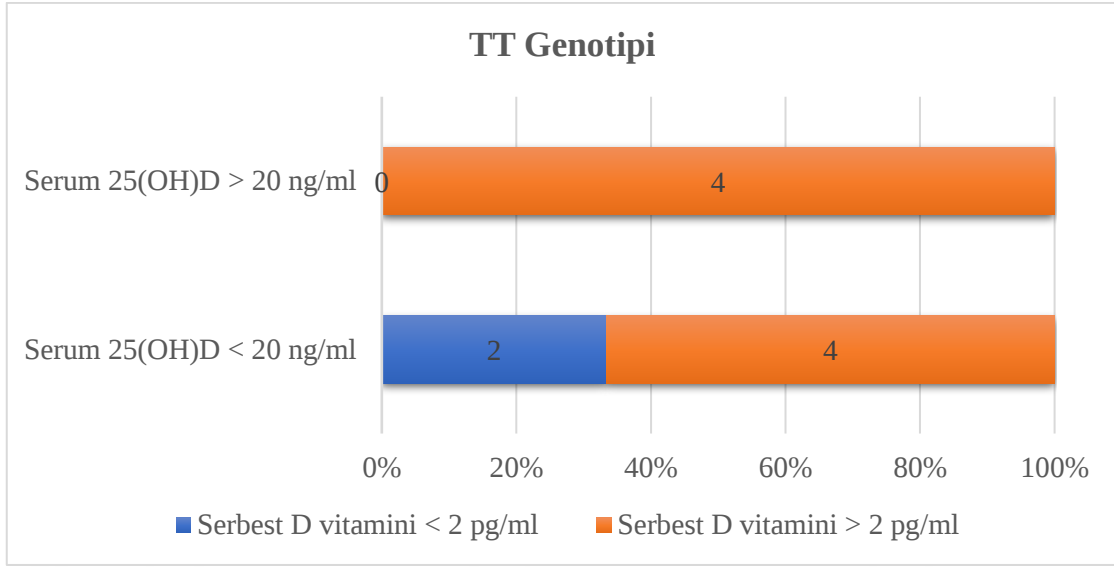
GT genotipli bireylerin plazma 25(OH)D düzeyindeki değişim ile Yararlanılabilir D vitamini karşılaştırılması sonucunda 25(OH)D yüksek olan bireylerin yarısında yararlanılabilir D vitamini Düzeyleri yüksek ve diğer yarısında düşük bulundu. Düşük olan bireylerin çoğunda yararlanılabilir D vitamini de düşüktü. Aradaki farklar istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p < 0,05$, Şekil 4-5).

TT genotipli bireylerin plazma 25(OH)D düzeyi ve serbest D vitamini düzeyindeki değişim karşılaştırıldığında plazma 25(OH)D düzeyi yüksek olan tüm TT genotipli bireylerde serbest D vitaminin de yüksek olduğu görüldü. Düşük olan bireylerin ise serbest D vitaminin yüksek olduğu görüldü ancak aradaki bu farkların anlamlı olmadığı kaydedildi ($p > 0,05$, Şekil 4-6).

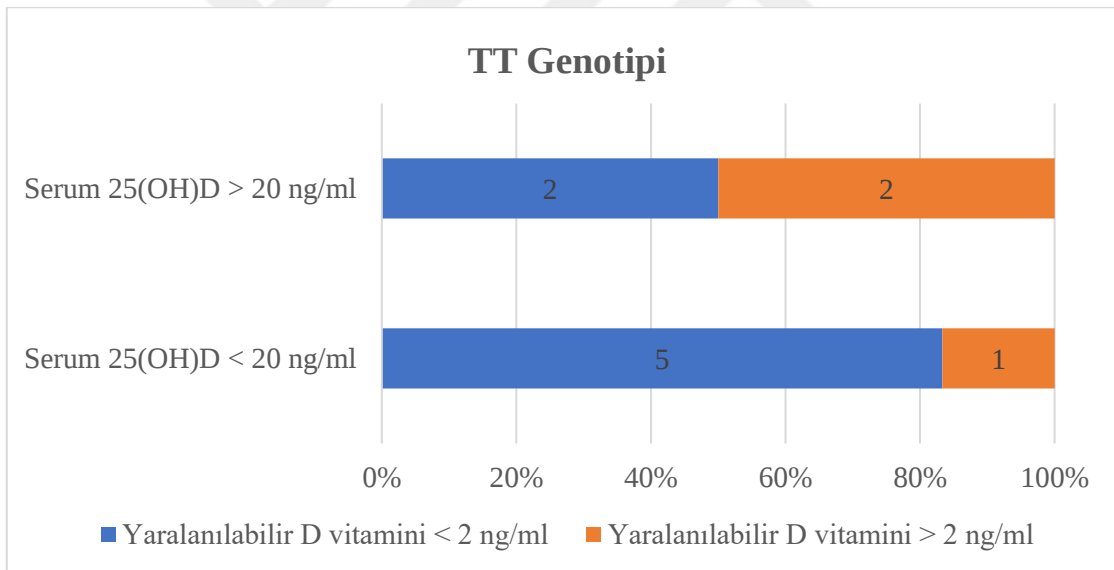
TT genotipli bireylerin plazma 25(OH)D düzeyi ve yararlanılabilir D vitamini düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda 25(OH)D düzeyi yüksek olan bireylerin yarısında yararlanılabilir D vitamini düzeyleri yüksek iken diğer yarısında düşük bulundu. Düşük olan bireylerin çoğunda yararlanılabilir D vitamini de düşüktü ancak aradaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p > 0,05$, Şekil 4-7).



Şekil 4-5: GT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması



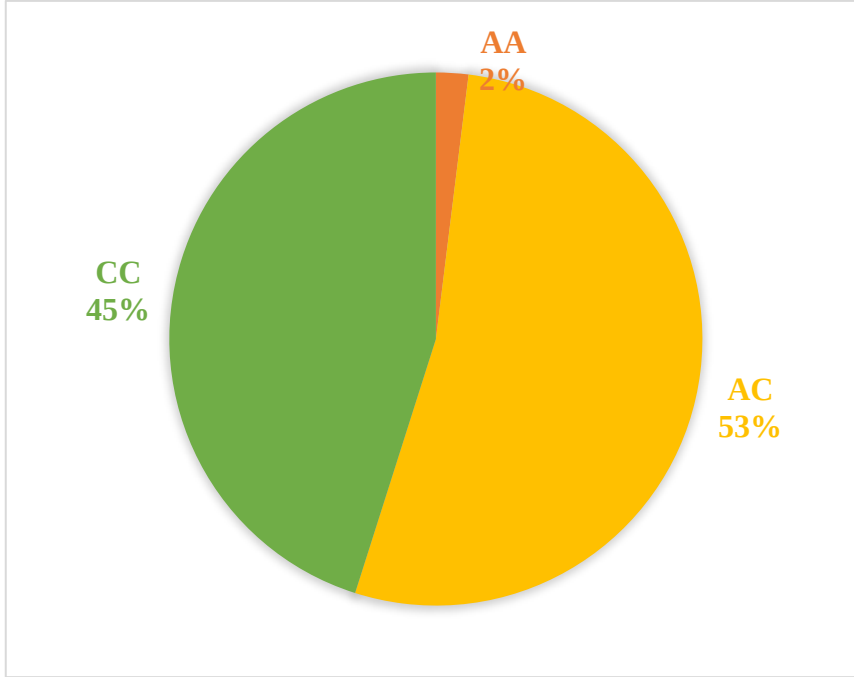
Şekil 4-6: TT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması



Şekil 4-7: TT genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

4.5.2. rs4588 Polimorfizimi

Gerçek zamanlı PZR ile belirlenen Gc geninde ki rs4588 polimorfizimine ait üç genotip AA, AC ve CC'dir. 51 hasta arasında en sık görülen genotip AC (%53), en az görülen ise AA (%2) genotipidir (Şekil 4-8).



Şekil 4-8: Türk toplumunda rs4588 polimorfizmine göre yüzdelik genotip dağılımı

rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin biyokimyasal parametrelerinin genotiplere göre karşılaştırıldığında (AA genotipli birey sayısı sadece 1 olduğu için istatistiksel analizlerden dışlandı) en düşük plazma 25(OH)D düzeyi ortalama değerine AC genotipli bireylerde rastlandı ve CC genotipine kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Benzer şekilde serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini değerlerinin ortalamaları da AC genotipli bireylerde, CC genotip grubuna kıyasla anlamlı bulundu ($p < 0,05$). DBP konsantrasyonları açısından iki grup arasındaki önemli bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-9).

Tablo 4-9: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin D vitamini parametrelerinin karşılaştırılması

	SNP Genotipleri		
	X ± SD		
	AC (n=27)	CC (n=23)	<i>p değeri</i>
25(OH)D (ng/ml)	16,03 ± 8,91	24,58 ± 13,04	0,032
DBP (mg/L)	372,28 ± 144,83	409,82 ± 119,30	0,150
Serbest D vitamini (pg/ml)	2,99 ± 1,76	4,35 ± 2,53	0,043
Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,41 ± 0,81	2,09 ± 0,90	0,017

Tablo 4-10: rs4588 polimorfiziminin ve biyokimyasal verilerin plazma 25(OH)D gruplarına göre karşılaştırılması

Genotip	Parametre	25(OH)D <20ng/ml (n=26)	25(OH)D ≥ 20ng/ml (n=25)	p değeri
AA	LC-MS/MS- 25(OH)D(ng/ml)	18,91	-	-
	DBP (mg/L)	260,5	-	-
	Serbest D vitamini (pg/ml)	5,44	-	-
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	2,24	-	-
	n (%)	1 (100)	0 (0)	0,161
AC	LC-MS/MS- 25(OH)D(ng/ml)	10,13 ± 6,00	24,33 ± 8,01*	<0.0001
	DBP (mg/L)	383,64 ± 185,2	360,04 ± 89,3	0,675
	Serbest D vitamini (pg/ml)	2,28 ± 1,53	5,58 ± 1,75*	<0.0001
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	0,95 ± 0,64	2,22 ± 0,76*	0.0001
	n (%)	14 (52)	13 (48)	0,447
CC	LC-MS/MS- 25(OH)D(ng/ml)	13,22 ± 5,32	32,49 ± 13,42*	0.0007
	DBP (mg/L)	395,98 ± 115,96	429,04 ± 129,98	0,412
	Serbest D vitamini (pg/ml)	2,78 ± 1,17	6,20 ± 2,30*	0,0006
	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)	1,14 ± 0,47	2,53 ± 0,90*	0.0004
	n (%)	11 (48)	12 (52)	0,341
Allel frekansları	A	0,58	0,52	0,947
	C	0,96	1,00	

rs4588 genotiplerine göre biyokimyasal parametrelere bakıldığında plazmada 25(OH)D değerleri düşük olan 26 bireylerden sadece %3,85 AA, %53,85'nin AC ve

%42,3'ünün CC genotipe sahip olduğu tespit edilirken, yüksek olan 25 bireyden %52 AC, %48'inin CC genotipe sahip olduğu tespit edildi. (Tablo 4-10).

AC genotipine sahip 25(OH)D değerleri düşük bireylerde, LC-MS/MS-25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini değerleri, yüksek olan bireylere göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,001$). DBP konsantrasyonları açısından iki grup arasında anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-10).

CC genotipine sahip plazma 25(OH)D değerleri düşük bireylerde, LC-MS/MS-25(OH)D3, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini değerleri, yüksek olan bireylere göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,001$). DBP miktarları açısından iki grup arasında anlamlı farka rastlanmadı ($p > 0,05$, Tablo 4-10).

AC ve CC genotipli bireylerin serbest D vitaminine göre karşılaştırıldığında düşük ve yüksek olan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlılık tespit edildi (sırasıyla $p = 0,028$, $p = 0,038$, Tablo 4.11). Serbest D vitamini konsantrasyonları hem düşük olan, hem de yüksek olan grupta C allel frekansı A alleleline kıyasla yüksek bulundu ($p > 0,05$). Ayrıca tüm bireylerde C allelinin frekansının yüksek olduğu görüldü ($p=0,194$, Tablo 4-11).

Tablo 4-11: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları

		Serbest D vitamini < 2 pg/ml (n=10)	Serbest D vitamini > 2pg/ml (n=41)	<i>p</i> değeri
Genotip dağılımı N (%)	AA	0 (0)	1 (%100)	0,309
	AC	8 (%30)	19 (%70)	0,028
	CC	2 (%9)	21 (%91)	0,038
Allel frekansları	A	0,80	0,49	0,194
	C	1,00	0,98	

Yararlanılabilir D vitaminine göre düşük ve yüksek olan gruplar arasında, AC ve CC genotipli bireylerde anlamlı farka rastlandı (sırasıyla $p = 0,276$, $p = 0,421$). Yararlanılabilir D vitamini düşük olan grupta A allellinin frekansı 0,56, C allellinin frekansı 1,0 iken, yüksek olan grupta ise A allellinin frekansı 0,53, C allellinin frekansı

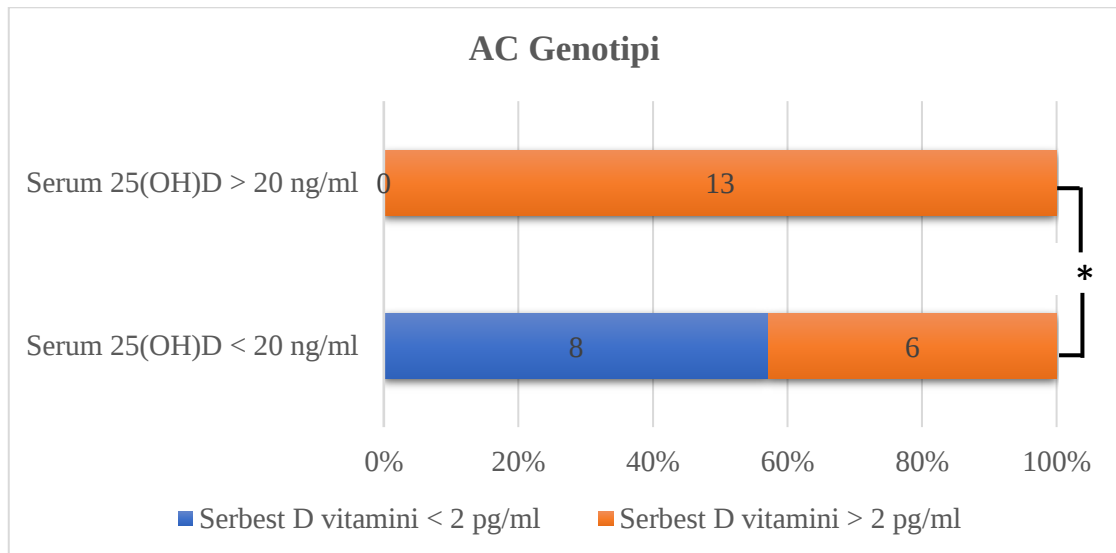
0,94 olarak hesaplandı. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı görülmedi ($p=0,495$, Tablo 4-12).

Tablo 4-12: rs4588 polimorfizmine sahip bireylerin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre genotip dağılımı ve allel frekansları

		Yararlanılabilir D < 2 ng/ml (n=34)	Yararlanılabilir D > 2ng/ml (n=17)	p değeri
Genotip dağılımı n (%)	AA	0 (0)	1 (100)*	0,077
	AC	19 (70,4)	8 (29,6)	0,276
	CC	15 (65,2)	8 (34,8)	0,421
Allel frekansları	A	0,56	0,53	0,495
	C	1,0	0,94	

AC genotipli bireylerin plazma 25(OH)D düzeyi değişimi ile serbest D vitamini düzeyindeki değişimlerin karşılaştırılması sonucunda plazma 25(OH)D düzeyi yüksek olan bireylerin tümünde serbest D vitamini konsantrasyonları yüksek bulundu (Şekil 4-9).

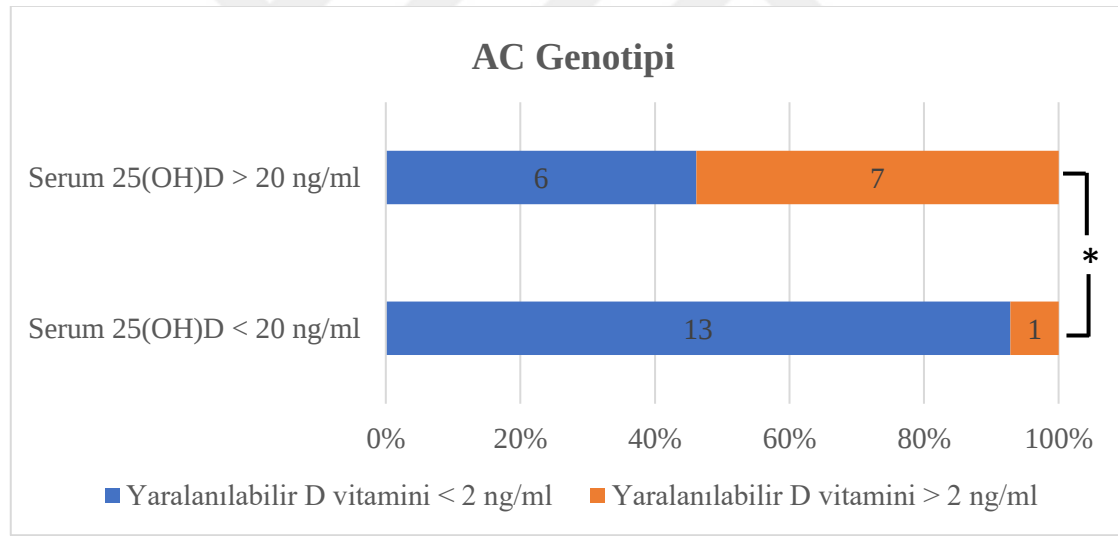
Plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olan bireylerin çoğunda serbest D vitamini de düşük olduğu tespit edildi. Plazma 25(OH)D konsantrasyonu yüksek olan grupla aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0,05$).



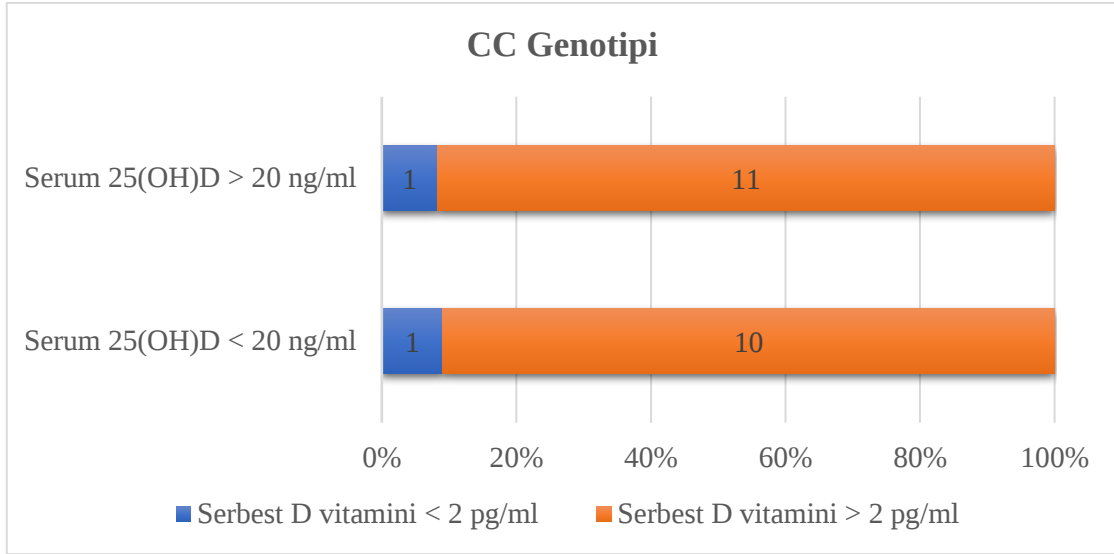
Şekil 4-9: AC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

AC genotipli bireylerin plazma 25(OH)D konsantrasyonu ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının karşılaştırılması sonucunda plazma 25(OH)D konsantrasyonu yüksek olan bireylerin %42,85'inde yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları da yüksek ve geriye kalanların ise düşük olduğu görüldü. Ayrıca plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olan bireylerin çoğunda yararlanılabilir D vitamininin de düşük olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,05$, Şekil 4-10).

CC genotipli bireylerin plazma 25(OH)D konsantrasyonu ve serbest D vitamini düzeyi karşılaştırılması sonucunda plazma 25(OH)D konsantrasyonu yüksek olan bireylerin çoğunda serbest D vitamini konsantrasyonları da yüksek bulundu (Şekil 4-11). 25(OH)D konsantrasyonu düşük olan bireylerin çoğunda ise serbest D vitamini yüksek iken sadece 1 bireyde 2 pg/ml'nin altında saptanabildi ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).

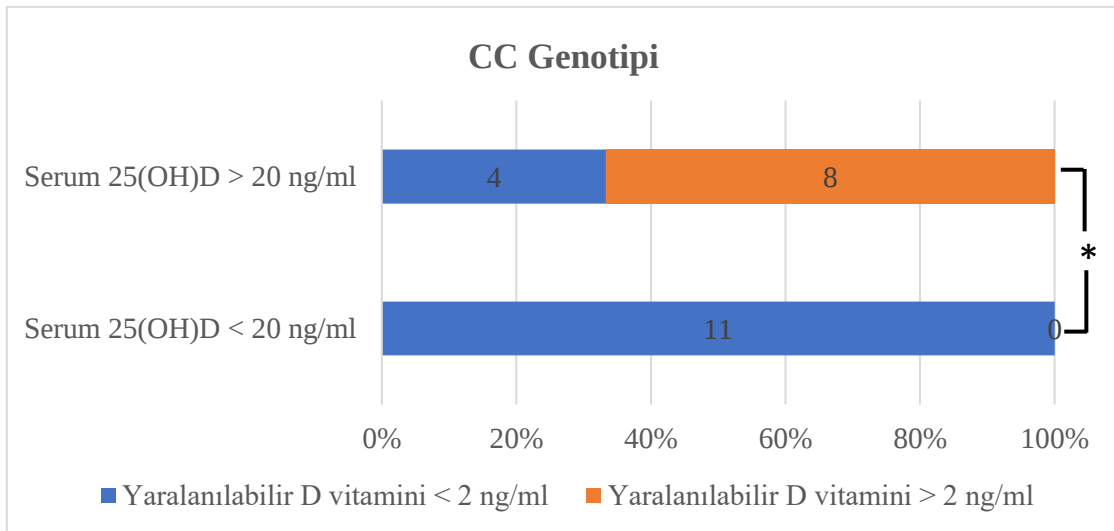


Şekil 4-10: AC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması



Şekil 4-11: CC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

rs4588 polimorfizmine sahip CC genotipli bireylerin plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının karşılaştırılması sonucunda plazma 25(OH)D konsantrasyonu yüksek olan bireylerin çoğunda yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları yüksek ve geriye kalanlarda düşük bulundu (Şekil 4-12). 25(OH)D düşük olan bireylerin hepsinde yararlanılabilir D vitamini de düşüktü ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

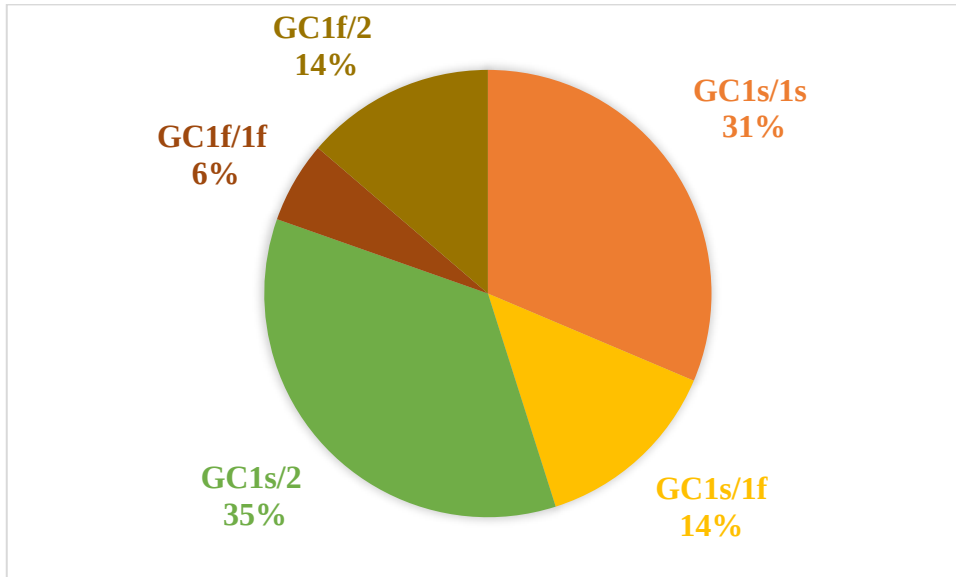


Şekil 4-12: CC genotipli birey sayılarının plazma 25(OH)D ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre karşılaştırılması

rs4588 polimorfizmine göre AA genotipe sahip bir bireyin 25(OH)D konsantrasyonu düşük görünmesine rağmen serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamin düzeyleri normal değerler içerisinde çıkmıştır. AC genotipe sahip bireylerin %48'inin 25(OH)D düzeyi normal değerler içerisindeyken, geriye kalan %52'sinin düşük olduğu bulundu ($p = 0,447$, Tablo 4-10). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %70'nin normal sınırlar içerisindeyken, %30'nun düşük olduğu görüldü ($p = 0,028$, Tablo 4-11). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %29,6'sının normal, %70,4'ünün düşük olduğu tespit edildi ($p = 0,276$, Tablo 4-12). CC genotipe sahip bireylerin %52'sinin 25(OH)D vitamini normal ve %48'inin toplam D vitamini düşük olduğu bulunurken ($p = 0,341$, Tablo 4-10), serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %91'inin normal sınırlar içerisinde, sadece %9'unun düşük olduğu bulundu ($p = 0,038$, Tablo 4-11). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %34,8'inin normal sınırlar içerisindeyken, %65,2'sinin düşük olduğu görüldü ($p = 0,421$, Tablo 4-12).

4.6. DBP Fenotiplerine Göre Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

Bireylerin rs7041 ve rs4588 polimorfizimlerinden kombinasyonlarından kaynaklanan fenotiplerine bakıldığında, Türk popülasyonunda en sık görülen fenotiplerin Gc1s/2 ve Gc1s/1s, nadir görülen fenotipin ise Gc1f/1f olduğu tespit edildi (Şekil 4-13).



Şekil 4-13: Türk toplumunda DBP fenotiplerinin yüzdelik dağılımı dağılımı

rs7041 ve rs4588 polimorfizimlerine sahip bireylerin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 4-13'de sunulmuştur. Gc1s/2 ve Gc1f/2 fenotipine sahip bireylerde 25(OH)D konsantrasyonlarının ortalaması diğer fenotiplere kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,05$). Benzer şekilde bu fenotipe sahip bireylerde serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının ortalamaları da yine anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,01$). DBP konsantrasyonları açısından beş fenotip arasında farklılık bulunmadı ($p > 0,05$).

Gc geni fenotiplerinin plazma 25(OH)D konsantrasyonları düşük veya yüksek olan gruplara göre dağılımları incelendiğinde plazma 25(OH)D değeri düşük olan bireylerde en sık görülen fenotip Gc1s/2 iken yüksek olan bireyler arasında en sık görülen fenotip ise Gc1s/1s olduğu tespit edildi. Gc1s/1s fenotipi açısından iki grubun birey sayıları arasındaki fark anlamlı görülürken ($p < 0,05$), Gc1f/1f , plazma 25(OH)D değeri düşük ve yüksek olan bireylerde en nadir görülen fenotip oldu (Tablo 4-14).

Tablo 4-13: Gc geni fenotiplerinin biyokimyasal parametrelere göre karşılaştırılması

	Fenotip X ± SD			
	Plazma 25(OH)D(ng/ml)	DBP (mg/L)	Serbest D vitamini (pg/ml)	Yararlanılabilir D vitamini (ng/ml)
Gc1s/1s (n=16)	27,69±13,7	391,8±91,1	5,42±2,35	2,44±0,99
Gc1s/1f (n=7)	17,27±4,3	423,4±163,8	3,28±0,93	1,55±0,65
Gc1s/2 (n=18)	16,48±9,4*	361,7±88,6	2,56±1,46**	1,34±0,79**
Gc1f/1f (n=3)	24,26±13,0	417,0±153,8	4,92±2,62	2,05±1,17
Gc1f/2 (n=7)	13,10±6,5*	303,3±46,1	2,48±1,26**	1,19±0,59**
p değeri	0,016	0,202	0,003	0,005

Tablo 4-14: DBP fenotiplerinin plazma 25(OH)D konsantrasyonlarına göre dağılımları

Fenotip	25(OH)D < 20 ng/ml (n=26)	25(OH)D ≥ 20 ng/ml (n=25)	<i>p</i> değeri
	n (%)	n (%)	
Gc1s/1s	5 (31,25)	11 (68,75)*	0,028
Gc1s/1f	5 (71,43)	2 (28,57)	0,122
Gc1s/2	10 (55,56)	8 (44,44)	0,315
Gc1f/1f	2 (66,67)	1 (33,33)	0,288
Gc1f/2	4 (57,15)	3 (42,85)	0,363

DBP fenotiplerinin serbest D vitamini konsantrasyonuna göre dağılımları incelendiğinde plazma 25(OH)D değeri düşük olan bireylerde en sık görülen Gc1s/2 fenotipi olduğu tespit edilirken, yüksek olan grupta ise Gc1s/1s fenotipinin olduğu görüldü (Tablo 4-15). Gc1s/2 fenotipi açısından iki grubun birey sayıları arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0,05$). Serbest D vitamini değeri düşük olan grupta Gc1s/1f ve Gc1f/1f fenotipleri görülmezken yüksek olan bireylerde en nadir görülen fenotip ise Gc1f/1f (%3) oldu.

Tablo 4-15: DBP fenotiplerinin serbest D vitamini konsantrasyonlarına göre dağılımları

Fenotip	Serbest D vitamini <2pg/ml (n=9)	Serbest D vitamini >2pg/ml (n=42)	<i>p</i> değeri
	n (%)	n (%)	
Gc1s/1s	1 (6,25)	15 (93,75)	0,074
Gc1s/1f	0 (0)	7 (100)	0,204
Gc1s/2	6 (33,34)	12 (66,66)*	0,015
Gc1f/1f	0 (0)	3 (100)	0,204
Gc1f/2	2 (28,58)	5 (71,42)	0,207

DBP fenotiplerinin yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları göre dağılımları incelendiğinde yararlanılabilir D vitamini değeri düşük olan grubun bireylerinde en sık görülen fenotip Gc1s/2 olduğu tespit edilirken, yüksek olan grupta ise Gc1s/1s olduğu görüldü (Tablo 4-16). Gc1s/1s fenotipi açısından iki grubun birey sayıları arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0,05$). Yararlanılabilir D vitamini değeri düşük olan grupta Gc1f/1f

fenotipi sadece bir bireyde tespit edildi. Yararlanılabilir D vitamini değeri yüksek olan bireylerde en nadir görülen fenotipler ise Gc1s/1f ve Gc1f/2 oldu.

Tablo 4-16: DBP fenotiplerinin yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarına göre dağılımları

Fenotip	Yararlanılabilir D vitamini < 2ng/ml	Yararlanılabilir D vitamini > 2ng/ml	p değeri
	(n=33)	(n=18)	
	n (%)	n (%)	
Gc1s/1s	7 (43,75)	9 (56,25)*	0,017
Gc1s/1f	6 (85,72)	1 (14,28)	0,105
Gc1s/2	13 (61,54)	5 (38,46)	0,203
Gc1f/1f	1 (33,34)	2 (66,66)	0,121
Gc1f/2	6 (83,34)	1 (16,66)	0,105

Gc1s/1s fenotipine sahip bireylerin %68,75'inin CMIA sonuçlarına göre plazma 25(OH)D konsantrasyonu normal, geriye kalan %31,25'inin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olduğu bulundu ($p = 0,103$, Tablo 4-14). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %93,75'inin normal, %6,25'inin düşük olduğu tespit edildi ($p = 0,033$, Tablo 4-15). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise 56,25'inin normal, %43,75'nin düşük olduğu ($p = 0,0171$, Tablo 4-16) görüldü.

Gc1s/1f fenotipine sahip bireylerin %28,57'sinin plazma 25(OH)D konsantrasyonu normal sınırlar içerisindeyken, geriye kalan %71,43'ünün düşük olduğu bulundu ($p = 0,103$, Tablo 4.14). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %100'ünün normal olduğu görüldü ($p = 0,033$, Tablo 4-15). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise 14,28'nin normal, %85,72'sinin düşük olduğu ($p = 0,0171$, Tablo 4.16) tespit edildi.

Gc1s/2 fenotipine sahip bireylerin %44,44'sinin plazma 25(OH)D konsantrasyonu normal sınırlar içerisindeyken, geriye kalan %55,56'sının plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olduğu bulundu ($p = 0,103$, Tablo 4-14). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %66,66'sının normal, %33,34'ünün düşük olduğu görüldü ($p = 0,033$, Tablo 4-15). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise 38,46'sının normal, %61,54'ünün düşük olduğu ($p = 0,0171$, Tablo 4-16) tespit edildi.

Gc1f/1f fenotipine sahip bireylerin %33,33'ünün plazma 25(OH)D konsantrasyonu normal sınırlar içerisinde, geriye kalan %66,67'sinin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olduğu bulundu ($p = 0,103$, Tablo 4-14). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise tamamının normal sınırlar içerisinde olduğu görüldü ($p = 0,033$, Tablo 4.15). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise 66,66'sının normal, %33,34'ünün düşük olduğu ($p = 0,0171$, Tablo 4-16) tespit edildi.

Gc1f/2 fenotipine sahip bireylerin %42,85'inin plazma 25(OH)D konsantrasyonu normal sınırlar içerisinde, geriye kalan %57,15'inin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olduğu bulundu ($p = 0,103$, Tablo 4-14). Serbest D vitaminlerine bakıldığında ise %71,42'sinin normal, %28,58'inin düşük olduğu görüldü ($p=0,033$, Tablo 4-15). Yararlanılabilir D vitaminlerine bakıldığında ise %16,66'sının normal, %83,34'ünün düşük olduğu ($p = 0,0171$, Tablo 4-16) tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Gc, oldukça polimorfik bir genidir. Gc geninde sıklıkla karşılaşılan iki SNP ‘in (rs7041 ve rs4588) farklı alel düzenlemelerine karşılık gelen Gc1f, Gc1s ve Gc2 varyantları D vitamini eksikliği de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Chishimba ve ark. 2010, Wood ve ark. 2011). Bu varyantların plazma 25(OH)D'e bağlanmada afinite farklılıklarına neden olduğu ve dolayısıyla plazma içeriğini etkilediği bildirilmiştir (Janssens ve ark, 2010). Dolaşımdaki 25(OH)D’ün %90 kadarı DBP ile sıkı bağlantılı bulunduğu için Gc geninin farklı izoformları, 25(OH)D’ün plazma konsantrasyonunu ve kullanılabilirliğini etkileyebilmektedir (Arnaud ve Constans, 1993). Ancak bu izoformların plazma 25(OH)D’ün bağlandığı bölgeyi nasıl ve ne kadar etkilediği bilinmemektedir. Literatüre göre bazı polimorfizmler, bağlanan D vitamininin daha çabuk serbest bırakılmasına yol açarken, bazılarının da daha zor serbest bırakabildiği gösterilmiştir. Serbest hormon hipotezine göre D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)2D’ye dönüştürülmek üzere hücrelere yalnızca serbest D vitamini girebilir. Başka bir deyişle hücrelere etki eden hormon, dolaşımda bağlı olmayan serbest hormondur. Bu durumda plazma 25(OH)D için bir depo görevi gören DBP’nin rolünün 25(OH)D’ün yarı ömrünü uzatmak ve serbest D vitamininin yararlanılabilirliğini sınırlandırmak olduğu düşünülmektedir (Aloia ve ark. 2015).

Powe ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış oldukları 1981 katılımcılı bir çalışmada plazma 25(OH)D konsantrasyonu ortalamaları siyahlarda ($15,6 \pm 0,2$ ng/ml, $p < 0.001$), beyazlara göre düşük ($25,8 \pm 0,4$ ng/ml $p < 0.001$) bulunmuştur. Bu sonuçlara göre D vitamini fonksiyonlarının (kemik yoğunluğunun fazlalığı, kemik erimesinin ve kemik kırılmasının azlığı gibi) beyazlarda daha fazla görülmesi beklenirken şaşırtıcı şekilde siyahlarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Powe ve ark. 2011). Bu çalışmayla birlikte uzun zamandır devam eden D vitamininin ölçümleriyle ilgili çalışmalar dikkatleri DBP’ye çekmiştir. Çünkü çalışmanın devamında DBP ölçümü yapılmış olup, beyazlara kıyasla (337 ± 5 µg/ml) siyahlara DBP miktarının daha düşük (168 ± 3 µg/ml olduğu gösterilmiştir (Powe ve ark. 2013). Powe ve arkadaşlarının DBP’nin D vitamini fonksiyonlarını etkilediği bildirilen çalışması örnek alınarak tez çalışmamız, Türk toplumunda bu durumun aydınlatılması üzerine kurgulanmıştır.

Çalışmamızda 51 katılımcıdan alınan DNA örnekleri, D vitamini bağlayıcı protein geninin kodlama bölgesindeki iki SNP rs4588 ve rs7041- için genotiplendi. Bu SNP'ler genel popülasyondaki yüksek prevalansları ve DBP fonksiyonuyla olan önemli bağlantıları dolayısıyla tercih edildi.

Danimarkalı ailelerde yapılan bir D vitamin takviyesi çalışmasında, Gc geninde ki rs842999 ve rs4588 polimorfizimlerinin plazma 25(OH)D konsantrasyonları ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır (Nissen ve ark. 2014a). İsveç'te yetişkin ikiz çiftlerde yapılan kesitsel bir araştırmada yaz aylarında plazma 25(OH)D konsantrasyonlarındaki değişkenliğin yarısının genetik faktörlerle açıklanabildiği gözlemlenirken, bu tahminin kış aylarında oldukça düşük olduğu gösterilmiştir (Snellman ve ark. 2009). Engelman ve arkadaşları postmenopozal Amerikan kadınların dahil edildiği kesitsel bir çalışmada, rs4588 ve rs7041 SNP'lerin yaz boyunca plazma 25(OH)D konsantrasyonları ile kuvvetle ilişkili olduğunu, ancak kışın olmadığını gözlemlemiştir (Engelman ve ark. 2013). Petersen ve arkadaşları sağlıklı 642 Danimarkalı çocuğu dahil ettikleri bir çalışmada, seçtikleri çeşitli SNP'ler ile plazma 25(OH)D konsantrasyonları arasındaki ilişkileri araştırmış, üç mevsim boyunca rs4588 ve rs7041'nin minör alellerini düşük plazma 25(OH)D konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Petersen ve ark. 2017). Bu çalışmalar, yaptığımız çalışmayla birlikte Gc geni polimorfizimlerinin plazmada 25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının ilişkisi olduğunu desteklemektedir.

Çalışmamızda tüm bireylerin yararlanılabilir D vitamini seviyesi ortalaması $1,74 \pm 1,0$ ng/ml olarak kaydedilmiştir. rs7041 polimorfiziminin GG genotipine sahip bireylerde yararlanılabilir D vitamini seviyesi ortalaması $2,35 \pm 1,03$ iken GT ve TT genotiplerine sahip bireylerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük seviyelere rastlanmıştır (sırasıyla $1,43 \pm 0,83$ ve $1,27 \pm 0,65$). GT genotipli heterozigot bireyler ile TT homozigot bireyler arasında yararlanılabilir D vitamini açısından fark görülmezken GG homozigot bireyler ile anlamlı fark görülmüştür. GG genotipli bireylerin plazma 25(OH)D konsantrasyonları ile yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonlarının karşılaştırılması sonucunda 25(OH)D düzeyleri düşük olan bireylerin tümünde yararlanılabilir D vitamininin de 2 ng/ml'in altında olduğu görülmüştür. Ancak GT veya TT genotipli bireylerin 25(OH)D düzeyleri düşük olanlarının çoğunda, yararlanılabilir D vitamininin de 2 ng/ml'in altında olduğu fakat birer bireyde (sırasıyla %4 ve %10)

yararlanılabilir D vitamini yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu da T alleleline sahip bireylerde klinik olarak ölçülen 25(OH)D düzeylerinin yararlanılabilir D vitamini düzeyleriyle her zaman örtüşmediğini göstermektedir.

Çalışmamızda rs4588 polimorfizimine sahip bireylerden heterozigot olanlarda (AC) 25(OH)D, serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamini seviyeleri homozigot olan bireylere kıyasla (CC) anlamlı derecede düşük bulunmuştur. AA genotipli birey sayısı 1 olduğu için plazma 25(OH)D konsantrasyonları ile yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları istatistiksel olarak karşılaştırılamamıştır. Ancak bu bireyin klinikte plazma 25(OH)D düzeyi düşük olmasına rağmen yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonunun normal olduğu görülmüştür. Buradan her 25(OH)D konsantrasyonu düşük olan bireyin D vitamin takviyesi almasına gerek olmadığı anlaşılmaktadır. AC genotipli bireylerin 25(OH)D düzeyleri düşük olanların (%51,9) çoğunda (%48,1), yararlanılabilir D vitamininin de 2 ng/ml'in altında olduğu fakat bir bireyde yüksek olduğu (%3,7) bulunmuştur. Buna karşın CC genotipli bireylerin 25(OH)D düzeyleri düşük olanların tümünün yararlanılabilir D vitamini konsantrasyonları da düşük bulunmuştur. Bu da C alleleline sahip bireylerde klinik olarak ölçülen 25(OH)D düzeylerinin, yararlanılabilir D vitamini düzeyleriyle her zaman örtüşmediğini göstermektedir.

Çalışmamıza göre rs7041 GT genotipinin, Türk toplumunda en sık görülen genotip (%50) olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu genotipe sahip bireylerin %61'inin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük gibi görünmesine rağmen %33'ünün serbest D vitaminleri normaldir. GG genotipine sahip bireylerin %31,25'nin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük gibi görünmesine rağmen aslında serbest D vitaminlerine bakıldığında sadece %6'sının düşük olduğu gözlenmektedir. TT genotipine sahip bireylerin %60'nın plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük iken, serbest D vitamin seviyeleri sadece %2'sinde düşük olarak görülmektedir.

rs4588 AA genotipine sahip bir bireyin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük olarak tespit edilmesine rağmen serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamin seviyesi normal düzeylerdedir.. AC genotipine sahip bireylerin %52'sinin plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük gözlenmesine rağmen, serbest D vitamin seviyesinin %30'unda düşük olduğu kaydedilmiştir. CC genotipine sahip bireylerin %48'inin plazma 25(OH)D

konsantrasyonu düşük gözlenmesine rağmen serbest D vitamin seviyesinin %8’inde düşük olduğu göze çarpmaktadır. Tüm genotiplerde plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük görünen birey sayısının, serbest D vitamini konsantrasyonları incelendiğinde azaldığı tespit edilmiştir. Bu da aslında klinik olarak ölçüldüğünde neden bu kadar yaygın D vitamini düşüklüğü tanısı konduğunu açıklamaktadır. Aslında bireylerde aktif form olan 1,25(OH)2D’nin oluşmasında asıl etkili olan serbest D vitamininin incelenmesi, bu kadar yaygın D vitamini eksikliği tanısının önüne geçebilir. Ayrıca D vitamini eksikliği olduğu sanılan bireylerde kullanılan D vitamini artan DBP ile bağlandığı için D vitamini takviyesi gereksiz yere verilmektedir. Türk toplumunda böyle bir çalışmanın ilk defa yapılıyor olması önem arz etmektedir ve bu sebeple sonuçlarımız literatüre göre diğer toplumlar ile kıyaslanabilse de Türk popülasyonundaki herhangi bir veri ile kıyaslanamamaktadır.

Fenotipler ile ilgili çalışmalara bakıldığında ise, Norveç’te 11 000 kişiyle yapılan geniş bir çalışmada Gc1s/1s, Gc1s/1f ve Gc1f/1f fenotiplerine sahip bireylerde plazma 25(OH)D düzeyleri ortalamaları fenotiplere göre sırayla $55,4 \pm 16,8$ nmol/L, $53,3 \pm 17,2$ nmol/L ve $52,2 \pm 16,8$ nmol/L gibi yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Jorde ve ark. 2015). Gc1s/2, Gc1f/2 ve Gc2/2 fenotiplerinin ise sırasıyla $50,5 \pm 16,3$ nmol/L, $50,3 \pm 15,6$ nmol/L ve $46,9 \pm 15,1$ nmol/L gibi düşük seviyede olduğu kaydedilmiştir. Çalışmamızda bu değerlere nazaran oldukça düşük 25(OH)D düzeylerine rastlandı. Gc1s/1s, Gc1s/1f ve Gc1f/1f fenotiplerinde 25(OH)D düzeyleri ortalamaları sırasıyla $27,69 \pm 13,7$ ng/ml, $17,27 \pm 4,3$ ng/ml ve $24,26 \pm 13,0$ ng/ml olarak tespit edildi ve bu değerler arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak Gc1s/1f ve Gc1f/2 fenotiplerinde ortalamalar anlamlı derecede düşerek $16,48 \pm 9,4$ ng/ml ve $13,10 \pm 6,5$ ng/ml olarak kaydedildi. Bu da rs7041 polimorfizimlerinden bağımsız olarak rs4588 polimorfiziminde görülen heterojenisite plazmadaki D vitamini düzeyleri ve hatta serbest D vitamini düzeylerinin düşüklüğüyle ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızda SNP’lere ait fenotipler incelendiğinde Gc1s/1s fenotipli bireylerin %31,25’inin plazma D vitamini düzeyleri düşük olduğu halde, sadece %6,25’inin serbest D vitamini düzeylerinin düşük olduğu gözlenmiştir. Gc1s/1f ve Gc1f/1f fenotipli bireyler arasında plazma D vitamini düzeyleri düşük olanların oranı sırasıyla %71,43 ve %66,67 olduğu halde tamamının serbest D vitamini düzeylerinin normal olduğu saptanmıştır. Gc1s/2 fenotipine sahip bireylerden %55,56’sının plazma D vitamini düzeyleri düşük

olduğu halde %33,34'ünün serbest D vitamini düzeylerinin düşük olduğu kaydedilmiştir. Gc1f/2 fenotipine sahip bireylerde plazma D vitamini düşük olanların yüzdesi %57,15 iken serbest D vitamini düşük olanların yüzdesi %28,58 olarak bulunmuştur. Tüm fenotiplerde, genotiplerde olduğu gibi plazma 25(OH)D konsantrasyonu düşük görünen birey sayıları, serbest D vitaminine bakıldığında azalmaktadır. Bu çalışmaya göre popülasyonda D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)2D'nin oluşmasında asıl etkili olan serbest D vitamini düzeylerine bakılırsa bu kadar yaygın D vitamini eksikliği görülmeyecektir. Ayrıca D vitamini eksikliği olduğu sanılan bireylerde, Gc geni polimorfizmlerine göre vitaminin DBP'e bağlanmasında farklılıklar doğabileceği için serbest D vitamini ve yararlanılabilir D vitamin düzeyleri incelenerek D vitamininin gereksiz yere kullanımı engellenebilir.

Ayrıca Gc geninde yaygın olarak çalışılan rs7041 ve rs4588 polimorfizmleri toplumlara göre değişkenlik göstermektedir. Bu SNP'ler ile plazma 25(OH)D konsantrasyonları arasındaki ilişkiler daha önce İskandinav enlemlerinde yaşayan çocuklarda araştırılmış ve genotipler arasında plazma 25(OH)D konsantrasyonlarında anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Pekkinen ve ark. 2014, Nissen ve ark. 2014b).

Khanna ve ark. 2019 yılında yayınladıkları bir sistematik derleme ve metaanalizinde Gc lokusunun genetik yapısını araştırarak allelik heterojenisiteyle vitamin D metabolizması ve transportu arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalışmıştır (Khanna ve ark. 2019). rs4588 ve rs7041 arasındaki allel frekanslarındaki farklılıkların farklı popülasyonlarda, popülasyona spesifik önemli genetik katkılarda bulunduğunu kaydetmişlerdir. Bu iki kritik varyant arasındaki majör farklılıkların, farklı haplotip frekanslarına neden olduğu ve Japonlarda ve Afrikalılarda herhangi bir haplotipin bulunmamasına yol açtığını belirtmişlerdir. Özellikle ABD'deki Gujarati Kızılderililerinin allel frekanslarının AA, AC ve CC genotipleri için sırasıyla %6,9, %49,5 ve %43,6 olması bu popülasyonda AC genotipinin CC genotipinden fazla bulunduğunu ortaya koymaktadır. Ancak Avrupa, Çin, Japon, Afrika, Meksika popülasyonlarında CC genotipi diğerlerine göre daha baskındır ve AA genotipi genel olarak nadirdir. Bu belki de farklı haplotiplerin, farklı etnik popülasyonlarla ilişkili olduğunu gösterir ve eğer varsa yeni alelleri veya haplotipleri ortaya çıkarmak için daha büyük ölçekli genetik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Genel eğilim, Avrupa ve Amerikan yerlileri arasındaki nispi benzerliği ve Japon ve Afrikalılar arasındaki belirgin

farklılıkları göstermektedir. Gc geninin farklı alelik düzenlemeleri, izoelektrik noktalarında ve D3 vitaminine bağlanma etkinliklerinde farklılık gösteren farklı Gc varyantlarına yol açar (Speeckaert ve ark. 2006). Ayrıca, farklı popülasyonlarda bulunan rs4588 ve rs7041 SNPleri, Gc genindeki farklı regülatör ve yapısal SNP setlerini (haplotiplerde) etiketleyebilir ve böylece Gc proteininin ekspresyonunu ve fonksiyonunu düzenlemede kritik rol oynayabilir (Khanna ve ark. 2019).

Çalışmadan elde ettiğimiz diğer bir bulgu ise toplumlara göre değişkenlik gösteren DBP polimorfizmlerinin Türk toplumunun diğer popülasyonlar ile benzerliğini ortaya koymaktadır. Bizim sonuçlarımıza göre rs7041'e ait GG, GT ve TT allel dağılımları sırasıyla %31 ve %49 ve %20 ve rs4588'e ait CC, AC ve AA allel dağılımları ise sırasıyla %45, %53 ve %2'dir. Powe'nin 2011 yılında yapmış olduğu çalışmaya göre rs4588 polimorfizminde AA genotipinin siyahlarda en çok bulunan genotip olması, çalışmamızdaki Türkler arasında az sıklıkta bulunmasını destekler niteliktedir. Petersen ve arkadaşlarının diğer önemli bulguları ise Avrupa popülasyonunda rs7041'e ait GG, GT ve TT allel dağılımlarının sırasıyla %33, %46 ve %21 ve rs4588'e ait CC, AC ve AA allel dağılımlarının ise sırasıyla %51, %41 ve %8 olmasıdır (Petersen ve ark. 2017). Bizim bulgularımız da Türk popülasyonunun rs7041 SNP'si açısından Avrupa popülasyonuna benzerliğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda Türk popülasyonundaki rs4588 SNP'sinin allel frekansları AC genotipi sıklığının CC genotipinden fazla oranda bulunan tek popülasyon olan Gujarati Kızılderililerinin allel frekanslarıyla benzerlik göstermiştir. Literatüre uyumlu şekilde AA genotipinin sadece bir bireyde görülmesi göz önünde bulundurularak Türk popülasyonunda rs4588 SNP'sinin heterojenisitesinin yüksek olduğu söylenebilir. Tezin bu bulguları Türk toplumunda DBP polimorfizmlerinin diğer toplumlara olan benzerliğini ilk defa ortaya konulmuş olması bakımından önem arz etmektedir.

Aslında bu çalışmada katılımcıların çoğunun kontrol (check-up) için başvuran bireylerden oluşması ve D vitamin düzeylerinin düşüklüğü ile fenotipler arasındaki ilişkinin saptanması amaçlandığı için 25(OH)D düzeyleri ortalamalarının fenotipler arasında farklılık göstermesi olağandır. 25(OH)D ile ilişkilendirilen hastalıklarda "yorumlanması zor" ve "ilgili çalışmalarının çoğunun yetersiz güçte olması ve çoklu karşılaştırmalarda başarısız olduğu" sonucuna varılan hastalıklar, belki de serbest D vitamini düzeyleri ile ilişkilendirilebilecektir. Sonraki çalışmalarda DBP varyantlarıyla

serbest D vitamini hesaplanarak ve farklı hastalıklar ile olan ilişkilerinin çalışılmasının gerekliliğini düşünmekteyiz.

Genotipik farklılıkların D vitamini ile ilişkili sağlık sorunlarını araştıran daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. Çünkü özellikle ülkemizde çok yaygın bir şekilde D vitamini kullanımı mevcuttur ve yıllar geçtikçe bu bilinçsiz tüketim giderek artmaktadır. Türk popülasyonunda bireylerin genetik yapısına göre yani Gc geninin varyantlarına göre aşırı D vitamini tüketiminin azaltılabileceğini düşünmekteyiz. Bunun klinik olarak araştırılması ve halk sağlığı ile ilişkisinin ortaya konması için, genel genetik varyantların düşük plazma 25(OH)D konsantrasyonları ile ilişkili olup olmadığı konusu irdelenmelidir. Farklı toplumlar ile benzerliğimizin ortaya konulması ve serbest D vitamini ile plazma D vitamini kıyaslamalarının yapılabilmesi için daha fazla katılımcı ile yapılacak çalışmalara, Türklerin farklı bölgelerinde yaşayan bireyler arasında ve hatta Türkler ile farklı toplumlardan bireyler arasında kıyaslanarak geniş çaplı veriler üzerinde ilişkilendirme analizlerine ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akman, A.Ö. (2009). *1 - 16 Yaş Arası Çocuklarda D Vitamini Düzeyi ve Buna Etki Eden Faktörlerin Belirlenmesi* (Uzmanlık tezi). Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye.
- Akpınar, P. ve İçağasıoğlu, A. (2012). D Vitamininin Yaşam Kalitesi İle İlişkisi. *Turkish Journal of Osteoporosis / Turk Osteoporoz Dergisi*, 18(1), 0-0.
- Aloia, J., Mikhail, M., Dhaliwal, R., Shieh, A., Usera, G., Stolberg, A., ve ark. (2015). Free 25(OH)D and the Vitamin D Paradox in African Americans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(9), 3356-63.
- Anic, G.M., Weinstein, S.J., Mondul, A.M., Männistö, S., ve Albanes, D. (2014). Plazma vitamin D, vitamin D binding protein, and risk of colorectal cancer. *PLoS ONE*, 9(7), e102966.
- Antico, A., Tozzoli, R., Giavarina, D., Tonutti, E. ve Bizzaro, N. (2012). Hypovitaminosis D as predisposing factor for atrophic type a gastritis: A case-control study and review of the literature on the interaction of vitamin D with the immune system. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 42(3), 355-364.
- Arnaud, J. ve Constans, J. (1993). Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human plasma carrier protein (DBP). *Human Genetic*, 92, 183–188.
- Askew, F.A., Bourdillon, R.B., Bruce, H.M., Jenkins, R.G.C. ve Webster, T.A. (1930). The Distillation of Vitamin D. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 107, 76-90.
- Ataş, A., Çakmak, A. ve Soran, M. (2008). D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 4, 1-7.
- Balion, C., Griffith, L.E., Strifler, L., Henderson, M., Patterson, C., Heckman, G., ve ark. (2012). Vitamin D, cognition, and dementia: a systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 79(13), 1397–1405.
- Barake, M., Daher, R.T., Salti, I., Cortas, N.K., Al-Shaar, L., Habib, R.H. ve ark. (2012). 25-Hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical decision making. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97, 835-843.

- Belkız, Ö., Ceyda, K. ve Zuhal, P. (2008). D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 6, 23-31.
- Bhagavan, N.V. ve Ha, C.E. (2011). Chapter 16- Vitamin Metabolism. İçinde Bhagavan, N.V. ve Ha, C.E. (Eds), *Essentials of Medical Biochemistry*. Academic Press; 503-515.
- Bhan, I., Powe, C.E., Berg, A.H., Ankers, E., Wenger, J.B., Karumanchi, S.A. ve ark. (2012). Bioavailable vitamin D is more tightly linked to mineral metabolism than total vitamin D in incident hemodialysis patients. *Kidney International*, 82, 84-89.
- Bikle, D.D., Gee, E., Halloran, B. ve Haddad, J. G. (1984). Free 1,25-dihydroxyvitamin D levels in plazma from normal subjects, pregnant subjects, and subjects with liver disease. *Journal of Clinical Investigation*, 74(6), 1966-1971.
- Bikle, D.D., Nemanic, M.K., Gee, E. ve Elias, P. (1986). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ production by human keratinocytes. Kinetics and regulation. *Journal of Clinical Investigation*, 78(2), 557-566.
- Bikle, D.D. ve Gee, E. (1989). Free, and not total, 1, 25-dihydroxyvitamin d regulates 25-hydroxyvitamin d metabolism by keratinocytes. *Endocrinology*, 124(2), 649-654.
- Bikle, D.D. ve Schwartz, J. (2019). Vitamin D binding protein, total and free Vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 317.
- Bischoff-Ferrari, H.A., Dietrich, T., Orav, E.J., Hu, F.B., Zhang, Y., Karlson, E.W. ve ark. (2004). Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged ≥ 60 y. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(3), 752-8.
- Boland, R. (1986). Role of vitamin D in skeletal muscle function. *Endocrine Reviews*, 7(4), 434-48.
- Bouillon, R. (2011). The vitamin D binding protein DBP. İçinde Feldman, D. ve Adams HJ.S. (Eds.), *Vitamin D*. (3rd ed.). Academic Press; 57-72.
- Braithwaite, V. S., Jones, K.S., Schoenmakers, I., Silver, M., Prentice, A. ve Hennig, B.J. (2015). Vitamin D binding protein genotype is associated with plasma 25OHD concentration in West African children. *Bone*, 74, 166-170.

- Burgaz, A., Orsini, N., Larsson, S.C. ve Wolk, A. (2011). Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: A meta-analysis. *Journal of Hypertension*, 29, 636-645.
- Cauley, J.A., Lui, L.Y., Ensrud, K.E., Zmuda, J.M., Stone, K.L., Hochberg, M.C. ve ark. (2005). Bone mineral density and the risk of incident nonspinal fractures in black and white women. *Journal of the American Medical Association*, 293(17), 2102–2108.
- Cheng, J.B., Motola, D.L., Mangelsdorf, D.J. ve Russell, D.W. (2003). De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *The Journal of biological chemistry*, 278(39), 38084-93.
- Chishimba, L., Thickett, D.R., Stockley, R.A., Wood, A.M. (2010). The vitamin D axis in the lung: a key role for vitamin D-binding protein. *Thorax*, 65, 456–462.
- Christensen, E.I. ve Birn, H. (2002). Megalin and cubilin: multifunctional endocytic receptors. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 3(4), 256-66.
- Chun, R.F., Hernandez, I., Pereira, R., Swinkles, L., Huijs, T., Zhou, R. ve ark. (2016). Differential responses to vitamin D2 and Vitamin D3 Are Associated with variations in free 25-Hydroxyvitamin D. *Endocrinology*, 157, 3420-3430.
- Chun, R.F., Lauridsen, A.L., Suon, L., Zella, L.A., Pike, J.W., Modlin, R L. ve ark. (2010). Vitamin D-binding protein directs monocyte responses to 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95, 3368–3376.
- Chun, R.F. ve Nielson, C.M. (2018). Chapter 51- Free Vitamin D: Concepts, Assays, Outcomes, and Prospects. İçinde Feldman, D. (Ed.), *Vitamin D*. (4th ed.). Academic Press; 925-937.
- Chun, R.F., Peercy, B.E., Orwoll, E.S., Nielson, C.M., Adams, J.S. ve Hewison, M. (2014). Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 144, 132-137.
- Cleve, H. ve Constans, J. (1988). The Mutants of the Vitamin-D-Binding Protein: More than 120 Variants of the GC/DBP System. *Vox Sanguinis*, 54, 215-25.
- Cooke, N.E., McLeod, J.F., Wang, X. ve Ray, K. (1991). Vitamin D binding protein:

- Genomic structure, functional domains, and mRNA expression in tissues. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 40, 787-793.
- Cross, H.S., Peterlik, M., Reddy, G.S. ve Schuster, I. (1997). Vitamin D metabolism in human colon adenocarcinoma-derived Caco-2 cells: Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase activity and regulation of side chain metabolism. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 62, 21-28.
- Dayangaç, D. (2002). Sağlıklı Türk Populasyonunda Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizm Analizi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 27(1), 11–16.
- DeLuca, H. F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6 Suppl), 1689S-96S.
- Dunn, P. (1998). Francis Glisson (1597-1677) and the "discovery" of rickets. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 78(2), F154-5.
- Durak, Ş. (2018). *Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizmlerin İncelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Engelman, C.D., Fingerlin, T.E., Langefeld, C.D., Hicks, P.J., Rich, S.S., Wagenknecht, L.E., ve ark. (2008). Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in hispanic and African Americans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(9):3381–3388.
- Engelman CD, Meyers KJ, Iyengar SK, Liu, Z., Karki, C.K., Igo R.P. Jr. ve ark. (2013). Vitamin D intake and season modify the effects of the GC and CYP2R1 genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *The Journal of Nutrition*, 143, 17–26.
- Farrell, C.J.L., Martin, S., McWhinney, B., Straub, I., Williams, P. ve Herrmann, M. (2012). State-of-the-art vitamin D assays: A comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *Clinical Chemistry*, 58, 531-542.
- Fathi, N., Ahmadian, E., Shahi, S., Roshangar, L., Khan, H., Kouhsoltani, M., ve ark. (2019). Role of vitamin D and vitamin D receptor (VDR) in oral cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 109, 391-401.
- Feldman, D., Krishnan, A.V., Swami, S., Giovannucci, E. ve Feldman, B.J. (2014). The

- role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature reviews. Cancer*, 14(5), 342-57.
- Feskanich, D., Ma, J., Fuchs, C.S., Kirkner, G.J., Hankinson, S.E., Hollis, B.W., ve ark. (2004). Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 13(9),1502-8.
- Fidan, F., Alkan, B.M. ve Tosun, A. (2014). Çağın pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği Pandemic Era: Vitamin D Deficiency and Insufficiency. *Türk Osteoporoz Dergisi*, 20, 71-74.
- Furtado, S., Payami, H., Lockhart, P.J., Hanson, M., Nutt, J.G., Singleton, A.A. ve ark. (2004). Profile of families with parkinsonism-predominant spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Movement Disorders*, 19, 622-629.
- García-Layana, A., Cabrera-López, F., García-Arumí, J., Arias-Barquet, L. ve Ruiz-Moreno, J.M. (2017). Early and intermediate age-related macular degeneration: Update and clinical review. *Clinical Interventions in Aging*, 12, 1579-1587.
- Gerdhem, P., Ringsberg, K.A.M., Obrant, K.J. ve Akesson, K. (2005). Association between 25-hydroxy vitamin D levels, physical activity, muscle strength and fractures in the prospective population-based OPRA Study of Elderly Women. *Osteoporosis International*, 16, 1425.
- Gilbert, R., Metcalfe, C., Fraser, W.D., Donovan, J., Hamdy, F., Neal, D.E., ve ark. (2012). Associations of circulating 25-hydroxyvitamin D with prostate cancer diagnosis, stage and grade. *International Journal of Cancer*, 131(5), 1187-96.
- Giovannucci, E. (2005). The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). *Cancer Causes & Control*, 16(2),83-95.
- Goldblatt, H. ve Soames, K.M. (1923). A Study of Rats on a Normal Diet Irradiated daily by the Mercury Vapour Quartz Lamp or kept in Darkness. *Biochemical Journal*, 17 (2), 294-297.
- Haddad, J.G. (1995). Plasma vitamin D-binding protein (Gc-globulin): Multiple tasks. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 53, 579-582.
- Hamilton, B. (2011). Vitamin D and athletic performance: The potential role of muscle. *Asian Journal of Sports Medicine*, 2(4), 211-219.

- Hannan, M.T., Litman, H.J., Araujo, A.B., McLennan, C.E., McLean, R.R., McKinlay, J.B., Chen, T.C. ve Holick, M.F. (2008). Plazma 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density in a racially and ethnically diverse group of men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1(1), 40-46.
- Hatun, Ş., Bereket, A., Çalikoğlu, A.S. ve Özkan, B. (2003). Günümüzde D vitamini yetersizliği ve nütrisyonel rikets. *Cocuk Sagligi ve Hastaliklari Dergisi*, 46, 224-241.
- Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Haussler, C.A., Hsieh, J.C. ve Jurutka, P.W. (2011). Chapter 8-Nuclear vitamin D receptor: Natural ligands, molecular structure-function, and transcriptional control of vital genes. İçinde Feldman, D. ve Adams HJ.S. (Eds.), *Vitamin D*. (3rd ed.). Academic Press; 137-170.
- Hess, A.F. ve Gutman, M.B. (1922). The cure of infantile rickets by sunlight accompanied by an increase in the inorganic phosphate of the blood. *The Journal of the American Medical Association*, 78, 29-31.
- Hirschfeld, J. (1959). Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 47, 160-168.
- Holick, M.F. (2006). High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proceedings*, 81(3), 353-73.
- Holick, M.F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3), 266-81.
- Holick, M.F. (2012). Vitamin D: Extraskkeletal Health. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 38(1), 141-60.
- Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P. ve ark. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(7), 1911-1930.
- Holick, M.F. ve Chen, T.C. (2008). Vitamin D deficiency: A worldwide problem with health consequences. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87(4), 1080S-6S.
- Hu, F.B., Meigs, J.B., Li, T.Y., Rifai, N. ve Manson, J.A.E. (2004). Inflammatory markers

- and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes*, 53, 693-700.
- Janssens, W., Bouillon, R., Claes, B., Carremans, C., Lehouck, A., Buysschaert I., ve ark. (2010). Vitamin D deficiency is highly prevalent in COPD and correlates with variants in the vitamin D-binding gene. *Thorax*, 65, 215–220.
- Jorde, R., Schirmer, H., Wilsgaard, T., Bøgeberg Mathiesen, E., Njølstad, I., Løchen, M.L., ve ark. (2015). The DBP Phenotype Gc-1f/Gc-1f is associated with reduced risk of cancer. The Tromsø Study. *PLoS One*, 10(5),e0126359.
- Kendrick, J., Targher, G., Smits, G. ve Chonchol, M. (2009). 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*, 205, 255-260.
- Khanna, R., Nandy, D., Senapati, S. (2019). Systematic Review and Meta-Analysis to Establish the Association of Common Genetic Variations in Vitamin D Binding Protein With Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Frontiers in Genetics*. 10, 413.
- Kim, J.S., Kim, Y.I., Song, C., Yoon, I., Park, J.W., Choi, Y.B. ve ark. (2005). Association of vitamin D receptor gene polymorphism and Parkinson's disease in Koreans. *Journal of Korean Medical Science*, 20, 495-498.
- Kjærgaard, M., Waterloo, K., Wang, C.E., Almås, B., Figenschau, Y., Hutchinson, M.S., ve ark. (2012). Effect of vitamin D supplement on depression scores in people with low levels of plasma 25-hydroxyvitamin D: nested case-control study and randomised clinical trial. *The British journal of psychiatry*, 201(5), 360-8.
- Koszewski, N.J., Herberth, J. ve Malluche, H.H. (2010). Retinoic acid receptor gamma 2 interactions with vitamin D response elements. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 120, 200-207.
- Krause, R., Bühring, M., Hopfenmüller, W., Holick, M.F. ve Sharma, A.M. (1998). Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet*, 352, P709-710.
- Krishnan, A.V., Peehl, D.M. ve Feldman, D. (2003). Inhibition of prostate cancer growth by vitamin D: Regulation of target gene expression. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88, 363-371.
- Lamprecht, S.A. ve Lipkin, M. (2003). Chemoprevention of colon cancer by calcium,

- vitamin D and folate: Molecular mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 3, 601-614.
- Liao, E.P. (2018). Vitamin D and Diabetes. İçinde Liao, E. (Ed.), *Extraskeletal Effects of Vitamin D. Contemporary Endocrinology*. Humana Press, Cham; 135-149.
- Lv, Z., Tang, B., Sun, Q., Yan, X. ve Guo, J. (2012). Association study between vitamin D receptor gene polymorphisms and patients with parkinson disease in Chinese han population. *International Journal of Neuroscience*, 123, 60-64.
- McCollum, E.V., Simmonds, N., Becker, J.E. ve Shipley, P.G. (1922). An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *The Journal of Biological Chemistry*, 53, 293-312.
- McGrath, J. (2001). Does 'imprinting' with low prenatal vitamin D contribute to the risk of various adult disorders? *Medical Hypotheses*. 56(3), 367-71.
- Mendel, C.M. (1989). The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model. *Endocrine Reviews*, 10, 232-274.
- Mondul, A.M., Weinstein, S.J., Virtamo, J. ve Albanes, D. (2012). Influence of vitamin D binding protein on the association between circulating vitamin D and risk of bladder cancer. *British Journal of Cancer*, 107, 1589-1594.
- Mosekilde, L. (2005). Vitamin D and the elderly. *Clinical Endocrinology*, 62, 265-281.
- Możowski, W. (1939). Jaccaron;drzej Sniadecki (1768–1838) on the Cure of Rickets. *Nature*, 143, 121.
- Muir, S.W. ve Montero-Odasso, M. (2011). Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59, 2291-2300.
- Munger, K.L., Åivo, J., Hongell, K., Soilu-Hänninen, M., Surcel, H.M. ve Ascherio, A. (2016). Vitamin D Status During Pregnancy and Risk of Multiple Sclerosis in Offspring of Women in the Finnish Maternity Cohort. *JAMA neurology*, 73(5), 515–519.
- Nissen, J., Rasmussen, L.B., Ravn-Haren, G., Andersen, E.W., Hansen, B., Andersen, R., ve ark. (2014a). Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults. *PLOS ONE*, 9, e89907.

- Nissen, J., Vogel, U., Ravn-Haren, G., Andersen, E.W., Nexø, B.A., Andersen, R., ve ark. (2014b). Real-life use of vitamin D3-fortified bread and milk during a winter season: the effects of CYP2R1 and GC genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations in Danish families, the VitmaD study. *Genes & Nutrition*, 9, 413.
- Ozfirat, Z. ve Chowdhury, T.A. (2010). Vitamin D deficiency and type 2 diabetes. *Postgraduate Medical Journal*, 86,18-25.
- Ozkan, B. ve Doneray, H. (2011). The non-skeletal effects of vitamin D. *Cocuk Sagligi ve Hastaliklari Dergisi*, 54, 99-119.
- Pekkinen, M., Saarnio, E., Viljakainen, H.T., Kokkonen, E., Jakobsen, J., Cashman, K., ve ark. (2014). Vitamin D binding protein genotype is associated with plazma 25-hydroxyvitamin D and PTH concentrations, as well as bone health in children and adolescents in Finland. *PLoS One*, 9(1), e87292.
- Petersen, R.A., Larsen, L.H., Damsgaard, C.T., Sørensen, L.B., Hjorth, M.F., Andersen, R., ve ark. (2017). Common genetic variants are associated with lower plazma 25-hydroxyvitamin D concentrations across the year among children at northern latitudes. *British Journal of Nutrition*, 117(6), 829-838.
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Drechsler, C. ve De Boer, R.A. (2011). Vitamin D deficiency and heart disease. *Kidney International Supplements*, 1, 111-115.
- Ponsonby, A.L., McMichael, A. ve van der Mei, I. (2002). Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology*. 181-182, 71-8.
- Powe, C.E., Evans, M.K., Wenger, J., Zonderman, A.B., Berg, A.H., Nalls, M. ve ark. (2013). Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *The New England Journal of Medicine*. 369(21), 1991-2000.
- Powe, C.E., Ricciardi, C., Berg, A.H., Erdenesanaa, D., Collerone, G., Ankers, E., ve ark. (2011). Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26, 1609-1616.
- Reginato, A.J., Falasca, G.F., Pappu, R., McKnight, B. ve Agha, A. (1999). Musculoskeletal manifestations of osteomalacia: Report of 26 cases and literature review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 28, 287-304.

- Ross, A.C., Manson, J.A.E., Abrams, S.A., Aloia, J.F., Brannon, P.M., Clinton, S.K. ve ark. (2011). The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: What clinicians need to know. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96, 53-58.
- Roth, D., Shah, R., Black, R. ve Baqui, A. (2010). Vitamin D status and acute lower respiratory infection in early childhood in Sylhet, Bangladesh. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 99, 389-393.
- Safadi, F.F., Thornton, P., Magiera, H., Hollis, B.W., Gentile, M., Haddad, J.G., ve ark. (1999). Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *Journal of Clinical Investigation*, 103(2), 239-251.
- Shaw, N.J. ve Pal, B.R. (2002). Vitamin D deficiency in UK Asian families: Activating a new concern. *Archives of Disease in Childhood*, 86, 147-149.
- Sinotte, M., Diorio, C., Bérubé, S., Pollak, M. ve Brisson, J. (2009). Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(2), 634-640.
- Snellman, G., Melhus, H., Gedeberg, R., Olofsson, S., Wolk, A., Pedersen, N.L., ve ark. (2009). Seasonal genetic influence on plasma 25-hydroxyvitamin D levels: a twin study. *PLoS One*, 4(11), e7747.
- Sözen, T. (2011). D hormonu: Güncel gelişmeler. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 42, 14-27.
- Speeckaert, M., Huang, G., Delanghe, J.R. ve Taes, Y.E.C. (2006). Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica Chimica Acta*, 372, 33-42.
- Stolzenberg-Solomon, R.Z., Vieth, R., Azad, A., Pietinen, P., Taylor, P.R., Virtamo, J., ve ark. (2006). A prospective nested case-control study of vitamin D status and pancreatic cancer risk in male smokers. *Cancer Research*, 66(20), 10213-9.
- Tsiaras, W.G. ve Weinstock, M.A. (2011). Factors influencing vitamin D status. *Acta Dermato-Venereologica*, 91, 115-124.
- Tsuprykov, O., Chen, X., Hoher, C.F., Skoblo, R., Lianghong Y. ve Hoher, B. (2018). Why should we measure free 25(OH) vitamin D? *Journal of Steroid Biochemistry*

- and Molecular Biology*, 180, 87-104.
- Valdivielso, J.M. ve Fernandez, E. (2006). Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta*, 371, 1-12.
- Vieth, R. (2005). Chapter 61-The Pharmacology of Vitamin D, Including Fortification Strategies. İçinde Feldman, D. (Ed.), *Vitamin D*. (2nd ed.). Academic Press; 995-1015.
- Wacker, M. ve Holiack, M.F. (2013a). Vitamin D-effects on skeletal and extraskkeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*, 5(1), 111-148.
- Wacker, M. ve Holick, M.F. (2013b). Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermato-Endocrinology*, 5:1, 51-108.
- Walbert, T., Jirikowski, G.F. ve Prüfer, K. (2001). Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the limbic system of the rat. *Hormone and Metabolic Research*, 33, 525-531.
- Wang, L., Song, Y., Manson, J.A.E., Pilz, S., März, W., Michaëlsson, K. ve ark. (2012). Circulating 25-Hydroxy-Vitamin D and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of prospective studies. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 5, 819-829.
- Windaus, A. ve Bock, F. (1936). Über das Provitamin aus dem Sterin der Schweineschwarte. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift Fur Physiologische Chemie*, 245, 168-170.
- Wood A.M., Bassford C., Webster D., Newby P., Rajesh P., Stockley R.A., ve ark. (2011). Vitamin D-binding protein contributes to COPD by activation of alveolar macrophages. *Thorax*, 66, 205–210.
- Zipitis, C.S. ve Akobeng, A.K. (2008). Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Disease in Childhood*, 93, 512-517.

ETİK KURUL KARARI

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu

27.11.2017

Sayın: Lütfiye Karcıoğlu Batur

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu yapılan inceleme sonucunda **Türk toplumunda Vitamin D Bağlayıcı Protein Genotipi ve Plazma 25 OH D Konsantrasyonu ile İlişkisi** isimli araştırmanızın kurulumuzun 27.11.2017 tarihli toplantısında etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.



Etik Kurul Başkanı
Prof.Dr.Can Polat EYİGÜN

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

TÜRK TOPLUMUNDA VİTAMİN D BAĞLAYICI PROTEİN
GENOTİPİ VE PLAZMA 25 OH D KONSANTRASYONU İLE
İLİŞKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 17	% 7	% 5	% 15
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Giresun Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 6
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	% 1
4	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	% 1
5	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
6	Submitted to Beykent Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
7	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Lutfiye	Soyadı	Karcıoğlu Batur
Doğ.Yeri	Elbistan	Doğ.Tar.	05/07/1987
Uyruğu	TC	TC Kim No	416*****42
Email	biyolut@hotmail.com	Tel	5334806016

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi/ Tıbbi Biyoloji	2019
Yük.Lis.	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi/ Biyoloji	2011
Lisans	Celal Bayar Üniversitesi/ Biyoloji	2009
Lise	Mükremin Halil Süper Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Öğretim Görevlisi	Biruni Üniversitesi	2015-
2.	Kariyer Merkezi Müdürü	Biruni Üniversitesi	2016-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	IELTS
İngilizce	İyi	İyi	İyi	66 (Eşdeğer)	4,5

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayınları:

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Aygan A., Karcıoğlu L. and Arikan B. (2011) Alkaline thermostable and halophilic endoglucanase from *Bacillus licheniformis* C108, *African Journal of Biotechnology* Vol., 10(5),789-796.

Karcıoğlu L., Tanış H. , Çömlekçioğlu N., Dıraz E., Kirecci E., ve Aygan A., (2011). Antimicrobial Activity of *Salvia trichoclada* in Southern Turkey, *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560–8530.

6.2. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Tanış H., Karcıoğlu L., Dıraz E. ve Aygan A., (2010), Kahramanmaraş Bölgesinde Yetişen Işgın (*Rheum ribes* L.)'ın Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 13(2), 1-3.

Aygan A., Karcıoğlu L., Çömlekçioğlu N., Keser S., Battaloğlu G., Tanış H., (2011) Antimicrobial Activity Determination of Dried Pericarp of *Solanum melongena* (Eggplant) Fruit., *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 1(2), 40-44.

Karcıoğlu Batur L., Aygan A., (2015), Kahramanmaraş Topraklarından İzole Edilen *Bacillus* sp. Tarafından Alfa-Amilaz Üretimi ve Karakterizasyonu, *Karaelmas Science & Engineering Journal*, 5(2), 68-74.

