



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 1 DİABETES MELLİTUS TANILI HASTALARDA D VİTAMİNİ VE
VİTAMİN D BAĞLAYICI PROTEİN DÜZEYLERİNİN KEMİK MİNERAL
METABOLİZMASI İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Ceyda DİNÇER YAZAN
UZMANLIK TEZİ**

Danışman: Prof.Dr. Oğuzhan DEYNELİ

İSTANBUL 2016



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 1 DİABETES MELLİTUS TANILI HASTALARDA D VİTAMİNİ VE
VİTAMİN D BAĞLAYICI PROTEİN DÜZEYLERİNİN KEMİK MİNERAL
METABOLİZMASI İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Ceyda DİNÇER YAZAN
UZMANLIK TEZİ**

Danışman: Prof.Dr. Oğuzhan DEYNELİ

İSTANBUL 2016

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın planlanması ve gerçekleşmesinde değerli katkıları nedeniyle sayın hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Oğuzhan DEYNELİ'ye; asistanlık döneminde bizlere çok şey öğreten İç Hastalıkları Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Çetin ÖZENER'e; çalışmamın laboratuvar bölümünde yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı'ından Prof. Dr. Goncagül HAKLAR'a; istatistik değerlendirmeleri için yardımlarından dolayı Prof. Dr. Nural BEKİROĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık ihtisas eğitimim boyunca bana desteklerini esirgemeyen aileme; uzmanlık eğitimi ve tez yazımı sürecinde her zaman destek olan eşime, değerli katkılarından dolayı bölümümdeki hocalarıma; zor ve yorucu anları hem de keyifli zamanları paylaştığımız ve çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan hekim arkadaşlarıma; teşekkürü borç bilirim.

Dr. Ceyda DİNÇER YAZAN

Ağustos 2016

ÖZET

Amaç: D vitamini eksikliğinin metabolik kemik hastalıkları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bizim bu çalışmadaki amacımız, endokrinoloji polikliniğinden takipli tip 1 diabetes mellitus (DM) hastalarının D vitamini düzeyleri, vitamin D bağlayıcı protein düzeylerini değerlendirmek, hesaplanan serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeylerinin kemik mineral metabolizması ve kemik döngü parametreleri ile ilişkisini incelemektir.

Metod: Bu kesitsel çalışmaya kasım 2015- Mart 2016 tarihleri arasında endokrinoloji polikliniğine başvuran 60 tip 1 DM tanılı hasta ve dahiliye polikliniğine başvuran ve bilinen herhangi bir kronik hastalığı olmayan 60 benzer yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksine sahip sağlıklı birey dahil edildi. Poliklinik muayenesi sırasında boy, kilo, bel çevresi ölçümleri yapıldı, diyabet süresi, son 1 senedeki göz muayenesi açısından sorgulandı. 8 saatlik açlık sonrasında 25 hidroksivitamin D (25(OH)D), vitamin D bağlayıcı protein, osteokalsin, kemik alkale fosfat (ALP), c-telopeptid (CTX) için kan alınarak santrifüj edildi ve -20 derecede saklandı, bütün örnekler aynı anda çalışıldı.

Sonuçlar: Tip 1 DM ve kontrol grubu D vitamini açısından değerlendirildiğinde serum 25(OH)D düzeyleri tip 1 DM grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p=0.01$). Tip 1 DM grubunun %63.3'ünün, kontrol grubunun %78'inin D vitamini düzeyi 20 ng/ml'nin altındaydı ve istatistiksel olarak farklı değildi. D vitamini düzeyi 20 ng/ml'nin altında olan grubun parathormon düzeyi anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0.029$). Vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri iki grupta da benzerdi. Serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri, 25(OH)D ile pozitif korelasyon, vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri ile negatif korelasyon gösterdi. Serbest ve biyoaktif D vitamini düzeylerinin serum osteokalsin, CTX, kemik ALP düzeyleri ile olan korelasyonu değerlendirildiğinde, sadece serbest D vitamini ile osteokalsin arasında zayıf korelasyon saptandı ($r=-0.201$), diğerleri ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı. 25(OH)D ile parathormon arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı ($r=-0.294$). Kontrol grubunun serum osteokalsin, kemik alkale fosfat, c-telopeptid düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı.

Yorum: Tip 1 DM hasta grubunun 25(OH)D düzeyleri daha önceki çalışmaların aksine kontrol grubundan daha yüksek saptandı. Bunun sebebi tip 1 DM hasta grubunun daha sık hastane başvurusu, beslenme, giyim alışkanlıkları ile ilgili olabilir. Tip 1 DM grubunda hesaplanan serbest ve biyoaktif D vitamini düzeyleri kemik metabolizması ile ilgili 25(OH)D düzeyine ek bir katkı sağlamadı.

Anahtar kelimeler: Tip 1 Diabetes Mellitus, D vitamini, Vitamin D Bağlayıcı Protein



ABSTRACT

Aim: Vitamin D deficiency is known to be associated with metabolic bone diseases. In this current study we aimed to investigate vitamin D, vitamin D binding protein levels, and the association between the calculated bioactive and free vitamin D levels with bone turnover markers and bone mineral metabolism of type 1 diabetes mellitus (DM) patients who admitted to endocrinology outpatient clinic.

Method: In this cross-sectional study, 60 type 1 DM patients who admitted to endocrinology outpatient clinic and 60 healthy controls with comparable age, gender and body mass index from November 2015 to March 2016 were included. During outpatient visit, height, weight and waist circumference is measured, and the disease duration and ophthalmologic examination within last year for retinopathy is questioned. 8 hour fasting blood samples are collected for 25 hydroxyvitamin D (25(OH)D), vitamin d binding protein, osteocalcin, bone alkaline phosphatase (ALP) and c-telopeptide (CTX), centrifuged and stored at -20 degree. All samples are studied at the same time.

Results: Serum 25(OH)D levels of type 1 DM patients were significantly higher than control group ($p=0.01$). %63.3 of type 1 DM patients and %78 of healthy controls have vitamin D levels less than 20 ng/ml and there was no significant difference between two groups. Parathormone levels of the vitamin D deficient individuals were significantly higher ($p=0.029$). There were no significant difference between vitamin D binding protein levels of two groups. Free and bioactive vitamin D levels were positively correlated with 25(OH)D and negatively correlated with vitamin d binding protein. Free and bioactive vitamin D were not significantly correlated with serum c-telopeptid, bone alkaline phosphatase levels, only free vitamin D levels correlated negatively with osteocalcin levels ($r=-0.201$). There was a significant negative correlation between 25(OH)D and parathormone levels ($r=-0.294$) Serum osteocalcin, bone alkaline phosphatase and c-telopeptide levels of the control group were significantly higher.

Conclusion: Contrary to previous studies 25(OH)D levels of type 1 DM patients were higher than the healthy controls in our study. This situation can be associated with that type 1 DM patients

have more visits to hospital or this can be associated with nutrition or dressing habits. Calculated free and bioactive vitamin D levels didn't give any additional information about the effect of vitamin D on bone metabolism.

Key words: Type 1 Diabetes Mellitus, Vitamin D, Vitamin D Binding Protein



SİMGELER VE KISALTMALAR

AKŞ: Açlık Kan Şekeri
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ALP: Alkalen Fosfataz
CMV: Cytomegalovirus
CSF-1: Colony Stimulating Factor-1
CTX: C-Telopeptid
CYP24A1: 24 Hidroksilaz
CTLA-4: Cytotoxic T Lymphocyte Associated-4
DBP: D Binding protein
DEXA: Dual Energy X-ray Absorbsiometry
DM: Diabetes Mellitus
EBV: Epstein Barr Virus
EGF: Epidermal Growth Faktör
FGF-23: Fibroblast Growth Factor
GAD: Glutamik asit dekarboksilaz
GFR: Glomerular Filtration Rate
GnRH: Gonadotrophin Releasing Hormone
HLA: Human Leucocyte Antigen
ICA69: Adacık hücre antikoru
IGRP: Islet Specific Glucose-6 phosphatase Related Peptide
KMD: Kemik Mineral Dansitometrisi
M-CSF: Makrofaj-Colony Stimulating Factor
MHC: Major histocompatibility complex
MI: Miyokardiyal infarkt
M.Ö: Milattan önce
M.S: Milattan sonra
NTX: N-Telopeptid

PDGF: Platelet Derived Growth Factor
PTH: Parathormon
PINP: Prokollajen-1 intact N- terminal
PTPN22: Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor Type 22
RANKL: Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand
RAS: Renin-angiotensin Sistemi
RUNX2: Runt ilişkili transkripsiyon faktörü
SSRI: Selective Serotonin Reuptake Inhibitörleri
TGF-beta: Transforming Growth Factor-beta
TNF: Tumor Necrosis Factor
TRPV 5: Transient Receptor Potential Vanniloid
VDBP: Vitamin D Bağlayıcı Protein
VDR: Vitamin D Reseptör
VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor
VKI: Vücut Kitle İndeksi
WHI: Women's Health Initiative
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
ZnT8A: Çinko transporter antikoru
25(OH)D: 25 Hidroksivitamin D
1,25(OH)2D3: 1,25 dihidroksivitamin D3

ŞEKİLLER

Şekil-1. Tip 1 Diyabetin patogenezi ve gelişim evreleri

Şekil-2. D vitamin sentez ve metabolizması

Şekil-3. Aktif d vitamininin endokrin, parakrin, otokrin fonksiyonları

Şekil-4. D vitamin metabolizması ve hormonal kontrolü

Şekil-5. Vitamin D ve insulin sekresyonu

Şekil-6. Megalin ve böbrekte 25(OH)D'nin reseptör ilişkili alımı

Şekil-7. Kemik remodeling siklusu

Şekil-8. Serum 25(OH)D<20 ng/ml, 25(OH)D 20-29 ng/ml, 25(OH)D≥30 ng/ml olanların sayısı

Şekil-9. Tip 1 DM ve kontrol grubunda serum 25(OH)D düzeyleri

Şekil 10. Hasta ve kontrol grubunun birlikte serum 25(OH)D, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini değerlerinin parathormon ile korelasyonu

Şekil 11. 25(OH)D ve serbest D vitamini düzeylerinin osteokalsin düzeyleri ile korelasyonu

Şekil 12. Yaş ile kemik döngü parametreleri arasındaki ilişki

TABLÖLAR

Tablo-1: Demografik veriler

Tablo 2: Cinsiyete göre analiz edildiğinde anlamlı fark olan parametreler

Tablo-3: Biyokimyasal Analizler

Tablo-4: Serum 25(OH)D, serbest d vitamini, biyoaktif d vitamini, kemik ALP, osteokalsin, c-telopeptid düzeylerinin ortalama ve medyan değerleri

Tablo-5: Osteokalsin, kemik ALP, ve serum c-telopeptid düzeylerinin 25(OH)D<20 VE 25(OH)D>20 ng/ml olanlarda ortalama ve medyan değerleri

Tablo-6: Serbest d vitamini regresyon analizi

Tablo-7: Biyoaktif d vitamini regresyon analizi

Tablo-8: VKİ, bel çevresi ve yaş ile anlamlı korelasyon gösteren parametreler

Tablo-9: Parathormon değerinin çoklu regresyon analizi

Tablo 10: Osteokalsinin çoklu regresyon analizi

Tablo-11: Tip 1 DM ve kontrol grubunun birlikte serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d ve bioaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

Tablo-12: Tip 1 DM grubunda serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d vitamini ve bioaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

Tablo-13: Kontrol grubunda serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d vitamini ve bioaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	10
2. GENEL BİLGİLER	12
2.1. DIABETES MELLITUS	12
2.1.1. <i>Tip 1 Diabetes Mellitusun Epidemiyolojisi.....</i>	13
2.1.2. <i>Tip 1 Diabetes Mellitusun patogenezi.....</i>	14
2.1.3. <i>Klinik</i>	15
2.1.4. <i>Tip 1 Diabetes Mellitus Tanısı</i>	16
2.1.5. <i>Diabetes Mellitusun komplikasyonları.....</i>	17
2.1.6. <i>Tip 1 Diabetes Mellitusun Etiyolojisi</i>	18
2.2. VİTAMİN D YAPISI VE METABOLİZMASI	23
2.2.1. <i>D vitamininin Fonksiyonları</i>	24
2.2.2. <i>D vitamininin kemik üzerine etkileri.....</i>	27
2.2.3. <i>D vitamini ve Diyabet ilişkisi</i>	29
2.2.4. <i>Vitamin D Bağlayıcı Protein</i>	31
2.2.5. <i>D vitamini eksikliği, sebepleri ve klinik bulguları.....</i>	34
2.2.6. <i>D vitamin eksikliğine yaklaşım</i>	37
2.3. KEMİK YAPISI VE FONKSİYONU	38
2.3.1. <i>Kemik Matris ve Mineral Yapısının Kimyasal Özellikleri.....</i>	38
2.3.2. <i>Osteoblast Diferansiyasyonu ve Fonksiyonu.....</i>	39
2.3.3. <i>Osteoklast Diferansiyasyonu ve Fonksiyonu</i>	40
2.3.4. <i>Kemiğin Yeniden Yapılanması ve Kontrolü.....</i>	41
2.3.5. <i>Rikets ve Osteomalazi.....</i>	42
2.3.6. <i>Osteoporoz.....</i>	43
2.3.7. <i>Metabolik Kemik Hastalığının Değerlendirilmesinde Biyokimyasal Analizler</i>	44
2.4. TİP 1 DİYABET, VİTAMİN D VE KEMİK MINERAL METABOLİZMASI.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. DENEK SEÇİMİ.....	47
3.2. ÇALIŞMA YÖNTEMİ	47
3.3. DEĞERLENDİRİLEN PARAMETRELER	48
3.3.1. <i>Biyokimyasal Tetkikler</i>	48
3.3.2. <i>İstatistiksel değerlendirme.....</i>	50
4. BULGULAR	51
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	66
6. KAYNAKLAR.....	72

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tip 1 diabetes mellitus, insülin üreten pankreatik beta hücrelerinin immun sistem aracılı yıkımı ile ilişkili bir hastalıktır (1,2). Çocukluk ve ergenlik döneminin hastalığı olarak bilinse de her yaşta tanı konulabilmektedir (3). Hastalık ile ilişkili semptomlar hiperglisemi ve sıvı elektrolit dengesindeki bozulmaya bağlı olarak polidipsi, polifaji, poliüri, kilo kaybı, görmede bozulma ile karakterizedir (4). Hiperglisemiye bağlı ileri dönemde mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar gelişebilmektedir. Hayvan modeli (5-7) ve epidemiyolojik çalışmalar (8-10) sıkı kan şekeri kontrolünün daha az diyabetik komplikasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir.

Tip 1 DM'in insidansı dünya genelinde farklılık göstermektedir ve coğrafya, yaş, cinsiyet, etnik köken, aile öyküsü gibi faktörlerden etkilenmektedir. İnsidansın en yüksek olduğu yer Finlandiya ve Sardunya, en düşük olduğu yer Venezuela ve Çin'dir (11,12). Etiyolojisinde genetik, otoimmün ve çevresel faktörler yer almaktadır. Genetik olarak yatkınlığı bulunan kişilerde bir veya daha fazla çevresel faktöre maruziyet ile pankreatik beta hücrelerinde yıkım ile sonuçlanan immun yanıt oluşmaktadır. Çevresel faktörler ile ilgili yapılan çalışmalarda, rubella, enterovirus, rotavirus enfeksiyonu (13,14,15) gibi viral enfeksiyonlar, çocukluk çağı aşıları (16-19), inek sütüne erken maruziyet (20-23), vitamin D eksikliği (24,25) gibi bir çok faktör araştırılmış fakat hiçbirinin etkisi kanıtlanamamıştır.

Ekolojik çalışmalarda düşük UV B ışınına maruziyeti olanlarda tip 1 DM insidansının yüksek olması sebebiyle, tip 1 DM ve vitamin D arasındaki ilişkiyi saptama amacıyla yapılan çalışmalarda, tip 1 DM tanılı hastaların yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük 25(OH)D seviyelerine sahip olduğu görülmüştür (26,27). Genel popülasyona göre daha düşük kemik mineral dansitometrisi ve daha yüksek fraktür riskine sahiptir (28). Vitamin D eksikliği ve tip 1 DM arasındaki bu ilişki vitamin D'nin immunmodulator etkileri aracılığı ile olabilir. 720 tip 1 DM tanılı hasta ve 2610 yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada tip 1 DM ve vitamin D eksikliği ile ilişkili genetik polimorfizmler de araştırılmış ve vitamin D eksikliği ve tip 1 DM arasında bir ilişki olduğunu destekler veriler elde edilmiştir (29).

Vitamin D düzeyini değerlendirmek için günümüzde serum 25(OH)D düzeyleri ölçülmektedir. Serum 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml'nin altındaki değerler eksiklik, 30 ng/ml'nin altındaki değerler yetersizlik olarak tanımlanmaktadır (30,31). İskelet sisteminin sağlığı için

gerekli optimum serum 25(OH)D düzeyi tartışmalıdır fakat serum parathormon düzeyinin, 25(OH)D düzeyi 30 ng/ml'nin altında yükselmeye başladığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

Vitamin D bağlayıcı protein (VDBP), total 25(OH)D'nin %85-90'ına bağlanan primer vitamin D taşıyıcı proteindir (32). D vitamininin %10-15'i albumine bağlıdır ve %1'den azı serbest formdadır. VDBP, D vitamininin bazı etkilerini kısıtlar gözükmemektedir çünkü vitamin D bağlayıcı proteine bağlı formu hücreler üzerine etki edemez durumdadır (33,34). Biyoaktif vitamin D, dolaşımdaki VDBP'e bağlanmamış durumdaki vitamin D olarak tarif edilebilir. Siyah ve beyaz tenli Amerika'lılarda vitamin D ve VDBP düzeylerini araştıran bir çalışmada siyahi Amerika'lılarda vitamin D düzeyi ile birlikte VDBP düzeyleri de düşük saptanmış ve biyoaktif formu beyaz ırk ile benzer düzeyde saptanmıştır (35). Hemodiyalize giren konik böbrek yetmezliği hastalarında yapılan bir başka çalışmada, biyoaktif 25(OH)D düzeyinin kemik mineral dansitometrisi ve kalsiyum, parathormon gibi parametreler ile 25(OH)D düzeyine göre daha doğru bir ilişki gösterdiği saptanmıştır (36).

Bu çalışmada amaç tip 1 DM tanılı hastalarda total 25(OH)D, VDBP düzeylerini saptamak, hesaplanan serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri ile birlikte kemik mineral metabolizması ve kemik döngü parametreleri ile ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diyabet ilk olarak Milattan önce (M.Ö) 1500 yılında antik Mısırlılar tarafından bol miktarda idrar atılımı ve kilo kaybı olarak belirti veren nadir bir durum olarak farkedilmiştir. M.Ö 5. Yüzyılda Hindistan'dan ünlü cerrah Sushruta tarafından bu hastaların idrarı bala benzetilmiş ve şekerli olmasının yanında yapışkan bir his verdiği de dikkat çekilmiştir. Diabetes Mellitus tanımı ilk olarak M.S 80-150 senesinde yaşamış olan Kapadokya'lı Arateus tarafından kullanılmış ve bu kişilerin idrar miktarının artmış olduğu ve şekerli olduğu farkedilmiştir (37). İlk olarak Matthew Dobson tarafından 1776 yılında idrarda glukoz miktarı ölçülmüş ve bu kişilerde artmış olarak tespit edilmiştir (38).

1889 yılında Joseph von Mering ve Oskar Minkowski'nin, köpekler üzerinde yapılan pankreasın çıkarılması ile diyabet gelişimini gösteren çalışması kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde pankreasın rolünü gösteren ilk çalışma olmuştur (39). 1910 yılında Edward Albert Sharpey-Schafer diyabetin pankreas tarafından üretilen bir kimyasal maddenin eksikliği ile geliştiği hipotezini öne sürmüş ve bu kimyasal maddeye Latin alfabesinde 'ada' anlamına gelen insula kelimesinden gelen 'insülin' adını koymuştur (40).

Tarihte farklı diyabet formları olduğu, ilk olarak Harley tarafından 1866' da "Farklı tedavi şekilleri gerektiren, en az iki farklı diyabet formu bulunmaktadır" sözleriyle dile getirilmiştir. Etienne Lancereaux ise şişman (diabete gras) ve zayıf (diabete maigre) diyabet olarak bu ayrımı yapmıştır (41).

Wilhelm Falta ve Viyana'lı diğer araştırmacılar insüline yanıtı ve dirençli diyabet formlarının olduğuna dikkat çekmiştir fakat, bunu ağızdan glukoz ve intravenöz insülin enjeksiyonu yapılarak uygulanan bir test ile gösteren İngiliz araştırmacı Harold Himsworth olmuştur. İnsülin ve glukoz verildikten sonra zayıf yapılı genç hastalar, diyabetik olmayan sağlıklı kişilerle benzer şekilde insüline yanıt vermiş, fakat daha yaşlı ve kilolu hastalar ise insüline yanıt vermemiştir. Bu deney sonrası Himswolt; insülin duyarlı olan diyabetiklerde hastalığa insülin yokluğunun sebep olduğu, fakat insülin duyarlı olmayan hastalarda insüline duyarsız hale getiren bilinmeyen başka bir sebebin olabileceği çıkarımında bulunmuştur (41). Tip 1 Diabetes Mellitus terim olarak antropometri biliminden türemiştir. W.H Sheldon 1930-1940 yıllarında fiziksel özellikler ile belirli hastalıkları ilişkilendiren somatotiplendirmeyi tanıtmıştır. Bu tanımdan yola

çıkarak fiziksel antropolog Depertuis ve bilim adamı Draper, New York’ da diyabet tanılı hastaları farklı morfolojik özelliklerde hastalar olması sebebiyle grup 1 ve grup 2 olarak gruplandırmıştır. 1951 yılında tip 1 diyabet olarak genç, zayıf, aterosklerotik olmayan, normal kan basıncına sahip, akut başlangıçlı olan hastalar ve tip 2 diyabet olarak yaşlı, obez, aterosklerotik, hipertansiyonu olan ve sinsi başlangıçlı hastalar gruplandırılmıştır (41). WHO (World Health Organisation) sınıflandırması, 1985 yılında iki diyabet formu olduğunu kabul eden ilk uluslararası sınıflama olmuştur. Bu sınıflandırmada insülin bağımlı ve insülin bağımlı olmayan iki tipten bahsedilmiştir ve tip 1 ve tip 2 diyabet olarak tanımlanmıştır (42).

2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitusun Epidemiyolojisi

Tip 1 DM insülin üreten pankreatik beta hücrelerinin yıkımıyla giden, çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalığıdır. Genellikle çocukluk döneminde tanı konulmakla birlikte hastaların dörtte biri erişkin dönemde tanı almaktadır.

Tip 1 DM insidansı coğrafya, yaş, cinsiyet, aile öyküsü ve etnik kökene göre farklılık göstermektedir.

Coğrafya

Tip 1 DM’in insidansı dünya genelinde farklılık göstermektedir (11,12). Avrupa genelinde ve Çin’de ekvatorдан uzaklık arttıkça insidans artmaktadır (43-45). Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) etnik kökenlere göre uyarılama yapılsa bile kuzey ve güney arasında farklılık gözlenmiştir (46). İnsidansın düşük olduğu yerden yüksek olduğu yere göç edenlerde tip 1 DM gelişim riskinin arttığı gözlenmiştir, bu da çevresel faktörlerin etkili olduğunu göstermektedir. Fakat katkıda bulunan başka faktörlerin olduğunu gösterir şekilde, benzer yüksekliğe sahip komşu bölgelerde insidansın çok farklı olduğu gösterilmiştir.

Hastalığın insidansının en yüksek olduğu bölgeler Finlandiya ve Sardunya’ dır (11,12,47). En düşük insidansın olduğu bölgeler ise Venezuela ve Çin’ dir (11,44,48).

Yaş ve Cinsiyet

Tip 1 DM tanı alma yaşı, 4-6 yaşında ve 10-14 yaşında olmak üzere iki pik yapar (49-52).

Otoimmün hastalıkların çoğu kadınlarda daha sık görülmekle birlikte, tip 1 DM sıklığı cinsiyete göre farklılık göstermemektedir. Bazı seçilmiş gruplarda erkeklerde insidans daha yüksek saptanmıştır. Avrupa kökenli 13 yaş üzeri erkeklerde, yaş ve coğrafi özellikler bakımından eşleştirilmiş kadınlara göre insidans daha yüksek saptanmıştır (53,54,55).

Dünya genelinde tip 1 DM insidansı artış göstermektedir, Avrupa, Orta Asya ve Avustralya'da yılda %2-5 oranında artış gözlenmektedir (47,56-59). ABD' de tüm yaş ve etnik gruplarda da artış gözlenmektedir (60,61). Tip 1 DM insidansındaki bu artışın altında yatan sebepler bilinmemektedir.

2.1.2. Tip 1 Diabetes Mellitusun patogenezi

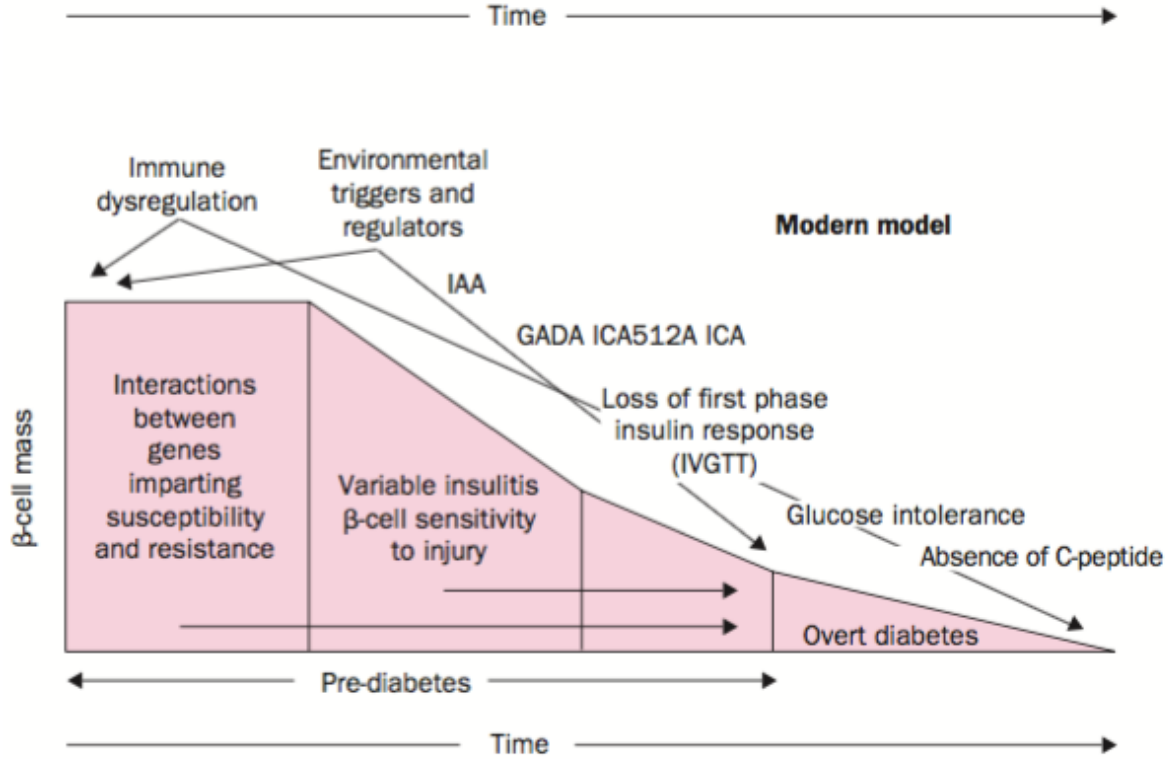
Amerikan Diyabet Birliği etiyolojik faktörlere göre tip 1A (immune kaynaklı) ve tip 1B (ciddi insülin eksikliği ile seyreden diğer formlar) olarak sınıflandırmayı önermektedir (61). Tip 1 DM başlangıç evrelerinde tip 1A, tip 1B ve tip 2 DM'in ayırıcı tanısını yapmak kolay değildir.

Tip 1 A DM'de genetik belirteçler doğuştan itibaren, immunolojik belirteçler otoimmün yıkımın başlangıcından itibaren, metabolik belirteçler beta hücre yıkımının başladığı fakat hipergliseminin henüz gelişmediği dönemden itibaren saptanabilmektedir (Şekil 1) (62). Tip 1 B DM terimi adacık hücre yıkımı ile seyreden fakat otoimmün olmayan tür için kullanılmaktadır.

Bazı hastalarda tip 1 A DM ve insülin direncinin birlikte görülebileceği unutulmamalıdır (63). Otoantikörleri pozitif olan bu hasta grubunda yüksek açlık insülin veya c-peptid düzeyleri, fakat uyarı ile insülin salınımında kayıp görülebilmektedir.

Bazı tip 1 A DM hastalarında, tanı almasına kadar geçen süreçte kandaki otoantikörlerin kaybolabildiği bilinmektedir. Böyle hastalarda tip 1A DM ile ilişkili HLA pozitifliği mevcuttur, insülin direnci yoktur ve zamanla c-peptid düzeylerinde de düşme gözlenir, bu hastalar ketoasidoz ile prezente olabilmektedir (64).

Tip 1 A DM'e yönelik oluşturulan hayvan modellerinde, obez olmayan diyabetik farelerde de insanlarda olduğu gibi otoantikör oluşumu diyabet gelişmeden önce başlamaktadır (65) (Şekil-1). En ilgi çekici tedavi yöntemlerinden birisi otoantikörlerin aşısı olarak kullanımıyla diyabet gelişiminin önlenmesidir. Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) ve insülinin obez olmayan farelere enjeksiyonuyla diyabet gelişimini önlediği gözlenmiştir (66-69).



Şekil-1. Tip 1 Diyabetin patogenezi ve gelişim evreleri (GADA: Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikoru, ICA: Islet Cell Antikoru, IVGTT: İntravenöz Glukoz Tolerans Testi) (70)

2.1.3. Klinik

Tip 1 diyabet tanı yaşı 4-6 yaş dönemi ve puberte döneminde pik yapar. Klinik bulgular sıvı elektrolit dengesindeki bozukluğa bağlı poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı, bulanık görmedir (4). Çocuklarda klinik bulgular ani başlangıçlıdır fakat, özellikle erişkin çağda sinsi başlangıçlı da olabilir. Klasik yeni başlangıçlı formu, hiperglisemi, poliüri, polidipsi, kilo kaybı, ketonüri ile prezente olan en sık formudur. Perineal kandidiyazis ve katarakt da bulgulara eşlik edebilir.

Diyabetik ketoasidoz, bikarbonat < 15 mmol/l, pH < 7.25 (venöz) ya da pH < 7.30 (arter) ve idrarda keton pozitifliği ile tanımlanır. Ketoasidoz ile başvuran olgularda bulantı, kusma, karın ağrısı, bilinç değişiklikleri eşlik edebilir. Başlangıçta ketoasidoz hastaların %30'unda görülmektedir, 5 yaş altı çocuklarda daha sık görülen bir başvuru şeklidir (71-73). Sessiz başlangıçlı form en az görülen formudur. Genellikle ailenin veya klinisyenin şüphelenmesi ile yapılan tetkikler sonucunda tanı konulur.

2.1.4. Tip 1 Diabetes Mellitus Tanısı

Tip 1 diyabet tanısında ilk basamak diyabet tanısını koymaktır. Diyabet tanısı şu sonuçlardan bir tanesinin elde edilmesi ile konulabilir, elde edilen sonucun tekrarlanması tanı doğruluğunu arttırır (74,75):

- En az 8 saat açlık sonrası birden fazla ölçümde açlık kan plazma glukozunun 126 mg/dl veya üzerinde olması
- Hipergliseminin klasik semptomları olan bir hastada herhangi bir zamanda ölçülen kan plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl veya üzerinde bulunması
- 75 gr oral glukoz yüklemesi sırasında 2. saatte ölçülen kan plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl veya üzerinde bulunması
- Hemoglobin A1c ölçümünün % 6.5 ve üzerine olması (uluslararası glikolize hemoglobin standardizasyon programı ile sertifikalanmış bir kit ile ölçüm yapılmış olmalıdır.)

Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus Ayırıcı Tanısı

Tip 1 ve tip 2 diyabeti tamamen ayıran tanı testi veya kriterler bulunmamaktadır. Klinik özellikler, anamnez ve laboratuvar bulguları birlikte değerlendirilerek ayırım yapılabilir.

Klinik bulgular ile tip 1 diyabet tanılı hastalar genellikle puberte döneminden önce tanı almaktadır. Tip 2 diyabetiklerin aksine obez değil, genel olarak kilo kaybı öyküsü vardır. Akantozis nigrikans, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi insülin direnci ile ilişkili bulgular eşlik etmez. Aile öyküsü tip 1 DM tanılı hastaların %10'unda var iken tip 2 DM tanısı olanların %75-90'ında vardır (76,77).

Laboratuvar bulgularında otoantikor pozitifliği ayırıcı tanıda faydalı olabilir fakat otoantikor bulunmaması tip 1 DM tanısını dışlamaz. Tip 2 DM tanılı hastalarda açlık insülin ve c-peptid düzeyleri yüksek iken tip 1 DM tanılı hastalarda yüksek kan şekere karşılık normal ya da düşük insülin, c-peptid seviyeleri mevcuttur, fakat bazı durumlarda obez ve insülin direnci olan ve otoimmün tip 1 diyabeti olan bir bireyin ilk prezentasyonda c-peptid seviyesi yüksek saptanabilir (78).

Bazı hastaların ayırıcı tanısı zor olabilmekte ve mikst bulgular gösterebilmektedir. ABD'de yapılan bir çalışmada insülin direnci ve otoantikor durumuna göre değerlendirildiğinde, hastaların %70'i tip 1 ya da tip 2 DM olarak sınıflandırılabilir fakat %20'sinde otoantikor pozitifliği

ile birlikte insülin direnci görülebilmektedir. Kalan %10 hasta ise otoantikör negatif fakat insülin duyarlıdır ve genellikle tip 1 diyabet olarak değerlendirilir (79).

2.1.5. Diabetes Mellitusun komplikasyonları

Çocukluk ve ergenlik çağında tip 1 DM ile ilgili en sık görülen komplikasyonlar hipoglisemi, hiperglisemi, diyabetik ketoasidoz ve psikiyatrik bozukluklardır. Retinopati, nefropati, nöropati ve kardiyovasküler komplikasyonların gelişimi çocukluk çağında başlasa da bulgular genellikle erişkin dönemde ortaya çıkar. Diyabette morbidite, mikrovasküler (retinopati, nefropati ve nöropati) ve makrovasküler (kardiyovasküler) komplikasyonların bir sonucu olarak gelişmektedir.

Vasküler komplikasyonlar

Kötü glisemik kontrolün nefropati, nöropati, retinopati, kardiyovasküler hastalıklar gibi vasküler komplikasyonlarla ilişkili olduğu randomize kontrollü çalışmalar ile gösterilmiştir (80-83).

2.1.5.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Nefropati

Gelişmiş ülkelerde diyabetik nefropati, son dönem böbrek yetmezliğinin en sık sebebidir (84). Diyabetik nefropatinin patogenezinde metabolik, hemodinamik, genetik ve çevresel faktörler etkili olabilir (81). Diyabetik nefropatinin ilk bulgusu mikroalbuminüridir. 24 saatlik idrarda 30 mg/gün üzerindeki sonuçlar mikroalbuminüri, 300 mg/gün üzerindeki sonuçlar makroalbuminüri olarak sınıflandırılır. Glisemik kontrolün daha iyi seviyelere gelmesi sebebiyle diyabetik nefropati oranları son on yılda azalma göstermiştir (85-87). Mikroalbuminürisi olan tip 1 diyabetli normotansif hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin kullanımıyla idrar albümin atılımı azalmış ve iki yılın sonunda plasebo kullananlara göre diyabetik nefropati gelişme oranının azaldığı gözlenmiştir (88,89). Overt proteinüri geliştikten sonra irreversibl hasar oluşmakta ve son dönem böbrek yetmezliği gelişme riski artmaktadır.

Retinopati

En sık görülen mikrovasküler komplikasyondur. Batı toplumunda edinilmiş körlüğün en sık sebebidir. Erken nonproliferatif retinopati tip 1 DM tanılı hastaların hemen hepsinde yaklaşık 20. senede gelişmektedir. Diyabetik retinopati için tarama tanıdan sonraki beşinci senede başlamalıdır (84). Glisemik kontrol retinopati gelişimi ile yakın ilişkilidir. Bir çalışmada iyi glisemik kontrolü

hedefleyen tedavi grubunda yeni retinopati gelişim riskinde %76 azalma gözlenirken, konvansiyonel tedavi grubunda %54 saptanmıştır (90). İnsülin tedavisi hem retinopatiden primer korunmada hem de hafif-orta derecede retinopatinin de ilerlemesini yavaşlatmakta etkilidir. Yapılan bir çalışmada retinopati oluşmadan önce başlanan yoğun insülin tedavisi ile hastalarda retinopati gelişme oranının azaldığı görülmüştür (91).

Nöropati

En sık görülen generalize nöropati sensorimotor polinöropatidir, periferik nöropati şeklinde başlar ve takibinde gastroparezi, erektil disfonksiyon, kardiyovasküler otonom nöropati gelişir. Periferik nöropati ile birlikte periferik vasküler hastalık, iyileşmeyen ayak ülserleri, gangrene sebep olabilir ve amputasyon gerekebilir (84). Bazı prospektif çalışmalarda iyi glisemik kontrolün nöropatinin progresyonunu yavaşlattığı gösterilmiştir (92,93,94). Oslo çalışmasında hba1c'deki her %1'lik artışın 8 senelik takipte sinir iletiminde 1,3 m/sec yavaşlamaya sebep olduğu gösterilmiştir (95).

2.1.5.2. Makrovasküler Komplikasyonlar

Kardiyovasküler hastalıklar, tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında ölümün ana sebebidir ve diyabete bağlı sağlık harcamalarının çoğunu oluşturmaktadır (96,97). Kardiyovasküler hastalıklar için diyabetik bireylerdeki risk faktörleri; diyabetik nefropati, dislipidemi, hipertansiyon, otonom nöropatidir (84). Sıkı kan şekeri kontrolü yapılan hastalarda kan şekeri iyi kontrollü olmayanlara göre istirahat kalp hızının daha düşük olduğu ve bunun kardiyovasküler hastalık riskinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (97). Hipergliseminin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar üzerine etkisi ileri glikozillenmiş son ürünler aracılığı ile olabilir (98).

2.1.6. Tip 1 Diabetes Mellitusun Etiyolojisi

2.1.6.1. Genetik Faktörler

Diabetes mellitusun heterojen bir hastalık olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Son zamanlarda tip 1 A DM'in de heterojen bir hastalık olduğu anlaşılmıştır. Tip 1 A DM'in bir çok genetik formu vardır ve çoğu HLA sınıf 2 molekülü ile ilişkilidir (99). Diyabet yatkınlığı ile ilişkili genler dünya genelinde benzerdir fakat, hastalığa özgü alelin toplumdaki sıklığı değişmektedir (100).

ABD' de çocukluk çağı DM riski üçyüzde bir kadardır. Bu risk birinci derece yakınlarında tip 1 DM tanısı olanlarda 15 kat daha fazladır. Tek yumurta ikizinde tip 1 DM olanlarda 150 kat

artmış risk mevcuttur (101,102,103). Japonya’ da toplumun tip 1 DM riski ABD’den 15 kat daha az da olsa, tek yumurta ikizinde tip 1 DM olanların tip 1 DM gelişme riski aynıdır (104,105). Bu da genetik faktörler devreye girdiğinde çevresel faktörler ne olursa olsun riskin oldukça yükseldiğini göstermektedir. Birinci derece yakınlarında tip 1 DM olanlarda risk yüksektir fakat tip 1 DM hastalarının %85’inden çoğunda aile öyküsü bulunmamaktadır. Sporadik vakalardan toplumun %40’ının tip 1 DM için yüksek riskli HLA aleli taşıması sorumludur.

Tip 1 DM riskini etkileyen bir çok genetik polimorfizm olduğu gösterilmiştir. Bu genler arasında HLA-DQalfa, HLA-DQbeta, preproinsülin, PTPN22 (protein thyrosine phosphatase, non-receptor type 22) geni, CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated 4), İFN (interferon) ile indüklenen helikaz, İL-2 reseptörü (CD25), lektin benzeri gen (KIA0035), ERBB3e, 12q kromozomunda tanımlanamayan bir gen belirlenmiştir (106-112). Bunlara ek olarak 4 genetik lokusun daha artmış tip 1 DM riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır, bunlar BACH2, PRKCQ, CTSN, C1QTNF6’ dır (106).

Tip 1 DM riski için önemli genler 6. kromozom üzerindeki HLA bölgesinde bulunmaktadır (113,114). Bu bölgede MHC (major histocompatibility complex) sınıf 2 molekülünü kodlayan genler bulunmaktadır. MHC molekülüne antijen bağlanması ile destrüktif süreçteki ana hücre olan T hücre yüzeyindeki antijen reseptörlerinin aktivasyonu gerçekleşir. Bu molekülün alfa ve beta zincirlerdeki aminoasit dizilimine bağlı olarak MHC moleküllerinin antijen sunma yetenekleri değişmektedir. DQB zincirinde 57. Pozisyonda aspartat negatif olmasının tip 1 DM yatkınlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (115). Bir ya da iki önemli noktada dizilimin değişmesi ile otoantijenlerin bağlanma durumu değişebilir ve bu da tip 1 diyabete yatkınlığı etkileyebilir (116,117).

Bazı popülasyonlarda yüksek riskli genotiplerin prevalansı daha yüksektir. Washington eyaletinde yaşayan ergenlik çağındaki popülasyonda DR4, DQB1*0302/DR3, DQB1*0201 %8.9 pozitifken, Denver ve Colorado’da %2.4 dür. Bu genotipe sahip çocukların %5’inde tip 1 A DM gelişimi gözlenirken, genel popülasyonun %0.3’ünde gelişmektedir (116,117). DR4 aleli alt tiplerinin ise diyabet gelişme riskini azalttığı gösterilmiştir (118,119). DQB1*0602 alelinin de diyabet gelişiminde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Diyabet gelişen popülasyonun %95’inde DR3-DQ2 veya DR4-DQ8 görülürken iken normal popülasyonun %40’ında görülür (114).

İnsülin geni promotor bölgesi ile ilişkili polimorfizmlerin ve PTPN22 tarafından kodlanan lenfosit spesifik tirozin fosfatazdaki aminoasit değişikliklerinin de bir çok popülasyonda tip 1

diyabet riski ile ilişkili olduğu görülmüştür (120-123). Yaklaşık 5000 hasta üzerine yapılmış 33 çalışmanın metaanalizinde sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 gen polimorfizminin tip 1 diyabet riski ile ilişkili olduğu görülmüştür (124). Tip 1 diyabet riskinin yanında bazı HLA alelleri diğer otoimmün hastalıklara yatkınlık da oluşturmaktadır. DR3-DQ2 homozigot hastaların 1/3'ünde transglutaminaz antikorları da pozitifdir ve bu hastaların yarısı biyopsi ile çölyak hastalığı tanısı almaktadır (125).

2.1.6.2. Otoimmunité

Adacık hücre antikorları ilk olarak otoimmün poliendokrin yetmezliği olan hastaların serumunda saptanmıştır. Yeni tanı tip 1 diyabetiklerin ve prediyabetik hastaların da %85'inde bulunduğu görülmüştür (126). Halen devam etmekte olan bir çok çalışma otoimmün adacık hücre hasarının başlamasında ve devamında etkili olan bir çok pankreatik beta hücre otoantikörünün varlığını göstermiştir. Birden fazla otoantikör pozitifliği hastalığın patogeneğinde önemlidir (127).

İnsüline karşı antikorlar doğumdan diyabet gelişimine kadar geçen sürede ilk pozitifleşen antikorlardır, fakat subkutan insülin uygulanmasıyla birlikte insülin otoantikorları oluşmaya başlaması sebebiyle insülin tedavisi başlandıktan sonra otoimmün diyabet tanısı koymada faydası yoktur (127). Daha erken yaşta diyabet gelişen çocuklarda anti insülin antikör düzeyleri daha yüksektir (128,129).

Bir diğer önemli otoantikör GAD enzimine karşıdır. Tanı anında tip 1 diyabetli hastaların %70'inde anti GAD pozitifdir. Adacık hücre antikörünün uzun yıllar boyunca diyabet tanısında altın standart olduğu biliniyordu fakat, günümüzde tanıda ve taramada daha sensitif, spesifik ve ucuz olan GAD antikörünün kullanılması önerilmektedir. İnsulinoma ilişkili protein-2, insülin ve GAD'a karşı olan antikörlardan daha sonra görülür. Bir çalışmada hastaların %58'inde bulunduğu gösterilmiştir (130).

Bir diğer otoantikör katyon efflux ailesinin üyesi olan çinko transporter ZnT8 antikörüdür. Tip 1 diyabetlilerin %60-80 'inde bulunduğu gösterilmiştir. GAD ve tirozin fosfataz antikörlarının aksine, beta hücresine spesifiktir. Bu nedenle, ZnT8A ölçümlerinin adacık hücre yıkım miktarının ve önleyici tedavilerin başarısının belirlenmesinde gösterge olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (131).

Diğer bilinen otoantikörlar; adacık hücre otoantjen 69 kDa (ICA69), IGRP, kromogranin A, insülin reseptörü, ısı şok proteinleri, CD 38, penirephrin, glial fibriler asidik proteindir (132).

GAD, ZnT8, insülinoma ilişkili protein-2 ve insülin otoantikorlarının düzeylerine bakıldığında 100 sağlıklı kişiden 4'ünde bir veya daha fazla otoantikor pozitifliği görülmektedir. 1000 çocuktan 3'ünde tip 1 A diyabet görülmesi, otoantikor pozitif kişilerin çoğunda diyabet gelişmediğini düşündürmektedir. Tip 1 A diyabetli hastaların birinci derece yakınlarında iki veya daha fazla otoantikor pozitifliği olması halinde 10 yıllık diyabet gelişim riski %90 iken bir antikor pozitifliği durumunda 10 yıllık risk %20'dir (133).

2.1.6.3 Çevresel Faktörler

Dünya genelinde tip 1 diyabet insidansındaki artış, tip 1 diyabet gelişiminde çevresel faktörlerin etkili olduğuna veya bir takım koruyucu faktörlerin ortadan kalktığına önemli bir kanıttır (60,134).

2.1.6.3.1. Perinatal Faktörler

Tip 1 DM tanılı 892 çocuk ve 2291 kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada bir takım gebelik ilişkili ve perinatal faktörlerin tip 1 diyabet riskini arttırdığı görülmüştür (135). Anne yaşı>25, preeklampsi, neonatal respiratuvar hastalık, ABO uyumsuzluğuna bağlı sarılık arttıran faktörlerdir. İlk çocuk olmak, düşük doğum ağırlığı ve boy kısalığı koruyucu faktörlerdir. Postnatal diet ile ilişkili, D vitamini alımı, omega 3 yağ asidi alımı gibi faktörler de diyabet gelişiminde etkisi araştırılmakta olan faktörlerdir (136).

2.1.6.3.2. Enfeksiyonlar

Diyabet ile ilişkisi en iyi bilinen viral enfeksiyon konjenital rubella enfeksiyonudur (137). Diyabet riskini ne şekilde arttırdığı tam olarak bilinmemektedir, konjenital etkilenmeye bağlı uzun dönemde T hücre fonksiyonundaki bozulma (138) ya da potansiyel moleküler benzerlik (139) hipotezleri öne sürülmüştür.

Enteroviral enfeksiyonların diyabet gelişimindeki önemi ile ilgili İskandinav'da bir takım çalışmalar yapılmıştır. Bazı çalışmalarda gebelik dönemindeki enteroviral enfeksiyonun riski arttırdığına dair veriler elde edilse de bazı çalışmalarda fark saptanmamıştır (14,140). Ayrıca enteroviral enfeksiyonun anti adacık hücre antikor pozitifliği ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (15) fakat Colorado'da yapılan benzer çalışmada herhangi bir fark saptanmamıştır. Bunun sebebi İskandinav kontrol grubundaki enteroviral enfeksiyon sıklığının düşük olması olabilir.

Rotavirüs enfeksiyonu çocuklarda sık görülen bir enfeksiyondur. Yapılan çalışmalarda tip 1 diyabet gelişimini arttırdığına dair bir veri yoktur, fakat rotavirüs enfeksiyonu geçirenlerde anti

adacık hücre antikor düzeyleri daha yüksek saptanmıştır (15).

Tip 1 diyabet gelişiminin ilk bir-iki haftasındaki 75 hastanın postmortem otopsi çalışmasında, pankreas dokusunun incelemesinde, EBV, kızamık, coxsackie ve CMV virüs infiltrasyonu gözlenmemiştir (141).

2.1.6.3.3. Aşılama

Çocukluk çağı aşılarının tip 1 diyabet de dahil olmak üzere kronik hastalıkları arttırdığına dair bir düşünce vardır fakat yapılan çalışmalarda destekler bir bulgu saptanmamıştır. Çocukluk çağı aşılarının zamanı ile ilgili de bir çok çalışma yapılmış olup herhangi bir fark saptanmamıştır.

Bazı çalışmalarda hemophilus influenza, kızamık-kızamıkçık-kabakulak ve boğmaca aşılarının tip 1 diyabet insidansını arttırdığı gösterilmiştir (142). Bunun üzerine yapılan diğer çalışmalarda bu hipotezi destekler bulgu saptanmamıştır (17,18,19,143).

2.1.6.3.4. Diyet

Bir çok araştırmacı tarafından retrospektif çalışmalara dayanılarak, inek sütüne erken maruz kalmanın tip 1 diyabet riskini arttırdığı hipotezi öne sürülmüştür (20,21). Yapılan prospektif çalışmalarda anne sütü alan çocuklar ve inek sütü alanlar arasında bir fark saptanmamıştır (21-23).

Almanya'da yapılan bazı çalışmalarda 3 aydan önce tahıl başlanan çocuklarda adacık hücrelerine karşı otoimmunitenin arttığı gösterilmiştir. İlginç bir şekilde ilk maruziyeti 7. aydan sonra olan çocuklarda da riskin arttığı gösterilmiştir (144,145).

Colorado ve Yorkshire'da yapılan çalışmalarda içme suyundaki nitrat seviyesi 14.8 mg/dl'nin üzerinde olanlarda tip 1 diyabet oranının %30 daha fazla olduğu görülmüştür (146,147)

2.1.6.3.5. İlaçlar ve vitamin D

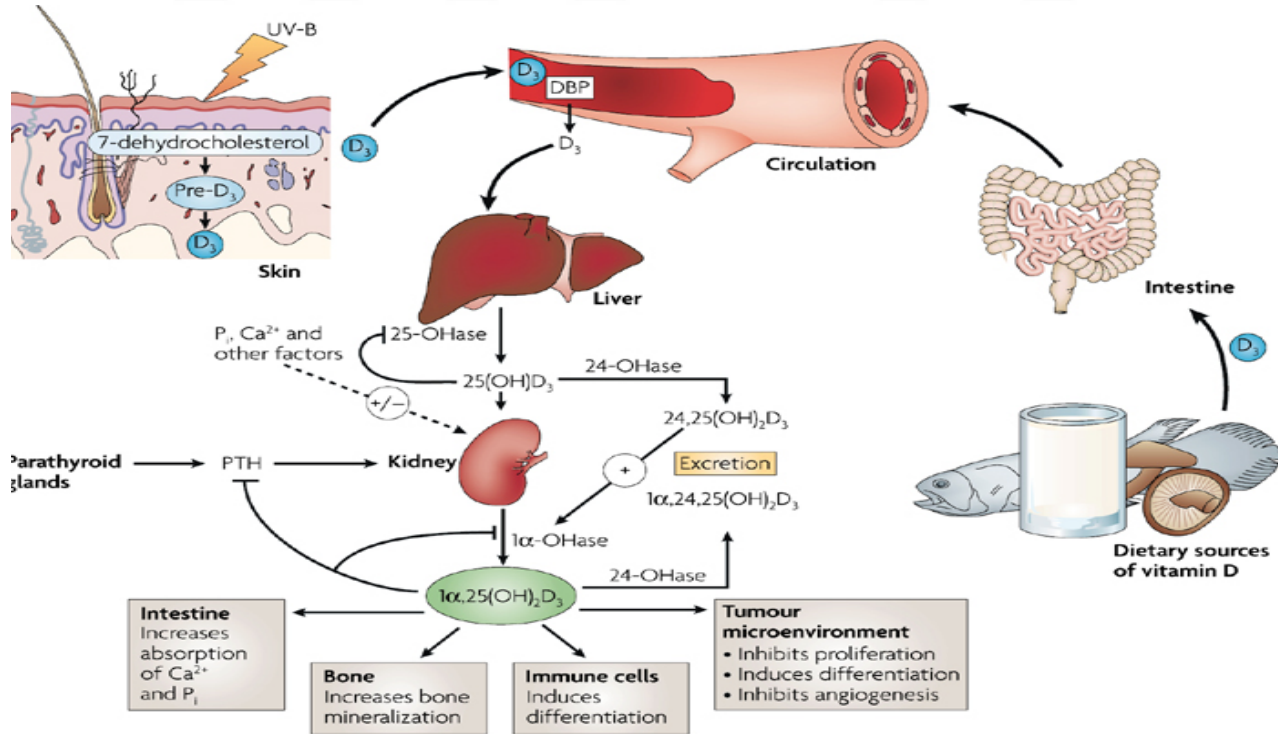
Alloksan, klorotoksin, bazı tarım ilaçları gibi kimyasal maddelerin pankreas beta hücrelerine direkt toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Streptozosin yüksek tek doz veya çoklu dozlarla pankreas beta hücrelerinde hasara sebep olabilmektedir (148,149).

D vitamini, kemik ve mineral metabolizması, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi, immün sistem, kardiyovasküler sistem, kas metabolizması ve gücü, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu gibi fonksiyonlarda rol alan yüzlerce genin fonksiyonunda rol alır (150-152). Vitamin D replasmanının bazı çalışmalarda tip 1 diyabet insidansını azaltabileceği görülmüştür (25).

2.2. Vitamin D Yapısı ve Metabolizması

D vitamini sekosteroid yapıda bir hormondur. UVB radyasyonun etkisiyle ciltte 7 dehidrokolesterolün steroid halkasının 9. ve 10. karbonları arasındaki karbon bağlarının yıkımı ile previtamin D'nin oluşumu ve 48 saat içinde gelişen moleküler rearanjman ile sentezlenir (153). D vitamini metabolizması şekil 2'de gösterilmiştir.

D vitaminin hedef dokular üzerindeki etkisini biyolojik olarak aktif formuna dönüştürülerek göstermektedir (154, 155). D vitamini karaciğere VDBP ile bağlanarak taşınır. Burada bir sitokrom p450 enzimi olan 25-hidroksilazlarla (CYP2R1, CYP2D11, CYP2D5) C-25 bölgesinden hidroksilasyonu gerçekleştirilerek 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) oluşur. 25(OH)D 'nin yarı ömrü 2-3 haftadır. 25(OH)D, VDBP ile böbreğe taşınır ve vitamin D'nin kanda bulunan majör formunu oluşturmaktadır. Böbrekte renal proksimal tübülde 1 alfa-hidroksilaz (CYP27B1) enzimi ile C-1 bölgesinden hidroksilasyonu ile hormonal aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D₃'e (1,25(OH)₂D₃) dönüşür (156) (Şekil-2). 1,25(OH)₂D₃ 'nin yarı ömrü 6-8 saattir. 1-alfa hidroksilaz, 1,25(OH)₂D₃ sentezindeki hız kısıtlayıcı enzimdir, renal 1-alfa hidroksilaz PTH ve fibroblast growth faktör-23 (FGF-23) ile kontrol edilir (151).



Şekil-2. D vitamin sentez ve metabolizması ve D vitamini aktivasyonu (157)

25(OH)D' nin proksimal renal tübüler hücrelere girmesi için DBP ve 25(OH)D'nin reseptör ilişkili olarak hücre içine alınması, legumain enzimi ile parçalanması, ardından da 25(OH)D' nin endositoz ile içeri alınması gerekmektedir (158). DBP 'ye bağlanmış 25(OH)D 'nin içeri alınması için düşük molekül ağırlıklı lipoprotein ailesinden olan megalin gerekmektedir (Şekil-6) (159). PTH sekresyonunda artış ve hipofosfatemi, 1-alfa hidroksilaz enzimini uyararak 1,25(OH)2D3 üretimini arttırırken, kalsiyum baskılar. 1,25(OH)2D3, 1-alfa hidroksilaz enzimi üzerinde negatif bir geribildirim mekanizması oluşturur (160). 1,25(OH)2D3, FGF-23 yapımını uyarır, FGF-23 fosfatürik bir hormondur ve proksimal renal tübül hücrelerinde 1-alfa-hidroksilaz enziminin mRNA ekspresyonunu inhibe ederek renal 1,25(OH)2D3 yapımını baskılar. FGF-23 ve vitamin D arasında negatif geribildirim mekanizması mevcuttur. Hayvan deneyleri ve in vitro çalışmalara göre östrojen, kalsitonin, büyüme hormonu, prolaktin gibi hormonların da 1-alfa hidroksilaz üzerine etkili olduğu gösterilmiştir fakat klinik önemi net değildir. Ketokonazolün 1-alfa hidroksilaz üzerine etki ederek 1,25(OH)2D3 düzeyini doz bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir (156).

1-alfa hidroksilaz enzimi ayrıca keratinositler, plasentanın trofoblastik tabakasında, granülomdaki aktive makrofajlarda da bulunur. Granülomdaki 1-alfa hidroksilaz böbrektekinden farklı olarak PTH, kalsiyum, fosfor, vitamin D metabolitleri ile kontrol edilmez. İnsanlarda 1-alfa hidroksilazın ekstrarenal kaynaklarının dolaşımdaki 1,25(OH)2D3 düzeyine katkısı ancak gebelik durumu, sarkoidoz, tüberküloz, kronik böbrek yetmezliği gibi durumlarda olur (161).

Vitamin D metabolizmasındaki önemli enzimlerden birisi de 24 hidroksilaz (CYP24A1) enzimidir. 1,25(OH)2D3, 24 hidroksilaz aktivitesinin arttırarak kendi metabolizmasını indükler. 1,25(OH)2D3'ü inaktif metabolitleri olan 1,24,25-(OH)3D ve kalsitroik asit ve 25(OH)D 'yi 24,25(OH)2D' ye dönüştürür ve D vitamini inaktivasyonundan sorumludur (156).

2.2.1.D vitamininin Fonksiyonları

1,25(OH)2D3 biyolojik etkilerini nükleer reseptöre bağlanarak gösterir. Vitamin D reseptörünün (VDR) 1,25(OH)2D3'e olan afinitesi diğer formlara göre üç kat daha fazladır. VDR'yi kodlayan gen 12. kromozomda yer alır ve 1,25(OH)2D3 ile bağlanması ile vitamin D kontrolündeki genlerin transkripsiyonu gerçekleşir. Bu genler kemik metabolizması, kalsiyum hemostazı, hücre siklusu, immunmodülasyon ve diğer hormonal sistemlerle ilişkilidir. 1,25(OH)2D3'ün önemli etkilerinden birisi, enterosit diferansiasyonu ve intestinal kalsiyum

emilimi üzerinedir. Aktif D vitamininin fonksiyonları arasında PTH salınımını baskılamak, intestinal fosfat emilimini arttırmak, osteoblast fonksiyonunu düzenlemek, kemik rezorpsiyonu ve PTH aracılığı ile osteoklast aktivasyonunu düzenlemek de bulunmaktadır. 1,25(OH)₂D₃, bu işlevleri gerçekleştirerek plazma kalsiyum ve fosfat düzeylerinin normal düzeylerinin sağlanmasında önemli bir role sahiptir (157).

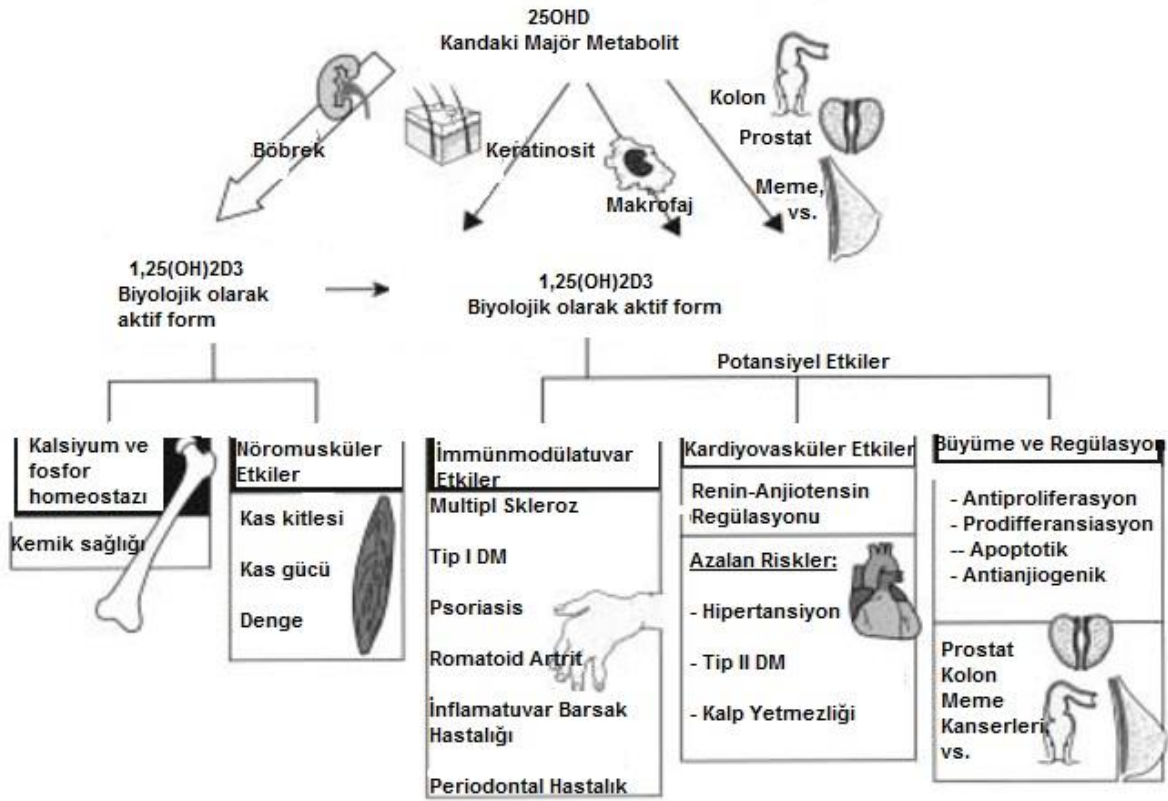
Vitamin D reseptörleri osteoblastlar, mononükleer hücreler, lenfositler, kalp kası, kolon, beyin, hipofiz, tiroid, meme, karaciğer, böbrek, deri, prostat bezi, gonadlar ve pankreas adacık hücreleri gibi birçok dokuda yer almaktadır (161). (Şekil-3)

Vitamin D' nin VDR aracılığı ile etkilediği genler arasında kalsiyum ve fosfat taşıyıcıları ile onların böbrek ve ince barsakta bulunan iyon pompaları (162,163) ile osteoklastik differansiasyon faktörü reseptör aktivatörü olan RANKL (Receptor Activator for Nuclear Receptor kb Ligand) bulunmaktadır. Bu etkisiyle osteoklast aktivitelerini arttırıp ömürlerini uzatarak yeni kemik oluşumunda rol oynar (164,165). VDR ve aktivasyonunda ve inhibisyonunda anahtar rol oynayan enzimlerin tüm vücutta yaygın olarak bulunması vitamin D'nin aynı zamanda bir çok hücrel fonksiyonda rol aldığına göstergesidir (162). Vitamin D'nin VDR aracılığı ile rol aldığı diğer fonksiyonlar;

- Bazı dokularda ksenobiyotik bileşiklerin yıkılması ile ilgili genler üzerine etkilidir (166).
- Safra asidi metabolizmasında rol oynayan genler üzerinde etkilidir (167).
- Keratinosit diferansiasyonunu düzenleyen genler üzerine etkisi gösterilmiştir (168).
- Dermal kıl folikülü gelişimi ile ilgili genler ile ilişkilidir. (169) (VDR eksik olan farelerde cilt kök hücre hasarına bağlı olarak ilk katajen fazı sonrasında total alopesi görülmüştür.)
- Kalsiyum ve kemik homeostazında bulunmaktadır, bu ideal şartlarda yapılmış randomize kontrollü çalışmalar ile gösterilmiştir (163).
- VDR eksik olan farelerde immatür kas geni ekspresyonunun yetişkin dönemde de devamı ve buna eşlik eden gelişmemiş kas lifleri gözlenmekte ve bu durum kurtarıcı diyet sonrasında düzelmemektedir (170). Çift kör randomize kontrollü çalışmalarda D vitamini replasmanının kas gücü ve dengeyi arttırdığı, düşme riskini azalttığı gözlenmiştir (171,172)
- İki randomize kontrollü çalışmada hipertansif hastalarda vitamin D replasmanının kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir, iki büyük prospektif kohort çalışmada da kan basıncı ortalamasının en düşük olduğu 25(OH)D düzeyi 30 ng/ml ve üzeri bulunmuştur (173).

1,25(OH)2D3'ün kardiyovasküler sağlığı etkileyen yaklaşık ikiyüz geni etkilediği bilinmektedir. D vitamin düzeyi vasküler fonksiyonlar açısından önemlidir ancak D vitamininin fazla miktarda alınması makrofajlarda gen ekspresyonunu arttırıp D vitamininin aterosklerotik plaklarda birikmesine neden olabilir (174).

- İmmun sistemin bütün hücreleri VDR eksprese eder. Tip 1 diyabet için genetik yatkınlığı olan obez olmayan farelerde yapılan bir çalışmada yaşamın erken döneminde vitamin D eksikliği olanlarda tip 1 diyabet insidansı daha yüksek görölmüştür. Bir çok epidemiyolojik çalışmada erken dönemde D vitamini replasmanının tip 1 diyabet gelişme riskini azalttığını raporlamıştır (175,176). Fakat bu konuda randomize kontrollü çalışmalar henüz yoktur. Bir metaanalize göre düşük 25(OH)D seviyelerine sahip olanlarda aktif tüberküloz riski daha yüksek bulunmuştur (177) Doğal ve kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan bazı anahtar hücre fonksiyonları ile ilgili genler üzerinde de etkilidir (166).
- Pankreatik beta hücreleri VDR, 1-alfa hidroksilaz ve kalsiyum bağlayıcı protein eksprese eder ve in vitro olarak 1,25(OH)2D3 ile bağlanması artmış insülin sekresyonu ile sonuçlanır.
- Fizyolojik sınırın üzerindeki 1,25(OH)2D3 düzeyleri normal ve malign hücrelerin hücre siklusunu durdurur. Bu hücre siklusu arresti 1,25(OH)2D3' nin E2F transkripsiyon faktörü, siklin ve siklin bağımlı kinaz inhibitörü, epidermal growth faktör (EGF), prostaglandin sentez ve aktivitesi gibi 100'den fazla gen üzerindeki etkisiyle gerçekleşmektedir. Fakat bir çok malign hücrede VDR resistansı, VDR kaybı ya da vitamin D metabolitlerinin artmış katabolizması gibi direnç mekanizmaları gelişmektedir. Kolorektal kanserlerle ilgili bir metaanalize göre serum 25(OH)D >32 ng/ml olanlarda serum 25 (OH)D <12 ng/ml olanlara göre kolorektal kanser insidansı %50 daha az bulunmuştur (178). Serum 25(OH)D düzeyi ve prostat kanseri arasındaki ilişkiye yönelik yapılan bir çok çalışmada negatif ilişki saptanırken, ilişki saptanmayan hatta pozitif ilişki saptanan bir kaç çalışma mevcuttur (178,179). WHI (Women's Health Initiative) alışmasında 7 sene 1 g/gün kalsiyum ve 400IU/gün vitamin D tedavisi ile kolorektal kanser insidansında herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (180), fakat serum 25(OH)D seviyeleri ile kolorektal kanser riski arasında ters ilişki saptanmıştır.



Şekil-3. Aktif D vitamininin endokrin, parakrin, otokrin fonksiyonları (181)

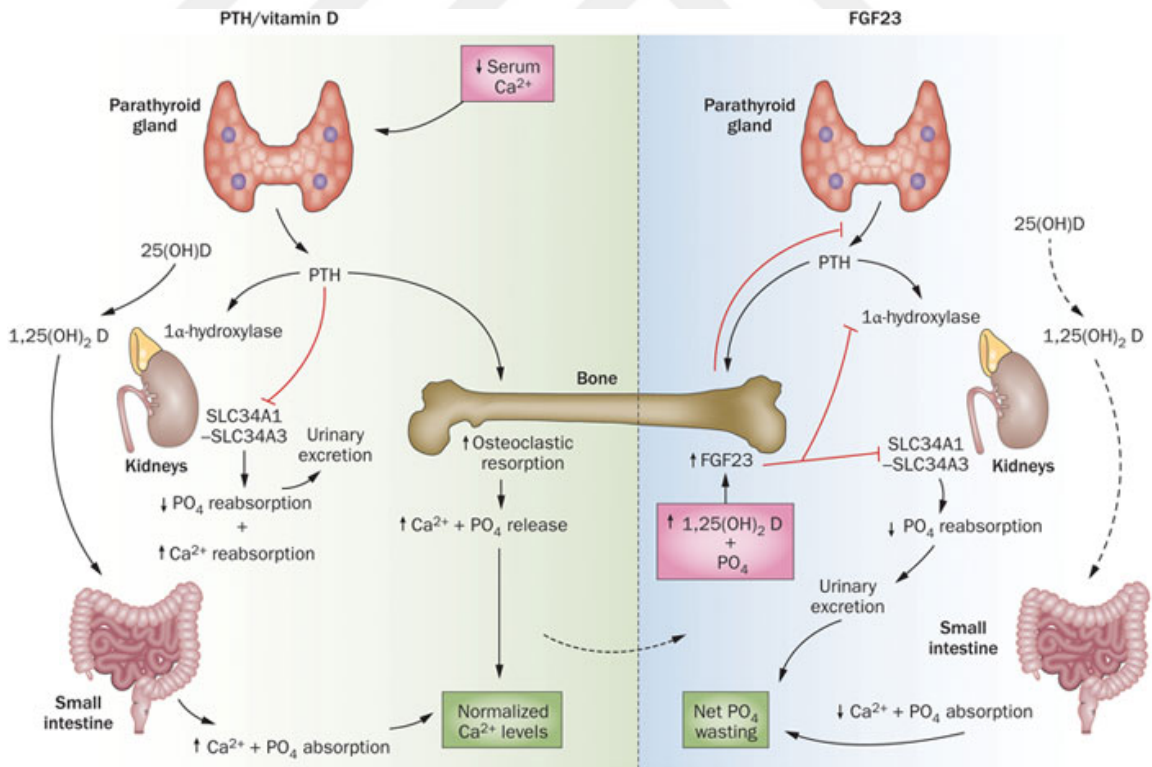
2.2.2. D vitamininin kemik üzerine etkileri

1,25(OH)2D3 intestinal kalsiyum emilimini arttırarak, kalsiyum homeostazı ve kemik metabolizması üzerine etki eder. İnce barsakta kalsiyumun enterositlerden aktif taşınmasında önemli bir rol oynadığı düşünülen kalbindin 9K'nın majör uyarandır. TRPV5 ve TRPV6 (transient receptor potential vanilloid), duodenum ve jejunumda bulunan, D vitaminine duyarlı iki majör kalsiyum taşıyıcısıdır (163). Vitamin D eksikliği ile intestinal kalsiyum emiliminde azalma, sekonder hiperparatiroidi, kemik mineral dansitesinde azalma ve artmış fraktür riski ilişkilidir.

1,25(OH)2D3 iki önemli kemik matriks proteininin transkripsiyonunun denetlenmesinde rol oynar, tip 1 kollajen sentezini baskılar ve osteokalsin sentezini indükler. İn vitro olarak monosit-makrofaj kök hücre öncüllerinden osteoklast farklılaşmasını sağlar ve in vivo olarak yüksek dozlarda osteoblastlar aracılığı ile RANKL üretimini indükleyerek osteoklastik kemik resorpsiyonunu uyarır (182). Bir çok in vivo çalışma göstermiştir ki hormon ve reseptör eksikliğine

bağlı defektler mineral homeostazi sağlandıktan sonra geri dönebilmektedir. Osteomalazik lezyonları olan VDR mutant çocuklarda intravenöz kalsiyum infüzyonu sonrasında osteomalazik lezyonların iyileştiği gösterilmiştir (183). Bu çalışmaların sonucu 1,25(OH)₂D₃'ün asıl görevinin kemik mineralizasyonu için intestinal kalsiyum ve fosfor emilimini düzenleyerek uygun ortamı oluşturmak olduğunu göstermektedir.

1,25(OH)₂D₃'nin fosfat transport üzerindeki etkileri daha az bilinmektedir fakat intestinal fosfat emilimi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Fosfatürik bir hormon olan FGF23'ün ekspresyonunu indükler. 1,25(OH)₂D₃'nin paratiroid bezi üzerinde hücre proliferasyonu ve gen transkripsiyonunda etkisi olduğu gösterilmiştir. Paratiroid bezinden salgılanan parathormon, kemik ve böbrek hücre yüzeylerindeki reseptörlere bağlanarak kan kalsiyumunu artırır, ayrıca böbrekte 1,25(OH)₂D₃ sentezini artırarak kalsiyumun barsaktan emilimini artırır, kemik rezorpsiyon ve döngüsünü de artırır (184). İn vitro ve in vivo çalışmalarda 1,25(OH)₂D₃'ün parathormon gen transkripsiyonunu inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir. (Şekil-4)



Şekil-4. D vitamin metabolizması ve hormonal kontrolü (185)

2.2.3. D vitamini ve Diyabet İlişkisi

Son yıllarda vitamin D ve diyabet de dahil bir çok kronik hastalık arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmalar dikkat çekicidir (181). Tip 1 DM otoreaktif T hücrelerinin pankreatik adacık hücre antijenlerini tanınması ve insulin üreten beta hücrelerini yıkması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Tip 1 DM insidansının coğrafi özelliklere göre değişiklik göstermesi sebebiyle D vitamini düzeyleri ile tip 1 DM arasında ilişki olabileceği düşünülmektedir, bazı çalışmaların sonucuna göre D vitamini düzeyleri ile tip 1 DM ilişki gösterir gözükmemektedir fakat ilişki bulunmayan çalışmalar da mevcuttur (26,27).

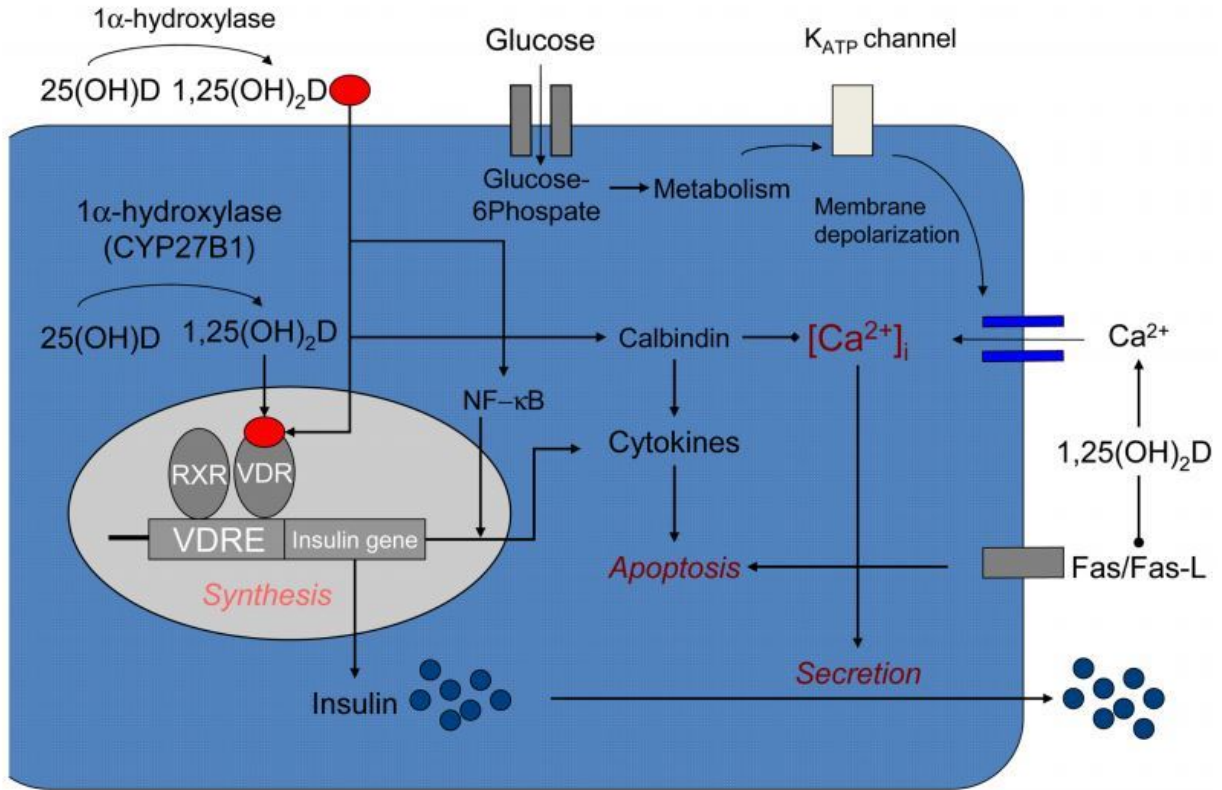
D vitamininin beta hücre fonksiyonu ve insülin sensitivitesi üzerine etkileri hakkında bilimsel veriler artmaktadır. In vitro çalışmalarda vitamin D immunsupresif etki göstermekte, lenfosit proliferasyonunu ve sitokin üretimini önlemekte ve hayvanlarda yapılan çalışmaların sonucuna göre vitamin D replasmanı tip 1 diyabet gelişimini önler gözükmemektedir (175). Tip 1 diyabet insidansının yüksek olduğu ve gün ışığına maruziyetin bütün sene kısıtlı olduğu bir bölge olan Finlandiya’da yapılan bir kohort çalışmasında, süt çocukluğu döneminde önerilen dozda vitamin D alanlarda tip 1 diyabet gelişimi daha az gözlenmiştir (25).

Vitamin D eksikliği olan hayvanların beta hücrelerinde yapılan in vitro çalışmada insulin sekretogoglarına bozulmuş bir insulin yanıtı olduğu gösterilmiştir. İn vitro olarak replasman yapıldığında insulin salınımının düzeldiği gösterilmiştir. Fakat vitamin D’nin etkisiz olduğuna dair de çalışmalar mevcuttur (175).

VDR pankreas adacık hücreleri de dahil bir çok dokuda bulunmaktadır. 1,25(OH)2D3’ün beta hücrelerindeki VDR’e bağlanması ile vitamin D sinyal aktivasyonu olur. VDR reseptörü insan insulin gen promoter bölgesine bağlanarak insulin reseptör sentezini sağlar. D vitamini, pankreas beta hücreleri üzerine bir diğer etkisini de kalsiyumun hücre içine girişini sağlayıp, hücre içi kalsiyum düzeylerini arttırarak dolaylı bir şekilde gösterir (Şekil-5). Kalsiyum transportundaki bozulmalar insulin sekresyonunu olumsuz etkileyebilir. Hipovitaminozis D ayrıca parathormon seviyelerinde yükselmeye sebep olur, bu da insulin rezistansı ile ilişkilidir (186).

Kalbindin, sitozolik bir proteindir. D vitamini tarafından kontrol edilen, pankreasta bulunan kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Kalbindin pankreasta intrasellüler kalsiyum regülasyonu üzerinden insülin sekresyonunu regüle eder ve pankreas beta hücrelerinin apoptozisine engel olur (187) (Şekil-5).

İmmün sistem hücrelerinin hemen hemen hepsi VDR eksprese etmektedir. Tip 1 DM hastalarında vitamin D'nin rolü in vitro çalışmalarda gösterildiği üzere immün sistem üzerinedir. Tip 2 DM hastalarında ise D vitamininin etkisinin beta hücrelerindeki inflamasyonun baskılanması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca VDR ve VDBP ile ilişkili varyasyonlar da glukoz toleransını ve insulin sekresyonunu etkileyebilir. Normal insulin salgılanmasının gerçekleşebilmesi için vitamin D'nin gerekliliği hem in vitro hem in vivo çalışmalar ile gösterilmiştir. 2007'de Larsen ve arkadaşları yaptığı çalışma ile IL-1 blokajının kan şekeri regulasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir (164). 1,25(OH)₂D₃, TNF alfa ve diğer proinflamatuvar sitokinler için ana transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin inaktivasyonunu sağlar (188), sitokinlerin indüklediği bir çok otoimmün hastalığın patogenezinde rolü olduğu bilinen ve normal beta hücrelerinde bulunmayan, Fas ekspresyonunu azaltarak pankreas beta hücre apoptozunu önler(189) (Şekil-5).



Şekil-5 Vitamin D ve insulin sekresyonu (Mitri J. et al/ Endocrinol Metab Clin North Am.2014; 43(1): 205–232 uyarlanmıştır) (186)

D vitamininden fakir diyet ile beslenen fareler üzerinde yapılan araştırmada, ekzojen insüline azalmış yanıt olduğu görülmüştür, bu da insulin direncinin göstergesidir. Vitamin D eksikliğinde glukagon sekresyonunda bozulma olmaksızın insulin sekresyonunda azalma görülmektedir. Ayrıca vitamin D eksikliği olanlarda replasman sonrasında glukoz toleransında ve glukozu karşı insulin yanıtında bir miktar düzelme gözlenmiştir. Vitamin D'nin beta hücre fonksiyonu üzerindeki ana etki mekanizması kalsiyum bağlı endopeptidaz aracılığı ile proinsülinin insulin oluşumu ile ilişkilidir (190). Sağlıklı ve vitamin D eksikliği olan kişilerde metabolik sendrom prevalansı, D vitamin düzeyi normal sınırlarda olanlara göre daha yüksek bulunmuştur (162).

Vitamin D'nin bir diğer olası etkisi renin-anjiotensin sistemi üzerinedir. Renin-anjiotensin sisteminin (RAS) aşırı aktivasyonu kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, renal patolojiler ve diyabet ile ilişkilidir. Artmış RAS aktivasyonunun beta hücre fonksiyonu ve periferik insulin sensitivitesi üzerine negatif etkisi olduğu bilinmektedir. Vitamin D'nin RAS sistemi üzerindeki negatif etkisi ile glisemik kontrol üzerine olumlu etkileri olabilir. In vitro çalışmalarda da hipergliseminin pankreatik RAS aktivasyonuna sebep olduğu ve bu şekilde adacık hücre disfonksiyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Hayvan modellerinde RAS antagonistlerinin beta hücre fonksiyonunu iyileştirdiği, adacık hücrelerinin fibroz ve apoptozunu önlediği gösterilmiştir (191).

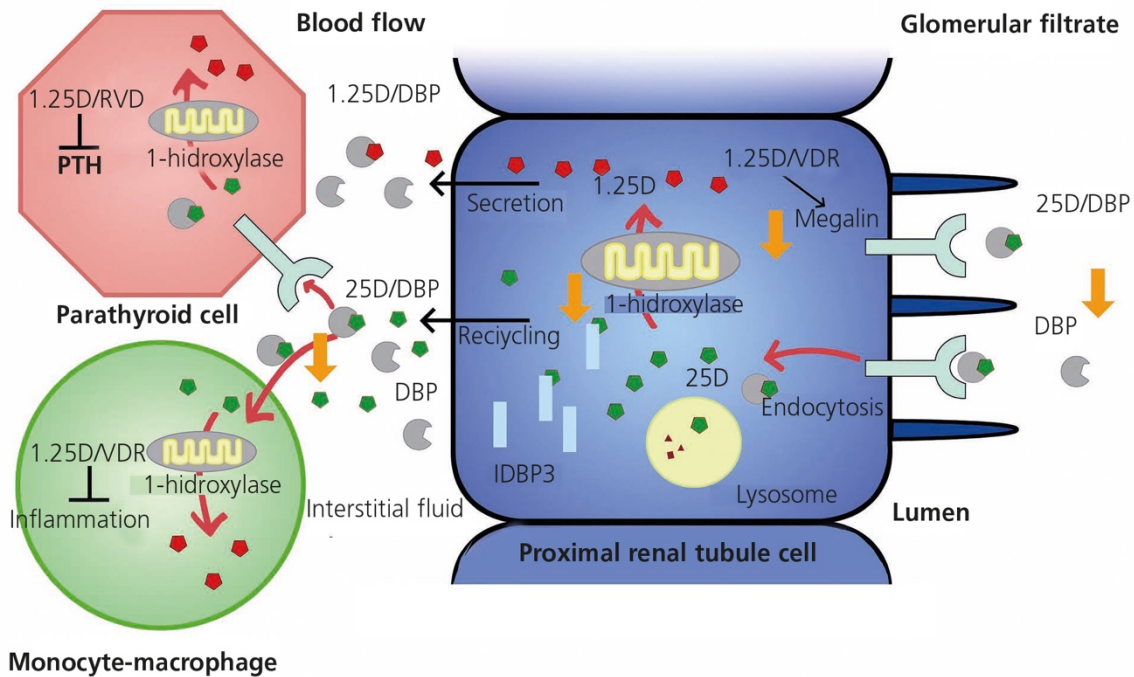
2.2.4. Vitamin D Bağlayıcı Protein

Vitamin D bağlayıcı protein polimorfik, tek zincirli serum glikoproteinidir. Dolaşımda 25(OH)D'nin yaklaşık %90'ı VDBP'ye, %10'u albumine bağlı bulunmaktadır, %1'den azı da serbest formdadır (192). Serbest hormon hipotezine göre biyolojik olarak aktif olan ise serbest durumdaki D vitamini'dir. VDBP, D vitamini için rezerv görevi görür ve yarı ömrünü uzatır. VDR'ne bağlanarak etki gösteren formu 1,25(OH)2D3 olduğu halde daha stabil olması sebebiyle vitamin D durumunu değerlendirmek için serum 25(OH)D düzeyleri ölçülmektedir. VDBP ve albumin düzeylerinin serum 25(OH)D düzeyini etkilediği ilk olarak Bikle ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (32).

VDBP, karaciğerde östrojen bağımlı olarak sentezlenir. İdrar, serum, serebrospinal sıvı, tükürük, asit, semen, süt ve lenfosit, monosit ve nötrofillerin yüzeyinde varlığı gösterilmiştir.

Sağlıklı bireylerin serumlarında 300-600 mg/L konsantrasyonunda bulunur (193). Vitamin D eksikliğinin düzeltilmesiyle düzeyi değişmez, yaşa bağlı değişiklik gösterilmemiştir. Yapılan çalışmalarda kandaki düzeyinin sabah saatlerinde düşüş ve gün içinde hızlı bir yükselme ile karakterize diurnal ritm gösterdiği gözlenmiştir (194).

VDBP polimorfizmleri ve etnik veya genetik özellikler VDBP düzeyini etkiler. Batı Afrika kökenlilerde VDBP düzeyleri daha düşüktür. Ayrıca oral kontraseptif kullanımı (pozitif etkiler) (195), vücut kitle indeksi, lipid parametrelerinin (pozitif etkiler) (196) VDBP düzeylerini etkileyebileceği gösterilmiştir. Amerika'da yapılan bir çalışmada siyah ırkta 25(OH)D düzeyleri beyaz ırka göre daha düşük bulunmasına rağmen VDBP düzeyleri kullanılarak hesaplanan biyoaktif D vitamin düzeyleri beyaz ırk ile benzer bulunmuştur (35). VDBP, 25(OH)D için rezervuar görevi görmekte ve yarı ömrünü uzatmaktadır, ve böbrekte megalin sayesinde reabsorbsiyonunda görev alır (Şekil-6).



Şekil-6. Megalin ve böbrekte 25(OH)D'nin reseptör ilişkili alımı. 25(OH)D ve VDBP'nin proksimal renal tübülde absorbe edilebilmesi için megalin reseptörü gereklidir. Proksimal tübül hücrelerinde 25(OH)D, 1-alfa hidroksilaz ile 1,25(OH)2D3 formuna dönüşür (197).

Yakın zamanda, biyoaktif vitamin D düzeyini ölçen ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi geliştirilmiştir fakat pratikte kullanılır halde değildir (198), serbest ve biyoaktif D vitamin düzeyini belirlemede VDBP ve albumin bağlanma katsayılarına dayanan matematiksel methodlar ile yapılan ölçümlerin direk ölçümler ile iyi korelasyon gösterdiği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (32) (formül 1). Hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezliği hastalarında, hesaplanan serbest D vitamin düzeyinin serum parathormon seviyeleri ile daha iyi korelasyon gösterdiği saptanmıştır (36). Yine nefrotik sendromlu hasta grubunda yapılan kesitsel bir çalışmada serbest ve biyoaktif D'nin total 25(OH)D'ye göre kemik mineral dansitometrisi (KMD) ile daha iyi korelasyon gösterdiği saptanmıştır (199). ABD'de 49 sağlıklı kişide yapılan KMD ile total ve biyoaktif D vitamini ilişkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kemik metabolizmasını değerlendirmede biyoaktif D düzeylerinin daha iyi bir gösterge olduğu ve VDBP'nin 25(OH)D ve KMD ilişkisini etkilediği sonucuna ulaşılmıştır (200). Bu çalışmadan yola çıkarak yapılan 304 sağlıklı bireyin serum 25(OH)D, biyoaktif ve serbest D, PTH seviyelerinin kantitatif bilgisayarlı tomografi (QCT) sonuçları ile ilişkisinin değerlendirildiği çalışmada ise biyoaktif D'nin daha iyi bir gösterge olduğuna dair anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (201).

Formül 1: Serbest 25 (OH)D düzeyini hesaplamada kullanılan formül (Ultrafiltrasyon yöntemiyle ölçülen ve hesaplanan 25 (OH)D düzeyleri arasında rapor edilen korelasyon katsayısı 0.925'tir) (K(ALB): 6×10^5 , K(DBP): 7×10^8)(32)

$$\text{Serbest 25 (OH)D} = \frac{-b + \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

$$a = K(\text{DBP}) * K(\text{ALB}) * [\text{ALB}] + K(\text{DBP})$$

$$b = K(\text{DBP}) * [\text{DBP}] - K(\text{DBP}) * [\text{DTOTAL}] + K(\text{ALB}) * [\text{ALB}] + 1$$

$$c = -[\text{DTOTAL}]$$

VDBP polimorfizmleri (Gc1F, Gc1S, Gc2), vitamin D'ye bağlanma afinitelerini etkiler gözükmektedir. Gc1F en yüksek afiniteye, Gc2 en düşük afiniteye sahiptir. Bu aleller etnik farklılık göstermektedir (202). Düşük serum 25(OH)D seviyesine sahip bir kişinin VDBP seviyesinin düşük olması ya da vitamin D'ye daha düşük afiniteye sahip bir Gc genotipine sahip olması sebebiyle serbest D vitamin düzeyleri normal sınırlarda olabilir.

Bir çok çalışmada tip 1 diyabet tanılı hastalarda, D vitamini düzeyi normal sağlıklı popülasyona göre daha düşük bulunmuştur (27,28). Yapılan bir çalışmada mikroalbuminüri olan tip 1 diyabet tanılı hastaların idrarında VDBP düzeyi daha yüksek saptanmıştır, bu durumun düşük vitamin D seviyeleri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. (203) . Yakın zamanda vitamin D reseptör polimorfizmleri, vitamin D metabolizması ve vitamin D enzimlerini kodlayan genlerin tip 1 diyabet ile ilişkisini araştıran bir çok çalışma mevcuttur. Tip 1 diyabet hastalarında serum VDBP düzeylerini araştıran bir çalışmada tip 1 diyabet grubunda VDBP düzeyleri kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır fakat VDBP genotiplerinde kontrol grubuna göre bir fark saptanmamıştır (204).

Tip 1 DM hastalarında VDBP geni ekzon 11 ile ilişkili 416. kodonda aspartik asit yerine glutamik asit, ve 420. Kodonda threonin yerine lizin aminoasit değişiklikleri ile sonuçlanan iki polimorfizm gösterilmiştir (205), fakat bu ilişki ABD’de beyaz ırkta, 163 kontrol, 181 tip 1 diyabet ve 215 tip 2 diyabet hastasında yapılan çalışmada saptanmamıştır (206).

VDBP’den yoksun farelerde yapılan çalışmada bu fareler sağlıklı ve fertildir, bu da göstermektedir ki normal gelişim için VDBP zorunlu değildir fakat vitamin D’ye bağlanma, C5a ilişkili kemotaksis, makrofaj aktivasyonu gibi fonksiyonları sebebiyle çevresel değişikliklere inflamatuvar ve immunmodulatuvar yanıtta gereklidir. İmmünolojik açıdan nötrofil kemotaksisini direkt olarak pozitif bir şekilde kontrol eder, ayrıca endojen kemotaksis inhibitörlerini nötralize ederek ikili rol oynar. VDBP osteoklastik aktiviteyi uyarak kemik döngüsünde de rol oynamaktadır. Septik şok, hepatik nekroz, respiratuvar distress sendrom gibi durumlarda ölü hücrelerden G-aktin ve F-aktin salınımı olmaktadır ve bu durum disemine intravasküler koagülasyon ve çoklu organ yetmezliği ile ilişkilidir. DBP bu prokoagulan faktörlerin damar içinde temizlenmesinde rol almaktadır. Bir çok çalışma aktin temizleme sisteminin ciddi sepsis, karaciğer yetmezliği, solunum yetmezliği durumlarındaki önemini göstermektedir. (207).

2.2.5. D vitamini eksikliği, sebepleri ve klinik bulguları

Hipokalsemi, hipofosfatemi, çocuklarda rikets ve osteomalazi ve yetişkinlerde osteomalazi ile karakterize aşikar vitamin D eksikliği artık bir çok gelişmiş ülkede görülmemektedir. Fakat osteoporoz ve artmış düşme ve kırık riski ile karakterize subklinik vitamin D eksikliği sık görülmektedir. Bu sebeple vitamin D eksikliğin tanı ve tedavisi kas iskelet sisteminin sağlığı ve immun sistem, kardiyovasküler sistem gibi iskelet dışı etkileri açısından önemlidir.

Son 10 yıldır D vitamini eksikliği ile ilgili çalışmalar artış göstermiştir. ABD’de siyahi ırkın %90’ı ve beyaz ırkın dörtte üçünün serum 25(OH)D düzeyleri 30 ng/ml’nin altındadır (30). D vitamini düzeyi yaş, ırk, yaşanılan bölge ve mevsim gibi birçok faktörden etkilenir. PTH değeri D vitamini eksikliğini değerlendirmede önemli bir parametredir. Yapılan çalışmalarda 25(OH)D düzeyi 30 ng/ml (75 nmol/L)’nin altına düşmesi halinde PTH değerinin yükselmeye başladığı saptanmıştır. 20 ng/ml’nin altındaki değerlerde klinik olarak iskelet sistemi bulguları gözlenmektedir. 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml (50 nmol/L)’nin altındaki değerler ‘‘D vitamin eksikliği’’, 20-29 ng/ml (50-75 nmol/L) arası değerler ‘‘D vitamini yetersizliği’’ ve 30-100 ng/ml (75-250 nmol/L) arası da ‘‘D vitamin yeterliliği’’ olarak değerlendirilmektedir (30,31).

D vitamininin iki ana kaynağı diyet ve ultraviyole ışınların etkisi ile kutanöz sentezlenmedir. Diyet ile yetersiz alım ya da emilim eksikliği ve yetersiz güneş ışığına maruziyet D vitamini eksikliğine sebep olur (30).

D vitamini eksikliği durumunda PTH düzeylerinde yükselme olur ve PTH da renal 1 alfa-hidroksilaz enzimini indükleyerek 25(OH)D’den 1,25(OH)2D3 yapımını arttırabilir ve bu durum düşük D vitamini durumlarında 1,25(OH)2D3’ün normal düzeyde saptanmasına neden olabilmektedir. Ayrıca 25(OH)D’ nin dolaşımdaki yarı ömrü 2-3 hafta iken 1,25(OH)2D3’ ün yarı ömrü 4 saattir, bu sebeple hastanın vitamin D durumunu yansıtmaz. D vitamini eksikliğini belirlemek için standart olarak 25(OH)D düzeyleri ölçülmektedir. 1,25(OH)2D3 düzeylerinin ölçülmesi fosfat ve 25(OH)D metabolizma bozuklukları, onkogenik osteomalazi, vitamin D dirençli rikets, kronik böbrek yetmezliği, kronik granulomatöz hastalıklar gibi durumlarda faydalı olabilir (31). D vitamin eksikliği prevalansı dünya genelinde artış göstermektedir. ABD’de toplumun sadece %25-30’unda 25(OH)D düzeyi 30 ng/ml’nin üzerinde saptanmış ve %25-20’unun 25(OH)D≤20 ng/ml olarak saptanmıştır (30).

D vitamin eksikliğinin sebepleri (208):

- D vitamininden zengin besinlerin az alınması (balık, balık yağı, D vitamininden zenginleştirilmiş ürünlerin az alınması)
- Güneş ışığına maruziyetin az olması; 37. Paralelin üzerinde yaşayanlarda kış aylarında, yeterli UV-B ışınlarına maruz kalmadıkları için, D vitamini sentezi yetersiz olmaktadır. UV-B ışınlarından maksimum yararlanım saat 10:00 ile 14:00 arasındadır, 1 minimal eritem dozunda 10000 IU D vitamini sentezi olmaktadır.

- Koyu tenli kişilerde melanin yokluğu sebebiyle aynı düzeyde D vitamin sentezi için 5 kat daha fazla süre güneş ışığına maruziyet gerekmektedir.
- Güneş koruyucu krem kullanılması D vitamin sentezine engel olmaktadır. Giyim alışkanlıkları da D vitamini sentezine etki etmektedir.
- 25-hidroksilasyon karaciğerde gerçekleşmektedir, ciddi hepatik parenkimal hasarda 25(OH)D eksikliği görülür.
- İlaç etkileşimleri; vitamin D'nin artmış metabolizması sebebiyle antikonvülzan ilaç kullananlarda ve antitüberküloz tedavi kullananlarda vitamin D eksikliği görülür (209,210).
- Kreatinin klerens 30-40 ml/dk'a düştüğünde renal 1-alfa hidroksilasyondaki bozulma sebebiyle vitamin D'nin aktif metabolitinin eksikliği görülür. Renal 1-alfa hidroksilasyonundaki bozulma, intestinal kalsiyum emilimini engeller ve hipokalsemiye sebep olur, renal yetmezlikle ilişkili olarak fosfat klerensindeki azalma ile birlikte kandaki fosfat seviyeleri yükselir ve FGF-23 düzeylerindeki artış, kalsitriolde azalmaya ve hipokalseminin derinleşmesine sebep olur. Sonuç olarak sekonder hiperparatiroidi kemikten kalsiyum ve fosfor salınımına sebep olur.
- VKİ>30 olan kişilerde D vitamin yağ dokusunda depolanır ve D vitamini eksikliği görülür.
- Gebelikte D vitamin eksikliği görülür, anne ve bebeğin kemik sağlığı için annede yeterli D vitamini olması gereklidir.
- Anne sütünde D vitamin yetersizdir ve bebeğin sadece anne sütü ile beslenmesi D vitamini eksikliği için risk oluşturur.
- Yaş ve immobilité D vitamini eksikliğine yatkınlık oluşturmaktadır. 70 yaşındaki bir kişide genç bir kişinin %25'i kadar D vitamini sentezi olmaktadır.

Uzun süreli ve ciddi vitamin D eksikliği intestinal kalsiyum ve fosfor emilimini engeller ve hipokalsemiye sekonder hiperparatiroidi, buna bağlı olarak fosfatüri ve kemiklerin demineralizasyonuna sebep olur. Uzun süreçte yetişkinlerde halsizlik, kas güçsüzlüğü, yaygın kas ve kemik ağrılarıyla seyreden osteomalazi, çocukluk çağında iskelet yapısında değişikliklerle seyreden rikets hastalığına neden olur. Yapılan çalışmalarda 25(OH)D düzeyi düştükçe kas gücü ve dengenin bozulması ile birlikte kırık riskinin arttığı tesbit edilmiştir (211).

Türkiye, coğrafi özellikleri sebebiyle güneş ışınlarından yeterli faydalanan bir ülkedir fakat buna rağmen D vitamin eksikliği sık görülmektedir. Avrupa'da yaşayan göçmenler üzerinde yapılmış çalışmaların sonucuna göre, Türklerin D vitamin düzeyi Avrupa'daki yerel halktan daha

düşük bulunmuş ve buna sebep olarak giyim alışkanlıkları, güneşe çıkmama, sık doğum ve emzirme, düşük sosyoekonomik durum, obezite gibi faktörler belirlenmiştir, Türkiye’de yaşayanlar ile karşılaştırıldığında ise yine alt gruplara göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir (212).

Türkiye’nin de içinde bulunduğu coğrafi konumda D vitamini yoğun olarak mayıs-kasım ayları arasında sentezlenmektedir ve cildin güneş ışını ile direk teması gereklidir. D vitamini sentezi için ışınların açısı 10:00-15:00 arasında uygun olmaktadır. Bu saatlerde, vücudun %70’i 1 minimal eritem dozu olarak tariflenen ciltte pembeleşme olduğunda 10.000- 25.000 IU D vitamini sentezleyebilir. Pigmentasyon, yaşlanma, güneş koruyucu kremler gibi bir çok faktör D vitamini sentezini etkilemektedir. Cilt rengine göre, açık tenli kişilerde minimal eritem dozuna 15 dakikada ulaşılırken, koyu ciltli bir kişide süre daha fazla olabilir (31).

2.2.6. D vitamin eksikliğine yaklaşım

Sebepler sonuç ilişkilerini gösterir insan çalışmaları eksik olsa da D vitamini fonksiyonları ile ilgili elimizdeki veriler D vitamini düzeylerini normal sınırlarda tutmayı gerektirmektedir. 19-70 yaş arasında kemik ve kas sağlığının sağlanması için gerekli minimum günlük D vitamin ihtiyacı 600 IU, 70 yaş üzerinde ise 800 IU’dur. Serum 25(OH)D düzeyini 30 ng/ml’nin üzerinde tutmak için ise günlük 1500-2000 IU D vitamini alınmalıdır (31). Tedavide ergokalsiferol (vitamin D2) ya da kolekalsiferol (vitamin D3) kullanılabilir fakat daha etkin olması ve tedaviyi standardize etme amacıyla vitamin D3 kullanılmaktadır (31).

Serum 25(OH)D, PTH, kalsiyum düzeyleri ölçüldükten ve hiperkalsemi, primer hiperparatiroidi dışlandıktan sonra, 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml’nin altında olan hastalarda 8 hafta boyunca haftalık 50000 IU vitamin D verildikten sonra günlük 1500-2000 IU idame tedavisi ile devam edilmelidir. 25(OH)D 20-30 ng/ml olanlarda tedaviye direkt idame dozla, günlük 1500-2000 IU olarak başlanır (31). Tedavinin 3-6. haftasında serum 25(OH)D düzeylerine bakılmalı ve gerekiyorsa ek doz verilmelidir. Obezlerde ve vitamin D metabolizmasını hızlandıran ilaç kullananlarda idame dozu 2-3 kat fazla verilmelidir (31). Eğer iki siklus tedavi verildikten sonra serum 25(OH)D seviyesinde yükselme gözlenmedi ve ilaç uyumu sorgulandıysa intestinal yağ malabsorbsiyonunun sorgulanması önerilmektedir (30).

GFR>30 ml/dk olanlarda normal renal fonksiyona sahip hastalar gibi replasman planlanmalıdır, GFR<30 ml/dk olanlarda 1-alfa hidroksilaz enzim eksikliği olması sebebiyle replasman amacıyla kalsitriol kullanılmalıdır. Kronik karaciğer yetmeliğinde, D vitamini

yetmezliğinin tedavisinde al fakalsidiol kullanılmalıdır.

Vitamin D toksisitesi durumunda hiperkalsemi ve hiperkalsiüri görülebilir ve çalışmaların sonuçlarına göre güvenli üst sınır $25(\text{OH})\text{D} < 100 \text{ ng/ml}$ olarak değerlendirilebilir (213). Tedavide hedef D vitamini düzeyini 30 ng/ml üzerinde tutmaktır, günlük güvenli D vitamini doz limiti 4000 IU 'dır (186, 214).

2.3. Kemik Yapısı ve Fonksiyonu

İskelet vücuttaki en büyük organ sistemlerinden birisidir ve mineralize matriks ve oldukça aktif hücresel fraksiyonlardan oluşur. Özelleşmiş kemik hücreleri, mineralize ve mineralize olmayan bağ doku matriksi ve kemik iliği kavitesi, vasküler kanallar, kanaliküller, osteosit içeren lakünler içerir. Vücudun yapısal bütünlüğünü sağlar, serum kalsiyum ve fosfat seviyelerinin dengede tutulmasında rol oynar. Yapısal ve metabolik fonksiyonlarındaki dengesizlik kemik hastalıklarının patogenezinde önemlidir (215).

Yetişkin iskelet sisteminde iki ana tip kemik bulunur. Kortikal kemik, uzun kemiklerin gövdesinde bulunan yoğun bir yapıdır, iskelet sisteminin %80'ini oluşturur. İskelet sisteminin şeklini belirler ve mekanik dayanıklılığını sağlar. Yeni kemik yapımı sırasında modeling kemiğe şeklini verir, mekanik etkiler ile belirlenir ve ergenlik çağındaki büyümeden sorumludur. Remodeling ise yaşam boyu devam eder, koordine bir şekilde kemik yapım ve yıkımıyla seyreder, trabeküler kemikte kortikal kemikten daha aktiftir. Kortikal kemiğin yapısında, uzun eksenine paralel seyreden Havers kanalları ve osteonlar ile Havers kanalları birbirlerine bağlayan Volkman kanalları bulunmaktadır (216). Kortikal kemik dokusunun matriksi sertleşmiştir ve osteositler aracılığıyla bu kanallardaki kan damarlarından çıkan besleyici maddelerin diffüzyonu ile beslenir. Uzun kemiklerin özellikle uç kısımlarda, vertebra cismi boyunca, pelvisin ve diğer büyük yassı kemiklerin iç yüzlerinde ise trabeküler (süngerimsi) kemik bulunmaktadır (217).

2.3.1. Kemik Matriks ve Mineral Yapısının Kimyasal Özellikleri

Kemik matriksi, değişik oryantasyonlarda tabakalar halinde uzanan ve matriksin gücüne katkıda bulunan tip 1 kollajen lifleri içerir. Bunun dışında az miktarda diğer kollajen proteinler ve kollajen olmayan proteinler de içermektedir. Kollajen olmayan proteinler fosforile olmaları sebebiyle kalsiyum ile bağlanabilmektedir ve kemiğin mineralizasyonunun kontrolünde rol alır (218).

Kemik mineralizasyonu karbonat, magnezyum, sodyum ve potasyum içeren hidroksiapatit kristallerinden oluşur. Kemiğin mineralizasyonu iki ayrı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Kalsifiye kıkırdığın ilk mineralizasyonu matriks veziküllerinde olmaktadır (218). Bu veziküller kondrosit ve osteoblastlardan salgılanmakta, alkalen fosfataz içermekte ve kristalizasyon için yuva oluşturmaktadır. Lamellar kemikte bu veziküller nadir olarak bulunmaktadır ve kollajen birikimi sonrasında mineralizasyon hemen olmamaktadır. Mineralizasyonun oluşması için fibrillerin yerleşiminde ve kollajen olmayan proteinlerin kompozisyonunda değişiklik olması, yeterli kalsiyum, fosfor ve alkalen fosfataz bulunması gerekmektedir. Vitamin D eksikliği ve hipofosfatazi durumunda bu fonksiyonlar gerçekleşemez (218).

Kemik remodelinginin bir parçası olan kollajen yıkımı, osteoblastlar tarafından sentezlenen kollajenazlar ile gerçekleşir. Uyarılmamış durumdaki osteoblastlar az miktarda kollajenaz salgırlar ve kollajenaz seviyesindeki değişiklikler kemik remodelingi ile korelasyon gösterir. Osteoblastlardan kollajenaz üretimi hormonlar ve sitokinler aracılığı ile kontrol edilir (218).

2.3.2. Osteoblast Diferansiyasyonu ve Fonksiyonu

Osteoblastlar mezenkimal kök hücreden köken alır ve kemiğin konnektif doku matriksinin oluşumundan sorumludur. Osteoblastlar gap jonksiyonlar ile birbirine bağlıdır, sıkı bir endoplazmik retikulum ve büyük bir Golgi cisimciği içerir, kollajen ve kollajen olmayan proteinler salgırlar. Osteoblast aktivitesi kemik yapımı sırasında değişiklik gösterir, bazıları uzun ve sıkı bir şekilde dizilmiştir ve bol miktarda matriks üretirken bazıları yassı ve daha az miktarda matriks üretebilirler. Osteokalsin sadece osteoblastlar tarafından salgılanır ve serum seviyeleri osteoblast aktivitesini yansıtır (218).

Matür osteoblastlar matriks üretemezler ve kemik yapımı için hormonlar ve lokal sinyaller aracılığı ile yeni hücreler o bölgeye gelirler, osteoblastların sayı ve fonksiyonları bu hormonlar ve lokal sinyaller ile belirlenir. Matür osteoblastlar apoptoza uğrayabilir, osteosite dönüşebilir ya da kemiğin yüzeyinde yassı bir tabaka oluşturabilirler (218).

Kemik iliği stroması osteoblast, kondrosit ve adiposite dönüşme kapasitesine sahip pluripotent hücreler içerir. Hücrel fenotipi mikroçevre, intraseluler sinyal ve gen ekspresyonu üzerine etkileri belirler. *Runt ilişkili transkripsiyon faktörü* (RUNX2) osteoblasta diferansiyasyonda rol oynar (219,220).

Osteoblastın osteosit dönüşümünde metabolik aktivite redüksiyona uğrar fakat tamamen kaybolmaz (221). Osteositler kollajen sentezine devam eder ve mineralizasyonda rol oynar fakat osteosit-osteoblast ilişkisinin asıl görevi mekanik baskı ve deformasyonu algılayarak kemik remodellingini uyarmaktır (222).

Osteoblastik kökenden gelen hücreler kemiğin yapımında ve resorbsiyonunun başlatılmasında önemlidir. Osteoklastogenezis için gerekli olan *receptor activator for nuclear factor κ B ligand* (RANKL) ve *colony-stimulating factor 1* (CSF-1)'i osteoblastlar tarafından salgılanırlar. Ayrıca kemik rezorbsiyonunda görev alan diğer prostaglandinler, lokal büyüme faktörleri, sitokinlerin salgılanmasını kontrol ederler. Kemik üzerinde osteoklastların bağlanmasını ve etki etmesini önleyen proteinleri parçalayan; plazminojen aktivatörü, kollajenaz ve metalloproteinazları üreterek kemik rezorbsiyonuna katkıda bulunurlar. Aynı zamanda growth faktörler, kemokinler ve sitokinler aracılığı ile hematopoetik hücrelerin gelişimini etkilerler (218).

2.3.3. Osteoklast Diferansiyasyonu ve Fonksiyonu

Osteoklastlar hematopoetik progenitor hücrelerden köken almıştır ve myeloid orijinli olduğu düşünülmektedir. Koloni Stimulan Faktör-1 (CSF-1) replikasyonundan ve diferansiyasyonundan sorumlu sitokindir. Osteoklast diferansiyasyonunda 1,25(OH)2D3, prostaglandinler, IL-1, IL-6, TNF gibi bir çok lokal ve sistemik hormon rol almaktadır (218).

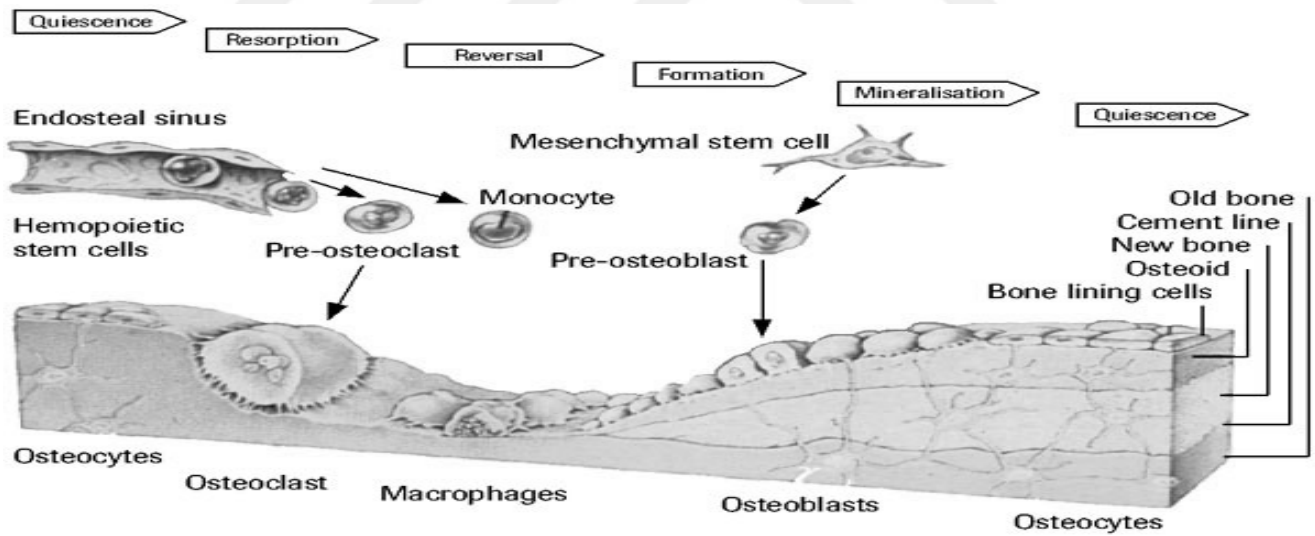
Osteoklast prekürsör hücreleri kemik iliğinde multipotent hücrelerdir ve monosit, makrofaj, dendritik hücre ve preosteoklastlara dönüşebilirler (223). RANKL osteoklast oluşumunun ana stimulatörüdür, TNF protein ailesindendir. RANKL üretimi, parathormon, 1,25(OH)2D3, prostaglandinler ve bir çok sitokin tarafından uyarılır. RANKL'dan yoksun farelerde osteoklast oluşumu gerçekleşmez ve osteopetrozis gelişir (218).

Osteoprotegrin, osteoklastogenezin inhibitörüdür. Parathormon, 1,25(OH)2D3, prostaglandin E2 tarafından inhibe edilir. Osteoprotegrin RANKL proteinin RANK (receptor activator for nuclear factor κ B) reseptörüne bağlanmasını önler. Parathormon, 1,25(OH)2D3, Prostaglandin E2 tarafından inhibe edilir. Matür osteoklastlar RANK eksprese eder ve bu hücrelerin RANKL ile tedavisi sonucu apoptozu inhibe eder ve rezorbtif aktiviteyi stimule eder (224). Osteoklast formasyonu için RANKL ile birlikte, makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF) de gereklidir. M-CSF, RANK üretimini artırır ve osteoklastların apoptozunu önler. Osteoklastik rezorbsiyon kalsiyum ya da transforming growth faktör-beta gibi faktörlerle inhibe edilebilir (218).

Osteoklastların kemik resorbsiyon kapasitesi kemik mineralinin ve matriks yıkım ürünlerinin çözünbilmesi için ekstraselüler sıvıda izole edebildikleri alan ile ilişkilidir. Resorbsiyon ürünlerinin atılabilmesi için bazolateral membran oluşturur. Kemik yıkımı proteolitik enzimler ile gerçekleştirilir (218).

2.3.4 Kemiğin Yeniden Yapılanması ve Kontrolü

Kemiğin koordine bir şekilde yapımı ve yıkımı yaşam boyu devam eder. Osteoklastlar tarafından terkedilen bölgelere osteoblastlar gelir ve buna *coupling* denir. Osteoklastlar tarafından resorbsiyon tamamlandıktan sonra, bu alan ince bir tabaka ile kaplanır ve osteoblastlar kemik yapımına başlar. Remodeling siklusunda dört basamak vardır: aktivasyon, resorbsiyon, geri dönüşüm ve formasyondur (218) (Şekil-7). Trabeküler ve kortikal kemikteki sıralama aynıdır fakat trabeküler kemikte remodeling daha aktiftir (225). Genç erişkinlerde kemik yapımı ile resorbsiyonu eşittir. Postmenopozal dönemde kemik resorbsiyonu yapımından daha fazladır ve osteoporoz gelişme riski daha fazladır (226).



Şekil-7. Kemik remodeling siklusu (218)

Remodeling sistemik ve lokal faktörlerle aktive edilebilir ve bu iskelet sisteminin sağlığı ve serum kalsiyum seviyelerinin kontrolü için önemlidir. Mekanik bası ve mikrohasarlanma durumu remodelingi aktive eder ve böylece hasarlı kemik ortadan kaldırılır ve kemik gücü daha iyi duruma getirilir. Yaşlanmayla birlikte osteositlerin kaybı bu yanıtı bozar (227).

Sistemik hormonlar kemik remodelingini etkiler, serum kalsiyum seviyesini dengede tutabilmek için kemikten dolaşıma kalsiyum geçişine sebep olur (218).

Kemik oluşumunu etkileyen sistemik ve lokal faktörler; kalsiyum üzerine etki eden hormonlar (parathormon, vitamin D ve kalsitonin), sistemik hormonlar (büyüme hormone, tiroid hormonları, glukokortikoidler, gonadal hormonlar), lokal düzenleyiciler (sitokinler, prostaglandinler, Transforming Growth Faktör-alfa, Epidermal Growth Faktör) ve büyüme faktörleridir (Fibroblast Growth Faktör (FGF), Platelet Derived Growth Faktör (PDGF), Vasküler Endothelial Growth Faktör (VEGF) Reaktif Oksijen Molekülleri, Insulin like Growth Faktör, Transforming Growth Faktör-beta, Wnt Sinyal yolları) (218).

Kalsiyum düzeyini kontrol eden hormonlar:

Parathormon: Kalsiyum hemostazının önemli bir regülatörüdür. Kemik üzerindeki etkisi kemik resorpsiyonu yönündedir fakat osteoblastların olmadığı durumda osteoklastları uyarmaz (228). İn vitro olarak yüksek konsantrasyonlarda tip 1 kollajen ekspresyonunu inhibe eder fakat intermitan olarak ortama eklendiğinde kemik yapımını uyarabilir (229). Parathormon RANKL oluşumunu uyarır, osteoprotegrin oluşumunu inhibe eder ve osteoklastogenezi uyarır (218).

Vitamin D: İntestinal kalsiyum ve fosfor emilimi ve mineralizasyon için 1,25(OH)2D3 gereklidir. Hücre kültürlerinde, osteoblastlarda RANKL üretimini uyararak osteoklast formasyonunu uyarır. Yüksek konsantrasyonları osteokalsin sentezini uyarır, düşük konsantrasyonlarda, intermitan olarak salınan PTH kadar etkin olmasa da kemik yapımını arttırabilir (218).

Kalsitonin: Direkt olarak osteoklastlara etki ederek kemik resorpsiyonunu inhibe eder. Yetişkinlerde kemik döngüsündeki etkisi minimaldir.

2.3.5. Rikets ve Osteomalazi

Yeni sentezlenen organik matriksin mineralizasyonu ile ilgili bozukluktan kaynaklanır. Patogenezinde D vitamini eksikliği, aktivasyonu ya da metabolizmasında bozukluk, vitamin D reseptörü ile ilişkili anormallikler yer alabilir (218).

Nutrisyonel faktörler: Yetersiz D vitamini alımı ya da UVB radyasyona yetersiz maruziyet sebep olabilir. Koyu tenli bireyler D vitamini eksikliğine daha yatkındır (218).

Renal faktörler: Renal yetmezlik ya da renal tübüler bozukluklara bağlı olabilir. Otozomal resesif

geçişli bir hastalık olan, 1-alfa hidroksilaz eksikliği ile ilişkili bir hastalık olan, vitamin D bağımlı rikets tip-1 yaşamın ilk bir yılında bulgu verir (217,218).

Vitamin D bağımlı rikets tip-2: Vitamin D reseptör geni ile ilişkili bir bozukluktan kaynaklanır. Bu hastalarda aynı zamanda alopesi de görülür (217,218).

Ailesel X'e bağlı hipofosfatemi: Vitamin D dirençli rikets olarak da bilinir. Renal fosfat transportunda bozuklukla ilişkilidir. Serum FGF-23 düzeyleri artmıştır ve FGF-23 1-alfa hidroksilazı inhibe eder (218,230).

Onkojenik osteomalazi: Fibroz ve mezenkimal tümörler tarafından üretilen fosfatoninlerden kaynaklanır. En iyi tanımlanmış fosfatonin FGF-23'tür (217,218,231).

Hipofosfatazi: Otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır. Alkalen fosfatazi kodlayan gen ile ilişkili bir mutasyon sorumludur (218,232).

İlaç ilişkili osteomalazi: Sodyum floridin yüksek dozları, ilk jenerasyon bifosfanatlar ve bazı antikonvülzanlar osteomalaziye sebep olabilir (218).

Osteomalazinin klinik bulguları çok çeşitlidir. Bacakların yay şeklini alması ve yatağa bağımlı hale getirecek kadar şiddetli olabilen kas ve kemik ağrıları görülür. Radyografik bulguları, subperiosteal erozyonlar ve nadir görülen fakat patognomonik olan psödofraktürlerdir (Looser's zone, Milkman's sendromu). Laboratuvar bulgularında düşük serum kalsiyum ve fosfor seviyeleri, yüksek parathormon ve alkalen fosfataz seviyeleri gözlenir. Tanısında en önemli testlerden biri serum 25(OH)D seviyesinin ölçülmesidir (218,233).

Nutrisyonel ve malabsorbtif riketsin tedavisinde vitamin D etkindir. Malabsorbsiyon durumlarında daha yüksek dozlar gerekebilir. 1-alfa hidroksilaz enzim defekti olanlar kalsitriol ile tedavi edilmelidir. Tümör ilişkili osteomalazide tedavi tümörün çıkartılmasıdır. (218)

2.3.6. Osteoporoz

Osteoporoz en sık görülen metabolik kemik hastalığıdır. Osteoporoz, artmış kemik kırılabilirliği ile sonuçlanan düşük kemik kitlesi ve kemik dokusunun mikromimarisinde bozulma ile karakterize bir durumdur (234). Primer osteoporozun patogenezinde, maksimum kemik kütleline ulaşılmamış olması, artmış kemik resorpsiyonu ve kaybolan kemiğin yerine yetersiz kemik yapımı rol oynar. Maksimum kemik kitlesine ulaşmada %85 genetik faktörler etkilidir.

Kalsiyum ve D vitamini eksikliği, ve fiziksel aktivitede yetersizlik maksimum kemik kitlesine ulaşmayı engelleyebilir ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde artmış kemik kaybı ve fraktür riskine sebep olabilir. İleri yaşta kalsiyum ve D vitamini replasmanı kemik kaybını önleyebilir. Düşük vücut ağırlığı ve kilo kaybı osteoporotik fraktürler için risk faktörüdür (235,236,237).

Osteoporoz tanısında KMD ile birlikte 10 yıllık fraktür risk skorlarının belirlenmesi önemlidir. 65 yaş üstü bütün kadınların ve 70 yaş üstü erkeklerin osteoporoz açısından taranması önerilmektedir (238,239). Osteoporoz tanısında T ve Z skorları değerlendirilir. T skoru hastanın kemik mineral yoğunluğunun aynı cinsiyetteki genç erişkinlerin kaç standart sapma altında veya üstünde olduğunu, Z skoru hastanın kemik mineral yoğunluğunun aynı cinsiyetteki ve aynı yaştakilerin kaç standart sapma altında veya üstünde olduğunu ifade eder. Dünya sağlık örgütü (DSÖ)'nün sınıflandırmasına göre postmenopozal kadınlarda; T skoru ≥ -1 SD normal, T skoru -1 SD ile $-2,5$ SD arasında osteopeni, T skoru $\leq -2,5$ SD osteoporoz ve T skoru $\leq -2,5$ SD ve fragilite kırığının bulunması ciddi osteoporoz olarak tanımlanır (240). Premenapozal kadın ve 50 yaş altı erkeklerde değerlendirmede Z skoru kullanılır. Z skoru -2 SD altında ise yaşa göre beklenenden düşük kemik kitlesi olarak tanımlanır (241).

2.3.7. Metabolik Kemik Hastalığının Değerlendirilmesinde Biyokimyasal Analizler

Kemik yapım belirteçleri

- **Alkalen Fosfataz:** Paget hastalığı, primer hiperparatiroidi, osteomalazi ve rikets hastalarında osteoblastik aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılır (242,243). Kemiğe spesifik alkalen fosfataz ölçümü osteoporoz için kullanımını daha anlamlı hale getirebilir. Yüksek kemiğe spesifik alkalen fosfataz değerleri postmenapozal kemik kaybı ve kırık insidansı ile ilişkilidir (244,245).
- **Osteokalsin:** İskelet dokusuna spesifik, karboksiglutamik asit içeren bir proteindir. Osteoblastlar tarafından sentezlenen osteokalsinin bir kısmı dolaşıma salınır ve kanda seviyesi ölçülebilir. Kemik döngüsü arttığında seviyeleri yükselir. Puberte döneminde iskelet büyüme hızıyla koreledir ve kemikte turnoverın hızlandığı durumlarda artmış olarak tesbit edilir (242,243).
- **Prokollajen peptidler:** Kollajenin oluşumu sırasında oraya çıkan N-terminal ve C-terminal peptidler dolaşıma salınır. N-terminal prokollajen peptid değeri intermitan parathormon tedavisine KMD yanıtı hakkında bilgi verebilir (243).

Kemik yıkım belirteçleri

- **Kalsiyum:** Bazı kemik metastazlarında olduğu gibi, artmış idrar kalsiyumu, yapımda bir değişiklik olmadan artmış osteoklastik aktivitenin göstergesi olabilir. Fakat idrar kalsiyum atılımının ölçümü geniş varyasyon gösterir. İntestinal emilimin, kemik mineralizasyonunun, kalsiyumun renal tübüler taşınmasının sonuçlarını yansıtır (218).
- **Hidroksiprolin:** Kollajen yıkımı sonucunda dolaşıma salınır. %80-90'ı metabolize edilir ve diyetdeki kollajen de idrarla atılmaktadır. Bu sebeple klinik patikte kullanımı kısıtlıdır (218).
- **Kollajen çapraz bağlar:** Total idrar piridinolin ve deoksipiridinolin düzeylerinin HPLC yöntemi ile ölçülmesi kemik resorbsiyonunun en iyi göstergelerindendir fakat bu yöntem pahalı ve zaman alan bir yöntemdir. Serbest piridinolin ve deoksipiridinolin, c-terminal telopeptid (CTX) ve n-terminal telopeptid (NTX) düzeylerinin ölçümü için immün analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Hastalığın seyrinde veya tedaviye yanıt ile kemik resorbsiyonundaki değişikliğin değerlendirilmesinde kullanılabilir (218).

2.4. Tip 1 Diyabet, Vitamin D ve Kemik Mineral Metabolizması

Tip 1 diyabet pankreatik beta hücrelerin immün aracılı yıkımı ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Etiyolojisinde genetik, otoimmün, çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinen tip 1 diyabetik hastalarda yapılan bazı çalışmalarda D vitamini seviyelerinin sağlıklı popülasyondan daha düşük saptanması tip 1 DM ve D vitamini arasında ilişki olduğunu düşündürmektedir. D vitamininin kas iskelet sistemi dışında otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler sistem, malignite gelişimi ile ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (26,27,28).

Tip 1 DM tanılı hastalarda normal popülasyona göre artmış osteoporoz ve kırık riski bir çok çalışmada gösterilmiştir. Buna sebep olan faktörler, düşük VKİ, hiperglisemi periyodlarında hiperkalsiüri ile birlikte meydana gelen negatif kalsiyum dengesi, fonksiyonel hiperparatiroidi, vitamin D eksikliği ve vitamin D metabolizmasındaki bozukluklar olabilir (246,247). Yapılan çalışmalarda tip 1 DM tanılı bireylerde kemik döngü parametrelerinin sağlıklı popülasyona göre daha düşük olduğu da gösterilmiştir ve kemik metabolizmasındaki bozukluğun tip 1 DM tanılı hastalardaki artmış fraktür riski ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (248).

Kemik sağlığı açısından 25(OH)D düzeylerinin optimal seviyede olması önemlidir ve 25(OH)D düzeyleri 30 ng/ml'nin altına düştüğünde parathormon seviyelerinde yükselme olduğu bilinmektedir (30,31) ve hiperparatiroidi, artmış kemik döngüsü ve kemik kaybı ve artmış kırık riski meydana gelmektedir.

Postmenopozal kadınlarda yapılan serum 25 (OH)D, parathormon, BMD ve kemik döngü parametrelerinin ilişkisini araştıran çalışmanın sonuçlarına göre; parathormon>58pg/ml, 25(OH)D<20 ng/ml olanlarda vertebral fraktür prevalansı daha yüksek saptanmış, serum CTX ve prokollajen-1 intact n-terminal (PINP) ile parathormon seviyeleri anlamlı ilişki gösterilmiş, serum 25(OH)D<20 ng/ml değerlerinde CTX ve PINP değerlerinde anlamlı değişiklikler saptanmıştır (249). Mevsime göre kemik döngü parametrelerindeki değişikliğin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise kiş aylarında serum alkalen fosfataz, osteokalsin ve idrar dipiridinolin ve deoksipiridinolin seviyeleri daha yüksek saptanmış, vitamin D düzeylerine göre değerlendirildiğinde vitamin D eksikliği olan grupta daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir, bu bilgiler doğrultusunda kiş aylarında vitamin D replasmanı kemik kaybını önlemek için faydalı olacaktır (250). Yine yapılan çalışmalarda serum 25(OH)D düzeyleri ile PINP ve osteokalsin arasında negatif, CTX ile pozitif ilişki olduğu gözlenmiş olup bu veriler osteomalazinin değerlendirilmesinde kemik döngü parametrelerinin bilgi verebileceğini düşündürmekte fakat ilişki göstermeyen çalışmalar da mevcuttur, bu konuda daha fazla çalışma gerekmektedir (251,252).

Tip 1 diyabet hastalarında 25(OH)D eksikliğinin normal sağlıklı poplasyona göre daha sık görüldüğü bir çok çalışmada gösterilmiştir (26,27). 25(OH)D dolaşımda %90 vitamin D bağlayıcı protein, %10 albumine bağlı bulunmakta, %1'den azını serbest formda bulunmaktadır (192). Vitamin D bağlayıcı proteinden yoksun farelerde yapılan çalışmalarda, vitamin D'den fakir diyet ile beslenenlerde kemik mineralizasyonunda bozulmaların daha erken olması vitamin D biyoaktivitesinde VDBP'nin önemli olduğunu düşündürmektedir. Serbest D vitamini düzeylerinin parathormon ve BMD düzeyleri ile daha iyi korelasyon gösterdiğini savunan çalışmalar mevcut olmakla birlikte sağlıklı poplasyonda serbest D vitamini düzeyinin, 25(OH)D'ye ek bir bilgi vermediği sonucuna ulaşan çalışmalar da mevcuttur fakat değişik hastalık gruplarında ve etnik gruplarda D vitamini durumunu değerlendirmede faydalı sonuçlar verebilir. (35,199,200,201).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Denek Seçimi

Araştırma projesi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu (Protokol No: 09.2015.098) tarafından onaylandıktan sonra Marmara Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında yürütüldü. Protokole uygun olan gönüllüler yazılı onayları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildiler. Çalışma için maddi kaynak Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden alınan ödenek ile sağlandı. (SAG-C-TUP-080715-0318). Çalışmaya kriterlere uyan 60 sağlıklı, 60 tip 1 DM tanılı olmak üzere toplam 120 birey dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

- En az 6 aydır tip 1 DM tanısı ile takip edilmekte ve son 6 aydır D vitamini kullanımı olmayan, 18-65 yaş arası bireyler
- Kontrol grubu olarak, 18-65 yaş arasında son 6 aydır D vitamini kullanmayan, bilinen bir hastalığı olmayan, genel kontrol için dahiliye polikliniğine başvuran bireyler

Çalışmadan çıkarılma kriterleri

- Bilinen herhangi bir kronik inflamatuvar hastalığı olanlar ve kronik böbrek yetmezliği olanlar
- Gebeler ve emzirme dönemindeki kadın bireyler
- Kemik metabolizmasını olumsuz etkileyen ilaç kullanımı olanlar
- Çalışmaya katılmak istemeyenler

3.2. Çalışma yöntemi

Çalışmaya katılan bireylerin sosyodemografik özellikleri kaydedildi, boy, kilo, bel çevresi ölçümleri yapıldı. Çalışmadaki tip 1 DM tanılı bireyler tanı zamanı, tedavi, bilinen komplikasyonlar açısından sorgulandı.

Tüm bireylerin dosyalarından son 6 aydaki TSH, kreatinin, AST, ALT, HDL (high density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein), TG (trigliserid), total kolesterol, açlık kan şekeri değerleri kaydedildi. Tip 1 DM tanılı hastaların dosyalarından son 3 ay içindeki HbA_{1c} değerleri kaydedildi.

Retinopati açısından son bir sene içinde yapılmış olan göz muayenesi verileri kullanıldı. Nefropati açısından son 6 ay içerisindeki spot idrarda mikroalbumin/ spot idrarda kreatinin değerleri kullanıldı.

Tüm bireylerden 8 saatlik açlık periyodundan sonra sabah erken saatte ön koldan venöz kan örneği aşağıda belirtilen serum parametrelerini ölçmek için alındı. Tüm kan örnekleri kasım-nisan ayları arasında alındı. Tüm kan örneklerinden ayrılan serumlar -20C'de saklandı. Biyokimyasal ölçümler Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından yapıldı.

3.3. Değerlendirilen Parametreler

3.3.1. Biyokimyasal Tetkikler

Serum 25(OH)D düzeyleri: Serum örneklerinden elektrokemilüminesans immünolojik testi ECLIA ile Modular Analytics E170 immünolojik test otoanalizörlerinde çalışıldı (*Roche*, Almanya). Plazma 25(OH)D düzeyi 8.35-69.6 ng/ml konsantrasyonları için gün içi tekrarlanabilirlik kat sayıları %6.8-%2.2'dir. Çalışmalar arası hassasiyet kat sayıları 8.5-69.6 ng/ml için sırasıyla %13.1-%3.4 arasında değişmiştir. Plazma 25(OH)D düzeyi ölçüm aralığı 7.50-175 nmol/L veya 3.00-70.0 ng/ml (alt ölçüm sınırı ve ana eğrinin (master) maksimumu ile tanımlanmıştır) olarak saptanmıştır.

Serum kalsiyum düzeyleri: Serum örneklerinden Photometric colour test ile kantitatif yöntemle (Beckman Coulter, United States of America) çalışılmıştır. Üretici firma tarafından sunulan verilerde 1.61-4.19 mmol/L konsantrasyonları için çalışma içi değişkenlik katsayıları %0.57-%0.48'dir ve çalışmalar arası değişkenlik katsayıları ise %0.95-%0.94 arasında değişmiştir. Ölçüm aralığı 4-20 mg/dl olarak bildirilmiştir.

Serum inorganik fosfor düzeyleri: Serum örneklerinden Photometric UV test ile kantitatif yöntemle (Beckman Coulter, United States of America) analizatörlerde çalışılmıştır. Üretici firma tarafından verilerde sunulan 0.96-3.36 mmol/L konsantrasyonları için çalışma içi değişkenlik katsayıları %1,03-%0,61'dir ve çalışmalar arası değişkenlik katsayıları ise %1.55-%1.23 arasında değişmiştir. Ölçüm aralığı 1-20 mg/dl olarak bildirilmiştir.

İntakt paratiroid hormon (İPTH): Serum örneklerinden Access Intact PTH testi, Access Immunoassay sistemleri kullanılarak kantitatif tayin için kemilüminesans analizi ile çalışılmıştır

(Beckman Coulter, United States of America). Üretici firma tarafından 12.1-1439 pg/ml konsantrasyonları için çalışma içi değişkenlik katsayıları %2.6-%2.2'dir ve çalışmalar arası değişkenlik katsayıları ise %5.8-%2.8 arasında verileri sunulmuştur. Referans aralığı 12-88 pg/ml olarak bildirilmiştir.

Vitamin d binding protein (VDBP): Serum örneklerinden kantitatif sandviç enzim immunanaliz yöntemi ile çalışılmıştır (R&D systems). Tüm örnekler çalışılmadan önce oda ısısına getirilmiştir. Serum örnekleri 2000 oranında seyreltilerek çalışılmıştır. Kitlerin talimatında belirtildiği üzere öncelikle bütün kuyucuklara 100 µl assay diluent eklendi, her kuyucuğa 50µl serum örneklerinden eklendi ve 1 saat oda ısısında horizontal orbital mikropate shaker'da inkube edildi. Toplamda dört kez yıkama işlemi yapıldı. Her kuyucuğa 200 µl vitamin d bağlayıcı protein konjugatı eklendi ve oda sıcaklığında iki saat inkube edildi, yıkama işlemi tekrarlandı, her kuyucuğa 200 µl substrat solüsyonu eklendi ve yarım saat inkube edildikten sonra 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve 540 nm'de optik dansiteleri ölçüldü. Ölçüm aralığı 0.15-3.74 ng/ml olarak belirtilmiştir. Çalışma içi değişkenlik katsayıları %5.7-%6.2, çalışmalar arası değişkenlik katsayıları %5.1-%7.4 olarak belirtilmiştir.

Serum Osteokalsin: Ölçüm yöntemi sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. Kitler Sunred biyoteknoloji şirketinden temin edilmiştir. Bütün örnekler oda ısısına getirilerek çalışılmıştır. Standartlar ve örnekler human osteokalsin protein monoclonal antikor içeren kuyulara eklendi, 1 saat inkubasyon sonrasında biotin ile işaretli antikor eklendi, iki saat inkubasyon sonrasında streptavidin ile konjuge edilmiş peroksidaz solüsyonu eklendi ve 30 dakika inkube edildi, yıkama işlemi yapıldı, 50 µl kromojen substratı eklendi ve durdurma solüsyonu eklendi, 540 nm'de optik dansiteleri ölçüldü. Ölçüm aralığı 0.5-150 ng/ml olarak belirtilmiştir.

Serum Kemik Alkalen Fosfataz: Ölçüm yöntemi sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. Kitler Sunred biyoteknoloji şirketinden temin edilmiştir. Bütün örnekler oda ısısına getirilerek çalışılmıştır. Standartlar ve örnekler kemik alkalen fosfataz monoklonal antikor içeren kuyulara eklendi, 1 saat inkubasyon sonrasında biotin ile işaretli antikor eklendi, iki saat inkubasyon sonrasında streptavidin ile konjuge edilmiş peroksidaz solüsyonu eklendi ve 30 dakika inkube edildi, yıkama işlemi yapıldı, 50 µl kromojen substratı eklendi ve durdurma solüsyonu eklendi, 540 nm'de optik dansiteleri ölçüldü. Ölçüm aralığı 3-900 U/L olarak belirtilmiştir. Sensitivitesi 2.844 U/L olarak belirtilmiştir.

Serum C-telopeptid: Ölçüm yöntemi sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. Kitler Sunred biyoteknoloji şirketinden temin edilmiştir. Bütün örnekler oda ısısına getirilerek çalışılmıştır. Standartlar ve örnekler human c-telopeptid monoklonal antikor içeren kuyulara eklendi, 1 saat inkubasyon sonrasında biotin ile işaretli antikor eklendi, iki saat inkubasyon sonrasında streptavidin ile konjuge edilmiş peroksidaz solüsyonu eklendi ve 30 dakika inkube edildi, yıkama işlemi yapıldı, 50 µl kromojen substratı eklendi ve durdurma solüsyonu eklendi, 540 nm’de optik dansiteleri ölçüldü. Ölçüm aralığı 0.5-150 ng/ml olarak belirtilmiştir, sensitivitesi 0.432 ng/ml olarak belirtilmiştir.

3.3.2. İstatistiksel değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 22 paket programı kullanıldı. Normal dağılımda olan verilerin değerlendirilmesinde bağımsız gruplar t-testi ve pearson korelasyon analizi uygulandı. Normal dağılım göstermeyen verilerin analizinde nonparametrik testler uygulandı, korelasyon incelemeleri için logaritmik transformasyonları kullanılarak Pearson korelasyon testi uygulandı.

4. BULGULAR

Demografik Veriler

Çalışmaya kriterlere uyan 60 tip 1 diyabet tanılı (K:31/E:29), 60 sağlıklı birey (K:31/E:29) dahil edildi ve cinsiyet dağılımı açısından iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0.999$). Çalışmaya alınan tip 1 diyabetli grubun yaş ortalaması, eğitim durumları (tip 1 DM grubunun %41.7'si, kontrol grubunun %45'i üniversite mezunuydu), VKİ, bel çevresi ölçümleri kontrol grubu ile benzerdi. Bütün bireylerin böbrek fonksiyon testleri ve karaciğer fonksiyon testleri normal sınırlarda idi. Diyabetik grubun ortalama hastalık süresi 10.33 ± 6.88 yıl idi. Hastaların %28.3'ünde retinopati, %25'inde nefropati mevcuttu. Tip 1 DM grubunda HbA1C ortalaması 8.43 ± 2.07 idi.

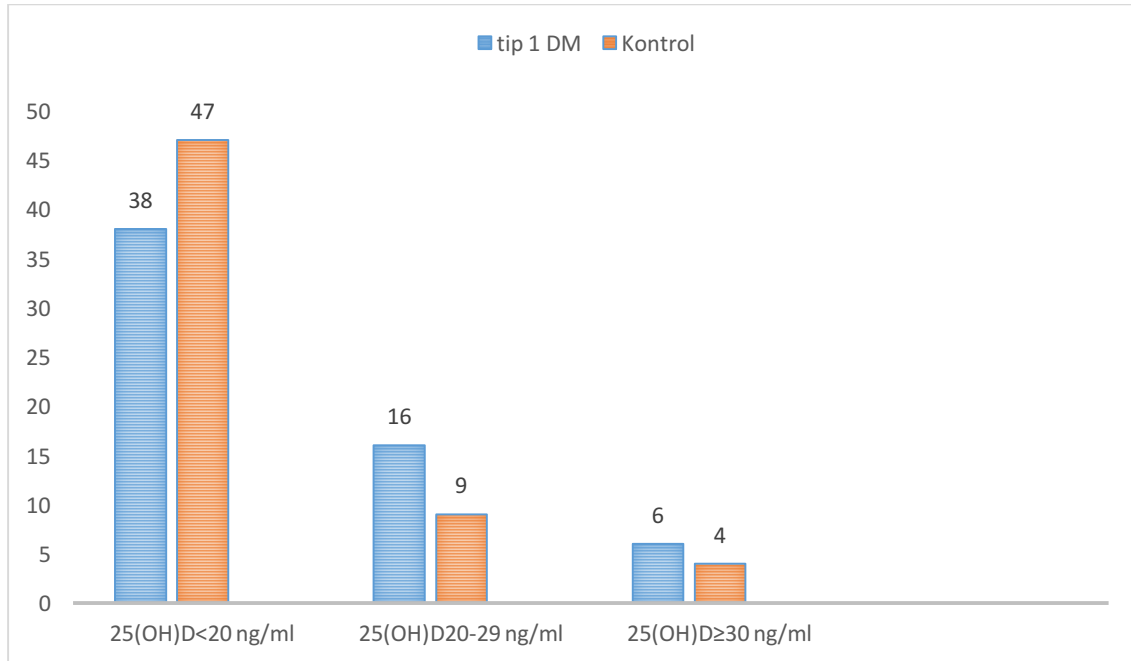
Tablo 1: Demografik veriler

	Tip 1 DM	Kontrol	P değeri
Cinsiyet (K/E)	31/29	31/29	0.999
Yaş	29.5 ± 7.55	28.5 ± 5.58	0.389
VKI (kg/m^2)	24.35 ± 3.62	24.98 ± 4.13	0.374
Bel çevresi(cm)	79.76 ± 9.81	80.28 ± 9.53	0.770
Diyabet süresi(yıl)	10.33 ± 6.88	-	-
Retinopati (+/-)	17/43	-	-
Nefropati (+/-)	15/45	-	-

Her iki grupta da yaş, VKİ, bel çevresi, açlık kan şekeri, TSH, HDL, LDL, vitamin D bağlayıcı protein, PTH, kalsiyum, fosfor, albumin düzeyleri normal dağılımdaydı. Tip 1 DM ve kontrol grubunun serum HDL, LDL, PTH, VDBP düzeyleri arasında bağımsız gruplar t testi ile değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmadı. Açlık kan şekeri düzeyleri ortalaması tip 1 DM grubunda 192.3 ± 95.3 mg/dl, kontrol grubunda 88.1 ± 11.3 mg/dl, tip 1 DM grubunda anlamlı olarak yüksekti ($p=0.0001$). Serum TSH düzeyleri ortalaması tip 1 DM grubunda 1.99 ± 1.14 mIU/ml iken kontrol grubunda 1.51 ± 0.638 mIU/ml idi ve tip 1 DM grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.005$). Katılımcıların hepsinin TSH değerleri 0.5-4.5 mIU/ml aralığında, normal sınırlarda idi.

Kalsiyum düzeyleri ortalaması tip 1 DM grubunda 9.54 ± 0.468 mg/dl iken kontrol grubunda 9.85 ± 0.445 mg/dl idi ve kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.0001$). Albumine göre düzeltme yapıldıktan sonra da bu fark devam etti. Serum fosfor düzeyleri ortalaması tip 1 DM grubunda 3.53 ± 0.616 mg/dl iken kontrol grubunda 3.32 ± 0.482 idi mg/dl ve tip 1 DM grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.046$). Serum albumin düzeyi ortalamaları tip 1 DM grubunda 4.39 ± 0.35 g/dl iken kontrol grubunda 4.73 ± 0.375 g/dl idi ve kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.0001$) (tablo-3).

Vitamin D düzeylerine göre 25 (OH)D <20 ng/ml eksiklik, 25(OH)D $\geq$ 20 ng/ml yetersiz ve normal olarak gruplandırıldığında, tip 1 DM tanılı hastaların %63.3'ünde, kontrol grubunun %78.3'ünde D vitamini düzeyi eksik olarak değerlendirildi ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.121$) (Şekil-8). Serum 25 (OH)D >30ng/ml normal, 20-29 ng/ml arası yetersizlik, <20 ng/ml eksiklik olarak değerlendirilir ise tip 1 DM grubundaki bireylerin %63.3'ünde eksiklik, %26.7'sinde yetersizlik mevcuttu; %10'unda normal sınırlardaydı. Kontrol grubunda ise; %78.3'ünde eksiklik, %15'inde yetersizlik mevcuttu; %6.6'ünde normal sınırlardaydı ve aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu.



Şekil-8: Serum 25(OH)D <20 ng/ml, 25 (OH)D 20-29 ng/ml ve 25(OH)D $\geq$ 30 ng/ml kişi sayısı

Her iki grup birlikte değerlendirildiğinde 25(OH)D<20 ng/ml olan grupta parathormon düzeyleri ortalaması 44.05±19.41 pg/ml, 25(OH)D≥20 ng/ml olan grupta 35.95±14.89 pg/ml idi ve iki grup arasında anlamlı fark mevcuttu (p=0.029) (Tablo-3). Serum kalsiyum düzeyleri 25(OH)D<20 ng/ml olan grupta anlamlı olarak yüksekti (p=0.001). Albumine göre düzeltme yapıldıktan sonra da bu fark devam etti. Serum LDL düzeyleri 25(OH)D<20 ng/ml olan grupta anlamlı olarak yüksekti (p=0.003). Açlık kan şekeri, TSH, fosfor değerleri arasında iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.

Tip 1 DM ve kontrol grubunda serum 25(OH)D<20 ng/ml (D vitamini eksikliği) ve 25(OH)D≥20 ng/ml (D vitamini yetersiliği ve normal olanlar) olarak değerlendirildiğinde tip 1 DM grubunda serum LDL düzeyi serum 25(OH)D<20 ng/ml olan grupta anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.015). Kontrol grubunda serum 25(OH)D<20 ng/ml olan grupta parathormon (p=0.013), kalsiyum (p=0.001) ve albumin (p=0.023) seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Diğer parametreler değerlendirildiğinde her iki grupta da D vitamini eksikliği olan ve olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo-3).

Tip 1 DM grubunda serum 25(OH)D<20 ng/ml olanlar ve 25(OH)D≥20 ng/ml olanların parathormon düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı fakat kontrol grubunda serum 25(OH)D<20 ng/ml olanlarda parathormon düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p=0.013).

Tip 1 DM ve kontrol grupları cinsiyete göre analiz edildiğinde, yaş, VKİ, açlık kan şekeri, TSH, LDL, vitamin D bağlayıcı protein, parathormon, kalsiyum ve albumin değerleri arasında fark saptanmadı. Erkeklerin bel çevresi (p=0.006), albumin (p=0.038), kadınların HDL (p=0.001) ve fosfor (p=0.003) düzeyleri anlamlı yüksek saptandı (tablo-2).

Tablo 2: Cinsiyete göre analiz edildiğinde anlamlı fark olan parametreler

	Kadın (n:62)	Erkek (n:58)	p
Bel çevresi (cm)	77.6±9.6	82.5±9.08	0.006
HDL (mg/dl)	56.9±11.9	50.1±10.4	0.001
Fosfor (mg/dl)	3.57±0.55	3.27±0.53	0.003

Tablo 3- Biyokimyasal Analizler

	Tip 1 DM N = 60		Kontrol N=60		
	Vit D <20 ng/ml (N=38)	Vit D ≥20 ng/ml (N=22)	Vit D <20 ng/ml(n:47)	Vit D ≥20 ng/ml(n:13)	
AKŞ (mg/dl)	193.15±103.71	191.04 ±81.29	89.41±10.62	86.15±10.43	¶
TSH (mIU/ml)	1.92±1.074	2.12±1.28	1.55±0.600	1.41±0.79	
HDL (mg/dl)	53.57±13.64	58.81±10.57	51.41±8.87	50.84±12.03	
LDL (mg/dl)	125.47±36.14	101.68±32.84	125.9±32.2	111.15±31.56	‡
PTH (pg/ml)	40.98±16.36	38.97±16.70	46.6±21.46	30.83±9.72	*+
Ca (mg/dl)	9.60±0.502	9.44±0.392	9.95±0.41	9.507±0.398	#X
P (mg/dl)	3.46±0.595	3.64±0.649	3.29±0.45	3.41±0.570	&
VDBP (ng/ml)	347.2±230.5	331.4±254.7	365.7±219.1	386.4±288.9	
Albumin (g/dl)	4.42±0.389	4.34±0.288	4.78±0.373	4.51±0.304	§Q

¶ Tip 1 DM vs kontrol grubu, p=0.0001

|| Tip 1 DM vs kontrol grubu, p=0.005

‡ Tip 1 DM 25(OH)D<20 ng/ml vs 25(OH)D≥20 ng/ml olanlar, p=0.015

* Kontrol grubu 25(OH)D<20 ng/ml vs 25(OH)D≥20 ng/ml olanlar, p=0.013

+ 25(OH)D<20 ng/ml vs 25(OH)D≥20 ng/ml p=0.029

Kontrol grubu 25(OH)D<20 ng/ml vs 25(OH)D≥20 ng/ml olanlar, p=0.001

X Kontrol grubu vs tip 1 DM, p=0.0001

& Tip 1 DM vS kontrol grubu, p=0.046

§ Kontrol grubu vs tip 1 DM, P=0.0001

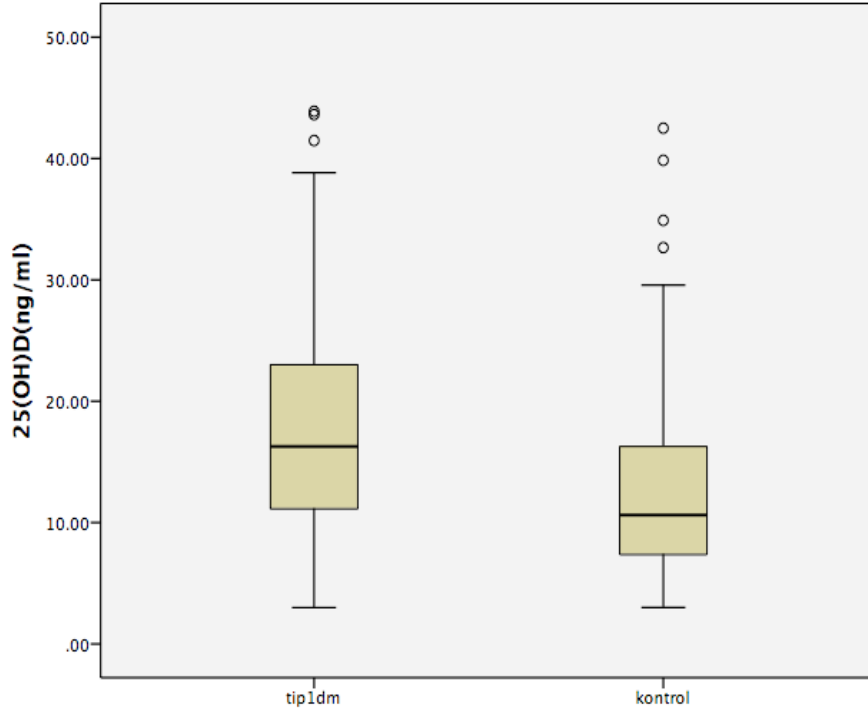
Q Kontrol grubu 25(OH)D<20 ng/ml vS 25(OH)D≥20 ng/ml olanlar, P=0.02

Serum 25(OH)D, serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini, kemik ALP, CTX, osteokalsin düzeyleri normal dağılım göstermediği için non parametrik testler ile değerlendirildi. Serum 25(OH)D düzeyi (p=0.010) ve serbest D vitamini düzeyi (p=0.027) tip 1 DM grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı (Şekil-9). Biyoaktif D vitamini düzeyleri tip 1 DM grubunda daha yüksekti fakat anlamlı sınırdan bir fark saptanmadı. Kemik alkalin fosfataz (p=0.015), osteokalsin (p=0.0001) ve c-telopeptid (p=0.0001) düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı (Tablo-4). Osteokalsin değeri median değerinin üzerinde bir değere sahip olan tip 1 DM grubunda 16, kontrol grubunda 44 kişi mevcuttu, c-telopeptid değeri median değerinin üzerinde değere sahip olan tip 1 DM grubunda 19 kişi, kontrol grubunda 41 kişi mevcuttu.

Tablo-4: Serum 25(OH)D, serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini, kemik ALP, osteokalsin, CTX düzeylerinin medyan değerleri ve Kruskal Wallis testi ile değerlendirmeleri

	Tip 1 DM N = 60	Kontrol N=60	
25(OH)D (ng/ml)	16.270 (3-43.89)	10.620 (3.01-42.50)	
Serbest D (pg/ml)	4.0215 (0.258-21.719)	2.55 (0.512-21.237)	¶
Biyoaktif D (ng/ml)	1.574 (0.258-21.719)	1.024 (0.198-8.448)	
Kemik ALP (U/L)	234.635 (116.2-684.7)	364.32 (126.5-928.28)	#
Osteokalsin (ng/ml)	34.740 (22.08-122.59)	89.34 (27.09-179.2)	‡
CTX (ng/ml)	21.616 (11.016-130.4)	67.98 (16.23-159.580)	*

|| Tip 1 DM vs kontrol grubu p=0.010
¶ Tip 1 DM vs kontrol grubu p=0.027
Kontrol grubu vs Tip 1 DM p= 0.015
‡ Kontrol grubu vs Tip 1 DM p=0.0001
* Kontrol grubu vs Tip 1 DM p=0.0001



Şekil-9: Tip 1 DM ve kontrol grubunda serum 25(OH)D düzeyleri (p=0.001)

Retinopati olanlar ve olmayanların 25(OH)D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.426). Retinopatisi olanlar ve olmayanların serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini, osteokalsin, kemik alkale fosfat ve c-telopeptid düzeyleri arasında da anlamlı bir fark saptanmadı. Nefropatisi olanlar ve olmayanlar arasında da 25(OH)D, serbest d vitamini, biyoaktif d vitamini, serum kemik alkale fosfat, osteokalsin, c-telopeptid düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).

Vitamin D eksikliği olanlar ve olmayanların serum osteokalsin, c-telopeptid, kemik alkale fosfat düzeyleri nonparametrik testler ile değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmadı. Ortanca ve minimum-maksimum değerleri tablo-5'teki gibidir.

Tablo-5. Osteokalsin, kemik ALP, ve serum c-telopeptid düzeylerinin 25(OH)D<20 ng/ml ve 25(OH)D≥20ng/ml olanlarda medyan, minimum ve maksimum değerleri

	Tip 1 DM N = 60		Kontrol N=60		
	Vit D <20 ng/ml (N=38)	Vit D ≥20 ng/ml (N=22)	Vit D <20 ng/ml(n:47)	Vit D ≥20 ng/ml(n:13)	
Osteokalsin (ng/ml)	39.59 (22.08-119.01)	31.05 (22.24-122.59)	87.92 (27.51-172.3)	88.71 (27.51-172.3)	a
Kemik ALP (U/L)	247.59 (148.8-667.7)	216.55 (116.2-684.7)	364.32 (130.4-928.2)	330.6 (126.5-900.7)	b
CTX (ng/ml)	22.25 (11.33-128.36)	20.84 (11.01-130.44)	67.124 (16.23-159.5)	73.49 (22.33-155.04)	c

a. Kontrol vs tip 1 DM p=0.0001

b. Kontrol vs tip 1 DM p=0.0001

c. Kontrol vs tip 1 DM p=0.0001

Regresyon ve korelasyon analizleri

Serum 25(OH)D, albumin ve VDBP düzeylerinden formül ile hesaplanan serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeylerinin lineer regresyon analizi yapıldığında pearson korelasyon katsayısına göre en yüksek katkıyı yapan parametre serum 25(OH)D düzeyi, ikinci sırada VDBP düzeyi ve en az etkili parametre de albumin düzeyi olarak belirlendi. Serbest ($r=0.694$) ve biyoaktif D vitamini ($r=0.697$) ile, 25(OH)D pozitif korelasyon, vitamin d bağlayıcı protein ve albumin negatif korelasyon gösterdi (Tablo 6 ve 7).

Tablo-6: Serbest D vitamini regresyon analizi

		Serbest D (r değeri)	P değeri
Pearson korelasyon	Serbest D	1,0	-
	albumin	-0,239	0,004
	VDBP	-0,462	0,0001
	25(OH)D	0,551	0,0001

Tablo-7: Biyoaktif D vitamini regresyon analizi

		Biyoaktif D(r değeri)	Pdeğeri
Pearson korelasyon	Biyoaktif D	1,0	-
	albumin	-0,193	0,017
	VDBP	-0,471	0,0001
	25(OH)D	0,545	0,0001

Normal dağılmayan serum 25(OH)D, kemik ALP, osteokalsin, c-telopeptid, serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini değerlerinin logaritmik transformasyonu yapıldı ve korelasyon değerlendirmelerinde logaritmik transformasyonları kullanıldı.

Vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri ile Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildiğinde, yaş, VKİ, bel çevresi, LDL, osteokalsin, CTX, kemik ALP değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Tip 1 DM ve kontrol grubunda düzeyleri benzerdi. Vitamin D eksikliği olan ve vitamin D düzeyi yetersiz ve normal olan iki grup arasında VDBP düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Cinsiyete göre fark göstermedi.

VKİ ile bel çevresi arasında hem hasta hem kontrol grubunda pozitif korelasyon mevcuttu (pearson korelasyon katsayısı: hasta: 0,844, kontrol:0.834, toplam:0.835). Her iki grup birlikte değerlendirildiğinde VKİ ile HDL arasında negatif korelasyon ($r=-0.253$, $p=0.005$), LDL ile pozitif korelasyon ($r=0.197$, $p=0.033$), parathormon ile pozitif korelasyon ($r=0.236$, $p=0.01$) saptandı. VKİ, bel çevresi ve yaş ile anlamlı korelasyon gösteren parametreler tablo 8’de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda LDL ile yaş arasında pozitif korelasyon mevcuttu (pearson kor. Katsayısı: 0.289). Fakat iki grup birlikte değerlendirildiğinde bu korelasyon anlamlı değildi. LDL ile VKİ, açlık kan şekeri ($r=-0.189$, $p=0.04$), bel çevresi ($r=0.218$, $p=0.018$) arasında korelasyon gözlemlendi.

Tablo-8 VKİ, bel çevresi ve yaş ile anlamlı korelasyon gösteren parametreler

	VKİ		Yaş		Bel çevresi	
	R	P	R	P	R	P
VKİ(kg/m²)	-	-	0.153	0.096	0.835	0.0001
Bel çevresi (cm)	0.835	0.0001	0.159	0.083	-	-
LDL (mg/dl)	0.197	0.03	0.099	0.288	0.218	0.018
HDL (mg/dl)	-0.253	0.005	0.090	0.329	-0.360	0.0001
OC (ng/ml)	-0.239	0.009	-0.378	0.0001	-0.217	0.017
25(OH)D (ng/ml)	-0.240	0.008	0.232	0.011	-0.109	0.234
PTH (pg/ml)	0.236	0.01	0.115	0.212	0.111	0.228

Her iki grup birlikte değerlendirildiğinde, 25(OH)D düzeyleri ile parathormon düzeyleri arasında negatif korelasyon gözlemlendi ($r=-0.294$, $p=0.001$) (şekil 10), serbest ($r=-0.186$, $p=0.042$) ve biyoaktif D ($r=-0.193$, $p=0.035$) vitaminlerinin korelasyon katsayısı daha düşüktü. Parathormon düzeyi bağımlı değişken, 25(OH)D, serbest D, biyoaktif D, VKİ bağımsız değişken olarak belirlenerek çoklu regresyon analizi yapıldığında serum 25(OH)D (beta: -0.294 , $p=0.001$) düzeyi etkili faktör olarak belirlendi (tablo-9).

Tablo-9 Parathormon değerinin çoklu regresyon analizi

		25(OH)D	Serbest D	Biyoaktif D	VKİ
PTH	beta	-0.294	-	-	-
Pg/ml	p	0.001	0.191	0.251	0.053

Serum 25(OH)D ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. 25(OH)D, yaş ile pozitif, VKİ, parathormon ve kalsiyum düzeyleri ile negatif korelasyon gösterdi. 25(OH)D bağımlı değişken olarak alınarak yapılan çoklu regresyon analizinde, parathormon ($p=0.002$), yaş ($p=0.001$) ve VKİ ($p=0.012$) ilişkili olarak bulundu.

Kalsiyum düzeyleri, 25(OH)D, serbest D, biyoaktif D, açlık kan şekeri ve yaş ile negatif korelasyon, albumin düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdi. Yapılan çoklu regresyon analizinin sonucuna göre kalsiyum düzeyini etkileyen parametreler albumin (beta:0.603, p=0.0001) düzeyi ve 25(OH)D (beta: -0.166, p=0.021) olarak belirlendi.

Tip 1 DM grubu ayrı olarak değerlendirildiğinde serum 25(OH)D, serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini ile parathormon ve kalsiyum düzeyleri arasında anlamlı korelasyon gözlenmedi (şekil 11) (Tablo 12). Kontrol grubunda; serum 25(OH)D ile parathormon düzeyleri arasında anlamlı negatif ilişki gözlemlendi ($r=-0.454$) (şekil 10). Serum kalsiyum düzeyleri ile 25(OH)D ($r=-0.378$), serbest D vitamini ($r=-0.328$), biyoaktif D vitamini ($r=-0.286$) arasında negatif korelasyon gözlemlendi (Tablo 12,13)).

Yaş ile osteokalsin (hasta $r=-0.506$, kontrol $r=-0.350$, toplam $r=-0.378$), kemik alkalin fosfataz (hasta $r=-0.534$, kontrol $r=-0.278$, toplam $r=-0.423$) ve CTX (hasta $r=-0.544$, kontrol $r=-0.297$, toplam $r=-0.422$) arasında tip 1 DM grubunda negatif korelasyon mevcuttu, kontrol grubunda korelasyon daha zayıf idi (şekil 12).

Kemik ALP ile osteokalsin ve c-telopeptid arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini, 25(OH)D düzeyleri düştükçe osteokalsin, kemik alkalin fosfataz ve c-telopeptid düzeyleri artmaktaydı, fakat anlamlı derecede ama zayıf bir korelasyon sadece osteokalsin ile serbest D vitamini düzeyleri arasında gözlemlendi ($r=-0.201$) (şekil 11).

Serbest D vitamini, yaş, VKİ, bel çevresi, açlık kan şekeri ile negatif, kalsiyum düzeyleri ile pozitif korelasyon gösteren osteokalsin düzeyinin çoklu regresyon analizi yapıldığında açlık kan şekeri, yaş ve VKİ negatif ilişkili saptandı (Tablo-10).

Tablo 10: Osteokalsinin çoklu regresyon analizi

		AKŞ	Yaş	VKİ
Osteokalsin	beta	-0.410	-0.359	-0.209
Ng/ml	p	0.0001	0.0001	0.007

Tablo 11: Tip 1 DM ve kontrol grubunun birlikte serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d ve bioaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

Tip 1 DM ve kontrol grubu								
		25(OH)D	ALP	OC	CTX	Serbest D	Biyoaktif D	PTH
25(OH)D (ng/ml)	Pearson	1	-0.114	-0.156	-0.126	0.694	0.697	-0.294
	p	-	0.214	0.09	0.171	0.0001	0.0001	0.001
ALP (U/L)	Pearson	-0.114	1	0.873	0.891	-0.171	-0.155	-0.122
	p	0.214	-	0.0001	0.0001	0.062	0.092	0.184
OC (ng/ml)	Pearson	-0.156	0.873	1	0.930	-0.201	-0.176	-0.021
	p	0.09	0.0001	-	0.0001	0.028	0.055	0.823
CTX (ng/ml)	Pearson	-0.126	0.891	0.930	1	-0.163	-0.138	-0.028
	p	0.171	0.0001	0.0001	-	0.075	0.132	0.763
Serbest D (pg/ml)	Pearson	0.694	-0.171	-0.201	-0.163	1	0.996	-0.186
	p	0.0001	0.062	0.028	0.075	0	0.0001	0.042
Biyoaktif D (ng/ml)	Pearson	0.697	-0.155	-0.176	-0.138	0.996	1	-0.193
	p	0.0001	0.092	0.055	0.132	0.0001	-	0.035
PTH (pg/ml)	Peason	-0.294	-0.122	-0.021	-0.028	-0.186	-0.193	1
	p	0.001	0.184	0.823	0.763	0.042	0.035	0

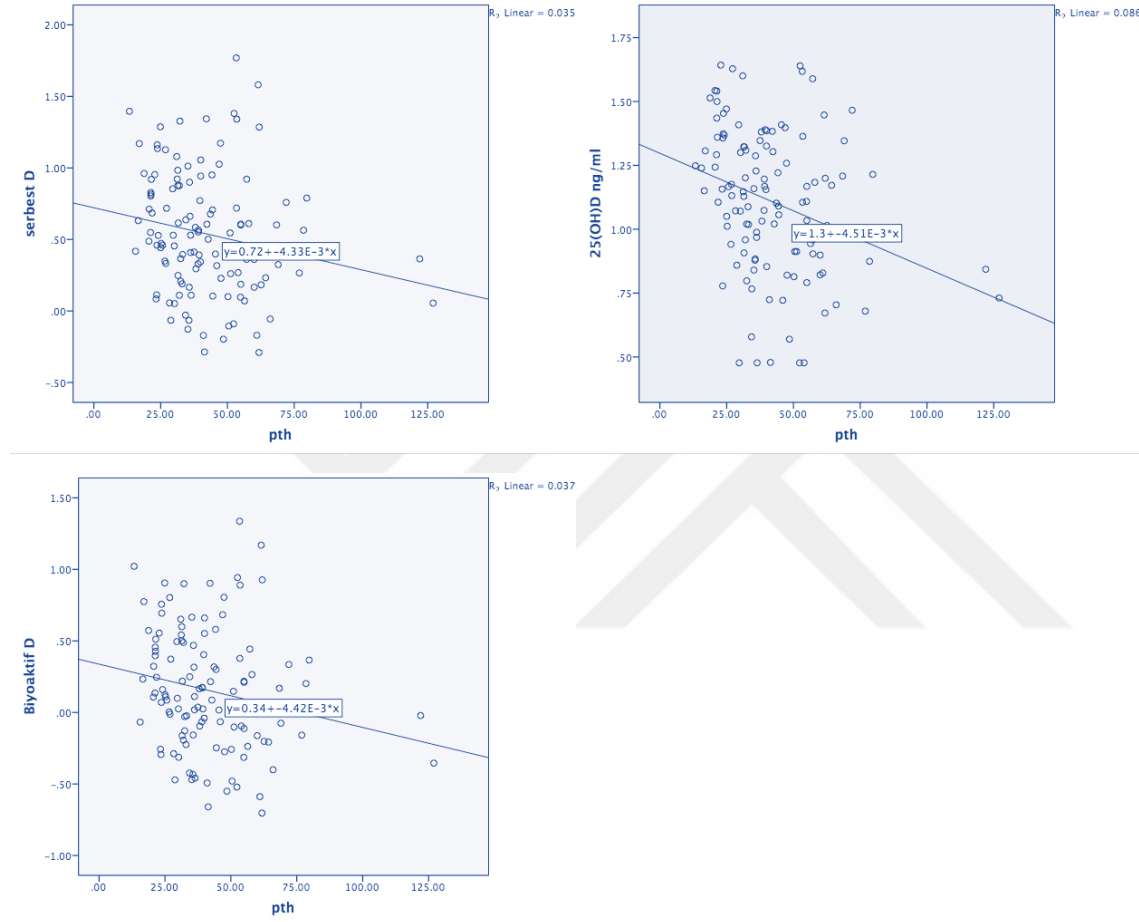
Tablo-12: Tip 1 DM grubunda serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d ve biyoaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

Tip 1 DM								
		25(OH)D	ALP	OC	CTX	Serbest D	Biyoaktif D	PTH
25(OH)D (ng/ml)	Pearson p	1 -	-0.164 0.210	-0.151 0.250	-0.141 0.281	0.638 0.0001	0.649 0.0001	-0.113 0.390
ALP (U/L)	Pearson p	-0.164 0.210	1 -	0.881 0.0001	0.882 0.0001	-0.103 0.435	-0.083 0.526	-0.125 0.340
OC (ng/ml)	Pearson p	-0.151 0.250	0.881 0.0001	1 -	0.941 0.0001	-0.063 0.630	-0.045 0.732	-0.137 0.298
CTX (ng/ml)	Pearson p	-0.141 0.281	0.882 0.0001	0.941 0.0001	1 -	-0.058 0.657	-0.042 0.751	-0.097 0.461
Serbest D (pg/ml)	Pearson p	0.638 0.0001	-0.103 0.435	-0.063 0.630	-0.058 0.657	1 0	0.996 0.0001	-0.102 0.438
Biyoaktif D (ng/ml)	Pearson p	0.649 0.0001	-0.083 0.526	-0.045 0.732	-0.042 0.751	0.996 0.0001	1 -	-0.123 0.351
PTH (pg/ml)	Pearson p	-0.113 0.390	-0.125 0.340	-0.137 0.298	-0.097 0.461	-0.102 0.438	-0.123 0.351	1 0

Tablo-13: Kontrol grubunda serum 25(OH)D, ALP, PTH, CTX, osteokalsin, serbest d ve biyoaktif d vitamini arasında korelasyon analizi

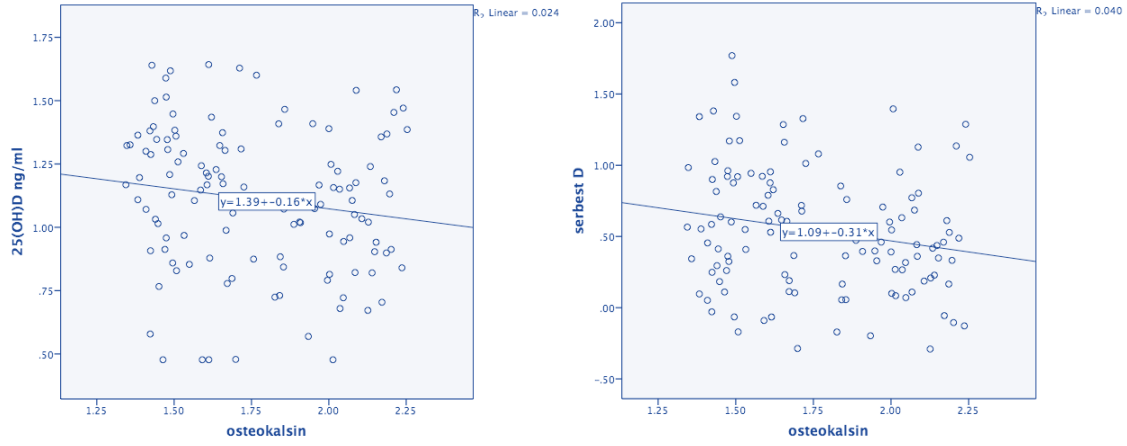
Kontrol								
		25(OH)D	ALP	OC	CTX	Serbest D	Biyoaktif D	PTH
25(OH)D (ng/ml)	Pearson	1	0.009	0.011	0.039	0.734	0.732	-0.454
	p	-	0.946	0.936	0.765	0.0001	0.0001	0.0001
ALP (U/L)	Pearson	0.009	1	0.900	0.906	-0.140	-0.139	-0.162
	p	0.946	-	0.0001	0.0001	0.287	0.289	0.217
OC (ng/ml)	Pearson	0.011	0.900	1	0.902	-0.157	-0.153	-0.016
	p	0.936	0.0001	-	0.0001	0.230	0.242	0.903
CTX (ng/ml)	Pearson	0.039	0.906	0.902	1	-0.114	-0.104	-0.037
	p	0.765	0.0001	0.0001	-	0.385	0.428	0.781
Serbest D (pg/ml)	Pearson	0.734	-0.140	-0.157	-0.114	1	0.996	-0.238
	p	0.0001	0.287	0.230	0.385	0	0.0001	0.067
Biyoaktif D (ng/ml)	Pearson	0.732	-0.139	-0.153	-0.104	0.996	1	-0.237
	p	0.0001	0.289	0.242	0.428	0.0001	-	0.068
PTH (pg/ml)	Peason	-0.454	-0.162	-0.016	-0.037	-0.238	-0.237	1
	p	0.0001	0.217	0.903	0.781	0.067	0.068	0

Parathormon ile 25(OH)D düzeyleri anlamlı sınırdaki korelasyonu gösterdi. Biyoaktif D vitamini ve serbest D vitamini anlamlı sınırdaki zayıf bir korelasyonu gösterdi. Çoklu regresyon analizine göre parathormon düzeyini etkileyen faktör 25(OH)D olarak belirlendi (Şekil-10).

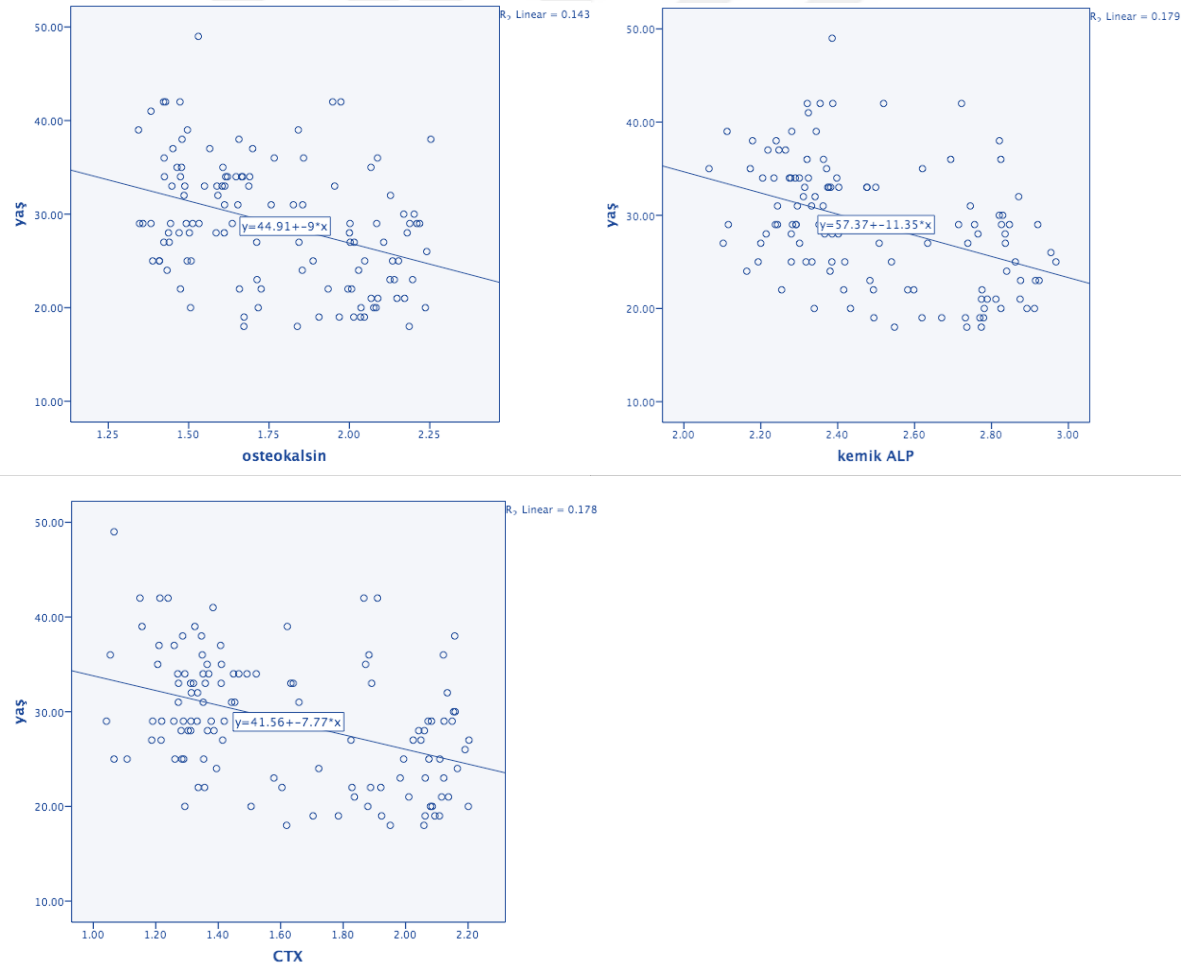


Şekil 10: Hasta ve kontrol grubunun birlikte serum 25(OH)D, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini değerlerinin parathormon ile korelasyonu (serbest D: pg/ml, biyoaktif D: ng/ml)

25(OH)D ile osteokalsin arasında anlamlı bir korelasyon izlenmedi, serbest D vitamini anlamlı sınırdaki fakat zayıf korelasyonu gösterdi ($r = -0.201$, $p = 0.028$). Çoklu regresyon analizinde osteokalsin düzeyini etkileyen faktör olarak yaş, VKİ ve açlık kan şekeri saptandı (Şekil=11).



Şekil 11: 25(OH)D ve serbest D vitamini düzeylerinin osteokalsin düzeyleri ile korelasyonu (25(OH)D: ng/ml, osteokalsin: ng/l, serbest D: pg/ml)



Şekil 12: Yaş ile kemik döngü parametreleri arasındaki ilişki (CTX: ng/ml, ALP: U/L, osteokalsin: ng/ml)

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

D vitamini eksikliği global bir sorundur ve günümüzde bir çok kronik hastalık ile ilişkisi araştırılmaktadır. Dolaşımdaki biyoaktif D vitamini düzeyini, kandaki ana vitamin D taşıyıcı protein olan VDBP düzeylerinin etkileyebileceği düşünülmektedir ve yapılan çalışmalarda tip 1 DM tanılı hastalarda 25(OH)D ve VDBP düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada VDBP, albumin ve 25(OH)D düzeyleri ile hesaplanan serbest D ve biyoaktif D vitamini değerlerinin D vitamini düzeyi ve kemik metabolizmasını değerlendirmede 25(OH)D düzeyinden daha iyi bir gösterge olma durumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada dahil edilen tip 1 DM tanılı hastaların %63.3'ünün, kontrol grubunun %78'inin 25(OH)D<20 ng/ml saptanmıştır ve katılımcıların sadece %8.3'ünde 25(OH)D≥30 ng/ml saptanmıştır. Tip 1 DM ve sağlıklı grubun 25(OH)D düzeyleri 25(OH)D<20 ng/ml ve 25(OH)D≥20 ng/ml olarak değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 25(OH)D düzeyleri normal dağılım göstermeyen hastalar nonparametrik testler ile değerlendirildiğinde kontrol grubunun 25(OH)D düzeyleri daha düşük saptanmıştır (p=0.01). Korelasyon ve regresyon analizine göre D vitamini düzeyini etkileyebilecek parametreler yaş ve VKİ olarak belirlenmiştir.

Literatüre bakıldığında, Türkiye'de yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre kış döneminde katılımcıların sadece %3.4'ünün D vitamini düzeylerinin yeterli olduğu gözlenmiştir ve bizim çalışmamızla benzer şekilde 25(OH)D düzeyleri düşük saptanmıştır (253). Tip 1 DM hastalarında yapılan çalışmalara bakıldığında, kontrol grubuna göre 25(OH)D seviyelerinin daha düşük olduğunu gösteren çalışmaların yanında, fark olmadığını ortaya çıkaran çalışmalar da mevcuttur (26,27,254). Tip 1 DM tanılı hastaların serum 25(OH)D düzeylerini inceleyen bir metaanalizin sonuçlarına göre, tip 1 DM grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre serum 25(OH)D düzeyleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Bir başka metaanalizde; tip 1 DM hastalarında 25(OH)D düzeyi anlamlı olarak düşük saptanmış fakat yaşa göre alt grup analizi yapıldığında bu fark 14 yaş üzeri grupta anlamlı çıkmamıştır (26,27). D vitamininin tip 1 DM patogenezindeki etkisine yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında, Finlandiya'da yapılan bir kohort çalışmasında HLA riskli bireylerin aralıklı olarak serum 25(OH)D seviyeleri ölçülmüş ve takibinde tip 1 DM gelişen ve gelişmeyen grupların 25(OH)D seviyeleri arasında bir fark saptanmamıştır (255). Yine Finlandiya'da 2003 yılından itibaren genel sağlık politikalarında vitamin D eksikliği dikkate

alınmaya başlamış ve vitamin D zenginleştirilmiş süt ürünleri geliştirilmiştir. Yapılan kohort çalışmasının sonuçlarına göre vitamin D düzeyleri 2002 öncesi döneme göre 2003-2006 arasında daha yüksektir. Aynı zamanda 2006 yılından itibaren tip 1 DM insidansındaki yükselmenin plato çizdiği gözlenmiş, patogenezi tam açıklayamasa da ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (256).

Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da literatürdeki sonuçlar ile benzerdir ve D vitamini eksikliği oranı her iki grupta da yüksek çıkmıştır. İki grup arasında D vitamini eksikliği olanlar ile D vitamini yetersiz ve normal olanlar olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Nonparametrik testler ile analiz edildiğinde kontrol grubunda D vitamini düzeyi daha düşük olarak görünmektedir. Regresyon analizine göre D vitamini düzeyini etkileyebilecek faktörler yaş ve VKİ olarak belirlenmiştir. Obezitenin D vitamini eksikliğine sebep olduğu bilinmektedir ve bu çalışmadaki sonuç bu bilgiyle uyumludur. Kontrol grubunda D vitamini seviyelerinin daha düşük saptanmasına, tip 1 DM grubunun daha sık hastane başvurusu ve tedavi uyumu (son 6 aydır tedavi almayan grup dahil edilmiştir) ve giyim tarzı, beslenme ve güneş ışığına maruziyet gibi bu çalışmaya dahil edilmemiş olan faktörler etkili olmuş olabilir, bu faktörlerin de değerlendirilmesi katkı sağlayabilir.

Bu çalışmada serbest ve biyoaktif D vitamini etkileyebilecek bir parametre olan VDBP düzeyleri iki grupta da benzer saptanmıştır ve yaş, bel çevresi, cinsiyet, LDL, VKİ ile ilişki saptanmamıştır. Serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri serum 25(OH)D düzeyi ile pozitif, VDBP ile negatif korelasyon göstermiştir. Kemik metabolizması ile ilişki açısından değerlendirdiğimizde, serum 25(OH)D düzeyleri ile parathormon düzeyleri arasında anlamlı bir negatif korelasyon saptanmıştır, serbest ve biyoaktif D vitamini düzeyleri çoklu regresyon analizi ile değerlendirme sonrasında anlamlı bir korelasyon göstermemiştir. Kemik döngü parametreleri ile serbest ve biyoaktif D vitamini ve serum 25(OH)D düzeyleri arasındaki korelasyona bakıldığında sadece osteokalsin ile serbest D vitamini arasında zayıf bir korelasyon gözlenmiş ve yaş ile anlamlı negatif korelasyon gözlenmiştir. Serbest D ve biyoaktif D vitamini kemik metabolizması açısından 25(OH)D'den daha iyi bir gösterge olabileceği hipotezi ile yapılan bu çalışmada, bunu destekler bir sonuca ulaşamamıştır. Parathormon düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamış olup, kalsiyum düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır fakat bütün katılımcıların kalsiyum düzeyleri normal sınırlarda olması sebebiyle klinik açıdan anlamlı kabul edilmemiştir. Referans değerin üzerinde parathormon düzeyi olan sadece iki kişi olması sebebiyle parathormon düzeylerine göre kategorize edilerek ayrıca

analiz yapılamamıştır.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında; siyahi Amerika’lılarda D vitamini düzeylerinin daha düşük fakat KMD’lerinin normal olması ve daha düşük fraktür riskine sahip olmaları sebebiyle yapılan çalışmalarda VDBP düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır ve total 25(OH)D seviyelerinin düşük saptanmasının buna bağlı olabileceği, hesaplanan biyoaktif D vitamini düzeylerinin beyaz ırktan olan bireylerle aynı seviyede olduğu saptanmıştır. Bu veriler düşük 25(OH)D seviyelerinin her zaman vitamin D eksikliğini göstermeyebileceğini düşündürmektedir (35). Hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada 25(OH)D ile parathormon düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon gözlenmezken biyoaktif D vitamini ile korelasyon gözlenmiştir (36). Literatürde bizim çalışmamızla benzer şekilde serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini ölçümünün 25(OH)D düzeyine ek bir katkı sağlamadığını gösterir bulgular da mevcuttur. 8 haftalık D vitamini replasmanı ile serum 25(OH)D, serbest D vitamini, parathormon düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada serum 25(OH)D ve serbest D vitamini ile parathormon düzeyleri arasında negatif korelasyon, CTX ile pozitif korelasyon saptanmış, serum PINP ile korelasyon saptanmamış ve serbest D vitamininin sağlıklı popülasyonda ek bir katkı sağlamadığı gözlenmiştir (200,257). Sağlıklı bireylerde yapılan bir başka çalışmada da serbest D vitamini düzeylerinin KMD ile daha iyi korelasyon gösterdiği gösterilmiştir (200), fakat bu etki yapılan daha geniş çaplı bir çalışmada gösterilememiştir (201).

Tip 1 DM tanılı hastalarda VDBP düzeyleri üzerine yapılan bir çalışmada benzer yaş ve cinsiyetteki 203 tip 1 DM tanılı ve 153 kontrol grubunun VDBP ve VDBP polimorfizmleri değerlendirilmiş, median VDBP seviyeleri tip 1 DM grubunda daha düşük, cinsiyete göre analiz edildiğinde kadınlarda daha yüksek, yaş ile ilişkisiz olarak saptanmış ve VDBP polimorfizmleri ile bir ilişki saptanmamıştır (204). Megalinin mikroalbuminürisi olan hastaların idrarında atılıyor olması sebebiyle ortaya çıkan idrarla VDBP kaybı hipotezi üzerine yapılan bir çalışmada tip 1 DM tanılı hastaların idrarında VDBP düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve serum 25(OH)D düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. 25(OH)D seviyelerinin düşük olmasına sebep olan faktör açısından ileri araştırmalar gerekmektedir.

Bizim çalışmamızda VDBP düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır, ve VDBP ile osteokalsin, kemik ALP, CTX arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır; yaş ve cinsiyete göre analiz edildiğinde anlamlı bir fark

saptanmamıştır. Daha geniş bir hasta popülasyonunda idrarda VDBP düzeyleri ile birlikte yapılan bir değerlendirme ek bilgi sağlayabilir. VDBP düzeyleri kontrol grubu ile benzer olan bu hasta grubunda VDBP polimorfizmleri değerlendirilmemiştir. Literatürde tip 1 DM tanılı hastalarda 11. Ekzon ile ilişkili gösterilmiş iki polimorfizm saptanmıştır (205). Bu polimorfizmlere bağlı bağlanma katsayısındaki farklılıklar önemli olabilir ve VDBP polimorfizmlerinin de değerlendirilmesiyle elde edilen biyoaktif ve serbest D vitamini düzeyleri daha anlamlı olabilir.

Bu çalışmada, nonparametrik testler ile yapılan değerlendirmenin sonucuna göre kontrol grubunda serum osteokalsin, kemik alkalen fosfataz ve c-telopeptid düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Kemik döngü parametreleri, serum 25(OH)D, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri ile anlamlı sınıra ulaşmayan negatif ilişki göstermektedir. Sadece osteokalsin düzeyi ile serbest D vitamini düzeyleri arasında anlamlı sınırdan bir korelasyon saptanmış olup yapılan çoklu regresyon analizinde osteokalsin düzeyi üzerine etkili olan faktörler açlık kan şekeri, yaş ve VKİ olarak belirlenmiştir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, pubertal dönemdeki siyahi ve beyaz ırktan bireylerde yapılan bir çalışmanın sonucunda bazal ve 12 haftalık D vitamini replasmanı sonrası 25(OH)D ve kemik döngü parametreleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır (258). Postmenopozal hastalarda yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre serum 25(OH)D düzeyleri ile parathormon arasında anlamlı negatif korelasyon gözlenmiş, serum CTX ve P1NP ile 25(OH)D <20 ng/ml ve PTH > 58 pg/ml olan grupta anlamlı değişiklik saptanmıştır (249). Yine adolesanlarda yapılan bir çalışmada kış aylarında serum 25(OH)D düzeyi ile CTX düzeyleri arasında anlamlı sınırdan korelasyon saptanmış, osteokalsin ile korelasyon saptanmamıştır (259). İtalya’da yapılan bir başka çalışmada da serum 25(OH)D düzeyleri ile CTX arasında pozitif, kemik ALP ve PTH ile negatif korelasyon gözlenmiştir (260). D vitamini tedavisi sonrasında kemik döngü parametrelerinin 25(OH)D ve serbest D vitamini düzeyleri ile ilişkisini araştıran bir çalışmada da CTX ile korelasyon göstermiş, P1NP ile korelasyon gözlenmemiştir (257). Bizim çalışmamızda da 25(OH)D düzeyleri ile kemik döngü parametreleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır ve serbest D ve biyoaktif D vitamini düzeyleri de ek bir katkı sağlamamıştır. Literatürdeki çalışmaların sonuçları da çelişkilidir.

Diyabetik bireylerde kemik döngü parametreleri ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında ise; Clowes ve arkadaşları oral glukoz alımından yarım saat sonra bakılan değerlerde serum P1NP,

osteokalsin, NTX, CTX değerlerini sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük saptamıştır ve glukoz alımının kemik döngü parametrelerini etkileyebileceği hipotezini ortaya çıkarmıştır (261) ve yapılan bir metaanalizin sonuçlarına göre tip 1 DM ve tip 2 DM tanılı hastalarda kemik döngü parametreleri kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır (262). Yine bir başka derlemede tip 1 DM grubunda serum osteokalsin ve CTX düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır (248). Spontan olarak diyabetli olan ve olmayan sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada da diyabetik olanların serum osteokalsin düzeyleri 1,25(OH)2D3 düzeylerinden bağımsız olarak daha düşük saptanmıştır (263). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda osteokalsinden yoksun farelerde yüksek kan şekeri ve lipid konsantrasyonları saptanmıştır ve diyabet ile ilişkisini gündeme getirmiştir (264). Bizim alışmamızda da tip 1 DM grubunda kemik döngü parametreleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır fakat serum 25(OH)D düzeyiyle anlamlı sınıra ulaşmayan bir negatif korelasyon göstermiştir. Osteokalsin düzeyini etkileyebilecek parametreler olarak açlık kan şekeri, yaş ve VKİ belirlenmiştir. Daha nceki çalışmalarda da açlık kan şekeri, hba1c, VKİ, yaş ile negatif korelasyon saptanmıştır (248, 262, 265). Etken olabilecek diğer faktörler açısından ileri araştırmalar gerekmektedir.

Bizim alışmamızda D vitamini düzeylerine göre lipid parametreleri değerlendirildiğinde tip 1 DM grubunda serum 25(OH)D<20 ng/ml olanlarda LDL düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında vitamin D eksikliği olanlarda kan basıncının ve istirahat kalp hızının daha yüksek olduğu ve kardiyovasküler açıdan olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (173,174). Bir metaanalizin sonucuna göre D vitamini eksikliği olan yetişkin bireylerde daha düşük HDL düzeyleri ve yüksek LDL düzeyleri saptanmıştır (266). Tip 2 diyabetik hastalarda yapılan çalışmaların dahil edildiği bir metaanalizde ise ortalama 12 haftalık vitamin D replasmanı sonrasında LDL düzeylerinde düşme gözlenmiştir (267). Bu açıdan tip 1 DM hastalarında da D vitamini ve lipid parametreleri arasındaki ilişkiye yönelik daha geniş kapsamlı bir çalışma gereklidir.

Literatürde Tip 1 DM tanılı hastalarda serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri ile kemik mineral metabolizmasının ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan ilk olan bu çalışmada serbest ve biyoaktif D vitamini düzeyleri, serum 25(OH)D seviyesine göre parathormon, kalsiyum, osteokalsin, kemik alkalen fosfataz ve c-telopeptid düzeyleri ile daha

anlamalı bir ilişki göstermemiştir. Serum 25(OH)D, albumin ve VDBP düzeyleri ve bağlanma afiniteleri ile hesaplanan bir formül ile elde edilen serbest ve biyoaktif D vitamini düzeylerinin regresyon analizine göre serum 25(OH)D ve VDBP düzeyleri albumin düzeyine göre daha belirleyicidir. Literatür ile benzer şekilde serum serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini ile 25(OH)D arasında pozitif korelasyon, VDBP arasında negatif korelasyon mevcuttur (200).

Bu çalışmanın kısıtlılıkları; hastalar ve kontrol grubuna alınan bireyler beslenme ve giyim alışkanlıkları, güneş ışığı maruziyetleri, sigara kullanımı, oral kontraseptif kullanımı açısından sorgulanmamıştır. Vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri bakılmış fakat polimorfizmler açısından incelenmemiştir. Hastaların KMD ölçümleri bulunmamaktadır. Serbest ve biyoaktif D vitamini düzeyleri direkt yöntemle ölçülmemiştir, vitamin D bağlayıcı protein, albumin, 25(OH)D ve bağlanma katsayıları ile formül yöntemi ile hesaplanmıştır. Çalışmaya alınan tip 1 DM ve kontrol grubundaki bireylerin sadece %10 ve %8.4' ünün vitamin D değerleri normal sınırlardadır, çalışmaya D vitamini normal sınırlarda olan tip 1 DM ve kontrol bireylerin dahil edilmesi daha anlamlı sonuçlar verebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada tip 1 DM tanılı hastalar ve sağlıklı bireylerde D vitamini düzeyleri oldukça düşük saptanmıştır ve vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri her iki grupta anlamlı bir fark göstermemiştir. Hesaplanan serbest D ve biyoaktif D vitaminleri serum 25(OH)D düzeyiyle pozitif, vitamin D bağlayıcı protein düzeyleri ile negatif korelasyon göstermiş ve kemik döngü parametreleri ile serum 25(OH)D düzeylerine göre daha anlamlı bir ilişki göstermemiştir. 25(OH)D<20 ng/ml olanlarda parathormon düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptanmış ve literatür ile uyumlu sonuç elde edilmiştir. Serbest D ve biyoaktif D vitamini düzeyleri ile parathormon düzeyleri ve kemik döngü parametreleri arasında korelasyon saptanmayan bu hasta grubunda vitamin D bağlanma afiniteleri açısından VDBP polimorfizmlerine bakmak ve biyoaktif D vitamini düzeylerini henüz pratik kullanımda olmayan direkt yöntem ile ölçmek faydalı olabilir. Literatür ile uyumlu bir şekilde osteokalsin, kemik ALP ve CTX düzeyleri tip 1 DM grubunda daha düşük saptanmıştır ve buna sebep olabilecek faktörler açısından ileri araştırmalar gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Todd JA. Etiology of type 1 diabetes. *Immunity*. 2010;32:457–67.
2. Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*. 2010;464:1293–300.
3. Leslie RD. Predicting adult-onset autoimmune diabetes: clarity from complexity. *Diabetes*. 2010;59:330–31.
4. Williams textbook of endocrinology, 12 th edition, Shlomo Melmed, George S. Eisenbarth Type 1 Diabetes Mellitus, page 1447
5. Engerman R, Bloodworth Jr JM, Nelson S. Relationship of microvascular disease in diabetes to metabolic control. *Diabetes*. 1977;26: 760-769
- 6.Engerman RL, Kern TS. Progression of incipient diabetic retinopathy during good glycemic control. *Diabetes*. 1987;36:808-812.
7. Cohen AJ, McGill PD, Rossetti RG, et al. Glomerulopathy in spontaneously diabetic rat: impact of glycemic control. *Diabetes*. 1987;36: 944-951
8. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol*. 1984;102:520-526
9. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression of diabetic retinopathy. *JAMA*. 1988;260:2864-2871.
10. Chase HP, Jackson WE, Hoops SL, et al. Glucose control and the renal and retinal complications of insulin-dependent diabetes. *JAMA*. 1989; 261:1155-1160.
- 11-Silink M. Childhood diabetes: a global perspective. *Horm Res* 2002; 57 Suppl 1:1.
- 12-Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, et al. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care* 2000; 23:1516.
- 13.Robles DT, Eisenbarth GS. Type 1A diabetes induced by infection and immunization. *J Autoimmun*. 2001;16:355-362.
14. Lonnrot M, Korpela K, Knip M, et al. Enterovirus infection as a risk factor for beta-cell

autoimmunity in a prospectively observed birth cohort: the Finnish Diabetes Prediction and Prevention Study. *Diabetes*. 2000;49:1314-1318.

15. Honeyman MC, Coulson BS, Stone NL, et al. Association between rotavirus infection and pancreatic islet autoimmunity in children at risk of developing type 1 diabetes. *Diabetes*. 2000;49:1319-1324.

16. Classen DC, Classen JB. The timing of pediatric immunization and the risk of insulin-dependent diabetes mellitus. *Infect Dis Clin Pract*. 1997;6:449-454.

17. Karvonen M, Cepaitis Z, Tuomilehto J. Association between type 1 diabetes and Haemophilus influenzae type b vaccination: birth cohort study. *BMJ*. 1999;318:1169-1172.

18. Lindberg B, Ahlfors K, Carlsson A, et al. Previous exposure to measles, mumps, and rubella but not vaccination during adolescence correlates to the prevalence of pancreatic and thyroid autoantibodies. *Pediatrics*. 1999;104:e12

19. Graves PM, Barriga KJ, Norris JM, et al. Lack of association between early childhood immunizations and beta-cell autoimmunity. *Diabetes Care*. 1999;22:1694-1697.

20. Virtanen SM, Laara E, Hypponen E, et al. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes: a nested case-control study of siblings of children with diabetes. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes*. 2000;49:912-917.

21. Virtanen SM, Rasanen L, Aro A, et al. Infant feeding in Finnish children less than 7 yr of age with newly diagnosed IDDM. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes Care*. 1991;14: 415-417.

22. Couper JJ, Steele C, Beresford S, et al. Lack of association between duration of breast-feeding or introduction of cow's milk and development of islet autoimmunity. *Diabetes*. 1999;48:2145-2149.

23. Norris JM, Beaty B, Klingensmith G, et al. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and β -cell autoimmunity: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA*. 1996; 276:609-614.

24. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia* 1999; 42:51.

25. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358:1500-3.
26. Shen L., Zhuang QS., Ji HF. Assessment of vitamin D levels in type 1 and type 2 diabetes patients: Results from metaanalysis. *Molecular Nutrition Food Research*. 2016 May;60(5):1059
27. Feng R., Li Y., Li G., Li Z. , Zhang Y. et. al. Lower serum 25 (OH) D concentrations in type 1 diabetes: A metaanalysis *Diabetes Research and Clinical Practice* 2015 Jun;108(3):e71-5.
28. Khazai NB, Beck GR, Jr, Umpierrez GE. Diabetes and fractures: an overshadowed association. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16:435–445
29. Cooper JD, Smyth DJ, Walker NM, et al. Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes* 2011; 60:1624.
30. Adams, J. S., Hewison, M., Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. 95(2): p. 471-478.
31. Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., Murad, M. H., Weaver, C. M., Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011 Jul;96(7):1911-30
32. Bikle DD, Gee E, Halloran B, Kowalski MA, Ryzen E, Haddad JG. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;63:954–9. [[PubMed](#)]
33. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest*. 1999;103:239–51. [[PubMed](#)]
34. Bikle DD, Gee E. Free, and not total, 1,25-dihydroxyvitamin D regulates 25-hydroxyvitamin D metabolism by keratinocytes. *Endocrinology*. 1989;124:649–54. [[PubMed](#)]
35. Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, et al. Vitamin D–Binding Protein and Vitamin D Status of Black Americans and White Americans. *New England Journal of Med*. 2013 Nov 21;369(21):1991-2000
36. Bhan I, Powe CE, Berg AH, Ankers E, Wenger JB, Karumanchi SA, Thadhani RI. Bioavailable vitamin D is more tightly linked to mineral metabolism than total vitamin D in incident

hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2012 Jul;82(1):84-9.

37. Karamanaou M., Protogerou A., Tsoucalas G., Androutsos G., Poulakou Rebelakou E. Milestones in the history of diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2016 Jan 10;7(1):1-7.

38. Dobson M. Nature of the urine in diabetes. *Medical Observations and Enquiries* 1776;5:21830.

39. von Mering J, Minkowski O. Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1890;26:371-87.

40. Schäfer E. An introduction to the study of the endocrine glands and internal secretions 1914:84,86 Stanford University Palo Alto, CA.

41. Gale, E.A.M. Historical aspects of type 1 diabetes . 2014 Aug 13; Diapedia 2104085134 rev. no. 38.

42. Gale, E.A.M. Discovery of type 1 diabetes . 2014 Aug 13; Diapedia 2104085152 rev. no. 43.

43. Rosenbauer J, Herzig P, von Kries R, et al. Temporal, seasonal, and geographical incidence patterns of type I diabetes mellitus in children under 5 years of age in Germany. *Diabetologia* 1999; 42:1055.

44. Yang Z, Wang K, Li T, et al. Childhood diabetes in China. Enormous variation by place and ethnic group. *Diabetes Care* 1998; 21:525.

45. Waldhör T, Schober E, Karimian-Teherani D, et al. Regional differences and temporal incidence trend of Type I diabetes mellitus in Austria from 1989 to 1999: a nationwide study. *Diabetologia* 2000; 43:1449

46. Liese AD, Lawson A, Song HR, et al. Evaluating geographic variation in type 1 and type 2 diabetes mellitus incidence in youth in four US regions. *Health Place* 2010; 16:547.

47. Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop PH. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA* 2013; 310:427.

48. Plotnick LP, Klingensmith GJ, Silverstein JH, et al. Diabetes mellitus. In: *Principles and Practice of Pediatric Endocrinology*, Kappy MS, Allen DB, Geffner ME (Eds), Charles C Thomas, Springfield 2005. p.635.

49. Felner EI, Klitz W, Ham M, et al. Genetic interaction among three genomic regions creates distinct contributions to early- and late-onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2005; 6:213-20.
50. Durruty P, Ruiz F, García de los Ríos M. Age at diagnosis and seasonal variation in the onset of insulin-dependent diabetes in Chile (Southern hemisphere). *Diabetologia* 1979; 17:357.
51. Elamin A, Omer MI, Zein K, Tuvemo T. Epidemiology of childhood type I diabetes in Sudan, 1987-1990. *Diabetes Care* 1992; 15:1556.
52. Writing Group for the SEARCH for Diabetes in Youth Study Group, Dabelea D, Bell RA, et al. Incidence of diabetes in youth in the United States. *JAMA* 2007; 297:2716.
53. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA* 2014; 311:1778.
54. Gale EA, Gillespie KM. Diabetes and gender. *Diabetologia* 2001; 44:3.
55. Harjutsalo V, Sjöberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet* 2008; 371:1777.
56. Mamoulakis D, Galanakis E, Bicouvarakis S, et al. Epidemiology of childhood type I diabetes in Crete, 1990-2001. *Acta Paediatr* 2003; 92:737.
57. Karvonen M, Pitkaniemi J, Tuomilehto J. The onset age of type 1 diabetes in Finnish children has become younger. The Finnish Childhood Diabetes Registry Group. *Diabetes Care* 1999; 22:1066.
58. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, et al. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009; 373:2027.
59. Tuomilehto J. The emerging global epidemic of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep* 2013; 13:795.
60. Vehik K, Hamman RF, Lezotte D, et al. Increasing incidence of type 1 diabetes in 0- to 17-year-old Colorado youth. *Diabetes Care* 2007; 30:503.
61. American Diabetes Association. Clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care*. 2002;25(suppl 1):S1-S147

62. McCulloch DK, Palmer JP. The appropriate use of B-cell function testing in the preclinical period of type 1 diabetes. *Diabet Med* 1991; 8:800.
63. Purnell JQ, Dev RK, Steffes MW, et al. Relationship of family history of type 2 diabetes, hypoglycemia, and autoantibodies to weight gain and lipids with intensive and conventional therapy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 2003; 52:2623
64. Ziegler AG., Hummel M, Schenker M, et al. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB study. *Diabetes*. 1999;48:460-468.
65. Yu L, Robles DT, Abiru N, et al. Early expression of anti-insulin autoantibodies of man and the NOD mouse: evidence for early determination of subsequent diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97: 1701-1706.
66. Tian J, Atkinson M, Clare-Salzer M, et al. Nasal administration of glutamate decarboxylase (GAD65) peptides induces Th2 responses and prevents murine insulin-dependent diabetes. *J Exp Med*. 1996;183:1561-1567.
67. Muir A, Peck A, Clare-Salzler M, et al. Insulin immunization of non obese diabetic mice induces a protective insulitis characterized by diminished intra-islet interferon-gamma transcription. *J Clin Invest*. 1995;95:628-634.
68. Cetkovic-Cvrlje M, Gerling IC, Muir A, et al. Retardation or acceleration of diabetes in NOD/Lt mice mediated by intra thymic administration of candidate β -cell antigens. *Diabetes*. 1997;46:1975-1982.
69. Daniel D, Wegmann DR. Protection of nonobese diabetic mice from diabetes by intranasal or subcutaneous administration of insulin peptide B-(9-23). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:956-960.
- 70-Atkinson MA, Eisenbarth GS: Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment, *Lancet* 358:221–229, 2001.
71. Wolfsdorf J, Glaser N, Sperling MA, American Diabetes Association. Diabetic ketoacidosis in infants, children, and adolescents: A consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006; 29:1150.

72. Klingensmith GJ, Tamborlane WV, Wood J, Haller MJ, Silverstein J. et al. Diabetic ketoacidosis at diabetes onset: still an all too common threat in youth. *J Pediatr* 2013; 162:330.
73. Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, et al. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatrics* 2014; 133:e938.
74. Silverstein J, Klingensmith G, Copeland K, et al. Care of children and adolescents with type 1 diabetes: a statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2005; 28:186.
75. Basevi V, Di Mario S, Morciano C, Nonino F, Magrini N. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2011. *Diabetes Care* 2011; 34 Suppl 1:S11.
76. Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, et al. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. *J Pediatr* 2000; 136:664.
77. Copeland KC, Zeitler P, Geffner M, et al. Characteristics of adolescents and youth with recent-onset type 2 diabetes: the TODAY cohort at baseline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:159.
78. Jones AG, Hattersley A.T. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes, *Diabet Med.* 2013 Jul; 30(7): 803–817.
79. Dabelea D, Pihoker C, Talton JW, et al. Etiological approach to characterization of diabetes type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care* 2011; 34:1628.
80. Krolewski AS, Canessa M, Warram JH, et al. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318:140.
81. Molitch ME, Steffes MW, Cleary PA, Nathan DM. Baseline analysis of renal function in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group [corrected]. *Kidney Int* 1993; 43:668.
82. Dahl-Jørgensen K, Bjørø T, Kierulf P, et al. Long-term glycemic control and kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1992; 41:920.
83. Barzilay J, Warram JH, Bak M, et al. Predisposition to hypertension: risk factor for nephropathy and hypertension in IDDM. *Kidney Int* 1992; 41:723.
84. Daneman D. Type 1 diabetes. *Lancet* 2006; 367:847

85. Nordwall M, Bojestig M, Arnqvist HJ, et al. Declining incidence of severe retinopathy and persisting decrease of nephropathy in an unselected population of Type 1 diabetes-the Linköping Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2004; 47:1266.
86. Pambianco G, Costacou T, Ellis D, et al. The 30-year natural history of type 1 diabetes complications: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study experience. *Diabetes* 2006; 55:1463.
87. Svensson M, Nyström L, Schön S, Dahlquist G. Age at onset of childhood-onset type 1 diabetes and the development of end-stage renal disease: a nationwide population-based study. *Diabetes Care* 2006; 29:538.
88. Viberti G, Mogensen CE, Groop LC, Pauls JF. Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. European Microalbuminuria Captopril Study Group. *JAMA* 1994; 271:275.
89. Captopril reduces the risk of nephropathy in IDDM patients with microalbuminuria. The Microalbuminuria Captopril Study Group. *Diabetologia* 1996; 39:587.
90. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993; 329:977.
91. Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ophthalmology* 1995; 102:647
92. Reichard P, Nilsson BY, Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329:304.
93. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 2005; 352:341.
94. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ann Intern Med* 1995; 122:561.
95. Amthor KF, Dahl-Jørgensen K, Berg TJ, et al. The effect of 8 years of strict glycaemic control on peripheral nerve function in IDDM patients: the Oslo Study. *Diabetologia* 1994; 37:579.

96. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, et. al. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia* 46 : 760-765,2003
97. Paterson AD, Rutledge BN, Cleary PA, Lachin JM, Crow RS: The effect of intensive diabetes treatment on resting heart rate in type 1 diabetes: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study. *Diabetes Care* 30:2107 - 2112, 2007
98. Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM,et. al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 353:2643 -2653, 2005
99. Thorsby E. Invited anniversary review: HLA associated diseases. *Hum Immunol.*1997;53:1-11.
100. Yu J, Shin CH, Yang SW, et al. Analysis of children with type 1 diabetes in Korea: high prevalence of specific anti-islet autoantibodies, immunogenetic similarities to Western populations with “unique” haplotypes, and lack of discrimination by aspartic acid at position 57 of DQB. *Clin Immunol.* 2004;113:318-325.
101. Rewers M, Norris J, Dabelea D. Epidemiology of type 1 diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol.* 2004;552:219-246.
102. Redondo MJ, Yu L, Hawa M, et al. Late progression to type 1 diabetes of discordant twins of patients with type 1 diabetes: combined analysis of two twin series (United States and United Kingdom) (Abstract). *Diabetes.* 1999;48:780.
103. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ.* 1995;311:913-917.
104. Committee on Diabetic Twins, Japan Diabetes Society. Diabetes mellitus in twins: a cooperative study in Japan. *Diabetes Res Clin Pract.* 1988;5:271-280.
105. Ikegami H, Ogihara T. Genetics of insulin-dependent diabetes mellitus. *Endocr J.* 1996;43:605-613.
106. Cooper JD, Smyth DJ, Smiles AM, et al. Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci. *Nat Genet* 2008; 40:1399.
107. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases

of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447:661. 50

108. Todd J.A, Walker N.M, Cooper J.D, et al. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet* 2007; 39:857.

109. Hakonarson H, Grant SF, Bradfield JP, et al. A genome-wide association study identifies KIA0350 as a type 1 diabetes gene. *Nature* 2007 Aug; 448:591.

110. Lowe CE, Cooper JD, Brusko T, et al. Large-scale genetic fine mapping and genotype-phenotype associations implicate polymorphism in the IL2RA region in type 1 diabetes. *Nat Genet* 2007;39:1074.

111. Concannon P, Onengut-Gumuscu S, Todd JA, et al. A human type 1 diabetes susceptibility locus maps to chromosome 21q22.3. *Diabetes* 2008 Oct.; 57:2858.

112. Concannon P, Rich S.S, Nepom G.T. Genetics of type 1A diabetes. *N Engl J Med* 2009 Apr.; 360:1646.

113. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, et al. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 371:130.

114. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* 1996; 85:291

115. Khalil I, d'Auriol L, Gobet M, et al. A combination of HLA-DQ beta Asp57-negative and HLA DQ alpha Arg52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1990; 85:1315.

116. Rowe RE, Leech NJ, Nepom GT, McCulloch DK. High genetic risk for IDDM in the Pacific Northwest. First report from the Washington State Diabetes Prediction Study. *Diabetes* 1994; 43:87.

117. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, et al. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3896.

118. Undlien DE, Friede T, Rammensee HG, et al. HLA-encoded genetic predisposition in IDDM: DR4 subtypes may be associated with different degrees of protection. *Diabetes* 1997; 46:143.

119. Baschal EE, Aly TA, Babu SR, et al. HLA-DPB1*0402 protects against type 1A diabetes autoimmunity in the highest risk DR3-DQB1*0201/DR4-DQB1*0302 DAISY population. *Diabetes* 2007; 56:2405.
120. Bell GI, Horita S, Karam JH. A polymorphic locus near the human insulin gene is associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33:176.
121. Barratt BJ, Payne F, Lowe CE, et al. Remapping the insulin gene/IDDM2 locus in type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53:1884.
122. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nat Genet* 2004; 36:337.
123. Smyth D, Cooper JD, Collins JE, et al. Replication of an association between the lymphoid tyrosine phosphatase locus (LYP/PTPN22) with type 1 diabetes, and evidence for its role as a general autoimmunity locus. *Diabetes* 2004; 53:3020.
124. Kavvoura FK, Ioannidis JP. CTLA-4 gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes mellitus: a HuGE Review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2005; 162:3.
125. Jaeger C, Hatzigelaki E, Petzoldt R, Bretzel RG. Comparative analysis of organ-specific autoantibodies and celiac disease associated antibodies in type 1 diabetic patients, their first-degree relatives, and healthy control subjects. *Diabetes Care* 2001; 24:27.
126. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994; 331:1428.
127. Achenbach P, Koczwara K, Knopff A, et al. Mature high-affinity immune responses to (pro)insulin anticipate the autoimmune cascade that leads to type 1 diabetes. *J Clin Invest* 2004; 114:589.
128. Vardi P, Ziegler AG, Matthews JH, et al. Concentration of insulin autoantibodies at onset of type I diabetes: inverse log-linear correlation with age. *Diabetes Care*. 1988;11:736-739.
129. Arslanian SL, Becker DJ, Rabin B, et al. Correlates of insulin antibodies in newly diagnosed children with insulin-dependent diabetes before insulin therapy. *Diabetes*. 1985;34:926-930.
130. Ellis TM, Schatz DA, Ottendorfer EW, et al. The relationship between humoral and cellular immunity to IA-2 in IDDM. *Diabetes* 1998; 47:566.

131. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC. The cation efflux trans- porter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17040-5.
132. Winer S, Tsui H, Lau A, et al. Autoimmune islet destruction in spontaneous type 1 diabetes is not beta-cell exclusive. *Nat Med* 2003; 9:198.
133. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, et al. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes*. 1996;45:926-933.
134. Gale EA. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 2002; 51:3353.
135. Dahlquist GG, Patterson C, Soltesz G. Perinatal risk factors for childhood type 1 diabetes in Europe. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetes Care* 1999; 22:1698.
136. Stene LC, Joner G, Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:1128.
137. Shaver KA, Boughman JA, Nance WE. Congenital rubella syndrome and diabetes: a review of epidemiologic, genetic, and immunologic factors. *Am Ann Deaf*. 1985;130:526-532.
138. Rabinowe SL, George KL, Loughlin R, et al. Congenital rubella: monoclonal antibody-defined T cell abnormalities in young adults. *Am J Med*. 1986;81:779-782
139. Ou D, Jonsen LA, Metzger DL, et al. CD4+ and CD8+ T cell clones from congenital rubella syndrome patients with IDDM recognize overlapping GAD65 protein epitopes: implications for HLA class I and II allelic linkage to disease susceptibility. *Hum Immunol*. 1999;60:652-664.
140. Graves PM, Rewers M. The role of enteroviral infections in the development of IDDM: limitations of current approaches. *Diabetes*. 1997;46:161-168.
141. Foulis AK, McGill M, Farquharson MA, Hilton DA. A search for evidence of viral infection in pancreases of newly diagnosed patients with IDDM. *Diabetologia* 1997; 40:53.
142. Idem. Clustering of cases of insulin dependent diabetes (IDDM) occurring three years after hemophilus influenza B (HiB) immunization support causal relationship between immunization and IDDM. *Autoimmunity* 2002;35:247-53.

143. Idem. Clustering of cases of type 1 diabetes mellitus occurring 2-4 years after vaccination is consistent with clustering after infections and progression to type 1 diabetes mellitus in autoantibody positive individuals. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16: 495-508.
144. Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, et al. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *JAMA* 2003; 290:1713.
145. Ziegler AG, Schmid S, Huber D, et al. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *JAMA* 2003; 290:1721.
146. Kostraba JN, Gay EC, Rewers M, Hamman RF(1992) Nitrate levels in community drinking waters and risk of IDDM. An ecological analysis. *Diabetes Care* 15: 1505– 1508
147. Parslow RC, McKinney PA, Law GR, et al. Incidence of childhood diabetes mellitus in Yorkshire, northern England, is associated with nitrate in drinking water: an ecological analysis. *Diabetologia* 1997; 40:550.
148. Assan R, Larger E (1993) The role of toxins. In: Leslie RDG (ed) *Causes of diabetes: genetic and environmental factors*. JohnWiley, Chichester, pp 105–123
149. Dulin WE, Soret MG (1978) Chemically and hormonally induced diabetes. In Volk BW, Welman KE (eds) *The diabetic pancreas*. Plenum Press, New York, pp 425–437
150. Holick M. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266– 281.
151. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(1):26–34.
152. Bikle D. Vitamin D: newly discovered actions require reconsideration of physiologic requirements. *Trends Endocrinol Metab*. 2010; 21(6):375–384.
153. Holick MF, MacLaughlin JA, Doppelt SH 1981 Regulation of cutaneous previtamin D3 photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science* 211:590–593 [[PubMed](#)]
154. Prosser, D. E. veJones, G., Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci*, 2004. 29(12): p. 664-673.
155. Omdahl, J. L., Morris, H. A., ve May, B. K., Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. *Annu Rev Nutr*, 2002. 22: p. 139-166.

156. Christakos, S., Ajibade, D. V., Dhawan, P., Fechner, A. J., ve Mady, L. J., Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. 39(2): p. 243-253, table of contents.
157. Kristin K. Deeb, Donald L. Trump & Candace S. Johnson .Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics .*Nature Reviews Cancer* 7, 684-700 (September 2007)
158. Nykjaer A, Dragun D, Walther D, Vorum H, et.al. Willnow TE 1999 An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell* 96:507–515
159. Kaseda R, Hosojima M, Sato H, Saito A Role of megalin and cubilin in the metabolism of vitamin D3. 2011 *Ther Apher Dial* 15(Suppl 1):14–17
160. Brenza HL, DeLuca HF Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1-hydroxylase gene expression by parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys* 2000 Sep 1; 381:143–152
161. Valdivielso, J. M. , Fernandez E., Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*, 2006. 371(1-2): p. 1-12.
162. Bouillon, R., Bischoff-Ferrari, H., Willett, W., Vitamin D and health: perspectives from mice and man. *J Bone Miner Res*, 2008. 23(7): p. 974-979.
163. Benn, B. S., Ajibade, D., Porta, A., Dhawan, P., Hediger, M., Peng, J. B., Jiang, Y., Oh, G. T., Jeung, E. B., Lieben, L., Bouillon, R., Carmeliet, G., ve Christakos, S., Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D9k. *Endocrinology*, 2008. 149(6): p. 3196-3205.
164. Jimi, E., Akiyama, S., Tsurukai, T., Okahashi, N., Kobayashi, K., Udagawa, N., Nishihara, T., Takahashi, N., Suda, T., Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *J Immunol*, 1999. 163(1): p. 434-442.
165. Leibbrandt, A., Penninger, J. M., RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. 1143: p. 123-150.
166. Pike, J. W., Meyer, M. B., The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. 39(2): p. 255-269, table of content

167. Makishima, M., Lu, T. T., Xie, W., Whitfield, G. K., Domoto, H. et. al. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science*, 2002. 296(5571): p. 1313-1316.
168. Bikle, D. D., Vitamin D regulated keratinocyte differentiation. *J Cell Biochem*, 2004. 92(3): p. 436-444.
169. Demay, M. B., MacDonald, P. N., Skoriya, K., Dowd, D. R., Cianferotti, L., ve Cox, M., Role of the vitamin D receptor in hair follicle biology. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007. 103(3-5): p. 344-346.
170. Endo I, Inoue D, Mitsui T, Umaki Y, Akaike M, et. al. Deletion of vitamin D receptor gene in mice results in abnormal skeletal muscle development with deregulated expression of myoregulatory transcription factors. *Endocrinology* 2003 144:5138–5144.
171. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, Staehelin HB, Bazemore MG, Zee RY, Wong JB 2004 Effect of Vitamin D on falls: A meta-analysis. *JAMA* 291:1999–2006.
172. Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJ, Visser M, Deeg DJ, Smit J, Knol DL, Lips P 2007 Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab* 92:2058–2065.
173. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-Ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, Curhan GC 2007 Plasma 25- hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension* 49:1063–1069.
174. Holick, M. F., Sunlight and vitamin D: both good for cardiovascular health. *J Gen Intern Med*, 2002. 17(9): p. 733-735.
175. Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, van Etten E, et. al. Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 2004 47:451–462.
176. Zella JB, DeLuca HF. Vitamin D and autoimmune diabetes. *J Cell Biochem* 2003 88:216–222.
177. Nnoaham KE, Clarke A Low serum vitamin D levels and tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2008 37:113–119.
178. Giovannucci E. Strengths and limitations of current epidemiologic studies: Vitamin D as a modifier of colon and prostate cancer risk. *Nutr Rev* 2007 65:S77–S79.

179. Davis CD, Hartmuller V, Freedman DM, Hartge P, Picciano MF, Swanson CA, Milner JA Vitamin D and cancer: Current dilemmas and future needs. *Nutr Rev* 2007 65:S71–S74.
- 180- Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, et. Al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2006; 354:684–696.
181. Holick, MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *the American journal of clinical nutrition* 2004;79:362-71
182. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:3597-3602.
183. Balsan S, Garabedian M, Larchet M, et al. Long-term nocturnal calcium infusions can cure rickets and promote normal mineralization in hereditary resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Invest*. 1986;77:1661-1667.
184. Fauci, Anthony S., *Harrison's principles of internal medicine* / editors, Anthony S. Fauci [et al.]. 17th ed. 2008, New York: McGraw-Hill Medical. v. <1-2 >.
185. Douglas J. DiGirolamo, Thomas L. Clemens & Stavroula Kousteni The skeleton as an endocrine organ *Nature Reviews Rheumatology* 8, 674-683 (November 2012)
186. Mitri J., Pittas A.G., Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014 March 43(1): 205–232.
187. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, et al. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)2D3 receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol*. 1994; 267:E356–360.
188. Cohen-Lahav M, Douvdevani A, Chaimovitz C, et al. The anti-inflammatory activity of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in macrophages. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007; 103:558–562.
189. Riachy R, Vandewalle B, Moerman E, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 protects human pancreatic islets against cytokine-induced apoptosis via down-regulation of the Fas receptor. *Apoptosis*. 2006; 11:151–159.
190. Chiu KC, Chu A, Go VLW et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and b cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 820–825.

191. Anand Vaidya Jonathan S. Williams. Vitamin D in the Pathophysiology of Hypertension, Kidney Disease, and Diabetes: Examining the Relationship Between Vitamin D and the Renin-Angiotensin System in Human Diseases Division of Endocrinology, Diabetes, and Hypertension; Brigham and Women's Hospital; Harvard Medical School
192. Chun RF. New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell Biochemistry and Function* 2012 30 445–456.
193. Kawakami M., Blum C.B., Ramakrishnan R., et al. Turnover of the plasma binding protein for vitamin D and its metabolites in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 53 (1981), pp. 1110–1116
194. Rejnmark L., Lauridsen A.L., Vestergaard P., et al. Diurnal rhythm of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein in postmenopausal women: relationship to plasma parathyroid hormone and calcium and phosphate metabolism *Eur J Endocrinol*, 146 (2002), pp. 635–642
195. R.T. Wilson, J.D. Bortner Jr., A. Roff, et al. Genetic and environmental influences on plasma vitamin D-binding protein concentrations *Transl Res* (2014)
196. Speeckaert MM, Taes YE, De Buyzere ML, Christophe AB, Kaufman JM, Delanghe JR. Investigation of the potential association of vitamin D binding protein with lipoproteins. *Ann Clin Biochem*, 47 (2010), pp. 143–150
197. Dusso AS, Kidney disease and vitamin D levels: 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, and VDR activation. *Kidney Int Suppl* (2011). 2011 Sep;1(4):136-141.
198. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, Nielson CM, Adams JS, Hewison M. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Oct;144 Pt A:132-7
199. Aggarwal A, Yadav AK, Ramachandran R, Kumar V., Sachdeva N., et al. Bioavailable vitamin D levels are reduced and correlate with bone mineral density and markers of mineral metabolism in adults with nephrotic syndrome. *Nephrology (Carlton)*. 2016 Jun;21(6):483-9. d
200. Powe CE, Ricciardi C, Berg AH, Erdenesanaa D, et. al. Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *J Bone Miner Res* 26(7):1609–1616.
201. Jemielita TO, Leonard MB, Baker JI, Sayed S, Zemel BS, Shults J, Herskovitz R, Denburg

MR. Association of 25-hydroxyvitamin D with areal and volumetric measures of bone mineral density and parathyroid hormone: impact of vitamin D-binding protein and its assays.

Osteoporos Int. 2016 Feb;27(2):617-26

202. Arnaud, J. Constans, J Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP) Human Genetics Volume 92, Issue 2, September 1993, Pages 183-188

203-Thrailkill KM, Jo CH, Cockrell GE, Moreau CS, Fowlkes JL. Enhanced excretion of vitamin D binding protein in type 1 diabetes: a role in vitamin D deficiency? J Clin Endocrinol Metab 2011;96:142–149

204. Blanton D., Han Z, Bierschenk L, Linga-Reddy MV, et. al.Reduced Serum Vitamin D–Binding Protein Levels Are Associated With Type 1 Diabetes. Diabetes_ 2011 Oct;60(10):2566-70.

205. Ongagna JC, Kaltenbacher MC, Sapin R, Pinget M, Belcourt A. The HLA-DQB alleles and amino acid variants of the vitamin D-binding protein in diabetic patients in Alsace. Clin Biochem 2001;34:59–63

206. Amino acid variants of the vitamin D-binding protein and risk of diabetes in white Americans of European Origin European Journal of Endocrinology (1999) 141 490–493

207. Delanghe JR1, Speeckaert R1, Speeckaert MM2. Behind the scenes of vitamin D binding protein: more than vitamin D binding. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2015 Oct;29(5):773-86.

208. Schwalfenberg, G., Not enough vitamin D: health consequences for Canadians. Can Fam Physician, 2007. 53(5): p. 841-854

209. Hahn TJ, Hendin BA, Scharp CR, et al. Effect of chronic anticonvulsant therapy on serum 25-hydroxycalciferol levels in adults. N Engl J Med. 1972;287:900-904.

210. Greenwood RH, Pruntz FTG, Silver J. Osteomalacia after prolonged glutethimide administration. Br Med J. 1973;1:643-645.

211. Cauley, J. A., Lacroix, A. Z., Wu, L., Horwitz, M., Danielson, M. E., Bauer, D. C., Lee, J. S., et. al. Serum 25- hydroxyvitamin D concentrations and risk for hip fractures. Ann Intern Med, 2008.

212. Van der Meer, I. M., Middelkoop, B. J., Boeke, A. J., ve Lips, P., Prevalence of vitamin D deficiency among Turkish, Moroccan, Indian and sub-Sahara African populations in Europe and their countries of origin: an overview. *Osteoporos Int*, 2011. 22(4): p. 1009-1021.
213. Jones G Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008 Aug;88(2):582S-586S.
214. Institute of Medicine. Report at a Glance, Report Brief: Dietary reference intakes for calcium and vitamin D, released 11/30/2010. <http://www.iom.edu/Reports/2010/Dietary-Reference-Intakes-for-Calcium-and-Vitamin-D/Report-Brief.aspx> (Accessed on December 01, 2010).
215. Raisz L, Shoukri KC. Pathogenesis of Osteoporosis in Physiology and Pharmacology of Bone. New York, NY: Springer-Verlag; 1993.
216. H., Ö., Composition, function, healing of the basic anatomic structures in the musculoskeletal system and the bone metabolism. *TOTBİD* 2010. 9(2): p. p:78- 84.
217. T, S., Kemik Biyolojisi. *METABOLİK KEMİK HASTALIKLARI*, ed. Y.D. Sözen T. 2013, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.
218. Shlomo Melmed, Williams Textbook of Endocrinology 12th edition Metabolic Bone disease, Joseph A. Lorenzo, Ernesto Canalis, Lawrence G. Raisz, p: 1306-1312
219. Karsenty G Minireview: transcriptional control of osteoblast differentiation. *Endocrinology*. 2001;142:2731-2733.
220. Tanaka T, Yoshida N, Kishimoto T, et al. Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. *EMBO J* 1997;16:7432-7443.
221. Aarden, E.M., E.H. Burger, and P.J. Nijweide, Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem*, 1994. 55(3): p. 287-99.
222. Han Y, Cowin SC, Schaffner MB, et al. Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:16689-16694.
223. Miyamoto T, Ohneda O, Arai F, et al. Bifurcation of osteoclasts and dendritic cells from common progenitors. *Blood*. 2001;98:2544- 2554.
224. Lacey DL, Tan HL, Lu J, et al. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival

in vitro and in vivo. *Am J Pathol.* 2000;157:435-448.

225. Seeman E, Delmas PD. Bone quality: the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.* 2006;354:2250-2261.

226. Recker R, Lappe J, Davies KM, et al. Bone remodeling increases substantially in the years after menopause and remains increased in older osteoporosis patients. *J Bone Miner Res.* 2004;19:1628-1633.

227. Verborgt O, Gibson GJ, Schaffner MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res.* 2000;15:60-67.

228. Dempster DW, Cosman F, Parisien M, et al. Anabolic actions of parathyroid hormone on bone. *Endocr Rev.* 1993;14:690-709.

229. Canalis E, Centrella M, Burch W, et al. Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. *J Clin Invest.* 1989;83:60-65.

230. Yamazaki Y, Okazaki R, Shibata M, et al. Increased circulatory level of biologically active full length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:4957-4960.

231. Carpenter TO, Ellis BK, Insogna KL, et al. Fibroblast growth factor 7: an inhibitor of phosphate transport derived from oncogenic osteomalacia causing tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:1012-1020.

232. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr Rev.* 1994;15:439-461.

233. Reginato AJ, Falasca GF, Pappu R, et al. Musculoskeletal manifestations of osteomalacia: report of 26 cases and literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 1999;28:287-304.

234. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94:646-650.

235. Ralston SH, Galwey N, MacKay I, et al. Loci for regulation of bone mineral density in men and women identified by genome wide linkage scan: the FAMOS study. *Hum Mol Genet.* 2005;14:943-951.

236. Chapuy MC, Pamphile R, Paris E, et al. Combined calcium and vitamin D3 supplementation

in elderly women: confirmation of reversal of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk. The Decalys II study. *Osteoporos Int*. 2002;13:257-264.

237. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 2005;293:2257-2264.

238. Baim S, Binkley N, Bilezikian JP, et al. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom*. 2008;11:75-91.

239. Liu H, Paige NM, Goldzweig CL, et al. Screening for osteoporosis in men: a systematic review for an American College of Physicians guideline. *Ann Intern Med*. 2008;148:685-701.

240. Kanis, J.A., et al., The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1994. 9(8): p. 1137-41.

241. Schousboe, J.T., et al., Executive summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on bone densitometry. *J Clin Densitom*, 2013. 16(4): p. 455-66.

242. Gundberg CM. Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med*. 2000;20:489-501.

243. Gundberg CM, Looker AC, Nieman SD, et al. Patterns of osteocalcin and bone specific alkaline phosphatase by age, gender, and race or ethnicity. *Bone*. 2002;31:703-708.

244. Ross PD, Kress BC, Parson RE, et al. Serum bone alkaline phosphatase and calcaneus bone density predict fractures: a prospective study. *Osteoporos Int*. 2000;11:76-82.

245. Chen P, Satterwhite JH, Licata AA, et al. Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2005; 20:962-970.

246. Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dobnig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res*. 2007;22:1317-28. [[PubMed](#)]

247. Thalassinou NC, Hadjiyanni P, Tzanela M, Alevizaki C, Philokiprou D. Calcium metabolism in diabetes mellitus: Effect of improved blood glucose control. *Diabet Med*. 1993;10:341-4.

248. Starup-Linde J. Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control, and bone.. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013 Mar 8;4:21. doi: 10.3389/fendo.2013.00021. eCollection 2013.

249. Hernández JL., Olmos JM, Pariente E, Nan D, Martínez J, Llorca J, Valero C, Obregón E, González-Macías J. Influence of vitamin D status on vertebral fractures, bone mineral density, and bone turnover markers in normocalcemic postmenopausal women with high parathyroid hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Apr;98(4):1711-7.
250. Woitge HW¹, Scheidt-Nave C, Kissling C, Leidig-Bruckner G, Meyer K, Grauer A, Scharla SH, Ziegler R, Seibel MJ . Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Jan;83(1):68-75.
251. Ardawi MS¹, Qari MH, Rouzi AA, Maimani AA, Raddadi RM. Vitamin D status in relation to obesity, bone mineral density, bone turnover markers and vitamin D receptor genotypes in healthy Saudi pre- and postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2011 Feb;22(2):463-75.
252. Kuchuk NO, Pluijm SM, van Schoor NM, Looman CW, Smit JH, Lips P. Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Apr;94(4):1244-50
253. Cinar N., Harmanci A., Bulent O. Yildiz, Bayraktar M. Vitamin D status and seasonal changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in office workers in Ankara. Turkey *European Journal of Internal Medicine* 25 (2014) 197–201
254. Wood JR, Connor CG, Cheng P, Ruedy KJ, Tamborlane WV, Klingensmith G, Schatz D, et. al. Pediatric Diabetes Consortium. Vitamin D status in youth with type 1 and type 2 diabetes enrolled in the Pediatric Diabetes Consortium (PDC) is not worse than in youth without diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2015 Nov 26.
255. Mäkinen M, Mykkänen J, Koskinen M, Simell V, Veijola R, Hyöty H, Ilonen J, Knip M, Simell O, Toppari J. Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Children Progressing to Autoimmunity and Clinical Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Feb;101(2):723-9.
256. Mäkinen M, Simell V, Mykkänen J, Ilonen J, Veijola R, Hyöty H, et al. An increase in serum 25-hydroxyvitamin D concentrations preceded a plateau in type 1 diabetes incidence in Finnish children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Nov;99(11):E2353-6.
257. Aloia J, Dhaliwal R, Mikhail M, Shieh A, Stolberg A, Ragolia L, Fazzari M, Abrams SA. Free 25(OH)D and Calcium Absorption, PTH, and Markers of Bone Turnover. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Nov;100(11):4140-5.

258. Hill KM1, Laing EM, Hausman DB, Acton A, Martin BR, McCabe GP, Weaver CM, Lewis RD, Peacock M. Bone turnover is not influenced by serum 25-hydroxyvitamin D in pubertal healthy black and white children. *Bone*. 2012 Oct;51(4):795-9.
259. Rajakumar, K. et al. Impact of seasonal flux on 25-hydroxyvitamin D and bone turnover in pre- and early pubertal youth. *Pediatr Int* 56, 35–42 (2014).
260. Adami S., Bertoldo F., Braga V., Fracassi E., Gatti D., et al. 25-hydroxy vitamin D levels in healthy premenopausal women: Association with bone turnover markers and bone mineral density. *Bone*, 2009, 423-426.
261. Clowes JA, Allen HC, Prentis DM, Eastell R, Blumsohn A (2003) Octreotide abolishes the acute decrease in bone turnover in response to oral glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 88:4867–4873
262. J. Starup-Linde , S. A. Eriksen , S. Lykkeboe , A. Handberg , P. Vestergaard Biochemical markers of bone turnover in diabetes patients a meta-analysis, and a methodological study on the effects of glucose on bone markers, *Osteoporos Int* (2014) 25:1697–1708
263. J Verhaeghe, E Van Herck, R Van Bree, F.A Van Assche, R Bouillon. Osteocalcin during the reproductive cycle in normal and diabetic rats *J. Endocr*, 120 (1989), pp. 143–151
264. Lee NK, Sowa H, Hinoi E et al (2007) Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 130:456–469.
265. González-García ZM, Kullo IJ, Coletta DK, Mandarino LJ, Shaibi GQ . Osteocalcin and type 2 diabetes risk in Latinos: a life course approach. *Am J Hum Biol*. 2015 Nov-Dec;27(6):859-61
266. Lupton JR, Faridi KF, Martin SS, Sharma S, Kulkarni K, Jones SR, Michos ED. Deficient serum 25-hydroxyvitamin D is associated with an atherogenic lipid profile: The Very Large Database of Lipids (VLDL-3) study. *J Clin Lipidol*. 2016 Jan-Feb;10(1):72-81.e1
267. Jafari T, Fallah AA, Barani A. Effects of vitamin D on serum lipid profile in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr*. 2016 Mar 15. pii: S0261-5614(16)00090-X.