

T.C.

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**İNAKTİF HEPATİT B TAŞIYICILARINDA
D VİTAMİNİ DÜZEYİ VE VİTAMİN D RESEPTÖR(VDR)
GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SÜLEYMAN ALBAŞ

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. ESRA MELTEM KOÇ

İZMİR

OCAK – 2018

T.C.

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**İNAKTİF HEPATİT B TAŞIYICILARINDA
D VİTAMİNİ DÜZEYİ VE VİTAMİN D RESEPTÖR(VDR)
GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SÜLEYMAN ALBAŞ

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. ESRA MELTEM KOÇ

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
0028 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR

OCAK – 2018

I-UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN

Adı Soyadı : Dr.Süleyman ALBAŞ	Tarih : 15/01/2018
Anabilim / Bilim Dalı : Aile Hekimliği	
Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.Esra Meltem KOÇ	

II-TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Tezin Başlığı: "İnaktif Hepatit B Taşıyıcılarında D Vitamin Düzeyi ve Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizminin İncelenmesi"
Tezin Niteliği: <input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi <input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: <input type="checkbox"/> 1 <input checked="" type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
1- Sayfa Sayısı : 68
2- Tablo Sayısı : 18
3- Şekil Sayısı : -
4- İstatistik Sayısı : 8
5- Literatür Sayısı ve Faydalanma Durumu : 72 / YETERLİ
6- Yazı Tertibi : UYGUN
7- Konuyu Anlatma ve Konuya Hakimiyet : YETERLİ
8- İncelemenin Bilimsel Bakımdan Tutumu : UYGUN
9- Orijinal Olup Olmadığı : ORJİNAL

III-KARAR

Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak
 Kabulüne
 Reddine
 Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine
Oy birliği / oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV-AÇIKLAMALAR

Lütfen tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

TEZ DEĞERLENDİRME JÜRİSİ

Jüri Başkanı	Jüri Üyesi	Jüri Üyesi
 Doç.Dr.Kurtuluş ÖNGEL	 Yrd.Doç.Dr.Esra Meltem KOÇ	 Başasistan Özge TUNCER
İzmir Katip Çelebi Üniv. Tıp Fak. Aile Hekimliği A.D. Başkanı / Öğrt.Üyesi	İzmir Katip Çelebi Üniv. Tıp Fak. Aile Hekimliği A.D. Öğretim Üyesi	Sağlık Bilimleri Üniv.Bozyaka E.A.H. Aile Hekimliği Kliniği Başasistanı

ONAY
15/01/2018
Prof.Dr.Gökhan BOYLUOĞLU
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜRLER

Asistan eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, üzerimde emeği olan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Aile Hekimliği Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyelerine;

Tezimin planlanmasından gerçekleşmesine kadar her aşamada sabır, özveri ve bilimsel desteği ile yanımda olan değerli hocam ve tez danışmanım Aile Hekimliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Esra Meltem Koç'a;

Tez hazırlığım ve analiz aşamasında emeği geçen Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Melih Kaan Sözmen'e,

Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Salih Atakan Nemli, Prof. Dr. Tuna Demirdal'a ve asistanlarına,

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa Soyöz'e, asistanlarına ve yüksek lisans öğrencilerine;

Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç Dr. Saliha Aksun'a ve asistanlarına,

Tezimin başlangıç aşamalarında birlikte çalışma fırsatı bulduğum Biyokimya Anabilim Dalı asistanlarından acı kaybımız Hasan Orhan Çetin'e;

Asistanlığım ve tez sürecimde hastanede birlikte uyum ve hoşgörü içinde keyifle çalıştığım Dr. Meryem Baştürk, Dr. Mehmet Arslan, Dr. Candeğer Avşar, Dr. Neriman Bilir, Dr. Özden Peköz ve Dr. Merve Yekta Ateş başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma;

Tezimin gerçekleşmesinde maddi desteği olan İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 'ne;

Kan alma biriminde ve laboratuvarlarda çalışan hemşire ve personellerimize, isimlerini sayamadığım üniversite ve hastanemiz tüm çalışanlarına;

Bana her zaman güvenen, sevgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bugünlere gelmemde büyük payı olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim çok değerli annem, babam ve sevgili kardeşime;

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Süleyman ALBAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa:

Tez Onay Sayfası.....	i
Teşekkür	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vi
Tablolar dizini.....	vii
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	4
2.1 Hepatit B Virüsü Ve Özellikleri.....	4
2.1.1 HBV Genom Yapısı.....	4
2.1.2 Türkiye’de ve dünyada HBV enfeksiyonu prevalansı.....	4
2.1.3 HBV enfeksiyonu bulaş yolları.....	5
2.1.4 Hepatit B Prognozu Ve Komplikasyonları.....	6
2.1.5 Klinik Bulgular Ve Tanı.....	8
2.1.6 Serolojik testler	8
2.1.7 Moleküler Tanı.....	10
2.1.8 Patolojik Tanı.....	10
2.1.9 HBV enfeksiyonu tedavisi.....	11
2.1.10 Korunma ve Kontrol.....	11
2.2 D vitamini.....	12
2.2.1 D Vitamini Sentezi ve Metabolizması.....	12

2.2.2 D Vitamininin Kemik Metabolizmasına etkileri.....	14
2.2.3 D Vitamininin İskelet Dışı Etkileri:.....	15
2.2.4 D Vitamini Ölçüm Yöntemleri.....	16
2.2.5 D Vitamini Eksikliği ve Nedenleri.....	16
2.2.6 D Vitamini Eksikliği Risk Grupları:.....	18
2.2.7 D Vitamini Eksikliği Tedavisi.....	19
2.2.8 Vitamin D Reseptör (VDR) Geni ve VDR Gen Polimorfizmleri	20
3. Materyal-Metod.....	22
3.1 Çalışmanın Tasarımı.....	22
3.2 Verilerin Toplanması.....	22
3.3 İstatiksel Analiz.....	24
3.4 Çalışmaya Alınma Kriterleri.....	24
3.5 Çalışmaya Alınmama Kriterleri.....	25
3.6 Laboratuar Çalışma Metodları.....	25
3.6.1 Biyokimyasal Parametreler ve Çalışma Metodları	25
3.6.2 Genetik Parametreler ve Çalışma Metodları	26
3.6.2.1. DNA İzolasyonu	27
3.6.2.2. Elde Edile DNA Örneklerinin PCR ile Amplifikasyonu	27
3.6.2.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel ile Kontrol Edilmesi	29
3.6.2.4. Amplifikasyon Ürünlerinde VDR Gen Polimorfizmlerinin Tespiti	29
3.6.2.4.1. Amplifikasyon Ürünlerinde <i>Fok I</i> Gen Polimorfizminin Tespiti	29
3.6.2.4.2. Amplifikasyon Ürünlerinde <i>Apa I</i> Gen Polimorfizminin Tespiti	29

3.6.2.4.3. Amplifikasyon Ürünlerinde <i>Taq I</i> Gen Polimorfizminin Tespiti	30
3.6.2.4.4. Amplifikasyon Ürünlerinde <i>Bsm I</i> Gen Polimorfizminin Tespiti	30
4. Bulgular.....	31
5. Tartışma.....	43
6. Sonuç ve Öneriler	51
7. Özet.....	53
ABSTRACT.....	55
8. Kaynaklar.....	57
Ekler.....	65
EK 1: Sosyodemografik Veri Anketi.....	65
EK 2: Etik Kurul Karar Formu.....	66

SİMGE VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
Anti-HBe	: HBe antijenine karşı oluşan antikor
Anti HBs	: Hepatit B yüzey antikor
Anti HBc	: Hepatit B kor antijenine karşı oluşan antikor
Anti HBc IgG	: Hepatit B kor antijenine karşı oluşan IgG tipi antikor
Anti HBc IgM	: Hepatit B kor antijenine karşı oluşan IgM tipi antikor
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BAP	: Bilimsel Araştırma Projesi
bç	: Baz çifti
BPD	: Bronkopulmoner displazi
BUN	: Blood Urea Nitrogen
Ca	: Kalsiyum
CMIA	: Kemiluminesans mikropartikül immunoassay
CPBA	: Competitive protein binding assay
CTX	: C-terminal peptid
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleikasit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECLIA	: Elektrokemiluminesans immunoassay
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
eGFR	: Tahmini glomerüler filtrasyon oranı
ELISA	: Enzim bağlayıcı immunoassay
FGF23	: Fibroblast büyüme faktörü 23
HBcAg	: Hepatit B kor antijeni
HBsAg	: Hepatit B early antijen
HBİG	: Hepatit B immunglobulin
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni

HBV	: Hepatit B virüsü
HBV-DNA	: HBV Deoksiribonükleik asit
HCV	: Hepatit C virusu
HDV	: Hepatit D virusu
HPLC	: Yüksek performans sıvı kromatografisi
HSK	: Hepatosellüler karsinom
IFN	: İnterferon
IGF-1	: İnsülin-like growth factor 1
IgG	: İmmüoglobulin G
IgM	: İmmüoglobulin M
IL	: İnterlökin
IU	: İnternasyonal ünite
İKÇÜ	: İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
iv	: İntravenöz
kb	: Kilobaz
KCS	: Karaciğer sirozu
kD	: Kilodalton
KHB	: Kronik Hepatit B
KHC	: Kronik Hepatit C
LC-MS	: Liquid Chromatography Tandem Mass Spectroscopy
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
Ng/ml	: Nanogram/mililitre
nm	: Nanometre
Nm	: Nanomol
nmol/L	: Nanomol/litre
NTX	: N-terminal telopeptid
P	: Fosfat
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR-RFLP	: Polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi
PTH	: Parathormon
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappası

RANKL	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappA B ligandı
RAAA	: Random access automated assay using chemiluminescence technology :kemilüminesans teknolojisi ile rastgele girişli otomatik yöntem
RIA	: Radyoimmunoassay
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences: Sosyal Bilimler İstatistik Paketi
SS	: Standart Sapma
TEMD	: Türk Endokrin ve Metabolizma Derneği
TGF	: Transforming Growth Factor
Th	: T helper
TLR	: Tall Like Reseptör
TNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
TÜRKHEP	: Türkiye Hepatit Prevelansı
UV	: Ultraviyole
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
VDR	: Vitamin D reseptörü
VNTR	: Variable number tandem repeat: değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı
25(OH)D	: 25 Hidroksi vitamin D
1-25 DHCC	: 1,25-dihidroksikolekalsiferol
25-HCC	: 25-hidroksikolekalsiferol
1,25(OH)2D3	: 1,25 Dihidroksi Vitamin D3

TABLolar DİZİNİ

Tablo No:	Sayfa No:
Tablo 1. HBV enfeksiyonu serolojik profilleri.....	9
Tablo 2. D vitamini eksikliği nedenleri.....	17
Tablo 3. D vitamini eksikliği riski yüksek olan kişiler.....	18
Tablo 4. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesinde Kullanılan Kimyasallar.....	26
Tablo 5. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesinde Kullanılan Gereçler.....	26
Tablo 6. VDR geninin amplifikasyonu için gerekli primerler ve Amplifikasyon ürünlerinin uzunlukları	27
Tablo 7. VDR Gen Polimorfizmleri İçin PCR karışımları	28
Tablo 8. <i>Fok I</i> VDR Gen Polimorfizmi için PCR Şartları	28
Tablo 9. <i>Apa I</i> ve <i>Taq I</i> VDR Gen Polimorfizmleri için PCR Şartları ...	28
Tablo 10. <i>Bsm I</i> VDR Gen Polimorfizmi için PCR Şartları.....	29
Tablo 11. Katılımcıların Sosyodemografik verilerinin karşılaştırılması.	32
Tablo 12. Katılımcıların Biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması.....	33
Tablo 13. Katılımcıların D vitamini Düzeylerinin karşılaştırılması.....	35
Tablo 14. Demografik verilerin D vitamini düzeyi ile korelasyonu.....	36
Tablo 15. Laboratuvar değerlerinin D vitamini düzeyi ile korelasyonu..	36
Tablo 16. D vitamini Düzeyleri Üzerine Lineer Regresyon Analizi.....	38
Tablo 17. VDR gen polimorfizmleri genotip ve allel frekansları.....	39
Tablo 18. D vitamini VDR gen polimorfizm ilişkisi.....	41

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Viral hepatitler günümüzde oldukça yaygın ve global bir sağlık sorunu olarak görülmektedir.

Hepatit B virusu (HBV), Hepatit C virusu (HCV) ve Hepatit D virusu (HDV) kronik hepatite neden olduğu bilinen hepatotropik viruslardır (1). En sık kronik hepatite neden olan, hepatosellüler karsinom (HSK) ve karaciğer sirozu (KCS) gelişiminde ilk sırada yer alan hepatit B virüsüdür. Hepatit B ülkemizde ve dünyada yaygın görülen enfeksiyon hastalıklarından biridir.

Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte hastaların %15- 40'ında siroz, karaciğer yetmezliği veya hepatosellüler kanser (HCC) geliştiği, %15- 25'inde HBV ilişkili karaciğer hastalıkları nedeniyle ölüm riski bulunduğu ve her yıl 600.000'den fazla kişinin HBV ile ilişkili akut ve kronik hastalıklar nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmektedir (2,3). Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) pozitifliğine göre HBV prevalansı %4 civarında olan ülkemiz taşıyıcılık açısından orta endemik ülkeler arasında yer almaktadır (4).

Kronik HBV enfeksiyonu, immuntoleran faz, immün reaktif faz, inaktif hepatit B taşıyıcılığı, HBeAg negatif kronik HBV fazı ve HbsAg negatif faz olmak üzere 5 farklı evrede sınıflandırılabilir (5). İnaktif hepatit B taşıyıcılığı; HbeAg'nin negatifliği, Anti-HBe pozitifliği, Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (PCR) HBV Deoksiribonükleik asit (HBV-DNA)'in serumda düşük veya saptanamayacak düzeyde olması, Alanin transaminaz (ALT)'ın tekrarlayan ölçümlerde normal değerlerde olması, karaciğer biyopsisinde önemli bir histopatolojik değişikliğin olmaması şeklinde tanımlanabilir. Kronik HBV enfeksiyonlu hastaların yaklaşık %70-80'ini inaktif taşıyıcı kişiler oluşturur (6). Eskiden sağlıklı taşıyıcı veya asemptomatik taşıyıcı şeklinde adlandırılan inaktif taşıyıcıların çoğu ömür boyu asemptomatik kalmakta, az bir kısmında da hastalık tekrar aktifleşebilmektedir (7).

D vitamini yağda çözünen, ağırlıklı olarak deride sentez edilen, kemik ve kalsiyum metabolizmasında önemli yeri olan sekosteroid bir hormondur. Ağırlıklı

olarak deride sentezlenen önemli bir immün regülatördür. Yeterli D vitamini alımı ve serumda optimum D vitamini düzeyinin korunması, sadece kemik, kalsiyum ve fosfor metabolizması için değil, genel sağlık ve iyilik hali için de çok önemlidir. Birçok otoimmün hastalık, tip 1 diyabet, inflamatuvar barsak hastalığı, multiple skleroz, maligniteler ve kalp hastalıklarının oluşmasında D vitamini eksikliğinin önemli rolü olduğu gösterilmiş; akut ve kronik bazı hastalıklarda hayati önem taşıyabilecek sistemik antimikrobiyal etkileri olduğu bildirilmiştir (8).

D vitamini eksikliğinin HBV ile enfekte hastalarda olumsuz klinik sonuçlara yol açtığı, tedavi edilmesinin HBV ilişkili kronik karaciğer hastalıklarında destekleyici olacağı düşünülmüştür (9). Kronik Hepatit B hastalarının serum D vitamini düzeylerinin doğal bağışıklanmış hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada Kronik Hepatit B hastalarında D vitamini düzeyleri daha düşük saptanmıştır (10). İnaktif HBV taşıyıcılarında D vitamini düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada da D vitamininin antiviral immün yanıtın uyarılmasını sağlayabileceği, nekroinflamasyon ve karaciğer fibrozundan koruyucu bir etkiye neden olabileceği ve bu konuda daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (11).

D vitamini etkilerini hücre içi bir protein olan vitamin D reseptörü (VDR) aracılığıyla gerçekleştirir. VDR geni 12q13.1 üzerinde, 100 kilobaz (kb) uzunluğunda ve 11 ekzondan oluşmaktadır.

VDR genindeki genetik farklılıklar gen aktivasyonu, kalsiyum metabolizması, hücre proliferasyonu ve immün sistemde protein sekansında değişiklikler yaparak önemli defektlere sebep olabilir. Polimorfizm terimi toplumda en az yüzde 1 oranında görülen genetik farklılıklar olarak tanımlanabilir. VDR geninde bir çok polimorfizm tespit edilmiş olup bunların en bilinenleri *Fok I* (T>C rs2228570), *Bsm I* (G>A rs1544410), *Apa I* (C>A rs7975232) ve *Taq I* (T>C rs731236) polimorfizmleridir. Bu polimorfizmler *Fok I*, *Bsm I*, *Apa I* ve *Taq I* enzimlerinin kesim yaptığı polimorfik bölgelerdir.

VDR polimorfizmleri bazı maligniteler, enfeksiyöz hastalıklar ve otoimmün hastalıklar ile ilişkili bulunmuştur (12). Yapılan bir çalışmada VDR polimorfizmlerinin inaktif HBsAg taşıyıcılarında hepatitik dalgalanmalarla, HBeAg pozitifliğiyle ve prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (13). Başka bir çalışmada

da VDR polimorfizmlerinin HBV ilişkili karaciğer hastalığının ağırlığı ve viral yük ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (14).

Bronkopulmoner displazi (BPD) ve VDR gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen yenidoğanlarda yapılmış bir çalışmada VDR *Fok I* polimorfizminin BPD için anlamlı bir risk faktörü olduğu bulunmuş, VDR'nin BPD patogeneğinde yer alabileceği ve VDR gen polimorfizmlerinin, yüksek riskli bebekleri öngörmede uygun olabileceği bildirilmiştir (15).

Çalışmamızın birincil amacı; inaktif HBV taşıyıcılarında ve sağlıklı kişilerde D vitamini eksikliği ve/veya yetersizliği görülme sıklığını araştırmaktır. Çalışmamızın ikincil amacı ise inaktif HBV taşıyıcıların ve kontrol grubunun VDR gen polimorfizmlerini incelemektir.

2-GENEL BİLGİLER

2.1 Hepatit B Virüsü Ve Özellikleri

Hepatit B virüsü; Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirus cinsinde yer alan, zarflı, çift sarmallı bir DNA virüsüdür. Hepadnavirus ailesi içerisinde insanlarda hastalık yapan tek virustur. Hayvan DNA virusları içerisinde en küçük olan HBV 3200 baz çiftinden oluşan kompleks bir yapıya sahiptir.

Hepatit B virüsü elektron mikroskopunda incelenirse; büyüklük, yapı ve miktar özellikleri bakımından birbirinden farklı üç tip partiküle rastlanır. Bunlar; 42-47 nm çapında küresel şekilli enfektif Dane partikülleri, enfektif olmayan 16-25 nm çapında küresel partiküller ve 22 nm çapında nükleik asit içermeyen tübüler partiküllerdir (16).

HBV'de genetik bilgi uzun sarmal üzerinde kodlanmış olup bu sarmal kor, polimeraz, yüzey ve X olmak üzere dört değişik protein kodlayan nükleik asit dizisine sahiptir. Gen organizasyonundaki *S* geni yüzey proteinlerini, *C* geni kor proteinlerini, *X* geni X proteinini ve *P* geni de DNA polimerazı kodlamaktadır. Genomun en uzun geni olan *P* geni; *X* ve *C* genleri ile kısmen, *S* geni ile tamamen çakışmış halde bulunmakta sonuç olarak uzun sarmal 1,5 defa okunmaktadır. Bu özellik ile HBV bilinen hayvan virusları içinde en küçük genomik yapıya sahip olmakla beraber kendini kodlama kapasitesi en fazla olan virustur (17).

2.1.1 HBV Genom Yapısı

Hepatit B virüsü çift sarmallı, 3,2 kb uzunluğunda, sirküler, bir DNA molekülüne sahiptir.

HBV'nin her bir farklı coğrafi bölgelere göre ağırlık kazanan A'dan J'ye kadar 10 major genotipi vardır ve ülkemizde genotip D baskındır. Son zamanlarda HBV genotipinin tedaviye özellikle de interferonlara terapötik yanıtı etkilediğini düşünülmektedir.

2.1.2 Türkiye'de ve dünyada HBV enfeksiyonu prevalansı

Dünya çapında yaklaşık 2 milyar insanın HBV ile karşılaştığı ve bu kişilerin 350 milyonunun kronik HBV enfeksiyonu ile sonuçlandığı bildirilmiştir (18). Günümüzde etkili aşılama programlarının artışıyla akut HBV enfeksiyonu insidansında belirgin azalma olsa da hepatit B mortalite ve morbiditenin önemli bir sebebi olmaya devam etmektedir.

Ülkemizde HBsAg seroprevalansının araştırıldığı birçok çalışma yayınlanmıştır. Prevalansın %4-8 arası olduğu ülkeler orta endemik ülkeler olarak tanımlanmaktadır. Türk toplumunda HBsAg seropozitifliği çeşitli çalışmalarda %3.9-12.5 olarak bildirilmektedir. Bu verilere göre ülkemizin orta endemik bir bölgede olduğu ve yaklaşık 4 milyon civarında HBV taşıyıcısı bulunduğu ortaya çıkmaktadır. Anti HBs'nin tarandığı çalışmalardan elde edilen verilere göre ülkemizde Anti-HBs pozitifliği % 20.6-52.3 arasında değişmektedir. Türkiye'de HBV enfeksiyonu seroprevalansının ise (HBsAg pozitifliği + anti-HBs pozitifliği) % 25 - 60 arasında olduğu ve bu sıklığın gelişmiş ülkelere göre oldukça yüksek olduğu söylenebilir (19).

TÜRKHEP 2010 çalışmasına göre ülkemizde genel popülasyonda hepatit B taşıyıcılığı % 4 olarak saptanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) verilerine göre Avrupa'da her yıl yaklaşık 1 milyon insan HBV ile enfekte olmakta, bunların 90.000'i kronikleşmektedir. Tüm dünyada HBV ilişkili son dönem karaciğer hastalığı nedeniyle her yıl bir milyondan fazla insan ölmektedir.

2.1.3 HBV enfeksiyonu bulaş yolları

HBV enfeksiyonunun başlıca bulaş yolları; vertikal-perinatal, horizontal, perkütan ve cinsel yolla bulaş şeklindedir.

1. **Vertikal-Perinatal bulaşma:** HBV nin anneden bebeğe geçişi uterus içinde, doğum sırasında veya doğumdan sonra olabilir. Bulaş, doğum sırasında veya doğumdan sonra oluşabilen deri ve mukoza sıyrıklarının enfekte maternal sıvılarla temas, vajinal kanaldan geçiş sırasında anne kanının yutulması, sezaryen sırasında anne kanıyla temas veya plasenta hasarı sonucu maternal

dolaşımın fetal dolaşıma karışması gibi nedenlerle meydana gelebilir. Özellikle HbeAg (+) olan ve HBV DNA yükü yüksek olan annelerden bebeğe bulaşıcılık daha yüksektir ve %90'lara kadar ulaşabilmektedir (20). Bu nedenle tüm gebelere ilk vizitte hepatit açısından tarama yapılmalı ve HBV taşıyıcısı olduğu bilinen anneden doğan bebeklere doğumdan hemen sonra hepatit B immunglobulin (HBİG) ve aşı uygulanmalıdır. Yapılan çalışmalarda sezaryen ile normal doğum arasında bulaş açısından fark saptanmamıştır.

2. **Horizontal bulaşma:** Hepatit B virüsü vücut dışında uzun süre canlılığını koruyabilen bir virüstür. HBV taşıyıcısının olduğu ailelerde deri ve mukoza bütünlüğünün bozulduğu durumlarda ortak kullanılan eşyalarla diğer aile fertlerine bulaş söz konusu olabilmektedir. Kötü hijyen, düşük sosyoekonomik düzey ve kalabalık yaşam bulaşı arttırır. Horizontal bulaş ülkemiz gibi orta endemik ülkelerde yaygın görülen bulaş şeklidir.
3. **Perkütan (parenteral) bulaşma:** En önemli bulaşma yollarından biridir ve genellikle intravenöz (iv) uyuşturucu kullananlarda görülmektedir. Enfekte kan ve kan ürünleri transfüzyonu, damar içi uyuşturucu kullanımında ortak enjektör kullanımı, hemodiyaliz, endoskopi, dövme yaptırma, akupunktur, kan bulaşmış günlük malzemeler (havlu, jilet, banyo malzemeleri vb.) ile perkütan bulaş söz konusudur. Sağlık personeli, sürekli transfüzyon alan veya hemodiyalize giren hastalar, uyuşturucu bağımlıları bulaş açısından yüksek riskli gruptadır. Kan ve kan ürünleri dışında semen, tükürük, idrar, feçes, ter, gözyaşı, vajinal salgılar, sinoviyal sıvılar, beyin omurilik sıvısı ve kordon kanında da virüs varlığı (HBsAg ve HBV DNA pozitifliği) gösterilmiştir.
4. **Cinsel yolla bulaş:** Gelişmiş ülkelerdeki en sık bulaş yoludur. Akut veya kronik hasta eşleri, birden fazla cinsel partneri olanlar, hayat kadınları, homoseksüeller bu yolla bulaşmada yüksek riskli grubu oluştururlar (21). ABD de yapılan bir çalışmada HBV nin %39 heteroseksüel ve %24 homoseksüel yolla geçtiği saptanmıştır (22).

2.1.4 Hepatit B Prognozu Ve Komplikasyonları

Hepatit B enfeksiyonu akut ve kronik olarak iki gruba ayrılabilir. Akut hastalık subklinik veya anikterik hepatitten fulminan hepatite kadar; kronik hastalık ise kronik asemptomatik taşıyıcılıktan, siroz ve HSK'ya kadar farklı klinik tablolarda kendini gösterebilir. Akut enfeksiyon sonrası, altı aydan uzun süreli HBsAg pozitifliği kronikleşmenin göstergesidir. Bu durumda viral replikasyon karaciğerde devam eder. Akut HBV enfeksiyonunun seyir ve prognozu virüsün alındığı yaşa göre değişir. Buna göre yenidoğan döneminde kronikleşme %90, çocukluk döneminde kronikleşme %50 iken immunkompetan erişkinlerde kronikleşme %1'in altındadır.

Kronik viral hepatitli hastaların büyük çoğunluğu asemptomatiktir ve bazı hastalarda halsizlik, yorgunluk, bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları gibi non-spesifik şikayetler bulunabilir. Ayrıca hastalarda anksiyete, panik hali, düşüncelerini yoğunlaştırma güçlüğü, kaslarda gerginlik, uyku bozuklukları ve depresif belirtiler görülebilir.

KHB'li olgularda siroz, portal hipertansiyon, varis kanaması, asit, hepatorenal sendrom ve HSK gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Dünya genelinde yılda yaklaşık 1 milyon kişinin HBV'ye bağlı siroz ve komplikasyonları nedeniyle öldüğü bildirilmektedir (23).

KHB enfeksiyonu birbirini izleyen beş farklı evrede sınıflandırılabilir;

1. *İmmuntolerans dönemi*: Karaciğer enflamasyonunun ve siroza progresyonun düşük olduğu dönemdir. Viral replikasyonun fazla olması nedeniyle bulaştırıcılık oldukça yüksektir. Bu evrede virüse karşı bir immun yanıt gelişmediği için AST, ALT düzeyleri normaldir, HBeAg pozitif saptanır.
2. *İmmunklerens (immünreaktif) dönemi*: Viral replikasyonun önceki döneme göre azaldığı, HBV'ye karşı gelişen immun yanıt nedeniyle karaciğerde hücresel hasar gelişir. Karaciğer enzimleri yüksek düzeylere ulaşır, biyopside aktif enflamasyon bulguları saptanır. Bu dönem HBeAg (+) kronik B hepatiti olarak isimlendirilir.
3. *İnaktif hepatit B taşıyıcılığı dönemi*: Viral replikasyonun minimal ya da saptanamayacak düzeylerde (HBV DNA < 2000 IU/ml, bazen 2000-20000

IU/ml arasında) olduğu, karaciğer enzimlerinin ve karaciğer biyopsisinin normal saptandığı, HBeAg'nin negatif, Anti HBe'nin pozitif olduğu evredir. Kronik HBV enfeksiyonlu hastaların yaklaşık %70-80'ini inaktif taşıyıcı kişiler oluşturmaktadır (6). Eskiden sağlıklı taşıyıcı veya asemptomatik taşıyıcı şeklinde adlandırılan inaktif taşıyıcıların çoğu ömür boyu asemptomatik kalmakta, az bir kısmında da hastalık tekrar aktifleşebilmektedir (7).

4. *HBeAg-negatif kronik HBV fazı:* Viral replikasyonun ve karaciğer enzimlerinin dalgalanmalar gösterdiği evredir. Hastalar bu dönemde komplikasyonlar açısından (siroz, HSK gelişimi) düşük riske sahip olsalar da aktivasyon durumunda komplikasyon gelişim riski artmaktadır. Bu sebeple HBV DNA ve ALT düzeylerinin ez az 1 yıl boyunca üçer ay arayla yakından takip edilmesi önerilmektedir (24).
5. *HbsAg-negatif faz:* HBsAg kaybına rağmen HBV DNA'nın karaciğerde düşük düzeyde replikasyona devam ettiği evredir. İmmünesupresif tedavi alan hastalarda alevlenmeler görülebilir.

2.1.5 Klinik Bulgular Ve Tanı

Hepatit B akut enfeksiyonun tanısı, akut ve kronik enfeksiyonun birbirinden ayırt edilmesi ve vireminin belirlenmesinde serolojik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır.

2.1.6 Serolojik testler

HBV vücuda alındığında ve enfeksiyon oluştuğunda organizmada virüse ait çeşitli antijenlere karşı antikorlar meydana gelir. HBV enfeksiyonu tanısı konurken hasta serumunda bu antijenlerin ve antikorların varlığı araştırılır.

Akut HBV enfeksiyonu sırasında virüse ait ilk saptanan antijen, S geni tarafından kodlanan yüzey antijeni HBsAg'dir. HBsAg akut enfeksiyon sırasında pik yapar ve iyileşme ile sonlanan olgularda azalarak en geç 6 ay içinde ortadan kaybolur. HBsAg'nin negatifleşmesinden kısa bir süre sonra koruyucu anti-HBs antikorları oluşur ve genellikle hayat boyu pozitif kalır (25). HBsAg'nin ortadan

kaybolduğu ve anti-HBs'nin henüz oluşmadığı döneme pencere dönemi denir. Bu dönemde hem HBsAg, hem de anti-HBs antikorları negatif, Anti-HBc IgM pozitif saptanır. Akut HBV enfeksiyonundan sonra anti-HBs antikorlarının oluşması hastalığın iyileşme ile sonlandığını ve bağışıklığın sağlandığı anlamına gelir. HBsAg'nin 6 aydan uzun süre serumda pozitif kalması enfeksiyonun kronikleştiğinin göstergesidir. Akut enfeksiyonda genellikle HBsAg'nin pozitifleşmesinden kısa bir süre sonra C geni tarafından kodlanan HBeAg ortaya çıkar ve HBsAg'den önce ortadan kaybolur. Serumda HBeAg'nin varlığı bulaşıcılık, enfektivite ve aktif viral replikasyon göstergesidir. HBeAg'nin negatifleşmesinden kısa süre sonra (genellikle 12–14 hafta) anti-HBe antikorları ortaya çıkar. Anti-HBe antikorlarının ortaya çıkması viral replikasyonun azaldığını ve hastalığın iyileşmeye doğru gittiğini gösterir. Yine C geni tarafından kodlanan HBcAg serumda saptanamaz. Serolojik tanıda kor bölgesi ile ilgili kullanabileceğimiz başka bir gösterge de anti-HBc antikorlarıdır. Anti-HBc, HBsAg serumda saptandıktan kısa bir süre sonra, anti-HBs ortaya çıkmadan önce görülür. Akut enfeksiyon sırasında ilk olarak AntiHBc IgM antikorları pozitifleşir. Enfeksiyonun başlamasından birkaç hafta sonra Anti-HBc IgM düzeyleri pik seviyelere ulaşır ve 4–8 ay sonra kaybolur. Anti-HBc IgM sınıfı antikorların görülmesinden sonra IgG sınıfı antikorlar ortaya çıkar ve Anti-HBc IgG genellikle hayat boyu pozitif kalır (25). Kronik HBV enfeksiyonunun akut alevlenmeleri sırasında da Anti-HBc IgM pozitif saptanabilir.

Tablo 1. HBV enfeksiyonu seyrinde karşılaşılabilecek antijen/antikor profilleri (55,70)

HBsAg	HBeAg	Anti HBc IgM	Anti HBc IgG	Anti HBe	Anti HBs	HBV DNA (IU/ml)	Enfeksiyon Durumu
-	-	-	-	-	-	-	Duyarlı, HBV temas öyküsü yok
-	-	-	-	-	-	+	Erken inkubasyon periyodu
+	-/+	-	-	-	-	+	Geç inkubasyon periyodu
+	+	+	+	-	-	+	Akut enfeksiyon

-	-	+	-/+	-	-	-	<i>İmmünolojik pencere dönemi</i>
+	+	-	+	-	-	+	<i>Kronik HBV enfeksiyonu (>2000) (enfektivitesi yüksek)</i>
-	-	-	+	+	-	-/+	<i>Kronik enfeksiyon</i>
+	-	-	+	+	-	+	<i>İnaktif HBsAg taşıyıcılığı (<2000)</i>
-	-	-	+	+	+	-	<i>Bağışık, yakın zamanda geçirilmiş enfeksiyon</i>
-	-	-	+	-	+	-	<i>Bağışık, eski geçirilmiş enfeksiyon</i>
-	-	-	-	-	+	-	<i>Aşı cevabı ile bağışıklık</i>
-	-/+	-	-/+	-/+	-/+	+	<i>Okült Hepatit B (<2000)</i>

2.1.7 Moleküler Tanı:

HBV DNA virüsün organizmada bulunduğunu ve viral replikasyonu gösterir. HBV replikasyonunun izlenmesi HBV DNA kantitasyonu ile sağlanır. HBV DNA'nın kantitasyonu sinyal ve hedef amplifikasyon temelli ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) temelli testler ile sağlanır. Gerçek zamanlı PCR'nin ortaya çıkışıyla birlikte düşük miktarlardaki HBV DNA düzeyleri saptanabilmekte, kısa sürede sonuç alınabilmekte ve farklı HBV genotipleri saptanabilmektedir.

2.1.8 Patolojik Tanı:

Kronik viral hepatit histolojik olarak iltihabi hücre infiltrasyonu, hepatosit ölümü, atrofi, rejenerasyon ve fibrozis kombinasyonundan oluşur. Knodell ve arkadaşları 1881 yılında kronik hepatitli asemptomatik hastalarda histolojik aktiviteyi belirlemek için bir skorlama sistemi oluşturmuşlardır. Bu skorlama sistemi yıllar içinde modifiye edilerek günümüze kadar gelmiş ve yaygın olarak

kullanılmıştır. Aynı zamanda Ishak, Metavir ve Scheuer sınıflamaları da günümüzde yaygın olarak kullanılan diğer sınıflamalardır (5,57).

2.1.9 HBV enfeksiyonu tedavisi

Akut HBV enfeksiyonu tedavisi: Akut HBV enfeksiyonunda destek tedavisi genellikle yeterlidir. Hastalar fulminan hepatit/karaciğer yetmezliği açısından izlenmelidir. Fulminan hepatit gelişmesi durumunda, özgül antiviral tedavi verilebilir, yetmezliğe giren olgularda karaciğer transplantasyonu gerekebilir (26,27).

Kronik HBV enfeksiyonu tedavisi: KHB tedavisi ile amaç HBV replikasyonunu baskılayarak bulaştırıcılığın azaltılması, hastalığın siroza, karaciğer yetmezliğine veya HSK'ya ilerlemesini ve transplantasyon ihtiyacı oluşmasını engellemektir. Tedavide HBeAg pozitif hastalarda HBV DNA düzeylerinin baskılanmasına ek olarak, HBeAg'nin negatifleşmesi ve anti HBe'nin pozitifleşmesi hedeflenir. HBeAg negatif hastalarda ve HBeAg pozitif olup HBeAg serokonversiyonu sağlanamamış hastalarda ise tedaviyle HBV DNA'nın ölçülemeyecek düzeylere indirilmesi hedeflenir. Tedavide günümüzde immün modulatorler (IFN alfa ve pegillenmiş formları) ve viral polimeraz inhibitörleri (Nükleozid ve nükleotid analogları) kullanılmaktadır. Kronik HBV tedavisinde onay alan ilk ilaç alfa-interferon'dur. Peg- interferonların kullanıma girmesiyle daha uzun etki ve daha az yan etki ile immünomodulator tedavi sağlanabilmektedir. Peg- interferonlar günümüzde seçilmiş hasta gruplarında sınırlı olarak tercih edilmekteyken, oral antiviral ajanlar KHB tedavisinde daha yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Lamivudin, adefovir dipivoksil, entekavir, telbivudin, tenofovir disoproksil fumarat HBV viral polimerazını inhibe eden, HBV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan başlıca oral antiviral ilaçlardır. Oral antiviraller kesildiğinde HBV genellikle reaktifte olmaktadır. Bu nedenle bazı istisnalar dışında bu ajanların ömür boyu kullanılması önerilmektedir (26,27).

2.1.10 Korunma ve Kontrol:

Hepatit B virüs enfeksiyonundan korunma pasif ve aktif immünizasyon olmak üzere iki şekilde olmaktadır.

Pasif immünizasyon; HBsAg pozitif anneden doğan bebeklere, HBV'ye karşı bağışıklığı bulunmayan ve HBsAg pozitif kan veya vücut sıvıları ile perkutan/mukozal teması olanlara, HBsAg pozitif bir partnerle cinsel ilişki yaşayanlara anti-HBs içeren hepatit B hiperimmunoglobulini (HBIG) uygulanır. Aktif immünizasyon için günümüzde HBsAg içeren rekombinant aşı kullanılmaktadır. Bu aşı 0, 1 ve 6. aylarda olmak üzere 3 dozda veya hızlı bağışıklama sağlamak amacıyla 0, 1, 2 ve 12. aylarda olmak üzere 4 doz şeklinde uygulanabilir. Aşılamaı takiben oluşın 10IU/L ve üzerindeki anti-HBs düzeyleri HBV enfeksiyonundan koruyucu olarak kabul edilir (28). Hepatit B'nin 1. ve 2. dozu arasında en az 4 hafta, 2. ve 3. dozu arasında en az 8 hafta olmalı, ayrıca 3. doz 1. dozdan en az 16 hafta sonra uygulanmalıdır (20,23,71).

Doğum ağırlığı 2000 gr'ın üzerindeki bebeklerde Hepatit B aşılama şeması 0, 1 ve 6. aylarda 3 doz olarak uygulanır. 2000 gr'ın altında doğum ağırlığı olan bebeklerde ise anne Hepatit B taşıyıcısı ise veya taşıyıcılık durumu bilinmiyorsa doğumdan sonraki ilk 12 saat içinde ilk doz yapılır, daha sonra 1., 2. ve 12. aylarda aşı tekrarlanır (0,1,2,12. aylarda toplam 4 doz). Anne Hepatit B taşıyıcısı değilse, bebek 2000 gr'a ulaştığında veya 1. ayın sonunda ilk doz yapılır, ilk dozdan 1 ay ve 6 ay sonra aşı tekrarlanır (20,23,71).

HBV bulaşını azaltıcı önlemler arasında genel hijyen kurallarına dikkat edilmesi, damar içi uyuşturucu kullananların rehabilitasyonu ve eğitimi, kan ve kan ürünlerinin taranması, riskli davranışlardan kaçınılması, gebelerin HBV açısından taranması, mesleki olarak riskli gruplarda HBV temasını engelleyici önlemlerin alınması sayılabilir.

2.2 D VİTAMİNİ

2.2.1 D vitamini Sentezi ve Metabolizması:

D vitamini ağırlıklı olarak deride sentezlenen, yağda çözünen bir vitamindir. Sistemler üzerinde gösterdiği etkiler nedeniyle steroid yapıda bir hormon olarak da adlandırılmaktadır. Hidroksilasyon aşamalarından geçerek aktif forma dönüştüğünden prohormon olarak da değerlendirilmektedir.

Vücuttaki kalsiyum-fosfor metabolizmasından sorumlu en önemli vitamin olan D vitamininin iki farklı formu vardır:

Ergokalsiferol (D2 vitamini): Vitamin D2 bitki ve mantarlar tarafından üretilir. Deriden veya gıda ile alınan D vitamini biyolojik olarak inaktiftir. Bir ön vitamin olan ve besinlerle vücuda alınan ergosterol deride toplanarak güneş ışınlarındaki ultraviyole (UV) etkisiyle kalsiferol'e (ergokalsiferol) dönüşür. Karaciğerde 25hidroksilaz'ın etkisiyle 25-hidroksikolekalsiferol (25-HCC) sentezlenir ve 25-HCC genel olarak böbrekte bulunan ve CYP27B1 geni tarafından kodlanan 1- α -hidroksilaz enzimi etkisiyle aktif form olan 1,25-dihidroksikolekalsiferol (1-25 DHCC)'e dönüşür (30).

Kolekalsiferol (D3 vitamini): D vitamininin kaynağının %80-90'ını oluşturan ve hayvansal gıdalarla alınan formudur. Öncülü olan 7-dehidrokolesterol deride toplanarak güneş ışınlarındaki UV etkisiyle kolekalsiferole (D3) dönüşür. Karaciğerde 25-hidroksilaz'ın etkisiyle 25- HCC oluşturur. 25-HCC böbrekte 1- α -hidroksilaz ın etkisiyle aktif form olan 1-25 DHCC'ye dönüşür (30).

Biyolojik olarak inaktif form olan 25(OH) D, vücuttaki D vitamini düzeyinin en güvenilir göstergesidir ve yarı ömrü yaklaşık olarak 3-4 haftadır. Düzeyi dolaşımdaki aktif form olan ve yarı ömrü 4-6 saat olan 1,25(OH)2D3'den yaklaşık 1000 kat fazladır. 1,25(OH)2D3 ve 25 hidroksi D vitamini karaciğerde sentezlenen ve 25 hidroksi D vitaminine daha yüksek afinitesi olan vitamin D bağlayıcı protein ile taşınır (29). Aktif D vitamini olan 1,25(OH)2D3 24 hidroksilaz enzimi ile yıkılır ve idrarla atılan suda çözünebilen kalsitrik asit olarak veya farklı metabolitlere çevrilerek vücuttan atılır. 1,25(OH)2D3 düzeyini etkileyen bir çok faktör vardır. Özellikle parathormon, fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF23), hipokalsemi ve hipofosfatemi 1 α -hidroksilaz enzimini uyararak 1,25(OH)D sentezini artırır. Gebelikte, emzirme döneminde, büyüme-gelişme döneminde, sex steroidleri, prolaktin, büyüme hormonu, insülin-like growth factor 1(IGF-1) artan kalsiyum ihtiyacı nedeniyle böbreklerden 1,25(OH)D sentezini artırır (30).

Yeryüzündeki çoğu insan için en önemli kaynağı derinin güneşle teması olan D vitamininin üretimi deri pigmentasyon artışı, güneş kremi kullanımı ve yaş artışı ile

azalır. Gün içinde değişik saatlerde, yıl içinde farklı mevsimlerde D vitamin üretimi farklıdır. 35 derece güney ve kuzey paralelleri sonrasında kış aylarında D vitamin üretimi nerdeyse hiç yoktur (31).

Yaşa ve cilt tipine göre de D vitamin sentezi farklılık gösterir. Aynı süre güneş altında kalan 70 yaşındaki bir kişi, 20 yaşındaki bir kişinin ancak %25'i kadar D vitamini üretebilir. Deri melanin içeriğine göre 5 tipe ayrılır. Aynı süre güneşe maruziyetle deri tip 1 den tip 5'e doğru D vitamin üretimi azalır. Tip 5'in tip 1 kadar D vitamini üretebilmesi için 5-10 kat fazla güneş ışınına ihtiyaç vardır. Güneş kremleri UVB ve bazı UVA (321-400 nm) ışınlarını absorbe ederek etki gösterirler. 8 faktörlü bir güneş kremi UVB ışınlarının %95'ini engellerken, 15 faktörlüsü ise yaklaşık %98'ini engeller. Güneş ışınlarının dünyaya daha dik geldiği 10:00-15:00 saatleri arasında yeterli UVB yeryüzüne ulaşır. Aksi takdirde güneş ışınları yatay geldiğinde UVB ozon tarafından emilir. D vitamini düzeyi vücut yağ oranı ile de ilişkilidir. Aynı miktar verilen D vitamini yada aynı süre güneş altında bekletilen normal kilolu ve obez kişilerin kandaki D vitamin düzeyleri karşılaştırıldığında obez kişilerde normal kiloluların ancak yarısı kadar D vitamini bulunduğu gözlemlenir (32).

2.2.2 D Vitamininin Kemik Metabolizmasına Etkileri:

D vitamininin en önemli fonksiyonu kalsiyum emilimini artırarak kan kalsiyum düzeyinin fizyolojik sınırlarda olmasını sağlamaktır. Eksikliğinde kalsiyum emilimi %10-15 civarında iken; yeterliliğinde %30'lara ulaşır. Çocukluk ve gebelik dönemi gibi ihtiyacın arttığı durumlarda ise emilim %60-80 düzeyine ulaşır (32).

Kan kalsiyum düzeyini optimal düzeyde tutmak için D vitamini kemikte osteoblast üzerinde bulunan Vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanır. Bu da reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı (RANKL) reseptör aktivatörünü ortaya çıkarır. Bu plazma membran ligandı, preosteoklast üzerindeki RANK reseptörü tarafından tanınır. Bu reseptör ligand etkileşimi sinyal transdüksiyonu ile preosteoklast matür osteoklast haline dönüşür. Matür osteoklast proteolitik ve hidrolitik enzim ile hidroklorik asit salgılar. Salgılanan bu maddeler kemiğin protein

matriksini parçalayarak kalsiyum ve diğer mineraller ile N-terminal telopeptid (NTX) ve C-terminal peptid (CTX)'in kana geçmesine neden olur (33).

Diyette yeterli miktarda kalsiyum olmadığında D vitamini kemikte osteoblastları uyararak osteoklastlara dönüşmelerini sağlar. D vitamini eksikliğinde kan iyonize kalsiyum düzeyi düşer. İyonize kalsiyum düzeyinin düşmesi paratiroid bezlerinin uyarılmasına ve parathormon (PTH) salınımına neden olur. PTH aynı zamanda kemikte osteoblastları uyarıp RANKL üretimini, böbrekte kalsiyum emilimini, $1,25(OH)_2$ D sentezini, böbrekten fosfor (P) atılımını artırıp; bağırsaktan P emilimini azaltır (32).

Çocuklarda D vitamini eksikliği iskelet anormalliklerine, gelişim geriliğine, rikets ve boy kısalığına neden olurken; erişkinlerde osteomalazi, osteopeni, osteoporoz ve kırık riskinde artışa sebep olmaktadır (34).

2.2.3 D Vitamininin İskelet dışı etkileri:

Yeterli D vitamini alımı ve serumda optimum D vitamini düzeyinin korunması, sadece kemik, kalsiyum ve fosfor metabolizması için değil, genel sağlık ve iyilik hali için de oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda iskelet sistemi için önemli bir sistemik hormon olan D vitamininin tip 1 diyabet, inflamatuvar barsak hastalığı, multiple skleroz, maligniteler, kalp ve otoimmün hastalıkların oluşmasında önemli etkileri olduğu, immunmodülatör etkileri nedeniyle bir çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir; ince barsak, böbrek ve kemik gibi organların yanı sıra iskelet sistemi dışında kalp, cilt, beyin, pankreas, gonadlar, mide ve immun sistem hücreleri gibi birçok doku ve organda bulunarak mineral metabolizması dışı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (32,34,35,36).

D vitamininin aynı zamanda insülin üretimini stimüle edici, aktive T ve B lenfosit fonksiyonlarını düzenleyici, inflamatuvar barsak hastalıklarının gelişiminin engelleyici ve tiroid stimulan hormon (TSH) salınımını arttırıcı etkilerinin olduğu saptanmıştır (32).

Otoimmün tiroiditli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada D vitamin düzeyi kontrollere göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuş ve eksikliğinin otoimmün tiroid hastalığı patogenezinde rol alabileceği gösterilmiştir (37).

D vitamini eksikliğinin HBV ile enfekte hastalarda olumsuz klinik sonuçlara yol açtığı, tedavi edilmesinin HBV ilişkili kronik karaciğer hastalıklarında destekleyici olacağı düşünülmüştür (9). Kronik Hepatit B hastalarının serum D vitamini düzeylerinin doğal bağışıklanmış hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada Kronik Hepatit B hastalarında D vitamini düzeyleri daha düşük saptanmıştır (10). İnaktif HBV taşıyıcılarında D vitamini düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada da D vitamininin antiviral immün yanıtın uyarılmasını sağlayabileceği, nekroinflamasyon ve karaciğer fibrozundan koruyucu bir etkiye neden olabileceği vurgulanmıştır (11).

2.2.4 D Vitamini Ölçüm Yöntemleri:

D vitamini ölçümünde yarışmalı protein bağlama yöntemi (Competitive protein binding assay, CPBA), Radyoimmunoassay (RIA), Enzim bağlayıcı immunoassay (ELISA), elektrokemiluminesans immunoassay (ECLIA), kemiluminesans mikropartikül immunoassay (CMIA), yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografi-kitle spektrometre (LC-MS), kemilüminesans teknolojisi ile rastgele girişli otomatik yöntem (Random access automated assay using chemiluminescence technology, RAAA) gibi ölçüm yöntemleri kullanılabilir. 25-OH-vitamin D3 (25(OH)D3) ve 25-OH vitamin D2 (25(OH)D2)'yi ayrı ayrı değerlendirilebilmeleri nedeniyle LC-MS ve HPLC altın standart yöntemler kabul edilse de uygulamadaki zorluklar ve deneyim gerektirmesi nedeniyle klinik pratikte çok sık kullanılmamaktadır (38).

2.2.5 D Vitamini Eksikliği ve Nedenleri:

Kemik sağlığı, kalsiyum metabolizması ve maksimum intestinal kalsiyum emilimi için optimal kabul edilen 25-(OH)D düzeyi 30 ng/ml'nin üzeridir. Düzeyi yaşa, yaşanılan bölgeye, ölçülen mevsime ve ırklara göre farklılık göstermektedir. Optimal düzeyi hakkında kesin bir görüş birliği olmayan serum 25(OH) vitamin D düzeyi: >30 ng/ml(~75nmol/L) durumunda yeterli vitamin D düzeyi, 20-30 ng/ml

(~50-75nmol/L) vitamin D yetersizliği, 10-20ng/ml (25-50nmol/L) arasında D vitamini eksikliği, <10 ng/ml (~25nmol/L)'nin altında ciddi D vitamini eksikliği olarak kabul edilmektedir (39).

Pratikte tanı ve tedavi takibinde 25(OH)D düzeyinin ölçümü kullanılsa da, kronik böbrek yetmezliği, kalıtsal fosfat kaybettiren hastalıklar, onkojenik osteomalazi, D vitamin dirençli raşitizm ve granülo-matoz hastalık durumlarında 1,25(OH)₂D'nin tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (40).

Ülkemizde kısıtlı güneş ışını maruziyeti ve diyet-sel faktörler nedeniyle D vitamini yetersizliği ve eksikliği oldukça yaygındır. Uçar ve arkadaşları Ankara bölgesinde yaptıkları bir çalışmada; oldukça yüksek oranda (%51,8) D vitamini eksikliği ve %20,7 oranında D vitamini yetersizliği tespit etmişlerdir (41).

Vitamin D düzeyini değerlendirmek için yüksek riskli kişilerin serum 25(OH) D düzeyinin ölçülmesi önerilmekte olup toplum taraması önerilmemektedir (40).

Tablo 2. Vitamin D eksikliği nedenleri:

Yetersiz alım veya emilim
Besinlerle yetersiz alım
Yetersiz güneş ışığı maruziyeti (kuzey enlemler, hava kirliliği, koyu cilt, güneş koruyucu kullanımı, kapalı giyim tarzı...)
Yağ malabsorbsiyonu
Gastrektomi
İnce barsak hastalıkları (Çölyak hastalığı, inflamatuvar barsak hastalıkları...)
Defektli 25-hidroksilasyon
Kronik karaciğer hastalıkları (siroz..)
Vitamin D'nin inaktif metabolitlere artmış yıkımı
Antikonvülzanlar (fenitoin, fenobarbital)

Antifungal ilaçlar (ketokonazol)
Antitüberküloz ilaçları (rifampisin, izoniazid)
Anti-retroviral ilaçlar
Glukokortikoidler
Vitamin D bağlayan protein kaybı
Nefrotik sendrom
Defektli1 -alfa 25- hidroksilasyon
Hipoparatiroidi
Renal yetmezlik
1-alfahidroksilaz eksikliği (vitamin D-bağımlı rikets tip 1)
Aktif vitamin D (kalsitriol)'ye hedef organ cevapsızlığı (vitamin D rezistansı)
Hereditör vitamin D-bağımlı rikets (vitamin D-bağımlı rikets tip 2)
Kaynak 40: Osteoporoz ve Diğer Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Klavuzu ANKARA 2017

2.2.6 D Vitamini Eksikliği Risk Grupları:

Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu Vitamin D durumunun değerlendirilmesinde 25 (OH)D düzeyinin ölçülmesini önermektedir. D vitamini eksikliği açısından riskli gruplar Tablo 3'de belirtilmiştir (40).

Tablo 3. D vitamini eksikliği riski yüksek olan kişiler

Yaşlılar
Koyu cilt rengine sahip olanlar

Obezite
Vitamin D metabolizmasını hızlandıran ilaç kullanımı
Güneşe yetersiz maruziyet
Kronik böbrek yetmezliği
Kronik karaciğer hastalıkları
Malabsorbsiyon sendromları
Osteomalazi
Hiperparatiroidi
Osteoporoz
Nontravmatik (spontan) kırık oluşumu
Kaynak 40: Osteoporoz ve Diğer Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Klavuzu ANKARA 2017

2.2.7 D Vitamini Eksikliği Tedavisi:

Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu tarafından 19-70 yaş arasındaki erişkinlere kemik ve kas sağlığı için gerekli minimum günlük D vitamini ihtiyacı 600 IU, serum 25(OH) vitamin D düzeyini 30 ng/ml düzeyinde tutacak ihtiyaç da 1500-2000 IU olarak belirlenmiştir. 65 yaş ve üzerindekilerde düşmeleri önlemek için 800 IU/gün D vitamini gereklidir. Günlük ihtiyacın karşılanması için gıda ve güneşe maruz kalmanın yanında D vitamin takviyesi gerekir (40).

Günlük güvenli D vitamini limiti 4000 IU'dir. Verilen her 100 IU (2.5 mikrogram) D vitamini serum 25(OH) D düzeyini ortalama 0.7-1 ng/ml artırır. Tedavide hedef, serum 25(OH) D düzeyini 30-50 ng/ml seviyesinde tutmaktır. Tedavinin etkin olması ve tedaviyi standardize etmek açısından D3 kullanımı tercih edilmelidir. Vitamin D düzeyi 20 ng/ml altında olan yetişkinlere D vitamini

yüklemesi yapılmalıdır. Vitamin D eksikliği olanlara (<20 ng/ml) 50000 IU/hafta, 6-8 hafta süre ile vitamin D verilerek serum 25-hidroksi vitamin D düzeyinin 30 ng/ml ve üzerine çıkarılması hedeflenmelidir. 25(OH) vitamin D düzeyi >88 ng/ml çıktığında hiperkalsiüri izlenir. Hedeflenen serum vitamin D düzeyine ulaşıldıktan sonra, vitamin D günlük idame dozu ile devam edilmelidir. Hedeflenen serum düzeyine ulaşılmadığı durumlarda, vitamin D tedavisine 50000 IU/hafta, 3-6 hafta süre ile devam edilebilir. Malabsorbsiyon sendromlu hastalarda 10000 – 50000 IU/gün gibi daha yüksek dozlar verilmelidir. Bu dozlara rağmen hala vitamin D eksikliği/yetersizliği devam ediyorsa, daha iyi emilen hidroksile D vitamini formları verilmelidir (42).

Vitamin D metabolizmasını hızlandıran ilaç kullananlarda, obez hastalarda yükleme ve idame dozları 2-3 kat daha fazla olmalıdır (yükleme dozu: 6-8 hafta 100000 IU/hafta, idame dozu: 3000-6000 IU/gün). Kronik böbrek yetersizliğinde, tahmini glomerüler filtrasyon oranı (eGFR) <30 ml/dk olanlarda kalsitriol kullanılmalıdır. eGFR>30 ml/dk olanlarda vitamin D suplemantasyonu, normal böbrek fonksiyonu olanlardaki gibi yapılması önerilir (42).

Kronik karaciğer hastalarında D vitamini yetersizliğinin tedavisi için 25 hidroksilasyon gerektirmeyen alfakalsidiol, kronik böbrek yetersizliğinde aktif D vitamini (kalsitriol 0.25-0.50 mikrogr/gün) kullanılmalıdır. Kalsitriolün yarı ömrü 6 saat olup hiperkalsemi yapma riski olduğundan serum kalsiyum düzeyleri takip edilmelidir. D vitamini ile birlikte yeterli kalsiyum alımı sağlanmalıdır (19-70 yaş: 1000 mg/ gün, >70 yaş: 1200 mg/gün) (40).

2.2.8 Vitamin D reseptör (VDR) Geni ve VDR Gen Polimorfizmleri

Gen kalıtımın temel birimi olup, özel bir polipeptid zincirin aminoasit sırasını şifreleyen DNA kesimidir. Genin kromozom üzerindeki yeri lokus olarak adlandırılır. Kromozomların kısa kolu “p”, uzun kolu “q” işaretiyle gösterilir. Her bir genin biri anneden biri babadan gelen 2 alleli bulunmaktadır. Genler ekzon ve intronlar içerir. Protein kodlayan nükleotid diziyi içeren kısım ekzon, kodlamayan kısım ise intron olarak adlandırılır. Aktif D vitamini etkilerini hücre içi bir protein olan VDR aracılığıyla gerçekleştirir. VDR proteini 427 amino asitlik 48.3 kD

ağırlığında moleküler kütleyle sahip bir proteindir. VDR geni de 12'nci kromozomun uzun kolu (12q13.1) üzerinde bulunur. 100 kb DNA uzunluğunda ve 11 ekzondan oluşmaktadır. Genin 8 ekzonu (2-9) yapısal gen ürünü olan proteini kodlamaktadır. Bir genin popülasyonda %1 veya daha fazla sıklıkla rastlanan çeşidinin (allellerinin) bulunması polimorfizm, %1'den daha az sıklıkta bulunması da mutasyon olarak adlandırılır. Polimorfizmler tek nükleotid polimorfizmi (TNP) ve değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı (Variable number tandem repeat: VNTR) olarak 2 şekilde sınıflandırılabilir. İnsan genomunda en sık görülen polimorfizmler TNP'lerdir. TNP ler inversiyon (bir veya daha fazla bazın diziye katılması), delesyon (diziden baz eksilmesi) ve substitüsyon (bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi) şeklinde olabilir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda VDR geninde 470'ten fazla TNP gösterilmiştir (43-45).

VDR genindeki TNP'ler polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment length polimorfizm (PCR-RFLP) metodu ile saptanabilmektedir. Bu yöntem polimorfizmi ortaya çıkaran baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri ortaya çıkarması veya mevcut olan bir kesim yerini ortadan kaldırmasına bağlı olarak PCR ile çoğaltılan fragmentin enzimle kesilmesi sonucunda normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının (veya polimorfizminin) incelenmesi esasına dayanır. Her bir endonükleaz için restriksiyon alanının bulunması geleneksel olarak enzimin ilk harfinin küçüğü ile (t, a, b, f), restriksiyon bölgesinin olmaması da büyük harfler (T, A, B veya F) ile gösterilmektedir. Kesim durumuna göre bireylerin genotipi homozigotlar için tt, aa, bb, ff veya TT, AA, BB, FF ve heterozigotlar için Tt, Aa, Bb ve Ff olarak gösterilir (44,45).

VDR geninde birçok polimorfizm tespit edilmiş olup bunların en bilinenleri *Fok I* (T>C rs2228570), *Bsm I* (G>A rs1544410), *Apa I* (C>A rs7975232) ve *Taq I* (T>C rs731236) polimorfizmleridir. Bu polimorfizmler *Fok I*, *Bsm I*, *Apa I* ve *Taq I* enzimlerinin kesim yaptığı polimorfik bölgelerdir ve kesim yapan enzimlerin isimleri ile adlandırılırlar.

VDR polimorfizmleri bazı maligniteler, enfeksiyöz hastalıklar ve otoimmün hastalıklar ile ilişkili bulunmuştur (12). Yapılan bir çalışmada VDR

polimorfizmlerinin inaktif HBsAg taşıyıcılarında hepatik dalgalanmalarla, HBeAg pozitifliğiyle ve prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (13).

3. MATERYAL-METOD

3.1 Çalışmanın Tasarımı

Kesitsel çalışmamız 01.03.2017 ve 01.09.2017 tarihleri arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi (İKÇÜ) Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Aile Hekimliği polikliniklerinde yürütülmüştür. Çalışmaya başlamadan önce İKÇÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 19.01.2017 tarihinde 8 karar numarası ile etik kurul onayı alındı (EK 2). Çalışma İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 0028 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çalışmanın evrenini 01.03.2017 ve 01.09.2017 tarihleri arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Aile Hekimliği polikliniklerine başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden 18-85 yaş aralığında olan gönüllü bireyler oluşturdu. Örneklem büyüklüğü NCSS/PASS programı ile hesaplanmıştır. D vitamini düzeyi 30 ng/ml'nin (75 nmol/L) üzerinde olan bireylerde Anti HBs pozitifliği sıklığı %52, 30 ng/ml'nin (75 nmol/L) altında olanlarda %30 olacağı öngörülerek %80 güç, %5 hata payı ile her bir grup için 86 kişi olacak şekilde örneklem büyüklüğü toplam 172 kişi olarak hesaplandı (20). Yaklaşık % 5 fire olacağı varsayılarak 180 kişiye ulaşılması hedeflendi.

Çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılamayan 4 olgu, 4 kontrol çalışma dışı bırakılarak 86 taşıyıcı ve 86 kontrol olmak üzere toplam 172 kişi çalışmaya dahil edildi.

3.2 Verilerin Toplanması

Katılımcılar iki gruba ayrıldı. İlk grupta önceden inaktif hepatit B taşıyıcısı tanısı almış ve ortalama 6 ay aralıklarla takibi yapılan inaktif taşıyıcılar; ikinci grupta da sağlıklı bireyler yer aldı.

Katılımcılara onamı alındıktan sonra yüz yüze görüşme tekniği ile araştırmacılar tarafından hazırlanmış sosyo-demografik veri anketi uygulandı. Sosyo-demografik

veri anketinde katılımcıların yaşı, cinsiyeti, mesleği, eğitim durumu, sigara-alkol kullanımı, kronik hastalık durumu, sürekli ilaç kullanım durumu sorgulandı. Ardından olgu grubundan poliklinik takibinde bakılan HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG, HbeAg, Anti Hbe, HBV DNA, AST, ALT, ALP, BUN, kreatin, total protein, albumin tetkiklerine ilave olarak 25(OH)D, PTH, TSH, Ca, Mg, Fosfat, ürik asit VDR gen polimorfizmi bakılması için, kontrol grubundan da HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG, 25(OH)D, PTH, TSH, BUN, kreatinin, ürik asit, Ca, Mg, Fosfat, total protein, albumin, ALP, AST, ALT ve VDR gen polimorfizmi bakılması için 3 tüp kan örneği alındı.

İnaktif hepatit taşıyıcısı tanılı 86 taşıyıcı ve 86 kontrol olmak üzere toplam 172 katılımcıdan 2 düz kan tüpüne ve 1 EDTA'lı tüpe kan alındı. Düz kan tüpleri steril koşullarda 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Serumlar çalışma anına kadar derin dondurucuda -80°C'de temiz ve kuru eppendorf tüplerde saklanmıştır. Tüm örnekler çalışma gününde -80 dereceden çıkartılarak oda ısısında çözündürülmüş, homojen olması için alt-üst edildikten sonra çalışmaya alınmıştır.

TSH ve PTH İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarında kemiluminesans mikropartikül immunoassay (CMIA) yöntemi ile Advia Centaur XP (Siemens, Almanya) cihazında çalışılmıştır. BUN, Kreatinin, Ürik asit, Ca, Mg, P, ALP, AST, ALT, Total protein, Albumin düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile Architect C16000 cihazında, HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG ve 25-hidroksi vitamin D düzeyleri de CMIA yöntemi ile Architect Abbott i2000 (ABD) otomatik immun analizörde çalışılmıştır. VDR gen polimorfizmi değerlendirilmesi için EDTA'lı tüplere alınan kanlar çalışılincaya kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edildi. DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra PZR-RFLP yöntemi ile VDR genotip ve allel frekansları belirlendi.

Türkiye Endokrin Ve Metabolizma derneğinin 'Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu' nda yer aldığı gibi D vitamini düzeyinin

30 ng/ml'nin (75 nmol/L) üzerinde olması yeterli,

20 ile 30ng/ml (50-75 nmol/L) arasında olması yetersizlik,

20 ng/ml'nin (50 nmol/L) altında olması eksiklik,

10 ng/ml'nin (25 nm/L) altında olması ciddi eksiklik olarak kabul edildi.

HBsAg(+) > 6 ay veya HBsAg(+) / antiHBc Ig M(-) > 6 ay , HBeAg(-), Anti HBe (+), serum HBV DNA < 2000 IU/ml (10⁴ kopya/ml) ve transaminaz (AST,ALT) değerleri normal olan hastalar inaktif HBV taşıyıcı olarak tanımlandı.

3.3 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 22 demo paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmadaki tanımlayıcı analizler sayısal değişkenler için ortalama, ortanca, standart sapma, en küçük –en büyük değer; kategorik değişkenler için sayı, oran, yüzde kullanılarak sunuldu. Verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık) ve analitik yöntem (Kolmogorov Smirnov) ile test edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda, değişken özelliğine uygun olarak, Ki-kare, One-Way Anova, Kruskal-Wallis ve Mann Whitney U analitik testleri kullanıldı. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Gruplar arası ilişki korelasyon ve lineer regresyon ile değerlendirildi. P değerinin 0,05 'in altında olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.4 Çalışmaya Alınma Kriterleri:

Hasta grubu için:

Çalışmaya katılmayı kabul edip, onam verenler ,

18-85 yaş aralığında olanlar,

İnaktif HBV taşıyıcısı olanlar (HBsAg + > 6ay ; HBeAg - ; anti HB e +; ALT Normal (0-55); HBV DNA <2000 IU/mL)

Kontrol grubu için:

Çalışmaya katılmayı kabul edip, onam verenler ,

18-85 yaş aralığında olanlar,

HBsAg ve Anti HBcIgG negatif (-)olanlar.

3.5 Çalışmaya Alınmama Kriterleri:

Çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler ,

Herhangi bir otoimmün hastalığı olanlar,

18 yaş altı olanlar ve 85 yaş üzeri olanlar,

Metabolik kemik hastalığı, kronik böbrek hastalığı, kronik karaciğer hastalığı, tiroid hastalığı, primer hiperparatiroidizm, diyabetes mellitus ve herhangi bir kanser hastalığı olanlar,

Alkolizm,

İmmünsüprese olanlar,

Karaciğer transplantasyonu olanlar,

D vitamini kullanmış olmak, kalsiyum preparatları, hormon tedavisi, glukokortikosteroid, tüberküloz ilacı, antiepileptik gibi kemik metabolizmasını etkileyecek ilaç kullanımı,

Gebelik ve emzirme varlığı,

İletişim engeli olan (işitme ve konuşma) bireyler,

Soruları fiziksel ve ruhsal olarak yanıtlayabilmesinde bir engeli olan bireyler,

Mental olarak soruları anlayabilecek ve cevaplayabilecek durumda olmayan bireyler.

3.6 Laboratuvar Çalışma Metodları

3.6.1 Biyokimyasal Parametreler ve Çalışma Metodları:

Katılımcılardan 2 düz kan tüpüne ve 1 EDTA'lı tüpe kan alındı. Düz kan tüpleri steril koşullarda 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Serumlar çalışma anına kadar derin dondurucuda -80°C'de temiz ve kuru eppendorf tüplerde saklanmıştır. Tüm örnekler çalışma gününde -80 dereceden çıkartılarak oda ısısında çözdürülmüş, homojen olması için alt-üst edildikten sonra çalışmaya alınmıştır.

TSH ve PTH İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarında kemiluminesans mikropartikül immunoassay (CMIA) yöntemi ile Advia Centaur XP (Siemens, Almanya) cihazında çalışılmıştır. BUN, Kreatinin, Ürik asit, Ca, Mg, P, ALP, AST, ALT, Total protein, Albumin düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile Architect C16000 cihazında, HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG ve 25-hidroksi vitamin D düzeyleri de CMIA yöntemi ile Architect Abbott i2000 (ABD) otomatik immün analizörde çalışılmıştır.

3.6.2 Genetik Parametreler ve Çalışma Metodları:

VDR gen polimorfizmi değerlendirilmesi için EDTA'lı tüplere alınan kanlar çalışılıncaya kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edildi. DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra PCR-RFLP yöntemi ile VDR genotip ve allel frekansları belirlendi.

Tablo 4. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesinde Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Adı	Marka	Ülke
Genomik DNA mini kiti	Invitrogen	Türkiye
Oligonükleotid Primer	Sentegen	Türkiye
Taq DNA Polymerase	Thermo	Amerika
dNTP mix	Ampliçon	Amerika
Ultrapure Agarose	Hispanagar	Amerika
Ultrapure TBE Buffer	Thermo 15581-044	Türkiye
<i>Fok I</i> Restriksiyon Enzimi	Fermentas	Amerika
<i>Apa I</i> Restriksiyon Enzimi	Fermentas	Amerika
<i>Taq I</i> Restriksiyon Enzimi	Fermentas	Amerika
<i>Bsm I</i> Restriksiyon Enzimi	Fermentas	Amerika
SYBR Safe DNA Gel Stain	ABM G108	Türkiye

Tablo 5. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesinde Kullanılan Gereçler

Adı	Marka	Ülke
2 mL EDTA'lı tüp	Vacusera	Türkiye
Ependorf tüpler	Thermo	Türkiye
Otomatik pipet seti	Brand	Almanya

Otomatik Pipet Uçları	Capp	Danimarka
Buzdolabı	Arçelik	Türkiye
Hassas terazi	Shimadzu	Japonya
Agaroz Jel Elektroferez Düzeneği	Thermo Scientific	Amerika
Otoklav	Daihan Scientific	Güney Kore
Ultrapure Saf Su Cihazı	Thermo Scientific	Amerika
Etüv	Nüve	Türkiye
Vortex	Daihan Scientific	Güney Kore
Ultraviyole transillüminatör	Vilber	Fransa

3.6.2.1. DNA İzolasyonu

İnvitrogen PureLink Genomik DNA Mini Kiti kullanılarak periferik kandan DNA izolasyonu yapıldı. Ardından DNA'lar 1,5 µl steril ependorf tüplere toplandı. DNA'ların kaliteleri ve miktarları spektrofotometri cihazında (Nonodrop 2000) ölçüldü. Elde edilen DNA'lar +2/+4 °C'de saklandı.

3.6.2.2. Elde Edilen DNA Örneklerinin PCR ile Amplifikasyonu

VDR gen polimorfizmini taramak için ilgili genin polimorfik bölgeleri aşağıdaki primerler kullanılarak amplifiye edildi (Tablo 6).

Tablo 6. VDR geninin amplifikasyonu için gerekli primerler ve amplifikasyon ürünlerinin uzunlukları

İSİM	YÖN	DİZİ	Amplifikasyon ürünü
<i>BsmI</i>	F	5-agt gtg cag gcg att cgt ag-3	191 bç*
	R	5-ata ggc aga acc atc tct cag-3	
<i>ApaI& TaqI</i>	F	5-cag agc atg gac agg gag caa-3	740 bç
	R	5-gca act cct cat ggc tga ggt ctc-3	
<i>FokI</i>	F	5- gat gcc agc tgg ccc tgg cac tg-3	273 bç
	R	5- atg gaa aca cct tgc ttc ttc tcc ctc-3	

*Bç: Baz Çifti

PCR karışımı hazırlama işlemleri buz üzerinde yapıldı. Enzimler için hazırlanan PCR karışımı Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. VDR Gen Polimorfizmleri İçin PCR karışımları

		<i>Apa I -Taq I</i>	<i>Fok I</i>	<i>Bsm I</i>
İçerik	Konsantrasyon	1X İçin Miktar µl	1X İçin Miktar µl	1X İçin Miktar µl
Tampon	10X	2,5	2,5	2,5
Dntp	20Mm	2	1	2
MgSO4	2,5 Mm	0,5	1	0,5
Primer (ileri)	10 pmol/µl	1	0,75	1
Primer (geri)	10 pmol/µl	1	0,75	1
Taq DNA pol	5u/µl	0,2	0,2	0,2
DNA	DNA 50 ng/µl	10	10	9
dH2O		7,8	8,8	8,8
	Toplam	25	25	25

Tablo 8. *Fok I* VDR Gen Polimorfizmi için PCR Şartları

Derece °C	Süre (Dakika)	Döngü
94	5	1
94	0,45	35
64	0,45	
72	0,45	
72	5	1

Tablo 9. *Apa I* ve *Taq I* VDR Gen Polimorfizmleri için PCR Şartları

Derece °C	Süre (Dakika)	Döngü
94	5	1
94	1	35
70	1	
72	1	
72	5	1

Tablo 10. *Bsm I* VDR Gen Polimorfizmi için PCR Şartları

Derece °C	Süre (Dakika)	Döngü
94	5	1
94	1	35
62	1	
72	1	
72	5	1

3.6.2.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel ile Kontrol Edilmesi

PCR sonrası amplifikasyon ürünlerinin % 1'lik jelde kontrolü yapıldı. 14x10 cm boyutunda jel tabağına sahip midi yatay elektroforez cihazı kullanılarak amplifikasyon ürünleri yürütüldü. %1'lik TBE tamponu içerisinde agaroz çözülerek agaroz jelleri hazırlandı. 8 µl PCR örneği 4 µl 1X yükleme tamponu ile karıştırılarak, jel üzerinde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklendi. Ayrıca amplifikasyon ürünlerinin doğruluğunu saptamak için 100 bç (baz çifti)'lik DNA markırı ilk kuyucuğa 1µl olarak yüklendi. 80 V'da 45 dakika yürütüldü ve daha sonra UV transillüminatörde görüntülenerek PCR ürünleri kontrol edildi.

3.6.2.4. Amplifikasyon Ürünlerinde VDR Gen Polimorfizmlerinin Tespiti

3.6.2.4.1. Amplifikasyon Ürünlerinde *Fok I* Gen Polimorfizminin Tespiti

1 U *Fok I* enzimi ile çoğaltılan PCR ürünleri 55°C su banyosunda üç saat inkübe edilerek kesilmiştir. Kesim işleminde bir örnek için 5 µl PCR amplifikasyon ürününe, 1 µl *Fok I* enzimi, 2 µl 10x buffer ve 12 µl distile su eklendi. Kesim ürünleri 4 µl 1X yükleme tampon ile karıştırılarak jel üzerinde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklendi. % 2'lik ultrapure agaroz jel elektrofez işlemi uygulanan kesilmiş DNA parçaları UV ışık altında incelendi. *FF* genotipi için 273 bç, *Ff* genotipi için 273, 193, 80 bç ve *ff* genotipinde ise 193 ve 80 bç bantlar elde edildi

3.6.2.4.2. Amplifikasyon Ürünlerinde *Apa I* Gen Polimorfizminin Tespiti

2 U *Apa I* enzimi ile çoğaltılan PCR ürünleri 37°C su banyosunda onaltı saat inkübe edilerek kesildi. Kesim işleminde bir örnek için 5 µl PCR amplifikasyon ürününe, 0,4 µl *Apa* enzimi, 2 µl 10x buffer ve 9 µl distile su eklendi. Kesim ürünleri

4 µl 1X yükleme tampon ile karıştırılarak jel üzerinde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklendi. Daha sonra % 2'lik ultrapure agaroz jel elektrofez işlemi uygulanan kesilmiş DNA parçaları UV ışık altında görüntüledi. AA genotipi için 740 bç, Aa genotipi için 740,530, 210 bç ve aa genotipi 530, 210 bç'de bantlar elde edildi.

3.6.2.4.3 Amplifikasyon Ürünlerinde *Taq I* Gen Polimorfizminin Tespiti

2 U *Taq I* enzimi ile çoğaltılan PCR ürünleri 65°C su banyosunda üç saat inkübe edilerek kesildi. Kesim işlemi bir örnek için 5 µl PCR amplifikasyon ürününe, 0,4 µl *Taq* enzimi, 2 µl 10x buffer ve 9 µl distile su eklendi. Kesim ürünleri 4 µl 1X yükleme tampon ile karıştırılarak jel üzerinde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklendi. Ardından % 2'lik ultrapure agaroz jel elektrofez işlemi uygulanan kesilmiş DNA parçaları UV ışık altında görüntüledi. *T* alleli için 495, 245 bç ve *t* alleli için 290, 245, 205 bç'de bantlar elde edildi.

3.6.2.4.4 Amplifikasyon Ürünlerinde *Bsm I* Gen Polimorfizminin Tespiti

2 U *Bsm I* enzimi ile çoğaltılan PCR ürünleri 37°C su banyosunda onaltı saat inkübe edilerek kesildi. Kesim işlemi bir örnek için 5 µl PCR amplifikasyon ürününe, 0,2 µl *Bsm I* enzimi, 2 µl 10x buffer ve 9 µl distile su eklendi. Kesim ürünleri 4 µl 1X yükleme tampon ile karıştırılarak jel üzerinde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklendi. Daha sonra % 2'lik ultrapure agaroz jel elektrofez işlemi uygulanan kesilmiş DNA parçaları UV ışık altında incelendi. *BB* genotipi için 191 bç, *Bb* genotipi için 191, 115, 76 bç ve *bb* genotipi 115, 76 bç'de bantlar elde edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 90 inaktif HBV taşıyıcısı ve 90 kontrol olmak üzere toplam 180 katılımcı alınması planlandı. Yapılan tetkikler sonucunda çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılamayan 4 olgu, 4 kontrol çalışma dışı bırakılarak 86 taşıyıcı ve 86 kontrol olmak üzere 172 katılımcı çalışmaya dahil edildi. Katılımcıların yaşları 19-81 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması $41,5 \pm 13,6$ yılı. Taşıyıcıların yaş ortalaması $44,58 \pm 12,36$ kontrol grubunun $38,43 \pm 14,22$ yılı. Taşıyıcıların yaş ortalamasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p:0,001$). 86 taşıyıcının %47,7'si ($n=41$) bayan, %52,3'ü ($n=45$) erkek; 86 sağlıklı bireyin de %59,3'ü ($n=51$) bayan, %40,7'si ($n=35$) erkekti. (Tablo 11).

Çalışmaya katılan bireylerin % 4,1'i ($n=7$) okuma yazma bilmiyor, % 1,74'ü ($n=3$) okuma yazma biliyor, % 36,6'sı ($n=63$) ilköğretim 1.kademe mezunu, %15,7'si ($n=27$) ilköğretim 2.kademe mezunu, % 16,3'ü ($n=28$) lise mezunu, % 20,4'ü ($n=35$) üniversite mezunu, %5,2'si ($n=9$) de yüksek lisans mezunu idi. Taşıyıcı ve kontrol grupları eğitim düzeyleri açısından değerlendirildiğinde taşıyıcıların % 15,1'i ($n=13$) kontrol grubunun % 36'sı ($n= 31$) üniversite ve üzeri eğitim düzeyinde saptandı. Bu durum gruplar açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,002$).

Katılımcıların %26,2'si ($n=45$) sigara; % 17,4'ü ($n=30$) alkol kullanıyordu. Katılımcıların %23,3'ünün ($n=40$) kronik hastalığı (26 kişi hipertansiyon, 4 kişi gastroözefageal reflü, 3 kişi koroner arter hastalığı, 3 kişi gastrit, 3 kişi anemi, 2 kişi hiperlipidemi, 1 kişi panik bozukluk, 1 kişi astım, 1 kişi migren) vardı. Katılımcıların % 36,6'sı ($n=63$) çalışan, %5,8'i ($n=10$) emekli, %16,9'u işsiz ($n=29$), % 33,7'si ($n=58$) ev hanımı, %7'si ($n=12$) de öğrenciydi. Alkol kullanımı, meslek ve eğitim düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptandı (Sırasıyla $p=0,044$; $p=0,031$; $p=0,005$). Sigara kullanımı, cinsiyet ve kronik hastalık açısından gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Sırasıyla $p=0,862$; $p=0,126$; $p=1,00$). (Tablo 11)

Tablo 11. Katılımcıların Sosyodemografik verilerinin karşılaştırılması

<i>Parametre</i>	<i>İnaktif HBV taşıyıcı (n=86)</i>	<i>Kontrol (n=86)</i>	<i>İstatistiksel analiz</i>	
	<i>Ortalama±SS</i> <i>Ortanca(min-max)</i>	<i>Ortalama±SS</i> <i>Ortanca(min-max)</i>		<i>P</i>
<i>Yaş</i>	<i>44,5±12,3</i> <i>45,50 (19-81)</i>	<i>38,4±14,2</i> <i>36,00 (19-79)</i>		<i>P=0,001</i>
	<i>n(%)</i>	<i>n(%)</i>	<i>X²</i>	<i>P</i>
<i>Cinsiyet</i>				
<i>Kadın</i>	<i>41(44,6)</i>	<i>51(55,4)</i>	<i>X²= 2,337</i>	<i>P=0,126</i>
<i>Erkek</i>	<i>45(56,3)</i>	<i>35(43,7)</i>		
<i>Kronik hastalık</i>				
<i>Evet</i>	<i>20(50)</i>	<i>20(50)</i>	<i>X²= 0</i>	<i>P=1.000</i>
<i>Hayır</i>	<i>66(50)</i>	<i>66(50)</i>		
<i>Sigara kullanımı</i>				
<i>Evet</i>	<i>23(51,1)</i>	<i>22(48,9)</i>	<i>X²= 0,030</i>	<i>P=0,862</i>
<i>Hayır</i>	<i>63(49,6)</i>	<i>64(50,4)</i>		
<i>Alkol kullanımı</i>				
<i>Evet</i>	<i>10(33,3)</i>	<i>20(66,7)</i>	<i>X²= 4,038</i>	<i>P=0,044</i>
<i>Hayır</i>	<i>76(53,5)</i>	<i>66(46,5)</i>		
<i>Meslek</i>				
<i>Çalışan</i>	<i>30 (47,6)</i>	<i>33 (52,4)</i>	<i>X²= 10,63</i>	<i>P=0,031</i>

<i>İşsiz</i>	6(60)	4 (40)		
<i>Emekli</i>	34 (58,6)	24 (41,4)		
<i>Ev hanımı</i>	15 (51,7)	14 (48,3)		
<i>Öğrenci</i>	1 (8,3)	11 (91,7)		
<i>Eğitim Düzeyi</i>				
<i>Okuma-yazma bilmiyor</i>	5 (71,4)	2 (28,6)	$\chi^2 = 18,75$	$P=0,005$
<i>Okuma-yazma biliyor</i>	0 (0)	3 (100)		
<i>İlköğretim 1.kademe</i>	38 (60,3)	25 (39,7)		
<i>İlköğretim 2.kademe</i>	15 (55,6)	12 (44,4)		
<i>Lise</i>	15 (53,6)	13 (46,4)		
<i>Üniversite</i>	13 (37,1)	22 (62,9)		
<i>Yüksek lisans</i>	0 (0)	9 (100)		

Yaş, PTH, Mg, Albumin, AST, ALT, ALP düzeyi ortalamaları inaktif taşıyıcılarda, total protein ve fosfat düzeyi ortalamaları da kontrol grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptandı (Sırasıyla p:0,001; p<0,001; p<0,001 p:0,011; p<0,001; p<0,001; p:0,012; p:0,002; p:0,001). D vitamini, TSH, Ca, BUN, kreatin, ürik asit düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Sırasıyla p:0,347; p:0,734; p:0,074; p:0,690; p:0,656; p:172). (Tablo 12)

Tablo 12. Katılımcıların Biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması

<i>Parametre</i>	<i>İnaktif HBV taşıyıcı (n=86)</i>	<i>Kontrol (n=86)</i>	<i>İstatistiksel Analiz</i>
	<i>Ortanca(min-max)</i>	<i>Ortanca(min-max)</i>	<i>P</i>
<i>25(OH)D</i>	9,85 (2,4-35,5)	10,95 (4,3-39,4)	0,347*
<i>TSH</i>	1,45 (0,24-5,2)	1,48 (0,34-5,8)	0,734*

<i>PTH</i>	25,4 (2-99)	12,0(1-92,5)	<0,001*
<i>Ca</i>	9,3 (7,8-10,5)	9,20 (5,9-9,8)	0,074*
<i>Mg</i>	2,4 (1,7-3,5)	2,2 (1,6-3,7)	<0,001*
<i>Albumin</i>	4,50 (3,4-4,8)	4,40(3,9-4,8)	0,011*
<i>Kreatinin</i>	0,755 (0,5-1)	0,750(0,54-1,2)	0,656*
<i>BUN</i>	12,0 (2,3-22)	12,0 (1-30)	0,690*
<i>AST</i>	19,0 (10-60)	16,0(10-41)	<0,001*
<i>ALT</i>	20,5 (9-82)	10,0 (3-63)	<0,001*
<i>ALP</i>	71,5(38-179)	71,5 (9,1-161)	0,012*
Parametre	İnaktif HBV taşıyıcı (n=86)	Kontrol (n=86)	İstatiksel Analiz
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	P
<i>Total protein</i>	7,33 ±0,49	7,57 ±0,49	0,002**
<i>Ürik asit</i>	4,8 ±1,0	4,5 ±1,3	0,172**
<i>Fosfat</i>	3,3 ±0,58	3,6 ±0,59	0,001**

*Mann Whitney U testi yapılmıştır. ** Student t testi yapılmıştır.

D vitamini düzeyleri incelendiğinde çalışmaya katılan bireylerin %96,5'inde (n=166/172) D vitamin düzeyinin düşük olduğu saptandı (D vitamini \leq 30ng/ml). Taşıyıcıların %51,2'sinde (n=44) ciddi eksiklik, %39,5'inde (n=34) eksiklik, %7'sinde (n=6) yetersizlik, %2,3'ünde (n=2) yeterli; kontrol grubunun %45,3'ünde (n=39) ciddi eksiklik, %43'ünde (n=37) eksiklik, %7'sinde (n=6) yetersizlik ve %4,7'inde (n=4) yeterli düzeyde saptandı. Taşıyıcıların D vitamini düzeyleri 2,4-35,5 ng/ml arasında değişmekte iken ortalaması 11,36±6,29 ng/ml saptandı. Kontrol grubunun D vitamin düzeyleri de 4,3-39,4 arasında iken ortalaması 12,70±7,67 ng/ml

şeklinde saptandı. Taşıyıcıların % 97,7'sinde (n=84/86), kontrol grubunun da % 95,3'ünde (n=82/86) D vitamini düzeyi düşük (≤ 30 ng/ml) izlendi. (Tablo 13)

Tablo:13 Katılımcıların D vitamini Düzeylerinin karşılaştırılması

D VİTAMİNİ		GRUPLAR		TOPLAM	X ²	P
		TAŞIYICI	KONTROL			
Ciddi eksiklik	N %	44 % 51,2	39 % 45,3	83 %48,3	1,095	0,778
Eksiklik		34 % 39,5	37 % 43	71 %41,2		
Yetersizlik		6 % 7	6 % 7	12 %7		
Yeterli		2 % 2,3	4 % 4,7	6 %3,5		
TOPLAM		86	86	172		

Katılımcıların sosyodemografik özellikleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde yaş ile D vitamini arasında aynı yönde düşük düzeyde anlamlı korelasyon saptandı (Pearson r: 0,154 p: 0,043). Eğitim düzeyi ile D vitamini arasındaki ilişki incelendiğinde üniversite ve üzerinde eğitim düzeyi olanların D vitamini düzeyinin daha yüksek olduğu, aynı yönde düşük düzeyde anlamlı ilişki olduğu görüldü (Pearson r: 0,152 p: 0,047). Kronik hastalığı olanlar ile D vitamini düzeyleri arasında aynı yönde düşük düzeyde anlamlı pozitif korelasyon saptandı. (Pearson r: 0,225 p: 0,003) Sigara, alkol kullanımı ve İnaktif HBV taşıyıcı olma durumu ile D vitamini düzeyi arasındaki korelasyonlar incelendiğinde aralarında anlamlı bir ilişki gözlenmedi. (Tablo 14)

Tablo 14. Demografik verilerin D vitamini düzeyi ile korelasyonu

	<i>D vitamin Düzeyi</i>	
	<i>R</i>	<i>P</i>
<i>Yaş</i>	<i>0,154*</i>	<i>0,043</i>
<i>Cinsiyet</i>	<i>0,113</i>	<i>0,138</i>
<i>Kronik hastalık</i>	<i>0,225**</i>	<i>0,003</i>
<i>Sigara kullanımı</i>	<i>0,121</i>	<i>0,113</i>
<i>Alkol kullanımı</i>	<i>-0,076</i>	<i>0,323</i>
<i>Eğitim (Üniversite ve üzeri)</i>	<i>0,152*</i>	<i>0,047</i>
<i>İnaktif HBV Taşıyıcılık</i>	<i>0,095</i>	<i>0,213</i>

r: Pearson korelasyon katsayısı. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Laboratuvar değerleri ile D vitamini düzeyi arasındaki korelasyonlar incelendiğinde ürik asit düzeyi ile D vitamini düzeyi arasında düşük düzeyde pozitif korelasyon saptandı (Pearson $r:0,160$ $p:0,036$). Aynı şekilde ALP ile D vitamini arasında da düşük düzeyde pozitif korelasyon saptandı (Pearson $r:0,181$ $p:0,018$). Diğer laboratuvar parametreleri ile D vitamini düzeyi arasında anlamlı korelasyon gözlenmedi ($p > 0,05$). (tablo 15)

Tablo 15. Laboratuvar değerlerinin D vitamini ile korelasyonu

	<i>D vitamin Düzeyi</i>	
	<i>R</i>	<i>P</i>
<i>TSH</i>	<i>-0,004</i>	<i>0,953</i>
<i>PTH</i>	<i>-0,092</i>	<i>0,229</i>
<i>Ca</i>	<i>0,114</i>	<i>0,136</i>

<i>Mg</i>	-0,008	0,919
<i>Ürik asit</i>	0,160*	0,036
<i>Kreatinin</i>	0,035	0,653
<i>BUN</i>	0,066	0,387
<i>AST</i>	0,116	0,129
<i>ALT</i>	0,019	0,808
<i>ALP</i>	0,181*	0,018
<i>Total protein</i>	0,114	0,137
<i>Albumin</i>	0,144	0,060
<i>Fosfat</i>	0,081	0,290

r: Pearson korelasyon katsayısı. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Doğrusal regresyon eşitliğinde bağımlı değişken olan D vitamini normal dağılım göstermediği için regresyon analizinde bağımlı değişken logaritması alınarak değerlendirilmiştir. Beta (β) değerlerinin üstelleri alınarak büyüklükler yüzdesel değişim olarak ifade edilmiştir. Regresyon modelleri oluşturulurken her bir faktörün D vitamini düzeyi ile olan ilişkisi ayrı ayrı değerlendirildi ve aralarında istatistiksel olarak $p \leq 0.100$ olacak şekilde ilişki olan faktörler regresyon modeline dahil edildi. Katılımcıların vitamin D düzeyleri üzerine oluşturduğumuz lineer regresyon analizi modelinde yaş arttıkça D vitamini düzeyinin artışı anlamlılığını korudu ($\beta=0,190$, exp beta=1.20, $p=0.024$). Aynı şekilde üniversite ve üzeri eğitim görenlerin, lise ve altı eğitim düzeyindekilere göre D vitamini düzeylerinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gözlemlendi ($\beta=0,302$, exp. beta=1.35, $p<0,001$). Kronik hastalık açısından değerlendirdiğimizde kronik hastalığı olanların D vitamini düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi ($\beta=-0,159$, exp beta=1.17, $p=0.038$). Cinsiyetler arası D vitamini düzeyi açısından anlamlı ilişki saptanmadı ($\beta=0,110$, exp beta=1.11 $p=0.155$). Laboratuvar parametreleri incelendiğinde ALP artışı ile D vitamini arasında anlamlı ilişki olduğu ve ALP arttıkça D vitamini düzeyinin arttığı belirlendi

($\beta=0,192$, $\exp \beta=1.21$, $p=0.009$). Ürik Asit ve Albumin düzeyleri ile D vitamini düzeyi arasındaki ilişki anlamlılığını yitirdi (Sırasıyla $p=0,391$; $p=0,091$). (Tablo 16)

Tablo 16. Hastaların D Vitamini Düzeyleri Üzerine Lineer Regresyon Analizi

<i>Belirleyici faktörler</i>	<i>Model</i>		
	<i>B</i>	<i>Std. Error</i>	<i>P değeri</i>
<i>Yaş</i>	<i>0,190</i>	<i>0,001</i>	<i>0,024*</i>
<i>Cinsiyet (ref:kadın)</i>	<i>0,110</i>	<i>0,035</i>	<i>0,155</i>
<i>Kronik Hastalık Durumu (ref:evet)</i>	<i>- 0,159</i>	<i>0,041</i>	<i>0,038*</i>
<i>Eğitim durumu (ref:lise ve altı)</i>	<i>0,302</i>	<i>0,042</i>	<i>p <0.001***</i>
<i>ALP</i>	<i>0,192</i>	<i>0,001</i>	<i>0,009**</i>
<i>Albumin</i>	<i>0,121</i>	<i>0,072</i>	<i>0,091</i>
<i>Ürik Asit</i>	<i>0,067</i>	<i>0,014</i>	<i>0,391</i>
<i>R²:0.192</i>			
<i>β = Regresyon katsayısı, ΔR^2= Kararlılık katsayısı değişimi, * $p <0.05$, ** $p <0.01$, *** $p <0.001$</i>			

Çalışmamızda VDR geni *Bsm I*, *Fok I*, *Apa I* ve *Taq I* polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile tanımlandı.

Olgu grubunda *Apa I* polimorfizminde, AA genotipinde 28 (%32,6), Aa genotipinde 41 (%47,7), aa genotipinde 17 (%19,8) kişi vardı. Kontrol grubunda ise AA genotipinde 29 (%33,7), Aa genotipinde 46 (%53,5), aa genotipinde 11 (%12,8) kişi vardı. Olgu ve kontrol gruplarını *Apa I* genotip sıklığı açısından karşılaştırdığımızda anlamlı fark bulunmadı ($p= 0,451$). Olgu ve kontrol grubu *Apa I* allel yönünden değerlendirildiğinde olgu grubunda A alleli 97 (%56,4), a alleli 75(%43,6) sıklığında saptandı. Kontrol grubunda ise A alleli 104 (%60,5), a alleli 68 (%39,5) sıklığında saptandı. (Tablo 17)

Olgu grubunda *Taq I* polimorfizminde, TT genotipinde 36 (%41,9), Tt genotipinde 37 (%43,0), tt genotipinde 13 (%15,1) kişi vardı. Kontrol grubunda ise TT genotipinde 40 (%46,5), Tt genotipinde 41 (%47,7), tt genotipinde 5 (%5,8) kişi vardı. Olgu ve kontrol gruplarını *Taq I* genotip sıklığı açısından karşılaştırdığımızda

anlamli fark bulunmadı ($p=0,137$). Olgu ve kontrol grubu *Taq I* allel yönünden değerlendirildiğinde olgu grubunda *T* alleli 109 (%63,4), *t* alleli 63(%36,6) sıklığında saptandı. Kontrol grubunda ise *T* alleli 121 (%70,3), *t* alleli 51 (%29,7) sıklığında saptandı. (Tablo 17)

Olgu grubunda *Fok I* polimorfizminde *FF* genotipinde 47 (%54,7), *Ff* genotipinde 33 (%38,4), *ff* genotipinde 6 (%7,0) kişi vardı. Kontrol grubunda *FF* genotipinde 52 (%60,5), *Ff* genotipinde 31 (%36,0), *ff* genotipinde 3 (%3,5) kişi vardı. Genotip sıklığı açısından olgu ve kontrol grubu arasında anlamli fark saptanmadı ($p=0,518$). *Fok I* alleli analizinde olgu grubunda *F* alleli 127 (%73,8), *f* alleli 45 (%26,2) sıklığında saptandı. Kontrol grubunda *F* alleli 135 (%78,5), *f* alleli 37 (%21,5) sıklığında saptandı. (Tablo 17)

Olgu grubunda *Bsm I* polimorfizminde, *BB* genotipinde 15 (%17,4), *Bb* genotipinde 44 (%51,2), *bb* genotipinde 27 (%31,4) kişi vardı. Kontrol grubunda ise *BB* genotipinde 17 (%19,8), *Bb* genotipinde 43 (%50,0), *bb* genotipinde 26 (%30,2) kişi vardı. Olgu ve kontrol gruplarını *Bsm I* genotip sıklığı açısından karşılaştırdığımızda anlamli fark bulunmadı ($p=0,925$). Olgu ve kontrol grubu *Bsm I* allel yönünden değerlendirildiğinde olgu grubunda *B* alleli 74 (%43), *b* alleli 98 (%57) sıklığında saptandı. Kontrol grubunda ise *B* alleli 77 (%44,8), *b* alleli 95 (%55,2) sıklığında saptandı. (Tablo 17)

Tablo 17. VDR gen polimorfizmleri genotip ve allel frekansları

	İnaktif taşıyıcı n(%)	Kontrol n(%)	Toplam n(%)
<i>Apa I</i>			
<i>AA</i>	28(32,6)	29(33,7)	57(33,1)
<i>Aa</i>	41(47,7)	46(53,5)	87(50,6)
<i>aa</i>	17(19,8)	11(12,8)	28(16,3)
<i>A alleli</i>	97(56,4)	104(60,5)	201(58,4)

<i>a alleli</i>	75(43,6)	68(39,5)	143(41,6)
<i>Taq I</i>			
<i>TT</i>	36(41,9)	40(46,5)	76(44,2)
<i>Tt</i>	37(43)	41(47,7)	78(45,3)
<i>tt</i>	13(15,1)	5(5,8)	18(10,5)
<i>T alleli</i>	109(63,4)	121(70,3)	230(66,9)
<i>t alleli</i>	63(36,6)	51(29,7)	114(33,1)
<i>Fok I</i>			
<i>FF</i>	47(54,7)	52(60,5)	99(57,6)
<i>Ff</i>	33(38,4)	31(36)	64(37,2)
<i>ff</i>	6(7)	3(3,5)	9(5,2)
<i>F alleli</i>	127(73,8)	135(78,5)	262(76,2)
<i>f alleli</i>	45(26,2)	37(21,5)	82(23,8)
<i>Bsm I</i>			
<i>BB</i>	15(17,4)	17(19,8)	32(18,6)
<i>Bb</i>	44(51,2)	43(50)	87(50,6)
<i>bb</i>	27(31,4)	26(30,2)	53(30,8)
<i>B alleli</i>	74(43)	77(44,8)	151(43,9)
<i>b alleli</i>	98(57)	95(55,2)	193(56,1)

Çalışmamızda olgu ve kontrol grubunun VDR geni *Bsm I*, *Fok I*, *Apa I*, *Taq I* polimorfizmleri ve vitamin D düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Sırasıyla p: 0,66; p:0,30; p:0,89; p:0,09). (Tablo 18)

Tablo 18: D vitamini VDR gen polimorfizm ilişkisi

<i>Parametre</i>			<i>OLGU</i>			<i>KONTROL</i>		
<i>D vit (ng/ml)</i>			<20	20 ≥	P	<20	20 ≥	P
<i>Apa I</i>	AA	N	26	2	0,86	25	4	0,89
		%	92,9	7,1		86,2	13,8	
	Aa		37	4		41	5	
			90,2	9,8		89,1	10,9	
	aa		15	2		10	1	
			88,2	11,8		90,9	9,1	
<i>Taq I</i>	TT	N	33	3	0,91	35	5	0,09
		%	91,9	8,3		87,5	12,5	
	Tt		33	4		38	3	
			89,2	10,8		92,7	7,3	
	tt		12	1		3	2	
			92,3	7,7		60	40	
<i>Fok I</i>	FF	N	44	3	0,10	45	7	0,30
		%	93,6	6,4		86,5	13,5	
	Ff		30	3		29	2	
			90,9	9,1		93,5	6,5	
	ff		4	2		2	1	
			66,7	33,3		66,7	33,3	

<i>Bsm I</i>	BB	N	13	2	0,69	14	3	0,66
		%	86,7	13,3		82,4	17,6	
	Bb		41	3		39	4	
			93,2	6,8		90,7	9,3	
	bb		24	3		23	3	
			88,9	11,1		88,5	11,5	



5. TARTIŞMA

Karaciğer, vitamin D sentezinde çok önemli bir organdır; 25-hidroksilasyon burada meydana gelir ve D vitamini bağlayan protein büyük oranda burada sentezlenir. D vitamini eksikliği kronik karaciğer hastalığı olanlar arasında yaygındır.

Son yıllarda D vitamini üzerinde yapılmış ve yapılmakta olan bir çok çalışma mevcuttur. Yapılan bu çalışmalar aynı zamanda sekosteroid hormon olarak da adlandırılan D vitamininin eksikliğinin akut ve kronik enfeksiyöz hastalıklar, maligniteler ve otoimmün hastalıkların etyolojisinde rol aldığını göstermektedir. İmmünmodülatör, antiviral, antiinflamatuvar etkileri olduğu bildirilen D vitamini etkilerini aktif inflamatuvar hücrelerde bulunan vitamin D reseptörü üzerinden gerçekleştirir. HBV enfeksiyonunun kontrolü, doğal ve edinsel immün yanıtın birlikte etkileşimini gerektirir. D vitamini de doğal ve edinsel immün yanıtta önemli rol oynamaktadır. T helper (Th) 1 hücrelerini inhibe ederek proinflamatuvar sitokinlerin (IL-2, IL-3, IFN-gama, TNF-alfa) üretimini azalttığı, Th 2 hücrelerini uyararak antiinflamatuvar sitokinleri (IL 4, IL-5, IL-10, TGF-beta) artırdığı gösterilmiştir (46-50). Yapılan çalışmalarda Tall Like Reseptörlerin (TLR), monositlerin, natural killer T hücrelerin, sitotoksik T lenfositlerin , Th1 CD4+ T hücrelerin, dendritik hücrelerin HBV enfeksiyonunun kontrolünde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (51,52,53). D vitamini de TLR aktivasyonu ile doğal antibakteriyel immün yanıt arasında anahtar rol oynamaktadır (54).

Literatürde immün yanıtta anahtar rol alan D vitamininin sağlıklı bireyler ve inaktif taşıyıcılardaki düzeyi ile ilgili yapılan çalışmalar mevcut olup bu çalışmalarda çok farklı sonuçlar elde edilmesi dikkat çekiciydi. Ancak literatürde sadece inaktif hepatit B taşıyıcılarında VDR gen polimorfizmleri ile ilgili yapılmış çalışmaya rastlamadık. Biz de çalışmamızda kronik hepatit B' nin bir evresi olan, viral replikasyonun düşük olduğu, reaktivasyonun meydana gelebildiği ve belirli aralıklarla takip edilmesi gereken inaktif HBV taşıyıcılarında D vitamini düzeyini ve VDR gen polimorfizmlerini inceledik.

Ülkemizde ve dünyada D vitamini eksikliği kronik hepatit hastalarında olduğu gibi genel sağlıklı popülasyonda da oldukça fazla görülmektedir. Bizim

çalışmamızda katılımcıların D vitamini düzeyleri incelendiğinde çalışmaya katılan bireylerin %96,5 (n=166/172)'inde D vitamin düzeyi düşük saptandı (≤ 30 ng/ml). Taşıyıcıların %51,2'sinde (n=44) ciddi eksiklik, %39,5'inde (n=34) eksiklik, %7'sinde (n=6) yetersizlik, %2,3'ünde (n=2) yeterli; kontrol grubunun %45,3'ünde (n=39) ciddi eksiklik, %43'ünde (n=37) eksiklik, %7'sinde (n=6) yetersizlik ve %4,7'sinde (n=4) yeterli düzeyde saptandı. Taşıyıcıların D vitamini düzeyleri 2,4-35,5 ng/ml arasında değişmekte iken ortalaması $11,36 \pm 6,29$ ng/ml saptandı. D vitamin düzeyleri de 4,3-39,4 ng/ml arasında değişen kontrol grubunun ortalaması $12,70 \pm 7,67$ ng/ml idi. Taşıyıcıların % 97,7'sinde (n=84/86), kontrol grubunun da % 95,3' ünde (n=82/86) D vitamin düzeyi düşük (≤ 30 ng/ml) izlendi. Taşıyıcıların D vitamini düzeyi ortalamaları kontrol grubuna göre daha düşük saptansa da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p:0,347).

Motor ve arkadaşları Hatayda inaktif taşıyıcıların D vitamini düzeyleri üzerinde yaptıkları çalışmada 81 katılımcının yaş ortalamasını $41,8 \pm 11,9$ yıl, D vitamini düzeyi ortalamalarını da $52,7 \pm 20$ ng/ml olarak saptamışlar. 1 (1.2%) hastada eksiklik(< 20 ng/ml), 9 (11.1%) hastada da yetersizlik (20-30 ng/ml) olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi yoğun alkol kullanımı, diyabet, kronik renal yetmezliği, metabolik kemik hastalığı, tiroid-paratiroid rahatsızlığı, Cushing sendromu, malignite, osteoporoz ve osteoporoz için ilaç kullanımının karıştırıcı faktör olduğunu düşündükleri için bu hastaları çalışma dışı bırakmışlardır (11). D vitamini düzeylerinin çalışmamızdan daha yüksek olması Motor ve arkadaşlarının kan örneklerini ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde almış olmaları, bizim ise kan örneklerini kış mevsimi sonrasında Mart ve Nisan aylarında almış olmamız olabilir.

Demir ve arkadaşlarının Bursa'da tedavi almayan 35 kronik hepatit hastası, 30 doğal bağışık ve 30 sağlıklı birey arasında yaptıkları bir çalışmada kronik hepatitli hastaların D vitamini ortalamalarını $7,65 \pm 4,19$ ng/ml, doğal bağışıkların $12,1 \pm 7,13$ ng/ml, kontrol grubunun da $14,17 \pm 9,18$ ng/ml şeklinde bulmuşlar ve kronik hepatit B hastalarında anlamlı olarak düşük saptamışlardır (p<0.001). D vitamini düzeyi ile HBV DNA arasında korelasyon olduğunu ve D vitamini eksikliğinin viral replikasyonu artırabileceğini, kronik hepatitli hastalarda D vitamini takviyesinin

faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (10). Bizim çalışmamızda sağlıklı bireyler ile viral replikasyonun düşük olduğu inaktif taşıyıcı hastaların D vitamini düzeyleri değerlendirildiği için HBV DNA ile vitamin D arasındaki ilişki incelenememiştir. Ancak D vitaminin antiviral immün yanıtı uyaracağı, nekroinflamasyonu ve karaciğer fibrozunu önleyici etkisi göz önüne alındığında inaktif hepatit B taşıyıcılarında D vitamini düzeylerinin takibi ve eksiklik tespit edildiğinde gerekli tedavinin düzenlenmesinin enfeksiyonun seyrinde olumlu etki yapabileceği düşünülebilir. D vitamini düzeyinin inaktif hepatit B taşıyıcılarındaki surveyeye etkisinin belirlenebilmesi için iyi tasarlanmış randomize kontrollü çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Armağan ve arkadaşları KHC ve KHB hastaları üzerinde yaptıkları, D vitamini düzeyi ortalamasını 15,1 ng/ml saptadıkları çalışmalarında bizim çalışmamızdakine benzer şekilde hastaların %91'inde D vitamini düşüklüğü (≤ 30 ng/ml) saptamışlardır. Ülkemizde KHB hastaları ile yapılan çalışmalarla uyumlu olacak şekilde KHB hastalarının D vitamini düzeyi ortalamasını 16,8 ng/ml olarak bulmuşlardır (55).

Wong ve arkadaşlarının vitamin D eksikliğinin kronik hepatit hastaları üzerindeki olumsuz etkileri ile ilgili Hong Kong'da yaptıkları bir çalışmada 426 katılımcının yaş ortalaması 41 ± 13 yıl ve D vitamini ortalaması da $24,3 \pm 9,4$ ng/ml olarak tespit edilmiştir. Wong ve arkadaşları bu çalışmada 32 ng/ml altını eksiklik olarak değerlendirmişler ve katılımcıların %82' sinde (n=348) D vitamini eksikliği saptamışlardır. Erkek cinsiyet, genç yaş, düşük platelet miktarı, yüksek bilirubin ve kreatin seviyesi ve düşük KC hastalığı evresi ile D vitamini yüksekliği arasında anlamlı ilişki bildirmişlerdir (56).

Chan ve arkadaşları da yaş ortalamaları $37,1 \pm 10,5$ yıl olan 737 kronik hepatitli hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada D vitamini eksikliği sıklığını % 93 (n=687) olarak bulmuşlardır. Bu hastaların %35'inde yetersizlik (≤ 30 ng/ml), %58'inde (n=428) eksiklik (< 20 ng/ml) saptamışlardır. Hastaların D vitamini ortalamasını $18,4 \pm 7,46$ ng/ml bulmuşlar ve kalsiyum, ürik asit düşüklüğü, genç yaş, HBeAg pozitifliği, sonbahar ve kış mevsiminde kan alınması ile D vitamini düşüklüğü arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır (57).

Biz de çalışmamızda ileri yaş, kronik hastalık varlığı, üniversite ve üzeri eğitim düzeyinde olma ve ALP yüksekliği ile D vitamini yüksekliği arasında anlamlı ilişki saptadık. Bu ilişkinin sosyokültürel seviyenin yüksek olduğu İzmir ilinde yaşayan kronik hastalığı olan emekli, çalışmayan yaşlı popülasyonun beslenme ve güneş ışığından yeterince faydalanabilme konusunda bilinçli olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Üniversite ve üzerinde eğitim düzeyindeki bireylerde D vitamini ortalamasının daha yüksek saptanmasının bireylerin konu ile ilgili bilgi düzeyinin yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Mevsimsel değişikliklerden kaynaklanan farklılıkların minimuma indirilebilmesi için katılımcıların kanları Mart-Nisan 2017 tarihlerinde alınmıştır. Katılımcıların kan örneklerinin kış mevsimi sonrasında alınmasından dolayı D vitamini eksikliğinin daha fazla saptanmış olabileceği düşünülmüştür.

Zhu ve arkadaşları Çin’de 133 HBV enfekte hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada D vitamini düzeyi ortalamasını 19.36 ± 8.18 ng/ml bulmuşlar, 14 ng/ml’ nin altını eksiklik, 14 ng/ml ile 30 ng/ml arasını yetersizlik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda D vitamini eksikliği ile genotip B HBV “a” determinant mutasyonu arasında güçlü bir ilişki tespit etmişlerdir (58).

Zhao ve arkadaşları Kuzey Çin’de 115 kronik hepatitli 115 HBV ilişkili siroz hastası ve 115 sağlıklı birey olmak üzere toplam 345 kişi üzerinde yaptıkları bir çalışmada kronik hepatitli bireylerin D vitamini düzeyi ortalamalarının ($7,83 \pm 3,47$ ng/ml) sağlıklı bireylere göre ($9,76 \pm 4,36$ ng/ml) anlamlı olarak daha düşük; sirotik hastalara göre ($5,21 \pm 3,67$ ng/ml) daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Kronik hepatitli HBeAg pozitif hastalar ile HBeAg negatif hastalar arasında ve tedavi alanlarla almayanların D vitamini düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır. D vitamini eksikliğinin karaciğer disfonksiyonunun bir nedeni değil, HBV viral yükünden bağımsız bir sonucu olduğunu bildirmişlerdir. Kronik HBV enfekte hastalarda bizim çalışmamızdakine benzer şekilde % 84 gibi yüksek düzeyde ciddi D vitamini eksikliği (<10 ng/ml) saptamışlardır (59).

Çalışmamızda HBV DNA ve HBeAg düzeyi ile D vitamini düzeyi arasındaki ilişki incelenmemiştir; fakat bu konuda yapılan çalışmalarda D vitamini düzeyinin viral replikasyon ve kronik karaciğer hastalığının evresi ile de ilişkili olduğu,

eksikliğinin düzeltilmesinin karaciğer hastalıklarının tedavisinde olumlu etki göstereceği bildirilmiştir. Örneğin Nghiem Xuan Hoan ve arkadaşları Vietnam'da 400 HBV infekte (165 kronik hepatit, 127 karaciğer sirozu, 108 HCC) ve 122 sağlıklı birey arasında yaptıkları çalışmada HBV infekte hastalarda D vitamini yetersizliği (≤ 30 ng/mL) görölme sıklığını %84,3; sağlıklı bireylerde de % 81,7 şeklinde yüksek düzeyde saptamışlardır. HBV enfekte hastaların % 52'sinde (n=205) sağlıklı bireylerin de %32,5'inde (n=39) eksiklik (< 20 ng/ml) ya da ciddi eksiklik (< 10 ng/ml) saptamışlar ve gruplar arasında anlamlı fark bildirmişlerdir. D vitamini düzeyi ile HBV DNA arasında anlamlı olarak ters korelasyon olduğunu, eksikliğinin karaciğer sirozunun klinik progresyonu ile ilişkisi olduğunu ve kronik karaciğer hastalıklarının tedavisinde D vitamini eksikliğinin düzeltilmesinin destekleyici olabileceğini düşünmüşlerdir (60).

Chen ve arkadaşlarının yaş ortalaması 33.57 ± 8.47 yıl olan 128 kronik hepatitli ve yaş ortalaması 35.17 ± 8.02 yıl olan 128 kontrol üzerinde yaptıkları bir çalışmada hastaların D vitamini ortalamasını 16.88 ± 6.40 ng/ml, kontrol grubunun da 20.16 ± 5.50 ng/ml şeklinde bulmuşlardır. HBV'li hastaların %75'inde (n=96); kontrol grubunun da % 50,8'inde (n=65) D vitamini düşükölüğü (≤ 30 ng/ml) saptamışlardır. HBV DNA ile D vitamini düzeyi arasında negatif korelasyon olduğunu, HBeAg pozitif hastalarda negatif olanlara göre D vitamini eksikliğinin daha fazla görölüğünü saptamışlardır. D vitamini düşükölüğünün kronik hepatit B hastaları için tehlikeli olduğunu ve etkili antiviral terapi ile D vitamini düzeyinin yükseltilebileceğini vurgulamışlardır (61). Farklı bir çalışmada da Chen ve arkadaşları Hepatit B ve Hepatit C gibi kronik karaciğer hastalıklarında D vitamini yetersizliği veya eksikliğinin ortak bir durum olduğunu ve tedavi edilmesinin kronik karaciğer hastalıklarının progresyonuna faydalı olacağını vurgulamışlardır (62).

Farnik ve arkadaşları da 203 tedavi almayan kronik hepatit B hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada D vitamini eksikliği ile viral replikasyon arasında ters korelasyon olduğunu HBV DNA ve HBeAg düzeyi arttıka D vitamini düzeyinin düştüğünü saptamışlardır (63).

Kemik ve mineral hemostazı için esansiyel olan vitamin D bilinen biyolojik aktivitelerinin çoğunu VDR üzerinden gerçekleştirir ve vitamin D bağlayıcı protein

ve CYP27B1 hidroksilaz tarafından kontrol edilir. Literatüre baktığımızda VDR geninde birçok polimorfizm tespit edilmiş olup bunların en bilinenleri *Fok I* (T>C rs2228570), *Bsm I* (G>A rs1544410), *Apa I* (C>A rs7975232) ve *Taq I* (T>C rs731236) polimorfizmleridir ve bu polimorfizmler popülasyonlara göre farklılık göstermektedir. Bazı maligniteler, enfeksiyöz hastalıklar ve otoimmün hastalıklar ile VDR gen polimorfizmleri arasında ilişki bulunmuştur (12).

VDR gen polimorfizmleri ile ilgili kronik viral hepatitliler üzerinde bir çok çalışma yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Huang ve arkadaşları VDR gen polimorfizmlerinin inaktif HBsAg taşıyıcılarında hepatik dalgalanmalarla, HBeAg pozitifliğiyle ve prognoz ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (13).

Suneetha ve arkadaşları da VDR polimorfizmlerinin HBV ilişkili karaciğer hastalığının ağırlığı ve viral yükü ile ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir (14).

Dayangaç ve arkadaşlarının Türk popülasyonu üzerinde 100 sağlıklı bireyde VDR *Apa I*, *Fok I*, *Taq I* polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarını inceledikleri çalışmada her üç polimorfizm de dengede bulunmuş ve cinsiyete göre polimorfizm frekanslarının değişmediği saptanmıştır. *Fok I* polimorfizminin heterozigot frekansının diğerlerine göre daha az olduğu, *AaTt* genotipinin %36 sıklıkta saptandığını bildirmişlerdir (64).

Çalışmamızda İnaktif taşıyıcılarda VDR gen polimorfizmleri sağlıklı popülasyon ile benzer bulunmuş; taşıyıcılık ve D vitamini düşüklüğü ile *Apa I*, *Fok I*, *Bsm I*, *Taq I* polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. 2 grubun genotip ve allel frekansları incelendiğinde çıkan sonuçların DAYANGAÇ ve arkadaşlarının 100 sağlıklı popülasyon üzerinde yaptıkları VDR gen polimorfizmleri çalışması ile benzer olduğu gözlenmiş; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Aslan ve arkadaşlarının 110 vitiligolu olgu ve 100 sağlıklı kontrolün alındığı VDR *Apa I*, *Fok I*, *Bsm I*, *Taq I* ve *Cdx2* polimorfizmlerinin incelendiği tez çalışmasında olgu grubunun yaş ortalaması $36,12 \pm 12,26$ yıl; kontrol grubunun da $36,67 \pm 12,28$ yıl şeklindeydi. *Fok I* polimorfizmi için hasta grubuyla kontrol grubu

kıyaslandığında *FF* genotipi *ff* genotipine göre 11,27 kat daha fazla görülmüş ve *ff* genotipinin hastalık için koruyucu olduğu bildirilmiştir. *BsmI* *BB* genotipi taşıyanlarda lezyonlu bölgenin ekspresyonunda anlamlı bir düşüş gözlemlenmiş ve *BB* genotipinin hastalık için koruyucu olduğunu düşünmüşlerdir (65).

Uçar ve arkadaşları 27 kronik hepatitli hastada *VDR* gen polimorfizminin interferon tedavisine yanıt üzerine etkilerini değerlendiren tez çalışmasında *VDR* gen polimorfizmlerinin *KHB* tedavisinde *IFN* cevabını belirleyebileceğini; *Fok I*'da *ff* genotipinin cevabı belirleyen bir faktör olarak tedavi yönetiminde önemli olabileceğini bildirmişlerdir. Hastaların *VDR* geninde bulunan *Apa I*, *Bsm I*, *Fok I*, *Taq I* polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi yapıldığında *Apa I* polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde 12 hastada *AA* (% 44.4), 8 hastada *Aa* (% 29.6), 7 hastada *aa* (% 25.9) genotipi saptanmış. *A* alleli oranı % 59.3, *a* alleli oranı % 40.7 saptanmış. *Bsm I* polimorfizm genotipi 15 hastada *BB* (% 55.6), 5 hastada *Bb* (% 18.5), 7 hastada *bb* (% 25.9) saptanmış. *B* alleli oranı % 64.8, *b* alleli oranı % 35.2 saptanmış. *Fok I* polimorfizmi incelemesinde 6 hastada *FF* (% 22.2), 5 hastada *Ff* (% 18.5), 16 hastada *ff* (% 59.3) genotipi saptanmış. *F* alleli oranı % 31.5, *f* alleli oranı % 68.5 saptanmış. *Taq I* polimorfizmi genotipi 9 hastada *TT* (% 33.3), 13 hastada *Tt* (% 48.1), 5 hastada *tt* (% 18.5) saptanmış. *T* alleli oranı % 57.4, *t* alleli oranı % 42.6 saptanmış (66).

Literatürde farklı hasta grupları üzerinde *VDR* gen polimorfizmlerinin incelendiğini ve çok farklı sonuçlar elde edildiğini gözlemledik. Bozkurt ve arkadaşlarının 80 akneli ve 100 sağlıklı birey üzerinde yaptıkları çalışmada olguların *D* vitamini düzeyi $19,62 \pm 7,66$ ng/ml iken kontrol grubunun $20,39 \pm 7,11$ ng/ml saptanmış olup iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Erkek ve kadın olguların *25(OH)D3* vitamini düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmış olup erkek olguların ortalama *25(OH)D3* vitamini düzeyi $21,51 \pm 7,31$ ng/ml bulunurken kadın olguların ortalama *25(OH)D3* vitamini düzeyi $17,74 \pm 7,62$ ng/ml idi ($p:0,027$). *Bsm I* ve *Fok I* polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubu arasında bizim çalışmamızda olduğu gibi anlamlı bir ilişki gözlemlenmemişlerdir (67).

Demir ve arkadaşları 75 prostat kanserli ve 112 kontrol grubu üzerinde yaptıkları *VDR* geni *Bsm I* ve *Fok I* polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi

inceleyen tez çalışmasında bizim çalışmamızda olduğu gibi gruplar arasında genotip dağılımı açısından anlamlı fark olmadığını saptamış; bu iki polimorfizmin prostat kanserinde genetik markır olarak kullanılamayacağını bildirmişlerdir (68).

Tunçbilek ve arkadaşlarının 18 yaşından büyük 63 kronik hepatitli, 61 inaktif taşıyıcı ve 59 doğal bağışıklığı olan hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada 3 grup arasında VDR geni *Taq I*, *Apa I* ve *TNF- α 308* geni varyant allel frekansları açısından anlamlı bir fark bulunmamış ve tek nükleotid polimorfizminin HBV enfeksiyonunun progresyonu üzerindeki etkisi açıklanamamıştır (69).

Çalışmamızda daha az numune hacmi, daha az iş yükü gerektirmesi ve daha fazla numune çalışma imkanı tanınması nedeniyle D vitamini düzeyleri CMIA yöntemi ile çalışılmıştır. Literatüre baktığımızda D vitamini ölçüm yöntemlerini kıyaslayan çalışmalarda farklılıklar olduğu, LC-MS ve HPLC yöntemlerinin D vitamini düzeylerini değerlendirme konusunda RIA ve kemiluminesans yöntemlerine göre daha iyi uyum gösterdiği ve altın standart yöntemler olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (72).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnaktif HBV taşıyıcıların D vitamini düzeyi ortalamaları sağlıklı gruba göre daha düşük saptansa da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

İnaktif taşıyıcıların ve kontrol grubunun VDR geni *Apa I*, *Fok I*, *Taq I*, *Bsm I* polimorfizmleri kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

İnaktif taşıyıcılık ile D vitamini eksikliği arasında ilişki saptanmasa da, çalışmamızda vitamin D eksikliğinin (<20 ng/ml) %89,5 saptandığı, vitamin D'nin predispoze olduğu hastalıklar ve yapılan çalışmalar göz önüne alındığında, bazı ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de besinlere D vitamini katkısı düşünülebilir.

Çalışmamızda inaktif HBV taşıyıcılığının D vitamini ile ilişkisinin, varsa hastalığın genetik temelini ve polimorfizmlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu konuda yapılmış çalışmaların yetersiz olması nedeniyle daha fazla katılımcı ile daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Böylece inaktif HBV taşıyıcılığının patogenezi ve reaktivasyonlarının önlenmesi konusunda da koruyucu yeni yaklaşımlar ortaya konabilecektir.

Bulgularımıza baktığımızda ve maliyet etkinliği düşünüldüğünde her inaktif HBV taşıyıcısında rutin D vitamini düzeyi bakılması önerilmemektedir.

Çalışmamızda D vitamin düşüklüğü (≤ 30 ng/ml) %96,5 olarak bulunmuştur. Bulgularımız ve Türkiye'de yapılmış olan D vitamini ile ilgili diğer çalışmalar dikkate alındığında D vitamini eksikliği prevalansının saptanması için ülkemizde daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca bu çalışmalar ile Türkiye için D vitamini cutt-off değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir.

İnaktif taşıyıcılık ve D vitamini eksikliği ilişkisi düşünüldüğünde hangisinin neden, hangisinin sonuç olduğu konusunda daha geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın D vitamini düzeyinin altın standart yöntemler olan LC-MS veya HPLC yöntemleri ile ölçüldüğü daha kapsamlı çalışmalarla tekrarlanması literatüre katkı sağlayacaktır.



7. ÖZET

Giriş: Son yıllarda yapılan çalışmalarda otoimmün ve kronik hastalıkların, malignitelerin oluşmasında D vitamini eksikliğinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda ise D vitamini eksikliğinin HBV enfekte hastalarda olumsuz klinik sonuçlara yol açtığı, tedavi edilmesinin HBV ilişkili kronik karaciğer hastalıklarında destekleyici olacağı düşünülmüştür. Çalışmamızda inaktif Hepatit B taşıyıcılarında D vitamini düzeyi ve vitamin D reseptör (VDR) gen polimorfizmlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışma Mart-Eylül 2017 tarihleri arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Aile Hekimliği Polikliniklerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya 18-85 yaş aralığında olan ve katılmayı kabul eden bireyler dahil edildi. Katılımcılar inaktif hepatit B taşıyıcıları olarak 6 ay aralıklarla enfeksiyon hastalıkları polikliniğinde takip edilenler ve sağlıklı bireyler olarak iki gruba ayrıldı. D vitamini düzeyini etkileyen herhangi bir hastalığı (malignite, otoimmün hst. vb) ya da ilaç kullanımı (d vitamini, kalsiyum vb.) olan kişiler çalışma dışı bırakıldı. Katılımcılardan HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG, 25(OH)D, PTH, TSH, BUN, kreatinin, ürik asit, Ca, Mg, Fosfat, total protein, albumin, ALP, AST, ALT ve VDR gen polimorfizmi bakılması için kan örnekleri alındı. Serum D vitamini konsantrasyonu >30 ng/ml yeterli, 20-30 ng/ml aralığı yetersizlik, <20 ng/ml eksiklik, <10 ng/ml ciddi eksiklik olarak değerlendirildi. VDR geni *Bsm I*, *Fok I*, *Apa I* ve *Taq I* polimorfizmleri, polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile tanımlandı.

Bulgular: Çalışmaya 86 inaktif HBV taşıyıcısı ve 86 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 172 kişi dahil edildi. Yaş ortalaması $41,5 \pm 13,6$ yıldır. 86 taşıyıcının %47,7'si (n=41) bayan, %52,3'ü (n=45) erkek; 86 sağlıklı bireyin de %59,3'ü (n=51) bayan, %40,7'si (n=35) erkekti. En sık rastlanan kronik hastalık iki grupta da 13 er kişi ile hipertansiyondur. D vitamini düzeyleri incelendiğinde taşıyıcıların %52,3'sinde (n=45) ciddi eksiklik, %38,4'ünde (n=33) eksiklik, %7'sinde (n=6) yetersizlik; kontrol grubunun %45,3'ünde (n=39) ciddi eksiklik, %43'ünde (n=37) eksiklik ve %7'sinde (n=6) yetersizlik saptandı. İnaktif hepatit B taşıyıcılarında VDR geni *Bsm*

I, Fok I, Apa I, Taq I polimorfizmleri ve vitamin D düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızda D vitamin düzeyi düşüklüğü prevalansı %96,5 olarak saptandı. Taşıyıcıların % 97,7'sinde (n=84), kontrol grubunun da % 95,3'ünde (n=82) D vitamini düşüklüğü (≤ 30 ng/ml) izlendi. Ülkemizde D vitamini eksikliği ile ilgili yapılan çalışmalarda prevalansının yüksek olduğu ancak Türkiye'yi temsil eden bir prevalans çalışmasının olmadığı dikkat çekmektedir. Türkiye için D vitamin düzeyi prevalans çalışmasının yapılması ve ülkemiz için D vitamini cut-off değerlerinin belirlenmesi, D vitamin düzeyinin ölçümü ile ilgili yapılacak çalışmalarda bias oluşturmaması açısından çalışmalarda farklı ölçme yöntemlerinin birlikte kullanılması önerilir. Yapılan çalışmalarda kronik hepatit B hastalarında D vitamini düzeyi sağlıklı popülasyona göre daha düşük saptansa da inaktif HBV taşıyıcılarında rutin D vitamini bakılmasını önermemekteyiz. İnaktif taşıyıcılık ve D vitamini eksikliği ilişkisi düşünüldüğünde hangisinin neden, hangisinin sonuç olduğu konusunda daha geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: İnaktif hepatit B, Polimorfizm, D vitamini, Vitamin D reseptörü (VDR)

SUMMARY

Introduction: In recent years studies have shown that vitamin D deficiency plays an important role in the development of autoimmune and chronic diseases and malignancies. Studies on hepatitis B virus (HBV) -infected patients suggest that lack of vitamin D leads to adverse clinical outcomes in HBV-infected patients, and treatment of vitamin D deficiency is thought to be supportive in HBV-associated chronic liver disease. In our study, it was aimed to investigate vitamin D levels and vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms in inactive hepatitis B carriers.

Materials and Methods: The study was performed between March-September 2017 in İzmir Katip Çelebi University Atatürk Training and Research Hospital Infectious Diseases and Family Medicine Polyclinics. Individuals who were in the age range of 18-85 years and accepted to participate were included in the study. Participants were divided into two groups as inactive hepatitis B carriers followed by 6 months intervals in infectious diseases polyclinics and healthy individuals. Persons with any disease (malignancy, autoimmune diseases, etc.) or drug use (vitamin D, calcium, etc.) affecting vitamin D levels were excluded from the study. Blood for HBsAg, Anti HBs, Anti HBc IgG, 25 (OH) D, PTH, TSH, BUN, creatinine, uric acid, Ca, Mg, Phosphate, total protein, albumin, ALP, AST, ALT and VDR gene polymorphism samples were taken. Serum vitamin D concentration was > 30 ng / mL, 20-30 ng / mL of insufficiency, <20 ng / mL of insufficiency, <10 ng / mL of severe deficiency. *Bsm I*, *Fok I*, *Apa I* and *Taq I* polymorphisms of the VDR gene were identified by the polymerase chain reaction-fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method.

Results: A total of 172 patients were included in the study, 86 inactive HBV carriers and 86 healthy individuals. The average age was 41.5 ± 13.6 years. 47.7% (n = 41) female and 52.3% (n = 45) male of 86 carriers, respectively; Of the 86 healthy subjects, 59.3% (n = 51) were female and 40.7% (n = 35) were male. The most common chronic disease was hypertension with 13 patients in both groups. When D vitamene levels were examined, 52.3% (n = 45) of the carriers had severe deficiency, 38.4% (n = 33) deficiency, 7% (n = 6) deficiency; 45.3% (n = 39) of the control group had severe deficiency, 43% (n = 37) deficiency, and 7% (n = 6) deficiency.

There was no statistically significant correlation between *Bsm I*, *Fok I*, *Apa I* and *Taq I* polymorphisms of the VDR gene polymorphisms and vitamin D levels in inactive hepatitis B carriers.

Conclusion: The prevalence of vitamin D deficiency was 96.5% in our study. Vitamin D (≤ 30 ng / ml) was observed in 97.7% (n = 84) of the carriers and 95.3% (n = 82) of the control group. It is noteworthy that the prevalence of D vitamin deficiency in our country is high, but there is no prevalence study that represents Turkey. It is recommended to use different measurement methods in studies to determine the vitamin D prevalence study for Turkey and to determine vitamin D cut-off values for our country and to avoid bias in the study of vitamin D levels. Although studies have shown that vitamin D levels in chronic hepatitis B patients are lower than healthy populations, we do not recommend routine vitamin D testing in inactive HBV carriers. Considering the relationship between inactive carriage and vitamin D deficiency, a wider and more comprehensive study is needed to determine which is the cause and which is the outcome.

Key words: Inactive hepatitis B, Polymorphism, Vitamin D, Vitamin D receptor (VDR)

8. KAYNAKLAR

1. Mıstık R. Türkiye’de viral hepatitlerin epidemiyolojisi: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Editörler), Viral Hepatit 2007 (1.Baskı) Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul, 2005:10-50.
2. World Health Organization (WHO) Hepatitis B. Erişim adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/print.html> Erişim tarihi: 03.01.2017
3. Alexander J, Kowdley KV. Epidemiology of Hepatitis B–Clinical Implications. MedGenMed. 2006;8(2):13
4. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. The Lancet 2015; 386(10003): 1546-55
5. European Association For The Study of the liver: EASL Clinical Practice Guidelines. Management of chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol 2012; 57: 167-185.
6. Değertekin H, Oğuz AK. Akut ve Kronik HBV İnfeksiyonunda Doğal Seyir. Güncel Gastroenteroloji 2010;14(2):54-8
7. Sonsuz A. Kronik Hepatit B ve C. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2007; 58:79-90
8. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality- a review of recent evidence. Autoimmun Rev 2013;12:976-89.
9. Hoan NX, Khuyen N, Binh MT et al. Association of vitamin D deficiency with hepatitis B virus - related liver diseases. BMC Infectious Diseases 2016;16:507

10. Demir C, Demir M. Vitamin D levels in patients with chronic hepatitis B virus infection and naturally immunized individuals. *Int Med Ins J.* 2013;1(1):2. doi: 10.7243/2052-6954-1-2.
11. Motor S, Koksaldı-Motor V, Dokuyucu R, et al. Investigation Of Vitamin D Levels In Patients With Inactive Hepatitis B Virus Carrier. *Acta Medica Mediterranea*, 2014;30: 793-6
12. Kato S, Sekine K, Matsumoto T, Yoshizawa T. Molecular genetics of vitamin D receptor acting in bone. *J Bone Miner Metab* 1998; 16: 65-71.
13. Huang YW, Liao YT, Chen W et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and distinct clinical phenotypes of hepatitis B carriers in Taiwan. *Genes immun* 2010; 11: 87-93.
14. Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, Kumar GT, Shukla DK, Hissar S. Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-a and TNF-b gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease. *Journal of Hepatology* 44 2006; 856-863.
15. Koroglu OA, Onay H, Cakmak B, Bilgin B, Yalaz M, Tunc S, Ozkinay F, Kultursay N. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Research.* 2014;76:171–76
16. Testut P, Renard CA, Terradillos O et al. A new hepadnavirus endemic in arctic ground squirrels in Alaska. *J Virol* 1999; 70: 4210-9.
17. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of Hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 351-366
18. World Health Organization. Hepatitis B. World Health Organization Fact Sheet 2004 (Revised October 2000) WHO website; 2000
19. Yenen OŞ: Viral hepatitler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları.* İstanbul, Nobel Kitabevleri Ltd. Şti. 1996; 641-700.

20. Stevens CE, Toy PT, Tong MJ, et al. Perinatal hepatitis B virus transmission in the United States. Prevention by passive-active immunization. JAMA 1985; 253: 1740-1745
21. Balık İ. Hepatit B epidemiyolojisi. In: Kılıçturgay K (Ed.). Viral Hepatit 94 1.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 1994; 91-101.
22. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for acute viral hepatitis--United States, 2006. MMWR Surveill Summ 2008; 57:1
23. Akarca US. Hepatit B virüsü enfeksiyonu doğal seyri. In: Çakaloğlu Y, Ökten A (eds). Hepatit B ulusal uzlaşma toplantısı metinleri 2003; 65-77.
24. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. Hepatology 2001; 34: 617-624.
25. Özsan M. HBV enfeksiyonunda mikrobiyolojik tanı. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds). Viral hepatit 2007.124-129.
26. Krastev ZA: The "return" of hepatitis B. World Journal of Gastroenterology. 12: 7081-7086, 2006. 66- Liaw YF: Impact of therapy on the outcome of chronic hepatitis B. Liver International. 33(1): 111-115, 2013.
27. Leblebicioğlu H: Kronik Hepatit B Tedavi Rehberlerinin Gözden Geçirilmesi, Tabak F, Tosun S (Eds): "Viral Hepatit 2013" içinde, Birinci baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2013; s. 303-307.
28. Tosun S. Hepatit B Aşılması ve Ülkemizde Hepatit Aşılama Sonuçları, Tabak F, Tosun S (Eds): "Viral Hepatit 2013" içinde, Birinci baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2013; s. 415-437.
29. Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: Challenges and needs. Am j
30. Holick MF. The Vitamin D Epidemic and its Health Consequences. J. Nutr. 135: 2739S-2748S, 2005

31. Holick MF. Vitamin D: Physiology, Molecular Biology and Clinical Applications. 2nd ed. Humana Press 2010
32. Holick, M. F., Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 2004. 80(6 Suppl): p. 1678S-1688S.
33. Holick MF. Vitamin D: Important for Prevention of Osteoporosis, Cardiovascular Heart Disease, Type 1 Diabetes, Autoimmune Diseases, and some Cancers. *Southern Medical Journal* 2005;98(10)
34. Holick, M. F., Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*, 2004. 79(3): p. 362371.
35. Colston K, Mackay AG, James AY, Binderup L. Eb1089: a new vitamin D3 analog that inhibits the growth of breast cancer cells in vivo and in vitro. *BioChem Pharmacol* 1992;44:2273-2280.
36. Skowronski, ROMAN J., Donna M. Peehl, and David Feldman. "Vitamin D and prostate cancer: 1, 25 dihydroxyvitamin D3 receptors and actions in human prostate cancer cell lines." *Endocrinology* 132.5 (1993): 1952-1960.
37. Wang J, Lv S, Chen G, Gao C, He J, Zhong H. Meta-Analysis of the Association between Vitamin D and Autoimmune Thyroid Disease. *Nutrients*. 2015 Apr; 7(4): 2485–2498
38. Heilborn JD1, Nilsson MF, Kratz G, Weber G, Sørensen O, Borregaard N, Ståhle-Bäckdahl M. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in re-epithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. *J Invest Dermatol*. 2003 Mar;120(3):379-89.
39. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
40. Osteoporoz ve Diğer Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Klavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. ANKARA 2017

41. Uçar F, Taşlıpınar MY, Soydaş AÖ, Özcan N. Ankara Etlik İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda 25-OH Vitamin D Düzeyleri. *Eur J Basic Med Sci* 2012;2:12-5.
42. Dawson-Hughes B. Vitamin D deficiency in adults: definition, clinical manifestations, and treatment. <http://www.uptodate.com/2015>.
43. Miyamoto K, Robert A, Kesterson T, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Molecular Endocrinology* 1997; 11: 1165.
44. Ferrari SL, Rizzoli R. Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Molecular Aspects of Medicine* 2005; 26: 145–167.
45. Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F, Brandi ML. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2002; 81(1): 1-24.
46. Cantorna MT, Yu S, Bruce D. The paradoxical effects of vitamin D on type 1 mediated immunity. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 369-375.
47. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, et al.. 1alpha,25Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001; 167:4974-4980.
48. Overbergh L, Decallonne B, Waer M, et al.. 1alpha,25Dihydroxyvitamin D3 induces an autoantigen-specific T-helper 1/T-helper 2 immune shift in NOD mice immunized with GAD65 (p524-543). *Diabetes* 2000; 49: 1301-1307.
49. Lemire JM. Immunomodulatory actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 53: 599-602.
50. Chun RF, Adams JS, Hewison M. Immunomodulation by vitamin D: implications for TB. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2011; 4: 583-591. 21) Liu PT, Stenger S, Li H, et al.. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-1773.

51. Ratnam D, Visvanathan K. New concepts in the immunopathogenesis of chronic hepatitis B: the importance of the innate immune response. *Hepatol Int* 2008; 2:12-18.
52. Kondo Y, Ueno Y, Shimosegawa T: Toll-like receptors signaling contributes to immunopathogenesis of HBV infection. *Gastroenterol Res Pract* 2011: 810939.
53. Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 16-23.
54. Liu PT, Stenger S, Li H, et al.. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-1773.
55. Armağan Ş. Kronik Hepatit B Ve Kronik Hepatit C Hastalarında Plazma A, D, E Vitamin Düzeyleri İle Karaciğer Histopatolojisi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı [Uzmanlık Tezi] Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi; 2014.
56. Lai-Hung Wong G, Lik-Yuen Chan H, Chan H-Y et al. Adverse Effects of Vitamin D Deficiency on Outcomes of Patients With Chronic Hepatitis B. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2014;1-9
57. Lik-Yuen Chan H, Elkhashab M, Trinh H, et al. Association of baseline Vitamin D levels with clinical parameters and treatment outcomes in chronic hepatitis B. *Journal of Hepatology* 2015 ; 63 :1086–92
58. Zhu H, Liu X, Ding Y, et al. Relationships between low serum vitamin D levels and HBV “a” determinant mutations in chronic hepatitis B patients. *Journal of Infection in Developing Countries* 2016; 10(9):1025-1030. doi:10.3855/jidc.7459
59. Zhao XY, Li J, Wang JH, et al. Vitamin D serum level is associated with Child-Pugh score and metabolic enzyme imbalances, but not viral load in chronic hepatitis B patients. *Medicine* (2016); 95:27
60. Hoan et al. Association of vitamin D deficiency with hepatitis B virus - related liver diseases. *BMC Infectious Diseases* (2016) 16:507

61. Chen E-Q, Bai L, Zhou T-Y et al. Sustained suppression of viral replication in improving vitamin D serum concentrations in patients with chronic hepatitis B. *Scientific Reports* 2015; 5:15441; 1-8 doi: 10.1038/srep15441
62. Chen E-Q, Shi Y, Tang H. New insight of vitamin D in chronic liver diseases. *Review Article: Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2014;13:580-585
63. Farnik H, Bojunga J, Berger A, et al. Low Vitamin D Serum Concentration Is Associated With High Levels of Hepatitis B Virus Replication in Chronically Infected Patients. *Hepatology* 2013; 58:4: 1270-76
64. Dayangaç D, Özyayın E, et al. Sağlıklı Türk Popülasyonunda Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizm Analizi. *Türk Biyokimya Dergisi* 2002; 27:1: 11-6
65. İtirlı Aslan G. Vdr (Vitamin D Reseptör) Gen Polimorfizmlerinin Vitiligo'ya Yatkınlıktaki Rolünün Ve Vitiligolu Hastalarda Vdr Ekspresyonunun Araştırılması. *Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Doktora Tezi) İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2011*
66. Uçar A.R. Kronik Hepatit B Hastalarında D Vitamini Reseptör Gen Polimorfizmlerinin İnterferon Tedavisine Yanıt Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Uzmanlık Tezi) İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2015*
67. Bozkurt A. Akneli Hastalarda Serum D Vitamini Düzeylerinin Ve Vdr (Vitamin D Reseptör) Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. *Deri Ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı (Uzmanlık Tezi) İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2015*
68. Demir S. Türk Popülasyonunda Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ile Prostat Kanseri Arasındaki İlişki. *Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi) Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2005*
69. Tuncbilek S, Aydın K, Hizel K. Vitamin D and Tumor Necrosis Factor-Alpha Receptor Gene Polymorphisms in Various Hepatitis B Clinical Conditions in Turkey. *Gastroenterology Research* 2013;6(5):185-190

70. Afyon M, Artuk C. Hepatit B virüs enfeksiyonunda atipik serolojik profiller. TAF Preventive Medicine Bulletin. 2016; 15(3):267-76
71. T.C Sağlık Bakanlığı Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi 2011. Erişim Adresi: <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/1117.gbp genelge2008pdf.pdf?0>
72. Sahillioğlu B, Serdar MA, Erkal N, et al. Method validation of tandem mass spectrometry for 25-Hydroxyvitamin D3 and comparison of this method with other methods. Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem. 2011; 36 (1) ; 73–79.



9. EKLER

EK 1:

SOSYODEMOGRAFİK VERİ ANKETİ

ADI SOYADI:

PROTOKOL NO:

1-No:

2-Yaş:

3-Cinsiyet

4-Eğitim Durumu:

5-Meslek:

6-Sigara:

7-Alkol:

8-Kronik hastalık varlığı (Kronik Böbrek yetersizliği, Kronik Karaciğer hastalığı, inflamatuvar barsak hastalıkları, primer hiperparatiroidi, metabolik kemik hastalıkları, otoimmün hastalıkları, kanser, tiroid hastalığı...):

9-Kullandığı ilaç var mı? (D vitamin, Ca, hormon tedavisi, antituberküloz ilaçlar, antiepileptikler, glukokortikoidler...):

GÖRÜŞMEDEKİ LABORATUVAR SONUÇLARI:

HBsAg:

BUN:

HBV DNA:

Ca:

HBeAg:

Fosfat:

Anti HBe:

Mg:

Anti HBs:

TSH:

Anti HBc IGG:

25(OH) D:

Total protein:

İPTH:

Albumin:

ALP:

Kreatin:

Ürik Asit:

AST:

ALT:

EK 2:**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Inaktif Hepatit B Taşıyıcılarında D Vitamini Düzeyi ve Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizminin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Izmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Izmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Poliklinik 1, Kat F2058 numaralı oda Karabağlar 35360 İZMİR
	TELEFON	0232 245 04 38
	FAKS	0232 245 04 38
	E-POSTA	iketetik@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Esra Meltem KOÇ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Aile Hekimliği			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Izmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği AD			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Yrd. Doç. Dr. Esra Meltem KOÇ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
DİĞER İSE BELİRTİNİZ					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	








Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:
Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ
İmza:

**IZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Inaktif Hepatit B Taşıyıcılarında D Vitamini Düzeyi ve Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizminin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLU	13.1.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	13.1.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	13.1.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>	-			
	ARAŞTIRMA BUTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	13.1.2017	1		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	-			
	İLAN	<input type="checkbox"/>	-			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	-			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	-			
	GUVENLULUK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	-			
	DİĞER	<input type="checkbox"/>	-			
	Karar No:8	Tarih: 19.01.2017				
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza
Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ / Başkan	Tıbbi Farmakoloji	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nihal OLGAC DÜNDAR / Başkan Yardımcısı	Çocuk Nörolojisi	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN	Kadın Hastalıkları ve Doğum	İKÇÜTEAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Servet AKAR	İç Hastalıkları/ Romatoloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Abdi SAĞCAN	Kardiyoloji	Kent Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Korhan Barış BAYRAM	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	İKÇÜ ATATÖRK EAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hatice Sabiha TÜRE	Nöroloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	



IZMİR KÁTIP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Inaktif Hepatit B Taşıyıcılarında D Vitamini Düzeyi ve Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizminin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

Yrd. Doç. Dr. Utku Kürşat ERCAN	Biyomedikal Mühendisliği	İKÇÜMMF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN	Halk Sağlığı	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Av. Fatma GÜLMEZOĞLU	Hukuk	İKÇÜ	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Meral MEHREKULA	Sivil	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:
Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ
İmza: