

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KADIN VE ERKEKLERDE VİTAMİN D RESEPTÖR BSMİ GEN
POLİMORFİZMİ SIKLIĞI VE 25-HİDROKSİVİTAMİN D DÜZEYLERİ İLE
İLİŞKİSİ**

DR. HÜSEYİN BABUR

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KADIN VE ERKEKLERDE VİTAMİN D RESEPTÖR BSMİ GEN
POLİMORFİZMİ SIKLIĞI VE 25-HİDROKSİVİTAMİN D DÜZEYLERİ İLE
İLİŞKİSİ**

DR. HÜSEYİN BABUR

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. AHMET KAYA

KONYA, 2013

TEŞEKKÜR SAYFASI

Asistanlığım süresince ve tez çalışmam boyunca danışmanlıktan öte yakınlık gösteren, engin bilgi ve tecrübesi ile bundan sonraki hekimlik hayatıma ışık tutan, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet KAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman asistanlarını koruyan, onların daha iyi yerlerde olmasını isteyen, odasına her vardığımda güler yüzü ile karşılayan, asistanlık eğitimimin her aşamasında derin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım anabilim dalı başkanımız saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nedim Yılmaz SELÇUK'a sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin esas konusu olan genetik polimorfizmin çalışılmasında desteklerini esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mahmut Selman YILDIRIM ve Yrd. Doç. Dr. Ayşegül ZAMANI'ye, biyolog arkadaşlarım Fatma ORAK ve Tuba AKKÜLOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Kendisinin çömezi olmaktan büyük sevinç duyduğum, tezimin istatistiksel değerlendirmelerini yapan sevgili ağabeyim Uzm. Dr. İlker POLAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, ayrıldıktan sonra yokluklarını fazlasıyla hissedeceğim sevgili arkadaşlarım Dr. Zeynep ŞAHİN ve Dr. Ali Burak HARAS'a çok teşekkür ederim.

Hastaların yönlendirilmesinde büyük emekleri olan DEXA çekiminde çalışan teknisyen arkadaşlarım sevgili Ali AYDEMİR ve Ayten TAŞ'a; poliklinik hizmet girişlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen sekreter arkadaşlarım sevgili Leyla TEKİN, Canan ŞENER ve Gonca DÖNMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca bana her an destek olan, varlıklarıyla bana güç veren, çoğu zaman onları ihmal etmek zorunda kaldığım sevgili eşim ve kızlarıma destek ve sabırları için teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Koordinatörlüğü tarafından 121518008 proje no ile desteklenmiştir.

Şubat 2013

Hüseyin BABUR

ÖZET

Kadın ve Erkeklerde Vitamin D Reseptör BsmI Gen Polimorfizmi Sıklığı ve 25- hidroksivitamin D Düzeyleri ile İlişkisi, Babur H, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Konya, 2013.

Amaç: Günümüzde D vitamini eksikliği önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Vitamin D'nin etkilerini reseptörleri aracılığı ile yaptığı bilinmektedir. VDR genindeki farklı polimorfizmlerde farklı hastalıklara yatkınlık bir çok çalışmada gösterilmiştir. VDR'nin ApaI, TaqI, FokI ve BsmI polimorfizmleri bilinmektedir. Üzerinde en fazla çalışılan polimorfizm BsmI'dir. Biz de çalışmamızda VDR BsmI gen polimorfizmi sıklığı ve bu polimorfizmlerin vitamin D düzeyleri ile olan ilişkisini saptamayı hedefledik.

Yöntem: Çalışmamıza 200 kişi alındı. Gruplar 100 osteoporotik ve 100 de osteoporotik olmayan olarak düzenlendi. Deneklerin demografik özellikleri kaydedildi. Alınan kan örneklerinde D vitamini, kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz; idrar örneğinde ise spot idrar kalsiyum, spot idrar kreatinin çalışıldı. Ayrıca alınan yaklaşık 2 cc periferik kan örneğinden DNA izolasyonu yapıp real time PCR yöntemiyle VDR BsmI polimorfizmi çalışıldı ve gruplar arasında karşılaştırma yapıldı.

Bulgular: Tüm çalışma grubunda BB genotipi % 17, Bb genotipi % 50.5, bb genotipi ise % 32.5 olarak bulundu. Osteoporotik grupta BB genotipi % 16, Bb genotipi 48 ve bb genotipi % 36 bulundu. Osteoporotik olmayan grupta ise BB genotipi % 18, Bb genotipi % 53 ve bb genotipi % 29 bulundu. Grupların karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Polimorfizmler ve vitamin D düzeyi karşılaştırıldığında ise vitamin D düzeyi BB genotipinde 18.10 ng/mL, Bb genotipinde 17.08 ng/mL ve bb genotipinde 16.34 ng/mL bulundu. Genotipler arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi. Tüm popülasyonda ortalama D vitamini düzeyi ise 16.78 ng/mL olarak tespit edildi.

Sonuç: Çalışmamızda genotipler ve vitamin D düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı, yine osteoporotik ve osteoporotik olmayan gruplar arasında VDR BsmI gen polimorfizmi sıklığı açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Her iki grupta ve tüm popülasyonda ciddi derecede vitamin D eksikliği saptandı.

Anahtar kelimeler: Vitamin D reseptör geni, BsmI, D vitamini, polimorfizm

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 121518008 proje no ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Frequency of BsmI polymorphism of vitamin D receptor gene in women and men and its association with 25-hydroxyvitamin D levels, Babur H, Expertise Thesis of Internal Medicine, Konya, 2013.

Aim: Nowadays vitamin D deficiency has become a major public health problem. It's known that the effects of vitamin D are made by its receptors. VDR gene polymorphisms in susceptibility to different diseases demonstrated in many studies. The polymorphisms of VDR are ApaI, TaqI, FokI and BsmI. BsmI is the most extensively studied polymorphism. In our study, the aim is to show the frequency of VDR BsmI gene polymorphisms and to show the relationship between polymorphisms and vitamin D levels.

Method: Two hundred persons were included in our study. All population were divided into two groups which are 100 osteoporotic and 100 non-osteoporotic. The demographic characteristics were recorded. In blood samples vitamin D, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase; in urine samples urinary calcium, urinary creatinine were studied. In addition, approximately 2 cc of peripheral blood sample was taken for DNA isolation and VDR BsmI polymorphisms were studied by real-time PCR method and comparisons were made between the groups.

Results: In all of population BB genotype 17 %, Bb genotype 50.5 % and bb genotype 32.5 % were found. In osteoporotic grup BB genotype 16 %, Bb genotype 48 % and bb genotype 36 % were found. In non-osteoporotic grup BB genotype 18 %, Bb genotype 53 % and bb genotype 29 % were found. There was no statistically significant difference between groups. When comparing vitamin D levels with the polymorphisms, the level of vitamin D was 18.10 ng/mL in BB genotype, 17.08 ng/mL in Bb genotype and 16.34 ng/mL in bb genotype. There was no statistically significant difference between genotypes. The average level of vitamin D were found as 16.78 ng / mL in the whole population.

Conclusion: In our study there was no statistically significant relationship between genotypes and vitamin D levels and also was no statistically significant relationship of VDR gene BsmI polymorphisms between two groups. Serious vitamin D deficiency was detected in both groups and the whole population.

Keywords: Vitamin D receptor gene, BsmI, vitamin D, polymorphism

This thesis study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Necmettin Erbakan University with the project number 121518008.

İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
TEŞEKKÜR SAYFASI.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. D Vitamini.....	3
2.1.1. D Vitamini Fizyopatolojisi.....	3
2.1.2. D Vitamini Eksikliği.....	5
2.2. Osteoporoz.....	6
2.2.1. OP ve Genetik.....	7
2.3. İdrar Kalsiyum Atılımı.....	7
2.4. Vitamin D Reseptörü ve Polimorfizmleri.....	8
2.4.1. VDR BsmI Polimorfizmi.....	10
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	12
3.1. Hastaların Seçimi.....	12
3.2. Laboratuvar Testleri.....	13
3.3. Kemik Dansitometrisi.....	13
3.4. Genetik Analiz.....	13
3.4.1. DNA İzolasyonu.....	13
3.4.2. Real Time PCR.....	14
3.5. İstatiksel Analiz.....	17
3.6. Etik Kurul Onayı.....	17

4. BULGULAR.....	18
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	35
KAYNAKLAR.....	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

25(OH)D ₂	:	25-Hidroksi Vitamin D2
25(OH)D ₃	:	25-Hidroksi Vitamin D3
25-OH D	:	25- hidroksi vitamin D
ALP	:	Alkalen Fosfataz
BKİ	:	Beden Kütle İndeksi
Ca ⁺²	:	Kalsiyum
Col1A1	:	Tip 1 Kollajen Alfa A1 Zinciri Geni
DBP	:	D vitamini bağlayan protein
DEXA	:	Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometre
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ESR	:	Östrojen Reseptör Geni
FRET	:	Fluorescance Resonance Energy Transfer
KMY	:	Kemik Mineral Yoğunluğu
NEÜMTFH	:	Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi
OP	:	Osteoporoz
P	:	Fosfor
PZR- PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SPSS	:	Statistical Package for Social Sciences
TEMĐ	:	Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği
UV-B	:	Ultraviyole-B
VDR	:	D vitamini reseptörleri

ŞEKİLLER

	<u>sayfa</u>
Şekil 2.1 D vitamini eksikliği nedenleri ve sonuçları.....	6
Şekil 2.2 VDR geni sitogenetik lokusu.....	8
Şekil 2.3 VDR geni intron, ekzon ve polimorfizmlerin bölgeleri.....	8
Şekil 2.4 VDR gen yapısı.....	9
Şekil 2.5 VDR'nin hedef genleri.....	10
Şekil 3.1 Hibridizasyon prob yöntemi.....	15
Şekil 3.2 Floresan miktarı.....	16
Şekil 3.3 Erime eğrisi analizi.....	16
Şekil 4.1 Genotiplerin gruplar ve tüm popülasyonda dağılımı.....	27

TABLULAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 D vitamini etkisinin yetersiz olma nedenleri.....	4
Tablo 2.2 D vitamini düzey ve yorumları.....	5
Tablo 2.3 Deneklere sorulan sorular.....	12
Tablo 4.1 Gruplar arasında, tüm popülasyonda ve cinsiyetler arasında yaş ortalaması.....	18
Tablo 4.2 Deneklerin boy açısından karşılaştırılması.....	19
Tablo 4.3 Deneklerin kilo açısından karşılaştırılması.....	19
Tablo 4.4 Deneklerin BKİ açısından karşılaştırılması	19
Tablo 4.5 Cinsiyetlere göre gruplar arasındaki yaş, kilo, boy ve BKİ değerleri.....	20
Tablo 4.6 Grupların ve tüm popülasyonun ortalama laboratuvar değerleri ve günlük Ca ⁺² alımı...21	21
Tablo 4.7 Kontrol grubunda cinsiyetlere göre laboratuvar değerleri ve günlük Ca ⁺² alımı.....	22
Tablo 4.8 OP grubunda cinsiyetlere göre laboratuvar değerleri ve günlük Ca ⁺² alımı.....	22
Tablo 4.9 Gruplarda cinsiyetler arasında günlük Ca ⁺² alım miktarı.....	23
Tablo 4.10 Vitamin D düzeylerinin cinsiyet ve giyim tarzı ile karşılaştırılması	23
Tablo 4.11 Vitamin D aralığı.....	24
Tablo 4.12 Eğitim durumu açısından grupların ve cinsiyetlerin karşılaştırılması.....	25
Tablo 4.13 Grupların ve cinsiyetlerin günlük güneşe maruziyet süreleri.....	26
Tablo 4.14 Egzersiz ve yürüyüş açısından grupların ve cinsiyetlerin karşılaştırılması.....	26
Tablo 4.15 Gruplar ve tüm popülasyonda genotiplerin dağılımı.....	27
Tablo 4.16 Gruplarda ve cinsiyetlerde genotiplerin dağılımı.....	28
Tablo 4.17 Genotipler arasında vitamin D ve rakamsal DEXA sonuçlarının karşılaştırılması.....	28

1. GİRİŞ VE AMAÇ

D vitamini insan cildinde güneşten gelen ultraviyole-B (UV-B) ışınların etkisiyle sentezlenen, daha az olarak da bitkisel ve hayvansal gıdalar yoluyla alınan, karaciğerde 25 ve böbrekte 1 α pozisyonunda hidrosillendikten sonra aktive olan hidrofobik bir vitamindir. Başlıca böbrek, ince bağırsak ve kemik üzerine etki ederek, vücutta kalsiyum (Ca^{+2}) dengesini sağlar (Gupta ve ark. 2011). Yakın zamanda yapılan birçok çalışmada 30 kadar değişik hücre ve dokuda D vitamini reseptörlerinin (VDR) varlığı gösterilmiş ve bu reseptörler üzerinden D vitamininin hücre farklılaşmasından renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin baskılanmasına kadar çok farklı görevi olduğu anlaşılmıştır (Pfeifer ve ark. 2002). Devam eden birçok çalışmada maligniteler ile vitamin D ve VDR ile olan ilişkiler araştırılmaktadır. D vitamininin giderek artan önemine karşın günümüzde çok çeşitli faktörlere bağlı olarak D vitamini eksikliği bir pandemiye dönüşmüştür (Holick ve ark. 2011). Subklinik vitamin D eksikliği ve yetersizliği ise birçok coğrafi bölgede her yaş grubunda erkeklerin ve kadınların büyük bir kısmını etkilemektedir. Bu durum güneş ışığından yetersiz faydalanma ile birlikte yetersiz Ca^{+2} içeren diyet ile beslenmenin bir sonucu olarak da oluşmaktadır (Kaehler ve ark. 2012). Yine aşırı kapalı giyinme, hava kirliliği ve çarpık kentleşme gibi sebepler de güneş maruziyetini azaltmaktadır. 2006 yılında ülkemizden de katılımın olduğu uluslararası bir çalışmada osteoporozu olan 150 postmenopozal kadında D vitamini eksikliği taranmış ve sınır 30 ng/mL olarak alındığında kadınların % 76,7'sinde eksiklik bulunmuştur (Lips 2006).

Vitamin D ve VDR ile alakalı hastalıklardan belki de en önemlisi osteoporoz (OP) dur. Kemik yoğunluğu üzerine birçok çevresel faktörün etkili olmasının yanında kemik kütlesi bakımından insanlar arasındaki farklılıkların önemli bir bölümünün genetik kaynaklı olduğu sanılmaktadır (Felsenberg ve ark. 2002; Johnell ve ark. 2006; Holick 2007a; Baim ve ark. 2008).

Osteoporotik kırık riskiyle en çok ilgili olduğu düşünülen genler vitamin D reseptör (VDR) geni ve östrojen reseptör (ESR) genidir. VDR genlerinden TaqI ve BsmI OP ile en sık ilişkilendirilen polimorfizmlerdir (Chen ve ark. 1999; Cohn ve ark. 1999; Falahati-Nini ve ark. 2000; Bustamante ve ark. 2007).

Bugüne kadar VDR BsmI polimorfizmi ile ilgili farklı hastalıklarda birçok çalışma yapılmıştır. Osteoporotik grupların alındığı birçok çalışma postmenopozal kadınlarda

yapılmakla birlikte son zamanlarda erkek osteoporozu üzerine de yapılan az sayıda da olsa çalışmalar görülmektedir. Daha önce bölgemizde yapılmamış olan çalışmamızda 18-70 yaş aralığında kadın ve erkekleri içeren osteoporotik ve osteoporotik olmayan gruplarda VDR BsmI polimorfizmi sıklığını ve bu polimorfizmlerin vitamin D düzeyi ile olan ilişkisini, vitamin D düzeyinin bölgemizde ne durumda olduğunu saptamayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. D Vitamini

Vitamin D Ca^{+2} ve fosfor (P) metabolizmasını kemik, bağırsak, böbrek ve paratiroid bezler üzerine gösterdiği fizyolojik etkilerle düzenler. Sağlıklı kemik gelişimine ek olarak, birçok kanser tipinin, otoimmün, kardiyovasküler ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde D vitaminine ihtiyaç duyulduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. D vitamini yetersizliği çocuklarda raşitizme, erişkinlerde ise ağırlı bir kemik hastalığı olan osteomalaziye neden olurken bunun yanında OP'un gelişmesini kolaylaştırıp seyrini kötüleştirir (Holick 2004).

2.1.1. D Vitamini Fizyopatolojisi

Vitamin D3 (kolekalsiferol) ve vitamin D2 (ergokalsiferol) D vitamininin doğada bulunan iki formudur. Deride UV-B ışınların etkisiyle 7-dehidrokolesterolden sentezlenen vitamin D3 insanlar için ana kaynaktır. Çünkü çok az besin D vitamini içermektedir. Özellikle ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarında gündüz saat 10:00 ile 15:00 arasında direkt güneş ışınlarının etkisiyle ciltte vitamin D3 sentezi gerçekleşir. D vitamini içeren başlıca gıdalar uskumru ve somon gibi yağlı balıklar, balık yağları, yumurta ve mantardır (Bandeira ve ark. 2006; Holick 2007b). Metabolizma olarak vitamin D2 ve D3 birbirine benzerdir. Ancak yapılan çalışmalarda vitamin D seviyelerini arttırma ve idame ettirmede vitamin D3'ün D2'ye göre % 87 daha potent olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (Heaney ve ark. 2011).

İnsan gereksiniminin % 90-95'ini güneş ışınları ile oluşan vitamin D3 tarafından karşılanır. Deriden sentezlenen ve gıdalarla alınan D3 ve D2 vitaminleri karaciğerde 25-hidroksi vitamin D3 [$25(OH)D_3$] ve 25-hidroksi vitamin D2'ye [$25(OH)D_2$] dönüştürülür. Karaciğerde sentezlenen 25(OH)D vitamini D vitamini bağlayan proteine (DBP) bağlanarak böbreğe taşınır. DBP-25(OH)D vitamin kompleksi renal tubul hücrelerine girer ve burada serbest kalan 25(OH)D vitamini mitokondride sitokrom P450 enzim sistemi eşliğinde 1- α -hidroksilaz enzimi ile aktif D vitamini olan 1-25(OH) $_2$ D'ye dönüştürülür. Eğer 1-25(OH) $_2$ D yeterli ise 25(OH)D'nin bir kısmı 24-25(OH)D'ye dönüştürülür. 24-25(OH)D daha az aktiftir ve katabolize edilir. DBP 25(OH)D, 1-25(OH) $_2$ D ve 24-25(OH)D metabolitlerine yüksek afinite ile bağlanır ve aminoasit yapısı olarak albumine benzer (Dursun 2007).

Aktif D vitamini, kanda DBP ile taşınır ve hedef organlarda etkilerini VDR'ye bağlanarak gösterir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda en iyi bilinen hedef organlar olan böbrekler, bağırsaklar ve kemiklerin yanında iskelet kasında, düz kasta, kalp kasında, tiroid ve paratiroid bezlerinde, beyinde, akciğerde, karaciğerde, kolonda, prostatta, deride, gonad ve immun sistem hücrelerinde de VDR varlığı gösterilmiştir (Pfeifer ve ark. 2002).

Plazma P ve Ca²⁺ iyon seviyesiyle D vitamini oluşumu sıkı şekilde denetlenir. Düşük plazma fosfatı ile doğrudan, paratiroid hormon (PTH) salınımını tetikleyen düşük plazma Ca²⁺u ile dolaylı olarak 25(OH)D₃ 1-hidroksilaz aktivitesinde yükselme olur (Champe ve ark. 2007).

D vitamini eksikliği yapım ya da alım azlığına, aşırı D vitamini kaybına, azalmış 25-hidroksilasyona, azalmış 1α-hidroksilasyona ya da hedef organ direncine bağlı olabilir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 D vitamini etkisinin yetersiz olma nedenleri (Kasper LD , Fauci AS,Braunwald E, Harrison's Principles of Internal Medicine 16. basımdan uyarlanmıştır).

D vitamini Eksikliği Ciltte yapım azalması Diyette yetersiz alım Malabsorbsiyon	Azalmış 1 α-hidroksilasyon Hipoparatiroidizm Böbrek yetmezliği Ketokonazol kullanımı 1 α-hidroksilaz mutasyonu Onkojenik osteomalazi X'e bağlı hipofosfatemik rikets
D vitamininin artmış kaybı Metabolizma artışı (barbituratlar, fenitoin, rifampin) Enterohepatik dolaşımın bozulması	
Azalmış 25 hidroksilasyon Karaciğer hastalığı	Hedef organ direnci D vitamini reseptör mutasyonu

D vitamini sentezi deride yaşlanmayla 7-dehidrokolesterol miktarının azalmasına bağlı olarak azalır (MacLaughlin ve ark. 1985). Deride pigment fazlalığı da D vitamini sentezini negatif yönde etkilemektedir (Lips 2001).

Kan Ca²⁺ seviyesi D vitamini eksikliğinde azalır ve buna bağlı olarak sekonder hiperparatiroidizm gelişir. Osteoklastik aktivite artar, KMY'de azalma, osteopeni ve OP gelişir. Ayrıca yine sekonder hiperparatiroidiye bağlı olarak fosfatürinin artması sonucunda serum P seviyesi azalır. Kan Ca²⁺ ve P ilişkisindeki bu bozulma sonucunda kemik mineralizasyonu azalır ve çocuklarda raşitizm, erişkinlerde osteomalazi gelişir (Bischoff-Ferrari ve ark. 2006).

2.1.2. D Vitamini Eksikliği

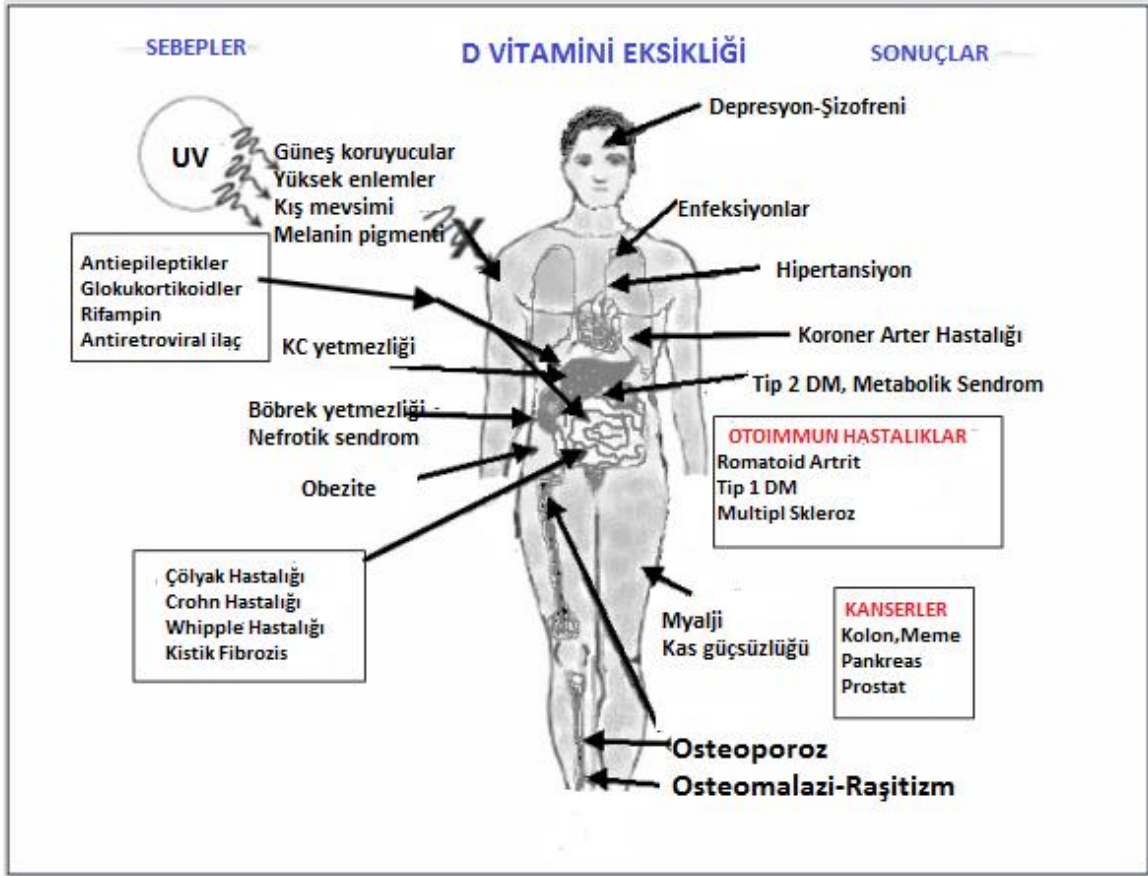
D vitamininin aktif formu olan 1,25 dihidroksi vitamin D'nin yarı ömrü 4-6 saat iken 25-OH D'nin yarı ömrünün yaklaşık 2-3 hafta olmasından dolayı D vitamini seviyesini ölçmek için genelde serum 25-OH D ölçümü yapılır (Mallah ve ark. 2011; Nanri ve ark. 2011; Vu ve ark. 2011). D vitamininin yeterli olduğu seviye halen tartışma konusu olmakla birlikte birçok sistem üzerindeki fizyolojik etkileri düşünüldüğünde ve eksikliğinde oluşan patolojik durumların önlenmesi için gereken kritik değerler incelendiğinde günümüzde yeterlilik sınırı 30 ng/mL olarak belirlenmiştir (Holick 2008; Dong ve ark. 2010). Tablo 2.2'de vitamin D düzey ve yorumları verilmiştir.

D vitamini düzeyi	Yorumlama
≥30 ng/mL	D vitamini eksikliği olmayan / Yeterlilik
20-29 ng/mL	Hafif dereceli D vitamini eksikliği / Yetersizlik
10-19 ng/mL	Orta dereceli D vitamini eksikliği / Eksiklik
0-9 ng/mL	Ağır D vitamini eksikliği / Eksiklik
>150 ng/mL	İntoksikasyon

Tablo 2.2 D vitamini düzey ve yorumları (Lee ve ark. 2008).

Bu tanımlamalara göre bugün dünyadaki tüm popülasyonun % 30-50'sinde; Avrupa, Amerika ve Kanada'daki erişkin erkek ve kadınların ise % 20-100'ünde D vitamini eksikliği olduğu düşünülmektedir (Bischoff-Ferrari ve ark. 2006).

D vitamini eksikliği nedenleri ve sonuçları şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 D vitamini eksikliği nedenleri ve sonuçları

2.2. Osteoporoz

OP kemik kütlesinde azalma ve kemik dokusunun mikromimarisinde bozulma ile karakterli, kemik kırılabilirliğinde ve kırık riskinde artışa yol açan, her iki cinsiyeti de etkileyen, en sık görülen sistemik bir iskelet hastalığıdır (Duman ve ark. 2004; Ebeling 2008; Kanis ve ark. 2008). Tip 1 (postmenopozal) ve tip 2 (senil) olarak iki grupta incelenebilir. Tanıda en çok Dual Enerji X-ray Absorbsiyometri (DEXA) kullanılır. DEXA'nın değerlendirilmesi T ve Z skorlarına göre yapılır. T skoru kişinin KMY değerinin genç popülasyona göre standart deviasyonu iken Z skoru ise kişinin KMY değerinin kendi yaş grubuna göre standart deviasyonudur. T skoru postmenopozal OP tanısı için kullanılırken Z skoru ise sekonder OP'da önem kazanmaktadır (Bandeira ve ark. 2010). Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre değerlendirmede T skoru >-1 ise normal, $-2,5$ ile -1 arasındaysa osteopeni, $\leq -2,5$ ise OP ve $\leq -2,5$ ve beraberinde fragilite kırığı varsa ciddi OP olarak tanımlanır.

2.2.1. OP ve Genetik

OP hormonal, çevresel, yaşam şekli (sigara içilmesi, fiziksel egzersizler gibi) ve beslenme faktörlerinin (kalsiyum alımı, alkol tüketimi) etkisi altındaki genetik faktörlerin rol aldığı multifaktoriyel bir hastalıktır. KMY üzerine birçok çevresel faktör etkili olmaktadır ancak insanlar arasında görülen farklılıkların % 50-80'i genetik sebeptir.

OP'un oluşmasına sebep olan birçok gen bulunmuştur. Bazı genlerin KMY üzerine etkisi oldukça fazla, bazılarının etkisi ise oldukça azdır, bunlar major ve minor genler olarak adlandırılır. OP etyolojisinde aday genler olarak kalsitropik hormonlar ve reseptörleri (vitamin D ve reseptörü, kalsitonin ve reseptörü, PTH ve reseptörü, Ca^{+2} reseptörü), adezyon molekülleri (integrin gibi) ve ligandları, kemik matriks proteinleri (kollajenik veya kollajenik olmayan), bazı sitokinler, büyüme faktörleri ve reseptörleri (IL-6, IL-1, IGF-I gibi), bazı enzimler (aromataz, metalloproteinaz vb), cinsiyet hormonları ve reseptörleri (östrojen ve androjen) sayılabilir (Rizzoli ve ark. 2001).

OP benzeri karmaşık hastalıkların patogenezinde rol alan genleri belirlemek için ikiz çalışmaları, çok nesilli geniş ailelerde linkage analizi, kardeşler arasında (sib-pair) allel paylaşım yöntemi, akraba olmayan insanlarda assosiyasyon çalışmaları ve hayvanlarda çaprazlama deneyleri gibi çok değişik yöntemler kullanılabilmektedir. Ancak polimorfizm araştırmak bugün için daha kolay ve hızlı bir yöntemdir. OP'a sebep olan genetik çeşitliliğe ait bilgilerin çoğu aday genlerle KMY çalışmalarından tespit edilmektedir. Yapılan bu çalışmaları değerlendiren metaanalizlerde VDR, ESR, tip 1 kollajen alfa A1 zinciri geni (Col1A1) ve İnterlökin 6 (IL-6) geninin allelik varyasyonları ile KMY ve/veya kırıklar arasında önemli bağlantıların olduğu tespit edilmiştir. Col1A1 haricindeki dört gen pleiotropik etkili olup bazı yayınlarda OP'tan başka yaşlanmaya bağlı gelişen bazı hastalıklarla, meme kanseri ve kolorektal kanserle de ilişkili olduğu gösterilmiştir (Aerssens ve ark. 2000; Bulca 2010).

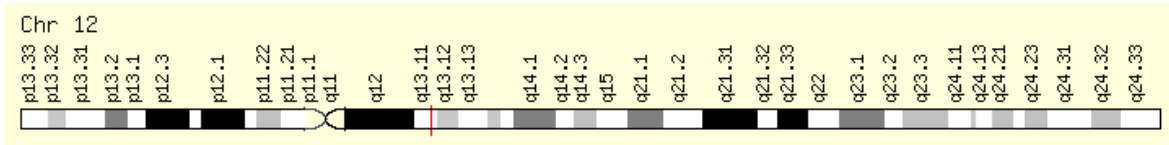
2.3. İdrar Kalsiyum Atılımı

İdrarda 24 saatte 4 mg/kg/gün üzerinde Ca^{+2} atılması hiperkalsiüri olarak tanımlanır (Ghazali ve ark. 1974). 24 saatlik idrar toplamada yaşanan zorluklar nedeni ile son zamanlarda pratik bir yöntem olan spot idrarda Ca^{+2} / kreatinin oranına bakılmaktadır. Normal erişkin insanlarda bu oran > 0,14 'ten küçüktür. Bu miktarın artması hiperkalsiüri olarak tanımlanır (Murray 1993). Çocuklarda bu oran > 0,20 olarak değerlendirilmelidir (Akgün C ve ark. 2010). Hiperkalsiüri endokrin, renal ve kemik hastalıkları neticesinde

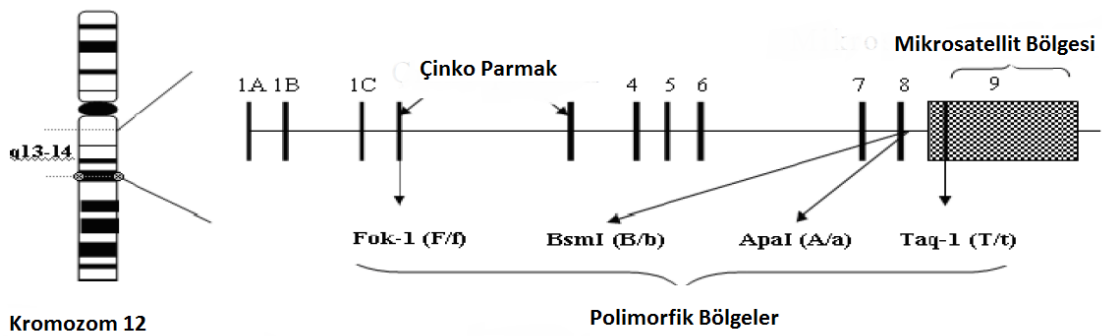
gelişebilir (Audran ve ark. 2000). Bazı çalışmalarda idiopatik hiperkalsiürde KMY'de azalma olduğu gösterilmiştir (Fuss ve ark. 1983; Pacifici ve ark. 1990; Caudarella ve ark. 2003).

2.4. Vitamin D Reseptörü (VDR) ve Polimorfizmleri

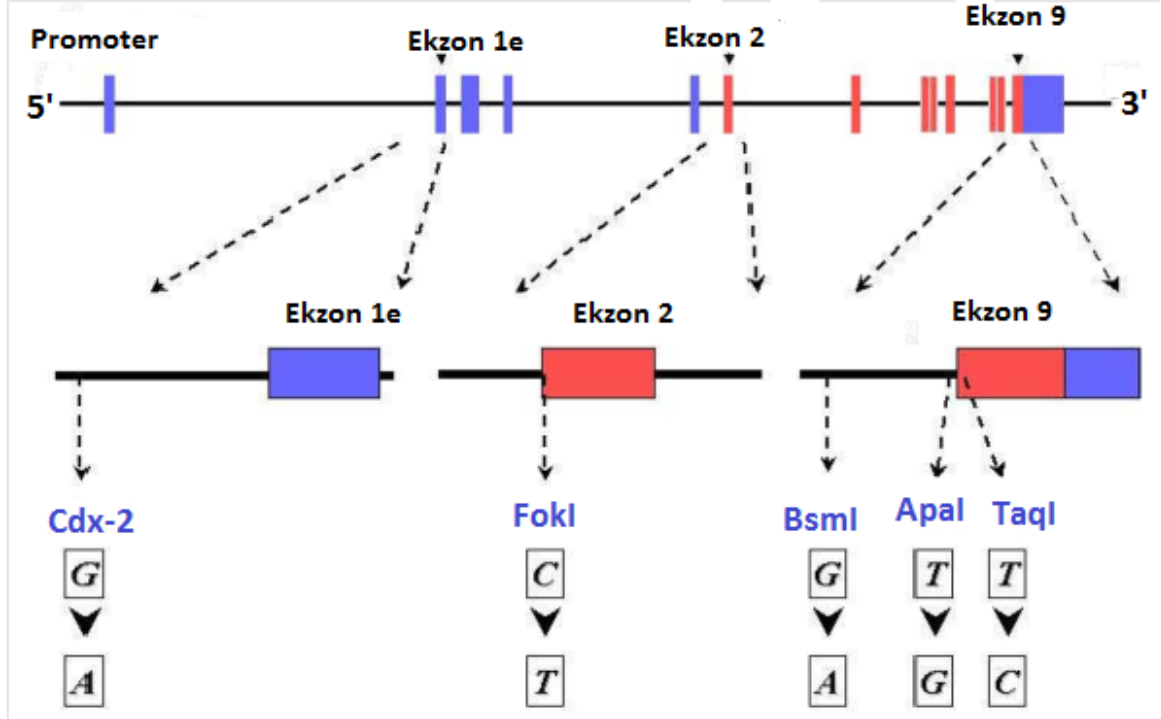
Vitamin D reseptörü androjen, östrojen, progesteron ve glukokortikoid reseptörü gibi Tip 1 Nükleer Reseptör ailesindedir. Yapısal ve işleyiş olarak büyük benzerlikler gösterirler. Kemik yoğunluğu, yapım ve yıkım siklusu genetik kontrol altında olup birtakım genlerde olan polimorfizmler kişisel kemik yoğunluğunun en önemli belirleyicisi olmaktadır. Bu polimorfik genlerden ilk tanımlanan VDR genidir. VDR geni 12q12-14 de tespit edilmiş ve 75 kb uzunluğundadır. Gen 11 eksondan oluşmakta ve 1A, 1B, 1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlamaktadır. Diğer 8 ekzon ise gen ürünü olan proteini kodlamaktadır (Duman ve ark. 2004). Bu polimorfizmlerden BsmI (intron 8), ApaI (intron 8) ve TaqI (ekzon 9) VDR geninin 3' ucunda tanımlanmıştır (Faraco ve ark. 1989; Morrison ve ark. 1994). Diğer polimorfik bölge başlangıç kodonunda bulunur ve FokI (ekzon 2) olarak adlandırılır (Gross ve ark. 1996). VDR geni OP'a ilişkin aday genlerden kemik kütlesi üzerinde etkili olduğu bulunan ilk genidir. VDR geninin KMY ile ilgili bireyler arasındaki değişikliklerin % 75'inden sorumlu olduğu gösterilmiştir (Malloy ve ark. 1999).



Şekil 2.2 VDR geni sitogenetik lokusu (www.genecards.org adresinden alınmıştır).



Şekil 2.3 VDR geni intron, ekzon ve polimorfizmlerin bölgeleri (www.endotext.org adresinden Türkçe'leştirilerek alınmıştır).



Şekil 2.4 VDR gen yapısı-www.genomos.eu/genes.html' den alınmıştır.

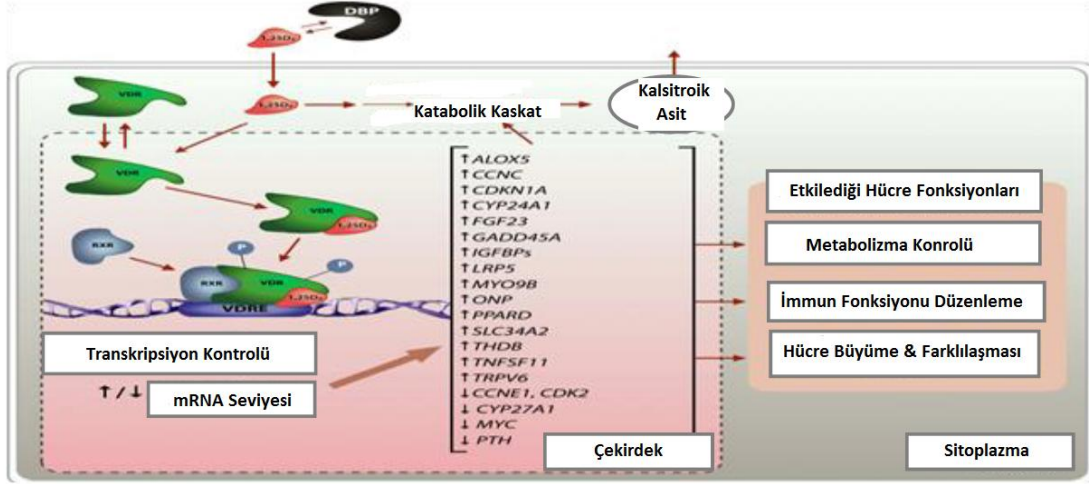
Her bir endonükleaz için kesim alanının olması enzimin ilk harfinin küçüğü ile (t, a, b, veya f), kesim bölgesinin olmaması da büyük harfleri (T, A, B veya F) ile gösterilmektedir. Kesim durumuna göre kişilerin genotipleri homozigot olanlar için için tt, aa, bb, ff veya TT, AA, BB, FF olurken heterozigot olanlar için Tt, Aa, Bb ve Ff olur.

Genin 3' ucundaki 3 kesim noktasının oluşturduğu TaqI, ApaI ve BsmI polimorfizmine ait alleler bağlı alleller olup örneğin t allelinin varlığı diğer ikisinin de (a, b) olduğuna veya A ve B allellerinin yokluğuna işaret etmektedir (Gennari ve ark. 2002; Bulca 2010).

Çekirdekte bulunan VDR vitamin D'nin genomik etkilerine, sitoplazma zarında bulunan VDR ise genomik olmayan etkilerine sebep olur. VDR gastrointestinal sistem, böbrek, kemik, beyin, mide, kalp, pankreas, cilt, aktif T ve B lenfositler, overler, meme ve prostat dokusu gibi birçok farklı dokuda saptansa da bütün dokulardaki dağılımı simetrik değildir, en fazla paratiroid bezinde bulunmaktadır (Walters 1992; Uyanık 2012).

VDR'nin önemli hedef genleri arasında osteokalsin, osteopontin, beta 3-integrin, renin ve vitamin D 24-hidroksilaz yer alır ve bu genler osteoblastik diferansiyasyon ve maturasyonda önemli görevler alır. VDR geninin vitamin D bağlayan bölgesini kodlayan DNA dizisinde mutasyon varlığında vitamin D reseptörüne bağlanamaz ve vitamin D'ye

dirençli rikets oluşur. Kemik dokusu VDR etkisi olmadan mineralize olamaz ve terminal olgunlaşması tamamlanamaz (Uyanık 2012).



Şekil 2.5 VDR'nin hedef genleri

Sistemik kan dolaşımında DBP'ye bağlı olan D vitamini hücre zarını geçerek sitoplazmaya ulaştıktan sonra sitoplazmadaki serbest VDR'ye bağlanır ya da 24 hidroksilaz ile inaktive edilir. 200'den fazla genin ekspresyonunu değiştirip hücre metabolizmayı, farklılaşmayı ve hücre büyümesini etkiler. Yapılan çalışmalarda 220 genin up-regülasyon, 80 genin de down-regülasyona uğradığı görülmüştür (Kawata ve ark. 2006). Dokulardaki bu yaygın ekspresyonu ve etkilerinden dolayı kanser, otoimmün ve alerjik hastalıklar, diyabet, kemik hastalıkları, boy uzunluğu ve kısalığı, obezite, tiroid hastalıkları ve daha birçok hastalıkla ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır (Valdivielso ve ark. 2006).

2.4.1. VDR BsmI Polimorfizmi

VDR'nin bilinen polimorfizmleri Apal, FokI, TagI ve BsmI iken BsmI VDR ile ilgili olarak ilk saptanan ve hakkında en çok çalışma yapılan polimorfizmdir. VDR'nin etkileri çok yaygın olduğu için kanser çeşitlerinden immunolojik ve romatolojik hastalıklara, obeziteden tuberküloz ve OP'a yatkınlığa kadar birçok hastalıkla ilişkisi araştırılmıştır (McKay ve ark. 2009) . Yapılan bir çalışmada akciğer kanseri için TaqI polimorfizmi risk olarak gösterilirken BsmI ve Apal polimorfizmlerinde bu ilişki gösterilememiştir (Dogan ve ark. 2009). 2010 yılında yapılan bir çalışmada ise BsmI polimorfizminin gençlerde görülen idyopatik skolyoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Suh ve ark. 2010). Kemik dokusunun önemli genetik belirleyicilerinden olan VDR genindeki polimorfizmlerin vitamin D mekanizmasının işlevselliğini bozarak osteopeniye neden olabileceği düşünülmüş ve KMY

ile VDR polimorfizmlerinin ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmış fakat birbiriyle çelişkili sonuçlar bulunmuştur (Houston ve ark. 1996; Ames ve ark. 1999; Ferrari ve ark. 1999; Lorentzon ve ark. 2001; Laaksonen ve ark. 2004; Uysal ve ark. 2008).

Bsml üzerinde Morrison ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada VDR Bsml BB alleli ile düşük KMY arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (Morrison ve ark. 1994). Meksika kökenli kız çocuklarında ABD’de yapılan başka bir çalışmada bb genotipli çocukların, BB genotiplilere göre % 2-3 daha fazla KMY değerine sahip oldukları gösterilmiştir (Sainz ve ark. 1997). 2001 yılında Çin’de yapılan çalışmada Morrison ve arkadaşlarının sonuçlarına benzer veriler elde edilmiş ve BB alleli taşıyan kişilerin OP açısından daha riskli oldukları rapor edilmiştir (Chen ve ark. 2001). 2006 yılında Hindistan’da postmenopozal kadınlarda VDR polimorfizmi ile KMY arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmada bb alleli taşıyan kişilerin KMY değerlerinin BB allelini taşıyan kişilere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Mitra ve ark. 2006). Uzun süre antiepileptik tedavi alan premenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada B allelinin varlığının düşük KMD ile ilişkili olduğu görülmüştür (Lambrinoudaki ve ark. 2011). 0-6 yaş aralığında Çin’de yapılan başka bir çalışmada da Bb genotip varlığı düşük KMY ile ilişkilendirilmiştir (Yu ve ark. 2011). Morrison ve arkadaşlarının verilerinin tam tersini söyleyen çalışmalar da daha sonra yayınlanmıştır. Lim ve ark. tarafından Kore’de 1995 yılında yapılan bir çalışmada OP hastalarında hiç BB genotipi saptanmamıştır (Lim ve ark. 1995). Houston ve ark. tarafından İskoçya’da yapılan çalışmada BB genotipli kişilerin bb genotiplilere göre daha yüksek femur boynu KMY’sine sahip oldukları gösterilmiştir (Houston ve ark. 1996). Arjantinli postmenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada bb genotipli bireylerde daha düşük KMY değerleri bulunmuştur (Perez ve ark. 2008). Yine 2003 yılında Malta’lı postmenopozal kadınları kapsayan çalışmada Bsml ile KMY arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamamıştır (Vidal ve ark. 2003). Avrupa’da değişik ülkelerden 26.000 kişi ile yapılan çok merkezli bir çalışmada da VDR polimorfizmleri ile KMY arasında ilişki gösterilememiştir (Uitterlinden ve ark. 2006).

Ülkemizde osteoporotik ve osteoporotik olmayan postmenopozal toplam 100 kadın ile 2010 yılında yapılan çalışmada osteoporotik grupta Bb genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış ve Bb genotipi OP ile ilişkili bulunmuştur (Durusu Tanriover ve ark. 2010). Ancak yine ülkemizde yapılan başka iki çalışmada Bsml polimorfizminin KMY ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (Kahraman ve ark. 2004; Uysal ve ark. 2008). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da dünyadakilere uyar tarzda farklı sonuçlar bulunmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastaların Seçimi

Çalışmamıza Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'ne (NEÜMTFH) başvurmuş ve ilgili klinik veya poliklinikten KMY ölçümü istenmiş; 18-70 yaş aralığında 200 kişi alındı. Gruplar DEXA sonucu normal 100 kişi ve DEXA sonucu osteoporotik olan 100 kişiden oluşturuldu. Kadın-erkek ayrımı yapılmadı. Bu kişilere çalışma hakkında bilgi verildi ve aydınlatılmış onam formları alındı. Çalışmaya kronik böbrek yetmezliği ve malign hastalığı olanlar, 18-70 yaş aralığında olmayanlar, KMY'yi etkileyen hastalığı veya ilaç kullanımı olanlar alınmadı.

Çalışmaya dahil edilen kişilere kullandıkları ilaçlar, hastalıkları, ailede OP öyküsü, giyim tarzı, sigara içimi, alkol kullanımı, egzersiz ve yürüyüş yapıp yapmadıkları ve yapıyorlarsa günlük süresi, eğitim durumları, ortalama günlük kalsiyumlu gıda alım miktarı, günlük ne kadar güneşe maruz kaldıkları, kadın hastalara menopoz durumları ve menopoza girmişlerse ne kadar süre geçtiği gibi sorular soruldu ve kaydedildi (Tablo 2.3).

AD-SOYAD :	DOSYA NO :
CİNSİYET :	YAŞ :
BOY :	KİLO :
BKİ :	GİYİM TARZI (yüz-el-kollar açık mı, yazın bacaklar açık mı vs) :
GÜNEŞ MARUZİYETİ (DK) :	YÜRÜYÜŞ VE EGZERSİZ (DK) :
EĞİTİM DURUMU :	MENOPOZ DURUMU VE SÜRESİ (KADINLAR İÇİN) :
SİGARA :	ALKOL :
AİLEDE OP ÖYKÜSÜ :	GÜNLÜK CA ⁺² ALIMI :
EK HASTALIKLAR :	
KULLANDIKLARI İLAÇLAR (antihipertansif, antidiyabetik, heparin, antiepileptik , steroid vs.) :	

Tablo 2.3 Deneklere sorulan sorular

3.2. Laboratuvar Testleri

Çalışma grubundan Ca^{+2} , P, alkalen fosfataz (ALP) , vitamin D, spot idrar Ca^{+2} ve kreatinin için örnekler alındı ve NEÜMTFH Biyokimya laboratuvarında aşağıdaki yöntemlerle çalışıldı.

- *Kalsiyum*: Arsenazo III boyası kullanılarak kolorimetrik yöntemle Abboth Architech[®] cihazında;
- *Fosfor*: Fosfomolibdat III boyası kullanılarak kolorimetrik yöntemle Abboth Architech[®] cihazında;
- *Alkalen Fosfataz*: Para-nitrofenil fosfat boyası kullanılarak spektrofotometrik yöntemle Abboth Architech[®] cihazında;
- *Spot idrar kalsiyum*: Arsenazo III boyası kullanılarak kolorimetrik yöntemle Abboth Architech[®] cihazında;
- *Spot idrar kreatinin*: Kinetik alkalen pikrat boyası kullanılarak kolorimetrik yöntemle Abboth Architech[®] cihazında;
- *Vitamin D*: Zivak[®] cihazında Tandem MS yöntemiyle çalışılmıştır.

3.3. Kemik Dansitometresi

NEÜMTFH Nükleer Tıp ABD'da GE/LUNAR DPX DANSİTOMETRİ[®] cihazında DEXA'ları ölçülmüş, sonuçları DSÖ kriterlerine (T veya Z skoru ≤ -2.5 olan kişiler=OP, > -1 olanlar=normal) göre değerlendirilmiş 100 tane normal ve 100 tane osteoporotik kişi çalışmaya kabul edildi.

3.4. Genetik Analiz

3.4.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu; doku örnekleri veya periferik kandaki hücre membran ve çekirdeklerinin bazı kimyasal maddeler ve enzimler yardımıyla parçalanıp, çekirdek DNA'sının ortaya çıkarılması ve hücrenin diğer elamanlarından ayrılarak saf bir şekilde DNA elde edilmesi işlemidir. Çalışmamız için hastalardan EDTA'lı tüpe 2 cc periferik kan alındı, örnekler çalışılana kadar $-20^{\circ}C$ 'de saklandı.

→ İzolasyonun son aşamasında kullanılmak üzere herbir hasta için 200 μ l miktarında ayarlanan Elution buffer (10nM Tris-HCL) $70^{\circ}C$ 'de inkübatöre alındı.

→ Homojenize olan kandan 200 μ l vidalı ependrof tüplerine aktarıldı.

→ 200 μ l Binding buffer (6M guanidine-HCL, 10,mM urea, 10mM Tris-HCL, % 20 Triton X-100), 40 μ l Preteinase K eklenerek pipetaj yapıldı.

- İnkübatörde 70 °C'de 10 dk. bekletildi.
- 100 µl izopropanol eklenerek pipetaj yapıldı.
- Filtreli tüplere aktarılarak 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant kısmı atıldıktan sonra 500 µl inhibitör Removal buffer (5 M guanidine-HCL, 20 mM Tris-HCL) eklendi.
- 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildikten sonra 500 µl Wash buffer ilave edildi.
- Aynı işlem bir kez daha tekrarlandı.
- 13000 rpm'de 10 sn santrifüj edildi, yeni ependroflara filtreli kısım aktarıldı.
- 70 °C'de bekletilen 200 µl elution buffer katıldı.
- 8000 rpm'de filtreli ependroflar 1 dk daha santrifüj edildi ve filtre kısmı atıldı.
- DNA varlığını kontrol etmek için agaroz jelde yürütüldü.
- Kaliteli bant varlığı bulunan DNA'lar Polimeraz Zincir Reaksiyonu yapılmak üzere -20 °C'de saklandı.

3.4.2. Real Time PCR

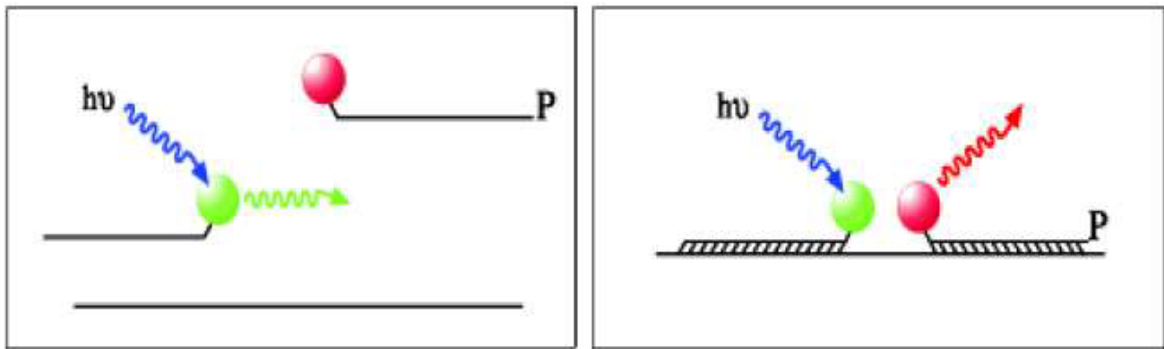
Nükleik asitlerin in-vitro olarak eş zamanlı çoğaltılması işlemidir. Yakın zamanda polimeraz zincir reaksiyonlarında (PCR) kullanılan cihazların hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi sonucunda, *real-time PCR* ismiyle yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Böylece *real-time PCR*'da DNA'nın çoğaltımını ve ürünlerini tek bir tüpte belirlemek mümkün olmuştur. Daha hassas, hızlı, verimli ve tekrarlanabilir olan bu yöntemde kapalı sistem kullanıldığı için kontaminasyon riski de düşüktür. Bu üstün özelliklerinden dolayı çalışmamızda *Real Time PCR* tekniği kullanılmıştır.

Bu yöntemde ana mekanizma, nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalinin ölçülmesiyle kısa sürede, kantitatif verilerin elde edilmesidir. Bugün laboratuvarlarda kullanılan çeşitli *Real-time PCR* cihazları vardır, bunlar birbirlerinden kanal sayıları, kapasiteleri, hızları, eksitasyon-emisyon dalga boylarındaki farklılıklarıyla ayrılırlar. Ticari olarak piyasada bulunanlar arasında M x 3005p , "Stratagene M x 3000p, M x 4000", "Rotor- Gene", "Applied Biosystems 7300 ve 7500", "LightCycler" "Chromo4", "Smart Cycler" en fazla tercih edilenlerdir. Çalışmamızda Roche Diagnostik *LightCycler 480®* sistemi kullanılmıştır.

LightCycler (LC) yönteminde, *Real-time PCR* ürünlerinin kantitatif ve kalitatif değerlendirilmesinde, diziye özgün problardan ya da diziye özgün olmayan floresans boyalardan faydalanılmaktadır. "*Cyber Green I*" en fazla kullanılan boyadır. 497 nm dalga

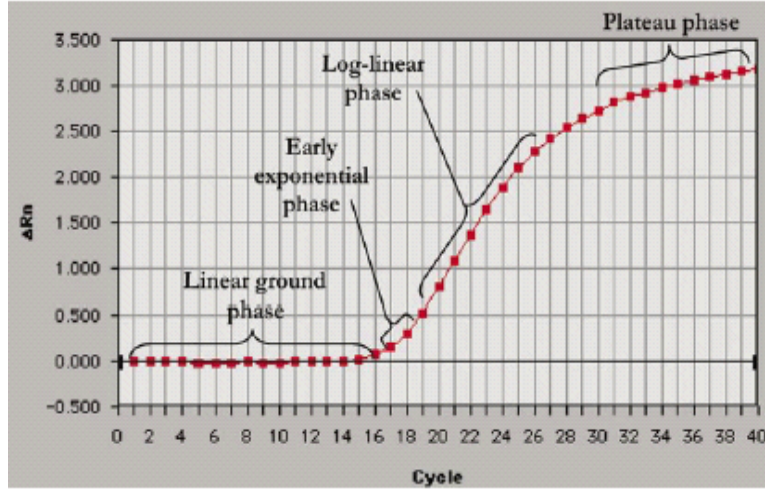
boyunda yükseltgenip 520 nm dalga boyunda indirgenir. Bu yöntemde çok sayıda hedef genin çoğaltılması sağlanabilir aynı zamanda floresans işaretli problar kullanılmadığı için maliyeti de ucuzdur. Çalışmamızda da “hibridizasyon” prob sistemini içeren kit kullanılmıştır.

LightCycler hibridizasyon prob sisteminde, iki farklı prob, primerler arasındaki aynı ipliğin hibridizasyonu için tasarlanmıştır. 3' ucunda floresans işaretli boya (donor), 5' ucunda ise alıcı boya (acceptor) bulunmaktadır. PCR reaksiyonu sırasında bu iki prob hedef nükleik asit dizisine bağlanıp birbirine yaklaştığında bir enerji yayılımı olur. Enerji “donor” boyadan “acceptor” boyaya transfer olur. Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) olarak adlandırılan bu enerji transferi sonucunda oluşan floresans miktarı, PZR siklusu boyunca oluşan ürün miktarı ile doğru orantılı olarak artar (Chaplin BE ve ark. 1999; Sticchi ve ark. 2004).



Şekil 3.1 Hibridizasyon prob yöntemi (Wittwer ve ark. 1997).

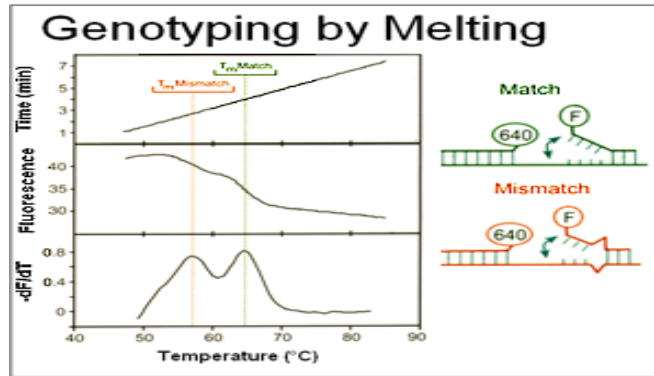
Floresan miktarı her döngü boyunca kaydedilerek DNA kuantifikasyonu yapılır. İşlem 4 fazda değerlendirilir. *Linear ground faz* hazırlık basamağıdır. Bu fazda, sinyal alımında hata olup olmadığı kontrol edilir. *Exponential fazda*, reaksiyon etkinliği % 100'dür ve PCR döngüsü boyunca ürün miktarı iki kat artar. *Log linear fazda* ise, reaksiyon yavaşlar ve bileşenler tükenmeye başlar. Son basamak olan *Plateau fazında* da, reaksiyon sonlanır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Floresan miktarı

(http://www.rockeappliedscience.com/sis/geneknockdown/images/application_data/eg5_realtime_pcr.jpg 'den alınmıştır).

PCR amplifikasyonundan sonra “*melting curve*” (erime eğrisi) analizi yapıлып bulunan sonuçlar değerlendirilir. Bu değerlendirmede, çift sarmal yapıda bulunan her bir DNA'nın, % 50'sinin tek sarmal hale geçmesi için gereken sıcaklık değerinden faydalanılır. Bulunan bu değer *Erime noktası (melting curve-Tm)* olarak ifade edilir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Erime eğrisi analizi (http://dna.utah.edu/Image/Genotype/Melting_web.png 'den alınmıştır).

Erime noktası analizi için, amplifikasyonun bitmesiyle birlikte sıcaklık yavaş yavaş yükseltilerek floresans miktarı ölçülür. Zincirler birbirinden ayrılmaya başladığı anda sinyal aniden düşer. Bu aşamada ampikonun Tm değeri saptanır. Hedef ürünler kontrol DNA ile karşılaştırılıp bulunan sonuçlar değerlendirilir.

3.5. İstatiksel Analiz

Verilerin analizi ve istatistiksel yöntemlerin uygulanması için SPSS-15.0 istatistik paket programı (statistical package for social sciences) kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak veya yüzde olarak ifade edildi. Sonuçlar tablo ve grafikler halinde sunuldu. Gruplar arası değişkenlerin analizinde, istatistiksel olarak normal dağılımlarda Student's T-testi, normal dağılmayanlarda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin değerlendirilmesinde Ki-kare veya Fisher exact testi kullanıldı. Sürekli verilerin arasındaki ilişki için Pearson Korelasyonu yapıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma NEÜMTF Etik Kurulu'ndan 30.06.2011 tarih ve 2011/216 toplantı karar sayısı ile onay alınarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 168 kadın, 32 erkek toplam 200 kişi dahil edildi. Tüm popülasyon osteoporotik ve normal (kontrol grubu) olarak 100'er kişilik 2 gruba ayrıldı. OP halen erkeklerde yeterli düzeyde araştırılmadığı için erkek sayısı kadınlara göre oldukça azdı.

Çalışmaya katılan 200 kişinin yaş ortalaması 53.25 ± 12.74 yıl idi. Osteoporotik olan grupta yaş ortalaması 57.14 ± 12.61 yıl iken, kontrol grubunda yaş ortalaması 49.36 ± 11.69 yıl idi ($p < 0.05$). Osteoporotik grupta kadınların yaş ortalaması 58.91 ± 10.71 yıl, erkeklerin yaş ortalaması ise 47.81 ± 17.44 yıl idi ($p < 0.05$). Kontrol grubunda kadınların yaş ortalaması 49.53 ± 10.57 yıl, erkeklerin yaş ortalaması ise 48.43 ± 16.83 yıl olarak bulundu ($p > 0.05$).

Grup	Ortalama Yaş (yıl)	N	p
OP grubu	57.14 ± 12.61	100	0.000
Kontrol grubu	49.36 ± 11.69	100	
Tüm Popülasyon	53.25 ± 12.74	200	
Erkekler (kontrol grubu)	48.43 ± 16.83	16	0.733
Kadınlar (kontrol grubu)	49.53 ± 10.57	84	
Erkekler (OP grubu)	47.81 ± 17.44	16	0.001
Kadınlar (OP grubu)	58.91 ± 10.71	84	

Tablo 4.1 Gruplar arasında, tüm popülasyonda ve cinsiyetler arasında yaş ortalaması

Osteoporotik olan grupta kadın sayısı 84, erkek sayısı 16 idi. Kontrol grubunda da kadın sayısı 84, erkek sayısı 16 idi ($p > 0.05$).

Deneklerin boy, kilo ve beden kütle indeksleri (BKİ) değerlendirildiğinde; boy osteoporotik grupta 157.71 ± 12.10 cm, kontrol grubunda 161.85 ± 6.04 cm ($p < 0.05$), tüm erkeklerde 169.28 ± 7.20 cm, tüm kadınlarda 157.97 ± 9.13 cm ($p < 0.05$), osteoporotik erkeklerde 167.62 ± 8.18 cm, osteoporotik kadınlarda 155.82 ± 11.83 cm ($p < 0.05$), kontrol grubunda; erkeklerde 170.93 ± 5.85 cm, kadınlarda 160.11 ± 4.30 cm ($p < 0.05$) olarak bulundu. Gruplar arasındaki kilo karşılaştırılmasında osteoporotik grup 66.12 ± 13.59 kg, kontrol grubu 76.77 ± 14.14 kg ($p < 0.05$), tüm erkekler 70.62 ± 14.48 kg, tüm kadınlar 71.60 ± 14.93 kg ($p > 0.05$), kontrol grubunda; erkekler 78.18 ± 13.02 kg, kadınlar $76.50 \pm$

14.41 kg ($p>0.05$), OP grubunda; erkekler 63.06 ± 11.90 kg, kadınlar 66.70 ± 13.88 kg ($p>0.05$) olarak bulundu. BKİ OP grubunda 26.32 ± 5.39 kg/m², kontrol grubunda 29.38 ± 5.80 kg/m² ($p<0.05$), tüm erkeklerde 24.63 ± 4.73 kg/m², tüm kadınlarda 28.46 ± 5.78 kg/m² ($p<0.05$), osteoporotik erkeklerde 22.49 ± 4.14 kg/m², osteoporotik kadınlarda 27.05 ± 5.30 kg/m² ($p<0.05$), kontrol grubunda; kadınlarda 29.88 ± 5.92 kg/m², erkeklerde 26.78 ± 4.38 kg/m² ($p=0.05$) olarak bulundu (Tablo 4.2, 4.3, 4.4, 4.5).

	Boy (cm)	N	p
OP grubu	157.71 ± 12.10	100	<0.05
Kontrol grubu	161.85 ± 6.04	100	
Tüm kadınlar	157.97 ± 9.13	168	<0.05
Tüm erkekler	169.28 ± 7.20	32	

Tablo 4.2 Deneklerin boy açısından karşılaştırılması

	Kilo (kg)	N	p
OP grubu	66.12 ± 13.59	100	<0.05
Kontrol grubu	76.77 ± 14.14	100	
Tüm kadınlar	71.60 ± 14.93	168	>0.05
Tüm erkekler	70.62 ± 14.48	32	

Tablo 4.3 Deneklerin kilo açısından karşılaştırılması

	BKİ (kg/m ²)	N	p
OP grubu	26.32 ± 5.39	100	<0.05
Kontrol grubu	29.38 ± 5.80	100	
Tüm kadınlar	28.46 ± 5.78	168	<0.05
Tüm erkekler	24.63 ± 4.73	32	

Tablo 4.4 Deneklerin BKİ açısından karşılaştırılması

Kontrol grubu	Cinsiyet	N	Ortalama	Standart sapma	p
Yaş (yıl)	kadın	84	49,53	10,57	0.733
	erkek	16	48,43	16,83	
Boy (cm)	kadın	84	160,11	4,30	0.000
	erkek	16	170,93	5,85	
Kilo (kg)	kadın	84	76,50	14,41	0.665
	erkek	16	78,18	13,02	
BKİ (kg/m ²)	kadın	84	29,88	5,92	0.050
	erkek	16	26,78	4,38	
OP grubu					
Yaş (yıl)	kadın	84	58,91	10,71	0.001
	erkek	16	47,81	17,44	
Boy (cm)	kadın	84	155,82	11,83	0.000
	erkek	16	167,62	8,18	
Kilo (kg)	kadın	84	66,70	13,88	0.328
	erkek	16	63,06	11,90	
BKİ (kg/m ²)	kadın	84	27,05	5,30	0.002
	erkek	16	22,49	4,14	

Tablo 4.5 Cinsiyetlere göre gruplar arasındaki yaş, kilo, boy ve BKİ değerleri

Tüm popülasyonda dışarıdan ek Ca⁺² ve D vitamini alanlar çıkarıldıktan sonra laboratuvar değerlerine baktığımızda;

Osteoporotik grupta ortalama Ca⁺² değeri 9.49 ± 0.69 mg/dl, P değeri 3.66 ± 0.61 mg/dl, ALP değeri 82.71 ± 42.34 U/l, D vitamini değeri 14.69 ± 8.63 ng/mL, spot idrar Ca⁺² /kreatinin değeri 0.14 ± 0.24, L1-L4 T skoru değeri -2.81 ± 0.71, L1-L4 Z skoru değeri -1.94 ± 0.87, sol femur boyun T skoru -1.83 ± 0.93, sol femur boyun Z skoru -0.88 ± 1.09 olarak saptandı.

Kontrol grubunda ortalama Ca⁺² değeri 9.48 ± 0.67 mg/dl, P değeri 3.68 ± 0.79 mg/dl, ALP değeri 67.89 ± 18.95 U/l, D vitamini değeri 18.20 ± 10.92 ng/mL, spot idrar Ca⁺² /kreatinin değeri 0.11 ± 0.12, L1-L4 T skoru değeri 0.15 ± 0.92, L1-L4 Z skoru değeri 0.56 ± 0.99, sol femur boyun T skoru 0.27 ± 0.80, sol femur boyun Z skoru 0.78 ± 0.86 olarak saptandı.

Gruplar arasında laboratuvar değerleri karşılaştırıldığında Ca⁺², P, spot idrar Ca⁺² /kreatinin değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). ALP ve D vitamini düzeylerinde ise iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptandı (p değerleri sırasıyla; 0.002 ve 0.039).

Gruplar içinde cinsiyetlere göre laboratuvar değerlerini incelediğimizde ise; ALP, kontrol grubundaki kadınlarda 66.25 ± 18.74 U/l, erkeklerde ise 76.50 ± 18.23 U/l bulundu ($p < 0.05$). Diğer veriler açısından istatistiksel anlamlı fark görülmedi. OP grubunda P kadınlarda $3,71 \pm 0.61$ mg/dl; erkeklerde ise 3.38 ± 0.60 mg/dl bulundu ($p < 0.05$). L1-L4 Z skoru osteoporotik kadınlarda -1.86 ± 0.90 , osteoporotik erkeklerde ise -2.35 ± 0.55 bulundu ($p < 0.05$). Osteoporotik grupta cinsiyet açısından diğer veriler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Günlük Ca^{+2} alımı gruplar arasında değerlendirildiğinde osteoporotik grupta 863.00 ± 421.55 mg, kontrol grubunda 670.00 ± 251.25 mg ($p < 0.05$), tüm kadınlarda 769.04 ± 356.95 mg tüm erkeklerde 753.12 ± 377.58 mg ($p > 0.05$), kontrol grubu erkeklerde 562.50 ± 108.78 mg, kontrol grubu kadınlarda 690.47 ± 265.53 mg ($p = 0.062$), osteoporotik erkeklerde 943.75 ± 453.09 mg, osteoporotik kadınlarda 847.61 ± 146.37 mg ($p > 0.05$), tüm popülasyonda ise 766.50 ± 359.40 mg olarak tespit edildi.

	OP grubu	Kontrol grubu	Tüm Popülasyon	p
Kalsiyum (mg/dl)	9.49 ± 0.69	9.48 ± 0.67	9.48 ± 0.68	0.948
Fosfor (mg/dl)	3.66 ± 0.61	3.68 ± 0.79	3.67 ± 0.71	0.822
Alkalen fosfataz (U/l)	82.71 ± 42.34	67.89 ± 18.95	75.30 ± 33.55	0.002
D vitamini (ng/ml)	14.69 ± 8.63	18.20 ± 10.92	17.02 ± 10.10	0.039
Spot idrar Ca^{+2} /kreatinin	0.14 ± 0.24	0.11 ± 0.12	0.12 ± 0.18	0.254
L1-L4 T skoru	-2.81 ± 0.71	0.15 ± 0.92	-1.33 ± 1.70	0.000
L1-L4 Z skoru	-1.94 ± 0.87	0.56 ± 0.99	-0.69 ± 1.56	0.000
Sol femur boyun T skoru	-1.83 ± 0.93	0.27 ± 0.80	-0.77 ± 1.37	0.000
Sol femur boyun Z skoru	-0.88 ± 1.09	0.78 ± 0.86	-0.04 ± 1.29	0.000
Günlük Ca^{+2} alımı(mg)	863.00 ± 421.55	670.00 ± 251.25	766.50 ± 359.40	0.000

Tablo 4.6 Grupların ve tüm popülasyonun ortalama laboratuvar değerleri ve günlük Ca^{+2} alımı

Kontrol grubu	Cinsiyet	N	Ortalama	Standart sapma	p
Kalsiyum (mg/dl)	kadın	74	9,47	0,71	0.743
	erkek	15	9,53	0,45	
Fosfor (mg/dl)	kadın	84	3,68	0,82	0.943
	erkek	16	3,70	0,65	
Alkale fosfat (U/l)	kadın	84	66,25	18,74	0.047
	erkek	16	76,50	18,23	
D vitamini (ng/ml)	kadın	74	18,01	10,86	0.297
	erkek	15	21,12	8,76	
Spot idrar Ca ²⁺ /kreatinin	kadın	74	0,11	0,12	0.947
	erkek	15	0,11	0,13	
L1-L4 T skoru	kadın	83	0,18	0,93	0.479
	erkek	16	0,00	0,90	
L1-L4 Z skoru	kadın	83	0,64	0,99	0.100
	erkek	16	0,19	0,92	
Sol femur boyun T skoru	kadın	83	0,29	0,83	0.660
	erkek	16	0,19	0,63	
Sol femur boyun Z skoru	kadın	83	0,76	0,87	0.520
	erkek	16	0,91	0,81	
Günlük Ca ²⁺ alımı (mg)	kadın	84	690,47	265,53	0.062
	erkek	16	562,50	108,78	

Tablo 4.7 Kontrol grubunda cinsiyetlere göre laboratuvar değerleri ve günlük Ca²⁺ alımı

OP grubu	Cinsiyet	N	Ortalama	Standart sapma	p
Kalsiyum (mg/dl)	kadın	52	9,47	0,70	0.465
	erkek	8	9,60	0,63	
Fosfor (mg/dl)	kadın	84	3,71	0,61	0.048
	erkek	16	3,38	0,60	
Alkale fosfat (U/l)	kadın	84	83,92	44,87	0.512
	erkek	16	76,31	25,30	
D vitamini (ng/ml)	kadın	52	15,56	9,40	0.940
	erkek	8	15,75	9,95	
Spot idrar Ca ²⁺ /kreatinin	kadın	52	0,13	0,22	0.827
	erkek	8	0,12	0,07	
L1-L4 T skoru	kadın	84	-2,83	0,75	0.425
	erkek	16	-2,68	0,48	
L1-L4 Z skoru	kadın	84	-1,86	0,90	0.043
	erkek	16	-2,35	0,55	
Sol femur boyun T skoru	kadın	83	-1,79	0,82	0.380
	erkek	16	-2,02	1,39	
Sol femur boyun Z skoru	kadın	83	-0,82	0,95	0.258
	erkek	16	-1,16	1,65	
Günlük Ca ²⁺ alımı (mg)	kadın	84	847,61	416,37	0.406
	erkek	16	943,75	453,09	

Tablo 4.8 OP grubunda cinsiyetlere göre laboratuvar değerleri ve günlük Ca²⁺ alımı

Kontrol grubu		N	Ortalama	Standart sapma	p
Günlük Ca ⁺² alım miktarı (mg)	kadın	74	608,00	115,96	0.154
	erkek	15	562,50	108,78	
OP grubu					
Günlük Ca ⁺² alım miktarı (mg)	kadın	52	534,61	120,26	0.842
	erkek	8	525,00	166,90	

Tablo 4.9 Gruplarda cinsiyetler arasında günlük Ca⁺² alım miktarı

Diyete ek olarak dışarıdan Ca⁺² alımı ekarte edildikten sonra gruplarda cinsiyetlere göre günlük Ca⁺² alım miktarı Tablo 4.9'da verilmiştir.

Giyim tarzı ile vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında çalışmamızda 160 kişi kapalı (kollar-bacaklar kapalı ve başörtülü) giyinirken 38 kişi baş, kollar ve bacaklar açık tarzda giyiniyordu, 2 kişinin serumu ayrıştırılmadığı için vitamin D çalışmadı. Ek D vitamini alanlar çıkarıldıktan sonra kapalı giyinen grupta D vitamini düzeyi 16.51 ± 10.18 ng/mL iken açık giyim tarzında olan grupta bu düzey 19.16 ± 9.62 ng/mL olarak bulundu (p>0.05).

Vitamin D düzeylerini cinsiyetler arasında karşılaştırdığımızda tüm popülasyonda 167 kadın hasta 31 erkek hasta vardı. Yine ek D vitamini alanlar çıkarıldıktan sonra kadınlardaki vitamin D düzeyi 16.77 ± 10.20 ng/mL iken erkeklerde bu düzey 18.35 ± 9.63 ng/mL olarak bulundu (p>0.05).

Yine vitamin D düzeylerini BKİ ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.609).

	Vitamin D düzeyi (ng/mL)	N	P değeri
Kadın	16.77 ± 10.20	126	0.427
Erkek	18.35 ± 9.63	23	
Kapalı giyinen	16.51 ± 10.18	119	0.147
Açık giyinen	19.16 ± 9.62	38	

Tablo 4.10 Vitamin D düzeylerinin cinsiyet ve giyim tarzı ile karşılaştırılması

Vitamin D düzeylerini eksiklik ve yetersizlik sınıflarına göre ayırdığımızda kontrol grubunda 20 kişide vitamin D düzeyi 0-9 ng/ml arasında iken 39 kişide 10-19 ng/ml arasında, 16 kişide 20-29 ng/ml arasında ve 14 kişide 30 ng/ml'nin üzerinde tespit edildi. OP grubunda ise bu sayılar sırasıyla 20, 27, 10 ve 3 kişi olarak bulundu. Her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$). Yeterlilik sınırını 30 ng/ml olarak aldığımızda kontrol grubunda bu sınırı geçen hasta oranı % 15.7 iken OP grubunda bu oran % 5 idi. Tüm popülasyonda ise bu oran % 11.4 olarak tespit edildi.

	Vitamin D Aralığı (ng/ml)			
	0-9	10-19	20-29	>30
Kontrol Grubu	20	39	16	14
	% 22,5	% 43,8	% 18,0	% 15,7
OP Grubu	20	27	10	3
	% 33,3	% 45,0	% 16,7	% 5,0
Tüm Popülasyon	40	66	26	17
	% 26,8	% 44,3	% 17,4	% 11,4

Tablo 4.11 Vitamin D aralığı

Deneklerin eğitim durumları karşılaştırıldığında osteoporotik grupta 36 kişi okur-yazar değildi, 48 kişi ilkokul, 3 kişi ortaokul, 10 kişi lise ve 3 kişi üniversite mezunu idi. Kontrol grubunda ise 11 kişi okur-yazar değilken; 64 kişi ilkokul, 10 kişi ortaokul, 11 kişi lise ve 4 kişi üniversite mezunu idi. Osteoporotik grubun eğitim seviyesi daha düşük olarak bulundu ($p<0.05$). Osteoporotik grupta 36 kadın okur-yazar değilken, 42 kadın ilkokul, 3 kadın lise ve 3 kadın üniversite mezunu idi, aynı grupta okur-yazar olmayan erkek yoktu ve 6 erkek ilkokul mezunu, 3 tanesi ortaokul ve 7 tanesi de lise mezunu iken bu grupta üniversite mezunu erkek yoktu. Osteoporotik kadınların eğitim seviyesi osteoporotik erkeklere göre daha düşük bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubunda 11 kadın okur-yazar değilken, 55 kadın ilkokul, 6 kadın ortaokul, 8 kadın lise ve 4 kadın üniversite mezunu idi, aynı grupta okur-yazar olmayan erkek yoktu ve 9 erkek ilkokul, 3 erkek ortaokul ve 4 erkek lise mezunu idi. Kontrol grubunda cinsiyetler arasında eğitim düzeyi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Osteoporotik kadınlarla kontrol grubundaki kadınların eğitim

seviyesi karşılaştırılmasında ise osteoporotik kadınların eğitim seviyesinin daha düşük olduğu görüldü ($p<0.05$). Osteoporotik ve kontrol grubu erkeklerin eğitim seviyesi arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

Kontrol grubu	Eğitim durumu					p
	Okur-yazar değil	İlkokul	Ortaokul	Lise	Üniversite	
Kadın	11	55	6	8	4	0.079
Erkek	0	9	4	3	0	
Toplam	11	64	10	11	4	
OP grubu						
Kadın	36	42	0	3	3	0.000
Erkek	0	6	3	7	0	
Toplam	36	48	3	10	3	
Genel toplam	47	112	13	21	7	

Tablo 4.12 Eğitim durumu açısından grupların ve cinsiyetlerin karşılaştırılması

Güneşe maruziyet süreleri değerlendirildiğinde osteoporotik grupta 28 kişi günde 15 dk'dan daha az, 45 kişi 15-30 dk arası, 15 kişi 30-45 dk arası, 11 kişi 45-60 dk arası ve 1 kişi de 60 dk'dan daha fazla yüz ve kollar açık şekilde güneş görüyorlardı. Kontrol grubunda bu sayılar sırasıyla 7, 28, 48, 15 ve 2 idi ($p<0.05$). Osteoporotik gruptaki erkeklerin sayıları sırasıyla 1, 2, 5, 7, 1 iken aynı gruptaki kadınların sayısı sırasıyla 27, 43, 10, 4 ve 0 idi ($p<0.05$). Kontrol grubunda bu sayılar ise sırasıyla erkeklerde 0, 2, 8, 5, 1 iken kadınlarda 7, 26, 40, 10 ve 1 olarak tespit edildi ($p>0.05$). Osteoporotik kadınlarla kontrol grubundaki kadınların güneşe maruziyet süreleri karşılaştırılmasında OP grubundaki kadınların daha az güneşe maruz kaldıkları görüldü ($p<0.05$). Her iki gruptaki erkeklerin karşılaştırılmasında ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Kontrol grubu	Güneşe maruziyet					p
	<15 dk	15-30 dk	30-45dk	45-60 dk	>60 dk	
Kadın	7	26	40	10	1	0.090
Erkek	0	2	8	5	1	
Toplam	7	28	48	15	2	
OP grubu						
Kadın	27	43	10	4	0	0.000
Erkek	1	2	5	7	1	
Toplam	28	45	15	11	1	
Genel toplam	35	73	63	26	3	

Tablo 4.13 Grupların ve cinsiyetlerin günlük güneşe maruziyet süreleri

Günlük egzersiz ve yürüyüş süreleri gruplar arasında karşılaştırıldığında osteoporotik grupta 35 kişi günde 15 dk'dan daha az, 37 kişi 15-30 dk arası, 17 kişi 30-45 dk arası, 10 kişi 45-60 dk arası ve 1 kişi 60 dk'dan daha fazla egzersiz ve yürüyüş yapıyordu. Kontrol grubunda ise bu sayılar sırasıyla 10, 33, 33, 21 ve 3 olarak tespit edildi ($p<0.05$). Osteoporotik grupta bu sayılar erkeklerde sırasıyla 1, 1, 8, 5, 1 iken kadınlarda sırasıyla 34, 36, 9, 5 ve 0 olarak bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubunda ise erkeklerde sırasıyla 1, 1, 5, 7, 2 iken kadınlarda bu sayılar sırasıyla 9, 32, 28, 14 ve 1 olarak bulundu ($p<0.05$). İki gruptaki kadınların karşılaştırılmasında OP grubundaki kadınların daha az egzersiz ve yürüyüş yaptığı ($p<0.05$) saptanırken erkekler arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

Kontrol grubu	Egzersiz-yürüyüş					p
	<15 dk	15-30 dk	30-45dk	45-60 dk	>60 dk	
Kadın	9	32	28	14	1	0.005
Erkek	1	1	5	7	2	
Toplam	10	33	33	21	3	
OP grubu						
Kadın	27	43	10	4	0	0.000
Erkek	1	2	5	7	1	
Toplam	28	45	15	11	1	
Genel toplam	38	78	48	32	4	

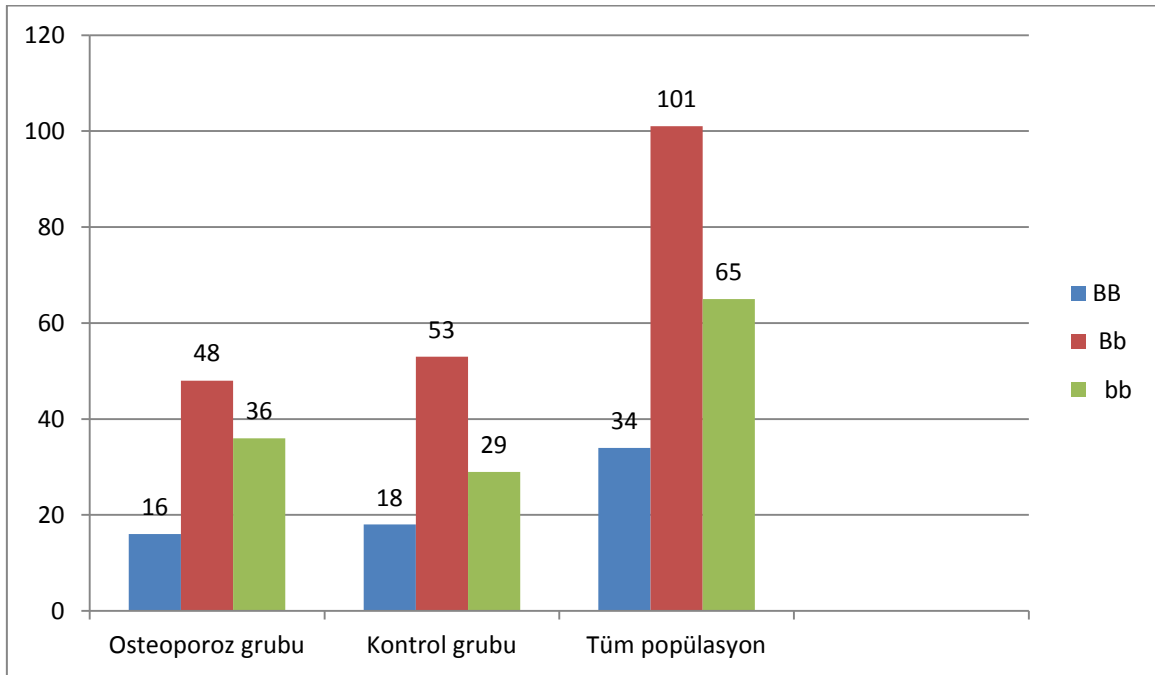
Tablo 4.14 Egzersiz ve yürüyüş açısından grupların ve cinsiyetlerin karşılaştırılması

Deneklerin VDR Bsm1 polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde BB genotipi osteoporotik grupta 16 (% 16) kişide saptanırken kontrol grubunda 18 (% 18) kişide saptandı. Bb genotipi osteoporotik grupta 48 (% 48) kişide görülürken kontrol grubunda

bu sayı 53 (% 53) olarak bulundu. bb genotipi ise OP grubunda 36 (% 36) kişide tespit edilirken kontrol grubunda 29 (% 29) kişide saptandı ($p>0.05$). Genotipler arasında BB ve BB olmayanlar şeklinde de alt grup analizi yapıldı. Kontrol grubunda BB genotipini taşıyan 18 kişiye (taşımayan 82 hasta) karşın osteoporotik grupta 16 kişi (taşımayan 84 hasta) tespit edildi. ($p>0.05$).

	Osteoporotik Grup (n=100)	Kontrol grubu (n=100)	Toplam (n=200)	Toplam %
BB	16	18	34	17
Bb	48	53	101	50.5
bb	36	29	65	32.5

Tablo 4.15 Gruplar ve tüm popülasyonda genotiplerin dağılımı ($p=0.571$).



Şekil 4.1: Genotiplerin gruplar ve tüm popülasyonda dağılımı

Gruplar içinde cinsiyetler arasında genotip değerlendirilmesinde kontrol grubundaki kadınlarda BB genotipi 15 kişide, Bb genotipi 48 kişide ve bb genotipi de 21 kişide tespit edildi; aynı gruptaki erkeklerde ise bu sayılar sırasıyla 3, 5 ve 8 olarak bulundu ($p>0.05$).

OP grubunda ise kadınlarda BB genotipi 13 kişide, Bb genotipi 40 kişide ve bb genotipi 31 kişide saptandı. Bu sayılar aynı grup erkeklerde sırasıyla 3, 8 ve 5 idi ($p>0.05$)

Kontrol grubu		Genotip			p
		BB	Bb	bb	
Cinsiyet	Kadın (84)	15	48	21	0.100
	Erkek (16)	3	5	8	
Toplam		18	53	29	
OP grubu					
Cinsiyet	Kadın (84)	13	40	31	0.893
	Erkek (16)	3	8	5	
Toplam		16	48	36	

Tablo 4.16 Gruplarda ve cinsiyetlerde genotiplerin dağılımı

Genotiplerle vitamin D düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirdiğimizde BB grubunda D vitamini düzeyi 18.10 ± 10.77 ng/mL, Bb grubunda 17.08 ± 10.25 ng/mL ve bb grubunda 16.34 ± 9.59 ng/mL olarak bulundu ($p>0.05$).

Yine genotipler ve rakamsal DEXA sonuçları arasında karşılaştırma yapıldı. L1-L4 T skoru BB grubunda -1.20 ± 1.68 , Bb grubunda -1.24 ± 1.74 , bb grubunda ise -1.55 ± 1.64 bulundu. L1-L4 Z skoru BB grubunda -0.69 ± 1.66 , Bb grubunda -0.56 ± 1.63 , bb grubunda ise -0.88 ± 1.40 bulundu. Sol femur boyun T skoru BB grubunda -0.86 ± 1.26 , Bb grubunda -0.74 ± 1.48 , bb grubunda ise -0.78 ± 1.24 bulundu. Sol femur boyun Z skoru BB grubunda -0.24 ± 1.17 , Bb grubunda -0.007 ± 1.39 , bb grubunda ise -0.01 ± 1.19 bulundu ($p>0.05$).

	BB	Bb	bb	p
Vitamin D (ng/mL)	18.10 ± 10.77	17.08 ± 10.25	16.34 ± 9.59	0.717
L1-L4 T skoru	-1.20 ± 1.68	-1.24 ± 1.74	-1.55 ± 1.64	0.448
L1-L4 Z skoru	-0.69 ± 1.66	-0.56 ± 1.63	-0.88 ± 1.40	0.442
Sol femur boyun T skoru	-0.86 ± 1.26	-0.74 ± 1.48	-0.78 ± 1.24	0.905
Sol femur boyun Z skoru	-0.24 ± 1.17	-0.007 ± 1.39	-0.01 ± 1.19	0.637

Tablo 4.17 Genotipler arasında vitamin D ve rakamsal DEXA sonuçlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Vitamin D ve VDR'nin vücudumuzda bir çok sistemle ilişkisinin olmasının saptanmasından sonra üzerinde farklı bir çok çalışma yapılmıştır. Kanser etyolojisinden immun sisteme, diyabetten astıma kadar pek çok VDR ile ilgili araştırma yapılmıştır. OP VDR için gözde konulardan olmakla birlikte yapılan çalışmalar genelde postmenopozal kadınlarda yapılmış ve birbirleriyle çelişen sonuçlar bulunmuştur.

Vitamin D eksikliği bir çok ülkede yaygın bir halk sağlığı sorunudur (Holick ve ark. 2011). Eksikliğinde bir takım hastalıklara yatkınlık, morbidite ve mortalitelerinde artış görülmüştür (Melamed ve ark. 2008). İrlanda'da yapılan bir çalışmada 51-75 arasındaki 101 kadında D vitamini düzeyi bakılmış ve ortalama değer 19.3 ng/mL olarak tespit edilmiştir (Hill ve ark. 2006). Hollanda'da 55 yaş üzerinde toplam 1311 kadın ve erkeğin dahil edildiği bir çalışmada ise ortalama D vitamini düzeyi 21.5 ng/mL olarak bulunmuştur (van Schoor ve ark. 2008). Japonya'da ise 102 tane sağlıklı kadın çalışmaya alınmış ve D vitamini ortalama değeri 15.1 ng/mL olarak bulunmuştur (Ono ve ark. 2005). Suudi Arabistan'da yakın zamanda yapılan bir çalışmada premenopozal ve postmenopozal kadınlarda vitamin D düzeyleri bakılmış ve mevsim fark etmeksizin her iki grupta % 80'lere varan oranda D vitamini eksikliği saptanmıştır (Kanan ve ark. 2013). Doğu Afrika göçmeni olan çocuklarda yapılan bir çalışmada da % 87 oranında vitamin D yetersizliği ve % 44 oranında vitamin D eksikliği görülmüştür (McGillivray ve ark. 2007). Ülkemizde de bu konuda yapılmış çeşitli araştırmalar vardır, şöyle ki; 2000 yılında İstanbul'da yapılan bir çalışmada 25-30 yaş arası 48 kadın çalışmaya dahil edilmiş, giyim tarzına göre açık giyinen kadınlarda D vitamini seviyesi 22.4 ng/mL, yüz ve elleri açık olan kapalı kadınlarda 12.8 ng/mL, ellerin ve yüzün de kapalı olduğu kadınlarda ise 4 ng/mL olarak bulunmuştur (Alagol ve ark. 2000). Başka bir çalışma 2006 yılında 21 ile 66 yaş arasındaki 85 erkekte yapılmış ve ortalama D vitamini düzeyi 18.8 ng/mL olarak tespit edilmiştir (Erkal ve ark. 2006). Bizim çalışmamızda da tüm popülasyonda ortalama değer 16.78 ng/mL olarak bulunurken yeterlilik sınırı olan 30 ng/ml'nin üzerinde sadece % 11.4 kişi tespit edilmiştir. Dünya ve ülkemizdeki çalışmalara baktığımızda benzer sonuçların alındığını, hastalarımızda ciddi düzeyde D vitamini eksikliğini söyleyebiliriz.

Vitamin D'nin sentez basamaklarını hatırlarsak güneş ışınlarının cilde ulaşmasını engelleyen durumlarda D vitamini eksikliğinin görülmesi olağan olacaktır. Yapılan çalışmalarda kapalı giyim tarzının D vitamini eksikliğine yol açtığı görülmüştür. Ülkemizden yapılmış bir çalışmada kapalı giyinen kadınlarda ortalama D vitamini seviyesi 6.0 ng/mL, açık giyinen kadınlarda ise 22.2 ng/mL bulunmuştur, yine aynı çalışmada D vitamini ile KMY karşılaştırılmasında istatistiki anlamlı sonuç bulunmamıştır (Budak ve ark. 2004). Başka bir çalışmada ise yine kapalı giyim tarzının D vitamini sentezini engellediği ifade edilmiş ve haftada 2-3 kez eller, yüz, kollar ve bacaklar açık şekilde güneş ışığına maruz kalmak önerilmiştir (Guler ve ark. 2007). Almanya'da yaşayan Türkler'de yapılan bir çalışmada da kapalı giyinen, özellikle başörtüsü kullanan kadınlarda D vitamini eksikliği daha sık görülmüştür (Erkal ve ark. 2006). Bizim çalışmamızda 160 tane kapalı giyinen hastaya karşın 38 tane açık giyinen hasta vardı. Kapalı giyim tarzı olanlarda ortalama D vitamini düzeyi 16.51 ng/mL, açık giyinenlerde ise 19.16 ng/mL olarak tespit edildi. Giyinme tarzı ile anlamlı bir ilişki bulunmamamızın sebebi, bölgemizde genel olarak kapalı giyimin olması ve çalışmaya alınan hastaların çoğunun kapalı olması nedeni ile gruplar arası eş dağılımın olmaması etken olabilir. Buna karşın açık giyinen hastalarımızda da vitamin D eksikliği saptandı, bunun sebebi de çarpık kentleşme, hava kirliliği; yeterli güneş ışığına maruz kalamama gösterilebilir.

Cinsiyetler arasında da D vitamini seviyeleri arasında çalışmalar yapılmıştır. ABD'de 14,091 kişi ile yapılan bir çalışmada erkeklerde ortalama D vitamini düzeyi 31.37 ng/mL, kadınlarda ise 28.72 ng/mL saptanmış ve istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (Black ve ark. 2005). Bizim çalışmamızda ise kadınlarda ortalama D vitamini değeri 16.77 ng/mL iken, erkeklerde 18.35 ng/mL idi. Erkeklerde vitamin D düzeylerinin daha yüksek olmasına rağmen hasta popülasyonunun yukarıdaki çalışmaya göre az olması, çalışmada kadın cinsiyetinin hakim olması bizim çalışmamızda istatistiksel anlamlı farkın çıkmamasındaki etken olarak görülmüştür.

Vitamin D düzeyinin BKİ ile ters orantılı olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Hahn ve ark. 2006). Obez kişilerde D vitamininin adipoz dokuya sekestrasyonu artmıştır ve bu yüzden vitaminin biyolojik yararlanımı da azalmıştır (Lagunova ve ark. 2009). Yapılan bir çalışmada kişilere ultraviyole ışın uygulanmasından 24 saat sonra bakılan D vitamini düzeylerindeki artış obez kişilerde olmayanlara göre % 57 oranında daha az bulunmuştur

(Wortsman ve ark. 2000). İspanya'da yapıp 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada da BKİ arttıkça vitamin D düzeylerinde azalma görülmüştür (Guasch ve ark. 2012). Bunun yanında bu ters ilişkiyi göstermeyen çalışmalar da yapılmıştır (Selimoglu ve ark. 2010). Bizim çalışmamızda da BKİ ve D vitamini düzeyleri arasındaki ters ilişki gösterilemedi. Burada popülasyonumuzun ortalama BKİ değerinin 27.85 kg/m² olması etken olmuş olabilir, BKİ daha yüksek olduğu gruplarda yapılacak bir çalışmada bu negatif korelasyon saptanabilir.

Sekonder sebepler dışında OP yaşlıların hastalığı olarak tanımlanabilir ve yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Çalışmamızda da gruplar arasında yaş kıyaslamasında osteoporotik grupta yaş ortalaması daha yüksekti.

Obezitenin genel olarak OP açısından koruyucu olduğu kabul edilmektedir. Obez kadınlarda yapılan bir çalışmada leptin hormonunun kemik metabolizması üzerinde östrojen ile benzer mekanizmaya sahip olduğu ve obezitenin OP için negatif risk faktörü saptanmıştır (Legiran ve ark. 2012). Başka bir çalışmada düşük BKİ'nin OP için bir risk ifade ettiği bildirilmiştir (Asomaning ve ark. 2006). Bizim çalışmamızda da osteoporotik grupta BKİ 26.32 kg/m² iken kontrol grubunda 29.38 kg/m² idi ve literatürü destekler tarzda bulundu.

D vitamini eksikliğinin çeşitli mekanizmalarla OP ve osteopeniye yol açtığı bilinmektedir (Holick 2007a). Literatürü destekler biçimde çalışmamızda osteoporotik grupta ortalama vitamin D düzeyi 14.69 ng/mL iken kontrol grubunda 18.20 ng/mL olarak bulundu. Burada osteoporotik grubun daha yaşlı olması, daha az güneş maruziyeti, daha az fiziksel aktivite rol almış olabilir.

Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği (TEMED) Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Klavuzu 2012'ye göre günlük beslenmede Ca⁺² alımı 600-700 mg kadardır. 1200 mg'ın altındaki değerler saptandığında dışarıdan Ca⁺² verilmesi önerilmektedir. Bizim çalışmamızda da klavuza paralel olarak kontrol grubunda günlük ortalama Ca⁺² alımı 670 mg iken osteoporotik grupta 863 mg olarak bulundu. Osteoporotik grupta Ca⁺² alımının fazla olmasının sebebi bu kişilere Ca⁺² desteğinin başlanmış olmasıydı; OP grubunda 40 kişiye karşılık kontrol grubunda 9 kişi günlük beslenmeye ek olarak dışarıdan Ca⁺² desteği almaktaydı. Dışardan Ca⁺² desteği alanlar çıkarıldıktan sonra yapılan değerlendirmede ise bu değerler kontrol grubunda 600 mg, osteoporotik grupta ise 533 mg olarak tespit edildi.

Güneşe maruziyetin D vitamini sentezindeki önemi ve dolayısıyla OP gelişmesindeki rolü aşikardır. Kişilerin cilt tipine göre, (tip 1: çok açık tenli, tip 5: siyah) korunmasız ve eritem oluşmadan güneşte kalabilecekleri süre (minimal eritemal doz) değişmektedir. Çalışmamızda OP grubunda 28 hasta günlük 15 dk'dan daha az sürede yüz ve kollar açık bir şekilde güneşe maruz kalırken 60 dk'dan daha fazla güneş gören hasta sayısı sadece 1 tane idi. Buna karşın kontrol grubunda bu sayılar sırasıyla 7 ve 2 idi. Litaratürü destekleyen bu durum OP grubunun daha yaşlı olması, ek hastalıkların fazlalığı ve dolayısıyla hastaların dışarıya çıkmalarının kısıtlanmasıyla açıklanabilir.

Türkiye İstatistik Kurumunun 2009 yılında yaptığı bildiriye göre ülkemizde okuma yazma bilmeyenler % 9.2, ilkokul mezunları % 36.4, ortaokul mezunları % 12.6, lise mezunları % 20.6 ve üniversite mezunları % 8,6 olarak açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda ise OP grubunda okur-yazar olmayan 36 kişiye (% 36) karşın 3 kişi (% 3) üniversite mezunu idi. Kontrol grubunda ise 11 kişi (% 11) okuma yazma bilmezken 4 kişi (% 4) üniversite mezunu idi. İki grup da ülke ortalamasının altında eğitim seviyesine sahipken gruplar arasındaki farkın oluşmasında OP grubunun daha yaşlı olması, yıllar öncesinde ekonomik nedenlerle okula gidememe, kız çocuklarının okula gönderilmemesi gösterilebilir.

Yapılan bazı çalışmalarda hiperkalsiürinin OP tanısında kullanılabileceği ifade edilmiştir. 2003 yılında yapılmış bir çalışmada OP'u olan hastaların % 21.7'sinde hiperkalsiüri saptanmıştır (Caudarella ve ark. 2003). Başka bir çalışmada ise hiperkalsiürisi olan hastaların % 50'sinde OP saptanmıştır (Giannini ve ark. 2003). Trinchieri ve arkadaşları idyopatik hiperkalsiürisi olan hastalarda % 57 oranında, normokalsiürisi olanlarda ise % 44 oranında OP tespit etmişlerdir (Trinchieri ve ark. 1998). Bizim çalışmamızda OP grubunda spot idrar Ca^{+2} /kreatinin oranı 0.14 iken kontrol grubunda 0.11 olarak bulundu ve her iki değer de anlamlı kabul edilen eşik değer olan 0.14'ten düşük idi. Bu durum diyetle Ca^{+2} alım farklılıklarından kaynaklanmış olabilir zira üriner Ca^{+2} atılımı diyetle ilişkilidir (Audran ve ark. 2000).

Ülkemizde VDR BsmI polimorfizmi ile ilgili değişik hastalıklarda yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardaki genotiplerin sıklığı yaklaşık olarak BB genotipi için % 17, Bb genotipi için % 53 ve bb genotipi için ise % 30 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da BB genotipi % 17, Bb genotipi % 50.5 ve bb genotipi % 32.5 bulunmuştur ve bu

noktada çalışma popülasyonumuzun ülkemiz genetik profilini yansıttığını söyleyebiliriz. Biz çalışmamızda OP olan ve olmayan gruplarda Bsm1 polimorfizmi sıklığı ve ilişkisini araştırdık. BB genotipi OP grubunda % 16, kontrol grubunda % 18 oranında saptandı. Bb genotipi OP grubunda % 48, kontrol grubunda % 53 oranında görülürken bb genotipi ise OP grubunda % 36, kontrol grubunda % 29 oranında saptandı.

KMY ve VDR polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi inceleyen dünyada ve ülkemizde yapılmış bir çok çalışma olmasına rağmen sonuçlar birbirleriyle çelişkili bulunmuştur. Yeni yayınlanmış bir çalışmada b allelinin varlığının postmenopozal kadınlarda non-vertebral kırık riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Horst-Sikorska ve ark. 2013). Slovenya’da yapılan bir çalışmada femur boynu KMY’si ile Bsm1 polimorfizmi arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Mencej-Bedrac ve ark. 2009). Prepubertal Meksika asıllı Amerikalı kızlarda yapılan bir çalışmada bb genotipine sahip bireylerin % 2-3 arasında daha fazla KMY değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Sainz ve ark. 1997). Epilepsi hastalığı nedeni ile fenitoin kullanan hastalarda yapılmış çalışmada Bsm1 polimorfizmi düşük T ve Z skorları ile ilişkili bulunmuştur (Phabphal ve ark. 2013). 26 çalışmanın metaanalizinin yapıldığı bir çalışmada ise bb genotipinin OP için düşük risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Jia ve ark. 2013). İlişkinin saptanmadığı yayınlar da yapılmıştır. Graves hastalığı olan genç kadınlarda yapılan bir çalışmada KMY ile Bsm1 polimorfizmi arasında bir ilişki görülmemiştir (Horst-Sikorska ve ark. 2008). Çek Cumhuriyeti’nde postmenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada KMY ile Bsm1 arasında ilişki gösterilmezken, FokI polimorfizmi ile ilişkilendirilmiştir (Zajickova ve ark. 2005). Yine İspanya’da yapılan başka bir çalışmada da Bsm1 polimorfizmi ile KMY arasında ilişki saptanmamıştır (Bandres ve ark. 2005). Bizim çalışmamızda da genotipler ve KMY arasında, literatürde örnekleri olduğu gibi, bir ilişki saptanamadı.

VDR ve vitamin D düzeyleri ile olan ilişkiyi araştıran çalışmalar da yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Mısır’lı graves hastası olan popülasyonda yapılan bir çalışmada VDR polimorfizmlerinin (Bsm1, Apal ve TaqI) D vitamini düzeyleri ile ilişkisi görülmemiştir (Abd El Gawad ve ark. 2012). Tunus’ta astımlı çocuklarda yapılan çalışmada da bu ilişki gösterilememiştir (Maalmi ve ark. 2013). Japonya’da çocuklarda yapılan bir çalışmada ise VDR ile vitamin D yetersizliği arasında ilişki tespit edilmiştir (Kitanaka ve ark. 2012). Bizim çalışmamızda ortalama D vitamini düzeyleri BB genotipinde 18.10 ng/mL, Bb genotipinde

17.08 ng/mL ve bb genotipinde 16.34 ng/mL olarak bulundu ve genotipler arasında vitamin D düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak bu çalışmamızda VDR BsmI polimorfizmi sıklığı ve polimorfizmler ile OP ve vitamin D düzeyi arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık ancak literatürde de örnekleri olduğu gibi anlamlı bir korelasyon bulamadık. Farklı olarak sadece kadın cinsiyetinde değil en az kadınlar kadar ileri yaştaki erkeklerin de hastalığı olması sebebiyle araştırmamızı iki cinsiyeti de kapsayacak şekilde yaptık fakat çalışmamızın bir eksik yönü olarak erkek sayısı kadın sayısına göre oldukça azdır. Bunun sebebi halen erkek hastalarda OP taramasının yeterince yapılmıyor olmasından kaynaklanmaktadır. Yine aynı şekilde VDR'nin farklı polimorfizmleri olmasına karşın biz çalışmamızı üzerinde en fazla çalışılan, OP ile ilişkisi üzerinde en fazla durulan polimorfizm olan BsmI ile yaptık, diğer polimorfizmleri çalışmamıza dahil edememiş olmamız da bir diğer eksik nokta olarak kabul edilebilir. Çalışmamızın sadece kadınları kapsamaması, 18-70 yaş gibi geniş bir yaş aralığına hitap etmesi, çalışma popülasyonunun yeterince fazla olması ve Konya bölgesinde yapılan ilk VDR polimorfizm çalışması olması sebebiyle farklı olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

18-70 yaş aralığında kadın ve erkek ayrımı yapmadan 200 kişinin dahil edilip, 100 tane osteoporotik ve 100 tane osteoporotik olmayan iki grupta VDR Bsm1 polimorfizmi ve vitamin D düzeyleri ile ilişkisini saptamaya yönelik çalışmamızda şu değerlendirmeler yapılabilir;

→ OP gelişiminde çevresel faktörlerin yanında genetik faktörlerin de önemli bir yer tuttuğu akılda bulundurulmalıdır.

→ Gruplar arasında bakılan parametrelerden Ca^{+2} , P ve spot idrar Ca^{+2} /kreatinin oranında istatistiksel anlamlı fark saptanmazken; ALP OP grubunda daha yüksek, vitamin D ise daha düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

→ Günlük Ca^{+2} alımı değerlendirildiğinde osteoporotik grubun muhtemelen ek Ca^{+2} desteği almasından dolayı iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu. Osteoporotik grupta günlük Ca^{+2} alımı daha fazla olmasına rağmen önerilen doz olan 1200 mg her iki grupta da sağlanamamıştı. Bu bakımdan karşılaştığımız hastalarda ortalama günlük Ca^{+2} alımı hesaplanmalı ve eksik kalan miktarın besinlerle takviye edilmesi sağlanmalıdır.

→ Giyim tarzı değerlendirmesinde kapalı giyim tarzı olan kişilerde ortalama D vitamini seviyesi daha düşük bulundu ancak muhtemelen grup popülasyonunun büyük çoğunluğunun kapalı olmasından dolayı istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

→ Cinsiyetler arasında D vitamini düzeyi değerlendirmesinde kadınlarda ortalama D vitamini seviyesi daha düşük olmasına karşın yine gruplar arasında erkek popülasyonunun çok az olması sebebiyle istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

→ D vitamini ve BKİ'nin karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

→ Eğitim durumları karşılaştırılmasında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Kontrol grubunda okur-yazarlığın daha fazla olmasına karşın bulunan değerler tüm hasta popülasyonumuzdaki eğitim düzeylerinin ülke genelinin çok altında olduğunu göstermektedir.

→ Güneş ışığına maruziyet, egzersiz ve yürüyüş açısından her iki grubun karşılaştırılmasında osteoporotik grubun hem daha az güneşe maruz kaldığı hem de daha

az egzersiz ve yürüyüş yaptığı saptandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değerler bulundu.

→ Cinsiyetlere göre subgrup analizlerinde ise OP grubunda kadınlar erkeklere göre daha az egzersiz ve yürüyüş yapıyordu, daha az güneşe maruz kalıyordu ve eğitim seviyeleri daha düşüktü. Kontrol grubunda ise cinsiyetler arasında eğitim seviyeleri ve güneş maruziyeti açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmazken, bu grupta kadınların daha az egzersiz ve yürüyüş yaptığı belirlendi.

→ Bsm1 polimorfizmlerinin değerlendirmesinde tüm popülasyonda BB genotipi % 17, Bb genotipi % 50.5 ve bb genotipi % 32.5 olarak bulundu ve bu oranlar ülkemizde daha önce farklı hastalıklarda yapılmış çalışmalarda bulunan değerlerle korele idi. Bu bakımdan çalışmamızdaki popülasyonun ülkemiz genetiğini yansıttığını söyleyebiliriz.

→ Genotipler açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi.

→ Gruplar içerisinde cinsiyetlere göre genotip değerlendirilmesinde istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

→ Genotipler ve vitamin D ilişkisi karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

→ Tüm popülasyonumuzun ortalama vitamin D düzeyi 16.78 ng/mL olarak tespit edildi. Vitamin D için yeterlilik seviyesinin >30 ng/mL olduğu düşünülünce bu sınırı geçen kişi oranımız sadece % 11.4 olarak tespit edildi ve toplumumuzda ciddi düzeyde D vitamini eksikliği olduğu görüldü. Vitamin D'nin fizyolojik etkileri düşünüldüğünde hastalarda eksikliğin saptanması ve güneş ışığına maruziyetin artırılması konusunda daha duyarlı olmalıyız.

KAYNAKLAR

- Abd El Gawad SS, Abdul Samee ER, Metwali AA and Abd El Gawad MS (2012). "Vitamin D receptor gene polymorphism and its association with 1,25-dihydroxyvitamin D(3) in patients with Graves disease in an Egyptian population: a pilot study." *Endocr Pract* 18(2): 132-139.
- Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Broos P and Boonen S (2000). "Polymorphisms of the VDR, ER and COLIA1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women." *Osteoporos Int* 11(7): 583-591.
- Akgün C, Sal E, Akgül N, Kaya A, Akbayram S and M A (2010). "Van'da Yaşayan Sağlıklı Çocuklarda İdrarda Kalsiyum Atılımı." *Nobel Med* 6(2): 79-84.
- Alagol F, Shihadeh Y, Boztepe H, Tanakol R, Yarman S, Azizlerli H, et al. (2000). "Sunlight exposure and vitamin D deficiency in Turkish women." *J Endocrinol Invest* 23(3): 173-177.
- Ames SK, Ellis KJ, Gunn SK, Copeland KC and Abrams SA (1999). "Vitamin D receptor gene Fok1 polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children." *J Bone Miner Res* 14(5): 740-746.
- Asomaning K, Bertone-Johnson ER, Nasca PC, Hooven F and Pekow PS (2006). "The association between body mass index and osteoporosis in patients referred for a bone mineral density examination." *J Womens Health (Larchmt)* 15(9): 1028-1034.
- Audran M and Legrand E (2000). "Hypercalciuria." *Joint Bone Spine* 67(6): 509-515.
- Baim S, Binkley N, Bilezikian JP, Kendler DL, Hans DB, Lewiecki EM, et al. (2008). "Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference." *J Clin Densitom* 11(1): 75-91.
- Bandeira F, Griz L, Dreyer P, Eufrazino C, Bandeira C and Freese E (2006). "Vitamin D deficiency: A global perspective." *Arq Bras Endocrinol Metabol* 50(4): 640-646.
- Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, The AC, Diniz ET, et al. (2010). "Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics." *Arq Bras Endocrinol Metabol* 54(2): 227-232.
- Bandres E, Pombo I, Gonzalez-Huarriz M, Rebollo A, Lopez G and Garcia-Foncillas J (2005). "Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ERalpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women." *J Endocrinol Invest* 28(4): 312-321.
- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T and Dawson-Hughes B (2006). "Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes." *Am J Clin Nutr* 84(1): 18-28.
- Black PN and Scragg R (2005). "Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey." *Chest* 128(6): 3792-3798.
- Budak N, Cicek B, Sahin H and Tutus A (2004). "Bone mineral density and serum 25-hydroxyvitamin D level: is there any difference according to the dressing style of the female university students." *Int J Food Sci Nutr* 55(7): 569-575.
- Bulca S (2010). "Östrojen reseptör alfa geni xba ı ve pvu ıı Polimorfizmlerinin postmenopozal osteoporozlu hastalarda incelenmesi." Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Adana, Yüksek lisans tezi, Danışman: Halil Kasap.
- Bustamante M, Nogues X, Enjuanes A, Elosua R, Garcia-Giralt N, Perez-Edo L, et al. (2007). "COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women." *Osteoporos Int* 18(2): 235-243.
- Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Sinicropi G, Rizzoli E, La Manna G, et al. (2003). "Bone mass loss in calcium stone disease: focus on hypercalciuria and metabolic factors." *J Nephrol* 16(2): 260-266.

- Champe, Harvey RA , Ferrier DR and E. U (2007). *Lipincott's Illustrated Reviews*,5 th ,Nobel,New Jersey: 384-387.
- Chaplin BE, Rasmussen RP, PS B and W C (1999). "LightCycler™hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection." *Biochemica* 1: 5-8.
- Chen D, Pace PE, Coombes RC and Ali S (1999). "Phosphorylation of human estrogen receptor alpha by protein kinase A regulates dimerization." *Mol Cell Biol* 19(2): 1002-1015.
- Chen HY, Chen WC, Hsu CD, Tsai FJ, Tsai CH and Li CW (2001). "Relation of BsmI vitamin D receptor gene polymorphism to bone mineral density and occurrence of osteoporosis in postmenopausal Chinese women in Taiwan." *Osteoporos Int* 12(12): 1036-1041.
- Cohn CS, Sullivan JA, Kiefer T and Hill SM (1999). "Identification of an enhancer element in the estrogen receptor upstream region: implications for regulation of ER transcription in breast cancer." *Mol Cell Endocrinol* 158(1-2): 25-36.
- Dogan I, Onen HI, Yurdakul AS, Konac E, Ozturk C, Varol A, et al. (2009). "Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of lung cancer." *Med Sci Monit* 15(8): BR232-242.
- Dong Y, Pollock N, Stallmann-Jorgensen IS, Gutin B, Lan L, Chen TC, et al. (2010). "Low 25-hydroxyvitamin D levels in adolescents: race, season, adiposity, physical activity, and fitness." *Pediatrics* 125(6): 1104-1111.
- Duman BS, Tanakol R, Erensoy N, Ozturk M and Yilmazer S (2004). "Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in postmenopausal osteoporotic and healthy women." *Med Princ Pract* 13(5): 260-266.
- Dursun A (2007). "D vitamininin kemik metabolizması dışındaki etkileri. Beslenme Yenilikler I-II." *Katkı Pediatri Dergisi* 28: 225-234.
- Durusu Tanriover M, Bora Tatar G, Uluturk TD, Dayangac Erden D, Tanriover A, Kilicarslan A, et al. (2010). "Evaluation of the effects of vitamin D receptor and estrogen receptor 1 gene polymorphisms on bone mineral density in postmenopausal women." *Clin Rheumatol* 29(11): 1285-1293.
- Ebeling PR (2008). "Clinical practice. Osteoporosis in men." *N Engl J Med* 358(14): 1474-1482.
- Erkal MZ, Wilde J, Bilgin Y, Akinci A, Demir E, Bodeker RH, et al. (2006). "High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors." *Osteoporos Int* 17(8): 1133-1140.
- Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Eastell R and Khosla S (2000). "Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men." *J Clin Invest* 106(12): 1553-1560.
- Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J and Frossard PM (1989). "A polymorphism at the human vitamin D receptor gene locus." *Nucleic Acids Res* 17(5): 2150.
- Felsenberg D, Silman AJ, Lunt M, Armbrecht G, Ismail AA, Finn JD, et al. (2002). "Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS)." *J Bone Miner Res* 17(4): 716-724.
- Ferrari S, Manen D, Bonjour JP, Slosman D and Rizzoli R (1999). "Bone mineral mass and calcium and phosphate metabolism in young men: relationships with vitamin D receptor allelic polymorphisms." *J Clin Endocrinol Metab* 84(6): 2043-2048.
- Fuss M, Gillet C, Simon J, Vandewalle JC, Schoutens A and Bergmann P (1983). "Bone mineral content in idiopathic renal stone disease and in primary hyperparathyroidism." *Eur Urol* 9(1): 32-34.
- Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F and Brandi ML (2002). "Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms." *J Steroid Biochem Mol Biol* 81(1): 1-24.
- Ghazali S and Barratt TM (1974). "Urinary excretion of calcium and magnesium in children." *Arch Dis Child* 49(2): 97-101.

- Giannini S, Nobile M, Dalle Carbonare L, Lodetti MG, Sella S, Vittadello G, et al. (2003). "Hypercalciuria is a common and important finding in postmenopausal women with osteoporosis." *Eur J Endocrinol* 149(3): 209-213.
- Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R and Feldman D (1996). "The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women." *J Bone Miner Res* 11(12): 1850-1855.
- Guasch A, Bullo M, Rabassa A, Bonada A, Del Castillo D, Sabench F, et al. (2012). "Plasma vitamin D and parathormone are associated with obesity and atherogenic dyslipidemia: a cross-sectional study." *Cardiovasc Diabetol* 11: 149.
- Guler T, Sivas F, Baskan BM, Gunesen O, Alemdaroglu E and Ozoran K (2007). "The effect of outfitting style on bone mineral density." *Rheumatol Int* 27(8): 723-727.
- Gupta A and Thompson PD (2011). "The relationship of vitamin D deficiency to statin myopathy." *Atherosclerosis* 215(1): 23-29.
- Hahn S, Haselhorst U, Tan S, Quadbeck B, Schmidt M, Roesler S, et al. (2006). "Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome." *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 114(10): 577-583.
- Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL and Armas LA (2011). "Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans." *J Clin Endocrinol Metab* 96(3): E447-452.
- Hill TR, O'Brien MM, Lamberg-Allardt C, Jakobsen J, Kiely M, Flynn A, et al. (2006). "Vitamin D status of 51-75-year-old Irish women: its determinants and impact on biochemical indices of bone turnover." *Public Health Nutr* 9(2): 225-233.
- Holick MF (2004). "Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease." *Am J Clin Nutr* 80(6 Suppl): 1678S-1688S.
- Holick MF (2007a). "Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis." *Drugs Aging* 24(12): 1017-1029.
- Holick MF (2007b). "Vitamin D deficiency." *N Engl J Med* 357(3): 266-281.
- Holick MF (2008). "Vitamin D: a D-Lightful health perspective." *Nutr Rev* 66(10 Suppl 2): S182-194.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. (2011). "Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline." *J Clin Endocrinol Metab* 96(7): 1911-1930.
- Horst-Sikorska W, Dytfeld J, Wawrzyniak A, Marcinkowska M, Michalak M, Franek E, et al. (2013). "Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and fractures in postmenopausal women with osteoporosis." *Mol Biol Rep* 40(1): 383-390.
- Horst-Sikorska W, Ignaszak-Szczepaniak M, Marcinkowska M, Kaczmarek M, Stajgis M and Slomski R (2008). "Association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density in young women with Graves' disease." *Acta Biochim Pol* 55(2): 371-380.
- Houston LA, Grant SF, Reid DM and Ralston SH (1996). "Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population." *Bone* 18(3): 249-252.
- Jia F, Sun RF, Li QH, Wang DX, Zhao F, Li JM, et al. (2013). "Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism and osteoporosis risk: a meta-analysis from 26 studies." *Genet Test Mol Biomarkers* 17(1): 30-34.
- Johnell O and Kanis JA (2006). "An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures." *Osteoporos Int* 17(12): 1726-1733.
- Kaehler ST, Baumgartner H, Jeske M, Anliker M, Schennach H, Marschang P, et al. (2012). "Prevalence of hypovitaminosis D and folate deficiency in healthy young female Austrian students in a health care profession." *Eur J Nutr* 51(8): 1021-1031.

- Kahraman H, Duman BS, Alagol F, Tanakol R and Yilmazer S (2004). "Lack of association between vitamin D receptor gene polymorphism (BsmI) and osteomalacia." *J Bone Miner Metab* 22(1): 39-43.
- Kanan RM, Al Saleh YM, Fakhoury HM, Adham M, Aljaser S and Tamimi W (2013). "Year-round vitamin D deficiency among Saudi female out-patients." *Public Health Nutr* 16(3): 544-548.
- Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster JY, Borgstrom F, et al. (2008). "European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women." *Osteoporos Int* 19(4): 399-428.
- Kawata H, Kamiakito T, Takayashiki N and Tanaka A (2006). "Vitamin D3 suppresses the androgen-stimulated growth of mouse mammary carcinoma SC-3 cells by transcriptional repression of fibroblast growth factor 8." *J Cell Physiol* 207(3): 793-799.
- Kitanaka S, Isojima T, Takaki M, Numakura C, Hayasaka K and Igarashi T (2012). "Association of vitamin D-related gene polymorphisms with manifestation of vitamin D deficiency in children." *Endocr J* 59(11): 1007-1014.
- Laaksonen MM, Karkkainen MU, Outila TA, Rita HJ and Lamberg-Allardt CJ (2004). "Vitamin D receptor gene start codon polymorphism (FokI) is associated with forearm bone mineral density and calcaneal ultrasound in Finnish adolescent boys but not in girls." *J Bone Miner Metab* 22(5): 479-485.
- Lagunova Z, Porojnicu AC, Lindberg F, Hexeberg S and Moan J (2009). "The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season." *Anticancer Res* 29(9): 3713-3720.
- Lambrinoudaki I, Kaparos G, Armeni E, Alexandrou A, Damaskos C, Logothetis E, et al. (2011). "BsmI vitamin D receptor's polymorphism and bone mineral density in men and premenopausal women on long-term antiepileptic therapy." *Eur J Neurol* 18(1): 93-98.
- Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, Hensrud DD and Holick MF (2008). "Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor?" *J Am Coll Cardiol* 52(24): 1949-1956.
- Legiran S and Brandi ML (2012). "Bone mass regulation of leptin and postmenopausal osteoporosis with obesity." *Clin Cases Miner Bone Metab* 9(3): 145-149.
- Lim SK, Park YS, Park JM, Song YD, Lee EJ, Kim KR, et al. (1995). "Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans." *J Clin Endocrinol Metab* 80(12): 3677-3681.
- Lips P (2001). "Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications." *Endocr Rev* 22(4): 477-501.
- Lips P (2006). "Vitamin D physiology." *Prog Biophys Mol Biol* 92(1): 4-8.
- Lorentzon M, Lorentzon R and Nordstrom P (2001). "Vitamin D receptor gene polymorphism is related to bone density, circulating osteocalcin, and parathyroid hormone in healthy adolescent girls." *J Bone Miner Metab* 19(5): 302-307.
- Maalmi H, Sassi FH, Berraies A, Ammar J, Hamzaoui K and Hamzaoui A (2013). "Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to asthma in Tunisian children: A case control study." *Hum Immunol* 74(2): 234-240.
- MacLaughlin J and Holick MF (1985). "Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3." *J Clin Invest* 76(4): 1536-1538.
- Malloy PJ, Pike JW and Feldman D (1999). "The vitamin D receptor and the syndrome of hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets." *Endocr Rev* 20(2): 156-188.
- McGillivray G, Skull SA, Davie G, Kofoed SE, Frydenberg A, Rice J, et al. (2007). "High prevalence of asymptomatic vitamin D and iron deficiency in East African immigrant children and adolescents living in a temperate climate." *Arch Dis Child* 92(12): 1088-1093.
- McKay JD, McCullough ML, Ziegler RG, Kraft P, Saltzman BS, Riboli E, et al. (2009). "Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk: results from the National Cancer

- Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18(1): 297-305.
- Melamed ML, Michos ED, Post W and Astor B (2008). "25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population." *Arch Intern Med* 168(15): 1629-1637.
- Mencej-Bedrac S, Prezelj J, Kocjan T, Teskac K, Ostanek B, Smelcer M, et al. (2009). "The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegerin and tumour necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density." *J Mol Endocrinol* 42(3): 239-247.
- Mitra S, Desai M and Ikram Khatkhatay M (2006). "Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women." *Maturitas* 55(1): 27-35.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. (1994). "Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles." *Nature* 367(6460): 284-287.
- Murray J (1993). "Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorders of Mineral Metabolism." Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 2nd Edition(Chapter 9): 50-52.
- Ono Y, Suzuki A, Kotake M, Zhang X, Nishiwaki-Yasuda K, Ishiwata Y, et al. (2005). "Seasonal changes of serum 25-hydroxyvitamin D and intact parathyroid hormone levels in a normal Japanese population." *J Bone Miner Metab* 23(2): 147-151.
- Pacifici R, Rothstein M, Rifas L, Lau KH, Baylink DJ, Avioli LV, et al. (1990). "Increased monocyte interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria." *J Clin Endocrinol Metab* 71(1): 138-145.
- Perez A, Ulla M, Garcia B, Lavezzo M, Elias E, Binci M, et al. (2008). "Genotypes and clinical aspects associated with bone mineral density in Argentine postmenopausal women." *J Bone Miner Metab* 26(4): 358-365.
- Pfeifer M, Begerow B and Minne HW (2002). "Vitamin D and muscle function." *Osteoporos Int* 13(3): 187-194.
- Phabphal K, Geater A, Limapichart K, Sathirapanya P, Setthawatcharawanich S, Witeerungrot N, et al. (2013). "The association between BsmI polymorphism and bone mineral density in young patients with epilepsy who are taking phenytoin." *Epilepsia*.
- Rizzoli R, Bonjour JP and Ferrari SL (2001). "Osteoporosis, genetics and hormones." *J Mol Endocrinol* 26(2): 79-94.
- Sainz J, Van Tornout JM, Loro ML, Sayre J, Roe TF and Gilsanz V (1997). "Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepubertal American girls of Mexican descent." *N Engl J Med* 337(2): 77-82.
- Selimoglu H, Duran C, Kiyici S, Ersoy C, Guclu M, Ozkaya G, et al. (2010). "The effect of vitamin D replacement therapy on insulin resistance and androgen levels in women with polycystic ovary syndrome." *J Endocrinol Invest* 33(4): 234-238.
- Sticchi E, Fatini C, Gensini F, Battaglini B, Liotta AA and Abbate R (2004). "High-speed detection of the G894T polymorphism in exon 7 of the eNOS gene by real-time fluorescence PCR with the Light-Cycler." *Biochem Genet* 42(3-4): 121-127.
- Suh KT, Eun IS and Lee JS (2010). "Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis." *Eur Spine J* 19(9): 1545-1550.
- Trinchieri A, Nespola R, Ostini F, Rovera F, Zanetti G and Pisani E (1998). "A study of dietary calcium and other nutrients in idiopathic renal calcium stone formers with low bone mineral content." *J Urol* 159(3): 654-657.
- Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, Grinberg D, Langdahl BL, et al. (2006). "The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis." *Ann Intern Med* 145(4): 255-264.
- Uyanık B (2012). "İdiyopatik Adölesan Skolyozunda Vitamin D Reseptör Geni BsmI Polimorfizmi." *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Uzmanlık Tezi.*

- Uysal AR, Sahin M, Gursoy A and Gullu S (2008). "Vitamin D receptor gene polymorphism and osteoporosis in the Turkish population." *Genet Test* 12(4): 591-594.
- Valdivielso JM and Fernandez E (2006). "Vitamin D receptor polymorphisms and diseases." *Clin Chim Acta* 371(1-2): 1-12.
- van Schoor NM, Visser M, Pluijm SM, Kuchuk N, Smit JH and Lips P (2008). "Vitamin D deficiency as a risk factor for osteoporotic fractures." *Bone* 42(2): 260-266.
- Vidal C, Grima C, Brincat M, Megally N and Xuereb-Anastasi A (2003). "Associations of polymorphisms in the vitamin D receptor gene (BsmI and FokI) with bone mineral density in postmenopausal women in Malta." *Osteoporos Int* 14(11): 923-928.
- Walters MR (1992). "Newly identified actions of the vitamin D endocrine system." *Endocr Rev* 13(4): 719-764.
- Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA and Rasmussen RP (1997). "Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification." *Biotechniques* 22(1): 130-131, 134-138.
- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z and Holick MF (2000). "Decreased bioavailability of vitamin D in obesity." *Am J Clin Nutr* 72(3): 690-693.
- Yu XD, Shen XM, Xue MB and Yan CH (2011). "Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in 0-6-year-old Han children." *J Bone Miner Metab* 29(1): 54-61.
- Zajickova K, Zofkova I and Hill M (2005). "Vitamin D receptor polymorphisms, bone ultrasound and mineral density in post-menopausal women." *Aging Clin Exp Res* 17(2): 121-124.