

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SAĞLIKLI ÇOCUKLARDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİ SIKLIĞI VE 25-HİDROKSİ VİTAMİN D
DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Canozan Biçer
(UZMANLIK TEZİ)

Tez Danışmanları
Dr. Öğr. Üyesi Sefer ÜSTEBAY
Dr. Öğr. Üyesi Döndü Ülker ÜSTEBAY

KARS 2020

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SAĞLIKLI ÇOCUKLARDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİ SIKLIĞI VE 25-HİDROKSİ VİTAMİN D
DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Canozan Biçer
(UZMANLIK TEZİ)

Tez Danışmanları
Dr. Öğr. Üyesi Sefer ÜSTEBAY
Dr. Öğr. Üyesi Döndü Ülker ÜSTEBAY

KARS 2020

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

15/04/2020

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Fakültemiz Dahili Tıp Bilimler Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi **Arş.Gör. Dr. Canozan BİÇER**'in "**Sağlıklı Çocuklarda Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri Sıklığı ve 25-Hidroksi Vitamin D Düzeyleri İle İlişkisi**"konulu uzmanlık tezinin değerlendirilmesi istenmiş olup; tez tarafımızdan incelendi.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19.maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda **Arş. Gör. Dr. Canozan BİÇER**'in tezinin; hazırlanışı, bulguların sunumu, tablo düzeni, tartışma, sonuç, kaynaklar, dil kurallarına uyum ve akıcılık yönünden bilimsel olarak uzmanlık tezi olacak nitelik ve yeterlilikte olduğu kanısına varıldı.

Dr. Öğr. Üyesi Sefer ÜSTEBAY
Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı



Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA KURUMU
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Yrd. Döç. Dr. Elif ÇELİK
Diy. Tes. No: 271899

Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa Bekis BOZKURT
Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı



ÖNSÖZ

Tezimin her aşamasında bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan kıymetli hocalarım, tez danışmanlarım sayın Dr. Öğr. Üyesi Sefer Üstebay ve Dr. Öğr. Üyesi Döndü Ülker Üstebay'a, zorlu asistanlık eğitimimde, klinik tecrübelerini her fırsatta bizlerle paylaşan ve bu meslekte doğru adımlarla ilerlememizde çok büyük emeği olan hocalarım; Prof. Dr. Müferet Ergüven, Doç. Dr. Zafer Bıçakçı, Dr. Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa Bekis Bozkurt, Dr. Öğr. Üyesi Ömer Ertekin, gen polimorfizmi çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Cem Öziç'e,

Aynı ortamda çalışmaktan mutluluk duyduğum, tezimin istatistik çalışmalarında da büyük emeği olan Uzman Dr. Muhammed Hafit Arvas'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca aralarında olmaktan, birlikte çalışmaktan zevk ve onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Materyallerin hazırlanmasında emeği geçen değerli hemşire, sekreter ve personellere,

Hiçbir zaman desteklerini benden esirgemeyen ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan sevgili aileme,

Tüm zorlukları beraber paylaştığım ve benim için tüm fedakarlıklara katlanan sevgili eşime ve biricik kızım Zeynep'e

Çok teşekkür ederim...

Dr. Canozan BİÇER

2020, KARS

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. D Vitamini	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. D Vitamininin Sentezi	3
2.1.3. D Vitamini Metabolizması	5
2.1.4. D Vitamininin Etki Mekanizması ve Vitamin D Reseptörü	7
2.1.5. D Vitamini Sentezi Üzerine Etkili Faktörler	9
2.1.6. D Vitamininin Kalsiyum, Fosfor, Magnezyum, PTH ve Kemik Metabolizması ile İlişkisi	11
2.1.7. D Vitamini ve Osteokalsin	14
2.1.8. D Vitamini ve Alkalen Fosfataz	14
2.1.9. D Vitamini ve Magnezyum İlişkisi	15
2.1.10. D Vitamini Gerekliği	16
2.1.11. D Vitamininin Kemik Metabolizması Dışındaki Etkileri ve İlişkili Olduğu Hastalıklar	16
2.1.12. Serum D Vitamini Normal Düzeyi	17
2.1.13. D Vitamini Eksikliği ve Ülkemizde Durum	18

2.2. Rikets	20
2.2.1. Riketste Klinik Durum.....	21
2.2.2. Riketste Biyokimyasal Değerler ve Evreler	22
2.2.3. Riketste Radyolojik Bulgular	23
2.2.4. Riketste Tedavi	23
2.3. Vitamin D Reseptörü ve Gen Polimorfizmleri	23
2.3.1. Polimorfizm Nedir?	25
2.3.2. VDR Gen Polimorfizmleri	26
2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Çalışmanın Özellikleri	30
3.1.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer	30
3.1.2. Verilerin Toplanması	30
3.1.3. Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri	30
3.1.4. Çalışmaya Dahil Edilmeme Ölçütleri.....	31
3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü.....	31
3.2.1. Kan Numunelerinin Alınması	31
3.2.2. Numunelerin İncelenmesi	31
3.2.3. 25(OH) D Vitamini ve Diğer Parametreler için Örneklerin Toplanması	32
3.2.4. Serum 25-(OH)D2-D3 Düzeylerinin Belirlenmesi.....	32
3.3. Genetik Değerlendirme.....	33
3.3.1. Genetik Polimorfizm için Örneklerin Toplanması	33
3.3.2. Kullanılan Cihazlar	33
3.3.3. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	33
3.3.4. DNA İzolasyonu.....	34

3.3.5. PZR Reaksiyon Koşulları:.....	35
3.3.6. Restriksiyon Enzimleriyle Kesim.....	35
3.4. Verilerin Analizi	36
3.5. Etik Kurul İzni	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	56
7. KAYNAKLAR.....	59



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Vitamin D sentez ve metabolizması	5
Şekil 2.2. D vitamininin sentezlenmesi ve metabolizması	6
Şekil 2.3. Vitamin D ve transkripsiyon.....	8
Şekil 2.4. D vitamininin sistemler üzerindeki etkileri	11
Şekil 2.5. Aktif vitamin D ve etki organları	13
Şekil 2.6. VDR ve hedef doku	24
Şekil 2.7. VDR geni yapısı ve polimorfik bölgeler	25
Şekil 2.8. VDR polimorfik bölgeler.....	27
Şekil 4.1. Tüm popülasyonun yaş dağılımı.....	37
Şekil 4.2. Tüm popülasyonun cinsiyet dağılımı.....	38
Şekil 4.3. Tüm popülasyonun vitamin D düzeylerinin histogram görüntüsü	39
Şekil 4.4. Vitamin D düzeylerinin tüm popülasyon için normallik dağılımı.....	39
Şekil 4.5. Vitamin D düzeylerinin tüm popülasyon için normallik dağılımı.....	39
Şekil 4.6. Vitamin D<20 ng/mL olan bireylere ait PCR sonuçlarının görüntüsü	41
Şekil 4.7. Vitamin D≥ 20 ng/mL bireylere ait PCR sonuçlarının görüntüsü.....	41
Şekil 4.8. Vitamin D<20 ng/mL olan bireylerin ApaI ile kesim görüntüsü.	42
Şekil 4.9. Vitamin D≥ 20 ng/mL olan bireylerin ApaI ile kesim görüntüsü	42
Şekil 4.10. Vitamin D<20 ng/mL olan bireylerin TaqI ile kesim görüntüsü.....	42
Şekil 4.11. Vitamin D≥ 20 ng/mL olan bireylerin TaqI ile kesim görüntüsü.....	43
Şekil 4.12. Tüm popülasyonda ApaI polimorfizmi genotip dağılımı	44
Şekil 4.13. Tüm popülasyonda TaqI polimorfizmi genotip dağılımı.....	44

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. D vitamini sentezi üzerine etkili faktörler.....	9
Tablo 2.2. Kalsiyum ve fosfor metabolizması ve aktif vitamin D	13
Tablo 2.3. Normal serum plazma kalsiyum değerleri	13
Tablo 2.4. Normal serum fosfor değerleri	13
Tablo 2.5. Serum ALP normal değerleri	15
Tablo 2.6. D vitamini reseptörü bulunan dokular.....	17
Tablo 2.7. D vitamini düzeylerinin yorumu (Amerikan Pediatri Akademisi).....	18
Tablo 2.8. Rikets sebepleri	21
Tablo 2.9. Riketste evreler ve laboratuvar.....	22
Tablo 4.1. Gruplar arasında, tüm popülasyonda ve cinsiyetler arasında yaş ortalaması	37
Tablo 4.2. Gruplar arasında, tüm popülasyonda ve cinsiyetler arasında 25(OH)D3 ortalaması	38
Tablo 4.3. Tüm popülasyonda vitamin D dağılımı	40
Tablo 4.4. Grupların ve tüm popülasyonun ortalama laboratuvar değerleri	40
Tablo 4.5. Gruplar ve tüm popülasyonda ApaI polimorfizmi genotipleri dağılımı ..	43
Tablo 4.6. Gruplar ve tüm popülasyonda TaqI polimorfizmi genotipleri dağılımı...	43
Tablo 4.7. Cinsiyete göre ApaI polimorfizmi dağılımı	45
Tablo 4.8. Cinsiyete göre TaqI polimorfizmi dağılımı.....	45
Tablo 4.9. Vitamin D düzeyi ile ApaI polimorfizm genotipleri ilişkisi	45
Tablo 4.10. Vitamin D düzeyi ile TaqI polimorfizm genotipleri ilişkisi.....	45
Tablo 4.11. İki grubun polimorfizmler açısından karşılaştırılması	46

KISALTMALAR**(Alfabetik sıraya göre)****1,25 (OH)₂ D₃**: 1,25 Dihidroksi Vitamin D₃**25(OH)D**: 25 Hidroksi Vitamin D**AAP**: Amerikan Pediatri Akademisi**ABD**: Amerika Birleşik Devletleri**ALP**: Alkalen Fosfataz**ATP**: Adenozin Trifosfat**BGP**: Kemik Gla protein**c AMP**: Siklik Adenozin Monofosfat**Ca²⁺**: Kalsiyum**DBP**: D Vitamini Bağlayıcı Protein**DHC**: Dehidrokolesterol**DNA**: Deoksiribonükleik Asit**DSÖ**: Dünya Sağlık Örgütü**EDTA**: Etilen Diamin Tetraasetik Asit**FGF- 23**: Fibroblast Growth Factor- 23**HCL**: Hidrojen Klorür**HIV**: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü**IP₃/DAG**: İnositol trifosfat/ Diaçil gliserol**KAÜ**: Kafkas Üniversitesi**Mg**: Magnezyum**NaCl**: Sodyum Klorür**Na-PO₄**: Sodyum Fosfat**NF-KB**: Nükleer Faktör Kappa B**P**: Fosfor**PCR**: Polimeraz Zincir Reaksiyonu**PKC**: Fosfokinaz C**PLC**: Fosfolipaz C**PTH**: Parathormon**PZR**: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RANKL: Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa B Ligandı

RFLP: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

RXR: Retinoik Asit X Reseptörü

SD: Standart Sapma

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

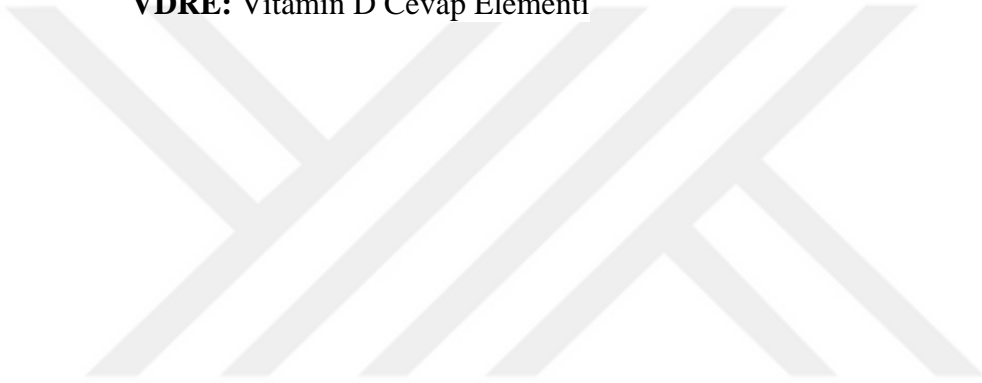
T.C.: Türkiye Cumhuriyeti

UTR: Translasyona Uğramayan Bölgeler

UV-B: Ultraviyole B

VDR: Vitamin D Reseptörü

VDRE: Vitamin D Cevap Elementi



ÖZET

Sağlıklı Çocuklarda Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri Sıklığı ve 25-Hidroksi Vitamin D Düzeyleri ile İlişkisi, Biçer C, Kafkas Üniveristesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Uzmanlık Tezi: Kars, 2020.

Amaç: D vitamini eksikliği hem çocuklarda hem yetişkinlerde önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Vitamin D'nin etkilerini reseptörleri aracılığı ile yaptığı bilinmektedir. Bu konuda üzerinde en çok çalışılan Vitamin D Reseptörü (VDR)'dür. VDR genindeki farklı polimorfizmlerin bazı hastalıklara yatkınlık oluşturduğu ve vitamin D eksikliği üzerine etkisinin olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. VDR'nin ApaI, TaqI, FokI ve BsmI polimorfizmleri saptanmıştır. Üzerinde en fazla çalışılan bu dört polimorfizmdir. Çalışmamızda sağlıklı, vitamin D eksikliği veya fazlalığına dair herhangi bir klinik şikayeti olmayan ve normal fizik muayene bulgularına sahip çocuklarda VDR ApaI ve TaqI gen polimorfizmi sıklığı ve bu polimorfizmlerin vitamin D düzeyleri ile olan ilişkisini saptamayı hedefledik.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamıza toplam 124 olmak üzere aynı bölgede yaşayan, sağlıklı, herhangi bir klinik şikayeti olmayan, normal fizik muayene bulgularına sahip çocuklar dahil edildi. Sağlıklı çocuk izlemi için bakılan rutin tetkikler sonucunda, D vitamini düzeyleri bakımından normal değerlere sahip 52 çocuk ve düşük değerlere sahip 72 çocuk ele alındı. Düşük değerlere sahip olanlar kendi içinde D vitamini yetersizliği, eksikliği ve şiddetli eksikliği olarak gruplandırıldı. Çalışmaya dahil olan olgularımızın demografik özellikleri belirlendi. Alınan kan örneklerinde D vitamini, Kalsiyum, Fosfor, Alkalin fosfataz, Magnezyum ve Paratiroid Hormon çalışıldı. Ayrıca alınan periferik kan örneğinden Deoksiribonükleik Asit (DNA) izolasyonu yapıp Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri belirlendi ve gruplar arasında karşılaştırma yapıldı.

Bulgular: Tüm çalışma grubunda ApaI polimorfizmi için AA genotipi %32, Aa genotipi %57, aa genotipi ise %11, TaqI polimorfizmi için TT genotipi %42, Tt genotipi %48, tt genotipi ise %10 olarak bulundu. Vitamin D düzeyleri 20 ng/mL altında olan grupta AA genotipi %35, Aa genotipi %55 ve aa genotipi %10, TT

genotipi %43, Tt genotipi %47, tt genotipi %10 bulundu. Vitamin D düzeyleri 20 ng/mL ve üzeri olan grupta ise AA genotipi %29, Aa genotipi %60 ve aa genotipi %11, TT genotipi %40, Tt genotipi %48, tt genotipi ise %12 bulundu. Grupların karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Polimorfizmler ve vitamin D düzeyi karşılaştırıldığında ise vitamin D düzeyi AA genotipinde 19.58 ng/mL, Aa genotipinde 22.94 ng/mL ve aa genotipinde 26.85 ng/mL, TT genotipinde 20.69 ng/mL, Tt genotipinde 24.10 ng/mL ve tt genotipinde 20.23 ng/mL bulundu. Genotipler arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi. Tüm popülasyonda ortalama D vitamini düzeyi ise 23.49 ng/mL olarak tespit edildi.

Sonuçlar: Sağlıklı, vitamin D eksikliği veya fazlalığına dair herhangi bir klinik şikayeti olmayan ve normal fizik muayene bulgularına sahip çocuklar ile yapılan çalışmamızda, ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin genotipleri ve vitamin D düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı, yine vitamin D düzeyleri bakımından ikiye ayrılan gruplar arasında VDR ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda ele alınan polimorfizmlerin vitamin D eksikliğine yatkınlık oluşturmadığı belirlendi. Çalışmamızda D vitamini seviyelerine göre klinik semptomların yokluğu bu durumun polimorfizmler ile ilişkisini düşündürmektedir. Çalışmamız vitamin D eksikliğinin halen bir halk sağlığı sorunu olduğunu göstermesi açısından önemlidir ve bölgemizde yapılacak VDR gen polimorfizm çalışmalarına ışık tutacak nitelikte olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Vitamin D Reseptör Geni, ApaI ve TaqI, D vitamini, polimorfizm

ABSTRACT**Frequency of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Healthy Children and Association with 25-Hydroxy Vitamin D Levels, Biçer C, Kafkas University School of Medicine, Department of Pediatrics Thesis: Kars, 2020.**

Aim: Vitamin D deficiency has become an important public health problem in both children and adults. Vitamin D is known to exert its effects through receptors. Vitamin D Receptor (VDR) is the most commonly studied receptor. Different polymorphisms in the VDR gene have been demonstrated in many studies to cause susceptibility to some diseases and to effect vitamin D deficiency. The ApaI, TaqI, FokI and BsmI polymorphisms of VDR have been detected. These are the four most frequently studied polymorphisms. In our study, we aimed to detect the frequency of VDR ApaI and TaqI gene polymorphisms and the association of these polymorphisms with vitamin D levels in children who have healthy clinical findings and who do not have any clinical complaints about vitamin D deficiency or excess.

Material and Methods: In our study, a total of 124 children living in the same region, healthy, without any clinical complaints and having normal physical examination findings were included. As a result of routine examinations for healthy child surveillance, in terms of vitamin D levels, 52 children with normal values and 72 children with low values were considered. Those with low values were grouped in themselves as vitamin D insufficiency, deficiency and severe deficiency. The demographic characteristics of the cases included in the study were determined. Vitamin D, Calcium, Phosphorus, Alkaline Phosphatase, Magnesium and Parathyroid Hormone were studied in the blood samples obtained. In addition, Deoxyribonucleic Acid (DNA) isolation was performed in the peripheral blood sample and the VDR ApaI and TaqI polymorphisms were determined by the Polymerase Chain Reaction (PCR) method and comparison was made between the groups.

Results: In the whole study group, the AA genotype was found to be %32, the Aa genotype %57, and the aa genotype was found to be %11 for the ApaI

polymorphism, the TT genotype was found in %42, the Tt genotype in %48, and the tt genotype was found in %10 for the TaqI polymorphism. In the group with vitamin D levels below 20 ng/mL, the AA genotype was seen in %35, Aa genotype in %55, aa genotype in %10, TT genotype in %43, Tt genotype in %47 and the tt genotype in %10. In the group with vitamin D levels of 20 ng/mL and above, the AA genotype was found in %29, Aa genotype in %60, aa genotype in %11, TT genotype in %40, Tt genotype in %48, and the tt genotype in %12. No statistically significant difference was found in the comparison of the groups. When polymorphisms and vitamin D levels were compared, the vitamin D level was found as 19.58 ng/mL in the AA genotype, 22.94 ng/mL in the Aa genotype, 26.85 ng/mL in the aa genotype, 20.69 ng/mL in the TT genotype, 24.10 ng/mL in the Tt genotype and 20.23 ng/mL in the tt genotype. No statistically significant difference was discovered between the genotypes. The average level of vitamin D was detected as 23.49 ng/mL in the entire population.

Conclusions: In our study with healthy children who did not have any clinical complaints about vitamin D deficiency or excess and who had normal physical examination findings, no statistically significant association was found between the genotypes of ApaI and TaqI polymorphisms and vitamin D levels, and there was no statistically significant difference between the groups of VDR ApaI and TaqI gene polymorphisms. It was revealed that the polymorphisms discussed in this present study resulted in no susceptibility to vitamin D deficiency. In our study, the absence of clinical symptoms according to vitamin D levels suggested that this was related to polymorphisms. This study is important since it demonstrates that vitamin D deficiency is still a public health problem. This study will shed light on the VDR gene polymorphism studies to be conducted in this region.

Keywords: Vitamin D Receptor Gene, ApaI and TaqI, vitamin D, polymorphism

1. GİRİŞ VE AMAÇ

D vitamini ciltte güneş ışınlarından biri olan ultraviyole-B (UV-B) etkisiyle sentezlenen, az miktarda da bitkisel ve hayvansal gıdalarla alınan, karaciğerde 25 ve böbrekte 1 α pozisyonunda hidroksillendikten sonra aktivasyonunu sağlayan yağda çözünen önemli bir vitamindir. Öncelikle böbrek, ince bağırsak ve kemik üzerine etkilerini göstererek, vücutta kalsiyum (Ca^{+2}) dengesini sağlar (Gupta ve ark. 2011).

Birçok dokuda vitamin D reseptörünün (VDR) bulunması bu vitaminin fonksiyonları hakkında yeni görüşler ortaya koymuştur. Etkilerini D vitaminin aktif formu olan 1,25 Dihidroksi Vitamin D3 (1,25(OH)₂ D3)'ün vitamin D reseptörüne bağlanması ve sonrasında biyolojik etkilere aracılık eden gen gruplarının transkripsiyonlarını düzenleyerek gösterir (Dusso ve ark. 2005). D vitamini reseptörünün immün sistem, kan hücreleri ve santral sinir sistemi gibi birçok değişik dokuda da olduğu gösterilmiştir. Ayrıca immünmödülatör, antiinflamatuvar, antineoplastik, hormonal salgılanımın düzenlenmesi, hücresel proliferasyon-diferansiasyon gibi etkileri olduğu yapılan çalışmalarda anlaşılmıştır (Holick 2004; Cinaz 2014).

Günümüzde D vitamini eksikliği artık küresel bir salgın olarak kabul görmektedir (Wacker ve Holick 2013). Güneş ışığından yeterince yararlanılmaması, besinlerle alım azlığı, annede azalmış D vitamini seviyeleri, koyu cilt renginde olunması, güneş koruyucu kremlerin fazlaca kullanımı, obezite, malabsorbsiyon, antikonvülsan ve glikokortikoid gibi ilaç kullanımı nedeniyle D vitamini eksikliği sık görülmektedir. En sık etkenler ise güneş ışığına yetersiz maruziyet ve diyetle alım azlığıdır (Balaubramanian ve ark. 2013; Saggese ve ark. 2015). Türkiye'de yapılan bir çalışmada bebeklerin kord kanından 25 Hidroksi Vitamin D (25(OH)D) düzeyi ölçülmüş, kord kanındaki 25(OH)D düzeyleri 10ng/mL altında bulunmuştur (Kaya ve ark. 2012). Ülkemizde Ankara bölgesinde yapılan bir çalışmada, çocuklarda %51.8 gibi oldukça yüksek oranda D vitamini eksikliği ve %20.7 oranında D vitamini yetersizliği belirlenmiştir (Uçar ve ark. 2012).

Kemik yoğunluğu üzerine birçok çevresel faktörün etkili olmasının yanında kemik kütlesi bakımından insanlar arasındaki çeşitliliğin önemli bir bölümünün genetik kaynaklı olduğu saptanmıştır (Baim ve ark. 2008). D vitamininin fonksiyon göstermesi için sadece serum 25(OH)Vit D düzeyi yeterli olmamakta, başka

faktörlerde rol oynamaktadır. Aktif D vitamininin fonksiyonunu yapmasında transkripsiyon faktörü ile aktive edilen bir ligand olan VDR aracılık etmektedir. VDR geni üzerine yapılan çalışmalarda birçok polimorfizm saptanmış ve bunlar FokI, BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri olarak adlandırılmıştır (Valdivielso ve Fernandez 2006). Vitamin D Reseptör gen polimorfizmleri ile D vitamini seviyeleri arasında ilişki ile ilgili birçok çalışma yapılmış olup, farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı klinik çalışmalarda, D vitamini düzeylerinin, D vitamininin metabolizmasında yer alan proteinlerin genlerindeki polimorfizmlerle ilişkisi ortaya çıkarılmıştır (Junaid ve ark. 2015; Thanapirom ve ark. 2017; Zheng ve ark. 2017). Yapılan bir çalışmada VDR genindeki polimorfizmlerin D vitamini düşüklüğüne neden olabileceği saptanmıştır (Bhanushali ve ark. 2009; Smolders ve ark. 2009). Japonya'da yapılan D vitamini ile ilişkili polimorfizmler ve D vitamini düzeyi çalışmasında polimorfizmlerin vitamin D eksikliğine neden olduğu ile ilgili anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Armas ve ark. 2010).

Bugüne kadar VDR Apa ve Taq polimorfizmi ile ilgili farklı hastalıklarda ve sağlıklı popülasyonda birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmamızda Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Pediatri Polikliniği'ne sağlıklı çocuk izlemi için başvuran, yaş grubu 12 ay-18 yaş olan, vitamin D eksikliği veya fazlalığına dair herhangi bir klinik şikayeti olmayan ve normal fizik muayene bulgularına sahip çocuklarda VDR Apa ve Taq polimorfizmi sıklığını ve genotip tiplendirmesini ve bu polimorfizmlerin vitamin D düzeyi ile olan ilişkisini, vitamin D düzeyinin bölgemizdeki sağlıklı çocuklarda ne durumda olduğunu saptamayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. D Vitamini

2.1.1. Tanım

D vitamini, vücutta kalsiyum ve fosfor metabolizmasında önemli rolü olan iskelet sisteminin gelişimi ve kemik mineralizasyonunun devamı için gerekli olan yağda eriyen bir vitamindir (Saner 2011). Ayrıca endojen olarak da uygun biyolojik ortamda sentezlenebilen hormon ve hormon öncüleri olan bir grup steroldür (Champe ve ark. 2007). D vitamini ergokalsiferol (Vitamin D2) ile kolekalsiferolün (Vitamin D3) ortak adıdır. Vitamin D2 ve Vitamin D3'ün her ikisi de aynı yollar vasıtasıyla metabolize olur ve eşit etki gücüne sahiptirler. İnsan vücudunda sadece vitamin D3 sentezlenebilmektedir (Dusso ve ark. 2005; Ataş ve ark. 2008).

2.1.2. D Vitamininin Sentezi

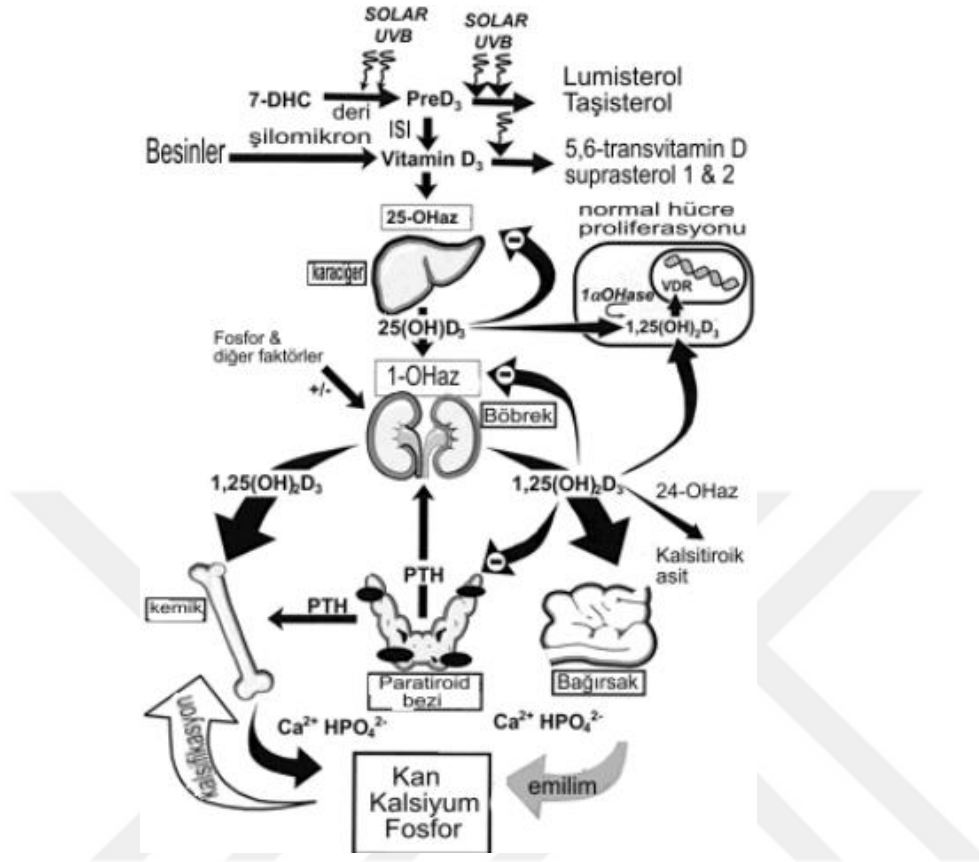
D vitamininin deride sentezlenen kolekalsiferol (vitamin D3) ve besinlerle alınan ergokalsiferol (vitamin D2) olmak üzere iki kaynağı bulunmaktadır. Gıdalarla alınan vitamin D2 ve vitamin D3, ince bağırsakta misellere katılırlar ve proksimal ince bağırsaktan emilimi gerçekleşir. Emilen vitamin D2 ve vitamin D3 spesifik bir globüline bağlı olarak kanla karaciğere taşınır (Kochupillai 2008). Vitamin D2 bitkilerde, yosunlarda ve mantarlarda bulunur, vitamin D3 ise hayvan dokularında bulunur. D vitamini en fazla yağlı balıklarda, karaciğerde, yumurta sarısında, maydanoz, brokoli, süt ve süt ürünlerinde bulunmaktadır (Holick 2006). Anne sütünün D vitamini içeriği fakirdir ve yaklaşık 10-60 U/L D vitamini içermektedir (Henderson 2005).

D vitamininin temel kaynağını güneş ışığı sağlar. Sentez fonksiyonu; bulunan enleme, güneş ışığındaki mevsimsel değişimlere, güneş ışınlarının yeryüzüne geldiği açıya (Zenith açısı), hava kirliliği düzeyine, koruyucu kremlere, giyinme tipine, cildin pigmentasyon miktarına ve daha birçok faktöre bağlıdır (Ersöz 2002; McCormick ve Klee 2005). Güneşin 290-310 nm dalga boyundaki ışınlarının etkisi ile epidermiste 7-dehidrokolesterol'ün (pro-vitamin D3) non-enzimatik fotolizi sonucunda, önce previtamin D3 sentezlenir, beraberinde ise derideki pro-vitamin

D3'ten vitamin D3'ün sentezi, organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır ve 15 dakika kadar kısa bir sürede pro-vitamin D3'ten pre-vitamin D3 sentezi gerçekleşir ve en yüksek düzeye ulaşır. Pre-vitamin D3'ten vitamin D3'e dönüşüm oldukça yavaş hızda, ısıya duyarlı olarak izomerizasyon ile gerçekleşir ve bu durum organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır. UV ışığa veya solar radyasyona uzun bir süre maruz kalınması durumunda pre-vitamin D3 biyolojik etkisi olmayan lumisterol ve takisterol gibi bir takım fotoliz inaktif yan ürünlerine dönüşür. Yani bir kere deride pre-vitamin D3 olduğu zaman ya vitamin D3'e ya da inaktif metabolitlere dönüşmektedir. Aynı zamanda deride sentezlenen vitamin D'nin fazlası da yine UV etkisi altında inaktif fotoliz yan ürünlerine dönüşmektedir. Bu durum gereksiz vitamin D sentezini önleyerek canlıyı intoksikasyondan koruyan bir kontrol mekanizması oluşturur (Holick ve Chen 2008).

Deriden vitamin D3 sentezini belirleyen en önemli faktörlerden biri de melanin pigmentidir. Melanin doğal bir filtre görevine sahip olup özellikle vitamin D3 sentezlettiren 290-310 nmol dalga boyundaki UV ışınlarını emer ve deri pigmenti melanin pro vitamin D3 ile güneş ışığı için yarışmaya sokulur. Bu nedenle koyu cilt rengine sahip kişilerin eşit miktarda vitamin D sentezi için daha fazla oranda güneş ışığına maruz kalmaları gerekmektedir (Dusso ve ark. 2005).

2.1.3. D Vitamini Metabolizması

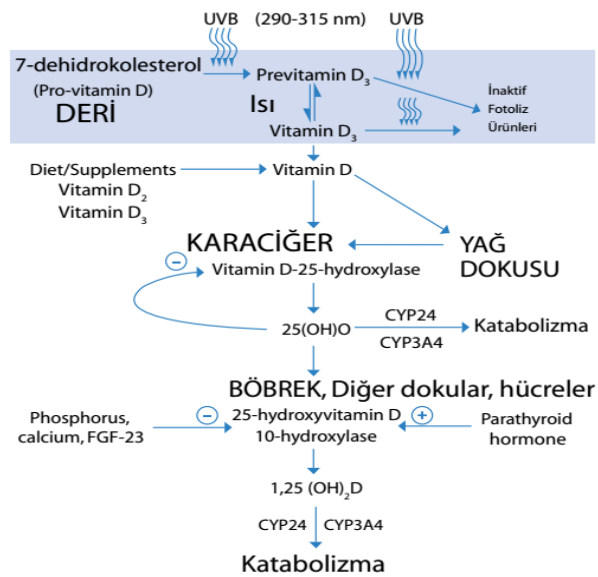


Şekil 2.1. Vitamin D sentez ve metabolizması (Holick ve Chen 2008).

Gıdalar ile alınan ve deriden sentezlenen D vitamini kan dolaşımına geçer. D vitamini bağlayan proteine (DBP) ve az miktarda da bir serum proteini olan albümine bağlı taşınır (Agnello ve ark. 2017). DBP, D vitamini bütün formlarını bağlama özelliğine sahiptir. DBP'ye bağlı D vitamini karaciğere gelir ve ilk hidrosillenme 25-hidroksilaz enzimi (CYP2R1) ile mitokondri ve mikrozoamlarda 25. pozisyonda gerçekleşir ve kaynağına bağlı olarak, 25-hidroksiergokalsiferol $25(\text{OH})\text{D}_2$ veya 25 hidroksikolekalsiferol $25(\text{OH})\text{D}_3$ oluşur ve bunlara 25(OH)D vitamini ya da "kalsidiol" denir (Grotz ve ark. 1995). Sentezlenen 25(OH)D vitamini DBP'ye bağlanarak böbreğe taşınır. DBP-25(OH)D kompleksi böbrekte tübül 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 çevrilir. 24-25(OH)D daha az aktiftir ve katabolize edilir. DBP

25(OH)D, 1-25(OH)₂D ve 24-25(OH)D metabolitlerine bağlanır ve aminoasit yapısı olarak albumine benzerliği dikkat çekicidir (Dursun 2007). 1 α hidroksilaz enzimi D vitamininin sentezinde en önemli enzimdir. Bu enzimin aktivitesinin düzenlenmesinde parathormon (PTH), kalsiyum, fosfor ve fibroblast growth factor-23 (FGF-23)' ün etkileri önemli rol oynar. PTH, D vitamini düzeyini belirli oranda arttırmaktadır. Serum kalsiyum düzeyi azaldığında D vitamini sentezi artmaktadır. Serum fosfor düzeyi azaldığında D vitamini düzeyi artmaktadır. FGF-23 D vitamini sentezini baskılamaktadır. FGF-23 kemikten salınmakta, böbrek ve ince barsak hücrelerinde sodyum–fosfat (Na-PO₄) ko-transportuna neden olmaktadır. FGF-23 1,25(OH)₂D sentezini baskılamakta ve 24 hidroksilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)₂D'yi inaktif formuna çevirmektedir (Dusso ve ark. 2005; Hatun ve ark. 2003).

D vitamininin inaktif hale gelmesini sağlayan enzim olan 24 hidroksilaz, hem karaciğerde hem de böbrekte bulunur. D vitamini, bu enzim ile inaktif hali olan kalsitroik asite dönüşür ve safra yoluyla atılır. 24 hidroksilaz enziminin miktarı ya da aktivitesinin düşük olması 1,25(OH)₂D vitamininin miktarının yüksek olmasına neden olur. Ayrıca vücuttaki D vitamini düzeyi arttığında negatif geri bildirim ile 1 α hidroksilaz inhibe edilir ve 24 hidroksilaz aktive olur ve böylece D vitamini, kendi yıkımını artırır bir hale gelir (Eyles ve ark. 2003).



Şekil 2.2.D vitamininin sentezlenmesi ve metabolizması (Özkan ve Döneray 2011).

2.1.4. D Vitamininin Etki Mekanizması ve Vitamin D Reseptörü

D vitamininin aktif metaboliti olan kalsitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), hedef dokulardaki etkileşimini VDR ve hedef genin promotör bölgesindeki vitamin D cevap elementine (VDRE) bağlı yapmaktadır. VDRE hormonunun DNA'ya bağlanma bölgesi ile etkileşimi ve bunun sonucunda onun hetero veya homodimerizasyonunun oluşmasına etki eder. Her farklı gen için farklı VDRE görev yapar. Kalsitriolün VDR'ye bağlanması, kalsiyum dengesini sağlayacak olan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonuna yardımcı olmaktadır (Uçar 2015).

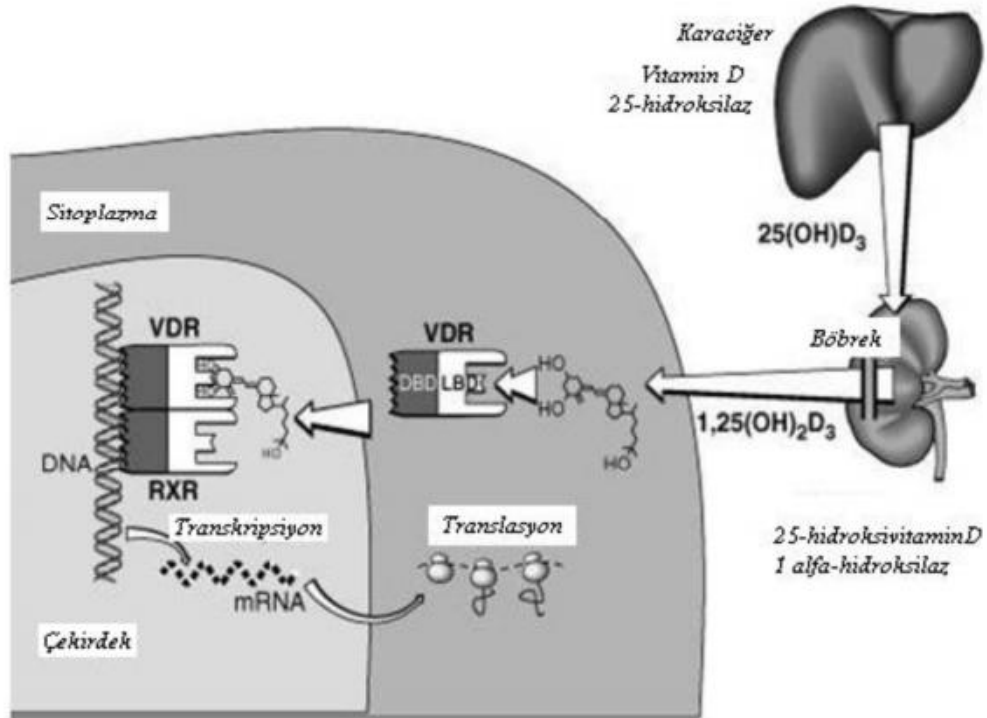
D vitamininin, hücre üzerindeki etkisi aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamininin reseptör etkileşimi ile olmaktadır. Bu etkileşim, steroid hormonlarında kullandığı direkt çekirdekte bulunan VDR üzerinden gen transkripsiyonunu düzenleyerek (genomik etki) ya da bu etkiden farklı olarak direkt hücre zarındaki VDR üzerinden (genomik olmayan etki) oluşmaktadır. Hücre zarındaki VDR üzerinden olan bu nongenomik etki çok kısa sürede gerçekleşirken, çekirdek üzerinden olan genomik etki için daha uzun süre gerekmektedir (Holick 2010).

Hücre çekirdeğinde gerçekleşen genomik yolda DBP'lerle dokulara taşınan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ hücre içine girerek VDR ile birleşir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR kompleksi hücre çekirdeğinde retinoik asit X reseptörü ile birleşir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR-RXR bileşiği, deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde bulunan, VDRE olarak bilinen yere bağlanır. Bu bağlanmanın sonucu olarak, bağırsaklarda Ca kanallarının ve Ca bağlayıcı proteinlerin (kalbindin) sentezi yapılmakta ve Ca emilimi düzenli şekilde gerçekleşebilmektedir. Bu üçlü kompleks yapı bazı genlerin (osteokalsin, kalsiyum bağlayan protein, 24-hidroksilaz) transkripte olmasına neden olurken bazı genlerin ise (enflamatuar genler, IL-2, IL-12) transkripsiyonunu azaltır (Adams ve Hollis 2002; Dursun 2007; Bringhurst ve ark. 2003).

Hücre zarındaki VDR üzerinden olan genomik olmayan etki hücre içi sinyal yolları ile oluşur ve hücre membranındaki VDR, kalsiyum ve klor iyonlarının transmembran geçişini değiştirerek, G proteini, İnositol trifosfat/Diaçil gliserol (IP3/DAG), Fosfolipaz C (PLC), Fosfokinaz C (PKC) gibi hücre içi sinyal iletiminde görevli enzimler aktive olur (Pusceddu ve ark. 2015). D vitamini plazma membranındaki D vitamini reseptörlerine bağlanarak sitoplazma içerisinde protein kinaz C, mitojenle aktive olmuş protein kinaz, fosfolipaz A2 ve fosfolipaz C gibi

ikincil haber yolaklarını aktive eder (Bringham ve ark. 2008; Christakos ve ark. 2010). Bu yolak ile hücre membranındaki kalsiyum kanalları aktifleşir. En aktif olduğu bölgeler pankreas beta hücrelerinde, düz kaslarda, kalp kası hücrelerinde, barsak hücrelerinde ve monositlerdedir. Bu aktivasyonun Tip 1 diyabet, Psöriazis, Romatoid artrit, Crohn hastalığı, Hipertansiyon, Multipl skleroz, Kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanserlerin mekanizması ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür (Dursun 2007; Mizwicki ve Norman 2009).

Yapılan çalışmalarda aktif D vitamininin total genomun %0.8-5'ini regüle ettiği belirlenmiştir (Güleken 2012). VDR; steroidler, retinoik asit ve tiroid hormon reseptörlerini kapsayan transkripsiyon düzenleyici faktörler süper ailesindedir. Aktif D vitamini zarı geçtikten sonra her reseptörde hormon bağlayıcı kısma bağlanır. Reseptör üzerinde bulunan DNA bağlayıcı bölge ve transkripsiyon aktive edici bölge birlikte genomik etkiyi ortaya çıkarır (Bouillon ve ark. 2008).



Şekil 2.3. Vitamin D ve transkripsiyon (Değişli 2010).

2.1.5. D Vitamini Sentezi Üzerine Etkili Faktörler

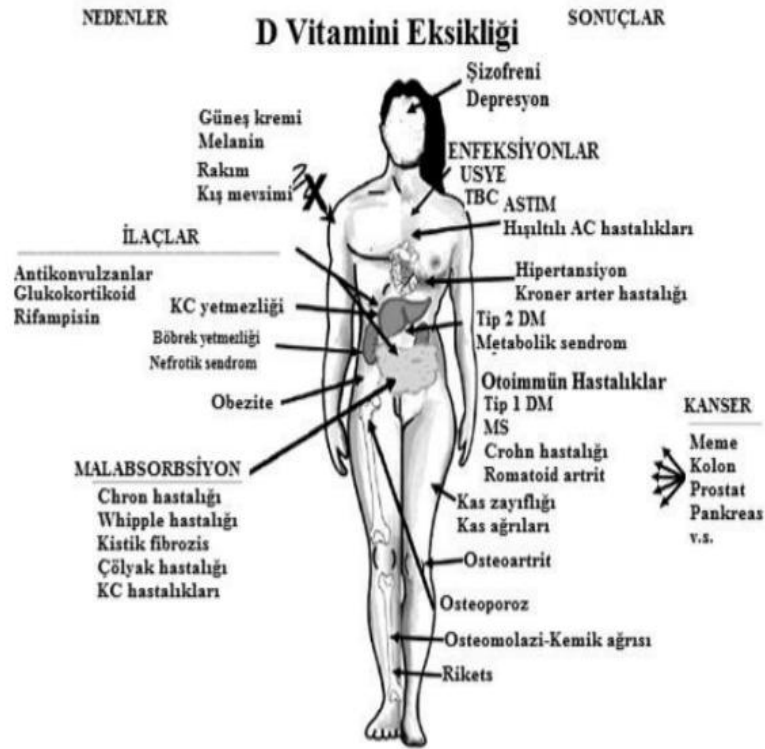
Tablo 2.1. D vitamini sentezi üzerine etkili faktörler

1. D vitamininin yetersiz sentezi ya da yetersiz alımı
Etnik ve genetik farklılıklar
Yaş
Cilt pigmentasyonu
Güneş koruyucu kullanımı
Mevsimler ve enlem
Dışarıda geçirilen süre
Kapalı giyinme
Obezite
Atmosferik hava kirliliği
D vitamini içeriği düşük olan besinlerin tüketilmesi
2. D vitamini metabolizması bozuklukları ve yetersiz emilimi
Kolestatik karaciğer hastalıkları
Renal hastalıklar
Pankreatik yetmezlik
Sitokrom P-450 enzimin indüksiyonu (fenitoin, fenobarbital)

D vitamini ihtiyacının az bir kısmı diyet ile karşılanırken, %90-95'i, vücudumuzun en büyük organı olan deride mor ötesi ışınların etkisi ile 7-DHC'nun fotoizomerizasyonu ile gerçekleştirilmektedir (Özkan ve Döneray 2011). Koyu cilt rengine sahip olma veya yetersiz güneş ışığı maruziyetinin neden olduğu sınırlı deri sentezi ve gıdalarla yetersiz alım, düşük 25(OH)D seviyesinin en önemli nedenleridir. Vitamin D'nin deri yoluyla emilimi kış boyunca güneş ışınlarının açısının değişmesi ve güneş ışığına maruziyetin azalması nedeniyle azalır. Deri pigmentasyonu da vitamin D eksikliği üzerinde önemli faktörlerden biridir. Koyu tenli insanlarda yüksek oranda bulunan melanin, UVB ışınlarının emilimini bloke eder ve vitamin D ileumdan emildiği için birçok gastrointestinal bozukluk eksikliğe neden olabilir. Crohn ve Çölyak hastalığı gibi malabsorbsiyon sendromları, vitamin D eksikliği ile koreledir. Obezite de vitamin D eksikliğine neden olabilir, çünkü yağda çözünen vitamin dolaşıma katılmak yerine yağ dokuda depo edilir (Heath ve Elovic 2006). Eşit derecede güneş ışığından faydalanan obez bireylerin, obez olmayan bireylerin yarısı kadar D vitamini ürettiği gösterilmiştir. Yağ dokusunda depolanan D vitamini kış aylarında üretimi azaldığında veya oral alımı yetersiz kaldığında dolaşıma salınarak metabolize olur. Bununla birlikte, yağ dokusunun

miktarı ile serum vitamin D düzeyleri arasında ters bir ilişki vardır. Obez kişilerde serum 25(OH)₂D düzeyinin normal ağırlıklı olanlara göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Çimen ve Bölgen Çimen 2016). Vitamin D eksikliğinin diğer risk faktörleri arasında ileri yaş, genetik faktörler, geleneksel olarak kapalı giyinen toplumda yaşama, kapalı ortamda bulunma, koruyucu güneş kremi kullanımı, fiziksel inaktivite, sigara, hava kirliliği, böbrek hastalığı, karaciğer hastalığı, antikonvülzanlar ve glukokortikoidler gibi D vitamini metabolizmasını etkileyen ilaçların kullanımı da yer alır (Lavie ve ark. 2011).

D vitamini seviyesi ve böbrek hastalıkları: D vitamini sentezinin 1- α hidroksilasyonu yapan enzimi renal proksimal tübüllerde bulunur. Dolayısı ile renal patolojilerin D vitamini üzerine etkileri beklenen bir durumdur. Ayrıca son dönem böbrek hastalarında aktif D vitamini sentezi ölçülemeyecek düzeye ulaşmaktadır. Böbrek hastalıklarında aktif D vitamin düzeyinin azalması PTH düzeyinin artmasına ve kemik dokudan artan PTH'nın istenmeyen etkileri ile sonuçlanır. Bir yandan azalan D vitamini sonucunda gelişen hipokalsemi, diğer yandan fosfor retansiyonu sonucu gelişen hiperfosfotemi artan PTH sekresyonu ile birlikte kronik böbrek hastalıklarındaki osteodistrofiden başlıca sorumlu tutulan durumdur (Özkan ve Döneray 2011). Renal patolojilerde ortaya çıkan masif proteinüriye bağlı olarak böbrekten D vitamin bağlayıcı protein 25(OH)D kompleksinin aşırı atılımı olur. Bu durum böbrek hastalıklarında 25(OH)D düzeylerinin azalmasından sorumlu tutulan diğer etken olarak akılda tutulmalıdır (Tsiaras ve Weinstock 2011).



Şekil 2.4.D vitamininin sistemler üzerindeki etkileri (Holick ve Chen 2008).

2.1.6. D Vitamininin Kalsiyum, Fosfor, Magnezyum, PTH ve Kemik Metabolizması ile İlişkisi

D vitamininin temel görevi bağırsaklardan Ca ve P emilimini sağlayıp PTH ile birlikte organizmanın kalsiyum/fosfor dengesini oluşturmaktır. D vitamini eksik ise diyetle alınan kalsiyumun sadece %10-15'i, fosforun ise %60'ı emilebilmektedir. Aktif D vitaminin (1,25(OH)₂ D vitamini) VDR ile etkileşimiyle kalsiyum emilimi %30-40'a, fosfor emilimi %80'e kadar artmaktadır (Holick 2007). 1,25 (OH)₂ D'nin asıl etkisi bağırsaktan kalsiyumun emilimini normal seviyede tutarak normokalsemiyi oluşturmak ve hipofosfatemiyi engelleyerek kemik sağlığının devamını yerine getirmektir. Vücudumuzda Ca ve D vitamini düzeyi normal olduğunda D vitamini barsaklar ve böbreklerden Ca, P emilimini uyararak kemik mineralizasyonu üzerinde pozitif olarak etki oluşturur. Fakat hipokalsemi durumunda aktif D vitamini osteoklastları aktive ederek kemik yıkımını aktive eder ve hipokalsemiyi düzeltici yönde etkiler. Kalsiyum seviyesinin normal sınırlarda

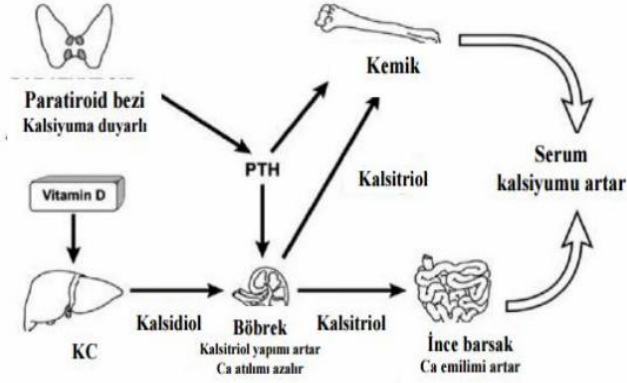
tutulamaması kemikten Ca mobilizasyonuna neden olur ve osteoporoz gelişir (Pettifor ve Prentice 2011).

Gıdalar ile alınan Ca bağırsak mukozasından iki farklı yol ile emilir. Barsak hücreleri içinde kalsitriol VDR'ye bağlanarak kalsiyum bağlayıcı proteini oluşturur, böylece hücre içine aktif geçiş yapılır. Kalsiyumun hücre dışı sıvılardan hücre içine geçişi adenosin trifosfat (ATP) bağımlı mekanizmalarla (aktif geçiş), hücreler arası geçişi ise pasif yolla ATP denbağımsız olur. En fazla kalsiyum emilimi D vitaminine bağımlı aktif geçiş yoluyla olur (Christakos ve ark. 2011).

Dolaşımda uzun süre bulunan kalsitriolü metabolize eden enzimlerin aktivitesi kalsitriole bağlanıp artar ve gelişen hipokalsemi sonucu PTH yükselir (Javorsky ve ark. 2006). D vitamini osteoblastik hücrelerin yüzeylerinde bulunan VDR'ye bağlanarak, plazma membran protein reseptörü olan NF-KB ligand (RANKL) yapımını bu sayede artırmaya başlar. Daha sonraki mekanizma ile de RANK-RANKL ile birleşir, buda preostoklastların olgun osteoklastlara dönüşmesinde önemli rol oynar. Bunlarda hidroklorik asit ve kollejenaz oluşturarak kemikte depo halindeki kalsiyum ve fosforun kana salınmasına sebep olurlar (Dursun 2007; Holick 2005; Morrison ve ark. 1994; Bringhurst ve ark. 2003).

Parathormon fosfatüriye neden olurken, proosteoklastları osteoklastlara çeviren osteoblastları aktifleştirerek kemikte bir denge sağlamakta görevlidir. Osteoklastlar kemikte mineralize matriksi çözdürerek osteopeni ve osteoporoza neden olur. Bu nedenlerle kemik yapının bozulmaması, Ca ve P düzeylerinin dengede olması için D vitamini düzeyinin PTH yükselmesine neden olmayacak bir değerde bulunması gerekir (Hatun ve ark. 2005). Hipokalsemi, PTH sentez ve salınımını arttırırken, hiperkalsemi ise PTH sekresyonunu baskılar. PTH hücre membranındaki reseptörlerine bağlanarak cAMP aracılığı ile başlıca etkilerini böbrek ve kemik üzerinde gösterir. PTH'nın başlıca görevi ekstrasellüler sıvıda Ca konsantrasyonunu normal seviyede tutmaktır. PTH'nın proksimal tübülüsteki en önemli işlevlerinden biri 1- α -hidroksilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)₂ D vitamini sentezini artırmasıdır. PTH, vitamin D metabolizması üzerine etkisiyle ince barsaktan Ca ve fosfatın absorpsiyonunu uyarır. İntakt PTH'nın serum normal referans aralığı 10-65 pg/mL'dir (Allgrove 2009).

PTH salınımının serum magnezyum düzeyinden de etkilendiği saptanmıştır. İlımlı hipomagnezemi PTH sekresyonunu artırırken şiddetli hipomagnezemi ise salınımını azaltır. Kortizol, glukagon, serotonin gibi hormonlar da PTH salınımında etkilidir (Bereket 2006).



Şekil 2.5. Aktif vitamin D ve etki organları

Tablo 2.2. Kalsiyum ve fosfor metabolizması ve aktif vitamin D

Hormon	Barsak Etkisi	Böbrek Etkisi	Kemik Etkisi
Parathormon	Doğrudan etkisi yok	Kalsiyum geri emilimini uyarır, fosfor geri emilimini engeller	Rezorpsiyonu uyarır
1-25(OH)D3	Kalsiyum ve fosfor emilimini uyarır	Kalsiyum ve fosfor geri emilimini uyarır	Rezorpsiyonu uyarır
Kalsitonin	Etkisi yok	Kalsiyum ve fosfor geri emilimini engeller	Kalsiyum artar

Tablo 2.3. Normal serum plazma kalsiyum değerleri

Yetişkinler	2.20-2.65 mmol/L (8.8-10.6 mg/dl)
0-10 gün	1.90-2.60 mmol/L (7.6-10.4 mg/dl)
10 gün-24 ay	2.25-2.75 mmol/L (9.0-11.0 mg/dl)
2-12 yaş	2.20-2.70 mmol/L (8.8-10.8 mg/dl)

Tablo 2.4. Normal serum fosfor değerleri

Yenidoğan Dönemi	4.8-8.2 mg/dl
1-3 Yaş	3.8-6.5 mg/dl
4-11 Yaş	3.7-5.6 mg/dl
12-15 Yaş	2.9-5.4 mg/dl

2.1.7. D Vitamini ve Osteokalsin

Kemik Gla protein (BGP) veya osteokalsin 5669 dalton moleküler kütleye sahip, 49 aminoasitli yapıdan oluşan bir proteindir. İskelet sisteminin total proteininin %1'i kadardır. Osteoblastlar, odontoblastlar ve kondrositler tarafından sentez edilen bir matriks proteindir. Kemiğe oldukça spesifiktir ve kemik metabolizma sürecinin tayininde kullanılan spesifik bir belirteçtir (Vasudevan ve ark. 2013).

Osteokalsinin sentezi vitamin D aracılığı ile gerçekleşmektedir. D vitamini aynı zamanda osteokalsinin gen transkripsiyonunda regüle etmektedir. D vitamini eksikliği olan kişilerde osteokalsin eksikliğinin çok daha fazla olduğu görülmüş olup 1,25(OH)2D3 verilmesi ile serum osteokalsin düzeylerinin azaldığı yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Osteokalsin, kalsiyumu kemiğin matriksine bağlayarak kemik oluşumuna önemli katkıda bulunur. Böylece kemiğin yapımında önemli bir rol oynamaktadır (Vasudevan ve ark. 2013; Kargın ve Fidancı 2002).

2.1.8. D Vitamini ve Alkalen Fosfataz

Alkalen fosfataz (ALP), yaşa göre değişkenlik gösteren, kemik, karaciğer, böbrek, intestinal, plesental ve germ hücre kaynaklı olabilen dört farklı izoenzimi bulunan glikopeptid yapıda bir enzimdir. Tüm vücut dokularında bulunan ALP, özellikle hücrelerin membranında yer almaktadır. Karaciğer, böbrek, kemik, lökosit gibi değişik dokuların fosfohidrolazlarının toplamını gösterir (Kargın ve Fidancı 2002). Çocukluklarda kemikteki osteoblastik aktivitenin artışına bağlı erişkinlere göre 3 kat daha yüksek değerler görülebilir. İlk pik 1.-6. ayda, ikinci pik kızlarda erken pubertede (12 yaş), erkeklerde mid-pubertede (14 yaş) olur. Gebelikte ALP herhangi bir hastalığa eşlik etmeden de normalin 2-3 katı kadar yüksek görülebilir. En büyük artışı ricketste görülmektedir. Bunun sebebi demineralize kıkırdak ve osteoid dokuda yapım artışına bağlı, osteoblastik hücrelerdeki artışından kaynaklanmaktadır. Kolestatik karaciğer hastalıklarında ALP'nin karaciğer izoenzimi yükselirken, osteoblastik kemik hastalıkları, Paget hastalığı, osteomalazi, primer kemik tümörleri ve kemik metastazlarında kemik izoenzimi artar (Tolaymat ve Melo 2000). ALP karaciğer tipi, böbrek kaynaklı dokuya özgül olmayan tip, intestinal tip,

plasental tip ve germ ya da plasenta benzeri tipler diye birçok gruba ayrılmaktadır (Kargın ve Fidancı 2002).

ALP aktivitesi cinsiyete bağlı farklılıklar göstermektedir. Yapılan bir çalışmada D vitamini almayan erkek çocuklarda ALP değerleri kızlardan istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada ALP aktivitesi yüksek olan çocuklarda riketsin en az 2 klinik bulgusunun olduğu belirlenmiştir. Riketsin radyolojik bulgularının değerlendirilmesinde de serum ALP aktivitesi önemli bir ölçüttür. Bir çalışmada ek doz D vitamini alan çocukların %4-6'sında, almayanların ise %13'ünde anormal ALP aktiviteleri saptanmıştır (Dunnigan ve ark. 1985).

Tablo 2.5. Serum ALP normal değerleri

Serum Alkale Fosfataz Referans Aralıkları	
Prematürite	105-550 IU/L
0-7 gün	95-380 IU/L
7 gün- 1 ay	100-360 IU/L
1-3 ay	115-460 IU/L
4-6 ay	110-350 IU/L
7-12 ay	95-350 IU/L
1-3 yaş	90-350 IU/L
4-12 yaş	80-350 IU/L

2.1.9. D Vitamini ve Magnezyum İlişkisi

Normal toplam plazma magnezyum (Mg) konsantrasyonu 1.7-2.3 mg/dL (0.71-0,96 mmol/L)'dir. Vücut Mg dengesi intestinal emilim ve renal atılım dengesine bağlı oluşur. Gastrointestinal sistemden emilmesindeki bozulma ve buna bağlı patolojiler en sık görülen hipomagnezemi nedenidir. Malabsorbsiyon, kronik ishal olan hastalar, ince bağırsak bypass cerrahisi sonrasında, ileostomili hastalarda, loop ve osmotik diüretik kullananlarda ve ilaçlara bağlı olarak (aminoglikozid, amfoterisin B, sisplatin, siklosporin ve foskarnet) hipomagnezemi gelişebilir. Hipomagnezemi genellikle hipokalemi ve hipokalsemi ile birlikte görülmektedir. PTH salınımının azalması ve iskelet sisteminin PTH direnci nedeni ile hipokalsemi izlenir. Hipomagnezemi düzeltilmeden hipokalsemi ve hipokalemi düzelmemektedir (Bilginer ve Beşbaş 2007).

2.1.10. D Vitamini Gerekliliği

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre günlük D vitamini gereksinimi bebekler için 400 IU'dir . Diğer yaş gruplarında önerilen doz için tam bir görüş birliği oluşturulamamıştır. İlerleyen çalışmalardan sonra çocukların D vitamini gereksinimi konusunda önemli değişiklikler olmuştur ve gereksinimin daha fazla olduğu görüşüne varılmıştır. Amerikan Gıda ve Beslenme Kurulu 50 yaşına kadar 200 U/gün, 51-70 yaş arası için 400 U/gün, sonraki yaşlar için 600 U/gün olarak D vitamini alımını önerirken Amerikan Pediatri Akademisi (AAP) Mart 2011'de yayınladığı D vitamini diyet rehberinde 1 yaşına kadar 400U/gün, 1 yaşından 70 yaşına kadar tüm erkek ve kadınlara 600 U/gün, 70 yaşından büyüklere 800 U/gün D vitamini önermektedir (Wagner ve Frank 2008; Steven 2011).

T.C. Sağlık Bakanlığı bebeklerde D vitamini eksikliğinin önlenmesi ve kemik sağlığının korunması projesi kapsamında Mayıs 2005 tarihinde alınan kararla yaşamın ilk haftasından itibaren beslenme tarzı ne olursa olsun tüm bebeklere en az bir yaşına kadar 400 IU/gün D vitamini verilmesini önermektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2005). Gelişmiş ülkelerin çoğunda D vitamini desteği yaşamın sadece belirli bir bölümünü kapsamakla kalmayıp adölesan yaş döneminde daha fazla olmak üzere hayatın her döneminde çeşitli yiyecek ve içeceklerle farklı miktarlarda desteklenmektedir (Sözen 2011).

2.1.11. D Vitamininin Kemik Metabolizması Dışındaki Etkileri ve İlişkili

Olduğu Hastalıklar

Klinik çalışmalar sonucunda D vitamini'nin kemik doku dışında da birçok fonksiyonu olduğu, D vitamini reseptörlerinin sadece kemik dokuda olmadığı, bunun dışında birçok dokuda da bulunduğu gösterilmiştir. 1.25(OH)2D3'ün, 200 den fazla geni kontrol ettiği bilinmektedir (Dusso ve ark. 2005; Hatun ve ark. 2003; Holick 2006). Günümüzde, raşizm, osteoporoz ve osteomalazi gibi hastalıkların yanı sıra otoimmün hastalıklar, kanserler, kardiyovasküler hastalıklar Tip I diyabet gibi pek hastalıkta rolü olduğu anlaşılmıştır. (Ardeniz 2008; Uçan ve Delibaş 2015; Karagöl ve Atak 2016).

Tablo 2.6.D vitamini reseptörü bulunan dokular

Kas Epiderm Kakın barsak Osteoblast Paratiroid Monosit Mide	Hipofiz Nöron Kıkırdak Prostat Overler Endotel İnce barsak
---	--

Yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliği ile kas güçsüzlüğü arasında ilişki saptanmıştır. Çeşitli çalışmalarda D vitamini eksikliğinin otoimmün hastalık riskini artırdığı saptanmıştır. D vitamini immün sistemde bulunan hücrelerin çoğunluğunu etkilemektedir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliği ile Tip 1 diyabet, multipl skleroz ve inflamatuvar bağırsak hastalığı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. D vitamini düşüklüğü ile kardiyovasküler hastalık riskinde artış arasındaki ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir (Munger ve ark. 2006; Del Pinto ve ark. 2015).

2.1.12. Serum D Vitamini Normal Düzeyi

D vitamini için kemikte kırık riski açısından minimum değer 20 ng/mL'nin üstü olması gerektiği kabul edilmekteyse de dolaşan optimal vitamin D düzeyinin daha yüksek olması gerektiği çalışmalarda gösterilmiştir (Sözen 2011; Cesur 2012). Diyetteki kalsiyumun optimal düzeyde emilimini sağlayan, serum PTH düzeyini normal aralıkta tutabilen vitamin D düzeyine, optimal D vitamini düzeyi denir. Bu sayede vücutta ihtiyacı olan kalsiyum ve fosfor için kemik yıkımı olmayacaktır. Serum 25 (OH) D düzeyi dokuda bulunan D vitamini düzeyini en iyi gösteren parametredir. 25 (OH) D3 vitamin D'nin dolaşımdaki majör formudur ve yarı ömrü yaklaşık olarak üç hafta kadardır (Sözen 2011; Bhan 2014).

Erişkinlerde yapılan çalışmalarda serum 25(OH)D vitamini düzeyi 15 ng/mL (37,5 nmol/L) altına indiğinde PTH düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Böylece erişkinlerde eşik değer 15 ng/mL olarak kabul edilmektedir (Lips ve ark. 1988; Thomas ve ark. 1998). Çocuklarda D vitamini yeterliliği için belirlenmiş bir eşik değer bulunmamakta, serum 25(OH)D vitamini düzeyinin 11 ng/mL (27,5 nmol/L)

altında olması D vitamini yetersizliği olarak tanımlanmaktadır (Specker ve ark. 1992). Çocuklarda D vitamini düzeyi Amerikan Pediatri Akademisi'nin önerilerine göre de değerlendirilmektedir (Misra ve ark. 2008).

Tablo 2.7.D vitamini düzeylerinin yorumu (Amerikan Pediatri Akademisi)

Yorum	25(OH)D3 vitamin düzeyleri
Şiddetli eksiklik	<5 ng/mL
Eksiklik	5-15 ng/mL
Yetersizlik	15-20 ng/mL
Normal	20-100 ng/mL
Fazlalık	100-150 ng/mL
İntoksikasyon	>150 ng/mL

D vitaminin aktif şekli 1,25(OH)₂D vitamini olup yarılanma ömrü yaklaşık 3-6 saat olup, plazmada 16-65 pg/mL düzeyinde bulunur. Serum 25(OH)D vitamin seviyesi mor ötesi ışınlar ile artarken endokrin sistem tarafından kontrol edilen 1,25(OH)₂D vitamin değerleri etkilenmemektedir. 1,25(OH)₂D vitamini ölçümü D vitamini düzeyi değerlendirilmesi için ideal değildir. Çünkü yarılanma ömrü 3-6 saat kadar kısa ve dolaşan kan düzeyi 25 (OH) D vitaminine göre 1000 kat daha düşüktür (Holick 2006; Wagner ve ark. 2008).

2.1.13. D Vitamini Eksikliği ve Ülkemizde Durum

Dünyada farklı popülasyonlarda farklı yaş gruplarında yapılan çalışmalarda, D vitamini eksiklik ve yetersizliğinin ciddi boyutlarda olduğu ortaya konulmuştur (Demiral ve ark. 2016; Braegger ve ark. 2013; Taşkiran ve Cansu 2016; Aykal ve ark. 2016; Cashman ve ark. 2016). İngiltere'de yapılan bir çalışmada, kış ve bahar dönemlerinde erişkin popülasyonun %50'sinden fazlasında D vitamini yetersizliği, %16'sında da ciddi D vitamini eksikliği saptandığı bildirilmiştir (Pearce ve Cheetham 2010). Günümüzde eksiklikten çok yetersizlik öne çıkmaktadır. Ülkemizde de yapılmış ve yayınlanmış birçok araştırma, çocuk ve erişkinlerde D vitamini eksiklik ve yetersizliğinin önemli boyutlarda olduğunu ortaya koymaktadır. Uçar ve arkadaşları son yıllarda Ankara bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, oldukça yüksek oranda (%51.8) D vitamini eksikliği ve %20.7 oranında D vitamini yetersizliği olduğunu belirlemişlerdir (Uçar ve ark. 2012).

D vitamini eksiklik ve yetersizliğinin tedavisinde en önemli adım güneş ışığından yeterince yararlanılmasıdır. Çünkü vücudumuzdaki D vitamininin %95'i deride güneş ışığı ile sentezlenmektedir. Bu bilgiye karşın, günümüz yaşam koşulları ile yeterince güneş ışığından yararlanılamaması, risk grubunda yer alındığını ve D vitamini desteğinin gerekliliği sonucunu çıkarmaktadır (Manson ve ark. 2016).

D vitamini eksiklik ve yetersizliğinde risk gruplarını güneş ışınlarından yeterince yararlanamayanlar, obezitesi olanlar, antikonvülsan tedavi alan epilepsi hastaları, ketokanazol tedavisini uzun süreli almak zorunda olanlar, HIV tedavisi alan vakalar, kronik hastalığı bulunanlar (diyabet, kronik böbrek yetersizliği, çölyak hastalığı vb.), kronik malabsorpsiyon sendromları olanlar oluşturmaktadır (Pearce ve Cheetham 2010).

Ülkemizde uzun süredir D vitamin eksikliği ve riketsin bebek ve çocukları etkileyen bir halk sağlığı sorunu olduğu, vitamin D desteği programı başlamadan önce rikets sıklığının %1.6-19 arasında değiştiği bildirilmekte ve en sık 3 ay- 2 yaş arasında görüldüğü belirtilmiştir (Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi 2002). Erzurum'da 1998 yılında 0-3 yaş çocuklarda %6 olarak saptanmış olan rikets sıklığının 2008 yılında %1 civarına kadar azaldığı saptanmıştır (Andıran ve ark. 2012). Ayrıca 2010'da 2-24 ay arası günde 400 IU D vitamini aldığı belirtilen 148 çocukta yapılan bir çalışmada, D vitamini eksikliği 2-6 ay arasında %27, 6-12 ay arasında %8, 12-24 ay arasında %30 oranında belirlenmiştir (Onal ve ark. 2010).

Annedeki D vitamini eksikliği bebeklerin D vitamini deposu bakımından yetersiz olarak dünyaya gelmelerine, aynı zamanda bu annelerin sütünde de D vitamininin yetersiz olmasına sebebiyet vermektedir (Thandrayen ve Pettifor 2010). D vitamini eksikliği olan annelerden doğan bebeklere D vitamini verilmez ise bu bebeklerde yaşamın ilk üç ayında konjenital rikets görülme olasılığı artmakta ve bu vakalarda hipokalsemi ile hastaneye başvuru oranı oldukça yüksektir (Ladhani ve ark. 2004).

D vitamini eksikliği açısından riskli diğer bir grup, kemik kitlesinde artış görülen ve bu nedenle kalsiyum ve D vitamini gereksinimi artmış olan adölesan yaş grubudur. Hatun ve arkadaşlarının Kocaeli ilinde 13-17 yaş arasındaki kız çocukları arasında yapmış olduğu çalışmada, D vitamini eksikliği oranı %21, D vitamini yetersizliği oranı %43 saptanmıştır (Hatun ve ark. 2005). Adölesan döneminde

verilmesi gereken D vitamini takviye planı konusunda bir uzlaşma bulunmamaktadır. ABD (Amerika Birleşik Devletleri)'de Gıda ve Beslenme Kurulu adölesan dönemi için 600 IU/gün D vitamini takviyesini yeterli görmüştür (Heaney ve ark. 2003).

2.2. Rikets

Nutrisyonel rikets, D vitamin eksikliği ya da yetersiz kalsiyum alımına bağlı epifiz plakları kapanmadan önce gelişen defektif kondrosit farklılaşması ve büyüme plağının ve osteoid dokunun yetersiz mineralizasyonu ile karakterize bir durumdur. En sık görülen rikets D vitamini eksikliğine bağlı olan formdur (Munns ve ark. 2016; Thacher ve ark. 2013).

Ülkemizde 2000'li yılların başında Erzurum'da yapılan bir çalışmada 0-3 yaş arası popülasyonda vitamin D eksikliğine bağlı rikets insidansı %6 olarak bildirilmiş, Türkiye'nin doğusunda 2007-2008 yılları arasında yapılan çalışmada ise nutrisyonel rikets insidansının %1'in altına düştüğü bildirilmekle birlikte yine ülkemizde 2011 yılında yapılan bir çalışmada nutrisyonel rikets insidansı %3.1 olarak gösterilmiştir (Özkan ve ark. 2009; Cesur ve ark. 2011). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından 2005 yılından bu yana D vitamini eksikliğini önlenmesi amacı ile doğumdan itibaren ilk bir yıl tüm süt çocuklarına ücretsiz D vitamini desteği yapılmaktadır. Bu desteğe rağmen Türkiye'de nutrisyonel rikets halen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (Hatun ve ark. 2007). Düşük anne D vitamini seviyeleri; postpartum dönemde hipokalsemiye, takip eden birkaç ayda da riketse neden olabilir. Konjenital riketsli vakaların annelerinde ciddi D vitamini eksikliği saptanmıştır (Principi ve ark. 2013; Specker 2012).

Türkiye yeterli güneş ışığına sahip olma açısından zengin bir ülke olmasına rağmen, ailelerin sosyoekonomik düzeylerinin yetersiz olması, yanlış ve yetersiz beslenme alışkanlıkları, bebekleri güneş ışığından uzak tutma ve kalın giydirmeye gibi geleneksel yaklaşımlarından dolayı rikets yüksek oranlarda tespit edilmektedir. Rikets ilk iki yaşın hastalığı olmakla beraber epifizler kapanana kadar her yaşta gelişebilmektedir (Coşkun 1990).

Tablo 2.8.Rikets sebepleri (Hartman 2002)

<p>D Vitamininin yetersiz sentezi ya da yetersiz alımı</p> <ul style="list-style-type: none"> • Yetersiz güneş ışını • Alınan yiyeceklerin D vitamini içeriklerinin düşük olması • Hamilelikte kötü beslenme • Koyu cilt rengi
<p>Yağda eriyen vitaminlerin düşük emilimi</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kolestatik karaciğer hastalıkları • Pankreatik yetmezlik • Biliyer obstrüksiyon • Çölyak hastalığı • Kısa bağırsak sendromu
<p>D Vitaminini metabolizma bozuklukları</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sitokrom P-450 enziminin indüksiyonu • Bozuk 25 hidroksi vitamin D yapımı • Diffüz karaciğer hastalığı • Düşük 1,25 dihidroksi D vitamini sentezi • İlerlemiş renal hastalıklar • Herediter renal alfa 1 hidroksilaz eksikliği (D vitaminine bağımlı raşitizm tip 1)
<p>1,25 dihidroksi D vitaminine son organ direnci(D vitamini metaboliti reseptörlerinin yokluğu ya da bozuk oluşu: D vitaminine bağımlı raşitizm tip 2)</p>
<p>Yüksek fosfat tüketimi, Alüminyum hidroksit içeren fosfat bağlayıcı antiasitlerin kullanımına bağlı fosfat emiliminin bozulması, Renal tübüllerden aşırı fosfat atılımı (X'e bağlı hipofosfatemik raşitizm)</p>

2.2.1. Riketste Klinik Durum

Nutrisyonel riketste belirti ve bulgular el bilek eklemlerinde genişleme, fontanel kapanmasında yavaşlama, diş çıkarmada gecikme, 'O' veya 'X' bacak gibi deformiteler, kifoz, raşitik rosary, frontal bossing, kraniotabes, kemik ağrısı, hipokalsemik konvülsiyon, tetani, hipokalsemik dilate kardiyomiyopati, gelişme geriliği, kas güçsüzlüğü ile birlikte olan gecikmiş motor gelişim, intrakranial basınçta artma gibi bulgular şeklindedir (Munns ve ark. 2016). Hatun ve ark. tarafından 3 ay altında nutrisyonel rikets tanısı alan 42 süt çocuğu değerlendirilmiş, en sık başvuru nedeninin hipokalsemik konvülsiyon olduğu saptanmış ve minimal raşitik rosary ve el bileğinde genişleme gibi gizli iskelet deformitelerinin tüm hastalarda olduğu saptanmıştır (Hatun ve ark. 2005). Minnesota'da yapılan 17 nutrisyonel riketsli olgunun bildirildiği çalışmada ise en sık klinik bulgunun gelişme geriliği olduğu vurgulanmış ve bunu sırasıyla bacak deformiteleri, motor gecikme, bacak ağrısı,

güçsüzlük ve hipokalsemi ve buna bağlı tetani izlemiştir (Thacher ve ark. 2013). Riketsin enfeksiyonlara yatkınlık oluşturduğu bilindiğinden enfeksiyon hastalıkları için değerlendirilen her olguda raşitizm yönünden dikkatli olunmalıdır (Cesur ve ark. 2011).

Fizik muayenede pelvis girişinde promontoriumun, çıkımında ise sakrum ve koksiksin distal parçalarının öne doğru gelişimi sonucu pelvik bölgede darlıklar belirlenebilir. Bu deformite kızlarda ileride doğum eylemi sırasında sorunlara yol açabilir. Rikette dişlerde de patolojiler görülebilir. Süt dişlerinin çıkmasında gecikme ve dişlerde şekil bozuklukları gözlenebilir. Karın, mide ve barsak kaslarındaki zayıflığa bağlı olarak riketsli çocuklarda sıklıkla barsak sorunları ve kabızlık gözlenir (Özkan ve Döneray 2008).

2.2.2. Rikette Biyokimyasal Değerler ve Evreler

Evre 1: D vitamini eksikliğine bağlı barsaktan kalsiyum emilimi azalır hipokalsemi gelişir, asemptomatik olabileceği gibi hasta hipokalsemik nöbetle de başvurabilir.

Evre 2: Hipokalsemiye sekonder hiperparatiroidizm gelişir. Kemikten kalsiyum ve fosfor salınımı barsaktan kalsiyum emilim artışı olur, PTH, ALP ve fosfor azalır. Riketsin klinik ve radyolojik ve bulguları görülmeye başlamıştır.

Evre 3: Barsaktan kalsiyum emilimi azalır, hipokalsemi görülür. PTH kemik rezorpsiyonuna neden olur ve sekonder paratiroidizm nedeniyle kemik patolojisi gelişmeye başlar (Shore ve Chesney 2013).

Tablo 2.9.Rikette evreler ve laboratuvar

Riketsin Dönemleri	Serum					İdrar			
	Ca	P	ALP	Mg	cAMP	PTH	P	cAMP	aa'ürü
I	↓	N	N↑	N	N↑	N↑	N	N↑	N↑
II	N↓	↓	↑	N	↑↑	↑	↑	↑	↑
III	↓↓	↓↓	↑↑	↓	↑↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑

2.2.3. Rikette Radyolojik Bulgular

Büyüme plağında genişleme, metafizlerde düzensizlik (fırçalaşma), çanaklaşma (raşitik kadeh) radyolojik olarak radius veya ulna grafisinde görülebilir. En erken raşitik değişiklik metafiz ve büyüme plağı arasındaki demarkasyon hattının silinmesidir. Kalsifikasyon zonunun genişliği, metafiz sınırının kaybı, epifiz ve metafizin tama yakın ayrılması, radyolüsen görünümün tama yakın kaybı ağır radyolojik bulgulardandır (Thacher ve ark. 2000).

2.2.4. Rikette Tedavi

0-1 yaş; 2000 IU/gün ya da 50,000 IU/hafta, 6 hafta boyunca oral D vitamini, bunu takiben D vitamini seviyesini 30 ng/mL'nin üzerinde tutabilmek için 400-1000 IU/gün idame tedavisi gereklidir.

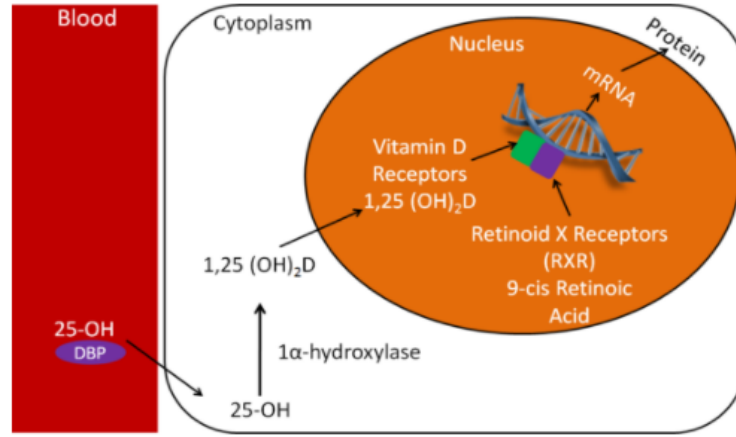
1-18 yaş; 2000 IU/gün ya da 50,000 IU/hafta D vitamini 6 hafta boyunca, bunu takiben kan D vitamini seviyesini 30 ng/mL'nin üzerinde tutabilmek için 600-1000 IU/gün idame tedavisi önerilir.

Alkalen fosfataz seviyesi normale gelene kadar idame tedaviye devam edilmesi, serum kalsiyum düzeylerinin haftada bir kontrolü önerilir. İntramusküler D vitamini rutinde önerilmemektedir. Stoss tedavisi tek doz 150000- 600000 IU oral veya parenteral verilmesi güvenilirdir. Hipokalsemik olmasa da aç kemik sendromunu önlemek için kalsiyum desteği (30-75 mg/kg/gün-3 doz) vermek gerekmektedir. Normal PTH ve 25 hidroksivitamin D düzeyi sağlandıktan sonra idame dozda kalsiyuma gerek yoktur. Eğer D vitamini tedavisine cevap alınmıyorsa, hastaların D vitaminine bağımlı ve/veya dirençli (rezistans) rikets veya hipofosfatemi ile giden rikets açısından incelenmesi gerekir. Semptomatik hipokalsemide parenteral kalsiyum verilebilir. Serum D vitamini düzeyi 25-50 nmol/L arasında ise eksiklik tedavisi değil de D vitamini desteği önerilir (Holick ve ark. 2011; Balaubramanian ve ark. 2013; Elder ve Bishop 2014).

2.3. Vitamin D Reseptörü ve Gen Polimorfizmleri

Vitamin D reseptörü androjen, östrojen, progesteron ve glukokortikoid reseptörü gibi Tip 1 Nükleer Reseptör ailesindedir ve yapısal olarak büyük

benzerlikler gösterirler (Duman ve ark. 2004). VDR genellikle stoplazmada bulunur ve vitamin D ile birleşip nükleusa hareket eder. Ligandla bağlanması sonucunda VDR'de yapısal değişiklik oluşur ve retinoid X reseptör (RXR) ile heterodimer oluşturur. Burada, VDR ile etkileşim içinde olan proteinlerle belirli genlerin transkripsiyonunu düzenlemekle görevlidirler (MacDonald ve ark. 2001).

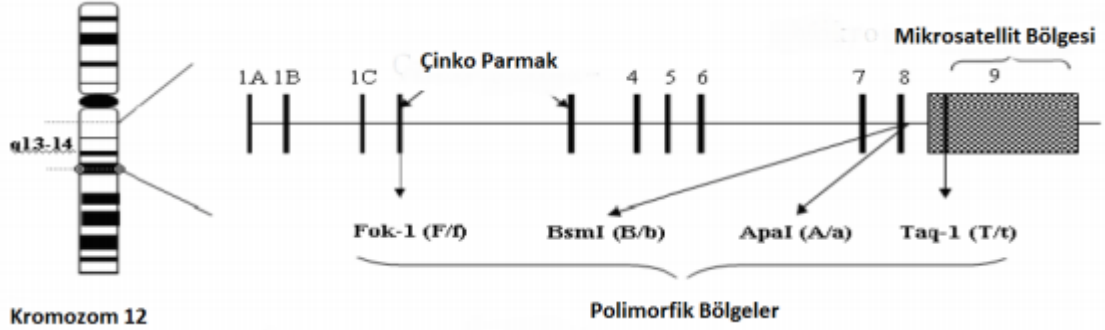


Şekil 2.6. VDR ve hedef doku (www.courses.lumenlearning.com adresinden alınmıştır.)

D vitaminin aktif metaboliti olan kalsitriol (1,25(OH)₂D₃), hedef dokulardaki etkilerini, VDR ve hedef genin promotör bölgesindeki özel VDRE'ye bağlı gerçekleştirmektedir. VDRE'nin DNA'ya bağlanma bölgesi ile etkileşim oluşturarak hetero veya homodimerizasyonunun oluşmasına yardımcı olur. Her farklı gen için farklı VDRE görev yapar. Kalsitriolün VDR'ye bağlanması, kalsiyum dengesini sağlayacak olan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu sağlar (Uçar 2015).

VDR geni, kromozom 12q13-14 bölgesinde bulunur ve yaklaşık 100 kb olup 8 intron ve 9 eksondan oluşur (Issa 1997). VDR geninin 11 eksondan oluştuğu da bildirilmiş olup bu durum 5' ucunda bulunan ve 1A, 1B, 1C olarak isimlendirilen 3 eksonun tek bir ekson olarak sayılmasından kaynaklanır ve 1A, 1B, 1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlamaktadır (Miyamoto ve ark. 1997). Ekson 1A, 5' ucunda translasyonu yapılmayan bölgeyi, ekson 2 ve ekson 3 DNA bağlanma bölgesini (C ve D bölgesi) ve ekson 4- 9 ligand bölgesini (E bölgesi) kodlar (Altman ve Gold 2007). VDR, amino ucunda 20 aminoasit uzunluğunda A/B domeni (Ekson I), 20-90 arasında aminoasitten oluşan C domeni olarak adlandırılan bir DNA bağlanma domeni (Ekson II-III), 90-130 aminoasitlik bir bağlayıcı bölge, 130-423 aminoasit arası bir ligand bağlanma bölgesi (Ekson IV-IX) içeren bir yapıdan oluşur (Zmuda ve

ark. 2000). Reseptörlerde aktif vitamin D'nin bağlandığı bir yer ve reseptörün DNA'ya bağlanmasını kolaylaştıran parmak gibi çıkıntı yapan yer ve bunları sabit halde tutan birer çinko atomu yer almaktadır (Jones ve ark. 1998).



Şekil 2.7. VDR geni yapısı ve polimorfik bölgeler (www.endotext.org adresinden Türkçe'leştirilerek alınmıştır).

2.3.1. Polimorfizm Nedir?

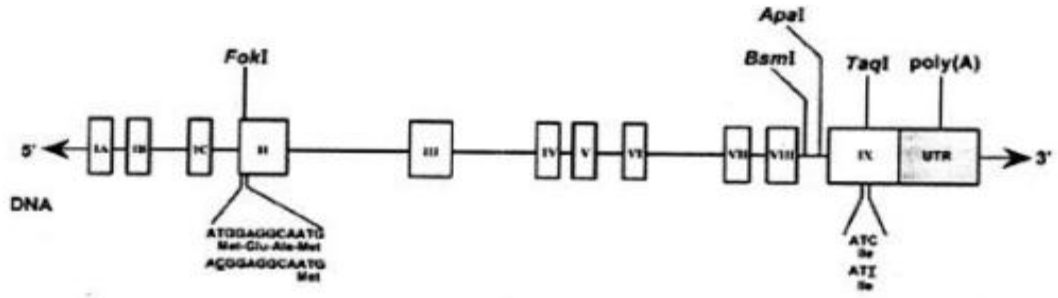
Polimorfizm, genetik çeşitliliklere verilen bir isimdir. Bir populasyonda farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Tek nükleotid polimorfizmleri ise (SNPs), genomik DNA'nın bireyler arasında farklılık gösterdiği tek baz çifti değişikliklerine verilen isimdir. Kişiler arasındaki farklılığı sağlayan, DNA'daki yaklaşık 1000 baz çifti uzunluğundaki kısmının, bir baz çifti değişimi ile oluşumudur. Tek gen defektleri; mitokondrial genomdaki veya otozomal ya da cinsiyet kromozomları üzerindeki genlerin, bir ya da iki allelinde meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak meydana gelir. Bir genin herhangi bir lokusunda bulunan alternatif kopyasına 'allel gen' denir. Bir lokustaki çoklu allel genlerin birlikte bulunması polimorfizm olarak adlandırılır (Doğan 2007). İnsanlarda etnik ve coğrafi farklılıklara göre değişiklik gösterebilen genel olarak her 1000 bazda bir saptanan bir durumdur. Metabolizmanın verdiği yanıtların farklılığından ve çeşitlilikten polimorfizmler sorumlu tutulmaktadır. Bireyin fenotipini, genotipini ve çevresel faktörleri etkilediği saptanmıştır. Bazı tek nükleotid polimorfizm allelleri ise ilgili genin düzenlenmesinde veya fonksiyonunda farklılığa neden olan varyantlardır. Bazı polimorfizmler direkt olarak fenotipi etkilemesine rağmen hastalığa neden olmayabilmektedir (Serin ve ark. 2016).

Polimorfizmin önemi günümüzde giderek artmış bulunmaktadır. Bunlardan bazıları, kanser, koroner kalp hastalığı ve diyabet gibi hastalıklara yatkın kişilerin risklerinin değerlendirilmesi, genetik hastalıklarda doğum öncesi tanı konması ve heterozigot taşıyıcılığın belirlenmesi, organ transplantasyonu için doku tiplendirilmesi, babalık testi, adli tıp çalışmaları gibi alanlarda polimorfizmden faydalanılmaktadır. Bu bakımdan polimorfizm günümüzde genetik bir işaretleyici olarak önemli yere sahiptir (Akıl 2011).

Polimorfizm olarak adlandırdığımız durum popülasyonda %1'den daha fazla görülür. Mutasyonlar sıklıkla polimorfizmlere göre çok daha nadirdir. Farklı popülasyonlarda polimorfizm sıklığı değişken olabilmektedir. Polimorfizmler bazı kişisel farklılıklardan, hastalığa verdiği yanıtlardan, ilaçlara karşı yan etkilerin farklı olmasından sorumludur. Aslında polimorfizmler sıklıkla hastalığa neden olmayan değişiklikler olarak değerlendirilebilir. Mutasyonlar ise hemen her zaman bir hastalığa neden olurlar. Özetle mutasyon ve polimorfizmin birbiri arasındaki sınır çok keskin gözükmemektedir (Giray Bozkaya 2009).

2.3.2. VDR Gen Polimorfizmleri

VDR'ye ait polimorfizmlerinin keşfi, 1990'ların başında, gen lokusunun değişik restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ve polimorfik bant paternlerinin Southern Blot hibridizasyonu ile gösterilmesiyle ortaya konulmuştur. Bu yöntemle ApaI, EcoRV, BsmI, TaqI ve Tru9I restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmleri keşfedilmiştir (Ye ve Reis 2000). Bu polimorfizmlerden BsmI (intron 8), ApaI (intron 8) ve TaqI (ekzon 9) VDR geninin 3' ucunda gösterilmiştir (Faraco ve ark. 1989; Morrison ve ark. 1994). Diğer polimorfik bölge ise başlangıç kodonunda bulunur ve FokI (ekzon 2) olarak adlandırılır (Gross ve ark. 1996).



Şekil 2.8.VDR polimorfik bölgeler (Baker ve ark. 1988)

Çalışmalarda genel olarak en çok 4 polimorfizm ele alınmaktadır. Bunlar: Ekzon 2'de FokI (T>C rs2228570), İntron 8'de BsmI (G>A rs1544410), İntron 8'de ApaI (C>A rs79755232), Ekzon 9'da olan TaqI (T>C rs731236) polimorfizmleridir (Slattery 2007).

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 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).

ApaI polimorfizminde intron 8'de 2 baz çiftlik bir değişme sonucunda gerçekleşmektedir. Ekson 9'daki T1055-C değişimi ile ise TaqI polimorfizmi oluşur. Polimorfizmlerin varlığı durumunda küçük, yokluğu durumunda allel büyük harfle isimlendirilmektedir (Baker ve ark. 1988). TaqI polimorfizmi VDR geninin 3' ucunda kodon 352'de (ATC/ATT) C-T nükleotid değişimine sebep olur. Her ikisi de (ATC/ATT) izölösini kodlar. Sessiz kodon değişikliği olduğundan VDR fonksiyonunu değiştirmeyeceği düşünülmektedir (Uitterlinden ve ark. 2002). Bsm ve Apa bölgeleri VDR geninin bir intronunda lokalizedir. İntronik dizideki değişimler protein ekspresyonunu etkileyebileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Literatürde bu polimorfizmler ile çeşitli hastalıklar arasındaki ilişki ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Valdivielso ve Fernandez 2006).

FokI polimorfizmi 2. eksonda ve 5' ucunda bulunur, başlangıç kodonudur ve translasyonun başlamasını geciktirir. Olası iki başlangıç bölgesi kullanılarak iki protein varyantı sentezlenebilir. Başlangıç kodonunu oluşturan ATG de bulunan T-C değişimi sonucunda ATG, ACG'ye dönüşür ve translasyon 2. ATG'den başlar. Sonuçta 424 aa uzunluğunda (424 aa, F alleli) VDR proteini sentezlenir. T-C değişimi olmadığı durumda ise translasyon ilk ATG'den başlar ve 3 aa daha uzun olan (427 aa, f alleli) VDR proteini sentezlenir. Bu polimorfizmi elde edebilmek için FokI restriksiyon enzimi kullanılır (Morrison 1994).

BsmI polimorfizmi genin 3'-UTR bölgesine yakın lokasyonda ve 8. intronunda yer almaktadır. BsmI (rs1544410) restriksiyon enzimi ile genotiplendirilen bir polimorfizmdir (Ulucan ve ark. 2013). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, BsmI'in 8. intronda yer aldığı, serum osteokalsin düzeyi ile ilişkili olduğu gibi ikizler ve postmenapozal kadınlarda kemik mineral dansitesi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Demir 2005).

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

DNA Polimeraz enzimi kullanılması ile DNA'nın spesifik bir bölümünün in vitro (bir tüp içerisinde) bir yöntemle çoğaltılması işlemidir. Bu işlem istenilen sayıda tekrarlanabilen döngülerden oluşmakta ve bir PCR döngüsü sırasıyla DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin (primer) hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon) ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması işlemlerinden meydana gelmektedir. PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlar ve yöntem olarak hassas ve hızlıdır. Bu teknik üç basamaktan oluşmaktadır.

- Denatürasyon: 92-98°C'de 3-5 dakika DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma uygulamak gerekebilir.
- Bağlanma (Annealing): 50-52 °C'de, 3-5 dakika
- Uzama (Extension- Elongation): 70-74 °C'de, 2 dakika PCR sonucunda elde edilen materyal, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır.

PCR sonucu oluşan ürünlerinin analizinde değişik teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerden biri, PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimleriyle

kesimine dayalı restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism, RFLP) analiz yöntemidir. Ürünlerin uygun reaksiyon koşullarında restriksiyon enzimi ile karşılaştırılması sonucunda farklı uzunluklarda DNA yapıları oluşur. DNA parçaları jel elektroforezi yöntemiyle birbirlerinden ayrılır. Restriksiyon parçalarının jeldeki sayısı ve göç paternlerine göre polimorfizm tespiti yapılır (Temizkan 2008; Çarhan ve ark. 2016).

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (RFLP): DNA molekülünün yapısının uzun oluşu, doğrudan analizini zorlaştırmaktadır. Bu yüzden restriksiyon endonükleazlar denilen kesim enzimler ile küçük fragmanlara ayrılabilir. Bu enzimler DNA'da özel nükleotid dizilerini tanır ve her iki ipliğini de keserler. Genellikle bunlar 37 °C'de aktif hale gelirler (Mitra ve ark. 2006).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Özellikleri

3.1.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Pediatri Polikliniği'ne sağlam çocuk izlemi için başvuran, toplam 124 olmak üzere sağlıklı ve herhangi bir şikayeti olmayan, yaşları 12 ay ile 18 yaş arasında değişen, normal fizik muayene bulgularına sahip, sağlam çocuk izlemi için bakılan rutin tetkikler sonucunda arta kalan kan örneklerinden çalışılan D vitamini düzeyine göre, yetersizlik, eksiklik ve şiddetli eksiklik tespit edilmiş toplam 72 çocuk ve D vitamini düzeyi bakımından normal değerlere sahip 52 sağlıklı çocuk gönüllü olarak çalışmaya alınmıştır.

3.1.2. Verilerin Toplanması

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 31.10.2018 tarihli 177 sayılı evrağın 11 nolu kararı ile tez çalışması için onay alınmıştır. Çalışmaya katılan her çocuğa ve velisine, öncesinde çalışmaya ilişkin ayrıntılı bilgi verilerek, aydınlatılmış onam alınmıştır.

3.1.3. Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Pediatri Polikliniği'ne sağlam çocuk izlemi için başvuran, toplam 124 olmak üzere sağlıklı ve herhangi bir şikayeti olmayan, yaşları 12 ay ile 18 yaş arasında değişen, normal fizik muayene bulgularına sahip, kronik hastalığı olmayan, son 3 ay içerisinde günlük dozlarda veya depo halde D vitamini preparatlarından herhangi birisini kullanmamış olan, son 6 ay içerisinde Kars ili dışında herhangi bir yerde yaşama hikayesi olmayan, çalışmaya katılmaya gönüllü çocuklar dahil edilmiştir.

3.1.4. Çalışmaya Dahil Edilmeme Ölçütleri

Hastaneye yatışı gerektirecek bir durumu olanlar, aile ya da çocuğun gönüllü onam vermemesi, bilinen kronik bir hastalığı olanlar, D vitamini eksikliği veya fazlalığına dair klinik şikayeti olanlar, normal fizik muayene bulgularına sahip olmayanlar, son 3 ay içerisinde depo veya günlük dozlarda D vitamin preparatı kullananlar, son 6 ay içerisinde Kars ili dışında yaşıyor olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

3.2.1. Kan Numunelerinin Alınması

Sağlam çocuk izlemi için bakılan rutin tetkikler sonucunda arta kalan kan örneklerinden çalışılan D vitamini düzeyine göre, yetersizlik, eksiklik ve şiddetli eksiklik tespit edilmiş toplam 72 çocuk ve D vitamini düzeyi bakımından normal değerlere sahip 52 sağlıklı çocuktan Ca⁺², P, ALP, Mg ve PTH düzeyleri alınan aynı örnekten çalışıldı.

Ca, P, ALP, PTH, Mg, 25(OH) D vitamini ölçümü için; olgulardan alınan kan örnekleri kan alınacak bölge %70'lik alkollü pamukla temizlendikten sonra 21 G numaralı tek kullanımlık steril enjektör ile uygun venöz damar yolundan steril koşul kurallarına uyularak 5 cc kan Becton-Dickenson jelli ve vakumlu biyokimya tüpüne alındı. Alınan kan örnekleri hemen çalışılmak üzere soğuk zincir ile biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. 4000 rpm'de yedi dakika santrifüj edildikten sonra serum örnekleri ependorf tüplere konuldu. Tüm serum örnekleri analiz gününe kadar -20 °C derin dondurucuda saklandı. Biyokimyasal parametreler çalışıldıktan sonra saklanan bu örnekler genetik analiz için kullanıldı.

KAÜ Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya laboratuvarında aşağıdaki yöntemlerle çalışıldı.

3.2.2. Numunelerin İncelenmesi

Kalsiyum: Cobas C501; Roche Diagnostic, Germany cihazında çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Fosfor: Cobas C501; Roche Diagnostic, Germany cihazında çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Alkalen Fosfataz: Cobas C501; Roche Diagnostic, Germany cihazında çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Magnezyum: Cobas C501; Roche Diagnostic, Germany cihazında çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Paratiroid Hormon: Beckman Coulter Unicel Dxl 800 (Beckman Coulter Inc. Brea CA,US) cihazında PTH intakt kiti kullanılarak elektrokemilüminesans immüneassay yöntemi ile ölçüldü. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

Vitamin D: İnsan serumu ve plazmasındaki toplam 25 Hidroksivitamin D seviyesinin kantitatif kemilüminesans yöntem kullanılarak ölçülmesi esasına dayanılarak 800 Unicel Dxl ile çalışıldı.

3.2.3. 25(OH) D Vitamini ve Diğer Parametreler için Örneklerin Toplanması

D vitamini sentezi, güneş ışığının dünyaya geliş açısından etkilenmektedir. Kış aylarında güneş ışınlarının dünyaya geliş açısı azalmaktadır. Yaz aylarında D vitamini düzeyi, yüksek çıkabileceğinden çalışmanın kış aylarında yapılması planlandı. Kış ayları olan Aralık-Ocak-Şubat içerisinde olgulardan, D vitamini metabolizmasını etkileyen diğer biyokimyasal parametreler ile birlikte D vitamini düzeylerini değerlendirmek için örnekler alındı.

3.2.4. Serum 25-(OH)D2-D3 Düzeylerinin Belirlenmesi

25(OH) D vitamini "ng/mL" olarak ölçüldü. D vitamini düzeyi 5 ng/mL altında şiddetli eksiklik, 5-15 ng/mL arasında eksiklik, 15-20 ng/mL arasında yetersizlik, 20-100 ng/mL arasında normal, 100-150 ng/mL arasında fazlalık, 150 ng/mL üzerinde intoksikasyon şeklinde sınıflandırıldı.

3.3. Genetik Değerlendirme

3.3.1. Genetik Polimorfizm için örneklerin Toplanması

Serum rnekleri ependorf tüplere konuldu. Tüm serum örnekleri analiz gününe kadar -20 C derin dondurucuda saklandı. Biyokimyasal parametreler çalışıldıktan sonra arta kalıp saklanan bu örnekler genetik analiz için kullanıldı. Bu rneklerden, DNA izole edilerek ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri çalışıldı.

3.3.2. Kullanılan Cihazlar

Otoklav: Nüve OT 40 Otoklav

Hassas Terazisi: Vibra AJ3200H Shinko

Etüv: Nüve FN500

alkamalı nkbatr: LABWIT ZWYR-200D Orbital

Santrifüj: ScanSpeed mini

Pipetler: Ependorf

PZR Cihazı: BİOER GenePro

Jel Görüntüleme: Dnr Bio-imaging Systems MiniLumi

Elektorforez: WEALTEC ELİTE 300 PLUS

pH Metre: AZ 8685

Sıcak Su Banyosu: Labo BMS 5200

Nanodrop Spektrometre: ACTG Gene UVS-99

Vortex: PV-1 Grant-bio Vortex Mixer

Isıtıcılı magnetik karıştırıcı: Are VELP Scientifica

Distile su Cihazı: Nüve ND 4L

3.3.3. Kullanılan Kimyasallar ve zeltiler

Etidyum bromür: 5 ml'lik Ethidium bromide [EB], (Kod: 802511) 10 mg/mL stok çözeltisi hazırlanmıştır.

Fenol Kloroform zoamilalkol: Sigma

Etanol: MERCK 100983 Ethanol absolute for analysis ACS, Reag. Ph Eur 2.5 L

10xTAE: Tris Acetate-EDTA buffer BioReagent, 50x suitable for electrophoresis

EDTA: FLUKA Kat no: 03620

TE: Sigma Tris EDTA pH:8.0

3.3.4. DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu protokolü:

1) 1.5 mL Ependorflara alınan örnekler 7000 dev/dak 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst sıvı atılarak hücre pelletine üzerine;

200µl dH₂O

50µl 0,5M EDTA

10µl %20 sarkosyl

10µl proteinaz K (10mg/ml)

10µl 1M Tris- HCl (pH:8)

5µl 5M NaCl

eklenmiş ve bu karışım 5 dk. boyunca vortekslenmiştir.

2) Örnekler 30 dk. boyunca 65°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. Süreç boyunca örnekler her 10 dakikada bir vortekslenmiştir.

3) Örneklerin kendi hacmi kadar fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) eklenmiş ve ters düz edilmiştir.

4) 13000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj yapılmıştır.

5) Süpernatant kısım pipet yardımı ile alınarak ve yeni ependorfa aktarılmıştır.

6) Fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) işlemi 3 defa yukarıda belirtildiği şekilde yapılmıştır. Her basamakta santrifüj sonunda elde edilen ürünlerden süpernatant kısmı alınmış ve yeni ependorf tüpüne aktarılmıştır.

7) Yeni ependorfa alınan süpernatant hacminin 1/10'u kadar 3M NaAc ve hacminin 2 katı kadar absolüt etanol eklenip -20°C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır.

8) Süre bitiminde örnekler 13000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj yapılmıştır.

9) Süpernatant kısmı uzaklaştırılıp, pelet kurutulmuştur.

10) Kurutulmuş peletin üzerine 200µl dH₂O eklenip pelet çözülmüştür.

11) Çözülen peletin üzerine 1/10 hacminde 0,3M NaOAc ve 440µl etanol eklenip -20°C'de 1 gece inkübe edilmiştir.

- 12) Süre bitiminde örnek 13000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilmiştir.
- 13) Süpernatant kısmı tüpten uzaklaştırılmış ve pelet kurumaya bırakılmıştır.
- 14) Kurutulan pelet 100 µl dH₂O ile çözülmüştür.
- 15) % 0.8'lik agaroz jelde elde edilen genomik DNA'nın kalitesi, kontaminasyonu ve bütünlüğü spektrofotometrik ölçüm ile kontrol edilmiştir.

3.3.5. PZR Reaksiyon Koşulları:

VDR'nin Genomik DNA Kopyasının Üretimi:

PZR reaksiyonunda kaynak DNA olarak genomik DNA kullanılmıştır. PZR reaksiyonu VDR spesifik (F ve R) primerlerle kurulmuştur; 2.5 µl 10X tampon, 2.5 µl 25 mM MgCl₂, 2 µl 2.5 µM dNTP karışımı, 2.5 µl F, 2.5 µl R, 0.5 µl genomik DNA (1.220 ng/µl), 0.2 µl DNA Polimeraz enzimi (5u/µl) üzerine son hacmi 25 µl olacak biçimde 12.3 µl ddH₂O eklenmiştir.

Kullanılan Primerler

VDR geni intron 8 için,
Forward 5'CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA-3') (Morrison et al., 1994) exon 9 için Reverse primer (5'CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3') (Sainz et al., 1997) primerleri kullanıldı.

3.3.6. Restriksiyon Enzimleriyle Kesim

İzole edilen DNA'lar ApaI ve TaqI (sigma), restriksiyon enzimiyle rutin olarak kesilmiştir. Kullanılan kesim reaksiyonu;

1 µl ApaI ve TaqI (10,000 u/ml) enzimi (Fermentas)

1 µl 10X enzim tamponu

1 µl DNA

7 µl H₂O şeklindedir.

ApaI için 37°C'de 2 saat, TaqI için 65°C'de 1 saat bekletildi.

"A" ApaI kesim bölgesinin olmadığını (700 bç), "a" ise kesim bölgesinin var olduğunu (490 bç ve 210 bç) göstermektedir. Aynı biçimde "T", ilgilenilen bölgede TaqI kesiminin olmadığını (490 bç ve 245 bç), "t" ise kesimin var olduğunu (290 bç, 245 bç ve 205 bç) göstermektedir.

3.4. Verilerin Analizi

Çalışma sonucu elde edilen veriler Microsoft Excel programı aracılığıyla bilgisayara yüklendi. Verilerin analizi için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 20 kullanıldı. Verilerin tanımlamasında yüzde, ortalama (mean), standart sapma (SD), maksimum (max), minimum (min) gibi tanımlayıcı istatistiklerden faydalanılmıştır. D vitamini 20'nin altı, 20 ve üstü olmak üzere 2 grup oluşturularak tüm parametlerin normal dağılıma uyup uymadığı görsel grafikler (Histogram), Kolmogrov-Simironov testi ile kontrol edilmiştir. İki grubun ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları ile D vitamin düzeyi ilişkisi Pearson'un Ki-Kare (χ^2) testi ile değerlendirilmiştir. D vitamin düzeyi 20'nin altı olan ve 20 ve üstü olan bu iki grubun tüm örneklerinin D vitamin düzeyi ve ApaI ve TaqI polimorfizm ilişkisi ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar tablo ve grafikler halinde sunulmuştur. Tüm testlerde $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.5. Etik Kurul İzni

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 31.10.2018 tarihli 177 sayılı evrağın 11 nolu kararı ile tez çalışması için onay almıştır.

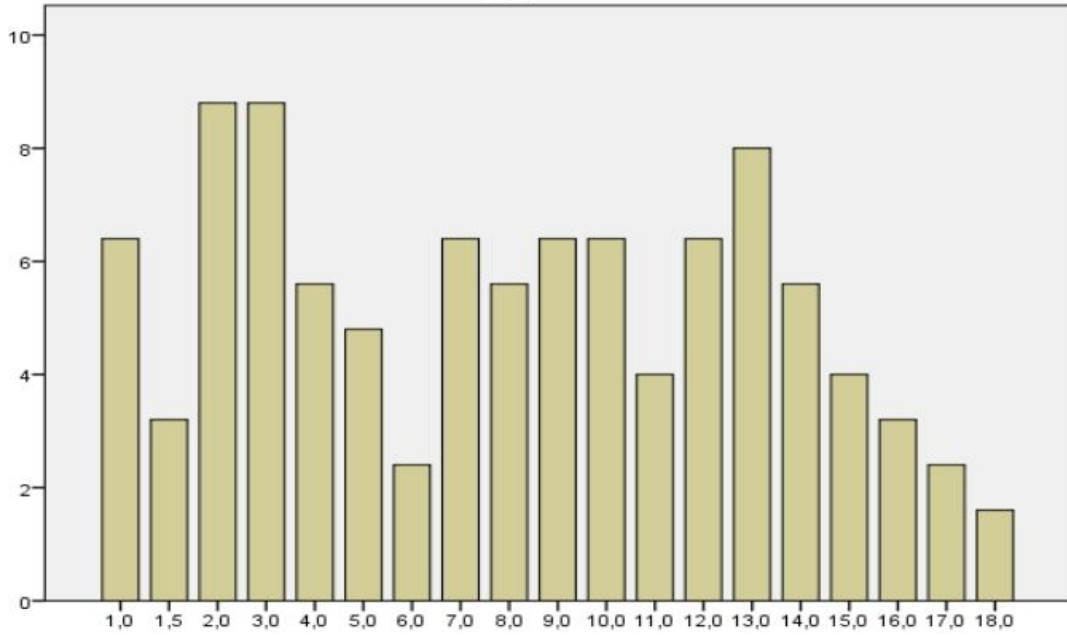
4. BULGULAR

Çalışmamıza Kars Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Polikliniği'ne sağlıklı çocuk izlemi için başvuran 74 erkek, 50 kız olmak üzere toplamda 124 çocuk dahil edildi. Tüm populasyon 25(OH)D3 düzeyi 20 ng/mL altında olanlar ve 20 ng/mL ve üzeri olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı.

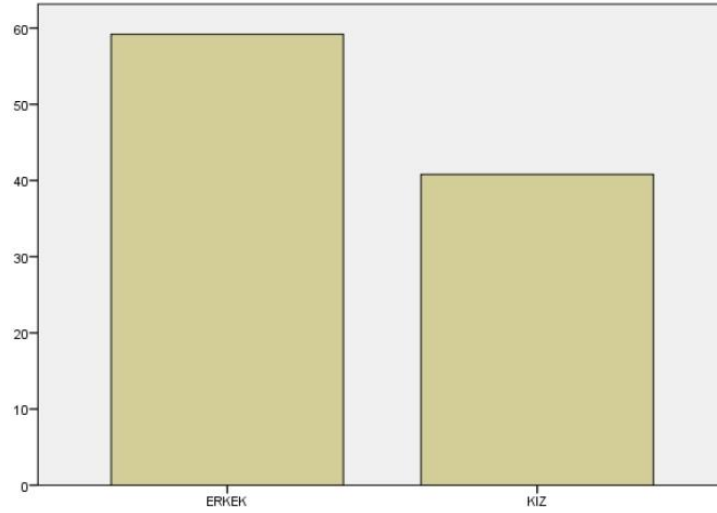
Çalışmaya katılan 124 sağlıklı çocuğun yaş ortalaması 8.11 ± 4.98 yıl idi. Vitamin D düzeyi 20 ng/mL altında olan grupta yaş ortalaması 9.38 ± 4.87 yıl iken, 20 ng/mL üzeri olan grupta yaş ortalaması 6.38 ± 4.62 yıl idi. Tüm popülasyonda kızların yaş ortalaması 8.47 ± 5.33 yıl, erkeklerin yaş ortalaması ise 7.86 ± 4.74 yıl idi.

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

Grup	Ortalama Yaş (yıl)	N
Vitamin D < 20 ng/mL	9.38 ± 4.87	72
Vitamin D \geq 20 ng/mL	6.38 ± 4.62	52
Tüm Populasyon	8.11 ± 4.98	124
Erkekler (tüm popülasyon)	7.86 ± 4.74	74
Kızlar (tüm popülasyon)	8.47 ± 5.33	50



Şekil 4.1.Tüm popülasyonun yaş dağılımı



Şekil 4.2. Tüm popülasyonun cinsiyet dağılımı

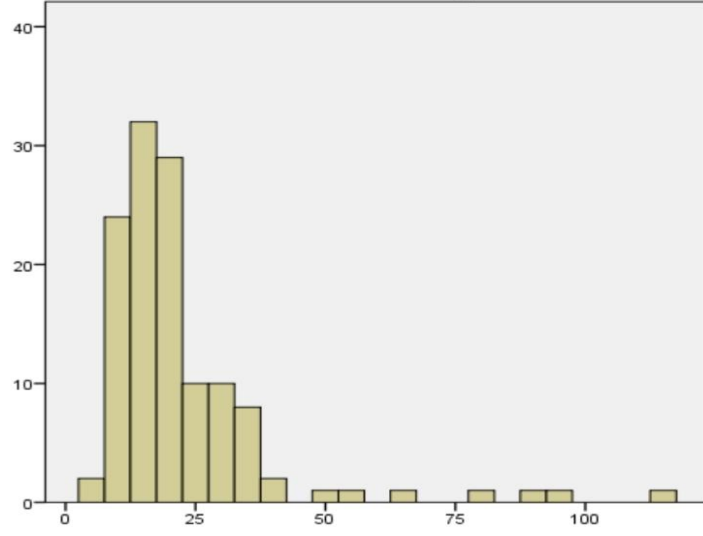
Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta kız sayısı 36, erkek sayısı 36 idi. Vitamin D \geq 20 ng/mL olan grupta da kız sayısı 14, erkek sayısı 38 idi.

Tüm popülasyon vitamin D başta olmak üzere laboratuvar değerlerine bakılarak değerlendirildiğinde;

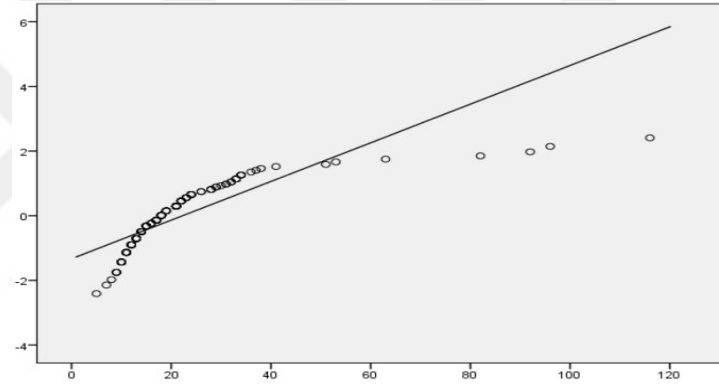
Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta ortalama vitamin D değeri 13.82 ± 3.29 , 20 ng/mL ve üzeri olan grupta ortalama vitamin D değeri 33.96 ± 20.47 saptandı. Tüm popülasyonda ortalama vitamin D değeri 23.49 ± 21.54 , minimum değeri 5, max değeri 116 olarak belirlendi. Cinsiyete göre değerlendirme yapıldığında erkeklerde ortalama vitamin D 24.73 ± 17.64 , kızlarda ise 18.62 ± 14.69 saptandı (**p<0.05**).

Tablo 4.2. Gruplar arasında, tüm popülasyonda ve cinsiyetler arasında 25(OH)D3 ortalaması

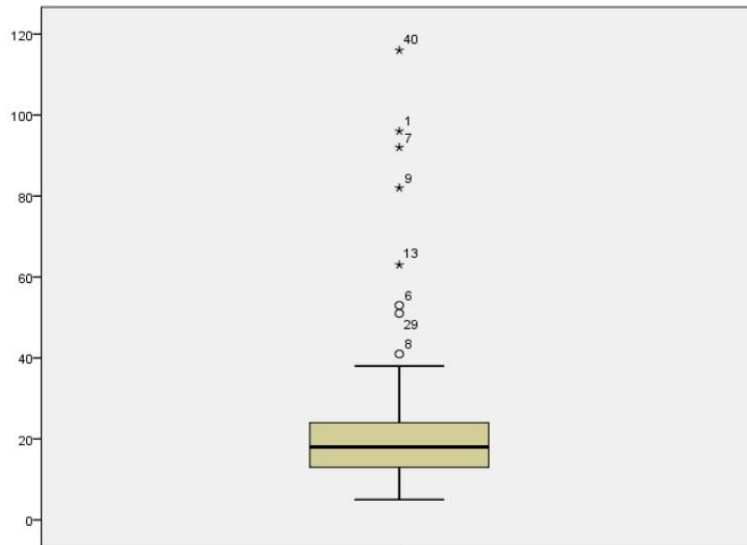
Grup	25(OH)D3 Düzeyi	N
Vitamin D < 20 ng/mL	13.82 ± 3.29	72
Vitamin D \geq 20 ng/mL	33.96 ± 20.47	52
Tüm Popülasyon	23.49 ± 21.54	124
Erkekler (tüm popülasyon)	24.73 ± 17.64	74
Kızlar (tüm popülasyon)	18.62 ± 14.69	50



Şekil 4.3. Tüm popülasyonun vitamin D düzeylerinin histogram görüntüsü



Şekil 4.4. Vitamin D düzeylerinin tüm popülasyon için normallik dağılımı



Şekil 4.5. Vitamin D düzeylerinin tüm popülasyon için normallik dağılımı

Tablo 4.3.Tüm popülasyonda vitamin D dağılımı

Yorum	N
Şiddetli Eksiklik (<5 ng/mL)	0
Eksiklik (5-15 ng/mL)	43
Yetersizlik (15-20 ng/mL)	29
Normal (20-100 ng/mL)	51
Fazlalık (100-150 ng/mL)	1
İntoksikasyon (>150 ng/mL)	0

Tüm popülasyonda laboratuvar değerlerine baktığımızda; ortalama Ca^{+2} değeri 9.93 ± 0.40 mg/dl, P değeri 4.73 ± 0.69 mg/dl, ALP değeri 238.94 ± 32.12 U/l, Mg değeri 2.13 ± 0.24 mg/dl, PTH değeri 54.00 ± 34.42 pg/ml olarak saptandı.

Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta ortalama Ca^{+2} değeri 9.85 ± 0.41 mg/dl, P değeri 4.62 ± 0.70 mg/dl, ALP değeri 246.54 ± 122.13 U/l, Mg değeri 2.09 ± 0.25 mg/dl, PTH değeri 63.13 ± 57.14 pg/ml olarak saptandı.

Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan grupta ortalama Ca^{+2} değeri 10.03 ± 0.37 mg/dl, P değeri 4.88 ± 0.65 mg/dl, ALP değeri 228.60 ± 67.51 U/l, Mg değeri 2.19 ± 0.21 mg/dl, PTH değeri 41.60 ± 21.45 pg/ml olarak saptandı.

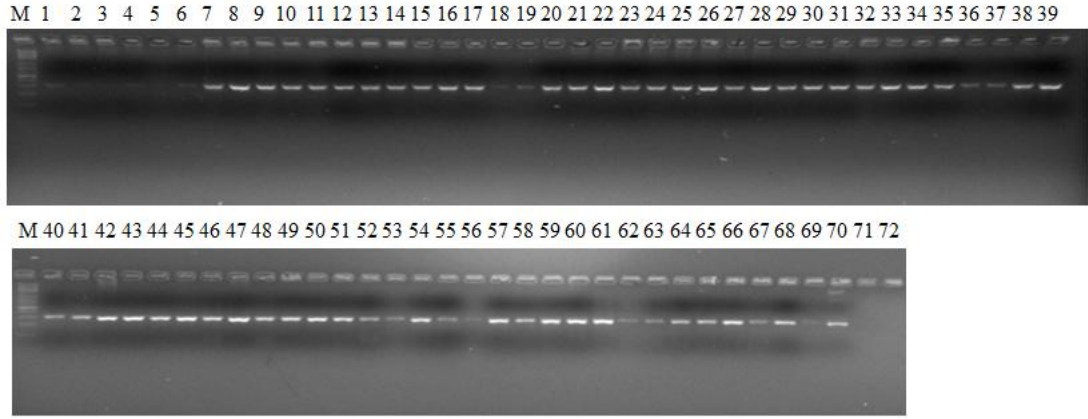
Gruplar içerisinde cinsiyete göre laboratuvar değerleri incelendiğinde kızlarda ortalama Ca^{+2} değeri 9.98 ± 0.41 mg/dl, P değeri 4.64 ± 0.76 mg/dl, ALP değeri 233.65 ± 114.823 U/l, Mg değeri 2.13 ± 0.24 mg/dl, PTH değeri 62.83 ± 46.20 pg/ml olarak saptandı. Erkeklerde ise ortalama Ca^{+2} değeri 9.90 ± 0.40 mg/dl, P değeri 4.79 ± 0.63 mg/dl, ALP değeri 242.58 ± 93.94 U/l, Mg değeri 2.14 ± 0.24 mg/dl, PTH değeri 47.91 ± 24.56 pg/ml olarak saptandı.

Tablo 4.4.Grupların ve tüm popülasyonun ortalama laboratuvar değerleri

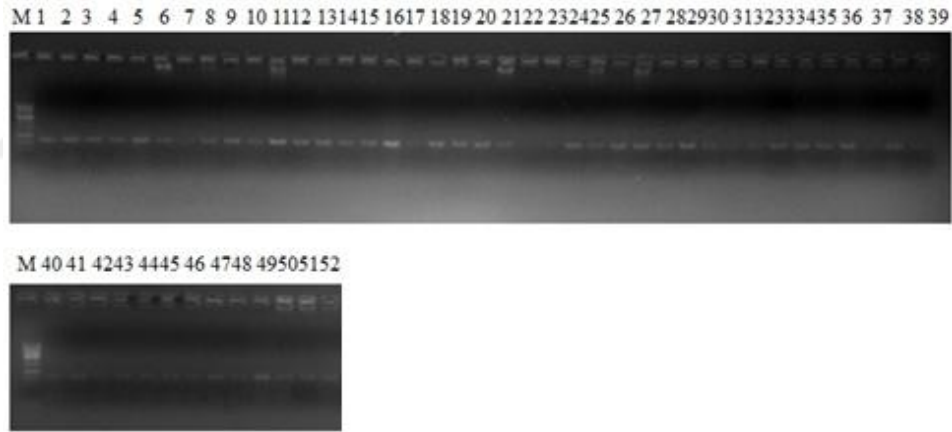
	Vitamin D < 20 ng/mL	Vitamin D ≥ 20 ng/mL	Kız	Erkek	Tüm Popülasyon
Ca⁺²	9.85 ± 0.41	10.03 ± 0.37	9.98 ± 0.41	9.90 ± 0.40	9.93 ± 0.40
P	4.62 ± 0.70	4.88 ± 0.65	4.64 ± 0.76	4.79 ± 0.63	4.73 ± 0.69
ALP	246.54 ± 122.13	228.60 ± 67.51	233.65 ± 114.82	242.58 ± 93.94	246.55 ± 122.13
Mg	2.09 ± 0.25	2.19 ± 0.21	2.13 ± 0.24	2.14 ± 0.24	2.13 ± 0.24
PTH	63.13 ± 57.14	41.60 ± 21.45	62.83 ± 46.20	47.91 ± 24.56	54.00 ± 34.42

Genetik Polimorfizm Bulguları:

VDR geni PCR ile elde edilmiştir. Vitamin D<20 ng/mL olan bireylerin Şekil 4.6'da, ≥ 20 ng/mL bireylerin Şekil 4.7'de PCR sonuçları gösterilmiştir.

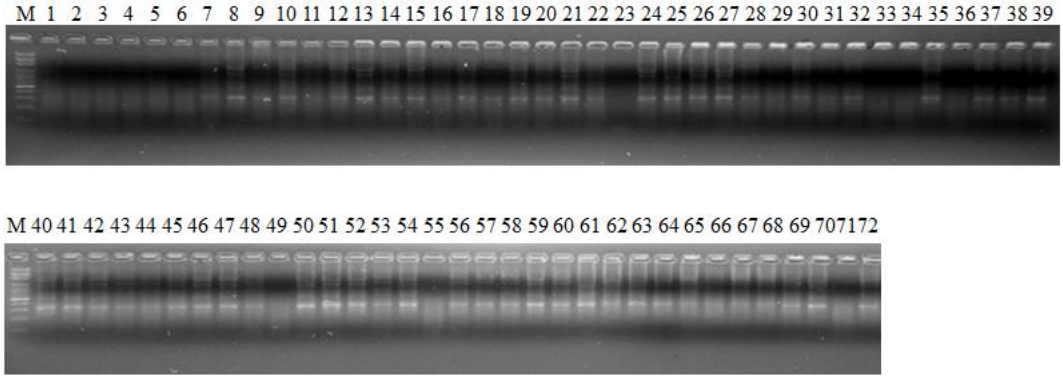


Şekil 4.6. Vitamin D<20 ng/mL olan bireylere ait PCR sonuçlarının görüntüsü

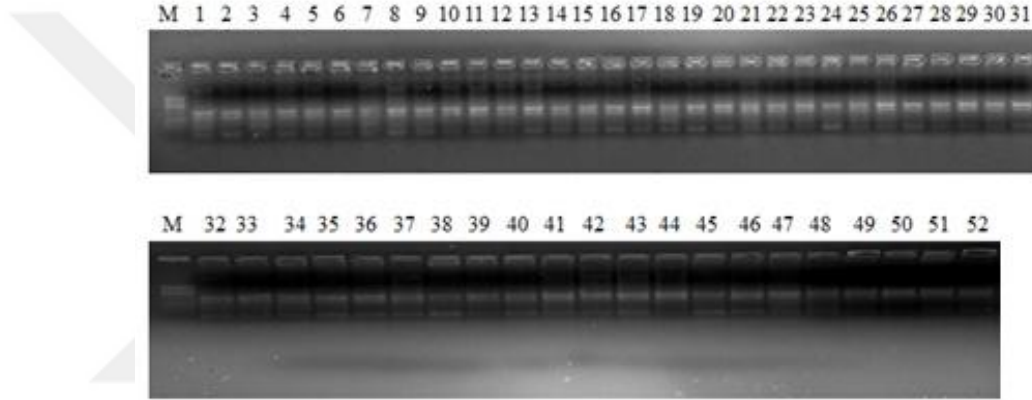


Şekil 4.7. Vitamin D ≥ 20 ng/mL bireylerin bireylere ait PCR sonuçlarının görüntüsü

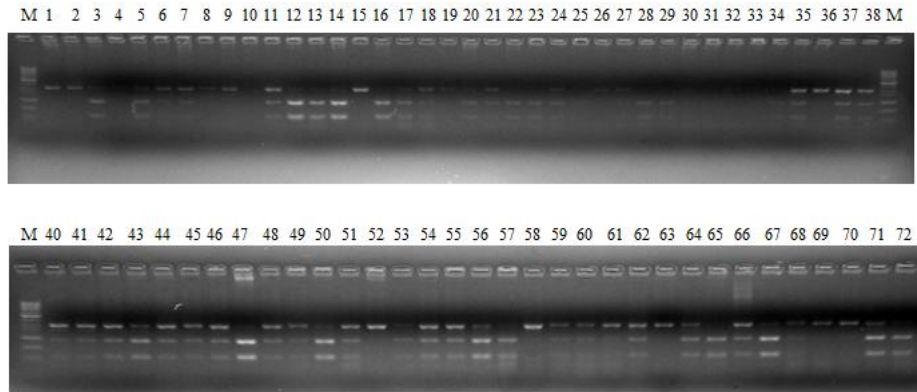
VDR geni ApaI ve TaqI polimorfizmleri aşağıda analiz edilmiştir. ApaI Vitamin D<20 ng/mL olan bireylerde (Şekil 4.8), Vitamin D ≥ 20 ng/mL bireyler (Şekil 4.9), TaqI Vitamin D<20 ng/mL olan bireyler (Şekil 4.10) ve Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan bireyler (Şekil 4.11) olarak gösterilmiştir.



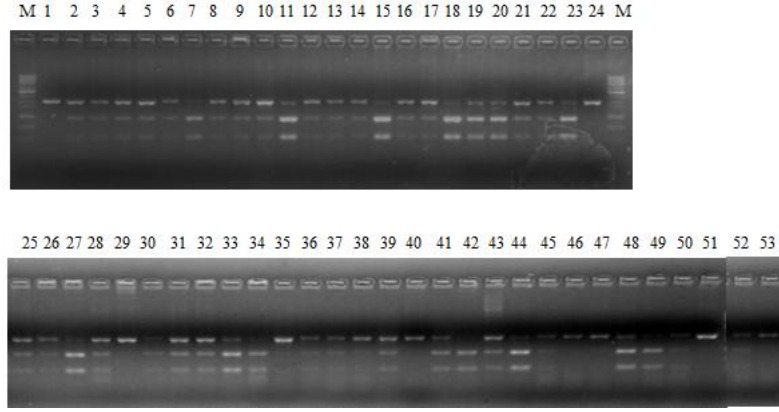
Şekil 4.8. Vitamin D < 20 ng/mL olan bireylerin ApaI ile kesim görüntüsü.



Şekil 4.9. Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan bireylerin ApaI ile kesim görüntüsü



Şekil 4.10. Vitamin D < 20 ng/mL olan bireylerin TaqI ile kesim görüntüsü.



Şekil 4.11. Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan bireylerin TaqI ile kesim görüntüsü

Çalışmanın VDR ApaI polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde AA genotipi Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 25 kişide saptanırken Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan grupta 15 kişide saptandı. Aa genotipi Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 40 kişide görülürken diğer grupta 31 kişide bulundu. aa genotipi ise Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 7 kişide tespit edilirken diğer grupta 6 kişide saptandı ($p>0.05$).

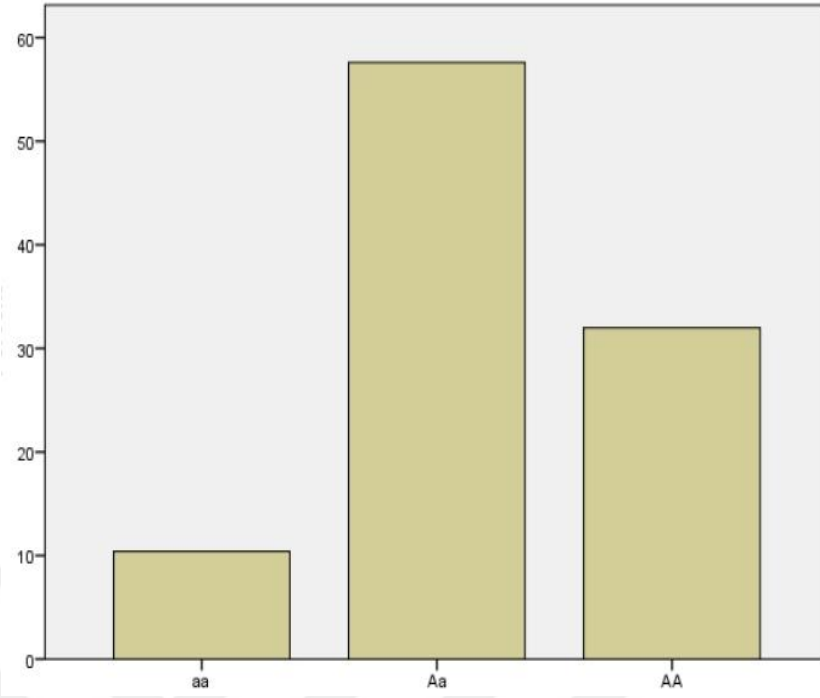
VDR TaqI polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde TT genotipi Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 31 kişide saptanırken Vitamin D ≥ 20 ng/mL olan grupta 21 kişide saptandı. Tt genotipi Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 34 kişide görülürken diğer grupta 25 kişide bulundu. tt genotipi ise Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 7 kişide tespit edilirken diğer grupta 6 kişide saptandı ($p>0.05$).

Tablo 4.5. Gruplar ve tüm popülasyonda ApaI polimorfizmi genotipleri dağılımı

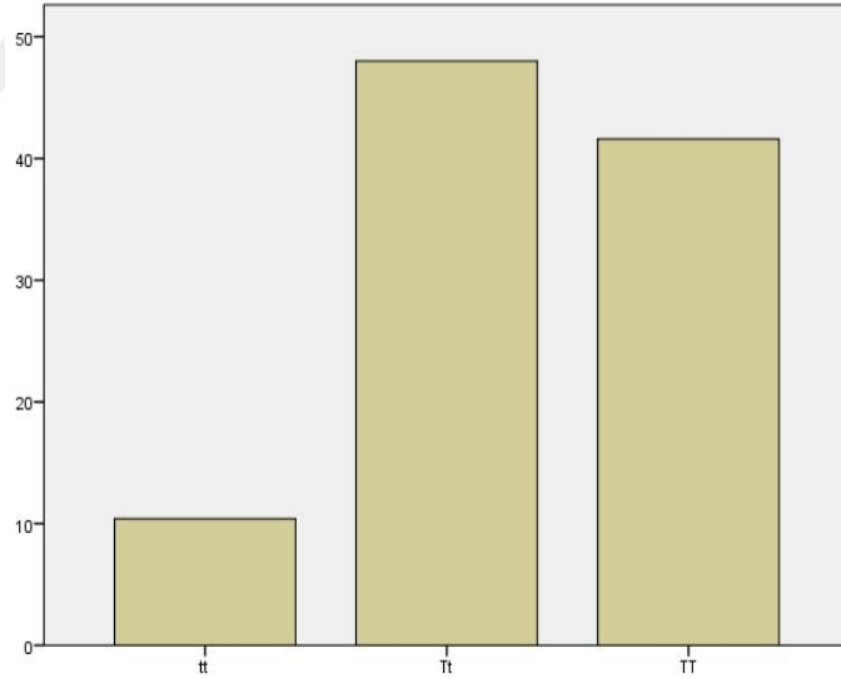
	Vitamin D < 20 ng/mL (n=72)	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=52)	Tüm Popülasyon (n=124)	Toplam%	Kız (n=50)	Erkek (n=74)
AA	25	15	40	32	18	22
Aa	40	31	71	57	28	43
aa	7	6	13	11	4	9

Tablo 4.6. Gruplar ve tüm popülasyonda TaqI polimorfizmi genotipleri dağılımı

	Vitamin D < 20 ng/mL (n=72)	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=52)	Tüm Popülasyon (n=124)	Toplam%	Kız (n=50)	Erkek (n=74)
TT	31	21	52	42	19	33
Tt	34	25	59	48	28	31
tt	7	6	13	10	3	10



Şekil 4.12. Tüm popülasyonda ApaI polimorfizmi genotip dağılımı



Şekil 4.13. Tüm popülasyonda TaqI polimorfizmi genotip dağılımı

Çalışmada cinsiyetler arasında genotip değerlendirmesi yapıldığında kızlarda AA genotipi 18, Aa genotipi 28, aa genotipi ise 4 kişide saptandı. Erkeklerde ise AA genotipi 22, Aa genotipi 43, aa genotipi ise 9 kişide saptandı ($p>0.05$).

TaqI polimorfizmi genotip dağılımına bakıldığında kızlarda TT genotipi 19, Tt genotipi 28, tt genotipi 3 kişide saptandı. Erkeklerde ise TT genotipi 33, Tt genotipi 31, tt genotipi ise 10 kişide bulundu ($p>0.05$).

Tablo 4.7.Cinsiyete göre ApaI polimorfizmi dağılımı

	AA	Aa	aa	p
Erkek (74)	22	43	9	0.656
Kız (50)	18	28	4	

Tablo 4.8.Cinsiyete göre TaqI polimorfizmi dağılımı

	TT	Tt	tt	p
Erkek (74)	33	31	10	0.175
Kız (50)	19	28	3	

Çalışmamızda tüm popülasyonda vitamin D düzeyi ile ApaI polimorfizm genotipleri ilişkisi değerlendirildi. AA genotipine sahip olanlarda D vitamini düzeyi 19.58 ± 10.38 ng/mL, Aa genotipine sahip olanlarda 22.94 ± 17.13 ng/mL ve aa genotipine sahip olanlarda 26.85 ± 27.45 ng/mL olarak bulundu ($p>0.05$).

Tablo 4.9.Vitamin D düzeyi ile ApaI polimorfizmi genotipleri ilişkisi

	AA	Aa	aa	p
Vitamin D(ng/mL)	19.58 ± 10.38	22.94 ± 17.13	26.85 ± 27.45	0.348

Çalışmamızda tüm popülasyonda vitamin D düzeyi ile TaqI polimorfizm genotipleri ilişkisi değerlendirildi. TT genotipine sahip olanlarda D vitamini düzeyi 20.69 ± 12.66 ng/mL, Tt genotipine sahip olanlarda 24.10 ± 20.32 ng/mL ve tt genotipine sahip olanlarda 20.23 ± 12.51 ng/mL olarak bulundu ($p>0.05$).

Tablo 4.10.Vitamin D düzeyi ile TaqI polimorfizmi genotipleri ilişkisi

	TT	Tt	tt	p
Vitamin D(ng/mL)	20.69 ± 12.66	24.10 ± 20.32	20.23 ± 12.51	0.509

Vitamin D < 20 ng/mL ve Vitamin D \geq 20 ng/mL olarak iki gruba ayrılan populasyonun vitamin D düzeyi ile ApaI ve TaqI polimorfizm arasındaki ilişki çalışmasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 4.11. İki grubun polimorfizmler açısından karşılaştırılması

	AA	Aa	aa	p	TT	Tt	tt	p
Vitamin D < 20	25	40	7	0.777	31	34	7	0.927
Vitamin D \geq 20	15	31	6		21	25	6	

Çalışmamızda vitamin D < 20 olan 52, vitamin D \geq 20 olan 72 sağlıklı çocuktan oluşan çalışma grubumuzda VDR geni, ApaI ve TaqI polimorfizmleri PCR/RFLP yöntemiyle analiz edildi. VDR allel (A: 0.61, a: 0.39, T:0.56, t:0,44) ile genotip frekansları (AA: %32, Aa: %57, aa: %11, TT: %42, Tt:%48, tt:%10) saptandı ve haplotipler oluşturuldu. İkili haplotipler arasında AaTt genotipinin en sık görülen genotip olduğu saptandı.

5. TARTIŞMA

Vitamin D'nin etkisi kalsiyum, fosfor metabolizması ve kemik mineralizasyonu başta olmak üzere birçok sistem üzerinedir. Vücutta fazla sayıda doku D vitamini reseptörü içerir. Yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliği ve yetersizliğinin, yaygın kanserler, enfeksiyöz ve otoimmün hastalıkların dahil olduğu bir çok kronik hastalıklarla ilişki içinde olduğu bulunmuştur. Kanser etyolojisinden immün sisteme, diyabetten astıma kadar pek çok VDR ile ilgili araştırma yapılmıştır.

D vitamini eksikliği küresel bir salgın olarak değerlendirilmektedir (Champe ve ark. 2007). Özellikle bölgemiz gibi yılın çok az bir zamanında güneşli iklim koşullarına sahip bölgelerde bu eksiklik/yetersizlik durumlarının dikkat çekici boyutlara ulaştığını görmekteyiz. Çalışmamızda D vitamini metabolizmasında yer alan ve D vitamini aktivitesini ve düzeylerini etkileyebilecek olası genetik polimorfizmlerin gösterilmesini ve bölgemizdeki D vitamini düzeyleri ile bu olası polimorfizmlerin ilişkisini belirlemeyi ve D vitamini eksikliği açısından risk oluşturup oluşturmadığını araştırmayı hedefledik. Araştırmamızda ApaI ve TaqI VDR gen polimorfizmlerinin D vitamini eksikliği ve yetersizliği açısından risk oluşturmadığını belirledik.

Dünyada birçok toplumda, farklı yaş gruplarında yapılan araştırmalarda, D vitamini eksiklik ve yetersizliğinin önemsenmesi gereken boyutlarda olduğu ortaya konulmuştur (Demiral ve ark. 2016; Taşkıran ve Cansu 2016; Aykal ve ark. 2016; Cashman ve ark. 2016). Kanada Pediatri Akademisi anne sütü alan bütün bebeklere yaz döneminde 400 IU, kış döneminde ise 800 IU D vitamini önermektedir (Holick ve Chen 2008). Ülkemizde 29 Nisan 2005'te T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından başlatılan "Bebeklerde D Vitamini Yetersizliğinin Önlenmesi ve Kemik Sağlığının Korunması Projesi" çerçevesinde 400 IU D vitaminin doğumdan sonraki 15. günde başlanarak en az bir yıl süreyle kullanılması önerilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2005).

Doğu Afrika göçmeni olan çocuklarda yapılan bir çalışmada %87 oranında vitamin D yetersizliği ve %44 oranında vitamin D eksikliği görülmüştür (McGillivray ve ark. 2007). Son yıllarda Ankara bölgesinde yapılan bir araştırmada yüksek oranda (%51.8) D vitamini eksikliği ve %20.7 oranında D vitamini yetersizliği tespit edilmiştir (Uçar ve ark. 2012). Dünyadaki tüm çocuk ve

erişkinlerin %30-50'sinde; Avrupa, Amerika ve Kanada'daki erişkin erkek ve kadınların ise %20-100'ünde D vitamini eksikliği olduğu belirlenmiştir (Holick ve ark. 2011). Tespit edilen bu riskten dolayı tüm yaş gruplarının D vitamini ile desteklenmesi ve D vitamini ile zenginleştirilmiş gıdalardan D vitamini ihtiyacını karşılayacak düzeyde tüketmelerinin sağlanması önerilmektedir (William ve Grant 2005). Ülkemizde bölgemiz illerinden biri olan Erzurum'da yapılan bir araştırmada D vitamin düzeyleri düşük bulunmuş (18.7 ± 6.8 ng/mL), iki-dört yaşındakilerde D vitamini eksikliği %52, beş-sekiz yaşındakilerde %62,5 ve dokuz-oniki yaşındakilerde %63 tespit edilmiştir (Güllük ve Alp 2017). Ülkemizde Van'da Acar ve arkadaşları yaptığı benzer araştırmalarda %52 oranında adölesan döneminde D vitamini eksikliği olduğunu tesbit etmişlerdir (Acar ve Cesur 2005). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada kış mevsiminde D vitamini düzeyleri düşük bulunmuş; 3-14 yaşları arasındaki çocuklarda %14, 15-18 yaşlarında ise %47 D vitamini eksikliği olduğu gösterilmiştir (Lapatsanis ve ark. 2005). Ankara'da 0-16 yaş arası 440 çocuk üzerinde yapılan bir araştırmada D vitamini yetersizliği ve eksikliğinin toplam oranı %40 olarak tespit edilmiştir (Andıran ve ark. 2012). Yeni Zellanda'da yapılan çalışmada çocuk ve adölesanların yarısına yakınında D vitamini eksikliği olduğu gösterilmiştir (Jennifer ve ark. 2005).

Çalışmamızda D vitamini düzeyleri ortalama 23.49 ng/mL olarak bulunmuş, erkeklerde ortalama 24.73 ng/mL, kızlarda ise 18.62 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Toplam 124 olgudan, 72 olguda vitamin D düzeyi 20 ng/mL altında, 52 olguda ise normal sınırlarda saptanmıştır. Çalışmamız bu açıdan bölgemizde yapılan diğer çalışmalarla D vitamin eksikliği/yetersizliği açısından uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızdaki vakaların D vitamini düzeyleri değerlendirmesinde en düşük değer 5 ng/mL iken, en yüksek değer ise 116 ng/mL olduğu saptandı. Çalışmadaki tüm vakaların ortalama D vitamini düzeyinin 23.49 ng/mL olduğu belirlendi. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından başlatılan D vitamini profilaksi kampanyası ile D vitamini eksikliği önemli ölçüde azalmıştır. Sağlık Bakanlığı'nın 2005 yılında başlattığı kampanya öncesinde Doğu Anadolu Bölgesi'nde yapılan bir araştırmada rikets sıklığı %6 iken bu kampanya sonucunda 2008 yılında yapılan bir araştırma sonucunda rikets sıklığının artık %0.1'in altına indiği saptanmıştır (Özkan ve ark. 2009).

Çalışmamızda da görüldüğü üzere gerek ülkemizde gerekse dünyada farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda D vitamini düşüklüğü ile ilgili veriler yaklaşık olarak aynıdır. Yapılan araştırmalar güneş ışınlarının D vitamini sentezi üzerinde büyük etkisi olduğunu göstermiştir. Güneş ışınları mevsimlere göre farklılık göstermektedir. Kış aylarında güneş ışınlarının atmosfere daha eğik girmesi yeryüzüne ulaşan UV ışın oranını ve etkisini azaltmaktadır (Rajeswari ve ark. 2003). Arjantin'in kış mevsimi daha uzun süren bölgelerinde diğer bölgelerine göre deriden D vitamini sentezinin ve serum 25(OH)D3 düzeyinin daha düşük olduğu saptanmış olup, daha az güneş ışını alan bölgede D3 vitamininin daha düşük olduğu bulunmuştur (Ladizesky ve ark. 1995). Suudi Arabistan'da yapılan bir araştırmada doğal ultraviyole ışınlarıyla karşılaşma ile serum vitamin D düzeyinde iki buçuk kat artış saptanmıştır (Siddiqui ve Kamfar 2007). Bölgemizdeki mevsimsel koşullar göz önüne alındığında kışların uzun ve soğuk geçmesi bununla birlikte güneşli günlerinde az olması nedeniyle esas D vitamin kaynağımız olan güneşten yeterince faydalanılmadığı açıktır. Bölgemizin ve ilimizin zorlu ve uzun kış koşullarına sahip olması gecelerinin gündüzlere nisbeten uzun olması, güneşli gün sayısının az olması insanların çoğu vakitlerinin kapalı alanlarda geçirmesine sebep olmaktadır. Bu sebeple vitamin D eksikliği kaçınılmaz görülmektedir.

Çalışmamızda cinsiyete göre D vitamin düzeylerine bakıldığında kızlarda ortalama D vitamini değeri 18.62 ng/mL iken, erkeklerde 24.73 ng/mL idi ve istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı. D vitamini şiddetli eksikliğinin ve eksikliğinin kızlarda daha fazla olduğu, D vitamini yetersizliği ve normal D vitamin düzeyi durumunun ise erkeklerde daha sık olduğu görüldü. D vitamini yetersizliği, geleneksel yaşam tarzı nedeniyle (dışarı az çıkma, kapalı giyinme gibi) kız çocuklarını daha çok etkilemektedir. D vitamini seviyeleri ile cinsiyetler arasındaki ilişki açısından ABD'de 14,091 kişi ile yapılan bir çalışmada erkeklerde ortalama D vitamini düzeyi 31.37 ng/mL, kızlarda ise 28.72 ng/mL saptanmış ve istatistiksel anlamlı bulunmuştur (Black ve Scragg 2005). Ülkemizde Kocaeli bölgesinde yapılan çalışmada kız öğrencilerde %50 oranında 25-OH düzeyinin 10 ng/mL'nin altında olduğu, diğer öğrencilerde ise bu oranın %3-13 arasında olduğu belirlenmiştir (Hatun ve ark. 2005). Hem bizim çalışmamızda hem de ülkemizde ve diğer ülkelerde

yapılan çalışmalarda kızlardaki D vitamini düzeylerinin erkeklere göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

Birçok dokuda VDR'nin bulunması bu vitaminin fonksiyonları hakkında yeni görüşler ortaya koymuştur. Etkilerini D vitaminin aktif formu olan 1,25 (OH)₂ D₃'ün vitamin D reseptörüne bağlanması ve sonrasında biyolojik etkilere aracılık eden gen gruplarının transkripsiyonlarını düzenleyerek gösterir (Dusso ve ark. 2005). D vitamini reseptörünün immün sistem, kan hücreleri ve santral sinir sistemi gibi birçok değişik dokuda da olduğu gösterilmiş, immünmodulatuvar, antiinflamatuvar, hormon sekresyonunun düzenlenmesi, anti-neoplastik özelliği, hücresele proliferasyon-diferansiasyon gibi etkileri olduğu anlaşılmıştır (Holick 2004; Cinaz 2014). Kemik yoğunluğu üzerine birçok çevresel faktörün etkili olmasının yanında kemik kütlesi bakımından insanlar arasındaki farklılıkların önemli bir bölümünün genetik kaynaklı olduğu sanılmaktadır (Baim ve ark. 2008). Özellikle çeşitli genetik polimorfizmlerin vitamin D düzeyleri üzerine etkisi tespit edilmiştir. Bu nedenle D vitamini düzeylerini kontrol eden genetik faktörlerin bir halk sağlığı sorunu olan vitamin D eksikliği açısından anlaşılması önem oluşturmaktadır.

D vitamininin fonksiyon göstermesi için sadece serum 25 (OH) Vit D düzeyi yeterli olmamakta, başka faktörlerde rol oynamaktadır. Aktif D vitamininin fonksiyonunu göstermesine transkripsiyon faktörü ile aktive edilen bir ligand olan VDR aracılık etmektedir. VDR geni üzerindeki çalışmalarda birçok polimorfizm saptanmış ve bunlar FokI, BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri olarak adlandırılmıştır (Valdivielso ve Fernandez 2006). VDR gen polimorfizmleri ile D vitamini seviyeleri arasında ilişki ile ilgili birçok çalışma yapılmış olup, farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılmış olan bazı klinik çalışmalarda, D vitamini düzeylerinin, D vitaminin metabolizmasında yer alan proteinlerin genlerindeki polimorfizimlerle ilişkisi ortaya çıkarılmıştır (Junaid ve ark. 2015; Thanapirom ve ark. 2017; Zheng ve ark. 2017). Bir çalışmada VDR genindeki polimorfizmlerin D vitamini düşüklüğüne neden olabileceği saptanmıştır (Bhanushali ve ark. 2009; Smolders ve ark. 2009). Japonya'da yapılan D vitamini ile ilişkili polimorfizmler ve D vitamini düzeyi ilişkisi çalışmasında anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Armas ve ark. 2010). Araştırmamızda ise ApaI ve TaqI VDR gen polimorfizmlerinin D vitamini eksikliği ve yetersizliği açısından risk oluşturmadığını belirledik.

Dayangaç ve arkadaşları 52 erkek, 48 kadın toplam 100 sağlıklı bireyden oluşan Türk popülasyonunda VDR Gen Polimorfizmi çalışmasında FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin PCR/RFLP yöntemiyle analizinde genotip frekanslarını FokI açısından FF:%55, Ff:%36, ff:%9, ApaI açısından AA:%30, Aa:%55, aa:%15, TaqI açısından, TT:%35, Tt:%49, tt:%16 saptamışlardır (Dayangaç ve ark. 2002). Hindistan'da sağlıklı popülasyonda yapılan polimorfizm çalışmasında FokI polimorfizmi açısından FF, Ff ve ff genotipleri sırasıyla %44, %49 ve %7, TaqI polimorfizmi açısından TT, Tt ve tt genotipleri sırasıyla %49, %40 ve %11, ApaI polimorfizmi açısından ise AA, Aa, aa genotipleri sırasıyla %36, %44 ve %20 saptanmıştır (Bid ve ark. 2005). İran'da sağlıklı popülasyonda yapılan VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri çalışmasında ApaI açısından AA, Aa ve aa genotipleri sırasıyla %42, %47 ve %10, TaqI açısından ise TT, Tt ve tt genotipleri sırasıyla %36, %58 ve %6 olarak belirlenmiştir (Haddad 2014). 74 sağlıklı erkek, 50 sağlıklı kız ile yaptığımız çalışmamızda ise ApaI ve TaqI VDR gen polimorfizmlerini belirledik. ApaI polimorfizmi açısından AA:%32, Aa:%57, aa:%13, TaqI açısından TT:%42, Tt:%48, tt:%10 olarak belirlendi ve Dayangaç ve ark. tarafından yapılan çalışma ile benzer sonuçlar elde ettik. Bu noktada çalışma popülasyonumuzun ülkemiz genetik profilini yansıttığını ve çeşitli ülkelerdeki sağlıklı popülasyonda yapılan çalışmalar ile polimorfizm ve genotip oranları açısından benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

VDR gen polimorfizmleri ile D vitamin düzeyleri ile ilgili dünyada ve ülkemizde yapılmış birçok çalışma olmasına rağmen sonuçlar birbirleriyle çelişkili bulunmuştur. Hindistan'da kemik mineral dansitesi ile ilgili sağlıklı popülasyonda yapılan bir çalışmada TaqI polimorfizmleri ile 25(OH)D vitamin düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Rao ve ark. 2006). Güney Brezilya'da kızlarda yapılan kesitsel bir çalışmada TaqI, ApaI ve BsmI polimorfizmlerinin GGT haplotipinin düşük vitamin D seviyeleri ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (Santos ve ark. 2012). Mısır'da graves hastası olan hastalarda yapılan bir çalışmada VDR polimorfizmlerinin (BsmI, ApaI 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 pediatrik popülasyonda yapılan bir çalışmada VDR ile vitamin D düzeyleri arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (Kitanaka ve

ark. 2012). Ülkemizde majör depresyonda vitamin D düzeyleri ve FokI polimorfizmi arasındaki ilişki çalışmasında istatistiksel açıdan anlamlı sonuç saptanamamıştır (Şahin ve ark. 2017). Yine ülkemizde Hashimoto Tiroiditi hastalarında FokI ve TaqI polimorfizmi ve vitamin D düzeyleri araştırmasında vitamin D düzeyleri ile FokI ve TaqI polimorfizmleri arasında ilişki saptanamamıştır (Güleryüz ve ark. 2016). Mısır'da Hipotiroidik hastalarda yapılan çalışmada bu hastalardaki vitamin D seviyeleri ile FokI ve ApaI polimorfizmleri arasında ilişki belirlenememiştir (Elrawi ve ark. 2019). Bu çalışmaya benzer olarak İran' da İran Azerisi olan otoimmün Tiroid hastalığına sahip kişilerde yapılan çalışmada vitamin D seviyeleri ile BsmI ve TaqI polimorfizmleri arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamamıştır (Faghfourı ve ark. 2018).

Polonya'da Otizm Spektrum Bozukluğu olan çocuklarda yapılan bir çalışmada vitamin D seviyeleri ile VDR gen polimorfizmleri ilişkisi anlamlı bulunmamıştır (Cieślińska ve ark. 2017). Fas'da SLE hastalarında yapılan bir çalışmada BsmI polimorfizmi ile vitamin D düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (El Omri ve ark. 2017). Mısır'da pulmoner tüberkülozlu hastalarda yapılan bir çalışmada kontrol grubundaki olgulara göre vitamin D seviyeleri istatistiksel olarak daha düşük saptanmış, tüberküloz olgularında FokI genotipleri FF, Ff, ve ff sırasıyla %30, %50 ve %20 saptanmıştır. Kontrol grubundaki olgularda ise FokI genotipleri sırasıyla %40, %40 ve %20 bulunmuş ve her iki grup için de VDR FokI polimorfizmi ile vitamin D seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanamamıştır (Mahmoud ve Ali 2014). Ülkemizde pediatrik popülasyonda yineleyen tonsillofarenjitte D vitamininin rolü ile ilgili yapılan çalışmada yaşları 2-10 arasında değişen yineleyen tonsillofarenjitli 84 vaka çalışma grubunu, sağlıklı 71 vaka kontrol grubunu oluşturmuş ve serum 25-OH D vitamin düzeyleri çalışılmış, çalışma grubunda vitamin D değerleri düşük saptanmış ve istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca vitamin D reseptör polimorfizmleri (ApaI, TaqI, FokI) PCR yöntemi ile belirlenmiş ve bu polimorfizmler ile vitamin D düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Yıldız ve ark. 2012). Hindistan' da vitiligo hastalarında yapılan vitamin D düzeyleri ve VDR gen polimorfizmleri ilişkisi çalışmasında anlamlı sonuçlar elde edilememiştir (Hassan ve ark. 2019).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada bahsettiğimiz çalışmalara zıt olarak Polikistik Over Sendromu hastası kadınlardaki vitamin D seviyeleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuş ve bu düşüklüğün ApaI polimorfizmi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Dipanshu ve Chakravorty 2015). Ülkemizde Sivas Cumhuriyet Üniversitesi'nde yapılan bir vaka bildirisinde D vitamini eksikliği ile birlikte yüksek kreatin kinaz ve kas güçsüzlüğü olan bir bayan hasta incelenmiştir. Aile bireylerinde de osteoporoz olan vakanın, annesi ve ablasında da osteoporoz mevcut olduğu, hastadaki semptomların nedeninin düşük D vitamini düzeyleri ve VDR gen polimorfizminin (BsmI varyantı) BB homozigot oluşuyla ilgili olduğu anlatılmış, anne ve ablasında da BB genotipi saptanan hastanın semptomlarının D vitamini replasman tedavisinden sonra düzeldiği belirtilmiştir. Çalışmada BB genotipi ile düşük vitamin D seviyesinin ve oluşan semptomların ilişkili olabileceği anlatılmıştır (Yıldırım ve ark. 2015). Çalışmamızda vitamin D düzeyi 5 ng/mL olan ve herhangi bir klinik semptomu olmayan olgumuzun ApaI polimorfizmi AA, TaqI polimorfizmi ise Tt, vitamin D düzeyi 116 ng/mL olan (fazlalık), vitamin D metabolizması ile ilgili herhangi bir hastalığı olmayan, D vitamini kullanım öyküsü olmayan ve herhangi bir klinik semptomu olmayan olgumuzun ise ApaI polimorfizmi aa, TaqI polimorfizmi ise Tt olarak belirlendi. Ele alınan iki olgumuzun vitamin D seviyelerine göre klinik semptomlarının yokluğu bu durumun polimorfizmler ile ilişkisini düşündürmektedir. Klinik semptomlar - vitamin D düzeyleri - polimorfizm ve genotipler arasında ilişki olup olmadığı açısından başka çalışmalara ve daha büyük bir popülasyona ihtiyaç duyulmaktadır ve çalışmamızın buna yönelik çalışmalara ışık tutar nitelikte olacağını düşündürmektedir.

Japonya'da vitamin D eksikliğinde genetik faktörlerin etkisinin incelendiği bir araştırmada vitamin D eksikliği olan 30 ve kontrol grubu olan 66 çocuk ele alınmış ve 25(OH) vitamin D seviyelerinin genetik faktörlerden etkilendiği ve birden fazla genetik polimorfizmin bunda etkisinin olduğu saptanmış ve ayrıca BsmI polimorfizminin genotiplerinin her iki grupta istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir (Kitanaka ve ark. 2012). Hindistan'da sağlıklı 84 kadın ve 59 erkek ile yapılan bir çalışmada FokI genotipleri FF %59, Ff %36, ff %5 ve TaqI genotipleri TT %49, Tt %43, tt %8 olarak belirlenmiş, oransal açıdan genotip değerlendirmesi diğer farklı popülasyonlarla benzer saptanmış ve TaqI polimorfizmi ile vitamin D

seviyeleri arasındaki ilişki anlamlı bulunmuş, bu ilişki FokI polimorfizminde anlamlı bulunmamıştır (Bhanushali ve ark. 2009). Hindistan' da preterm doğum yapan kadınların incelendiği bir araştırmada bu kadınlardaki preterm doğumların FokI polimorfizmindeki FF genotipi ile ilişkili olduğu ve bu kadınların düşük vitamin D seviyelerinin ise ff genotipi ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Patel ve ark. 2017).

Ülkemizde bölgemiz illerinden olan Erzurum'da 2008'de 24 vitamin D eksikliği olan Rikets hastası ve 100 sağlıklı çocuk ile yapılan bir araştırmada VDR gen polimorfizmleri ile vitamin D eksikliği olan rikets vakaları arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Bora ve ark. 2008). İtalya'da 2014' yapılan Tip 1 diyabetli 28 erkek ve 38 kız ile yapılan çalışmada Tip 1 diyabet hastalarında kontrol grubuna göre vitamin D değerlerinin anlamlı şekilde düşük olduğu ve bu düşüklüğün ApaI ve FokI homozigot polimorfizmleri ile ilişkili vurgulanmış ve bu çalışmanın daha fazla olgu sayısı ile desteklenmesi gerektiği belirtilmiştir (Shepelkevich ve ark. 2014). Endonezya'da kadınlar ile yapılan bir çalışmada düşük vitamin D seviyelerinin risk faktörleri arasında vitamin D'nin az alımı ve VDR gen polimorfizmleri sayılmış, çalışmada TaqI ve BsmI polimorfizmine sahip kadınlarda 28 günlük vitamin D ve kalsiyum desteğinin sonuçları araştırılmıştır. Çalışma VDR gen polimorfizmine sahip 40 kadın ile yapılmış, denekler rastgele 20'şer kişilik iki gruba ayrılmış, bir gruba 28 gün vitamin D ve kalsiyum desteği verilmiş, diğer gruba ise plasebo ve diyet uygulanmış, 28. gün serum 25(OH) vitamin D ve kalsiyum değerleri ölçülmüş, halen vitamin D değerlerinin düşük saptandığı bulunmuş, çalışma sonucunda TaqI ve BsmI VDR gen polimorfizmlerinin vitamin D desteğine rağmen, sonuçlanan düşük vitamin D değerlerinde etkisinin olabileceği belirtilmiştir (Sari ve ark. 2017).

Sağlıklı çocuklar ile yapılan çalışmamızda ortalama D vitamini düzeyleri ApaI polimorfizmi açısından AA genotipinde 19.58 ng/mL, Aa genotipinde 22.94 ng/mL ve aa genotipinde 26.85 ng/mL olarak bulundu, TaqI polimorfizmi açısından TT genotipinde 20.69 ng/mL, Tt genotipinde 24.10 ng/mL, tt genotipinde ise 20.23 ng/mL olarak bulundu ve genotipler arasında vitamin D düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak çalışmamızda sağlıklı çocuklarda VDR gen polimorfizmleri (ApaI ve TaqI) sıklığı ve polimorfizmler ile vitamin D düzeyi arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık ancak literatürde de örnekleri olduğu gibi anlamlı bir korelasyon

bulamadık. Farklı olarak ApaI ve TaqI polimorfizmleri ile vitamin D düzeyleri ilişkisini cinsiyet bazında da araştırdık ve anlamlı fark saptayamadık. Ayrıca VDR'nin farklı genetik polimorfizmleri olmasına karşın biz çalışmamızı iki polimorfizm ile yaptık, diğer polimorfizmleri çalışmamıza dahil edememiş olmamız eksik noktamız olarak kabul edilebilir. Sağlıklı ocuklarla yapılan çalışmamızda ve ülkemizde ve dünyada yapılan diğer benzer çalışmalarda genellikle VDR ve vitamin D düzeyleri ilişkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamış, fakat Tip 1 Diyabet, Polikistik Over Sendromu, Rikets gibi bazı hastalıklarda yapılan çalışmalarda istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Çalışmamız ve getirdiği sonuçlar bu açıdan önemlidir ve bölgemizdeki bundan sonra yapılacak olan sağlıklı ve bazı hastalıklarda yapılacak olan çalışmalara ışık tutar nitelikte olacaktır. Çalışmamızın sadece sağlıklı çocukları kapsaması, 12 ay-18 yaş gibi geniş bir yaş aralığına hitap etmesi, çalışma popülasyonunun yapılan diğer çalışmalara göre yeterince fazla olması ve Kars bölgesinde yapılan ilk VDR gen polimorfizm çalışması olması sebebiyle farklı olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

12 ay-18 yaş aralığında 74 kız ve 50 erkekten oluşan 124 sağlıklı çocuğun dahil edilip, 72 tane vitamin D düzeyleri 20 ng/mL altında olan ve 52 tane 20 ng/mL ve üzeri olan iki grupta VDR ApaI ve TaqI polimorfizmi ve vitamin D düzeyleri ile ilişkisini saptamaya yönelik çalışmamızda elde edilen verilere göre şu değerlendirmeler yapılabilir;

1. Çalışmada sağlıklı çocukların kış döneminde çalışılan vitamin D düzeyleri belirlendi ve VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri çalışıldı.
2. Çalışmaya alınan erkek çocukların yaş ortalaması 7.86 ± 4.74 , kız çocukların yaş ortalaması ise 8.47 ± 5.33 olarak belirlendi.
3. Çalışmaya alınan toplam 124 sağlıklı çocuktan 74 tanesinde vitamin D düzeyleri 20 ng/mL altında, 50 tanesinde ise 20 ng/mL ve üzeri saptandı.
4. Vitamin D < 20 ng/mL olan grupta ortalama vitamin D değeri 13.82 ± 3.29 , 20 ng/mL ve üzeri olan grupta ortalama vitamin D değeri 33.96 ± 20.47 saptandı. Tüm popülasyonda ortalama vitamin D değeri 23.49 ± 21.54 , minimum değeri 5, max değeri 116 olarak belirlendi. Cinsiyete göre değerlendirme yapıldığında erkeklerde ortalama vitamin D 24.73 ± 17.64 , kızlarda ise 18.62 ± 14.69 saptandı.
5. Vitamin D düzeylerine göre yapılan değerlendirmede şiddetli eksiklik hiç saptanmazken, eksiklik toplam 43, yetersizlik 29, normal değerler 51, fazlalık ise 1 çocukta saptandı.
6. D vitamini düşük olanların PTH ve ALP seviyeleri daha yüksek olarak belirlendi.
7. VDR TaqI polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde TT genotipi vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 31 kişide saptanırken, vitamin D ≥ 20 ng/mL olan grupta 21 kişide saptandı. Tt genotipi vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 34 kişide görülürken diğer grupta 25 olarak bulundu. tt genotipi ise vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 7 kişide tespit edilirken diğer grupta 6 kişide saptandı. TaqI polimorfizmi genotip oranları ülkemiz ve dünyada yapılan çalışmalar ile uyumlu bulundu. tt genotipi diğer iki genotipe göre anlamlı derecede düşük sayıda saptandı.

8. Çalışmanın VDR ApaI polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde AA genotipi vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 25 kişide saptanırken vitamin D \geq 20 ng/mL olan grupta 15 kişide saptandı. Aa genotipi vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 40 kişide görülürken diğer grupta 31 çocukta bulundu. aa genotipi ise vitamin D < 20 ng/mL olan grupta 7 kişide tespit edilirken diğer grupta 6 kişide saptandı. ApaI polimorfizmi genotip oranları ülkemiz ve dünyada yapılan çalışmalar ile uyumlu bulundu. aa genotipi diğer iki genotipe göre anlamlı derecede düşük sayıda saptandı.
9. VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri genotip değerlendirmesinde cinsiyete göre anlamlı fark saptanmadı.
10. Tüm populasyonda vitamin D düzeyi ile ApaI polimorfizm genotipleri ilişkisi değerlendirildi. AA genotipine sahip olanlarda D vitamini düzeyi 19.58 ± 10.38 ng/mL, Aa genotipine sahip olanlarda 22.94 ± 17.13 ng/mL ve aa genotipine sahip olanlarda 26.85 ± 27.45 ng/mL olarak bulundu ve istatistiksel açıdan anlamlı fark olmadığı belirlendi.
11. Tüm populasyonda vitamin D düzeyi ile TaqI polimorfizm genotipleri ilişkisi değerlendirildi. TT genotipine sahip olanlarda D vitamini düzeyi 20.69 ± 12.66 ng/mL, Tt genotipine sahip olanlarda 24.10 ± 20.32 ng/mL ve tt genotipine sahip olanlarda 20.23 ± 12.51 ng/mL olarak bulundu ve istatistiksel açıdan anlamlı fark olmadığı belirlendi.
12. Vitamin D < 20 olan 52, Vitamin D \geq 20 olan 72 sağlıklı çocuktan oluşan çalışma grubumuzda VDR geni, ApaI ve TaqI polimorfizmleri PCR/RFLP yöntemiyle analiz edildi. VDR allel (A: 0.61, a: 0.39, T:0.56 t:0.44) ile genotip frekansları (AA: %32, Aa: %57, aa: %11, TT: %42, Tt:%48, tt:%10) saptandı ve haplotipler oluşturuldu. İkili haplotipler arasında AaTt genotipinin en sık görülen genotip olduğu saptandı ve allel oranları ve ikili haplotip oranları açısından yapılan diğer çalışmalarla uyumlu saptandı.
13. Vitamin D eksikliğinde çevresel faktörlerin risk oluşturma açısından önemli bir orana sahip olduğu, genetik faktörlerin de araştırma aşamasında olmakla birlikte risk oluşturabileceği akılda tutulmalıdır.

14. Bölgemizde çocukluk yaş grubunda 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.
15. Çalışmamızda vitamin D düzeyi 5 ng/mL olan ve herhangi bir klinik semptomu olmayan olgumuzun ApaI polimorfizmi AA, TaqI polimorfizmi ise Tt, vitamin D düzeyi 116 ng/mL olan (fazlalık), vitamin D metabolizması ile ilgili herhangi bir hastalığı olmayan, D vitamini kullanım öyküsü olmayan ve herhangi bir klinik semptomu olmayan olgumuzun ise ApaI polimorfizmi aa, TaqI polimorfizmi ise Tt olarak belirlendi. Ele alınan iki olgumuzun vitamin D seviyelerine göre klinik semptomlarının yokluğu bu durumun polimorfizmler ile ilişkisini akla getirmektedir. Klinik semptomlar - vitamin D düzeyleri - polimorfizm ve genotipler arasında ilişki olup olmadığı açısından başka çalışmalara ve daha büyük bir popülasyona ihtiyaç duyulmaktadır ve çalışmamızın buna yönelik çalışmalara ışık tutar nitelikte olacağını düşündürmektedir.
16. Sonuç olarak çalışmamız, ApaI veTaqI polimorfizmlerinin çalıştığımız popülasyonda, D vitamin eksiklik/yetersizlik durumu açısından bir risk oluşturmadığını göstermiştir. Ülkemizde ve dünyada çeşitli hastalarda ve sağlıklı popülasyonda yapılan bazı çalışmalarda VDR polimorfizm-Vitamin D düzeylerinin anlamlı ilişkisi belirlenmiş olup, bölgemizde daha büyük bir sağlıklı popülasyonda veya çalışmamız ile ilişkilendirilen bir hastalıkta VDR gen polimorfizm-Vitamin D düzeyleri ilişkisinin çalışılması gerektiğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

Abd El Gawad SS, Abdul Samee ER, Metwali AA and Abd El Gawad MS. Vitamin D receptor gene polymorphism and its association with 1,25-dihydroxyvitamin D(3) inpatients with Graves disease in an Egyptian population: a pilot study. *Endocr Pract* 2012;18(2):132-139.

Acar MN. Cesur Y. Van yöresindeki Adölesanlarda D vitamini durumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, (Danışman: Doç. Dr. Yaşar Cesur). Van 2005.

Adams JS, Hollis BW. Vitamin D: Synthesis, metabolism and clinical measurement. In: Coe FL, Favus MJ, (eds); *Disorders of bone and mineral metabolism*, 2th edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2002; 157-74.

Agnello L, Scazzone C, Lo Sasso B, Bellia C, Bivona G, Realmuto S, Brighina F, Schillaci R, Ragonese P, Salemi G, Ciaccio M. VDBP, CYP27B1, and 25-Hydroxyvitamin D Gene Polymorphism Analyses in a Group of Sicilian Multiple Sclerosis Patients. *Biochem Genet* 2017;55(2):183–192.

Akıl M. Miyokardiyal infarktüs ile Rock2gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Gaziantep, (Yrd. Doç. Dr. Şeniz Demiryürek) 2011.

Allgrove J. The paratiroid and disorders of calcium and bone metabolism. In: Brook C, Clayton P, Brown R (ed). *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology*. Backwell Publishing, 6th edition 2009; 374-426.

Altman RD, Gold GE. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis, revised. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15(Suppl A):A1-56.

Andıran N, Çelik N, Akça H, Doğan G. Vitamin D deficiency in children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2012;4(1):25-29.

Ardeniz Ö. Vitamin D ve İmmün Sistem Vitamin D and the Immune System: Medical Education. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28(2):198-205.

Ataş A, Çakmak A, Soran M. D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2008;4(1):1-7.

Aykal G, Cerit N, Tekeli SÖ. Ameliyathane personelinde D vitamini eksikliği ve yetersizliği prevalansı. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2016;14:18-26.

Baim S, Binkley N, Bilezikian JP, Kendler DL, Hans DB, Lewiecki EM, et al. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom* 2008; 11(1): 75-91.

Baker AR, McDonnell DP, Hughes M et al. Cloning and expression of fulllength cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:3294-3298.

Balaubramanian S, Dhanalakshmi K, Amperayani S. Vitamin D Deficiency in Childhood—A Review of Current Guidelines on Diagnosis and Management. *Indian Pediatrics* 2013; 50: 669-75.

Bereket A. Kalsiyum ve D vitamini Metabolizması. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2006;2(11):47-55.

Bhan I. Vitamin D Binding Protein and Bone Health. Review Article. *International Journal of Endocrinology* 2014;4:39-46.

Bhanushali AA, Lajpal N, Kulkarni SS, Chavan SS, Bagadi SS, Das BR. Frequency of fokI and taqI polymorphism of vitamin D receptor gene in Indian population and its association with 25-hydroxyvitamin D levels. *Indian J Hum Genet* 2009; 15(3):108–113.

Bid, H. K., Mishra, D. K., & Mittal, R. D. Vitamin-D receptor (VDR) gene (Fok-I, Taq-I and Apa-I) polymorphisms in healthy individuals from north Indian population. 2005.

Bilginer Y, Beşbaş N. Kalsiyum, fosfor, magnezyum ve böbrek. *Katkı Pediatr Derg* 2007; 1: 110-149.

Black PN and Scragg R. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest* 2005; 128(6): 3792-3798.

Bora, G., Özkan, B., Dayangaç-Erden, D., Erdem-Yurter, H., & Coşkun, T. Vitamin D receptor gene polymorphisms in Turkish children with vitamin D deficient rickets. *Turkish Journal of Pediatrics* 2008; 50(1).

Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C and Demay M. Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. *Endocrine Rev* 2008; 29(6): 726–776.

Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Vitamin D in healthy European paediatric population. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31828f3c05>. *JPGN* 2013;56:692-701.

Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormones and disorders of mineral metabolism. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR Eds. *Williams Textbook of Endocrinology*, 11 Ed. Philadelphia: Elsevier, 2008.

Bringhurst FR, Demoy MB, Kronenberg HM. Vitamin D. Williams Textbook of Endocrinology (Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS ed). Tenth edition. Philadelphia, Saunders Elsevier 2003; 1317-1323.

Bu FX, Armas L, Lappe J, Zhou Y, Gao G, et al. Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. Hum Genet 2010;128:549-556.

Bulca S. Östrojen reseptör alfa geni xba 1 ve pvu 11 Polimorfizmlerinin postmenopozal osteoporozlu hastalarda incelenmesi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Adana, Yüksek lisans tezi, Danışman: Halil Kasap. 2010.

Cashman KD, Dowling KG, Skrabakova Z, et al. Vitamin D deficiency in Europa: pandemic? Am J Clin Nutr. 2016;103:1033-44.

Cesur Y. Nutrisyonel Rikets. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2012;8(2):33-41.

Cesur Y, Doğan M, Ariyuca S, Basaranoglu M, Bektas MS, Peker E, et al. Evaluation of children with nutritional rickets. J Pediatr Endocrinol Metab 2011;24:35-43.

Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Biyokimya. Çeviri Editörü: Ulukaya E. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden. 3. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri; 2007.

Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Madi LJ. Vitamin D: Metabolism. Endocrinol Metab Clin N Am 2010;39: 243-253.

Cieślińska, A., Kostyra, E., Chwała, B., Moszyńska-Dumara, M., Fiedorowicz, E., Teodorowicz, M., & Savelkoul, H. F. Vitamin D receptor gene polymorphisms associated with childhood autism. Brain sciences 2017; 7(9), 115.

Coşkun T. D vitamini yetersizliğine bağlı rikets, Katkı Pediatri dergisi 1990; 11:369-379.

Çarhan A., Ercan E., Yalçınkaya T. Dijital pzt ve kullanım alanları. Turk hij den biyol derg 2016; 73(2): 183 - 198.

Çimen MBY, Bölgen Çimen Ö. Obezite ve D vitamini. Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2016;9(2).

Çocuk Endokrinolojisi - Peyami Cinaz 2014; s:583-601.

Dayangaç, D., ÖE, Ö. G. F., Coşkun, T., & Erdem Yurter, H. Sağlıklı Türk Populasyonunda Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizm Analizi. Türk Biyokimya Dergisi 2002; 27, 11-16.

Değişli CM. Kemik metastazı olan meme kanserli hastalarda verilen D vitamini tedavisinin dolaşımdaki hsp-90 ve ck-18 düzeyleri üzerine etkisi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, doktora tezi, 94 sayfa, Konya, (Yrd. Doç. Dr. Aysel Kıyıcı) 2010.

Del Pinto R, Pietropaoli D, Chandar AK, Ferri C, Cominelli F. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflammatory bowel diseases* 2015;21(11):2708-17.

Demir S. Türk popülasyonunda vitamin D reseptör gen polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişki. Eskişehir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, 105 sayfa, Eskişehir (Yrd. Doç. Dr. M. Hamza Müslümanoğlu) 2005.

Demiral M, Sırmagül B, Kırel B. Endokrin polikliniğine başvuran çocuklarda D vitamini düzeyleri. *J Curr Pediatr* 2016;14:60-6.

Dipanshu, S.,& Chakravorty, R. Genetic polymorphism in the vitamin D receptor gene and 25-hydroxyvitamin D serum levels in east Indian women with polycystic ovary syndrome. *J Mol Biomark Diagn* 2015; 6(247), 2.

Doğan İ. Türk toplumunda aurora-A gen polimorfizmleri ve akciğer kanseri arasındaki ilişkinin belirlenmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, 74 sayfa, Ankara, (Prof. Dr. Abdullah Ekmekçi) 2007.

Duman BS, Tanakol R, Erensoy N, Ozturk M and Yilmazer S. Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in postmenopausal osteoporotic and healthywomen. *Med Princ Pract* 2004; 13(5): 260-266.

Dunnigan MB, Glekin BM, Henderson JB, et al. Prevention of rickets in Asian children: assessment of the Glasgow campaign. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;291(6490): 239-42.

Dursun A. D vitamininin kemik metabolizması dışındaki etkileri. *Beslenme Yenilikler III. Katkı Pediatri Dergisi* 2007; 28: 225-234.

Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289(1):8-28.

Eisman J. Vitamin D receptor genes and osteoporosis: An affirmative view. *J Bone Miner Res* 1995;10:1289-93.

Elder CJ, Bishop NJ, Rickets. *Lancet* 2014;383:1665-1676.

El Omri, N., Mekouar, F., Sekkach, Y., Jira, M., El Qatni, M., Assoufi, N., & Eljaoudi, R. Serum vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphism in Moroccan patients with systemic lupus erythematosus. *International Journal of Research in Medical Sciences* 2017; 5(3), 1.

ElRawi, H. A., Ghanem, N. S., ElSayed, N. M., Ali, H. M., Rashed, L. A., & Mansour, M. M. Study of Vitamin D Level and Vitamin D Receptor Polymorphism in Hypothyroid Egyptian Patients. *Journal of thyroid research* 2019.

Ersöz B. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY (eds). *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık. 2002; 467-72.

Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J, Feron F. Vitamin D3 and brain development. *Neuroscience*. 2003;118(3):641-653.

Faghfour, A. H., Bagheri, M., Mehdizadeh, A., Ayremlou, P., & Zarrin, R. Vitamin D Level and Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Iranian Azeri Turkish Patients With Autoimmune Thyroid Diseases. *Acta Medica Iranica* 2018; 508-515.

Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J and Frossard PM. Apal dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res* 1989; 17(5): 2150.

Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F and Brandi ML. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81(1): 1-24.

Giray Bozkaya, Ö. Klinisyenler İçin Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2009; 18(2): 47-53.

Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R and Feldman D. The presence of apolymorphism 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* 1996; 11(12): 1850-1855.

Grotz WH, Munding FA, Gugel B, Exner VM, Kirste G and Schollmeyer PJ. Bone mineral density after kidney transplantation. A cross-sectional study in 190 graft recipients up to 20 years after transplantation. *Transplantation* 1995;59: 982-6.

Gupta A and Thompson PD. The relationship of vitamin D deficiency to statin myopathy. *Atherosclerosis* 2011; 215(1): 23-29.

Güleken N. Kanser Hastalarında D Vitamini, Kalsiyum Ve Fosfor Düzeyleri İle D Vitamini Reseptörü Polimorfizminin Araştırılması. Gaziantep üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hülya Kanbur Çiçek) 2012.

Guleryuz, B., Akin, F., Tunc Ata, M., Mergen Dalyanoglu, M., & Turgut, S. Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (TaqI, FokI) in Turkish patients with Hashimoto's thyroiditis: relationship to the levels of Vit-D and cytokines. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)* 2016; 16(2), 131-139.

Güllük İ. Alp H. 2-12 yaş arası sağlıklı çocuklardad vitamini düzeyleri ve etkileyenfaktörler. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Uzmanlık tezi, (Danışman: Prof. Dr. Handan ALP). Erzurum, 2017.

Günümüzde D vitamini yetersizliği ve nütrisyonel rahitis. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (Özel sayı)* 2002; 405-36.

Haddad, S. Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (Taq-I & Apa-I) in Syrian healthy population. *Meta gene* 2014; 2, 646-650.

Hartman AL. An 18-month-old who could not walk: A case report. *Clin Pediatr* 2002; 41: 731-4.

Hassan, I., Bhat, Y. J., Majid, S., Sajad, P., Rasool, F., Malik, R. A., & Haq, I. U. Association of Vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-Hydroxy Vitamin D levels in vitiligo–A case-control study. *Indian dermatology online journal* 2019; 10(2), 131.

Hatun Ş, Bereket B, Çalikoğlu AS, Özkan B. Günümüzde D vitamini yetersizliği ve nutrisyonel rikets. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003;46:224-41.

Hatun Ş, Özkan B, Orbak Z, Doneray H, Çizmecioğlu F, Toprak D. Vitamin D deficiency in early infancy. *J Nutr* 2005; 135: 279-282.

Hatun S, Islam O, Cizmecioglu F, et al. Subclinical vitamin D deficiency is increased in adolescent girls who wear concealing clothing. *J Nutr* 2005 Feb; 135(2):218-22.

Hatun S, Bereket A, Ozkan B, Coskun T, Kose R, Calikoğlu AS. Free vitamin D supplementation for every infant in Turkey. *Arch Dis Child* 2007;92:373-4.

Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25 hidroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 204-10.

Heath KM, Elovic EP. Vitamin D Deficiency: Implications in the Rehabilitation Setting. *Am J PhysMedRehabil*, 2006;85:916-923.

Henderson A. Vitamin D and the breastfed infant. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2005;34:367-72.

Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1080-1086.

Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1678-1688.

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3):266-81.

Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 Jun;39(2):381-400.

Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006 ;116:2062-2072.

Holick MF. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clin Proc.* 2006;81:353- 373.

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2011; 96: 1911-1930.

Issa LL, LG. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm res* 1997; 47.

Javorsky BR, Maybee N, Padia SH, Dalkin AC. Vitamin D deficiency in gastrointestinal disease. *Pract Gastroenterol* 2006;36:52-72.

Jennifer ER, Timothy JG, Skeaff CM, et al. Season and ethnicity are determinants of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in New Zealand children aged 5–14 y. *The Journal of nutrition.* 2005;135(11): 2602-2608.

Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *Physiol Rev* 1998;78(4):1193-231.

Junaid K, Rehman A, Jolliffe DA, Wood K and Martineau AR. High prevalence of vitamin D deficiency among women of child-bearing age in 45 Lahore Pakistan, associating with lack of sun exposure and illiteracy. *BMC Womens Health* 2015; 12,15:83.

Karagöl A. ve Atak N. D vitamini ve Tip 2 diyabet. *Turk J Public Health* 2016;14(3).

Kargın F, Fidancı UR. Kemik Metabolizmasının İzlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler ve Klinik Önemi. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*. 2002;14(1):52-55.

Kaya A, Güven AS, Gültekin G, İçağasıoğlu FD, Cevit Ö. Anne-Bebek İkiliğinde Perinatal D Vitamini Profilaksisinin Önemi. *Perinatoloji Dergisi* 2012; 20:18 – 23.

Kitanaka S, Isojima T, Takaki M, Numakura C, Hayasaka K and Igarashi T. Association of vitamin D-related gene polymorphisms with manifestation of vitamin D deficiency in children. *Endocr J* 2012; 59(11): 1007-1014.

Kochupillai N. The physiology of vitamin D : current concepts. *Indian J Med Res* 2008;127(3):256-62.

Ladhani S, Srinivasan L, Buchanan C, Allgrove J. Presentation of vitamin D deficiency. *Arch Dis Child* 2004 Aug; 89(8): 781-4.

Ladizesky M, Lu Z, Oliveri B et al. Solar ultraviolet B radiation and photoproduction of D vitamini 3 in central and southern areas of Argentina. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 545–549.

Lapatsanis D, Moulas A, Cholevas V, et al. Vitamin D: a necessity for children and adolescents in Greece. *Calcif Tissue Int* 2005; 77: 348-55.

Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. Vitamin D and Cardiovascular Disease Will It Live Up to its Hype? *Journal of the American College of Cardiology*, 2011; 58:1547-56.

Lips P, Wiersinga A, van Ginkel FC, et al. The effect of vitamin D supplementation on vitamin D status and parathyroid function in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67(4):644-50.

Maalmi H, Sassi FH, Berraies A, Ammar J, Hamzaoui K and Hamzaoui A. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to asthma in Tunisian children: A case control study. *Hum Immunol* 2013; 74(2): 234-240.

MacDonald PN BT, Tokumar H, Dowd DR, Zhang C. Vitamin D receptor and nuclear receptor coactivators: crucial interactions in vitamin D-mediated transcription. *Steroids* 2001;66(3-5):171-176.

Mahmoud, A. A., & Ali, A. H. K. Vitamin D receptor gene polymorphism and 25 hydroxy vitamin D levels in Egyptian patients with pulmonary tuberculosis. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis* 2014; 63(3), 651-655.

Manson JE, Brannon PM, Rosen CJ. Vitamin D deficiency. Is there really a pandemic? *N Engl J Med*. 2016; 375:1817-9.

McCormick DB, Klee GG. Vitaminler. In: Burtis CA, Ashwood ER (eds). Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler (Çeviri). 5. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık. 2005; 543-67.

McGillivray G, Skull SA, Davie G, Kofoed SE, Frydenberg A, Rice J, et al. High prevalence of asymptomatic vitamin D and iron deficiency in East African immigrant children and adolescents living in a temperate climate. *Arch Dis Child* 2007; 92(12): 1088-1093.

Mitra S, Desai M, Ikram KM. Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas* 2006 Aug 20;55(1):27-35.

Miyamoto K, Kesterson RA, Yamanoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsuni S, Inoue Y, Morita K, Takeda E, Pike JW. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol* 1997;11(8):1165-79.

Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid response signaling. *Sci Signal* 2009;2: re4.

Morrison NA, Qi JC, Tokita, A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*. 1994;367(6460): 284-287.

Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama*. 2006;296(23):2832-8.

Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *Horm Res Paediatr* 2016;85:83-106.

Onal H, Adal E, Alpaslan S, Ersen A, Aydın A. Is daily 400 IU of vitamin D supplementation appropriate for every country: a cross-sectional study. *Eur J Nutr* 2010 Oct; 49(7): 395-400.

Özkan B, Döneray H. Vitamin D eksikliğine bağlı rikets. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler* 2008;4(5): 38-44.

Özkan B ve Döneray H. D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2011;54: 99-119.

Özkan B, Doneray H, Karacan M, Vançelik S, Yıldırım ZK, Ozkan A, et al. Prevalence of vitamin D deficiency rickets in the eastern part of Turkey. *Eur J Pediatr* 2009;168:95-100.

Patel, H. V., Patel, N. H., & Sodagar, N. R. Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism and maternal vitamin D deficiency in Indian women with preterm birth (PTB). *Asian J Pharm Clin Res* 2017; 10(9), 219-223.

Pearce SHS, Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ* 2010;340:b5664.

Pettifor JM, Prentice Ann. The role of vitamin D in pediatric bone health. *Best practice & research clinical endocrinology & metabolism*. 2011; 25: 573-584. PMID: 21872799.

Principi N, Bianchini S, Baggi E, et al. Implications of maternal vitamin D deficiency for the fetus, the neonate and the young infant. *Eur J Nutr* 2013; 52: 859–67.

Pusceddu I, Farrell C-JL, Di Pierro AM et al. The role of telomeres and vitamin D in cellular aging and age-related diseases. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1661-1678.

Rajeswari J, Balasubramanian K, Bhatia V, Sharma VP, Agarwal AK. Aetiology and clinical profile of osteomalacia in adolescent girls in northern India. *Natl J India* 2003; 16: 139–142.

Rao Vupputuri, M., Goswami, R., Gupta, N., Ray, D., Tandon, N., & Kumar, N. Prevalence and functional significance of 25-hydroxyvitamin D deficiency and vitamin D receptor gene polymorphisms in Asian Indians. *The American journal of clinical nutrition* 2006; 83(6), 1411-1419.

Saggese G, Vierucci F, Boot AM, et al. Vitamin D in childhood and adolescence: an expert position statement. *Eur J Pediatr* 2015 May;174(5):565-76.

Saner G. Besin Gereksinimleri. İçinde: Neyzi O, Ertuğrul T, editörler. *Pediyatri*. 4.baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2011; p207-208.

Santos, B. R., Mascarenhas, L. P., Satler, F., Boguszewski, M. C., & Spritzer, P. M. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC pediatrics* 2012; 12(1), 62.

Sari, D. K., Tala, Z. Z., Lestari, S., Hutagalung, S., & Ganie, R. A. Vitamin D supplementation in women with vitamin D receptor gene polymorphisms: A randomized controlled trial. *Asian J Clin Nutr* 2017; 9(2), 89-96.

Serin A, Canan H, Ulubay A. İdentifikasyona Dayalı Adli Uygulamalarda Tek Nükleotid Polimorfizmler. *Türkiye Klinikleri J Foren Med* 2016;13(2): 47-54.

Shepelkevich, A., Dydysko, Y., Kholodova, H., & Vasilieva, N. Variety of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum levels of vitamin D in patients

with type 1 diabetes. In 16th European Congress of Endocrinology (Vol. 35). BioScientifica 2014.

Shore RM1, Chesney RW. Rickets: part I. *Pediatr Radiol* 2013;43:140-151.

Siddiqui AM, Kamfar HZ. Prevalence of vitamin D deficiency rickets in adolescent school girls in Western region. Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2007; 28: 441–444.

Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, Tervaert JW, Hupperts R: Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2009; 207(1–2):117–121.

Sözen T. D Hormonu: Güncel Gelişmeler. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2011;42:14- 27.

Specker BL, Ho ML, Oestreich A, et al. A prospective study of vitamin D supplementation and rickets in China. *J Pediatr*. 1992;120(5):733-39.

Specker BL. Do North American women need supplemental D vitamini during pregnancy or Lactation? *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 484–49.

Specker BL. Symposium 2: Vitamins in muscular and skeletal function Does vitamin D during pregnancy impact offspring growth and bone? 70th Anniversary Conference on 'Vitamins in early development and healthy ageing: impact on 31 infectious and chronic disease', Republic of Ireland, Proceedings of the Nutrition Society 2012; 71: 38–45.

Steven AA. Dietary Guidelines for Calcium and Vitamin D: A New Era. *Pediatrics*. 2011; 127: 566-568.

Şahin Can, M., Baykan, H., Baykan, Ö., Erensoy, N., & Karlıdere, T. Vitamin D levels and vitamin D receptor gene polymorphism in major depression. *Psychiatria Danubina* 2017; 29(2), 179-185.

T.C. Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü. Gebelere D Vitamini Destek Programı (www.saglik.gov.tr/ACSAP) 2005.

Taşkıran B, Cansu GB. Güneydoğu bölgesinde erişkinlerde D vitamini eksikliği. *Osmangazi Journal of Medicine* 2016; 39:13-20.

Temizkan, G. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi 2008.

Thacher TD, Fischer PR, Tebben PJ, Singh RJ, Cha SS, Maxson JA, et al. Increasing incidence of nutritional rickets: A population based study in Olmsted County, Minnesota. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier 2013;176-83.

Thacher TD, Fischer PR, Pettifor JM, et al. Radiographic scoring method for the assessment of the severity of nutritional rickets. *J Trop Pediatr*. 2000 Jun;46(3):132-9.

Thanapirom K, Suksawatamnuay S, Sukeepaisarnjaroen W, Tangkijvanich P, Treeprasertsuk S, Thaimai P, Wasitthankasem R, Poovorawan Y and Komolmit P. Vitamin D-related gene polymorphism predict treatment response to pegylated interferon-based therapy in Thai chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterology* 2017; 17:54.

Thandrayen K, Pettifor JM. Maternal vitamin D status: implications for the development of infantile nutritional rickets. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010 Jun; 39(2): 303-20.

Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, et al. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med* 1998;338(12):777-83.

Tolaymat N, de Melo MC. Benign transient hyperphosphatasemia of infancy and childhood. *South Med J* 2000;93:1162- 1164.

Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Akta Derm Venereol*.2011; 91: 115-124.

Uçan B, Delibaşı T. Vitamin D ve Kardiyovasküler Hastalık. *Abant Med J* 2015; 4(4): 428-435.

Uçar F, Taşlıpınar MY, Soydaş AÖ, Özcan N. Ankara Etlik İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi'ne başvuran hastalarda 25-OH vitamin D düzeyleri. *Eur J Basic Med Sci* 2012;2:12-5.

Uçar Ar. Kronik Hepatit B Hastalarında D Vitamini Reseptör Gen Polimorfizmlerinin İnterferon Tedavisine Yanıt Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. T.C. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Filiz AKYÜZ) 2015.

Uitterlinden AG, Fang Y, Bergink AP, van Meurs JB, van Leeuwen HP, Pols HA. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in bone biology. *Mol Cell Endocrinol* 2002;197(1-2):15-21.

Ulucan K, Akyüz S, Özbay G, Pekiner FN, Güney AI. Evaluation of Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms (FokI, TaqI and ApaI) in a Family with Dentinogenesis Imperfecta. *Cytology and Genetics*. 2013; 47(5): 282-286.

Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta* 2006;371(1-2):1-12.

Vasudevan DM, Sreekumari S, Vaidyanathan K. Textbook of Biochemistry for Medical Student. Bone and Mineral Metabolism. Seventy Edition. Chapte 36. Fifty Edition. 2013; p:469-470.

Wacker M, Holick MF. Vitamin D-Effects on Skeletal and Extraskelatal Health and the Need for Supplementation. *Nutrients* 2013;5:111-48.

Wagner CL, Frank RG, and the Section on Breastfeeding and Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2008; 122: 1142-1152.

William B. Grant MFH. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Alternative Medicine Review* 2005;10(2):94-111.

Yıldırım, M., Kurtulgan, H. K., & Şahin, A. Vitamin D deficiency, myopathy and VDR gene polymorphism in a young woman. *Cumhuriyet Medical Journal* 2015; 37(2), 164-166.

Yıldız, İ., Ünüvar, E., Zeybek, Ü., Toptaş, B., Cacina, C., Toprak, S., Aydın, S. Çocuklarda Yineleyen Tonsillofarenjitte D Vitamininin Rolü. *Journal of the Child/Cocuk Dergisi* 2012; 12(3).

Ye WZ, Reis AF and Velho G. Identification of a novel Tru9I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J Hum Genet* 2000; 45: 56– 57.

Zheng SZ, Zhang DG, Wu H, Jiang LJ, Jin J, Lin XQ, Ding R and Jiang Y. The association between vitamin D receptor polymorphisms and serum 25hydroxyvitamin D levels with ulcerative colitis in Chinese Han population. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2017; 41(1): 110-117.

Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000;22(2):203-17.