

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

VİTAMİN D EKSİKLİKLERİNDE VİTAMİN D
METABOLİZMASI İLE İLİŞKİLİ PROTEİNLERİN
GEN POLİMORFİZMLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Leyla SEVİNÇ

Enstitü Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya
Enstitü Bilim Dalı : Tıbbi Biyokimya

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatma Behice CİNEMRE

KASIM 2018

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

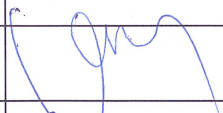


VİTAMİN D EKSİKLİKLERİNDE VİTAMİN D
METABOLİZMASI İLE İLİŞKİLİ PROTEİNLERİN GEN
POLİMORFİZMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Leyla SEVİNÇ

Enstitü Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya

Bu tez 08. / 11. / 2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof.Dr. Mehmet Akdoğan (Jüri Başkanı)	Başarılı	
Doc.Dr. F. Selma Cimenre	Başarılı	
Dr. Öğr. Üyesi Ceydet Nacar	Başarılı	

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 04.12.2017 tarihli 223 sayılı evrak ile onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

..../..../2018

LEYLA SEVİNÇ

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Bölümü Yüksek Lisans eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin yazım aşamasında ve tezimin son halini almasında yardımcı olan danışmanım Doç. Dr. Fatma Behice CİNEMRE Hocama, tez yazım süreci boyunca destek ve yardımları için Prof. Dr. Birsen AYDEMİR Hocama; eğitimim süresince katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet AKDOĞAN, Prof. Dr. Mehmet Ramazan ŐEKEROĐLU, Dr. Öğr. Üyesi Hayrullah YAZAR Hocalarıma ve her konuda destek olan aileme, ayrıca tez projemin gerçekleşmesi sürecini destekleyen Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2017-40-01-005

Saygılarımla
LEYLA SEVİNÇ

KISALTMALAR VE SİMGELER

1,25(OH)D	: Kalsitriol
24,25(OH)₂D	: 24,25 dihidroksi vitamin D
25(OH)D₂	: Ergokalsiferol
25(OH)D₃	: Kolekalsiferol(kalsidiol)
7-DHK	: 7-dehidrokolesterol
ALP	: Alkelen fosfataz
ATP	: Adenozin trifosfat
Bp	: Baz Çifti
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CC	: Homozigot (Sitozin-Sitozin) Alleli
CYP24A1	: 24-hidroksilaz enzimi
CYP27B1	: 1 α -hidroksilaz enzimi
CYP3A4	: 24-25 Hidroksilaz enzimi
DBP	: D vitamini bağlayıcı proteini
DM	: Diabetes mellitus
DM	: Diabetes Mellitus
dNTP	: deoksiribonükleosid trifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FGF23	: Fibroblast büyüme faktörü-23
GC	: Heterozigot (Guanin-Sitozin) Alleli
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IL	: İnterlökin
INF-γ	: İnterferon gamma
IS	: Internal Standart
İÜ	: Biyolojik ünite
MAP	: Mitogen Activated Protein
mg	: Miligram
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı RNA

MS	: Multiple skleroz
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
P	: Fosfor
p	: İstatistiksel Anlamlılık Düzeyi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PI-3 Kinaz	: Fosfoinozid-3 Kinaz
PKA	: Protein Kinaz A
PLC	: Fosfolipaz C
PTH	: Paratiroid hormon
RA	: Romatoid artrit
RFLP	: Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizm
RNA	: Ribonükleik asit
RPM	: devir/dk
RXR	: Retinoid X reseptörleri
SD	: Standart sapma
Sn	: Saniye
SNP	: Tek nükleotid polimorfizm
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
TC	: Heterozigot (Timin-Sitozin) Alleli
TGF-β1	: Transform yapan büyüme faktörü-beta
Th	: Yardımcı hücre
TNF-α	: Tümör nekroze edici faktör alfa
TT	: Homozigot (Timin-Timin) Alleli
UVB	: Ultraviyole B
VDR	: Vitamin D reseptörü
VDRE	: Vitamin D cevap elemanı

ŞEKİLLER

Şekil 1.	D vitamini halkası.....	2
Şekil 2.	Ergokalsiferol ve kolekalsiferol oluşumu	3
Şekil 3.	D vitamini kaynakları ve metabolizması.....	5
Şekil 4.	D vitamini sentez ve metabolizması	6
Şekil 5.	D vitaminin transkripsiyona etkisi.....	10
Şekil 6.	Steroid hormon reseptörlerinin şematik gösterimi	11
Şekil 7.	D vitamini'nin moleküler etki mekanizması	11
Şekil 8.	HPLC kromatografi örnekleri.....	23
Şekil 9.	Rs2242480 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi	28
Şekil 10.	Rs2242480 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı ile T allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi....	29
Şekil 11.	Rs2242480 alleli için FAM (Green) florofor işaretli T allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi	29
Şekil 12.	Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi	29
Şekil 13.	Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı ile T allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi....	30
Şekil 14.	Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli T allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi	30
Şekil 15.	Rs2762939 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi	30
Şekil 16.	Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı ile G allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi ...	31

TABLULAR

Tablo 1.	Vitamin D'nin hedef genleri	12
Tablo 2.	Vitamin D metabolitlerinin normal plazma değerleri.....	15
Tablo 3.	Serum 25(OH)D vitamin duzeylerinin yorumu.....	16
Tablo 4.	Real-time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği	26
Tablo 5.	CYP3A4 (rs2242480) ve CYP24A1 (rs2209314, rs2762939) genleri için Real-time PCR programı.....	26
Tablo 6.	25(OH) D ₃ vitamini 20 ng/mL ve altı olan 2.grup ile kontrol grubu hastalarda rs2242480 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı.....	31
Tablo 7.	25(OH) D ₃ vitamini 20-30 ng/mL arası olan 3.grup ile kontrol grubu hastalarda rs2242480 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı	32
Tablo 8.	25(OH) D ₃ vitamini 20 ng/mL ve altı olan 2.grup ile kontrol grubu hastalarda rs2209314 polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı	32
Tablo 9.	25(OH) D ₃ vitamini 20-30 ng/mL arası olan 3.grup ile kontrol grubu hastalarda rs2209314 polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı	33
Tablo 10.	25(OH) D ₃ vitamini 20-30 ng/Ml olan 2.grup ile kontrol grubu hastalarda rs27662939 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı	33
Tablo 11.	25(OH) D ₃ vitamini 20-30 ng/mL arası olan 3. Grup ile kontrol grubu hastalarda rs27662939 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı	33

EKLER

Ek 1. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulundan Etik Kurul Onayı

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMA VE SİMGELER.....	iii
ŞEKİLLER.....	v
TABLolar.....	vi
EKLER.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. D VİTAMİNİNİN TANIMI VE YAPISI.....	2
2.2. D VİTAMİNİ KAYNAĞI.....	3
2.3. D VİTAMİNİNİN SENTEZ VE METABOLİZMASI.....	4
2.4. D VİTAMİNİNİN İNSAN VÜCUDUNDA NORMAL FONKSİYONLARI.....	6
2.5. D VİTAMİNİ SENTEZİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	8
2.6. D VİTAMİNİNİN MOLEKÜLER ETKİ MEKANİZMASI.....	10
2.7. D VİTAMİNİ METABOLİZMASI İLE İLİŞKİLİ GEN POLİMORFİZİMLERİ.....	12
2.7.1. VDR Gen Polimorfizmleri.....	13
2.7.2. CYP24A1(rs2762939, rs2209314) Gen Polimorfizmi.....	14
2.7.3. CYP3A4 (rs2242480) Gen Polimorfizmi.....	14
2.8. D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ.....	15
2.8.1. HPLC Yöntemi.....	16
2.9. REAL-TİME PCR YÖNTEMİ.....	17
2.10. D VİTAMİNİNİN İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIKLAR.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. ARAŞTIRMANIN ÖZELLİKLERİ.....	21
3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri.....	21
3.1.2. Veri Toplama Araçları.....	21
3.1.3. Araştırmada Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	21

3.1.4. Araştırmada alışmaya Dahil Edilememe Kriterleri.....	21
3.2. PLAZMA D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ.....	22
3.2.1. D Vitamini Miktar Analizi İçin rneklerin Toplanması	22
3.2.2. HPLC Yöntemi İle Serum 25(OH) D2-D3 Vitamini Düzeylerinin Belirlenmesi.....	22
3.2.3. Örneklerin Hazırlanması	22
3.2.3.2. Örneklerin Cihaza Yüklmesi.....	22
3.3. GENETİK ANALİZ.....	23
3.3.1. Polimorfizm alışması İçin rneklerin Toplanması.....	23
3.3.2. Total Kandan DNA İzolasyonu	24
3.3.3. DNA'nın Konsantrasyonu ve Kalitesinin Tayini.....	25
3.3.4. Gen Analizi	25
3.3.4.1. Real-time PCR Analizleri.....	25
3.3.4.2. Kullanılan Primerler ve Problar	26
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. Hasta Gruplarında Elde Edilen Veriler	28
5. TARTIşMA	35
6. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39
EKLER.....	50
ÖZGEçMİş	51

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Vücutta, kalsiyum metabolizması üzerinde etkileri iyi bilinen D vitaminin son yıllarda otoimmün hastalıklar, kanserler gibi pek çok hastalık durumuyla ilişkisi ortaya çıkartılmıştır. Vitamin D metabolizmasıyla ilişkili bazı genler, dolaşımdaki vitamin D durumuyla ilişkilidir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada, vitamin D yetersiz/eksikliklerinde, D vitamini metabolizmasıyla ilişkili proteinlerin gen polimorfizmlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: D vitamini yetersizliği (80), eksikliği (81) tanısı konmuş 161 hasta ve D vitamini normal (84) sağlıklı kişi kontrol olarak çalışmaya alınmıştır. EDTA'lı ve düz tüpe alınmış kan örneklerin serumları ayrıldıktan sonra -80°C'de analize kadar saklandı. Serumlarda vitamin D düzeyleri yüksek performanslı likit kromatografisi (HPLC) ile ölçüldü. EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden ticari kitler kullanılarak DNA izolasyonları yapıldı ve Real-time PCR tekniği ile CYP24A1 geninin rs2209314 ve rs2762939 allelli, CYP3A4 geninin rs2242480 tek nükleotit polimorfizmleri(SNPs) çalışıldı.

BULGULAR: Katılan bireyler, I. grup: D vitamin düzeyleri normal (30-110 ng/mL) olan herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı 84 birey (kontrol); II. grup D vitamini (<20 ng/ml) eksikliği olan 81 hasta; III. grup D vitamini yetersizliği (20-30 ng/ml) olan 80 hasta olmak üzere gruplandı. Çalışılan enzimlerin (24-25-Hidroksilaz, 24-Hidroksilaz) SNP genotip frekans dağılımları gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark göstermedi. Ancak CYP24A1-rs2209314'e ait allel frekans dağılımları grup III ile grup I(kontrol) karşılaştırıldığında T allelinin grup III'te anlamlı yüksek olduğu (P=0.030) bulundu.

SONUÇ: Bu çalışma sonucunda, CYP3A4 (24-25-Hidroksilaz) rs2242480 ve CYP24A1(24- α Hidroksilaz) rs2209314, rs2762939 varyantlarının, çalıştığımız popülasyonda D vitamin eksiklik/yetersizlik durumu açısından bir riskle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığını ancak CYP24A1 (24- α Hidroksilaz) enziminin rs2209314 varyantında T allelin D vitamini eksikliği ile bir ilişki gösterebileceği saptandı.

Anahtar Kelimeler: CYP3A4, CYP24A1, Gen Polimorfizm, Vitamin D, Vitamin D eksikliği/yetmezliği

SUMMARY

Evaluation of Gene Polymorphisms of Vitamin D Metabolism Associated Proteins in Vitamin D Deficiencies

INTRODUCTION: Vitamin D, which has well-known effect on calcium metabolism, has recently been associated with other pathologies such as autoimmune diseases and cancers. Some genes involved in vitamin D metabolism are associated with circulating vitamin D status. In this study we aimed to evaluate gene polymorphisms of proteins associated with vitamin D metabolism in patients with vitamin D deficiency/insufficiency.

MATERIALS AND METHODS: 161 patients with vitamin D deficiency (80), deficiency (81) and vitamin D normal/healthy (84) subjects were included in the study. Blood samples taken into plain and plastic tube with EDTA were separated and stored at -80°C until analysis. Vitamin D levels were measured by “high performance liquid chromatography (HPLC)” in serum. DNA isolations were made by using commercial kits. Real-time PCR technique was used to investigate the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the CYP24A1-rs2209314, -rs2762939, and CYP3A4-rs2242480 genes.

RESULT: Participants were grouped as group I: 84 subjects with normal vitamin D levels (30-110 ng / mL); II. 81 patients with vitamin D deficiency (<20 ng /ml); III. 80 patients with vitamin D insufficiency (20-30 ng/ml). Genotype frequency distributions of studied enzyme SNPs showed no statistically significant difference between the groups. However, when allele frequency distributions of CYP24A1-rs2209314 were compared with group III and group I (control), it was found that T allele was significantly higher in group III (P =0.030).

CONCLUSION: According to the our results, CYP3A4 (24-25-Hydroxylase)-rs2242480 and CYP24A1 (24- α Hydroxylase)-rs2209314, -rs2762939 variants have no statistically significant relationship with vitamin D deficiency/insufficiency risk in the population we worked. However, we have found that the T-allele in the rs2209314 variant of the CYP24A1 may be associated with vitamin D insufficiency.

Keywords: CYP3A4, CYP24A1, Gene Polymorphism, Vitamin D, vitaminD deficiency/insufficiency

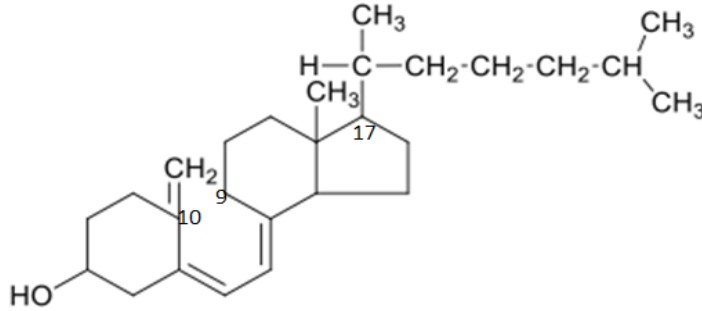
1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yağda çözünen vitaminler arasında bulunan Vitamin D, vücutta esas olarak kalsiyum ve fosfor homeostazisinin korunmasında yer alan bir pro-hormondur (DeLuca 2004, Medlej-Hashim et al 2015). D vitamini eksikliği çocuklarda, erişkinlerde osteoporoza neden olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Klasik etkilerinin dışında, son yıllarda, yapılan çalışmalarda Vitamin D'nin inflamasyonda ve immün sistemin regülasyonunda rolü olduğu gösterilmiştir (Sun et al 2014, Yin and Agrawal 2014). Düşük serum vitamin D düzeyleri kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalık ve buna bağlı mortalite artışı ile ilişkilidir (Anderson et al 2010, Blicher, Jorgensen, Schwarz and Wulf 2013). Literatürde otoimmün hastalıklar, kanserler, multiple skleroz, romatoid artrit, Tip 1 diyabet gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (Holick 2004). D vitamini eksikliği ve/veya yetersizliği, tüm dünyada ve ülkemizde toplum sağlığını tehdit eden önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. D vitamini yetmezliği/eksikliğinin dünya çapında yaklaşık 1 milyar insanı etkilediği tahmin edilmektedir (Holick 2007, Holick and Chen 2008). Bol Güneş ışığı alan bölgelerden bile yüksek prevalanslar bildirilmektedir (Van Schoor and Lips 2011). Ilıman ve bol güneşli bir iklime rağmen, vitamin D eksikliği ülkemizde de görece sık görülen bir sağlık problemidir (Hatun, Bereket, Çalıkoglu ve Özkan 2003). Cinemre ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada dahiliye polikliniğine gelen ancak tespit edilen bir hastalığı olmayan bir grupta vitamin D eksikliğini 74.2% olarak bildirmişlerdir (Serinkan Cinemre ve ark 2016). Yapılmış olan epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda, D vitamini düzeylerinin, D vitaminin metabolizmasında yer alan proteinlerin genlerindeki polimorfizimlerle ilişkisi ortaya çıkarılmıştır (Junaid et al 2015, Thanapirom et al 2017, Zhenga et al 2017). Bu ilişkiyi Türkiye'de yaşayan popülasyon üzerinde doğrudan gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, bol güneşli iklim koşullarına rağmen klinik pratikte sıkça karşılaşılan D vitamini eksikliği/yetersizliğinin bir sebebi olarak D vitamini metabolizmasında rol oynayan bazı proteinlerin gen polimorfizimlerinin etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. D VİTAMİNİN TANIMI VE YAPISI

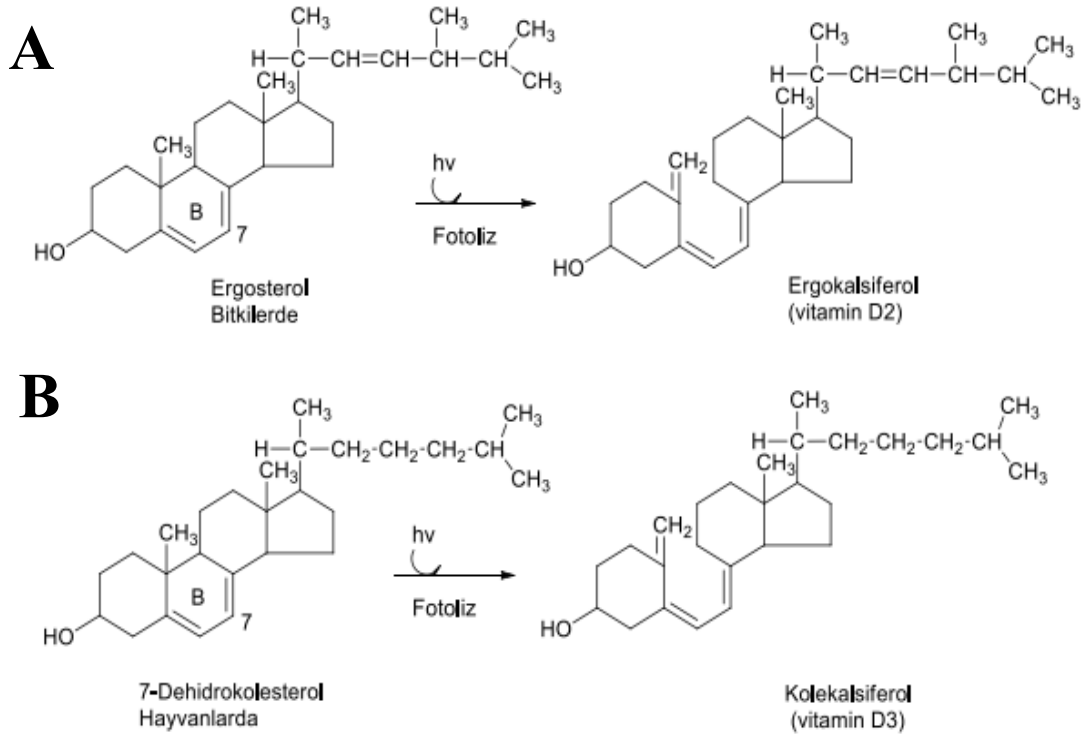
Vitamin D, vücutta esas olarak kalsiyum ve fosfor homeostazisinin korunmasından sorumlu olan prohormondur (Deluca 1977). Prohormon olarak tanımlanmasındaki neden, bir endokrin gland tarafından oluşturulup sekrete edilmediği için klasik bir hormon özelliği taşımasına rağmen *de novo* sentezlenip uzak hedef hücrelerde reseptöre bağlanarak etki göstermesidir. Dört halkalı steroid çekirdek yapıya sahip olan D Vitaminin halkasının 5-6 ve 7-8. karbonları arasında iki çift bağ bulunmaktadır; 9-10. karbonlar arasında halka açılmıştır. D vitamininde doymuş halka sistemi ve 17. karbonuna bağlı 8-9 karbonlu yan zinciri ile 25 karbonlu bir sterol türevidir (Şekil 1), (Akkoyun, Bayramoğlu, Ekin ve Çelebi 2014).



Şekil 1. D vitamini halkası (Akkoyun ve ark 2014).

D vitamini, bitkisel kökenli ergosterolden türeyen ergokalsiferol [D_2 vitamini; $25(OH)D_2$] ve hayvansal kökenli, deride kolesterolün oksitlenme ürünü 7-dehidrokolesterolden (7-DHK) türeyen kolekalsiferolü [D_3 vitamini; $25(OH)D_3$] içerir (Şekil 2), (Akkoyun ve ark 2014).

Yapısal olarak D_3 vitamini 22. ve 23. Karbonlarda ki çift bağ ve 24-metil grubunun olması ile D_2 vitamininden farklılaşır (Holick 2003). D vitamini terimi, yapı bakımından değişikliklere rağmen kolekalsiferol ve ergokalsiferolün her ikisi için ortak kullanılır. Her ikisi de sonuçta $25(OH)_2D$ ve $1,25(OH)_2D$ 'ye dönüştürülür (Gardner and Shoback 2007).



Şekil 2. A.Bitkisel kökenli ergosterolden türeyen ergokalsiferol; B.7-dehidrokolesterolden (7-DHK) türeyen hayvansal kökenli kolekalsiferol oluşumu (Akkoyun ve ark 2014).

Kolekalsiferol (25-OH-D₃ vitamini), üç çift bağa sahip olup 84-85 °C'de erir ve suda çözünmez. UV absorpsiyonu ise 265 nm'de maksimumdur (Rucker 2001). **Ergokalsiferol (25-OH-D₂ vitamini)** ise 4 adet çift bağa sahiptir; erime noktası 121°C'dir ve UV absorpsiyon ile çözünebilirlik özellikleri D₃ ile aynıdır (Zemleni 2008).

2.2. D VİTAMİNİ KAYNAĞI

Deride sentezlenen kolekalsiferol (vitamin D₃) ve besinlerle alınan ergokalsiferol (vitamin D₂) insan vücudu için D vitamininin iki kaynağını oluşturmaktadır. Bunlar, aynı yolla metabolize oldukları için her ikisi de D vitamini olarak adlandırılmaktadır. Vücuttaki D vitamininin %90-95'i güneş ışınlarının etkisi ile sentezlenmektedir (Hochberg 2003). Güneş ışınlarının yanı sıra D vitamini besinsel kaynaklar ile de alınmaktadır. Somon balığı, uskumru, ton balığı, sardalya gibi yağlı balık türleri,

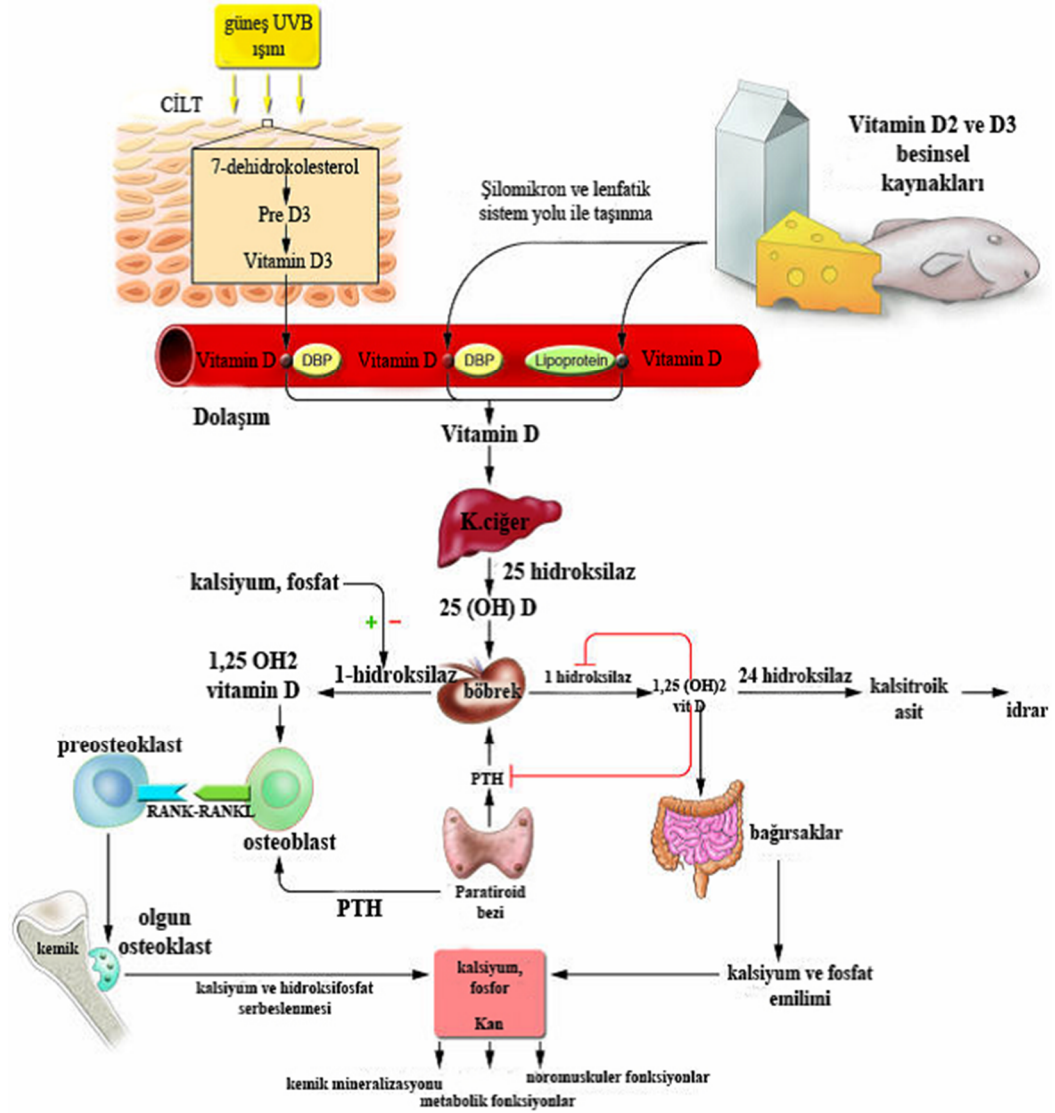
karaciğer, tereyağ, yumurta sarısı, süt brokoli, yeşil soğan, maydonoz, su teresi ve mantar D vitamini yönünden zengindir (Holick 2006). Fakat, besinsel kaynaklar, güneş olmaksızın, insanın günlük ihtiyacı karşılamaya yeterli değildir (Değişli 2010). D vitamini günlük gereksinimi ve optimal serum değerleri konusunda henüz bir fikir birliği oluşmamış olsa da güneş ışınlarından yararlanılmadığı kış aylarında, çocukluk yılları, gebelik gibi ihtiyacın arttığı durumlarda D vitamini besinlerle takviye edilmelidir (Holick 2005). Yapılan çalışmalar sonrası, sağlıklı bireylerde vitamin D eksikliğini önlemek için tavsiye edilen günlük alım dozu yenidoğanlarda, çocuklarda ve 50 yaşına kadar olan erişkinlerde 200 İÜ/gün'dür. Hamile hanımlarda 12. haftadan itibaren doğumdan sonraki 6. aya kadar olan evrede annelere günlük 1200 İÜ/gün desteği önerilmektedir (Kara Elitok ve ark 2017). 51-70 yaş arasındaki yetişkinlerde ise 400 İÜ/gün olup 70 yaşın üzerindeki yetişkinlere de 600 İÜ/gün D vitamini önerilmektedir (Kulie, Groff, Redmer, Hounshell and Schragar 2009).

2.3. D VİTAMİNİN SENTEZ VE METABOLİZMASI

D vitamini temel olarak karaciğerde sentezlenerek dolaşım sistemi ile derideki malpighi tabakasına gelen D vitamini öncül maddesi olan 7-DHK'den 290-315 nm dalga boyundaki ultraviyole ışığın etkisiyle sentezlenen steroid yapıda bir prohormondur. 7-dehidrokolesterol, güneş ışınlarını etkisiyle kolekalsiferol (vitamin D₃) vitaminine çevrilir. İnsan vücudunun ihtiyacı olan D vitamini %95'i güneş ışınlarının etkisiyle deride sentezlenmektedir. Deride sentezlenen kolekalsiferol (vitamin D₃), diyet ile alınan formu ergokalsiferol (vitamin D₂)'dür (Roger 2003, Muszkat, Camargo, Griz and Lazaretti-Castro 2010).

Diyet ile alınan ve deriden sentezlenen D vitamini dolaşıma geçer ve D vitamini bağlayıcı proteine (DBP) ve az miktarda albümine bağlı taşınır (Şekil 3),(Agnello et al 2017). DBP, D vitamini bütün şekillerini bağlar. DBP'ye bağlı vitamin D karaciğere gelir ve D vitamininde ilk hidrosillenme 25-hidroksilaz enzimi (CYP2R1) aracılığıyla mitokondri ve mikrozoamlarda 25.pozisyonda gerçekleşir ve kaynağına bağlı olarak, 25-hidroksiergokalsiferol 25(OH)D₂ veya 25 hidroksikolekalsiferol 25(OH)D₃ oluşur (Grotz 1995). Bunlar, 25(OH)D vitamini ya da "kalsidiol" denir (Joong Sik, Choi, Mark, Longtine and Nelson 2010). 25(OH)D,

feedback” mekanizması ile kontrol edilmektedir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyinde artış negatif feedback yardımıyla $25(\text{OH})_2\text{D}$ sentezini de inhibe eder (Christakos, Ajibade, Dhawan, Fechner and Mady 2010).



Şekil 4. D vitamini sentez ve metabolizması (Çiğdem 2016).

2.4. D VİTAMİNİN İNSAN VÜCUDUNDA NORMAL FONKSİYONLARI

D vitamini Parathormon (PTH) ve kalsitoninle birlikte kalsiyum (Ca^{++}) ve fosfor (P) metabolizmasında etkin rol oynarlar (Şekil 4). İnce bağırsaktan Ca^{++} 'un aktif transportunu artırır; ince bağırsak ve böbrekte P'un geri emilimini uyarır (Ersöz ve ark 2002).

Kemik dokusunda ise PTH'un stimüle ettiği osteoklastik kemik yıkım sürecinde de işlev görür. Böbrekte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezi proksimal tubulus hücrelerinde PTH'ın etkisi ile gerçekleşmektedir. Sentezin gerçekleşmesi sonucunda kemiklerdeki kalsiyum mobilizasyonu ve paratiroid hormon artışına bağlı olarak serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seviyesinin normal sınırlar içerisinde tutulmasını sağlar. D vitamini ile PTH arasında ters bir ilişki vardır. Böbrek proksimal tübül hücrelerindeki D vitamini hidroksilasyonu, parathormon ile olur. PTH etkisini, hücre zarındaki adenik siklaz'ı aktive ederek gösterir ve artan cAMP özel bir protein kinazı aracılığıyla 1α -hidroksilaz aktivitesini artırır. 1α -hidroksilaz aktivitesinin artışıyla $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezi artar. D vitaminin bu aktif formu kana geçerek hedef dokulara taşınır ve burada bulunan reseptörlerine bağlanırlar. Böbrekte proksimal tübülüs hücrelerin dışında, epitel hücrelerinde, meme dokusunda, prostat, bağırsak, monosit, osteoblastlarda ve makrofajlarda D vitaminin reseptörü bulunmaktadır (Hansdottir et al 2008). Reseptörlerine bağlanması sonucu mRNA sentezini ve protein translasyonunu uyarır (Erçin 2008).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, barsaktaki mukoza epiteline gelerek sitozolde yer alan reseptörlerine bağlanır ve bu şekilde çekirdeğe girer. Sonuçta Ca^{+2} bağlayıcı protein mRNA sentezini sağlar. Elde edilen Ca^{++} bağlayıcı protein, Ca^{+2} 'un bağırsaktan kana salınmasını düzenler (Hatun ve ark 2003). Yapılan çalışmalarda, D vitamini eksikliği olan hastalara $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verilmesinden sonra barsak mukoza epiteline alkalen fosfataz (ALP) ve Ca^{+2} bağımlı ATP aktivitesinin artması sonucu Ca absorpsiyonunun arttığı görülmüştür (Fidan, Alkan ve Tosun 2014). Osteoklast analoglu hücrelerin aktiviteleri $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ile artarken, osteoblast analoglu hücrelerin aktiviteleri $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ile baskılanmaktadır (Şekil-3). Ca'un kemikten geri emilmesini sağlamak için $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün PTH'a ihtiyacı vardır (Yurdakök, Bilginturan, Özsoylu, Yordan ve Coşkun 1990). D vitaminin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ formu, PTH'un salgılanmasını inhibe eder. PTH, 1α -hidroksilazın en önemli regülatörüdür (Christakos et al 2010). PTH'ın artması veya azalması durumunda, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezinde değişiklikler meydana gelir. Serumda bulunan Ca ve P seviyeleri $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezini etkilemektedir. Plazma Ca^{++} ve P seviyeleri normal ise böbrekte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inaktif formlarına dönüşür. Plazma Ca^{++} ve P seviyeleri düşük

ise b6brekte 1,25(OH)₂D₃'un sentezinde artiş olur (Holick 2007). Bu durumda Ca⁺⁺ ve P'un barsaklardan absorpsiyonunu artırır. Prolaktin, b6y6me hormonu, ins6lin ve kalsitonin de 1α-hidroksilaz'ın stim6le edilmesinde rol oynar. 24-hidroksilaz enzimi de Ca⁺⁺ ve P reg6lasyonunda rol oynar. Bu enzimin etkisi ile 24,25(OH)₂D₃ vitamini oluşumunu artırır ve kan Ca⁺⁺ d6zeyini d6ř6r6r.

2.5. D VİTAMİNİ SENTEZİNİ ETKİLEYEN FAKT6RLER

D vitamini ihtiyaçımızın az bir kısmını diyet ile karşılarken, %90-95'i, v6cudumuzun en b6y6k organı olan deride mor-6tesi ışınların etkisi ile 7-DHC'nun fotoizomerizasyonu ile karşılanmaktadır (6zkan ve D6neray 2011). Serumda 25(OH)₂D vitamin seviyesi, mor 6tesi ışınların etkisiyle artiş g6sterirken b6breklerden sentezlenen 1,25(OH)₂D₃ d6zeyleri mor-6tesi ışınlardan etkilenmemektedir (Christakos et al 2010). Mor-6tesi ışınların cilde ulaşan miktarı veya ciltteki 7-DHC miktarı 6zerindeki etkili olan fakt6rler aynı zamanda ciltte D vitamini sentezini de etkilemektedir. Bu nedenle yery6z6ne mor6tesi ışınlarının ulaşmasını engelleyen veya bu ışınların insan derisine geçişini engelleyen herhangi bir fakt6r D vitamini eksikliğine veya yetmezliğine sebep olabilir (6zkan ve D6neray 2011). Eksiliğe veya yetmezliğe sebep olan fakt6rler, dış ve kişisel fakt6rler olmak 6zere iki'ye ayrılabilir. Dış fakt6rler, enlem, mevsim, bulutlar, atmosferdeki ozon miktarı, aerosoller, deniz seviyesi, yansıtabilirlik ve saat gibi fakt6rleri içerir. Kişisel fakt6rler ise, yaş, cilt tipi, giyim, g6neş koruyucu kremlerin kullanımı gibi fakt6rlerdir (Engelson, Brustad, Aknes and Lund 2005).

G6neş Zirve Açışı (Zenith Açışı): Zenith açışı D vitamini sentezi için gerekli olan UVB ışınlarının d6nya y6zeyine ulaştığı açıdır (6zkan ve D6neray 2011). G6neş g6ky6z6nde en y6ksek noktada olduğunda, açı k6ç6l6r ve g6neş ışığındaki fotonlar en kısa yoldan yery6z6ne ulaşarak, t6m ışın enerjisini k6ç6k bir alana d6ř6r6r. 35 derece enlemden daha b6y6k enlemlerde yaşayanlar için ışığın enerjisi bu açıdan dolayı D vitamini sentezi için yetersiz olacağı s6yleyenebilir (Engelson et al 2005).

Enlem ve mevsim: Zenith açışının en dar olduğu mevsim yazın 6ęlen vaktidir ve ekvatora yakın enlemden bulunur. Bunun sonucunda daha fazla D vitamini sentezlenmesi meydana gelir. Zenith açışının en geniş olduğu mevsim ise kişim,

öğleden önce ve öğleden sonradır ve yüksek enlemlerde bulunur. D vitamini sentezi bakımından eksiklik/yetersizlik meydana gelir (Engelson et al 2005).

Pigmentasyon: Derideki melanin pigment yoğunluğu UVB ışınlarını aşırı derecede absorbe ederek D vitamini sentezini azaltır (Nair and Maseeh 2012).

Yaş: Yaşlanma ile epidermiste 7-DHC konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak vitamin D₃ oluşumu azalır (Holick 1989).

Güneş koruyucular: Kullanılan koruyucu kremlerin faktör düzeylerinin 15 veya üzerinde olması %99 oranında güneş ışınlarının deriye ulaşmasını engellemektedir (Açıkgöz, Günay ve Uçku 2013).

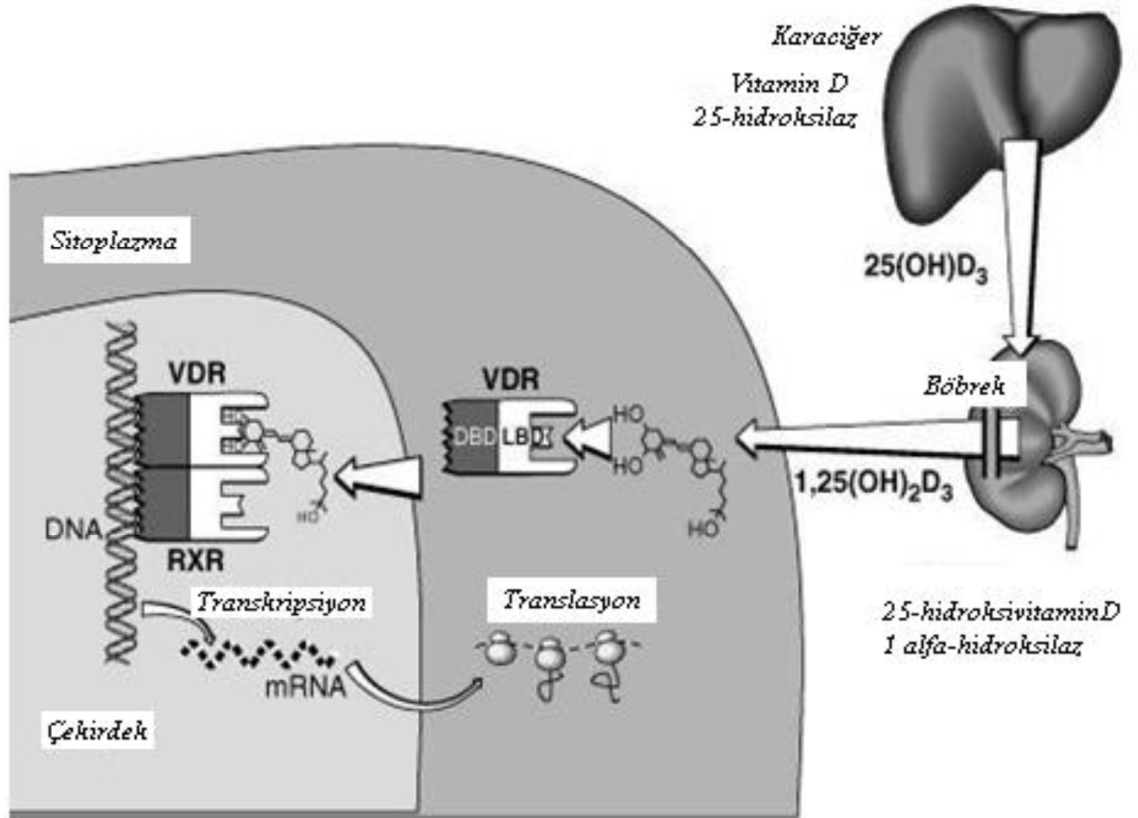
Güneş alan cilt alanı: Günlük kıyafetler, UV ışınları arasında önemli bir bariyer oluşturmaktadır (Dawodu et al 1998).

Atmosferdeki ozon miktarı: Ozon tabakası UVB dalgalarının en önemli absorblayıcısıdır. Tropik bölgelerde en az seviyede bulunurken, kutuplarda en yüksek miktarlarda bulunmaktadır. İlkbahar mevsiminde maksimum miktarda bulunurken, sonbaharda en düşük seviyede bulunmaktadır. Atmosferdeki dinamikler, ozon tabakasının gün içinde %10-20'ye varan oranlarda değişimine neden olmaktadır (Engelson et al 2005).

Obezite: Eşit derecede güneş ışığından faydalanan obez bireyler, obez olmayan bireylerin yarısı kadar D vitamini ürettiği görülmüştür. Diyet veya besinlerle alınan vitamin D, öncelikle yağ dokusu tarafından hemen alınır. 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).

2.6. D VİTAMİNİN MOLEKÜLER ETKİ MEKANİZMASI

D vitamini, reseptör düzeyindeki etkisini D vitaminin en aktif metaboliti olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ile sağlar. Bu etki, diğer steroid hormonlara benzer olarak nükleer VDR üzerinden gen transkripsiyonunu regüle ederek gerçekleştirilir (Kocatürk ve Kasap 2011). Bu genomik etki, saatler veya günler içinde gerçekleşir. Aynı zamanda plazma membranındaki VDR reseptörlerine bağlanarak sitoplazma içerisinde geçici olan iyonların Ca^{++} , klorür (Cl^-) transmembran geçişini değiştirerek veya siklik adenosin monofosfat (cAMP), proteinkinaz A (PKA), fosfolipaz C (PLC), fosfoinozimid-3 kinaz (PI-3 kinaz) ve “mitojen-aktivite” protein kinaz (MAP kinaz) gibi hücre içi sinyal yollarını aktive ederek etki gösterir (Şekil 5). Bu non-genomik etki dakikalar içinde görünür (Holick 2008).



Şekil 5. D vitaminin transkripsiyona etkisi (DEĞİŞLİ 2010)

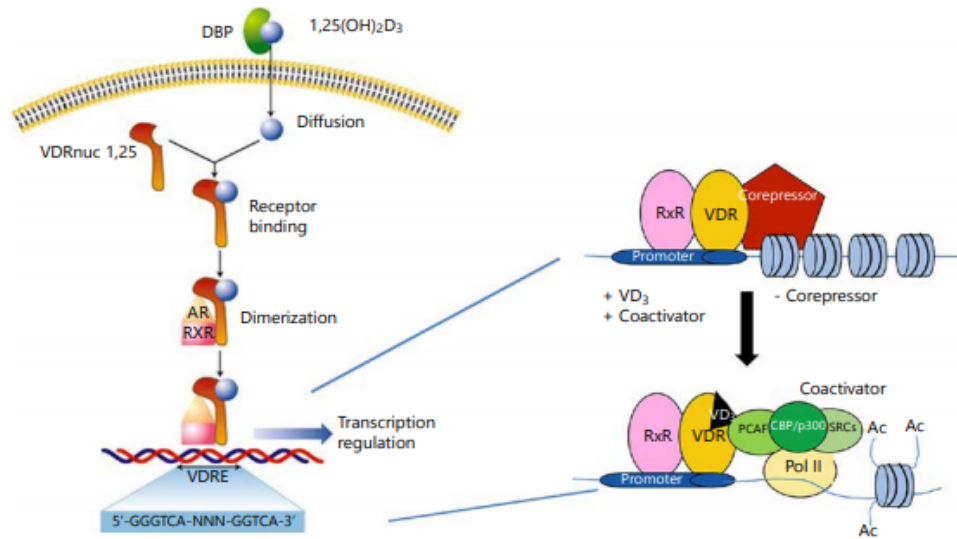
Yapılan çalışmalarda aktif D vitaminin total genomun %0.8-5'ini regüle ettiğini göstermektedir (Güleken 2012). VDR; steroidler, retinoik asit ve tiroid hormon

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 (Şekil 6), (Bouillon et al 2008).



Şekil 6. Steroid hormon reseptörlerinin şematik gösterimi (Goodman 2008).

VDR geninin hedef gende ifade edilebilmesi için retinoik asit X reseptörü (RXR) ile RXR-VDR kompleksi oluşturması gerekir. Böylece, DNA üzerinde bulunan D vitamini cevap elemanı (vitamin D response element VDRE), olarak tanımlanan bölgeye 1,25(OH)₂D-DVR-RXR-VDRE bağlanır ve genomik cevap oluşturulur (Şekil 7), (Bouillon et al 2008).



Şekil 7. D vitamini'nin moleküler etki mekanizması (Gil, Plaza-Diaza and Mesa 2018).

VDR geninde genetik değişiklikler protein sekansındaki değişikliklere neden olmasından dolayı Ca⁺⁺ metabolizması yanında hücre proliferasyonu, immün fonksiyonların etkilendiği önemli bozukluklar meydana gelebilir. Diğer yandan, non-

genomik olarak, aktif D vitamini, plazma membran reseptörüne bağlanması ile MAPKinaz veya cAMP gibi ikincil habercileri aktive ederek Ca^{++} kanalları, pankreasın beta hücreleri, vasküler düz kaslar, bağırsaklar ve monositler üzerinde etkili olabilmektedir. D vitaminin nükleer reseptörü ligandına ait genomik ve non-genomik aktivitelerinin birbirini tamamlayıcı nitelikte olduğu bildirilmiştir (Özkan ve Döneray 2011).

D vitaminin aktif metaboliti olan kalsitriol ($1,25(OH)_2D_3$), hedef dokulardaki etkilerini, vitamin D reseptörü (VDR) ve hedef genin promotör bölgesindeki özel vitamin D cevap elementine (VDRE) bağlı gerçekleştirmektedir. VDRE hormonunun DNA'ya bağlanma bölgesi ile etkileşime girerek onun hetero- veya homo-dimerizasyonunun oluşmasına yardımcı olur. Genel olarak her farklı gen için farklı VDRE görev yapar (Tablo 1). Kalsitriolün VDR'ye bağlanması, kalsiyum dengesini sağlayacak olan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu sağlar (Uçar 2015).

Tablo 1. Vitamin D'nin hedef genleri (Wesley Pike and Meyer 2010).

GEN	TRANSCRIPTION
D vitamini reseptörü	Artan
Kalsiyum bağlayıcı proteinler	Artan
Kalsiyum pompası	Artan
Osteokalcin	Artan
Alkalın fosfataz	Artan
24-Hidroksilaz	Artan
Paratiroid hormon	Azalan
1-Hidroksilaz	Azalan
Kollagen	Azalan
İnterlökin-2	Azalan
γ -İnterferon	Azalan

2.7. D VİTAMİNİ METABOLİZMASI İLE İLİŞKİLİ GEN POLİMORFİZMLERİ

Polimorfizm, genetik çeşitliliklere verilen addır. Bir popülasyonda 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 değişiklikleridir. İnsanlarda etnik ve coğrafi farklılıklara göre değişen fakat genel olarak her 1000 bazda bir görülebilen bir durumdur (Serin, Canan ve Ulubay, 2016). SNP'ler, önemli olaylarda rol oynar. Örneğin, hücre metabolizması DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi vb. olaylarda rol alan genlerin kritik pozisyonlarında yer alırlar. Bazı durumda genin kodladığı proteinin fonksiyonu ya da enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir. Hücre metabolizması için önemli olan proteinlerin fonksiyonunun bozulması çeşitli hastalıklara yol açmakta veya bazı hastalıklar için riski artırmaktadır.

Genomun farklı segmentlerinin birbirinden ayırt edilebilmesi için, geleneksel olarak RFLP-PCR (PCR bağlantılı restriksiyon fragment polimorfizmi) tekniği ve SNP tekniği kullanılmaktadır. RFLP-PCR tekniğinde, çeşitliliğe neden olan baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri oluşturması veya var olan kesim yerini ortadan kaldırması nedeniyle, PCR ile çoğaltılan fragmanın enzim kesiminden sonra normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının (veya polimorfizminin) ortaya çıkarılmasına dayanır. Protein kodlaması yapmayan İtron gibi gen segmentlerinde olan polimorfizmlerin protein üretimine hiçbir katkısı olmaz. Ancak, ekzon bölgesindeki polimorfizmler protein dizisinde değişikliklere neden olmaktadır. Ortaya çıkan değişiklikler DNA'yı fragmanlarına ayıran restriksiyon enzimleri için yeni bölgeler oluşturur ve birbirinden farklı DNA parçaları oluştururlar (Jose, Valdivielso and Elvira Fernandez 2006).

2.7.1. VDR Gen Polimorfizmleri

VDR'de RFLP tekniği ile çok sayıda polimorfizmler tanımlanmıştır (Gennari et al 2002). Literatürde genel olarak en çok 4 polimorfizm ele alınmaktadır. Bunlar:

Ekzon 2'de Fok I (T>C rs2228570),

İntron 8'de Bsm I (G>A rs1544410),

İntron 8'de Apa I (C>A rs79755232),

Ekzon 9'da olan Taq I (T>C rs731236) polimorfizmleridir (Slattery 2007).

2.7.2. CYP24A1 (rs2209314, rs2762939) Gen Polimorfizmi

CYP24A, yani 24-hidroksilaz enzimi kromozom 20q13.2 bölgesinde kodlanır. Bir dizi polimorfizm ve yaklaşık 45 genetik lokus tanımlanan *CYP24A1* geni, 20,5 kb uzunluğundadır ve 12 ekzon içerir. Yapılan çalışmalar, D vitamini metabolizması ile ilişkili genlerdeki polimorfizmlerin D vitaminin yetmezliğinin/yetersizliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Al Anouti, Ell Hajj Chehadeh, Osman, El Ghazali and Al Safar 2017). Epidemiyolojik çalışmalarda, meme kanseri gibi hormon ile ilişkili bazı kanserler ile *CYP24A1* varyasyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu enzimin rs2209314 polimorfizmi ile meme kanserleri arasında anlamlı bir ilişkisi gözlenmiştir. Meme kanserli hastalarda 25(OH)D seviyelerinin düşük olduğu ve bunun rs2209314 allelindeki polimorfizm ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Yao et al 2012). *CYP24A1* enziminin rs2762939 polimorfizminin kolorektal kanser hastalarında azalan D vitamini yetmezliği ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Al Anouti et al 2017). Çin'in güneydoğusunda gebe kadınlarda yapılan çalışmalarda rs2762939 allelindeki GC değişiminin vitamin D eksikliği ile ilişkili olduğu çalışmalar sonucu gösterilmiştir (Shao et al 2017).

2.7.3. CYP3A4 (rs2242480) Gen Polimorfizmi

CYP3A4 geni, yani 25-hidroksilaz enzimini kodlayan gen, kromozom 7q21.1 lokasyonunda bulunan 14 eksonlu bir gendir. 153 bp, 651 bp, 564 bp, 2318 bp ve 2519 bp'lik RNA transkriptleri, bağırsak, karaciğer, prostat ve diğer dokularda eksprese edilir, burada dört protein varyantı 57.34 kDa (503 aa), 17.29 kDa (153aa), 40.39 kDa (353 aa) ve 47.99 kDa (420 aa) tespit edilmiştir. *CYP3A4* geni, sitokrom P450 enzimlerin süper ailesinin bir üyesini kodlar. Esas olarak karaciğer ve bağırsakta bulunan önemli enzim olan sitokrom P450'yi kodlar. Sitokrom P450 proteinleri, ilaç metabolizmasında, kolesterol, steroidler ve diğer lipitlerin sentezinde yer alan birçok reaksiyonu katalize eden monooksijenazlardır (Goodwin, Hodgson, D'Costa, Robertson and Liddle 2002). *CYP3A4* geninin kodladığı 25-hidroksilaz enzimi, biyolojik olarak aktif olmayan, deride yapılan veya diyetle alınan D vitaminini, karaciğerde hidroksilleyerek 25(OH)D'ye dönüştürür (Akkoyun ve ark 2014). Yapılan çalışmalarda da D vitaminin metabolik yolunda rol oynayan *CYP3A4*

geninin rs2242480 allelinde meydana gelen polimorfizmlerde 25(OH)D seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş (Wang et al 2016).

Çalışmalar sonucunda Çin’de hamile kadınlar arasında CYP3A4 geninin rs2242480 allelinde meydana gelen polimorfizmin 25(OH)D düzeyi ile anlamlı bir ilişkisi bulunmuştur (Shao et al 2017). D vitamini ile ilişkili genlerde de meydana gelen polimorfizmler anlamlılık bakımından etnik kökenlere bağlı değişim gösterdiği için Türk popülasyonunda da çalışılmadığı için CYP3A4’de meydana gelen polimorfizmin, 25(OH)D seviyesi ile anlamlılığı çalışmalar sonucunda gösterilecektir (Lee et al 2013).

D vitamini metabolizması ile ilişkili diğer genler ve lokusları Tablo-1’de gösterilmiştir.

2.8. D VİTAMİNİ DÜZEYLERİN ÖLÇÜMÜ

D vitamini yağda çözünen yapısı ile karaciğer ve adipoz dokuda depolanır, eksiklik veya yokluk durumunda 6 aya kadar ihtiyacı karşılayabilir (Erdem, 2015). 25-(OH)D₃ depo durumunu en iyi yansıtan metabolittir. Çünkü, D vitaminin dolaşımdaki en bol bulunan formudur ve yarı ömrü 2-3 hafta kadardır. Ayrıca hem dışardan alınan hem de endojen yapımını gösterir. Biyolojik olarak aktif form olan 1,25-(OH)₂D₃ ölçümü, yarı ömrünün 4-6 saat ve dolaşımdaki düzeyinin 25-(OH)D₃’e göre 1000 kat düşük olması gibi bazı dezavantajlara sahiptir (Holick 2009). Bazı tartışmaların varlığına rağmen, genellikle serum 25-OH D₃ seviyesinin <20 mg / dL olması D vitamini eksikliği; 21 mg / dL ila 30 mg / dL olması ise D vitamini yetersizliği olarak kabul edilir. Tablo 2’de referans değerleri verilmiştir (Heaney 2013, Holick 2007).

Tablo 2. Vitamin D metabolitlerinin normal plazma değerleri (Erdem 2015).

25(OH)D ₂	4-10 ng/ml
25(OH)D ₃	12-40 ng/ml
24,25(OH)D ₃	1-4 ng/ml

D vitamini eksikliğinin yaygın olması (%20-100) nedeniyle düzey belirleme analizleri giderek artmaktadır (Holick et al 2011).

Tablo 3. Serum 25(OH)Vit D düzeylerinin yorumu (Çiğdem 2016)

D vitamin düzeyi (nmol/ml)	D vitamin düzeyi (ng/ml)	Yorum
≤30	≤12	Bebek ve çocuklarda raşitizmle, erişkinlerde osteomalazi ile ilişkili D vitamini eksikliği
30-50	12-20	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık açısından D vitamini yetersizliği
≥50-125	≥20	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık açısından yeterli D vitamini düzeyi şeklindedir.

(1ng/ml=2,5 nmol/L)

2.8.1 HPLC Yöntemi

HPLC yaygın olarak kullanılan analitik ayırma tekniğidir. Kullanılma sebepleri duyarlılığı, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğudur. Çalışılan bileşikler arasında proteinler, aminoasitler, nükleik asitler, karbonhidratlar, ilaçlar ve pestisitler vardır. HPLC cihazı 5 kısımdan oluşur. Bunlar, degazör, pompa, autosampler, kolon, ve dedektördür (Bird 1989).

Degazör: Mobil fazın içerisinde çözünmüş hava kabarcıklarının ve çözünmüş havanın giderilmesini sağlar.

Pompa: Kullanılan mobil fazı yüksek basınç prensibi ile degazörden mobil fazı alıp, örnekleme ve kolon kısmına gönderir. Pompa kısmında örneğin iletilmesi, akış hızı ve basınç değerleri ayarlanarak yapılır.

Örnekleyici: Numunelerin kolon ve detektöre gönderilmesini sağlar. Örnekleyici “manuel” (El tipi), “autosampler” (otomatik) olmak üzere iki tiptedir. El tipi örnekleyicide numune bir şırıngaya çekilip valf yardımıyla sisteme gönderilir. Otoörnekleyicilerde bu işlemler cihazın kendisi tarafından yapılmaktadır. Numune sayısı 10 vialden 1000 vial kadar değişen autosamplerlar bulunmaktadır. Kolona gönderilen numunede dikkat edilmesi gereken en önemli konu numunenin temiz olmasıdır. Numune kirli olur ise kolon kirlenir ve tıkanır.

Kolon; Numunelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden yararlanarak birbirlerinden ayırt edilmesini sağlar. Kullanılan kolon boyutu ve tipi, çalışılacak çalışma parametresine göre değişkenlik göstermektedir.

Dedektör, Kolondan elüe olan örnek bileşeninden alınan cevap doğrultusunda sinyallerin kromatogram üzerinde pik olarak ifade edilmesini sağlayan alettir (Granich, Krogstad, Connor, Desrochers, and Sherwood 1989).

Çalışma prensibini özetlersek, numunede bulunan bir veya daha fazla analitin, hareketli faz ile sabit faz olan kolon arasında değişik hızlarla hareket etmesi prensibine dayanır. Hareketli olan faz, pompaların yüksek basıncıyla kolona gönderilir. Sabit faz ile etkileşen analit ve karışım içeriği, kolon içerisinde değişik hızlarla ilerler. Ayrılan analit, kolon çıkışında dedektörle tespit edilerek miktar tayini yapılmaktadır.

2.9. REAL-TİME PCR YÖNTEMİ

PCR, spesifik bir DNA parçasının primerler kullanılarak enzimlerle *in vitro* olarak sentezlenmesidir. Bir PCR döngüsü, denatürasyon (denaturation), bağlanma (annealing), uzama (extention) aşamalarından oluşan bir siklustur. Siklus DNA molekülünün ısı ile denatüre edilmesi sonucu oluşan tek iplikli kalıp DNA'lara, kısa oligonükleotidlerin bağlanması ile ilerler. Oligonükleotidlerin bağlanma sonrası döngünün devamı için stabilitesini yüksek sıcaklıklarda koruyabilen DNA polimeraz enzimi devam ettirir. Bu sebeple yüksek sıcaklıklarda yaşayabilen "*Thermus Aquaticus*" adlı bakteriden izole edilen *Taq polimeraz* enzimi kullanılır. DNA polimeraz ve primerlere ek olarak uzamanın gerçekleştirmesinde, kofaktör magnezyum iyonu (Mg^{+}) ve dNTP (deoksiribonükleosid trifosfat) rol alır (Lorenz TC 2012). dNTP'ler (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) ticari olarak ayrı ayrı ya da mix şeklinde temin edilebilir. Mg iyonları dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluştururlar, polimeraz aktivitesini teşvik ederler ve çift iplikli DNA'nın T_m değerini arttırmırlar. Ayrıca primer/kalıp etkileşimini sağlarlar (Kahya S, Buyukcangaz E ve Carlı KT 2013). Real Time PCR floresan boyalar kullanılarak gerçek zamanlı olarak DNA'nın belirlenmesi ve miktarının gösterilmesi tekniğidir. Gen anlatımının analizini değiştiren bu metot ile geleneksel PCR yöntemi ve gen analizi

birleştirilmiştir. PCR çoğaltımını görünür hale getiren ve monitorize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı; floresanın, oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğalma yöntemidir. Sıcaklık siklusları ve floresan okunması aynı cihaz ve aynı tüp içinde gerçekleşmektedir. Böylece hedef bölge, elektroforeze gerek kalmadan kısa bir süre içinde saptanabilmektedir.

2.10. D VİTAMİNİN İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIKLAR

Vitamin D'nin kemik, bağırsak, böbrek ve paratiroid bezler üzerine gösterdiği fizyolojik etkilerin dışında başka birçok fonksiyonu olduğu gösterilmiştir. İmmun sistemde, inflamasyonda, hücre proliferasyonu gibi bir çok biyolojik süreçte yer alması nedeniyle eksikliği ve yetmezliği, son zamanlarda daha fazla önem kazanmış, dünyada ve Türkiye'de yaygın bir sağlık problemi olmuştur. Günümüzde, raşitizm, osteoporoz ve osteomalazi gibi fizyolojik fonksiyonları ile hastalıkların yanı sıra otoimmün hastalıklar, kanserler, kardiyovasküler hastalıklar Tip I diyabet gibi pek çok patolojik süreçte rolü olduğu bilinmektedir (Ardeniz 2008, Uçan ve Delibaş 2015, Karagöl ve Atak 2016).

Raşitizm, Osteoporoz ve Osteomalazi

Uzun D vitamini eksikliğinde klinik bulgular kalsiyum düşüklüğü ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Kemik yoğunluğunda azalma sonucu, çocuklarda raşitizm, yetişkinlerde osteoporoz, osteomalazi görünür (Uçan ve Delibaş 2015). İskelet kaslarında 1,25(OH)₂D vitamini için reseptörler bulunmaktadır. D vitamini eksikliği sonucu hastalarda genel klinik sonuç olarak kemik ve kaslarda ağrı şikayetleri bulunmaktadır (Holick 2006).

Diyabet

Diyabet ve D vitaminin arasındaki ilişki 1980 yıllarında hayvanlar üzerinde yapılan deneyler sonucu ortaya koyulmuştur. D vitamini eksikliği sonucu pankreastan insülin salgılanmasının inhibe edildiği gösterilmiştir. Devam eden deneyler sonrasında, pankreasta özellikle insülin salgılayan beta-hücrelerinde ve immün sisteme ait hücrelerde VDR ve DBP'nin varlığının gösterilmesi ile aralarında ki ilişki güçlenmiştir. D vitamini ve Tip 1 diyabete yatkınlık konusunda yapılan çeşitli

çalışmalar sonucu, Tip 1 DM'de en önemli genetik belirleyici kromozom 6q21'in majör histokompatibilite bölgesinde (MHC) bulunduğu ve başka genlerinde yatkınlığa sebep olduğu bulunmuştur. CYP27B1 ve VDR genlerindeki polimorfizmlerin Tip 1 DM'li kişilerde immün yanıtı etkileyeceği öne sürülmüştür (Bolluk ve Akbulut 2013).

Kanser

Laboratuvar, deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar neticesinde D vitamininin en fazla meme, kolon, prostat, deri ve pankreas kanser hücrelerinin VDR bulunduğu gösterilmiştir (Norman, Frankel, Heldt and Grodsky 1980, Khan and Partin 2004, Mason and Reichrath, Sun 2017, Welsh 2018). Yirmiye yakın kanser tipi üzerinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. 1,25(OH)D₃ vitamininin bu kanser hücreleri üzerinde inhibitör etkisi bulunmaktadır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücresel siklusun düzenlenmesi, diferansiyasyonun stimülasyonu, büyüme stimülasyonunun bozulması, anjiyogenezisin inhibisyonu, malign hücrelerin artmış apoptozisi mekanizmalar öne sürülmüştür (Holick 2009, Mosekilde 2005).

Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar ile Vitamin D ilişkisi ile ilgili olarak 1981 yılında Scragg R, UVB ışınlarının kardiyovasküler hastalık üzerine olumlu etkisi ve koruyucu bir mekanizmaya sahip olduğu bildirmiştir (Uçan ve Delibaşı 2015). Ratlarda yapılan çalışmalar, aktif D vitamininin kardiyomiyosit hücrelerinin gevşeme süresini hızlandırdığı ve kalbin diyastolik fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Green, Robinson, Wilson et al 2006). Vitamin D metabolitlerinin, kültüre alınan kardiyomiyositler üzerinde antihipertrofik ve antiproliferatif etkileri de görülmüştür (Nibbelink, Tishkoff, Hershey, Rahman and Simpson 2007).

İmmün Fonksiyonları Ve Otoimmün Hastalıklar

Periferal kan mononükleer lökositlerinde, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vitamini reseptörünün tespitiyle, D vitaminin immün sistem üzerinde düzenleyici etkisinin olduğu görülmüştür. Aktif T ve B lenfositler yüksek düzeyde Vitamin D_3 reseptörü eksprese ederler (Provvedini, Tsoukas, Deftos and Manolagas 1983). Hücrel bağışık yanıtta temel olan Th1 antikör aracılıklı bağışık yanıtta görevli Th2 hücreleri $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitaminin direkt hedefleridir. Vitamin D_3 'ün immün sistemdeki majör hedefinin IL-2 geni olduğu ileri sürülmüştür (Bemiss, Mahon, Henry, Weaver and Cantorna 2002). D vitamini eksikliği otoimmün hastalıklarının insidansını ve şiddetini artırdığı bilinmektedir. Multiple Skleroz, Sjögren sendromu, romatoid artrit, tiroidve Crohn hastalığının düşük vitamin D değerleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Kostoglou-Athanassiou, Athanassiou, Lyraki, Raftakis and Antoniadis 2012, Mackawy, Al-ayed and Al-rashidi 2013, Ham et al 2014, Alharbi 2015, Garcia-Carrasco et al 2017)

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ARAŞTIRMANIN ÖZELLİKLERİ

3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran, D vitamini yetersizliği (80) ve eksikliği (81) tanısı konmuş 161 hasta ile kontrol grubu olarak D vitamini düzeyi bakımından normal değerlere sahip 84 sağlıklı kişi gönüllü olarak çalışmaya alınmıştır.

3.1.2. Veri Toplama Araçları

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 04.12.2017 tarihli 223 sayılı evrak ile tez çalışması için onay alınmıştır. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki katılımcılara gerekli zaman ayrılıp bilgilendirme yapılarak onam formları alınmıştır.

3.1.3. Araştırmada Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve (20-65 yaş) D vitamini yetersizliği ve yetmezliği dışında, tanısı konulan herhangi bir klinik hastalığı olmayan bireyler dahil edilmiştir.

3.1.4. Araştırmada Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

-Hikaye ve geçmişinde herhangi bir akut veya kronik hastalığı olanlar,

-Madde bağımlıları,

-Aile hikayesinde inflamatuvar barsak hastalığı olanlar,

-Herhangi bir akut kronik metabolik, endokrin, kardiovasküler, otoimmün ve romatoloji hastalık belirtileri ve semptomları olanlar,

-Pıhtılaşma bozukluğu olanlar,

-Obezitesi ve gebeliği olanlar,

-Hikâye ve geçmişinde herhangi bir akut veya kronik hastalığı olanlar

-Çalışmaya katılmak istemeyen hastalar ve sağlıklı kontroller bu çalışmaya alınmamıştır.

3.2. PLAZMA D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

3.2.1. D Vitamini Miktar Analizi İçin Örneklerin Toplanması

Örnekler, SAÜ Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve çalışmaya dahil etme ve dışlama kriterlerine göre seçilmiş hastalardan bir gecelik açlık sonrası EDTA'lı tüpte kan örnekleri alınmıştır. Jelli tüpteki örnekler 20 dakika pıhtılaştıktan sonra 500xg de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı ve D vitamini analizine kadar -80°C da dondurularak saklanmıştır.

3.2.2. HPLC Yöntemi İle Serum 25-(OH)D₂-D₃ Düzeylerinin Belirlenmesi

Örnek toplama işlemi bittikten sonra Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında HPLC sistemi ile 25(OH) D vitamin analizi yapılmıştır. Tez çalışmamızda D vitamin düzeyleri HPLC cihazı ile (Shimadzu DGU-20A) D vitamini ekstraksiyon kiti (ZİVAK, ZV-4007-KK-10_Rev04), kontrol serumları ve kalibratörler ticari kit kullanılarak serumdan ölçüm yapıldı.

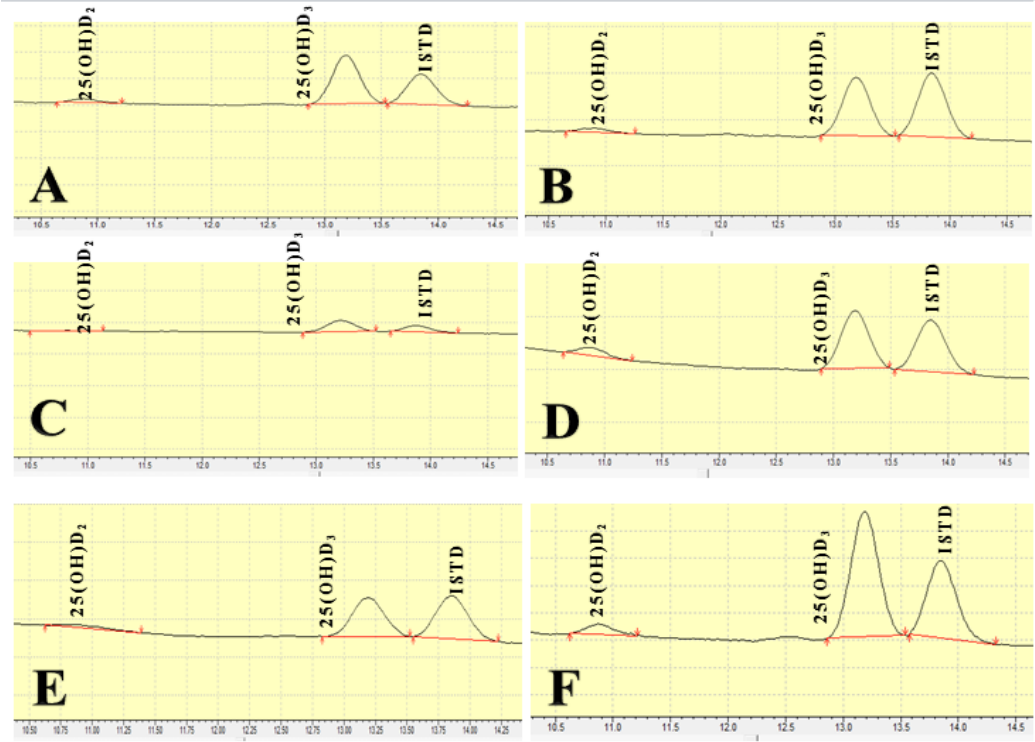
3.2.3. Örneklerin Hazırlanması

- 1- 400 μ l hasta serumu, kalibratörler ve kontroller ayrı ayrı 2 ml'lik ependorflara konuldu.
- 2- 500 μ l "Presipitant solüsyonu" her ependorfa eklenip, 10 sn vortekslendi.
- 3- 400 μ l "Internal Standart (IS)" her ependorfa eklendi ve 10 sn vortekslendi.
- 4- 10000 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldı.
- 5- Üst faz viallere alındı.

3.2.4. Örneklerin Cihaza Yüklenmesi

HPLC siseminde; 1.7 ml pompa akış hızı, 25 dk çalışma süresi, enjeksiyon miktarı 20 μ l ve örnekler kolon sonrası UV dedektörde 264 nm'de ölçülecek şekilde D₃ metodu oluşturuldu. Kalibrasyon ve kontrol ayarları yapıldıktan sonra viallere alınan

numuneler manuel enjeksiyon için HPLC sistemine tek tek verildi. Retansiyon süreleri 25(OH)D₃ için 13.2 dk. 25(OH)D₂ için 10.8 dk ve internal standart için 13.8 dk olarak gözlemlendi (Şekil 8).



Şekil 8. HPLC kromatogram örnekleri

A) Kalibratör; B) Kalibratör; C) Düzey 1 kontrol; D) Düzey 2 kontrol materyali; E) Hasta numunesi; F) Hasta numunesi

25(OH) D vitamini “ng/mL” olarak ölçüldü. D vitamini düzeyi 20 ng/ml altında-eksiklik, 20-30 ng/mL arasında-yetersizlik ve 30 ng/mL üzerinde-normal değerler şeklinde sınıflandırıldı.

3.3. GENETİK ANALİZ

3.3.1. Polimorfizm Çalışması İçin Örneklerin Toplanması

Örnekler, SAÜ Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve çalışmaya dahil etme ve dışlama kriterlerine göre seçilmiş hastalardan bir gecelik açlık sonrası her bir hasta ve kontrol grubu katılımcısından 6 ml kan

örneği EDTA'lı tüpe alınarak DNA izolasyon analizine kadar -20°C de saklanmıştır. DNA izolasyonu total kandan Jena Bioscience Blood-Animal-Plant DNA Preparation markalı ticari kit kullanılarak yapıldı.

3.3.2. Total Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu işlemimin deney aşamaları aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

- 1- 250 μ L kan 2 ml'lik ependorflara (Lp Italiana Spa) aktarıldı.
- 2- Üzerine 1 mL "Blood Lysis Buffer" eklendi. 10-15 sn boyunca vorteklendi.
- 3- 10 dk buz inkübasyonunda bekletildi ve ara ara vortekslendi.
- 4- 10.000 g'de 10 dk santrifüj sonrası süpernatant atıldı, pelet ependorfta bırakıldı.
- 5- Ependorfun üzerine 300 μ L "Lysis Buffer" ve ortamdaki RNA'ları ortadan kaldırmak için 2 μ L "RNAaz" eklenerek 30-60 sn vortekslendi.
- 6- Ortamdaki proteinleri parçalamak amacıyla üzerine 8 μ L "Proteinaz-K" eklenerek vortekslendi. Enzimlerin aktivasyonu için etüvde 60 °C'de 10 dk bekletildi.
- 7- Etüvden çıkarıldıktan sonra kısa vorteks yapıldı. Sıcaklığın gitmesi için oda sıcaklığında 1 dk boyunca bekletildi.
- 8- DNA'nın kolona bağlanması için ependorfun üzerine 300 μ L "Binding Buffer" eklenerek kısa bir vorteks yapıldı. 5 dk buzda bekletildi ve daha sonra 5 dk 10000 x g'de santrifüj yapıldı.
- 9- Spin kolonları, toplama tüplerine geçirilerek kolonu aktive etmek için aktivasyon tampon solusyonu eklendi.
- 10- Aktive edilen spin kolonlarına 8. basamakta santrifüjden sonra ependorfta oluşan süpernatant eklendi ve 10000 x g'de 1 dk santrifüj edildi.

11- DNA'ları kalan protein ve RNA'lardan temizlemek amacıyla üzerine 500 μ l "Washing Buffer" eklenerek 30 sn 10000 x g'de santrifüj edildi ve toplama tüpüne akan sıvı boşaltıldı.

12- 2 ml'lik tüplere kolon tüpler geçirilerek üzerine 40 μ l "Elüsyon Bufferı" koyularak 10000 x g'de 2 dk santrifüj yapıldı. Üst kolon atıldı ve ependorftaki DNA Nanodrop'ta ölçüldü. Daha sonra SNP çalışmasına kadar -20 derecede saklandı.

3.3.3. DNA'nın Konsatrasyon Ve Kalitesinin Tayini

Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonubelirlendi. O.D.260/O.D.280 oranı 1,7-1,8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. DNA'nın 50 μ l/ml çift iplikli içeriğinin 260 nm dalga boyunda bir optik dansite (O.D) verdiği öngörülmektedir. Saflık OD260/OD280 oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD260/OD280 değeri yaklaşık 1,8'dir. DNA'nın içerisinde fenol ve protein var ise oran 1,8'den küçük olacaktır. OD260/OD280 değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir.

3.3.4. Gen Analizi

Hasta ve kontrol gruplarının genetik analizleri, alınan EDTA'lı kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan, Real-Time PCR ile Biorad Cfx Connect cihazı kullanılarak belirlendi.

3.3.4.1. Real-time Pcr Analizleri

Real-time PCR yönteminde, 5' ve 3' uçlarından florokrom (floresans veren) maddelerle işaretli taqman probu kullanıldı. Real-time PCR analizlerinde Jena Bioscience marka primerler ve taqman probu kullanılarak tablo 5'de gösterilmiştir. Real-time PCR, Biorad Cfx connect marka cihaz kullanılarak 95°C'de 2 dk ve 1 döngü 95 °C'de 15 saniye 40 döngü, 60 °C'de 1 dk 40 döngü olacak şekilde inkübasyon gerçekleştirildi.

Tablo 4. Real-time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği

Reaksiyon Karışımının İçeriği	Miktarı(μ l)
PCR Grade Su	7
Probe Master Mix	10
Primer Prob Mix(4 μ l)	1
Örnek DNA(<500 ng/Assay den az olmalı)	2
Toplam	20 μ l

Tablo 5. CYP3A4 (rs2242480) ve CYP24A1 (rs2209314,rs2762939) genleri için Real-time PCR Programı

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	95	2 dk	1
	PCR Amplifikasyonu (Toplam 40 döngü)		
Denatürasyon	95	15 sn	
Bağlanma	60	1 dk	
Uzama	72	1 sn	

3.3.4.2. Kullanılan primerler ve proplar

Primerler ve taqman probu “Jena Bioscience, Almanya” tarafından sentezlendi.

3.4. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows version 25.0 programı ile yapıldı. Örnekleme tanımlamak için yüzde, ortalama (mean), standart sapma (SD) gibi tanımlayıcı istatistiklerden yararlanılmıştır. D vitamini 20 ng/ml ve altı, 20-30 ng/ml arası ve 30 ng/ml ve üstü olmak üzere 3 grup oluşturularak tüm parametlerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogrov-Simirnov testi ile kontrol edilmiştir. Normal dağılıma uymayan parametrelerin nicel verileri $x \pm ss$ olarak tanımlandı. Gruplandırılmalar arasındaki farklar “Mann-Whitney U” testi ile yapıldı. Çalışma gruplarının SNP'lerine ait genotip ve allel dağılımları Pearson'un Ki-Kare (χ^2), Yates Ki-kare veya Fisher'in kesin sonuçlu Ki-Kare testleri ile değerlendirilmiştir. Referans genotiplere göre riskli

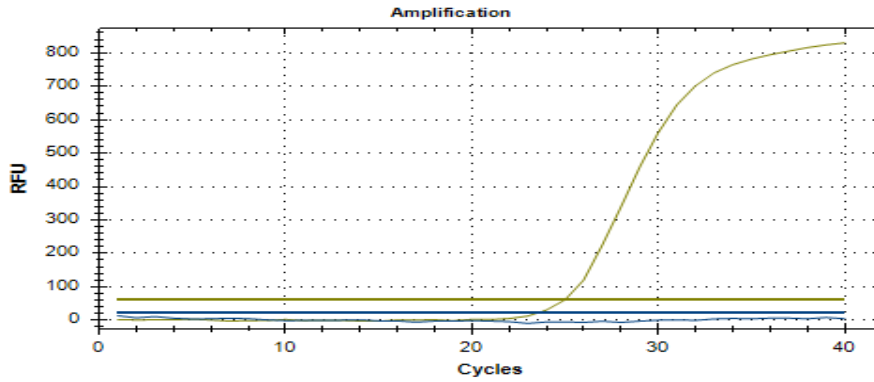
olabileceği düşünölen genotiplerin hastalık üzerinde etkisi incelenirken her bir genotipe ilişkin olasılık oranı (OR) ve %95 güven aralıkları (GA) hesaplanmıştır. D vitamini düzeylerine göre ayrılan gruplarda SNP'lerin her üç bölgedeki genotiplerin dağılımlarına ilişkin Hardy-Weinberg denkleminin sağlayıp sağlamadığıda kontrol edilmiştir. Tüm testlerde $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

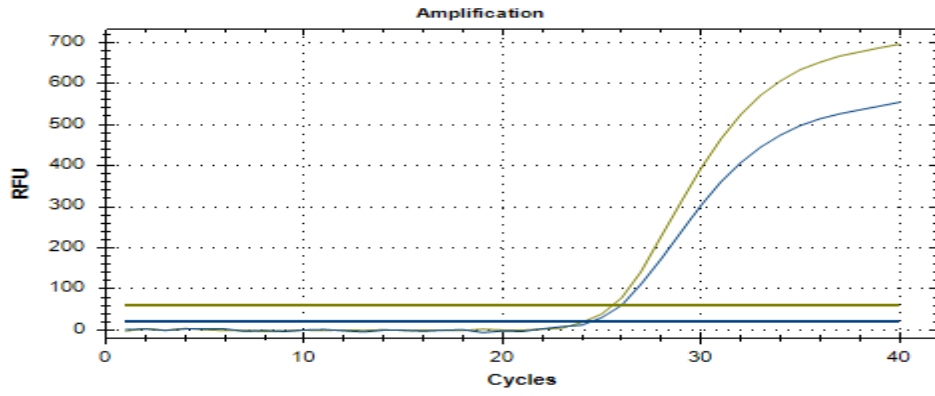
Çalışma kapsamına Sakarya Üniversitesi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran 25(OH)D₃ vitamini 20 ng/ml ve altı 81, 20-30 ng/ml arası 80, 30 ng/ml ve üstü 84 hasta olmak üzere toplam 245 hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların 25(OH)D₃ vitamini 20 ng/ml ve altı olan hastaların ortalama düzeyleri 12.01±4.10 (ortalama±SD), 20-30 ng/ml arası olan hastaların ortalama düzeyleri 24.34±2.95 (ortalama±SD), 30 ng/ml ve üstü olan kontrol grubu hastaların ortalama D vitamini düzeyi 37.47±7.05 olarak bulundu. Hastaların yaş ortalaması 41.42±12.80 (ortalama±SD, yaş aralığı: 18-60) olarak bulundu. Bu hastaların 120'si (%48.97) erkek, 125'i (%51.03) kadındır. Çalışmaya dahil edilen hastaların vücut kitle indeksi ortalaması 24.84±5.86 kg/m² dir (ortalama±SD).

4.1. HASTA GRUPLARINDAN ELDE EDİLEN VERİLER

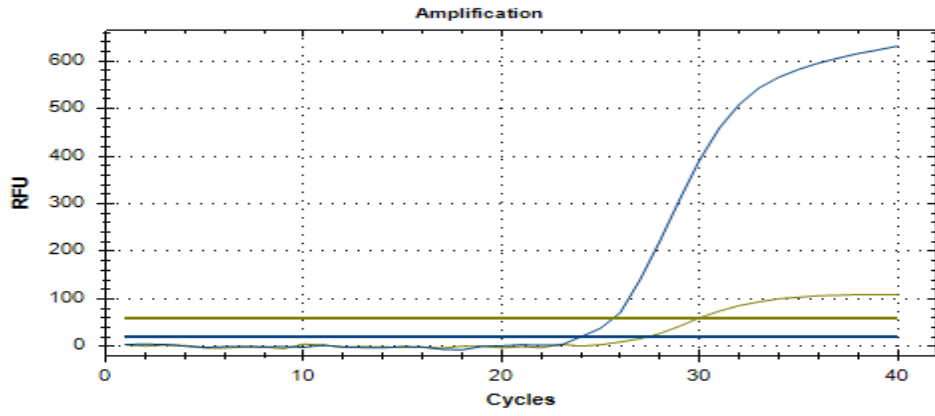
Hastaların 25(OH)D₃ seviyeleri 20 ng/ml ve altı, 20-30 ng/ml arası, 30 ng/ml ve üstü olarak ölçülüp ayrılan örneklerde CYP3A4 geninin rs2242480, CYP24A1 geninin rs2209314 ve rs2762939 allellerinde polimorfizm bakılmıştır.



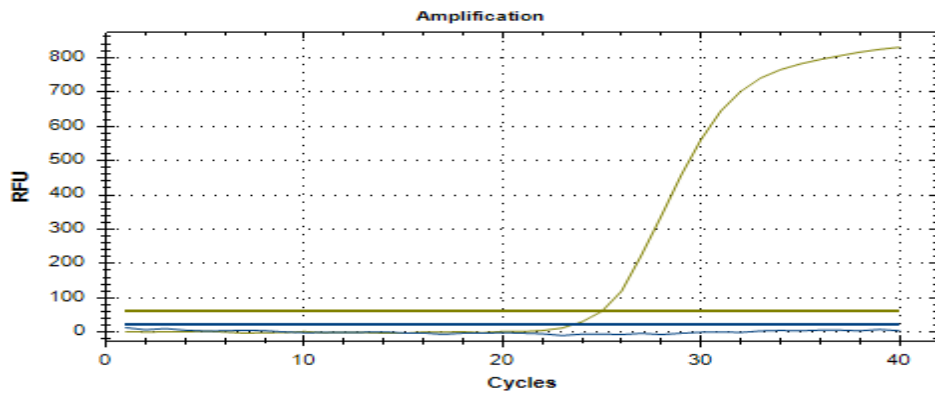
Şekil 9. Rs2242480 alleli için FAM (Green) florofofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



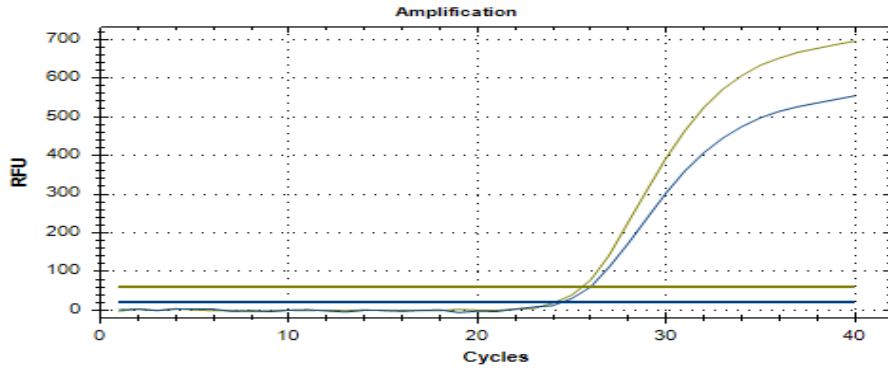
Şekil 10. Rs2242480 alleli için FAM (Green) florofofor işaretli C allel primer kullanımı ile T allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



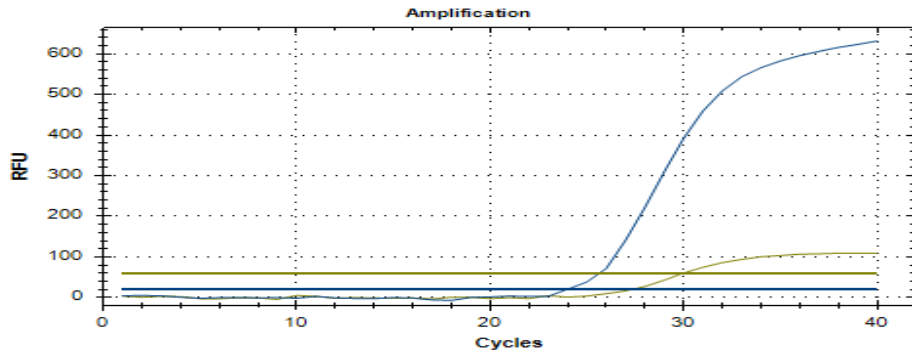
Şekil 11. Rs2242480 alleli için FAM(Green) florofofor işaretli T allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



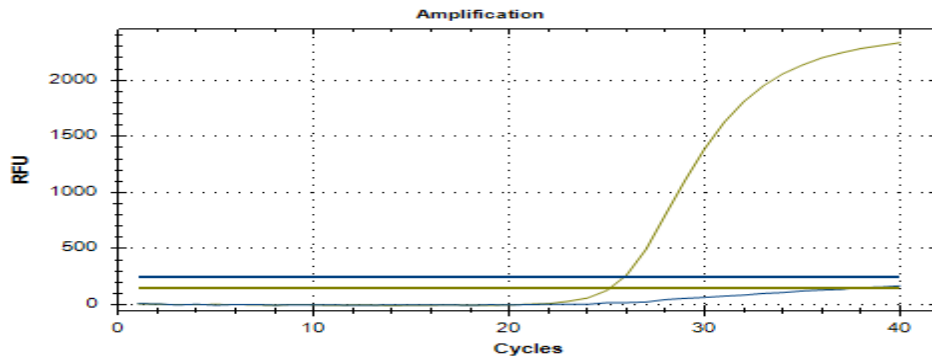
Şekil 12. Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



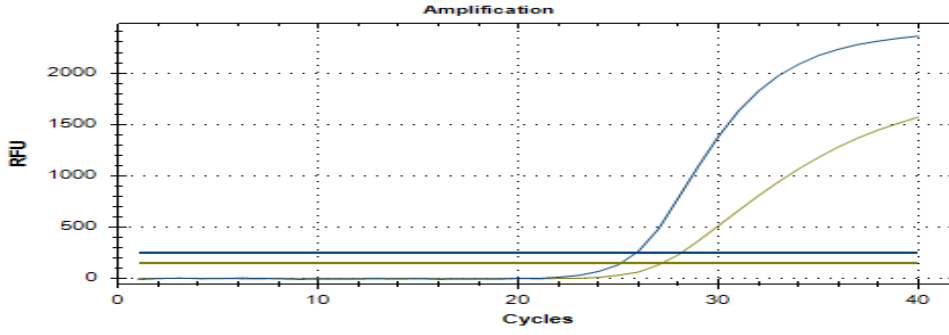
Şekil 13. Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı ile T allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



Şekil 14. Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli T allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



Şekil 15. Rs2762939 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı homozigot örneklerin Real-time SNP için analizi



Şekil 16. Rs2209314 alleli için FAM (Green) florofor işaretli C allel primer kullanımı ile G allel heterozigot örneklerin Real-time SNP için analizi

25(OH)D₃ seviyeleri 20 ng/ml ve altı olan, 20-30 ng/mL olan 2. ve 3. Gruplar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır ve allel frekansları ve genotip dağılımları aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 6. 25(OH) D₃ vitamini 20 ng/ml ve altı olan 2.grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP3A4 geninin rs2242480 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerinin dağılımı

Gen	2.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>P</i>	OR (CI 95%)
CYP3A4				
Rs2242480 polimorfizmi	81	84		
Genotip				
CC	64 (%79.01)	64 (%76.19)		1
CT	13 (%16.04)	19 (%22.61)	0.342	1.462 (0.666-3.207)
TT	4 (%4.93)	1 (%1.19)	0.366	0.250 (0.027-2.298)
Allel				
C	141(%87.03)	147 (%87.5)		1
T	21(%12.96)	21 (%12.5)	0.900	0.959 (0.502-1.833)

Tablo 7. 25(OH) D₃ vitamini 20-30 ng/ml arası olan 3.grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP3A4 geninin rs2242480 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerin dağılımı

Gen CYP3A4	3.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)
Rs2242480 polimorfizmi	80	84		
Genotip				
CC	57 (%71.25)	64 (%76.19)		1
CT	19 (%23.75)	19 (%22.61)	0.900	0.891 (0.430-1.847)
TT	4 (%5)	1 (%1.19)	0.197	0.223 (0.024-2.050)
Allel				
C	133(%83.12)	147 (%87.5)		1
T	27(%16.87)	21 (%12.5)	0.335	0.704 (0.380-1.304)

Tablo 8. 25(OH) D₃ vitamini 20 ng/ml ve altı olan 2.grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP24A1 allelinin rs2209314 polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı.

Gen CYP24A1	2.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)
rs2209314 polimorfizmi	81	84		
Genotip				
CC	9 (%11.11)	12 (%14.28)		1
CT	31 (%38.27)	40 (%47.61)	0.948	0.968 (0.362-2.587)
TT	41 (%50.61)	32 (%38.09)	0.407	0.585 (0.220-1.560)
Allel				
C	49(%30.24)	64 (%38.09)		1
T	113(%69.75)	104 (%61.90)	0.113	0.705 (0.446-1.113)

Tablo 9. 25(OH) D₃ vitamini 20-30 ng/mL arası olan 3.grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP24A1 geninin rs2209314 polimorfizminin allel frekansive genotip dağılımı

Gen CYP24A1	3.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)
rs2209314 polimorfizmi	80	84		
Genotip				
CC	5 (%6.25)	12 (%14.28)		1
CT	33 (%41.25)	40 (%47.61)	0.360	0.505 (0.161-1.580)
TT	42 (%52.5)	32 (%38.09)	0.077	0.317 (0.102-0.993)
Allel				
C	43 (%26.87)	64 (%38.09)		1
T	117 (%73.12)	104 (%61.90)	0.030*	0.597 (0.374-0.954)

*3 grubun T aleli C alleli karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu (P=0.030)

Tablo 10. 25(OH) D₃ vitamini 20 ng/mL ve altı olan 2.grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP24A1 geninin rs27662939 polimorfizminin allel frekansive genotiplerin dağılımı

Gen CYP24A1	2.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)
Rs27662939 polimorfizmi	81	84		
Genotip				
CC	5 (%6.17)	13 (%15.47)		1
CG	75 (%92.6)	70 (%83.3)	0.096	0.359 (0.122-1.059)
GG	1 (%1.23)	1 (%1.19)	0.521	0.385 (0.020-7.404)
Allel				
C	85 (%52.46)	96 (%57.14)		1
G	77 (%47.53)	72 (%42.85)	0.394	0.828 (0.536-1.278)

Tablo 11. 25(OH) D₃ vitamini 20-30 ng/mL arası olan 3. Grup ile kontrol grubu olan 1.grupta CYP24A1 geninin rs27662939 polimorfizminin allel frekansı ve genotiplerin dağılımı

Gen CYP24A1	3.grup n (%)	kontrol(1.grup) n (%)	<i>P</i>	OR (CI 95%)
Rs27662939 polimorfizmi	80	84		
Genotip				
CC	4 (%5)	13 (%15.47)		1
CG	75 (%93.75)	70 (%83.33)	0.052	0.287 (0.089-0.923)
GG	1 (%1.25)	1 (%1.19)	0.468	0.308 (0.015-6.117)
Allel				
C	83(%51.87)	96 (%57.14)		1
G	77 (%48.12)	72 (%42.85)	0.338	0.808 (0.523-1.249)

Hasta ve kontrol grupları arasındaki gruplandırma farkına baktığımız “Mann-Whitney U” testi ile analiz edildiğinde 25(OH)D₃ seviyesi 30 ng/ml ve üstü olan kontrol grubu ile 25(OH)D₃ seviyesi 20 ng/ml ve altı olan 2. grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.001). Kontrol grubu ile 25(OH)D₃ seviyesi 20-30 ng/ml arası olan 3. grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.001) ve 2. İle 3. grup arasında gruplandırma farkı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.001).

Hasta ve kontrol grupları arasında CYP24A1-rs2209314 ve-rs2762939 ile ve CYP3A4-rs2242480 alel ve genotip frekans dağılımları incelendi. Katılan bireyler, I. grup: D vitamini düzeyleri normal (30-110 ng/mL) olan herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı bireyler (kontrol); II. grup D vitamini (<20 ng/ml) eksikliği olan; III. grup D vitamini yetersizliği (20-30 ng/ml) olan hastalar yer almaktaydı. CYP3A4-rs2242480’ e ait genotip ve allel dağılımları grup I: CC % 76.19, CT % 22.61, TT % 1.19; C alleli % 87.50 ve T alleli % 12.5; grup II: CC % 79.01, CT % 16.04, TT % 4.93; C alleli % 87.03 ve T alleli % 12.96; grup III: CC % 71.25, CT % 23.75, TT % 5.00; C alleli % 83.12 ve T alleli % 16.87 olarak bulundu. Bu dağılımlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 6 ve 7).

CYP24A1-rs2209314’ e ait genotip ve allel dağılımları grup I: CC % 14.28, CT % 47.61, TT % 38.09; C alleli % 38.09 ve T alleli % 61.90; grup II: CC % 11.11, CT % 38.27, TT % 50.61; C alleli % 30.24 ve T alleli % 69.75; grup III: CC % 6.25, CT % 41.25, TT % 52.50; C alleli % 26.87 ve T alleli % 73.12 olarak bulundu. Bu genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak grup III’ün T allel dağılımı kontrol (Grup I) grubuna göre yüksek bulundu (P=0.030), (Tablo 8 ve 9).

CYP24A1-rs2762939’ e ait genotip ve allel dağılımları grup I: CC % 15.47, CG % 83.30, GG % 1.19; C alleli % 57.14 ve G alleli % 42.85; grup II: CC % 6.17, CG % 92.60, GG % 1.23; C alleli % 52.46 ve G alleli % 47.53; grup III: CC % 5.00, CG % 93.75, GG % 1.25; C alleli % 51.87 ve G alleli % 48.12 olarak bulundu. Bu genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 10 ve 11).

5. TARTIŞMA

D vitamini kalsiyum ve fosfor homeostazisini sağlayan bir pro-hormon olmanın dışında insan vücutunda önemli fonksiyonlara sahiptir. Vücutta *de novo* sentezi mümkün olmakla birlikte güneş ışığının, prekürsör molekülünün sentezinde önemli olması nedeniyle, dışardan alımın veya sentezin azlığı gibi nedenlerle klinik pratikte eksikliği ve/veya yetersizliğine görece sık rastlanır. Özellikle ülkemiz ve bölgemiz gibi bütün mevsimlerde bol güneşli iklim koşullarına rağmen bu eksiklik/yetersizlik durumlarının sıklığı dikkat çekicidir. Bu nedenle biz çalışmamızda özellikle D vitamini metabolizmasında yer alan ve D vitamini inaktif formlara çeviren enzimlerin aktivitelerini etkileyebilecek olası genetik polimorfizimlerin, bölgemizde görece sık karşılaşılan bu durum açısından risk oluşturup oluşturmadığını araştırdık. CYP3A4 (24-25-Hidroksilaz) enziminin rs2242480 ve CYP24A1 (24- α Hidroksilaz) enziminin rs2209314, rs2762939 polimorfizimlerinin, çalıştığımız popülasyonda D vitamini eksiklik/yetersizlik yönünden risk oluşturmadığını tespit ettik.

Vücutta D vitamini durumunu esas gösteren sirkülasyondaki metaboliti 25(OH)D'dir. Vitamin D metabolizması sıkı bir şekilde kontrol edilir. Özellikle 25(OH)D oluşturan CYP2R1(25-hidroksilaz); 1,25(OH)₂D oluşturan CYP27B1 (1 α -hidroksilaz); 25(OH)D ve 1,25(OH)₂D vitaminlerini inaktive eden CYP24A1(24-hidroksilaz) ve CYP3A4 (25-24 Hidroksilaz) ve enzimlerinin polimorfizimlerinin serumdaki D vitamini düzeyleri üzerinde etki gösterdiği değişik çalışmalarda bildirilmiştir (Wang TJ 2010, McGrath JJ, Saha S, Burne TH, Eyles DW 2010). Bu nedenle D vitamini düzeylerini kontrol eden genetik faktörlerin anlaşılması önemlidir.

Barry EL. ve ark. CYP2R1, CYP24A1 ve vitamin D reseptor genlerindeki sık genetik farklılıklarının D vitamini suplemantasyonu sonrası, serum 25(OH)D düzeylerinin artışı ile ilişkisini göstermişlerdir (Barry EL et al 2014). Biz ise çalışmamızda, başka tanı konulmuş hastalığı/patolojisi olmayan sadece D vitamini eksikliği/yetmezliği tanımlanmış kişilerde normal kişilerle karşılaştırıldığında, D vitamin metabolizmasında yer alan enzimlerin bu defekte yol açacak bir mutasyonu olup olmadığını test ettik. Shao B ve ark. Çin'in doğusunda yer alan Zhoushan kentinde yaşayan (N:30°) 1627 hamile kadında CYP24A1 (24- α Hidroksilaz)

enziminin rs2209314 polimorfizminin, anlamlı bir şekilde serum 25(OH)D ve 1,25(OH)₂D konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu ve vitamin D eksikliği için bir risk olduğunu göstermişlerdir (Shao B et al 2017). Bizim çalışmamızda bu genotip ile D vitamini eksiklik/yetersizlik durumu arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulamadık. Bu araştırmacılar bu gen için bir veya iki minör aleli taşıyan kadınların, iki major allele sahip kadınlara göre daha düşük 25(OH)D serum düzeylerine sahip olduğunu bildirmektedir. Buna göre bu minör genotip ve/veya alelin enzim aktivitesini arttırdığını ileri sürebiliriz. Böylece 25(OH)D ve 1,25(OH)₂D formlarının 24. Pozisyonda hidrosilasyonları artacak ve aktif D vitamini formları azalacaktır. İlginç olarak biz, genotip dağılımlar açısından D vitamini eksikliği ile bu gen arasında risk ilişkisi tanımlamamakla birlikte, minör allelin D vitamini eksiklik ve yetersizlik gruplarında, D vitamini normal seviyede olanlara göre daha yüksek sayıda olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük. Bu durum, halen bu minör allelin CYP24A1 (24- α Hidroksilaz) enzim aktivitesi üzerinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Daha sonraki çalışmalarda D vitamini eksiklik ve yetersizliği olan grupta bu allel ile enzimin aktivite ilişkisini belirlemek gereklidir. Shao B. ve arkadaşlarının yukarıda bahsedilen çalışması ile bizim çalışmamızdaki önemli bir fark da popülasyon sayılarının çok büyük olması. Maalesef bizim birey sayımız görece küçük bir gruptan oluşmaktaydı. Ancak onlar tamamen hamile kadınlardan oluşan bir grup ile çalışmışken bizim çalışmamızda erkek ve kadınlar birlikte yer almıştır. Bu farklılıklar iki çalışmanın bulguları arasındaki farkın nedeni olabilir.

CYP3A4, bir vitamin D-24- ve 25-hidroksilazdır (Gupta RP, He YA, Patrick KS, Halpert JR and Bell NH 2005). 25-hidroksilaz aktivitesi daha ön plandadır. Gupta ve arkadaşlarının çalışmasında, CYP3A4'ün düşük substrat konsantrasyonlarında 24-hidroksilasyon aktivitesi daha az iken substrat konsantrasyonu arttıkça 24-hidroksilasyon aktivitesi doza-bağımlı şekilde artmıştır. 25-hidroksilasyon aktivitesi ise, substrat konsantrasyonu arttıkça artmakla birlikte belirli bir substrat konsantrasyonundan sonra azalmaya başlamıştır. Shao B. ve ark. Çin'in doğusunda yer alan Zhoushan kentinde yaşayan (N:30°) 1627 hamile kadında CYP3A4'ün rs2242480 varyantlarının serum 25(OH)D düzeyleri üzerinde koruyucu bir etkisinin olduğunu göstermişlerdir (Shao B et al 2017). Shao B ve ark. çalışmasına göre, bu

varyantın 25-hidroksilaz aktivitesini arttırdığını ileri sürmek mümkündür. Böylece vitaminin aktif formu artacaktır. Ancak literatürde bu varyantın düşük serum düzeyleri ile ilişkili olduğunu gösteren yayınlar da vardır (Robien K et al 2013). Bizim çalışmamızda CYP3A4'ün rs2242480 varyantlarının serum 25(OH)D düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisini tespit edemedik. Bu birbiriyle çelişen sonuçlar, bu enzimin D-24- ve 25-hidroksilaz dual etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Ancak bizim çalışmamız enzim aktivitelerindeki bu farkı ortaya çıkarmak üzere planlanmış bir çalışma değildi.

6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızın bulgularına göre, CYP3A4 (24-25-Hidroksilaz) enziminin rs2242480 ve CYP24A1 (24- α Hidroksilaz) enziminin rs2209314, rs2762939 varyantlarının, çalıştığımız popülasyonda D vitamini eksiklik/yetersizlik durumu açısından bir risk olmadığını göstermiştir. Ancak CYP24A1 (24- α Hidroksilaz) enziminin rs2209314 varyantında T allelin D vitamini eksikliği ile bir ilişki gösterdiği saptanmıştır. Çalışma grubumuzun görece düşük N sayısı (n:245) önemli bir sınırlayıcıdır. Ayrıca, çalışmamızda genetik olarak varyantlarını çalıştığımız enzimlerin aktivitelerinin birlikte değerlendirilmesine de ihtiyaç vardır. Ancak bizim çalışmamız aktivitelerin çalışılması yönünde planlanmamıştır. Gelecekte daha büyük bir popülasyonda ve enzimlerin D vitamini normal, eksik ve yetersiz olan gruplarda enzim aktiviteleri ile birlikte daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Açıköz A, Günay T, Uçku R. (2013). Vitamin D Requirements and upplementation during Pregnancy. *TAF Prev Med Bull*, 2013; 12(5): 597-608
- Agnello L, Scazzone C, Lo Sasso B, Bellia C, Bivona G, Realmuto S, Brighina F, Schillaci R, Ragonese P, Salemi G, Ciaccio M. (2017). VDBP, CYP27B1, and 25-Hydroxyvitamin D Gene Polymorphism Analyses in a Group of Sicilian Multiple Sclerosis Patients. *Biochem Genet*, 55(2):183–192.
- Akkoyun HT, Bayramoğlu M, Ekin S, Çelebi F. (2014). D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, 9(3):213-219.
- Al Anoutil F, Ell Hajj Chehadeh S, Osman E, El Ghazali G, Al Safar H. (2017). Investigating the Association of Vitamin D Metabolism Genes CYP2R1, CYP24A1 and CYP27B1 with Vitamin D Status in Young Adult Emiratis. *J Food Nutr Res*, 5(1)15-21.
- Alharbi FM. (2015). Update in vitamin D and multiple sclerosiS. *Neuro Neurosciences (Riyadh)*, 20(4):329–335.
- Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, Lappé DL and Muhlestein JB. (2010). Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol*, 106(7):963-8.
- Ardeniz Ö. (2008). Vitamin D ve İmmün Sistem Vitamin D and the Immune System: Medical Education. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 28(2):198-205.
- Barry EL, Rees JR, Peacock JL, Mott LA, Amos CI, Bostick RM, Figueiredo JC, Ahnen DJ, Bresalier RS, Burke CA and Baron JA. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D3 supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(10): E2133-7.

- Bemiss CJ, Mahon BD, Henry A, Weaver V and Cantorna MT. (2002). Interleukin-2 is one of the targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system. *Arch Biochem Biophys*, 15;402(2):249-54.
- Bird IM. (1989). High performance liquid chromatography: principles and clinical applications. *BMJ*, 23; 299(6702): 783–787.
- Blicher TM, Jørgensen HL, Schwarz P and Wulf HC. (2013). Low levels of vitamin D are associated with increased mortality in patients attending a university hospital in Denmark. *Scand J Clin Lab Invest*, 73(1): 24-8.
- Bolluk S ve Akbulut G. (2013). D Vitamini ve Diabetes Mellitus. *Turkiye Klinikleri J Endocrin*, 8(2):65-72.
- Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C and Demay M. (2008). Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. *Endocrine Rev*, 29(6): 726–776.
- Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ and Mady LJ. (2010). Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 39(2): 243-53.
- Çiğdem H. (2016). Kritik Hasta Çocuklarda D Vitamini Eksikliğinin Sıklığı Ve Prognozla İlişkisi. T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, (Danışman: Doç. Dr. Nazik YENER)
- Çiğdem H. (2016). Kritik hasta çocuklarda d vitamini eksikliğinin sıklığı ve prognozla ilişkisi. T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, (Danışman Doç. Dr. Nazik YENER) SAMSUN, 2016.
- Çimen MBY, Bölgen Çimen Ö. (2016). Obezite ve D vitamini. *Mersin Univ Sağlık Bilim Derg*, 9(2).

- Davenport ML and Uckun A, Calikoğlu AS. (2004). Pediatrician patterns of prescribing vitamin supplementation for infants: Do they contribute to rickets? *Pediatrics*, 113: 179-80.
- Dawodu A, Absood G, Patel M, Agarwal M, Ezimokhai M, Abdulrazzaq Y and Khalayli G. (1998). Biosocial factors affecting vitamin D status of women of childbearing age in the United Arab Emirates. *J Biosoc Sci*, 30(4): 431-7.
- Deeb KK, Trump DL and Johnson CS. (2007). Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature Reviews Cancer*, 7: 684–700.
- Deđiřli CM. (2010). Kemik metastazı olan meme kanserli hastalarda verilen D vitamini tedavisinin dolařımdaki hsp-90 ve ck-18 dūzeyleri ūzerine etkisi. Selçuk Ūniversitesi, Sađlık bilimleri enstitūsū, Doktora tezi, Konya, (Danıřman: Yrd. Doç. Dr. Aysel Kıyıcı)
- Deluca HF. (1977). Vitamin D as a prohormone. *Biochem Pharmacol*, 26(7):563-566.
- Deluca HF. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Clin Nutr December*, 80(6): 1689S-1696S.
- Engelson O, Brustad M, Aknes L and Lund E. (2005). Daily duration of Vitamin D synthesis in human skin with relation to latitude, total ozone, altitude, ground cover, aerosols and cloud thickness. *Photochem Photobiol*, 81(6): 1287-1290.
- Erçin S. (2008). 1-24 Ay Arası Sağlıklı Sūt Çocuklarında Serum 25-(OH) D Dūzeyi. T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırkōy Kadın Dođum ve Çocuk Hastalıkları Eđitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniđi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Klinik Őefi: Dr. S. Erdal Adal).
- Erdem BK. (2015). Renal Transplantasyon ve 1, 25-(OH)₂-Vitamin D₃. T.C. Akdeniz Ūniversitesi Sađlık Bilimleri Enstitūsū, Yūksek Lisans Tezi, Antalya, (Danıřman: Prof. Dr. S. Halide AKBAŐ).

- Ersöz B, Onat T, Emerk K ve Sözman EY. (2002). Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. İnsan Biyokimyası. Ankara; p.467-472.
- Fidan F, Alkan MB, Tosun A. (2014). Çağın Pandemisi: D Vitamini Eksikliği ve Yetersizliği. *Turk J Osteoporos*, 20(2):71-74.
- Garcia-Carrasco M, Jiménez-Herrera EA, Gálvez-Romero JL, de Lara LV, Mendoza-Pinto C, Etchegaray-Morales I, Munguía-Realpozo P, Ruíz-Argüelles A, Jose R, Vera-Recabarren M and Cervera R. (2017). Vitamin D and Sjögren syndro2012). me. *Autoimmun Rev*, 16(6):587-593. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2012 Dec; 3(6): 181–187.
- Gardner DG and Shoback D. (2007). Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology. *Eighth Edition*, 288-95.
- Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F and Brandi ML. (2002). Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 81(1): 1-24
- Gil A, Plaza-Diaz J and Mesa MD. (2018). Vitamin D: Classic and Novel Actions *Ann Nutr Metab*, 72: 87–95.
- Goodman SR. (1996). Hücre Sinyal İleti Olayları. Tıbbi Hücre Biyolojisi 3 ed. çeviren: Rosti RÖ, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. İstanbul.
- Goodwin B, Hodgson E, D'Costa DJ, Robertson GR and Liddle C. (2002). Transcriptional regulation of the human CYP3A4 gene by the constitutive androstane receptor. *Mol Pharmacol*, 62(2):359-65.
- Granich GG, Krogstad DJ, Connor JD, Desrochers KL and Sherwood C. (1989). High-performance liquid chromatography (HPLC) assay for ribavirin and comparison of the HPLC assay with radioimmunoassay. *Antimicrob Agents Chemother*, 33(3):311-5.

- Green JJ, Robinson DA, Wilson GE, Simpson RU and Westfall MV. (2006). Calcitriol modulation of cardiac contractile performance via protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol*, 41(2):350-9.
- Grotz WH, Mundinger FA, Gugel B, Exner VM, Kirste G and Schollmeyer PJ. (1995). Bone mineral density after kidney transplantation. A cross-sectional study in 190 graft recipients up to 20 years after transplantation. *Transplantation*, 59: 982-6.
- Gupta RP, He YA, Patrick KS, Halpert JR and Bell NH. (2005). CYP3A4 is a vitamin D-24- and 25-hydroxylase: analysis of structure function by site-directed mutagenesis. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(2): 1210-9.
- Güleken N. (2012).Kanser Hastalarında D Vitamini, Kalsiyum Ve Fosfor Düzeyleri İle D Vitamini Reseptörü Polimorfizminin Araştırılması. Gaziantep üniversitesisağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hülya Kanbur Çiçek)
- Hall SC and Agrawal DK. (2017). Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. *Clin Ther*, 39(5): 917-929.
- Hansdottir S, Monick MM, Hinde SL, Lovan N, Look DC and Hunninghake GW. (2008). Respiratory Epithelial Cells Convert Inactive Vitamin D to Its Active Form: Potential Effects on Host Defense1. *J Immunol Res*, 181: 7090–7099.
- Hatun Ş, Bereket A, Çalikoğlu AS ve Özkan B. (2003). Günümüzde D Vitamini yetersizliği ve nütrisyonel rikets. *Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi*, 46: 224-241.
- Heaney RP. (2007). What is vitamin D insufficiency and does it matter? *Calcif Tissue Int*, 92(2): 177-83.
- Hochberg Z. (2003). Vitamin D and Rickets. *Endocr Dev. Basel, Karger*, 6:1-13.
- Holick MF. (2003). Vitamin D: A Millenium Perspective. *J Cell Biochem*, 88: 296–307.

- Holick MF and Chen TC. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*, 87: 1080-1086S.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH and Weaver CM. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(7): 1911-30.
- Holick MF, Matsuka LY and Worstman J. (1989). Age, vitamin D solar ultraviolet. *Lancet*, 2:1104-5.
- Holick MF. (2004). “Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease”. *Am J Clin Nutr* 80(suppl): 1678S– 88S.
- Holick MF. (2005). The Vitamin D epidemic and its health consequences, *J Nutr*. 135: 2739-2748.
- Holick MF. (2006). High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo ClinProc*, 81(3): 353-73.
- Holick MF. (2006). Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest*, 1; 116(8): 2062–2072.
- Holick MF. (2007). Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357(3): 266-81.
- Holick MF. (2009). Vitamin D Status : Measurement, interpretation, and application. *Ann Epidemiol*, 19(2): 73–78.
- Jose M, Valdivielso A and Elvira Fernandez B. (2006). Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim. Acta*. 371: 1-12.
- Junaid K, Rehman A, Jolliffe DA, Wood K and Martineau AR. (2015). High prevalence of vitamin D deficiency among women of child-bearing age in

- Lahore Pakistan, associating with lack of sun exposure and illiteracy. *BMC Womens Health*, 12; 15:83.
- Kahya S, Buyukcangaz E ve Carlı KT. (2013). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*, 32 (2013), 1: 31-38
- Kara-Elitok G, Bülbül L, Evcı M, Zübarioğlu U, Toraman T, Besnili-Acar D, Kıray-Baş E ve Uslu S. (2017). Sağlık Çalışanlarının Annelere D Vitamini Desteği ile İlgili Bilgi ve Tutumlarının Değerlendirilmesi. *Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni*, 51(1).
- Karagöl A. ve Atak N. (2016). D vitamini ve Tip 2 diyabet. *Turk J Public Health* 2016;14(3).
- Khan MA and Partin AW. (2004). Vitamin D for the Management of Prostate Cancer. *Rev Urol*, 6(2): 95–97.
- Kocatürk Sel S and KASAP H. (2011). Osteoporoz ve İlişkili Genler: VDR, ESR ve COL1A1. *ARŞİV*; 20: 246-246.
- Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Lyraki A, Raftakis I and Antoniadis C. (2012). Vitamin D and rheumatoid arthritis. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 3(6): 181–187
- Kulie T, Groff A, Redmer J, Hounshell J and Schrage S. (2009). Vitamin D: An Evidence-Based Review. *J Am Board Fam Med*, 22(6): 698-706.
- Lee JS, Cheong HS, Kim LH, Kim JO, Seo DW, Kim YH, Chung MW, Han SY, Shin HD. (2013). Korean Screening of Genetic Polymorphisms of CYP3A4 and CYP3A5 Genes. *J Physiol Pharmacol*, 17(6): 479-84.
- Lorenz TC. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *J Vis Exp*, (63): 3998.

- M Ham, Longhi MS, Lahiff C, Cheifetz A, Robson S and Moss AC. (2014). Vitamin D Levels in Adults with Crohn's Disease Are Responsive to Disease Activity and Treatment. *Inflamm Bowel Dis*, 20(5): 856–860.
- Mackawy AMH, Al-ayed BM and Al-rashidi BM. (2013). Vitamin D Deficiency and Its Association with Thyroid Disease. *Int J Health Sci (Qassim)*, 7(3): 267–275.
- Mason RS, Reichrath J. (2013). Sunlight vitamin D and skin cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, 13(1): 83-97.
- McGrath JJ, Burne TH, Féron F, Mackay-Sim A and Eyles DW. (2010). Developmental vitamin D deficiency and risk of schizophrenia: a 10-year update. *Schizophr Bull*, 36(6): 1073-8.
- Medlej-Hashim M, Jounblat R, Hamade A, Ibrahim JN, Rizk F, Azzi G, Abdallah M, Nakib L, Lahoud M and Nabout R. (2015). *Annals of Human Genetics*, 79:394–401.
- Mosekilde L. (2009). Vitamin D and the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 62(3) : 265–81.
- Muszkat P, Camargo MB, Griz LH and Lazaretti-Castro. (2010). Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 54: 110-117.
- Nair R, Maseeh A. (2012). Vitamin D: The "sunshine" vitamin. *J Pharmacol Pharmacother*, 3(2): 118-26.
- Nibbelink KA, Tishkoff DX, Hershey SD, Rahman A and Simpson RU. (2007). 1,25(OH)₂-vitamin D₃ actions on cell proliferation, size, gene expression, and receptor localization, in the HL-1 cardiac myocyte. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 103(3-5): 533-7.
- Norman AW, Frankel JB, Heldt AM and Grodsky GM. (1980). Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science*, 15;209(4458): 823-5.

- Özkan B ve Döneray H. (2011). D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54: 99-119.
- Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ and Manolagas SC. (1983). 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science*, 16;221(4616): 1181-3.
- Robien K, Oppeneer SJ, Kelly JA and Hamilton-Reeves JM. (2013). Drug-vitamin D interactions: a systematic review of the literature. *Nutr Clin Pract*, 28(2):194-208.
- Roger B. (2003). D vitamini: From photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. *Endocrinology 5rd edition; Philadelphia Elsevier Saunders*, 1435-64.
- Rucker RB. (2001). *Handbook of vitamins*. 3rd ed, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Serin A, Canan H, Ulubay A. (2016). İdentifikasyona Dayalı Adli Uygulamalarda Tek Nükleotid Polimorfizmler. *Türkiye Klinikleri J Foren Med*, 13(2): 47-54.
- Serinkan Cinemre FB, Cinemre H, Karacaer C, Aydemir B, Nalbant A, Kaya T ve Tamer A. (2016). Midkine in vitamin D deficiency and its association with anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies. *Inflamm Res*, 65(2):143-50.
- Shao B, Jiang S, Muyiduli X, Wang S, Mo M, Li M, Wang Z, Yu Y. (2017). Vitamin D pathway gene polymorphisms influenced vitamin D level among pregnant women. *Clin Nutr*, 7: S0261-5614(17)31397-3.
- Shao B, Yuan H, Zhang R, Wang X, Zhang S, Ouyang Q, Hao N and Luo C. Reconstructing the regulatory circuit of cell fate determination in yeast mating response. *PLoS Comput. Biol*, 13(7): e1005671
- Shin JS, Mee Yun Choi, Mark S. Longtine, D. Michael Nelson. (2010). Vitamin D Effects on Pregnancy and the Placenta. *Placenta*, 31(12): 1027–1034.

- Slattery ML. (2007). Vitamin D Receptor Gene (VDR) Associations with Cancer. *Nutr Rev*, 65(8 Pt 2): S102–S104.
- Sun J. (2017). The Role of Vitamin D and Vitamin D Receptors in Colon Cancer. *Clin Transl Gastroenterol*, 8(6): e103.
- Sun X, Cao ZB, Zhang Y, Ishimi Y, Tabata I and Higuchi M. (2014). Association between serum 25-hydroxyvitamin D and inflammatory cytokines in healthy adults. *Nutrients*, 6(1): 221-30.
- Thanapirom K, Suksawatamnuay S, Sukeepaisarnjaroen W, Tangkijvanich P, Treeprasertsuk S, Thaimai P, Wasitthankasem R, Poovorawan Y and Komolmit P. (2017). Vitamin D-related gene polymorphism predict treatment response to pegylated interferon-based therapy in Thai chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterology*, 17:54
- Uçan B, Delibaşı T. (2015). Vitamin D ve Kardiyovasküler Hastalık. *Abant Med J*, 4(4): 428-435.
- Uçar Ar. (2015). 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)
- Van Schoor NM and Lips P. (2011). Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 25(4): 671-680.
- Wang Y, Li X, Gao Y, Li Z, Yu L, Meng Q, Sun L and Wang J. (2016). Genetic polymorphisms of CYP3A4 among Chinese patients with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. *Medicine (Baltimore)*, 95(44): e5332.
- Welsh J.(2018). Vitamin D and breast cancer: Past and present. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 177: 15-20.

- Wesley Pike J and Meyer MB. (2010). The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 39(2): 255–269.
- Yao S, Zirpoli G, Bovbjerg DH, Jandorf L, Hong CC, Zhao H, Sucheston LE, Tang L, Roberts M, Ciupak G, Davis W, Hwang H, Johnson CS, Trump DL, McCann SE, Ademuyiwa F, Pawlish KS, Bandera EV and Ambrosone CB. (2012). Variants in the vitamin D pathway, serum levels of vitamin D, and estrogen receptor negative breast cancer among African-American women: a case-control study. *Breast Cancer Res*, 4;14(2): R58.
- Yin K and Agrawal DK. (2014). Vitamin D and inflammatory diseases. *J Inflamm Res*, 7: 69-87.
- Yurdakök M, Bilginturan N, Özsoylu S, Yordan N ve Coşkun T. D vitamini yetersizliğine bağlı rikets. *Katkı Pediatri Dergisi*, 11(4): 345-86.
- Zempleni J. (2008). Handbook of vitamins. 4th ed. CRC Press. New York.
- Zheng SZ, Zhang DG, Wu H, Jiang LJ, Jin J, Lin XQ, Ding R and Jiang Y. (2017). The association between vitamin D receptor polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D levels with ulcerative colitis in Chinese Han population. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 41(1): 110-117.

EKLER

Ek 1. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulundan Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04/12/2017-E.18582



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 71522473/050.01.04/228
Konu : Girişimsel Olmayan Etik Kurul
Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Doç. Dr. Fatma Behice CİNEMRE
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

İlgi : 06.11.2017 tarihli 207 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "Vitamin D eksikliklerinde Vitamin D metabolizması ile ilişkili proteinlerin gen polimorfizimlerinin değerlendirilmesi" isimli çalışmanın ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen şekilde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER
Etik Kurulu Başkanı

Yücel DEMİR
Etik Kurulu Sekr.

Güvenli Elektronik
İmzalı Aslı İle Aynıdır.

04.12.2017

Evrağı Doğrulamak İçin : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BEND4BRTD>

Fakülte Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Leyla SEVİNÇ
Doğum Tarihi :14.04.1993
Uyruğu : T.C
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresi ve telefonu : leylasevincgen@gmail.com
Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans
Yabancı dili : İngilizce

II-Eğitim

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Y. Lisans	Tıbbi Biyokimya	Sakarya Üniversitesi	21.11.2018
Lisans	Moleküler Biyoloji Ve Genetik	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	21.06.2016
Önlisans	Laborant Ve Veteriner Sağlık	Anadolu Üniversitesi	06.06.2016

III-Akademik Unvanlar

IV-Mesleki Deneyimi

Moleküler Biyolog ve Genetikçi (Kök hücre ve HLA Doku Tiplendirme Laboratuvarı)
Laborant ve Veteriner Sağlık Teknikerliği

V-Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI-Bilimsel ilgi alanları

VII. Bilimsel Etkinlikler

7.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

7.2. Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

7.3. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

7.3. 1. Erdoğan E, Cinemre FB, **Sevinç L**, Cinemre H, Kızıler AR, Tüten A, Kaya B, Aydemir B. “Distribution of selenoprotein W1(rs3786777) genotypes in Turkish preeclamptic women” PP-16,Istanbul University 2nd World Conference on Technology, Innovation and Entrepreneurship, Istanbul Congress Center, Istanbul, 12-14 May 2017.

7.3. 2.Shundo H, Karaca İ, **Sevinç L**, Serinkan Cinemre FB,Aydemir B, Akdemir N, Kaçal Z, Cinemre H. “Ischemia-Modified Albumin in Primary Dysmenorrhea” PP34, International Meeting on Education and Research in Health Sciences (IMER-HS) Sultanahmet–Istanbul November 3-5, 2017.

7.4. Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler

7.5. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

7.5.1. Shundo H, Karaca İ, **Sevinc L**, Serinkan-Cinemre FB, Aydemir B, Akdemir N, Kacal Z, Cinemre H. “Role of Ischemia and Oxidative Stress in Primary Dysmenorrhea Pathogenesis”Sakarya Med J 7(4): 204-209 (2017).

7.5.2. Investigation of the electromagnetic field exposure of students in the School of Health Services Vocational and Health Sciences Selim Öğüt, **Leyla Sevinç**, Fatma Behice Cinemre, Hakan Cinemre, Nurten Bahtiyar, Buket Küçük Ataman, Muhammet Bektaş, Ali Rıza Kızıler, Birsen Aydemir. Sakarya Medical Journal (Accepted)

7.5.3. Fatma Behice Serinkan-Cinemre, **Leyla Sevinc**, Birsen Aydemir, Hakan CinemreEvaluation of DNA damage with Comet Assay during neutrophil activation with Ox-LDL. J. Human Rhythm (Accepted)

7.6. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

7.6.1. Yücel A, Aydemir B, Cinemre FB, Cinemre H, Yüksel MA, Tüten A, Yılmaz N, **Sevinç L.** Gestational diabetes mellitus and selenoprotein P1 polymorphism association. Yeditepe University Biotechnology Community Student Congress, 5th Genetic and Bioengineering Days, Yeditepe University, Istanbul, 11-12 February 2017.

7.6. 2. Karaca İ, Shundo H, **Sevinç L**, Cinemre FB, Aydemir B, Akdemir N, Kaçal Z, Cinemre H. "Indication of Oxidative Stress with Malondialdehyde in Primary Dysmenorrhea Serum" Journal of Human Rhythm Suppl 2017 III. National Medical Congress of the future medicine, Sakarya University Esentepe Campus, Congress Center, Sakarya, 6-8 May 2017.

7.6. 3. Shundo H , Karaca İ , **Sevinç L** , Cinemre FB, Aydemir B, Akdemir N, Kaçal Z, Cinemre H. "Demonstration of Isokemia-Hypoxia in Ischemic Modified Albumin and Serum in Primary Dysmenorrhea" Oral presentation S61, Journal of Human Rhythm Suppl 2017, III. National Medical Congress of the future medicine, Sakarya University Esentepe Campus, Congress Center, Sakarya, 6-8 May 2017.

7.6. 4. Erdoğan E, Aydemir B, Cinemre FB, Cinemre H, Tüten A, Yılmaz N, **Leyla S.** "Effect of selenoprotein W1 (rs3786777) polymorphism on the risk of preeclampsia "P 39, Journal of Human Rhythm Suppl 2017, III. National Medical Congress of the future medicine, Sakarya University Esentepe Campus, Congress Center, Sakarya, 6-8 May 2017.

VIII. Diğer Bilgiler

Sertifikalar

Epilepsi ve Deneysel Modelleri: "Teorik ve Uygulamalı Bilimsel Eğitim Etkinliği Programı" kursu sertifikası (Marmara Üniversitesi-EPAM)

HPLC (Sağlık Bakanlığı Onaylı 2017) cihaz uygulaması

HPLC (Ant-Teknik Firma Onaylı 2017) cihaz uygulaması

UV-Spektrofotometre (Ant-Teknik Firma Onaylı 2017) cihaz uygulaması

Yeditepe Üniversitesi 5.Genetik ve Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası (2017)

ELİSA cihazı kullanımı

Flow Sitometri kullanımı

GTÜ Genetik Günleri Katılım Sertifikası (2016)

Tübitak Destekli GÜGİM Projesi Girişimcilik Belgesi (2015)

Uluslararası Adli Biyoloji Ve Genetik Kongresi Katılım Sertifikası (27-28 Kasım 2014)

Biyomühendislik günleri kongresi Katılım Sertifikası (2012)

Liderlik sertifikası

Atölye çalışmaları sertifikası

İngilizce sertifikası

Bilgisayar Sertifikası

İletişim Becerileri sertifikası

Drama sertifikası

Hat sanatı sertifikası

Sosyoloji Sertifikası (Gençlik ve Spor Bakanlığı)

Santraç Belgesi (Gençlik ve Spor Bakanlığı)

Milli Folklorcü Sertifikası (Yurtdışı Birincilik)