

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ İLİ VE ÇEVRESİNDE
SAĞLIKLI BİREYLERDE 25(OH) VİTAMİN D,
PARATHORMON VE MAGNEZYUM'UN REFERANS
ARALIKLARININ SAPTANMASI**

Şule KOÇ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Biyokimya Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2021

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ İLİ VE ÇEVRESİNDE
SAĞLIKLI BİREYLERDE 25(OH) VİTAMİN D,
PARATHORMON VE MAGNEZYUM'UN REFERANS
ARALIKLARININ SAPTANMASI**

Şule KOÇ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Biyokimya Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman
Prof. Dr. Hale MARAL KIR

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Proje No:2019/191

KOCAELİ
2021

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D, Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması

Tez Yazarı: Şule Koç

Tez Savunma Tarihi: 08.07.2021

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hale Maral Kır

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI tezi olarak kabul edilmiştir.

Onay

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... /.... /20...

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D, Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması

Amaç: Çalışmamızda toplumda sıklıkla eksikliği-yetersizliği görülen D vitamininin Kocaeli ili ve çevresi için referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık. Bununla birlikte D vitamini ile metabolik ilişkisi bulunan PTH ve Mg'nin de ölçümleri yapılarak referans aralıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışmamıza 18-60 yaşları arasında kendini sağlıklı beyan eden ve dışlama kriterlerimize göre uygun olan 120 (63 kadın, 57 erkek) birey dahil edilmiştir. Sağlıklı bireylerin seçimi Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne gelen hasta yakınlarından ve KOÜ hastane personellerinden yapılmıştır. Serumda Ca, Mg ve P testleri Roche Cobas-8000 cihazında c702 modülünde ve PTH testi e801 modülünde orijinal kitleriyle çalışılmıştır. Vitamin D düzeyleri IDS Analyzer IDS-ISYS (Roma-İtalya) cihazında, IDS-ISYS 25 VitD^S kiti ile çalışılmıştır. Normal dağılım gösteren Mg testi için cinsiyetler arasında farklılık olup olmadığına bağımsız örneklem t-testi ile bakıldı, normal dağılım göstermeyen 25(OH)D, Ca, P ve PTH testleri için cinsiyetler arasında farklılık olup olmadığı ve 25(OH)D'nin gruplar arasında farklılık olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren Mg'un referans aralıkları parametrik yöntemle, normal dağılım göstermeyen PTH ve 25(OH)D testlerinin referans aralıkları nonparametrik yöntemle belirlenmiştir.

Bulgular: D vitamini, Mg ve PTH'un yeni referans aralıkları hesaplandı. Mg'un hesaplanan yeni referans aralıklarına (1,53-2,51 mg/dL) baktığımızda alt ve üst sınırların üretici firmanın referans aralıklarına (1,6-2,6 mg/dL) yakın olduğu görüldü. PTH'nun hesaplanan referans aralıklarının (6,08-66,80 pg/mL) üretici firmanın referans aralıklarından (15-65 pg/mL) farklı olduğu görüldü; alt sınır daha düşük ve üst sınır daha yüksek bulundu. 25(OH)D'nin kış ve yaz mevsimi için hesaplanan referans aralık değerleri alt sınırı eksiklik düzeyinde ve üst sınırı ise yeterli düzeyde bulunmuştur (25(OH)D-kış 4-34,50 ng/mL ve 25(OH)D-yaz 6,60-41,90 ng/mL). Normal dağılım gösteren Mg testinde cinsiyetler arası fark olmadığı görüldü (p=0,589). Normal dağılım göstermeyen 25(OH)D-kış, 25(OH)D-yaz,

Ca ve PTH testlerinde cinsiyetler arasında fark görülmezken (sırasıyla $p=0,827$, $p=0,477$, $p=0,966$ ve $p=0,713$), P testinde cinsiyetler arasında fark görüldü ($p=0,000$). 25(OH)D testinde yaz-kış mevsimleri açısından fark olduğu görüldü ($p=0,000$).

Sonuç: Çalışmamızda 25(OH)D, Mg ve PTH'ın referans aralıklarının, kitlerle birlikte verilen referans aralıklardan farklı olduğunu belirledik. Bu nedenle ISO 15189 Standardı'na göre her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerekliliğini Kocaeli İli ve çevresi için de tespit etmiş olduk. Bulduğumuz değerlerin kitlerle verilen referans aralıkların yerine kullanılmasının daha sağlıklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Referans Aralık, 25(OH) Vitamin D, Parathormon, Magnezyum



ABSTRACT

Determination of 25 (OH) Vitamin D, Parathormone and Magnesium Reference Intervals in Healthy Individuals in The Kocaeli Region

Objective: In our study, we aimed to determine the reference intervals of vitamin D, which is frequently seen in the society, for Kocaeli Region. In addition, it was aimed to determine the reference intervals by measuring PTH and Mg, which have a metabolic relationship with vitamin D.

Method: 120 (63 female, 57 male) individuals between the ages of 18-60 who declared themselves healthy for each of the summer and winter seasons were included in our study with the direct method. The selection of healthy individuals was made from the relatives of the patients who came to Kocaeli University Research and Application Hospital and KOU hospital staff. Ca, Mg and P tests in serum were studied on Roche Cobas-8000 device with c702 module and PTH test on e801 module with original kits. Vitamin D levels were studied on the IDS Analyzer IDS-ISYS (Rome-Italy) device, with the IDS-iSYS 25 VitD^S kit. Independent sample t-test was used to determine whether there was a difference between the genders for the normally distributed Mg test. For the non-normally distributed 25(OH)D, Ca, P and PTH tests, whether there was a difference between genders and 25(OH)D between the groups. Differences were evaluated with the Mann-Whitney U test. The reference intervals of normally distributed Mg were determined by the parametric method, and the reference intervals of the non-normally distributed PTH and 25(OH)D tests were determined by the nonparametric method.

Results: New reference intervals for vitamin D, Mg and PTH were calculated. When we look at the new calculated reference intervals of Mg (1.53-2.51 mg/dL), it was seen that the lower and upper limits were close to the reference intervals of the manufacturer (1.6-2.6 mg/dL). It was observed that the calculated reference intervals (6.08-66.80 pg/mL) of PTH were different from the reference intervals of the manufacturer (15-65 pg/mL); lower limit was found lower and upper limit was found higher. The lower limit of the reference interval values calculated for 25(OH)D winter and summer seasons was found to be at deficiency level and the upper limit was found to be sufficient (25(OH)D-winter 4-34.50 ng/mL and 25(OH)D-summer 6.60-41.90 ng/mL). There was no difference between the genders in the

normally distributed Mg test ($p=0.589$). While there was no difference between the genders in the non-normally distributed 25(OH)D-winter, 25(OH)D-summer, Ca and PTH tests ($p=0.827$, $p=0.477$, $p=0.966$ and $p=0.713$, respectively), there was a difference between the genders in the P test ($p=0.000$). In the 25(OH)D test, there was a difference in terms of summer-winter seasons ($p=0.000$).

Conclusions: In our study, we determined that the reference intervals of 25(OH)D, Mg and PTH were different from the reference intervals supplied with the kits. For this reason, we have determined that each laboratory should determine its own reference intervals according to the ISO 15189 Standard for the Kocaeli Region. We think that it would be healthier to use the values we found instead of the reference intervals given with the kits.

Keywords: Reference Interval, 25 (OH)Vitamin D, Parathormone, Magnesium

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tez süreci boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her aşamada destek olan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve ayrıca tez danışmanlığımı yürüten değerli Prof. Dr. Hale MARAL KIR hocama sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitim sürecinde tanıdığım Prof. Dr. Meltem DİLLİOĞLUGİL, Doç. Dr. Fatma Ceyla ERALDEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Berrin ÖZTAŞ hocalarıma; yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı asistanları Arş. Gör. Dr. Özgür Doğa ÖZSOY, Arş. Gör. Esra ACAR ve Arş. Gör. Dr. Fatih HUNÇ'a; öğrencilik döneminin güzelliklerini ve tez döneminin zorluklarını birlikte paylaştığım arkadaşım Ezginur KOCAKIR'a; öğrencilik dönemini birlikte tamamladığım İlhami ŞAHİN'e; Biyokimya Anabilim Dalı doktora öğrencisi ve aynı zamanda iş arkadaşım Pınar BAKİ ÜNVER'e; doktora ve yüksek lisans eğitimi yapan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez projemde kan örneklerinin toplanmasına destek veren iş arkadaşlarım Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Birimi (KABİ) hemşireleri Nurşen ALKAYA ve Deniz KALAYCI'ya; gönüllü katılımcı olarak destekte bulunan tüm KABİ çalışanlarına, KOÜ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi hocalarıma, Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı personellerine ve diğer tüm personellere teşekkür ederim.

Tez çalışmamdaki istatistiksel analiz konusunda bana destek olan Prof. Dr. Canan BAYDEMİR hocama teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca bana her daim özveriyle yaklaşan ve destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

23.04.2021

ŞULE KOÇ

ORJİNALLİK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bilim Uzmanlığı tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D, Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

..... / / 20...

ŞULE KOÇ

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	ix
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. D Vitamini Tanımı ve Yapısı	1
1.2. D Vitamini Kaynakları	2
1.3. D Vitamininin Metabolizması	3
1.4. D Vitamini Etkileri	5
1.5. D Vitamini Düzeyleri ile İlgili Tanımlamalar	7
1.6. D Vitamini Eksikliğine Yol Açan Nedenler	7
1.7. D Vitamini Eksikliğinin Klinik Belirtileri	8
1.8. D Vitamini Eksikliğinin İskelet Sistemi Dışı Etkileri	9
1.9. Fosfor	12
1.10. Fosfor Metabolizması	13

1.11. Fosfor metabolizmasındaki düzenleyiciler	15
1.12. Fosforun Gastrointestinal Emilimi	16
1.13. Magnezyum	16
1.14. Magnezyum Homeostazı	17
1.15. Bağırsak Magnezyum Emilimi	17
1.16. Magnezyumun Böbrek Düzenlenmesi	18
1.17. Kalsiyum	18
1.18. Kalsiyumun Gastrointestinal Absorpsiyonu	19
1.19. Kalsiyum'un Düzenlenmesi	20
1.20. Renal Kalsiyum'u Düzenleyen Hormonal ve Diğer Faktörler	21
1.21. Kalsiyum Dengesindeki Değişikliklerin Klinik Sonuçları	22
1.22. İkincil Hiperparatiroidizm	23
1.23. Referans Aralık Tanımlamaları	24
1.24. Referans Bireylerin Seçim Yöntemleri	25
1.25. Referans Sınırların Saptanması	27
1.26. Parametrik Yöntemler	29
1.27. Non-Parametrik Yöntemler	30
2. AMAÇ	32
3. YÖNTEM	33
3.1. Çalışma Planı	33
3.2. Kullanılan Cihaz, Kitler ve Ölçüm Prensipleri	34

3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler	35
4. BULGULAR	37
4.1. Referans Aralık Değerleri	45
5. TARTIŞMA	48
5.1.Sınırlılıklar	54
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR	56
8. ÖZGEÇMİŞ	67
EKLER	68
EK-1. Etik Kurul Onay Formu	68
EK-2. Aydınlatılmış Onam Formu	70
EK-3. Dışlama Kriterleri	73
EK-4. Katılımcı Değerlendirme Anket Formu	74

SİMGELER ve KISALTMALAR

7-DHK: 7-dehidrokolesterol

25(OH)D: 25-hidroksi vitamin D (kalsidiol)

1,25(OH)₂D: 1,25-dihidroksi vitamin D (kalsitriol)

24,25(OH)₂D: 24,25-dihidroksi vitamin D

ALP: Alkale fosfataz

Ca: Kalsiyum

CaSR: Kalsiyum algılama/duyarlı reseptörü

CLSI: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

CYP27B1: 1-alfa-hidroksilaz enzimi

CYP2R1: 25-hidroksilaz enzimi

CYP24A1: 24-hidroksilaz enzimi

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

FGF-23: Fibroblast Büyüme Faktörü-23

GFR: Glomeriler Filtrasyon Hızı

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IFCC: Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu

IOM: Tıp Enstitüsü

ISO: Uluslararası Standardizasyon Örgütü

IU: Uluslararası Ünite

MED: Minimal Eritim Doz

mEq: miliekivalan

Mg: Magnezyum

mg: Miligram

mL: Mililitre

mmol: milimol

MS: Kütle spektrometresi

MS: Multipl Skleroz

Na-Pi: Sodyum-fosfor

NCCLS: Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi

ng: Nanogram

NIH: Ulusal Sağlık Enstitüsü

Npt2b: Tip 2 Na-Pi taşıyıcı

P, HPO_4^{2-} : Fosfor

pg: Pikogram

PTH: Parathormon

RANKL: Nükleer Faktör- κ B Ligandı

SD: Standart sapma

TRPM: Geçici reseptör potansiyeli melastatin

UVB: Ultraviyole B

VDR: D Vitamini Reseptörü

Vitamin D₃: Kolekalsiferol

Vitamin D₂: Ergokalsiferol

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. D vitamini yapısı	1
Şekil 1.2. a.) Ergosterolden ergokalsiferol oluşumu; b.) 7-dehidrokolesterolden kolekalsiferol oluşumu.....	2
Şekil 1.3. Kalsiyum, Fosfor ve Kemik Metabolizmasının Düzenlenmesinde D Vitamini Sentezi ve Metabolizması.....	4
Şekil 1.4. Kalsiyum ve Fosfat Homeostazı ve D Vitamini Metabolizmasının Düzenlenmesi.	5
Şekil 1.5. Diyetle alınan kalsiyum, fosfat ve magnezyumun bağırsaktan emilimi ve kalsiyum, fosfat ve magnezyumun renal atılımı: A.)Kalsiyum, B.)Fosfat ve C.)Magnezyum dengesi.....	14
Şekil 1.6. Kalsiyum, fosfor ve magnezyum emilimi.....	20
Şekil 4.7. 25(OH)D-kış testi için veri dağılımı grafiği.....	38
Şekil 4.8. Ca testi için veri dağılımı grafiği.....	38
Şekil 4.9. Mg testi için veri dağılımı grafiği.....	39
Şekil 4.10. P testi için veri dağılımı grafiği.....	39
Şekil 4.11. PTH testi için veri dağılımı grafiği.....	40
Şekil 4.12. 25(OH)D-yaz testi için veri dağılımı grafiği.....	40

TABLÖLAR

Tablo 1.1. D vitamini eksikliği açısından risk grupları	8
Tablo 1.2. Kalsiyumun Renal Regülasyonunu Değiştiren Faktörler.....	22
Tablo 4.1. Tanımlayıcı istatistik verileri.....	37
Tablo 4.2. Cinsiyete göre tanımlayıcı istatistik verileri.....	41
Tablo 4.3. Normal dağılım analiz verileri.....	42
Tablo 4.4. Cinsiyetlere göre normal dağılım analiz sonuçları.....	42
Tablo 4.5. Mg'un cinsiyete göre analiz verileri.....	43
Tablo 4.6. Cinsiyet açısından normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U Testi sonuçları.....	43
Tablo 4.7. 25(OH)D-kış ve 25(OH)D-yaz verileri analiz sonucu.....	44
Tablo 4.8. Korelasyon analizi sonuçları.....	44
Tablo 4.9. Mg'un direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları	45
Tablo 4.10. Mg'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları.....	45
Tablo 4.11. PTH'un direkt yöntem ile belirlenen ve firma referans aralıkları.....	45
Tablo 4.12. PTH'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları.....	46
Tablo 4.13. 25(OH)D-kış testi için direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları.....	46
Tablo 4.14. 25(OH)D-kış testi için cinsiyete göre direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları.....	46

Tablo 4.15. 25(OH)D-yaz testi için direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları.....47

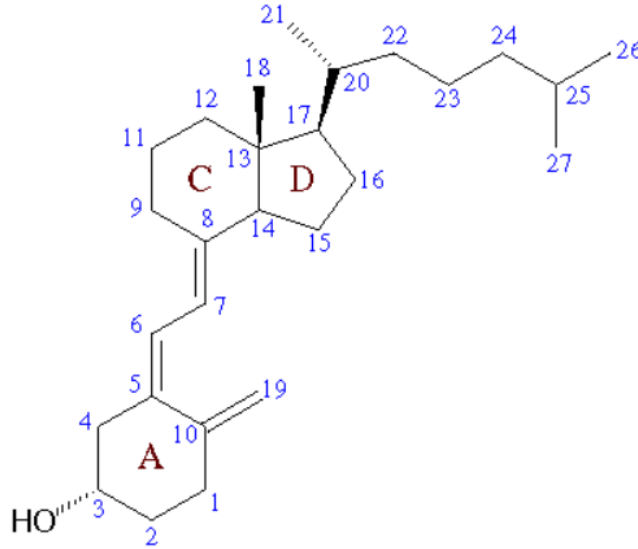
Tablo 4.16. 25(OH)D-yaz testi için cinsiyete göre direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları.....47



1.GİRİŞ

1.1. D Vitamini Tanımı ve Yapısı

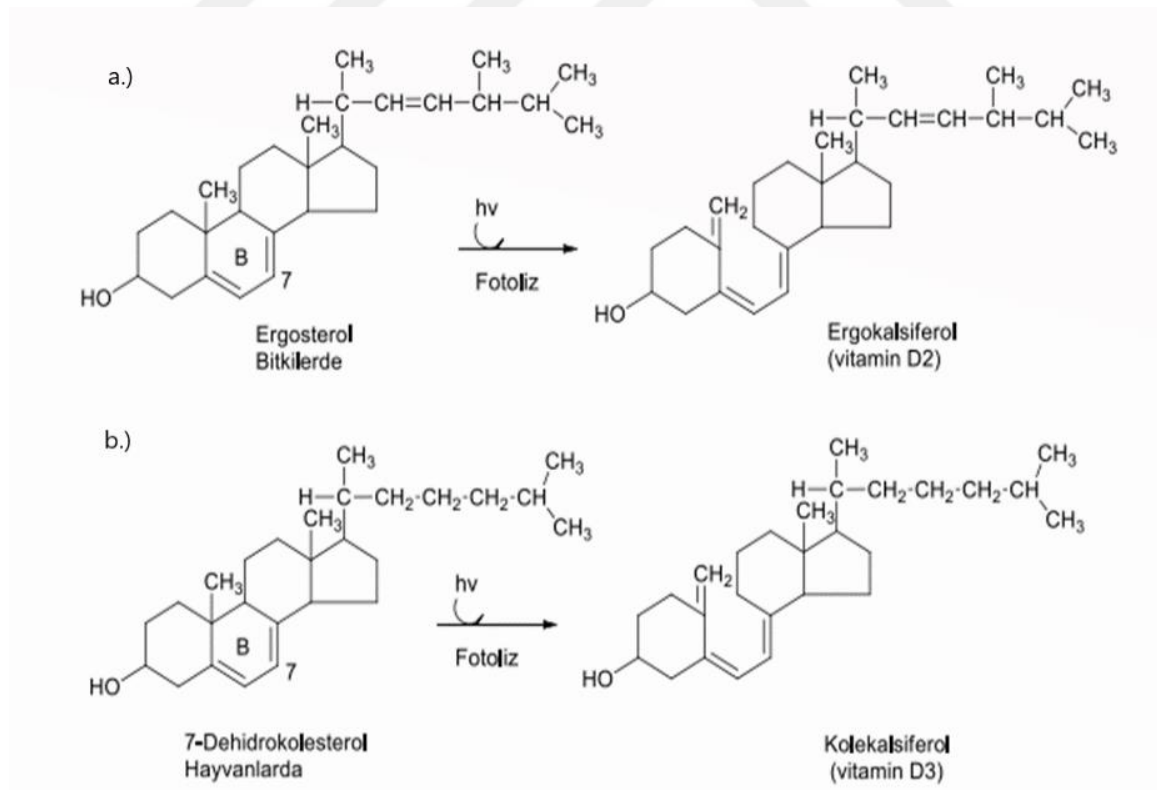
Organizmaya hem bitkisel hem de hayvansal besinler ile provitamin olarak alınan D vitamini, bir sterol türevidir (Gürdöl 2015, s.494). Temelde kalsiyum ve fosfor dengesinden sorumlu olan D vitamini bir prohormon özelliği taşımaktadır (Deluca, 1977). Bir endokrin gland tarafından oluşturulup sekrete edilmediği için klasik bir hormon değildir. Ancak D vitamini *de novo* sentezlenip uzak hedef hücrelerde reseptöre bağlanarak etki göstermesinden dolayı prohormon olarak tanımlanmaktadır. Steroid çekirdek yapısında olan D vitamini iki çift bağ içermektedir. Bunlar 5-6. ve 7-8. karbonlar arasında yer almaktadır, 9-10. karbonlar arasında halka açılmıştır. D vitamini doymuş halka yapısı ve 17. karbonuna bağlı bir yan zincir ile 25 karbonlu bir steroldür (Şekil 1.1) (Akkoyun, Bayramoğlu, Ekin ve Çelebi, 2014).



Şekil 1.1. D vitamini yapısı (“The Nomenclature of Steroids: Recommendations 1989,” 1989).

1.2. D Vitamini Kaynakları

D vitamini kaynakları endojen ve ekzojen olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Ultraviyole B (UVB) ışınlarının etkisiyle endojen olarak ciltte 7-dehidrokolesterolden (7-DHK) D₃ vitamini (kolekalsiferol) oluşturmaktadır (Şekil 1.2). Ekzojen olarak besinle D vitamini, bitkilerdeki D₂ vitamini (ergokalsiferol) ve hayvan dokularındaki D₃ vitamini (kolekalsiferol) halinde alınabilmektedir. Yapısal olarak D₃ vitamini 22-23. karbonlardaki çift bağ ve 24. karbondaki metil grubu bulunması nedeniyle D₂ vitamininden farklılaşır. D vitamini terimi, yapısal farklılıklara rağmen D₃ vitamini ve D₂ vitamininin ikisi için de kullanılmaktadır. D vitamininin balık, yumurta sarısı ve karaciğerde fazlaca bulunduğu bilinmektedir. Besinle alınan D₂ ve D₃ vitamini enterositlerden absorbe edildikten sonra şilomikronlarla lenfatik sistem yoluyla venöz dolaşıma taşınmaktadır. Ekzojen olarak alınan veya endojen olarak sentezlenen D₂ vitamini veya D₃ vitamini yağ hücrelerinde depo edilmektedir, ihtiyaç halinde dolaşıma salınmaktadır (Öngen, Kabaroğlu ve Parıldar, 2008; Holick, 2003; Wacker ve Holick, 2013; Gardner ve Shoback, 2007).



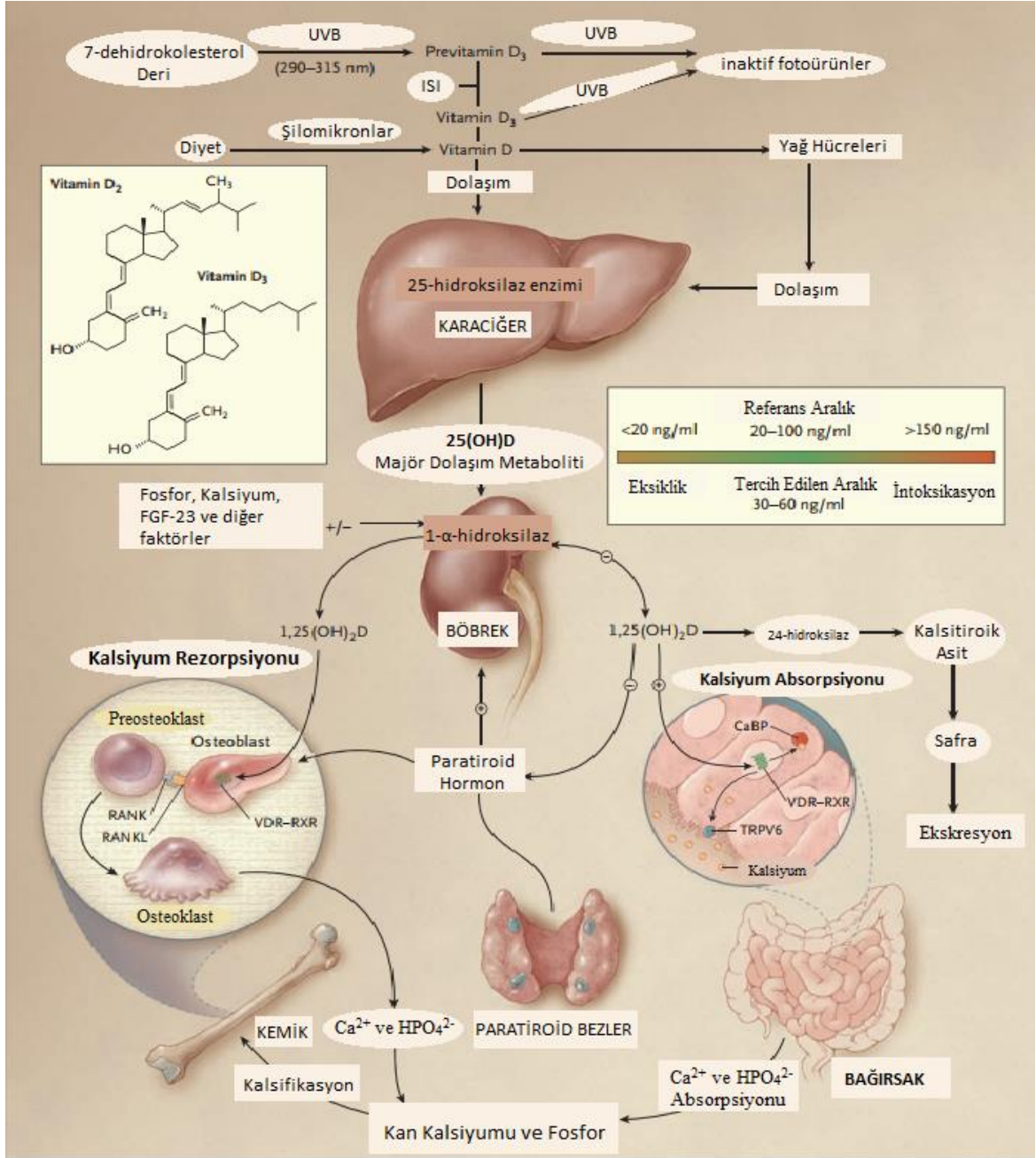
Şekil 1.2. a.) Ergosterolden ergokalsiferol oluşumu; b.) 7-dehidrokolesterolden kolekalsiferol oluşumu (Akkoyun ve ark, 2014).

1.3. D Vitamininin Metabolizması

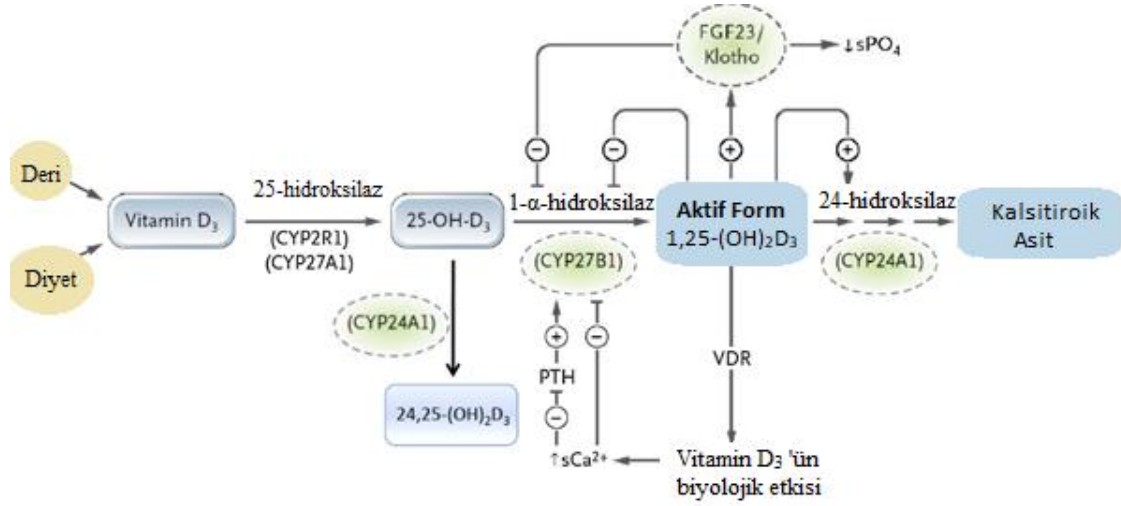
D vitamini vücutta kalsiyum-fosfor homeostazında ve kemik mineralizasyonunda önemli rol oynamaktadır. D₃ vitamini, 290-310 nm'deki ultraviyole ışınların etkisiyle ciltte 7-DHK'den sentezlenmektedir. Deride sentezlenen D₃ vitamininden karaciğer mitokondri ve mikrozomlarında 25-hidroksilaz (CYP2R1) enzimi ile 25-hidroksi-vitamin D [25(OH)D, kalsidiol] oluşmaktadır. 25(OH)D majör D vitamini formudur ve yarılanma ömrü 2-3 haftadır. 25(OH)D kişilerin D vitamini seviyesini belirlemek için kullanılmaktadır. Oluşan 25(OH)D böbreklerin proksimal tübüllerindeki mitokondrilerde 1-alfa-hidroksilaz enzimi (CYP27B1) sayesinde aktif formu olan 1,25-dihidroksi D vitaminine [1,25(OH)₂D, kalsitriol] veya 24-hidroksilaz enzimi (CYP24A1) sayesinde inaktif metaboliti olan 24,25-dihidroksi D vitaminine [24,25(OH)₂D] dönüşmektedir ve safraya atılmaktadır. Yarı ömrü 4-6 saattir, 1,25(OH)₂D'nin %1'inden daha azı etkindir, parathormon (PTH) etkisiyle hızla düzeyi değiştiğinden D vitamini düzeylerinin belirlenmesi için uygun değildir (Grotz ve ark, 1995; Hall ve Agrawal, 2017; Harrison's principles of internal medicine, 1995; Holick, 2007; Öncül Börekçi, 2019; Ustaalioğlu ve Dirican, 2015; Souberbielle, Friedlander, Kahan ve Cormier, 2006).

24,25(OH)₂D, 1- α -hidroksilaz enzimini inhibe etmektedir (Ersöz, Onat, Emerk ve Sözmen 2002). Serum fosfor (P), kalsiyum (Ca²⁺), fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF-23) ve diğer faktörler böbrekte 1,25(OH)₂D üretimini artırabilir veya azaltabilir. 1,25(OH)₂D sentezindeki artış, *negatif feedback* ile kendi sentezini azaltmaktadır ve PTH'nin paratiroid bezleri tarafından sentezini ve salgılanmasını azaltmaktadır (Christakos, Ajibade, Dhawan, Fechner ve Mady, 2010; Holick, 2007).

1,25(OH)₂D ince bağırsakta kalsiyum Emilimini artırmaktadır. 1,25(OH)₂D, osteoblastlardaki reseptörü tarafından tanınır ve nükleer faktör- κ B ligandının (RANKL) reseptör aktivatörünün ekspresyonunda bir artışa neden olmaktadır. Preosteoklastlar üzerindeki RANKL reseptörü olan RANK, preosteoklastların olgun osteoklastlar haline gelmesini sağlayan RANKL'ı bağlar. Olgun osteoklastlar, kandaki kalsiyum ve fosfor seviyelerini koruyarak kemikten kalsiyum ve fosforu uzaklaştırır. Yeterli miktarda kalsiyum (Ca²⁺) ve fosfor (HPO₄²⁻) mineralizasyonu destekler (Şekil 1.3) (Holick, 2007).



Şekil 1.3. Kalsiyum, Fosfor ve Kemik Metabolizmasının Düzenlenmesinde D Vitamini Sentezi ve Metabolizması (Holick, 2007).



Şekil 1.4. Kalsiyum ve Fosfat Homeostazı ve D Vitamini Metabolizmasının Düzenlenmesi (Schlingmann ve ark., 2011).

Şekil 1.4, memelilerde kandaki kalsiyum ve fosfat düzeylerinin korunmasında çeşitli hormonların (PTH, FGF23 ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$) rolünü göstermektedir. Aynı zamanda diyet yoluyla vücuda giren veya güneş ışığına maruz bırakılarak ciltte sentezlenen D vitamini aktivasyonunu, öncelikle karaciğerdeki 25-hidroksilaz enzimi aktivitesiyle $25(\text{OH})\text{D}$ 'ye ve ardından böbrekteki $1-\alpha$ -hidroksilaz enzimi aktivitesiyle $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'ye dönüşümünü gösterir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, D vitamininin aktif formudur. D vitamini reseptörünü (VDR) içeren bir mekanizma aracılığıyla vücuttaki yüzlerce geni düzenlemektedir. Çeşitli işlevlerini yerine getirdikten sonra $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, 24-hidroksilaz enzimi aktivitesiyle boşaltım ürünlerine (örneğin kalsitroik asit) dönüştürülmektedir. Bu aktivasyon ve deaktivasyon aşamalarında çeşitli spesifik sitokrom P450 enzimleri yer alır ve bunlar CYP2R1, CYP27B1 ve CYP24A1 olarak adlandırılmaktadır (Jones, 2018).

Güneşin etkisiyle deride sentezlenen D vitamini üretimi farklı mekanizmalarla düzenlenmektedir. Uzun süre UVB ve radyasyona maruz kalındığında D vitamininden biyolojik olarak inaktif olan takisterol ve lumisterol izomerlerinin oluşumu artmaktadır. Bu sayede güneşe bağlı D vitamini intoksikasyonu engellenmektedir. Ayrıca D vitamini güneş ışınlarına duyarlıdır, güneş ışığına fazla maruz kalınmasıyla suprasterol 1 ve 2 ve 5,6-trans- D_3 vitaminine dönüşerek inaktive olmaktadır (Öncül Börekçi, 2019).

1.4. D Vitamini Etkileri

D vitamininin aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ neredeyse tüm nükleuslu hücrelerde bulunur ve etkisini tek bir reseptör üzerinden göstermektedir. En temel etkisi bağırsaklardan

kalsiyum ve fosfor emilimini arttırmasıdır. Ayrıca paratiroid bezlerinden PTH salınımını baskılamaktadır. Osteoblast fonksiyonunu ve PTH bağımlı osteoklast aktivasyonunu düzenleyerek kemikten kalsiyum ve fosfor salınmasını sağlamaktadır. Hedef hücrelerdeki intrasellüler reseptörlerine bağlanmaktadır ve gen transkripsiyonunu düzenlemektedir. D vitamini yanıt elementlerine sahip olan veya dolaylı olarak etkilenen 200-2000 arasında gen olduğu tahmin edilmektedir (Hossein-Nezhad ve Holick, 2012).

D vitamini düzeyi birçok genin ekspresyonunu önemli düzeyde etkiler ve bu etkinin kanser, otoimmün ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisini gösteren araştırmalar mevcuttur. Ayrıca D vitamini seviyesinin enfeksiyon hastalıkları, diyabet, psikiyatrik bozukluklar, uyku bozuklukları, osteoporoz, mortalite artışı, ve hipertansiyon ile ilişkisini gösteren araştırmaların yanı sıra, D vitamini takviyesinin kardiyovasküler mortalite riskini azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Autier, Boniol, Pizot ve Mullie, 2014; Holick, 2004; Holick, 2007; Hossein-Nezhad ve Holick, 2012; Hossein-Nezhad, Spira ve Holick, 2013; Kendrick, Targher, Smits ve Chonchol, 2009; Melamed, Michos, Post ve Astor, 2008).

D vitamini eksikliğinin dünyada yaklaşık 1 milyar insanda var olduğu düşünülmektedir (Hossein-Nezhad ve Holick, 2013). Yapılan araştırmalarda D vitamini eksikliği prevalansı %40-%100 arasındadır (Dawson-Hughes, 2017; Forrest ve Stuhldreher, 2011; Lips, 2007; Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği [TEMED], 2018).

D vitamininin kemik metabolizmasında önemli olduğu bilinmektedir. D vitamini eksikliği, kalsiyum ve fosforun bağırsaktan emiliminde azalmaya sebep olmaktadır ve erken dönemde hipofosfemi, hipokalsemiye göre daha belirgindir. D vitamini eksikliği devam ederse hipokalsemi gelişmektedir, serum PTH düzeyi ve kalsiyumun böbreklerden geri emilimi artmaktadır. Ayrıca 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesindeki artış nedeniyle 1,25(OH)₂D sentezi artar ve bağırsaktan kalsiyum emilimi artmaktadır. D vitamini, kalsiyumu kemiklerde de metabolize ederek dolaşımda bulunan kalsiyum ve fosfor seviyelerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. D vitamini eksikliğinin çocuklarda raşitizm ve yetişkinlerde osteomalazi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ancak yakın zamanda yapılan çalışmalar, D vitamininin kemik metabolizması ve hastalıkları haricinde kardiyovasküler hastalıklardan, bağışıklık sistemi hastalıklarına, kanser ve osteoporoza kadar birçok mekanizmada etkili olduğunu göstermiştir (Fragoso ve ark., 2012; Holick, Krane ve Potts, 1995; Kennel, Drake ve Hurley, 2010; Mandarino, Junior, Salgado, Lages ve Filho, 2015; Öngen ve ark., 2008).

1.5. D Vitamini Düzeyleri ile İlgili Tanımlamalar

D vitamini seviyesinin en iyi göstergesi 2-3 haftalık yarılanma ömrüne sahip serum 25(OH)D'dir. Çoğu araştırmacı tarafından 25(OH)D'nin en uygun düzeyi için genellikle;

- >30 ng/mL (75 nmol/L) yeterli,
- 20-30 ng/mL (50-75 nmol/L) arası yetersizlik,
- <20 ng/mL (50 nmol/L) eksiklik,
- <10 ng/mL ciddi eksiklik ifadeleri kabul edilmektedir ve
- >150 ng/mL olduğu durumlarda ise D vitamini için toksik dozdan bahsedilmektedir (Dawson-Hughes, 2015; Holick, 2007; Hossein-Nezhad ve Holick, 2013; Pazirandeh ve Burns, 2015; Wacker ve Holick, 2013).

1.6. D Vitamini Eksikliğinin Sebepleri

- Yetersiz alım veya emilim:
 - Besinle yetersiz alım
 - Güneş ışığına yetersiz maruziyet
 - Yağ malabsorbsiyonu
 - Gastrektomi
 - İnce bağırsak hastalıkları (Çölyak hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalıkları vb.)
 - Pankreas yetersizliği
- 25-hidroksilaz enzim kusuru:
 - Kronik karaciğer hastalıkları (siroz vb.)
- 1 α -25-hidroksilaz enzim kusuru:
 - Hipoparatroidi
 - Renal yetmezlik
 - Vitamin D bağımlı rikets tip 1
- Hedef organın kalsitriole cevapsız oluşu (D vitamini direnci):
 - Herediter vitamin D bağımlı rikets (Vitamin D bağımlı rikets tip 2)
- D vitamininin inaktif metabolitlerine yıkımının artması:

- Antikonvülzanlar (fenitoin, fenobarbital)
- Antifungal ilaçlar (ketokonazol)
- Antitüberküloz ilaçlar (rifampisin, izoniazid)
- Anti-retroviral ilaçlar
- Glukokortikoidler

➤ D vitamini bağlayan proteinin kaybı:

- Nefrotik sendrom (Agus ve Drezner, 2015; Dawson-Hughes, 2015)

Tüm toplumun D vitamini eksikliği yönünden taranması önerilmemektedir. 25(OH)D düzeyinin Tablo 1.1’de gösterilen riskli gruplarda ölçülmesi önerilmektedir (Dawson-Hughes, 2015; Holick, 2007; Holick ve ark, 2011).

Tablo 1.1. D vitamini eksikliği açısından risk grupları

• Yaşlılar	• Osteomalazi
• Yetersiz güneş ışığı maruziyeti	• Kronik karaciğer hastalığı
• Koyu cilt rengine sahip olanlar	• Malabsorbsiyon sendromları
• Obezite	• Kronik böbrek yetmezliği
• D vitamini metabolizmasını hızlandıran ilaç kullanımı	• Nontravmatik (spontan) kırık oluşumu
• Osteoporoz	• Hiperparatroidi

1.7. D Vitamini Eksikliğinin Klinik Belirtileri

Raşitizm, büyüme çağında kemiklerde yeterli mineralizasyonun gerçekleşmediği D vitamini eksikliği durumudur. Çocukluk çağında görülen bir hastalıktır. El-ayak bileklerinde ve kıkırdak-eklem birleşim yerlerinde genişleme görülmektedir. Ayrıca bacaklarda ve göğüs kafesinde deformasyonlar görülmektedir. Bacaklarda ağrı, ayağa kalkma ve yürümede gecikme, sık sık düşme ve büyüme geriliği gibi belirtiler de olabilmektedir. 25(OH)D düzeyi raşitizmlili çocuklarda genellikle <5 ng/mL’dir (Thacher, Fischer, Strand ve Pettifor, 2006).

Osteomalazi, D vitamini eksikliğine bağlı bir kemik hastalığıdır ve yetişkinlerde görülmektedir. Osteoblastlar tarafından oluşturulan kemik yapısının mineralizasyonunda yetersizlik görülmektedir. Kemik ağrısı ve proksimal kas güçsüzlüğü ile karakterizedir.

Serum alkalen fosfataz (ALP) ve PTH düzeylerinde artış, 25(OH)D, kalsiyum ve fosfor düzeylerinde azalma tespit edilmektedir (Bingham ve Fitzpatrick, 1993).

1.8. D Vitamini Eksikliğinin İskelet Sistemi Dışındaki Etkileri

Son yıllarda, pankreas, mide, epidermis, immün sistem, makrofajlar, vasküler endotel, kolon ve plasenta gibi birçok dokuda 1- α -hidroksilaz enziminin ve D vitamini reseptörlerinin var olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle D vitamininin iskelet sisteminin dışında da etkili olduğu düşünülmektedir. Bu dokularda 25(OH)D, lokal olarak 1,25(OH)₂D'ye dönüşerek parakrin etki gösterebilmektedir (Bouillon, 2010).

Gözlemsel çalışmalar, D vitamini düzeyinin düşük olmasıyla kas güçsüzlüğünün ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Kalıtsal D vitamini eksikliği görülen çocuklarda (1,25(OH)₂D sentezleyemeyen) belirgin kas güçsüzlüğünden bahsedilmektedir, 1,25(OH)₂D tedavisi ile hızlıca düzeldiği bildirilmektedir. D vitamini desteğinin günlük 800 ila 1000 IU dozda uygulandığı üç çalışmanın meta analizinde, alt ekstremitte kas gücü ve dengede anlamlı ölçüde düzelme olduğu belirtilmiştir (Muir ve Montero-Odasso, 2011).

Kanser ve D vitamini eksikliğinin ilişkisini düşündüren veriler olsa da günümüzde yüksek doz D vitamini takviyesinin kanseri tedavi edeceğini veya önleyeceğini söylemek için yeterince ispat bulunmamaktadır. In vitro çalışmalarda, aktif D vitamininin veya analoglarının hücre proliferasyonunu azaltabildiği ve bunu sağlamak için çok sayıda geni aktive veya inaktive edebildiği gösterilmiştir (Bouillon ve ark., 2006). Hayvan çalışmaları, D vitamini reseptörü eksikliğinin prekanseröz lezyonlara yatkınlığın olduğunu belirtmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kolon kanseri ile D vitamini eksikliğinin ilişkili olduğunu belirtmektedir. Bu bulgu, 9 vaka-kontrollü çalışmanın meta analizi ile desteklenmektedir. 25(OH)D konsantrasyonundaki her 4 ng/mL (10 nmol/L) artışın, kolorektal kanser riskini %6 azalttığı bildirilmiştir (Chung ve ark., 2009). D vitamini ve meme kanseri ile ilgili ise çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Prospektif çalışmaların meta analizinde, menopoz sonrası kadınlarda 25(OH)D düzeyi ile meme kanseri riski arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak bu ilişki menopoz öncesi kadınlarda gösterilememiştir (Bauer, Hankinson, Bertone-Johnson ve Ding, 2013).

D vitamininin bağışıklık sistemi hücrelerinde önemli etkisi olduğu bilinmektedir. T ve B lenfositler, dendritik hücreler ve makrofajlar gibi antijen sunan hücreler D vitamini reseptörü taşımaktadır (Ponsonby, McMichael ve Van der Mei, 2002). D vitamini kazanılan

immün yanıt üzerine inhibitör etki göstermektedir. Aktif D vitamini özellikle immünglobülin sentezini inhibe etmektedir, B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşmasını süprese etmektedir ve T hücre proliferasyonunu baskılamaktadır. D vitamini, kazanılan bağışıklık sisteminin aktivasyonunu baskılasa da doğal bağışıklık sistemini özellikle monosit ve makrofajları aktive etmektedir. Bakteri enfeksiyonlarına yanıt olarak monosit ve makrofajlarda D vitamini reseptörü ve 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesi artmaktadır ve mikobakteri gibi hücre içi mikroorganizmalara direnç oluşmaktadır (Adams ve Hewison, 2010; Bikle, 2009; Bikle, 2010; Holick ve Chen, 2008; Liu ve ark., 2006).

Gözlemsel çalışmalarda, düşük D vitamini düzeyinin kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyonla ilişkili olduğu gösterilse de, çelişkili randomize çalışmalar bildirilmiştir (Norris ve Williams, 2013). D vitamini düzeyinin hipertansiyon ile ilişkisi, beden kitle indeksi ve 25(OH)D arasındaki negatif ilişkiyle artmaktadır. Neden-sonuç ilişkisini ortaya koymak, ilişki varsa uygun D vitamini seviyesini belirlemek için prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Hipertansiyon görülen hastalarda kan basıncı üzerine D vitamini takviyesinin etkisini inceleyen 8 randomize çalışmanın meta analizinde, D vitamini takviyesi alan hastalarda, plasebo olanlara kıyasla diastolik kan basıncında anlamlı düzeyde azalma olduğu görülmüştür (Witham, Nadir ve Struthers, 2009).

D vitamini ile tip 1 diyabet arasındaki ilişkinin D vitamininin immün sisteme olan etkisine bağlı olduğu bilinmektedir. İnsanlarda gerçekleştirilen bazı gözlemsel çalışmalarda, D vitamini eksikliğinin tip 1 diyabet ile ilişkili olduğu gösterilmektedir. Bu çalışmalar, erken bebeklik döneminde D vitamini desteğinin, sonraki dönemlerde tip 1 diyabet gelişme riskini %30 oranında azalttığını göstermektedir (Zipitis ve Akobeng, 2008). β hücrelerinde D vitamini reseptörlerinin varlığının gösterilmesi, D vitamininin insülin sekresyon ve hassasiyetini arttırabileceğini düşündürmüştür. D vitamini seviyesi obez ve tip-2 diyabetli kişilerde daha düşük gösterilmiştir (Ozfirat ve Chowdhury, 2010).

D vitamini reseptörünün ve 1-alfa hidroksilaz enziminin insan beyinde de bulunduğu bilinmektedir. D vitamininin nöronal proliferasyon, diferansiyasyon, migrasyon ve apoptozis üzerine etkisi olduğu ve beyin gelişiminde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Prenatal D vitamini eksikliği şizofreni gibi nöropsikiyatrik hastalıkların riskini arttırabilmektedir (McGrath, 2001). Alzheimer hastalığında 25(OH)D düzeyi sıklıkla düşük bildirilmiştir (Balion ve ark., 2012).

Depresyon tanısı ve D vitamini eksikliği bulunan 243 hastanın randomize olduğu bir çalışmada, bir gruba haftalık 40,000 IU D vitamini desteği veya plasebo uygulanmıştır. Depresyon semptom skoru sonucunda gruplar arasında fark bulunmamıştır. Nöropsikiyatrik hastalıklara sahip bireylerin hareketsiz oluşlarına ve yeterli güneşe maruz kalmamalarına bağlı D vitamini eksikliğinin sık görüldüğü düşünülmektedir (Kjærgaard ve ark., 2012).

D vitamini eksikliğinin önlenmesi için Tıp Enstitüsü (IOM) infantlara ilk bir yıl hemen günlük 400 IU D vitamini desteğine başlanmasını, 1-70 yaş arasındaki kişilere günlük 600 IU ve 70 yaş üzerindeki kişilere de günlük 800 IU D vitamini takviyesi önermektedir. Önerilen bu dozlar, 25(OH)D düzeyini kemik sağlığı için yeterli olduğu düşünülen 20 ng/mL seviyelerine çıkarabilmektedir ancak Endokrin Topluluğu'nun önermiş olduğu 30 ng/mL seviyelerine ulaşmak için yetersizdir. Bu nedenle D vitamini eksikliğinin önüne geçebilmek için, Endokrin Topluluğu'nun rehberlerinde; infantlara ilk bir yıl günlük 400 ila 1000 IU arasında (2000 IU'ye kadar güvenli), 1-18 yaş arasındaki çocuk ve adölesanlar için günlük 600 ila 1000 IU arasında (4000 IU'ye kadar güvenli), 18 yaş üzeri erişkinler için ise günlük 1500 ila 2000 IU arasında (10,000 IU'ye kadar güvenli) D vitamini desteğini önermektedir (Wacker ve Holick, 2013).

Güneş ışınlarının dünya yüzeyine ulaştığı açı Zenith açısı olarak ifade edilir ve D vitamini sentezi için önemlidir. Ülkemizin bulunduğu enlemde D vitamini sentezi Mayıs-Kasım aylarında gerçekleşmektedir. D vitamini sentezlenebilmesi için uygun ışın açısı saat 10.00-15.00 arasındadır ve güneşe çıkılması için bu saat aralıkları önerilmektedir. Yaz mevsiminde, belirtilen saatlerde minimal eritem dozu (MED) oluşturmak için (ciltte hafif pembe renk oluşumu) tüm vücudun güneş ışığı ile teması (~1 MED) durumunda, ciltte, oral alınan yaklaşık 20000 IU D vitamini dozuna eşdeğer seviyede D vitamini sentezi gerçekleşmektedir (Holick, 2007; Wacker ve Holick, 2013). Sadece kol, bacak ve ellerin güneşle temas etmesi (~0.5 MED) sonucunda yaklaşık 3000 IU D vitamini sentezlenmektedir. Açık renkli cilde sahip olan bir insanda 15 dakikada minimal eritem doza ulaşılabilirken, koyu renkli cilde sahip bir kişide 3-4 kat daha uzun sürebilmektedir. 15 faktör düzeyi veya daha fazla olan güneş koruyucuların kullanılması güneş ışınlarının cilde ulaşmasını engellemektedir. Cam ve tül arkasından güneşlenmek de D vitamininin sentezlenmesini engellemektedir (Dawson-Hughes, 2015; Holick, 2007; Hossein-Nezhad ve Holick, 2013; Pazirandeh ve Burns, 2015; Wacker ve Holick, 2013).

Türkiye tüm yıl güneş gören bir kuşakta bulunduğu halde dünyada bilindiği üzere, ülkemizde de gerçekleştirilen birçok çalışmada D vitamini eksikliği-yetersizliği tespit edilmektedir. D vitamininin ölçümü immunoassay, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kütle spektrometresiyle (MS) yapılabilse de kullanım kolaylığından dolayı çoğunlukla immunoassay yöntem ile yapılmaktadır (Bekmez ve Alataş, 2016).

1.9. Fosfor

Doğada genelde oksijenli olarak fosfat halinde bulunan fosfor, esansiyel bir elementtir, insan vücudunda en fazla bulunan anyondur ve vücut ağırlığının %1'ini oluşturmaktadır. Toplam vücut fosforu yaklaşık olarak 650-700 gramdır. Erişkin insan vücudunda fosfatın %85'i kemik ve dişlerde bulunmaktadır. Geriye kalan fosfatın %15'i yumuşak dokuda (%14) ve hücre dışı sıvıda (%1) bulunmaktadır. Fosfor iskelette birincil olarak kalsiyumla birleşik oluşturarak hidroksiapatit kristali ve kalanı ise kalsiyum fosfat halinde bulunmaktadır (Campbell, 1988; Farrow ve White, 2010). Fosfor plazmada organik (%70) ve inorganik form (%30) olmak üzere iki şekilde bulunur. İnorganik fosforun %10-15'i proteine bağlı halde, %85'i ise böbreklerden ultrafiltre edilebilen serbest fosfat anyonları (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-) şeklinde bulunur. Organik fosfor hücre içinde; sitozolde veya mitokondride yer alırken, hücre zarında; fosfolipid yapıda ve fosforile metabolik ara bileşiklerinin yapısında yer alır (Campbell, 1988; Weisinger ve Bellorín-Font, 1998).

Günlük fosfor ihtiyacı; Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH)'nin önerilerine göre 0-6 ay için 100 mg/gün, 7-12 ay için 275 mg/gün, 1-3 yaş arası için 460 mg/gün, 4-8 yaş arası için 500 mg/gün, 9-18 yaş arası için 1250 mg/gün, yetişkinlerde, hamile ve emziren kadınlarda ise 700 mg/gündür (DRI, 2005).

Fosfor ve fosfat terimleri birbirinin yerine kullanılsa da laboratuvarında ölçülen fosfat düzeyidir (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-). Açlık P konsantrasyonu yaşa göre değişiklik göstermektedir. Hayatın ilk üç ayında P düzeyleri en yüksek seviyede bulunmaktadır; 4.8-7.4 mg/dL. 1-5 yaşında 4.5-6.5 mg/dL'ye düşerken, erken adölesan dönemde 3.6-5.8 mg/dL, geç adölesan ve erişkin dönemde 2.3-4.5 mg/dL olmaktadır. Hücre içindeki serbest fosfatın düzeyi de yaklaşık serumdaki kadardır (3-6 mg/dL) (Pesce, 2008).

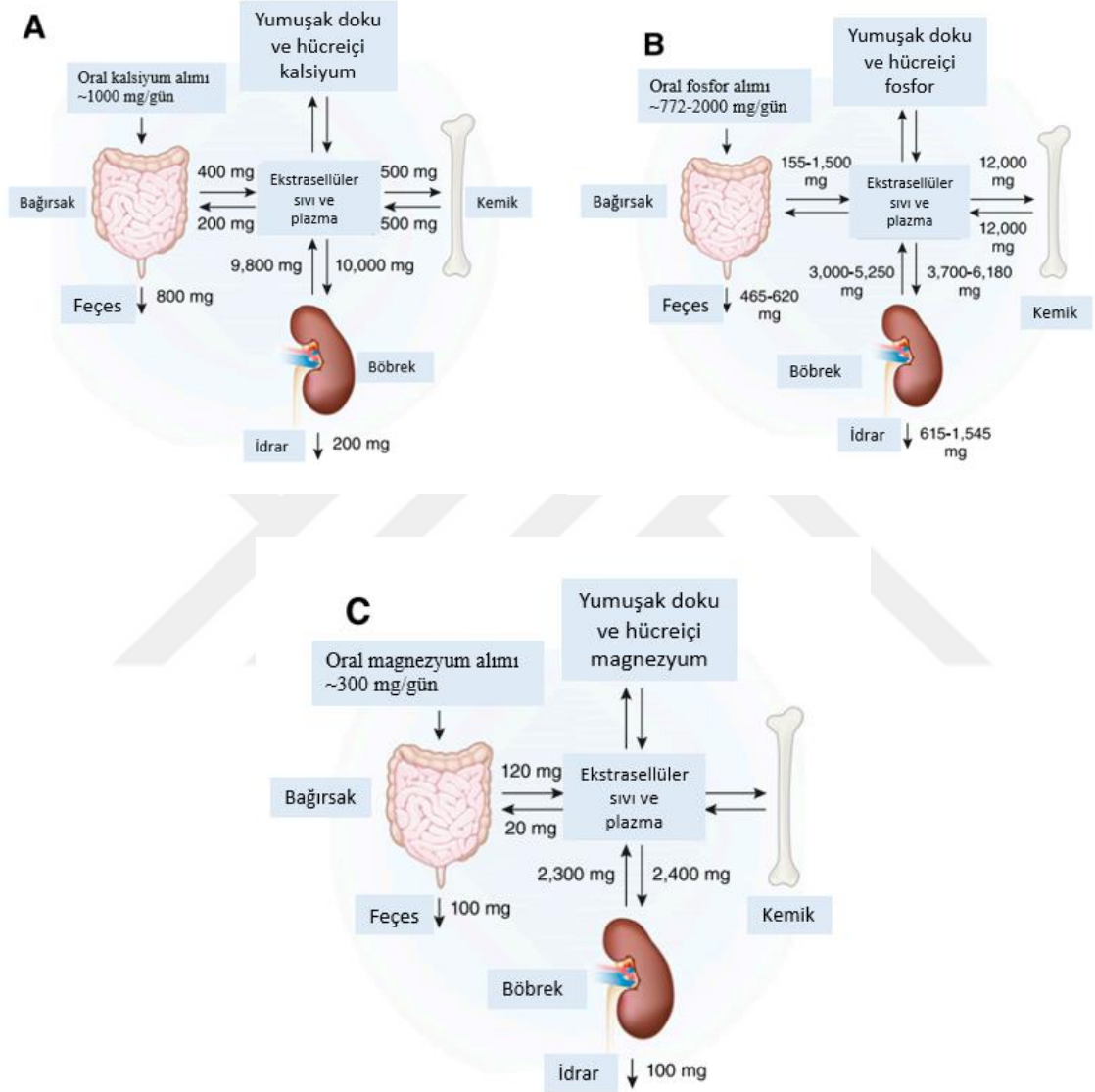
1.10. Fosfor Metabolizması

Fosfor, D vitamini metabolizmasında görev almaktadır. Besinle fosfor alımının artması klotho gen ekspresyonunu artırmaktadır. Normal fizyolojide, proksimal tubulustaki sodyum/fosfat taşıyıcısının yapısında bulunan NaPi-2a proteini fosfat reabsorpsiyonunu sağlamaktadır. Klotho proteini, NaPi-2a proteininin yapısını bozmaktadır. Yapısı bozulan NaPi-2a proteini hücre içine girip inaktive olmaktadır. Fosfat geri emilememekte ve fosfatüri meydana gelmektedir. Fosfat dengesinin sağlanmasında iki ana hormon görev alır: PTH ve FGF23. Serum PTH'daki artış, böbrekten fosfat geri emilimini ve serum fosfatını azaltırken; PTH düzeyindeki azalma, böbrekten fosfat geri emilimini ve serum fosfatını artırmaktadır. FGF23; artmış serum fosfat ve D vitamini düzeylerine yanıt olarak artmakta ve böbrek fosfat geri emilimini azaltarak serum fosfat düzeyini düşürmektedir. 1,25(OH)₂D salgılanmasını; PTH'daki yükselme uyarırken; FGF23'teki yükselme baskılamaktadır (Haussler ve ark., 2012; Prie ve Friedlander, 2010).

D vitamini ile fosfor dengesi arasında sıkı bir bağ vardır. Böbrekte 1-alfa-hidroksilaz enzim etkisiyle aktif D vitamini sentezlenmektedir. Hipokalsemi, hipofosfatemi ve PTH artışı; 1- α -hidroksilaz enzimini aktive edip aktif D vitamini sentezini artırmaktadır. Aktif D vitamini ise kemikten FGF23 yapımını artırmaktadır. FGF23 ve aktif D vitamini artışı ile hiperkalsemi, hiperfosfatemi; 1- α -hidroksilaz enzimini inhibe eder ve aktif D vitamini sentezini azaltmaktadır. Aktif D vitamini artışı; 24-hidroksilaz enzim aktivitesini artırmaktadır ve inaktif vitamin D oluşmaktadır (Razzaque, 2009).

Kararlı durumda, oral fosfor alımı, idrar ve feçeste fosfat (Pi) atılımı ile dengelenmektedir (Şekil 1.5.B). Günlük fosfor alımı, süt ürünleri gibi fosfor yönünden zengin gıdaların tüketimine bağlı olarak 700 ila 2000 mg arasında değişmektedir. Absorpsiyondan sonra fosfor, hücre zarları boyunca fosfat olarak taşınır (31 mg/L elementel fosfor, 51 mmol/L fosfat). Plazma veya hücre dışı sıvıda bulunan fosfat için üç seçenek bulunmaktadır. Bunlar; hücrelere taşıma, kemik veya yumuşak dokuda birikme veya ağırlıklı olarak böbrekler tarafından eliminasyondur. Vücuttaki fosfor depolarının çoğu kemik içindedir. Serum fosfat (Pi) seviyeleri toplam vücut fosfor depolarının %1'ini oluştursa da, serum Pi'nin nispeten dar bir aralıkta (yetişkinlerde 2,5-4,5 mg/dL) tutulması ATP üretiminde, hücre membran bütünlüğünün korunmasında, nükleik asit iskeletinde, hücre sinyalizasyonunda, asit-baz dengesinin tamponlanmasında ve kemik mineralizasyonunda çok önemlidir (Alizadeh Naderi ve Reilly, 2010; Amanzadeh ve Reilly,

2006; Biber, Hernando ve Forster, 2013). Serum fosfatın normal aralık içinde tutulması, bağırsaktaki fosfat emilimi, kemik depoları ile değişim, hücre içi ve damar içi geçişler ve böbrek atılımı arasındaki karmaşık etkileşime bağlıdır (Blaine, Chonchol ve Levi, 2015).



Şekil 1.5. Diyette alınan kalsiyum, fosfat ve magnezyumun bağırsaktan emilimi ve kalsiyum, fosfat ve magnezyumun renal atılımı: A.) Kalsiyum, B.) Fosfat ve C.) Magnezyum dengesi (Blaine ve ark., 2015)

Serum fosfat seviyesi sirkadian ritm göstermektedir. En düşük fosfor seviyesi sabah 08.00-10.00 saatleri arasındadır. Gece bazale göre %45 oranında pik göstermektedir. Sabah saatlerindeki serum fosfat düzeyinin azalması kemiğin fosfat ile tamponlanmasıyla veya

hücre içinde fosfor hareketiyle açıklanabilmektedir (Jubiz, Canterbury, Reiss ve Tyler, 1972).

Fosfat, ATP üretimi için gereklidir ve hipofosfatemi pek çok organda (kas, beyin, kardiyopulmoner sistem, gastrointestinal sistem, hematolojik) hücre içi ATP yetersizliği oluşturmaktadır. Hipofosfatemide dokulara oksijenin taşınabilmesi için gerekli olan eritrosit içi 2,3-difosfogliserat seviyesi azalmaktadır (Lichtman, Miller, Cohen ve Waterhouse, 1971). Kronikleşen hipofosfatemi kemik ağrısına ve çocuklarda riketse sebep olmaktadır. Ayrıca kronik hipofosfatemi proksimal ve distal renal tübüler defekte (glukozüri, bikarbonatüri, hiperkalsiüri ve hipermagnezüri) sebep olabilmektedir. Hipofosfatemi insülin direncine, bozulmuş glukoneogeneze ve metabolik asidoza da (amonyum oluşumu, hidrojen iyon atılımı bozulur) neden olmaktadır (Gattineni ve Baum, 2012).

Böbrekte filtrasyona uğrayan fosforun neredeyse tamamı tübülüsler tarafından tekrar emilmektedir. İdrardaki fosfor düzeyi yaklaşık olarak bağırsaktan emilen fosfor miktarı kadardır. Bu miktar erişkinlerde 13 mg/kg/gün (yaklaşık 900 mg/gün)'dür (Berndt, Schiavi ve Kumar, 2005).

1.11. Fosfor Metabolizmasındaki Düzenleyiciler

Fosfor metabolizmasındaki temel düzenleyiciler;

- Besin yoluyla fosfat alımı ve sindirim sisteminde emilmesi,
- Kalsitriol: kemik ve bağırsakta fosfor emilimini artırmaktadır,
- PTH, doğrudan fosforun kemikten rezorpsiyonunu artırıp proksimal tübülüsten emilimini azaltmaktadır. Dolaylı olarak kalsitriol sentezini uyarmaktadır.
- Günümüzde yeni veriler kemik ve fosfatoninlerin (örneğin FGF-23) fosfor metabolizmasında düzenleyici olduklarını ortaya koymaktadır (Alon, 2011; Berndt ve ark., 2005; Wesseling-Perry, 2010).

İntestinal fosfor emilimi sellüler ve parasellüler olarak gerçekleşmektedir. Emilim kinetiği pasif difüzyon ve sodyuma bağımlı aktif transporttur (Amanzadeh ve Reilly, 2006). Bağırsaktan fosforun emilimi 1,25(OH)₂D vitamini ile artarken serum fosfor düzeyinin azalması 1,25(OH)₂D vitamini üretimini artırmaktadır (Berndt ve ark., 2005).

PTH, renal tübüler fosfat taşıyıcılarını *down regülasyona* uğratarak serum fosforunu azaltmaktadır. Diğer yandan 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesini artırırken, 24-hidroksilaz

enziminin aktivitesini azaltmaktadır. Serum 1,25(OH)₂D vitamini düzeyi bu sayede yükselmektedir. 1,25(OH)₂D vitamini düzeyinin artması kalsiyum, fosfor ve magnezyumun gastrointestinal absorpsiyonunu sağlamaktadır. PTH yokluğunda hipokalsemi, hiperfosfatemi ve hipomagnezemi gözlenmektedir (Kovacs, Manley, Moseley, John Martin ve Kronenberg, 2001). PTH doğumda düşük seviyelerdedir ve ilk 24 saat içinde hızlıca yükselmektedir (Loughead, Mimouni, Ross ve Tsang, 1990; Saggese, Baroncelli, Bertelloni ve Cipolloni, 1991).

1.12. Fosfatın Gastrointestinal Emilimi

Böbrekler, fosfat homeostazının ana düzenleyicileri olmasına rağmen, serum fosfat seviyeleri, tip IIb NaPi ortak taşıyıcılarından olan Na-Pi taşıyıcısının (Npt2b) aracılık ettiği bağırsak Pi emilimi tarafından da değiştirilir (Şekil 1.6.B) (Marks, Debnam ve Unwin, 2010). Npt2b, diyetle fosfat alımının yanı sıra 1,25(OH)₂D ile düzenlenir. Sıçanda fosfat emilimi en fazla duodenum ve jejunumda olup ileumda çok az meydana gelir. Aksine, farede Pi, ileumda meydana gelen en yüksek Pi emilimi ile tüm bağırsak boyunca emilir. Bağırsak fosfat emiliminin insan modelinin, sıçanda bulunanlara benzediği düşünülmektedir (Blaine ve ark., 2015).

1.13. Magnezyum

1808 yılında Sir Humphrey Davy tarafından bulunan magnezyum, atom numarası 12 olup toprak alkali metallere aittir. Kristal yapısı hekzagonaldir ve hayati önemi olan 11 mineralden (kalsiyum, magnezyum, sodyum, fosfor, potasyum, çinko, demir, bakır, iyot, selenyum, krom) birisidir (Elin, 1988).

Vücutta bu mineral üretilmediği için besinlerle alınması gerekmektedir. Magnezyum deniz suyu ve toprakta bulunmaktadır. Vücudumuzda magnezyum rezervinin sürekli olarak doldurulması gerekmektedir. Yani magnezyumun fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için besinlerle sürekli alınması gerekmektedir. Toprakta bu mineralin zamanla azalması veya yanlış beslenme magnezyumun yeteri kadar alınamamasına sebep olmaktadır. Fazla terleme, laksatif veya diüretik ilaç kullanımı sonucu kişilerin vücudundan daha fazla magnezyum atılmaktadır. Stres, gebelik ve emzirme gibi durumlarda ise magnezyuma ihtiyaç artmaktadır. Magnezyum dışarıdan yeterince alınamazsa, kemiklerdeki depolanmış magnezyum kullanılmaya başlanmaktadır (Solak-Görmüş ve Ergene 2003).

İnsan vücudunda var olan magnezyumun %60'ı kemikte ve dişlerde bulunmaktadır. Kalan %40'ı kan, doku ve diğer vücut sıvılarında yer almaktadır. Diğer dokulara göre beyin ve kalpte daha fazla bulunmaktadır. Magnezyum, vücut ağırlığının %0.05'i kadar bir miktarda olmasına rağmen vücudumuzdaki birçok enzim reaksiyonunda görev almaktadır (Solak-Görmüş ve Ergene 2003).

Kalsiyum, fosfor ve magnezyum dengesizlikleri, aritmiler, nöbetler ve solunum güçlükleri gibi birçok ciddi klinik komplikasyona neden olmaktadır. Böbrek, bu iyonların serum seviyelerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Kalsiyum, fosfat ve magnezyumun düzenlenmesi nefronun farklı kısımlarında meydana gelir ve birkaç farklı kanal, taşıyıcı ve yol içerir (Blaine ve ark., 2015).

1.14. Magnezyum Homeostazi

Magnezyum, hücre içi en çok bulunan ikinci iki değerlikli katyondur. Magnezyum, kemik oluşumundaki rolünün yanı sıra, insan vücudunda kofaktör olarak protein ve DNA sentezi, oksidatif fosforilasyon, nöromusküler uyarılabilirlik ve hücre içi sinyal iletimi dahil olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir. Yetişkinlerdeki toplam vücut magnezyum içeriği yaklaşık 24 gramdır, bunun %99'u hücre içi olup, ağırlıklı olarak kemik, kas ve yumuşak dokuda depolanır ve hücre dışı alanda sadece %1'dir. Normal toplam serum magnezyum konsantrasyonu 0.7-1.1 mmol/L, 1.4-2.2 mEq/L veya 1.7-2.6 mg/dL aralığındadır. Serum magnezyumunun %60'ı, fizyolojik işlevleri için önemli olan iyonize, serbest, aktif formda bulunur. Serum magnezyumun %10'u serum anyonlarıyla kompleks halinde bulunur. Serum magnezyumun %30'u albümine bağlıdır (Agus, 1999; Ayuk ve Gittoes, 2011; Konrad, Schlingmann ve Gudermann, 2004; Topf ve Murray, 2003; Whang, Hampton ve Whang, 1994). Serum magnezyum konsantrasyonu, bağırsak ve renal transport ile kemik değişimi arasındaki dinamik denge ve etkileşim tarafından düzenlenmektedir (Şekil 1.5.C).

1.15. Bağırsak Magnezyum Emilimi

Magnezyum alımı günlük yaklaşık 300 mg'dır (Quamme, 2008). Magnezyum açısından zengin diyetle beslenirken bağırsak emilimi %75'ten, magnezyumdan yoksun diyetle beslenirken %25'e kadar değişebilmektedir. Günlük net alım miktarı 100 mg olacak şekilde yaklaşık 120 mg magnezyum emilmekte ve gastrointestinal salgılarda 20 mg kaybedilmektedir. Bağırsak magnezyum emilimi, doyurulabilir bir hücre içi yol ve

doymamış bir paraselüler pasif yol aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 1.6.C) (Fine, Santa Ana, Porter ve Fordtran, 1991; Quamme, 2008). Magnezyumun çoğu, ince bağırsak tarafından ve daha az oranda kolon tarafından emilmektedir. Transselüler magnezyum absorpsiyonuna, geçici reseptör potansiyeli melastatin (TRPM) katyonik kanalları TRPM6 ve TRPM7 tarafından izin verilmektedir. TRMP6'daki mutasyonlar, ikincil hipokalsemi ile hipomagnezemiye neden olmaktadır (Schlingmann ve ark., 2002; Walder ve ark., 2002). TRMP7 ayrıca bağırsak magnezyum emiliminde önemli bir rol oynar çünkü heterozigot TRMP7 eksik fareler, bağırsak magnezyum emiliminin azalması nedeniyle hipomagnezemi geliştirirken, renal magnezyum atılımı düşüktür (Ryazanova ve ark., 2010).

1.16. Magnezyumun Böbrek Düzenlenmesi

GFR'nin normal olduğu düşünüldüğünde, böbrek günde yaklaşık 2000–2400 mg magnezyumu filtreleyebilmektedir. Bu, glomerüler filtrasyon için toplam serum magnezyumunun (%30 proteine bağlıdır) yalnızca %70'inin mevcut olduğu gerçeğini hesaba katar. Normal koşullar altında, glomerüler filtrasyona uğramış magnezyumun %96'sı böbrek tübüllerinde, çeşitli koordineli taşıma işlemleri ve magnezyum taşıyıcıları tarafından yeniden emilir (Bindels, 2010; Ferrè, Hoenderop ve Bindels, 2011(a), 2012(b); Haisch, Almeida, Abreu Da Silva, Schlingmann ve Konrad, 2011; Haisch ve Konrad, 2012; Quamme, 2010; Toka ve ark., 2012; Tyler Miller, 2013).

Diyetteki magnezyum kısıtlaması, kemik magnezyum içeriğinin azalmasına neden olmaktadır (Alfrey, Miller ve Trow, 1974). Kemirgenlerde hipomagnezemi, hızlandırılmış kemik turnoverı, azalmış kemik hacmi ve azalmış kemik gücü ile osteopeniye neden olmaktadır (Boskey ve ark., 1992; Burnell, Liu, Miller ve Teubner, 1986; Kenney, McCoy ve Williams, 1994; Lai, Singer ve Armstrong, 1975).

1.17. Kalsiyum

İnsan vücudundaki toplam kalsiyum miktarı 1000 ila 1200 g arasında değişmektedir. Vücut kalsiyumunun yaklaşık %99'u iskelette bulunurken; diğer %1 hücre dışı ve hücre içi boşluklarda bulunmaktadır. Toplam vücut kalsiyumunun %99'u kemikte bulunmasına rağmen, kalsiyum hem hücre dışı hem de hücre içi boşluklarda kritik bir katyondur. İskeletteki kalsiyumun yaklaşık %1'i hücre dışı sıvı bölmesindeki kalsiyum ile serbestçe değiştirilebilmektedir. Serum kalsiyum konsantrasyonu her iki boşlukta da çok dar bir aralıkta tutulmaktadır. Kalsiyum, sinir uyarı iletimi, kas kasılması, kan pıhtılaşması, hormon

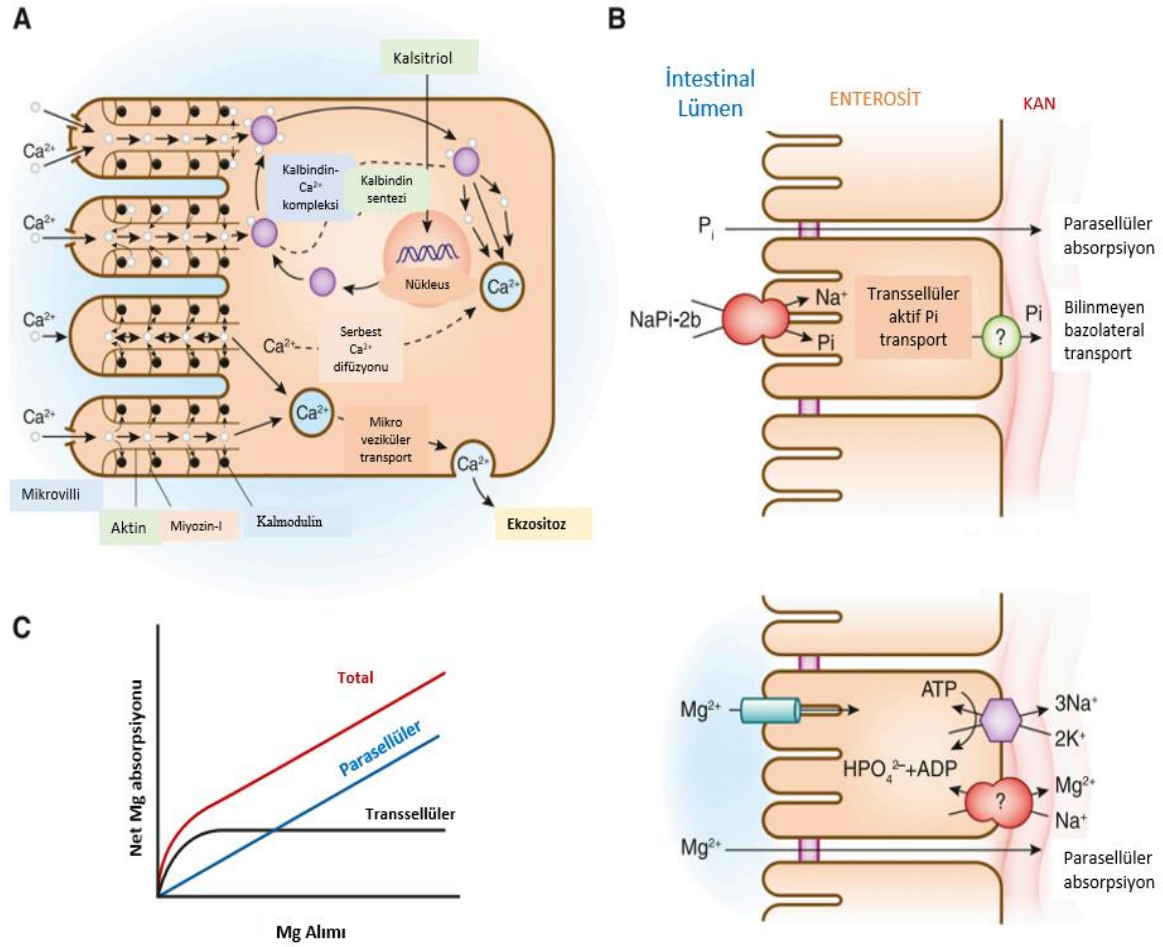
salgılanması ve hücreler arası adezyonda hayati rol oynamaktadır (Hebert ve Brown, 1996; Kumar, 1995).

1.18. Kalsiyumun Gastrointestinal Absorpsiyonu

Kalsiyum dengesi, kalsiyum ihtiyacı üzerine salınan kalsiotropik hormonların kontrolü altında bağırsakta kalsiyum Emilimi, böbrekte yeniden emilim ve kemik değişimi ile sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (Şekil 1.5.A). Sağlıklı yetişkinlerde her gün yaklaşık 800-1000 mg kalsiyum alınmalıdır. Bu miktar, tüketilen süt ürünü miktarına göre değişmektedir. Diyetle 1 gr kalsiyum alındığında yaklaşık 800 mg feçes ve 200 mg idrarda atılmaktadır. Normal 1000 mg diyetle alınan kalsiyumun yaklaşık 400 mg'ı bağırsak tarafından emilir ve bağırsak salgıları yoluyla günlük kalsiyum kaybı yaklaşık 200 mg'dır. Bu nedenle, net kalsiyum Emilimi yaklaşık 200 mg/gün'dür (%20). Serum kalsiyum seviyeleri kemik rezorpsiyonu ile normal aralıkta tutulabilmesine rağmen, vücudun kemikteki kalsiyum depolarını doldurabileceği tek kaynak diyet ile alımıdır. Kalsiyum hemen hemen sadece duodenum, jejunum ve ileum içinde emilmektedir (Johnson ve Kumar, 1994).

Kalsiyumun bağırsak Epitelinden emilmesinin iki yolu vardır: paraseleler yol (hücreler arasında) ve transseleler yol (hücre içinden) (Şekil 1.6.A). Paraseleler yol pasiftir ve kalsiyumun lümen konsantrasyonu yüksek olduğunda, kalsiyum Emiliminin baskın yoludur. Paraseleler yol dolaylı olarak $1,25(OH)_2D$ 'den etkilenmektedir, çünkü protein kinaz C'nin aktivasyonu ile hücre içi sıkı bağlantıların yapısını değiştirebilmektedir ve sıkı bağlantı noktasını kalsiyum hareketine daha geçirgen hale getirebilir. Bununla birlikte, $1,25(OH)_2D$ esas olarak aktif kalsiyum Emilimini kontrol eder. Kalsiyum, konsantrasyon gradyanını bir kalsiyum kanalından mikrovillusların apikal bölümüne doğru hareket ettirmektedir. Lüminal kalsiyum konsantrasyonu genellikle hücre içi kalsiyum konsantrasyonundan çok daha yüksek olduğundan, büyük bir konsantrasyon gradyanı, kalsiyumun pasif hareketini kolaylaştırmaktadır. Kalsiyum, kalmodulin-aktin-miyozin I kompleksine hızla ve *reversible* şekilde bağlanır. Kalsiyum, mikroveziküler taşıma yoluyla hücrenin bazolateral bölgesine hareket eder. Kalmodulinaktin-miyozin I kompleksi kalsiyum ile doygun hale geldikçe, konsantrasyon gradyanı daha az elverişli hale gelir ve bu da kalsiyum Emilimini yavaşlatır. $1,25(OH)_2D$, kalbindin sentezini artırmak için bağırsak Epitel hücreleri üzerinde etki yapar. Kalsiyum kalbindine bağlanır, böylece kalsiyum kalmodulin komplekslerini boşaltır ve daha sonra mikrovilli bölgesinden kalsiyumu uzaklaştırır. Kalsiyum konsantrasyonundaki bu azalma yine kalsiyumun mikrovillilere hareketini kolaylaştırır. Kalbindin-kalsiyum

kompleksi ayrışırken, serbest hücre içi kalsiyum, hücre sodyum-kalsiyum (Na-Ca) değiştiricisinden aktif olarak çıkarılır (Keller ve Schinke, 2013; Kumar, 1995).



Şekil 1.6. Kalsiyum, fosfor ve magnezyum emilimi. A.) Bağırsak epitelinde kalsiyum emilimi için önerilen yollar. Ca^{2+} 'un bağırsak epitelinden emilmesi için iki yol vardır: parasellüler yol ve transsellüler yol. B.) Bağırsak epitelinde fosfor (P_i) emilimi için önerilen yollar. NaPi2b, P_i 'nin aktif hücre içi taşınmasına aracılık eder. Parasellüler bir yolun da var olduğuna inanılmaktadır. C.) Bağırsak epitelinde Mg emilimi için önerilen yollar. Apikal absorpsiyona TRPM6 / TRPM7 kanalı aracılık eder, oysa bazolateral çıkış, henüz tam olarak tanımlanmamış bir Mg değiştirici tarafından gerçekleşir. Parasellüler bir yolun da var olduğuna inanılmaktadır. TRPM, geçici reseptör potansiyeli melastatin (Blaine ve ark., 2015).

1.19. Kalsiyum'un Düzenlenmesi

Toplam serum kalsiyumu iyonize, proteine bağlı ve kompleks fraksiyonlardan oluşmaktadır (sırasıyla yaklaşık %50, %40 ve %10). Kompleksleşmiş kalsiyum, fosfat ve

sitrat gibi moleküllere bağlanmaktadır. Ultra filtrelenebilir kalsiyum, iyonize ve kompleksleşmiş fraksiyonların toplamına eşittir. Toplam serum kalsiyumu yaklaşık 8,9-10,1 mg/dL'dir (yaklaşık 2,2-2,5 mmol/L). Kalsiyum, albümin ve globülinlere bağlanabilmektedir. Serum albüminindeki her 1.0 g/dL azalma için, toplam serum kalsiyumu 0,8 mg/dL azalmaktadır. Serum globulin fraksiyonundaki her 1,0 g/dL azalma için, toplam serum kalsiyumu 0,12 mg/dL azalır. Akut alkaloz, iyonize kalsiyumu azaltmaktadır. Hem hidrojen iyonları hem de kalsiyum, metabolik alkaloz varlığında serum albümine bağlandığından, bağlı hidrojen iyonları albüminden ayrışır, albümini daha fazla kalsiyum ile bağlanması için serbest bırakır ve böylece toplam serum kalsiyumunun serbestçe iyonize edilmiş kısmını azaltır. pH'daki her 0,1 değişiklik için, iyonize kalsiyum 0,12 mg/dL değişir (Friedman ve Gesek, 1995; Rizzoli ve Bonjour, 2006).

1.20. Renal Kalsiyum'u Düzenleyen Hormonal ve Diğer Faktörler

Birçok fizyolojik, farmakolojik ve patolojik faktör renal kalsiyum Emilimini etkiler (Tablo 1.2). En önemli düzenleyici, kalsiyum Emilimini uyarıcı PTH'dur. PTH, iyonize kalsiyumun plazma konsantrasyonundaki azalmaya yanıt olarak paratiroid bezinden salgılanan bir polipeptittir. Bu nedenle paratiroid bezinin temel fizyolojik rolü kalsiyum homeostazını düzenlemektir.

PTH, kalsiyumun plazma konsantrasyonunu üç şekilde arttırmaktadır: (1) kemikten çözünmesini uyarır, (2) böbrekte 1,25(OH)₂D oluşumunu teşvik ederek bağırsak kalsiyum ve fosfat Emilimini artırır ve (3) aktif renal kalsiyum Emilimini artırır. Bu etkiler sonucu, serum kalsiyum konsantrasyonundaki küçük değişiklikler PTH sekresyonunu azaltır. PTH salgılanması, hücre dışı kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası seviyede sıkı bir şekilde düzenlenir. Aslında, PTH gen transkripsiyonu hipokalsemi, glukokortikoidler ve östrojen ile artar. Hiperkalsemi, PTH'nun hücre içi yıkımını artırabilmektedir. PTH salınımı hipokalsemi, adrenerjik agonistler, dopamin ve prostaglandin E2 tarafından artmaktadır. Serum kalsiyumundaki değişiklikler, paratiroid hücrelerinin hücre zarında lokalize olan CaSR (kalsiyum algılama/duyarlı reseptörü) tarafından algılanmaktadır. Bu reseptör, plazma kalsiyum konsantrasyonundaki değişikliklerin paratiroid bezi tarafından algılanmasına izin vererek PTH sekresyonunda istenen değişikliklere yol açmaktadır (Goodman ve Quarles, 2008).

Tablo 1.2. Kalsiyumun Renal Regülasyonunu Değiştiren Faktörler

Kalsiyum Emilimi Artar	Kalsiyum Emilimi Azalır
Hiperparatroidizm	Hipoparatroidizm
Kalsitriol	Düşük kalsitriol düzeyi
Hipokalsemi	Hiperkalsemi
Hacim daralması	Hücre dışı sıvı genişlemesi
Metabolik alkaloz	Metabolik asidoz
Tiyazid diüretikler	Kıvrım diüretikler

1.21. Kalsiyum Dengesindeki Değişikliklerin Klinik Sonuçları

Hipokalseminin ana nedenleri şu şekilde kategorize edilebilir: (1) PTH eksikliği (örn., Kalıtsal veya edinilmiş hipoparatiroidizm), (2) D vitamini eksikliği (örn. Diyet yetersizliği veya malabsorpsiyon, yetersiz güneş ışığı ve karaciğer ve böbrek hastalığı), (3) artmış kalsiyum kompleksasyonudur (örneğin, kemik açlığı sendromu, rabdomiyoliz, akut pankreatit, tümör lizis sendromu) (Drüeke ve Lacour, 2007). Düşük serum kalsiyumu hem PTH sentezini hem de salınımını uyarmaktadır. Hem hipokalsemi hem de PTH, nefronun proksimal tübül hücrelerinde 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesini artırarak 1,25(OH)₂D sentezini artırır. PTH, osteoklast tarafından kemik erimesini artırmaktadır. Ek olarak, PTH ve 1,25(OH)₂D, distal kıvrımlı tübülde kalsiyum geri emilimini uyarmaktadır. 1,25(OH)₂D, diyetle alınan kalsiyumun gastrointestinal sistem tarafından fraksiyonel emilimini artırır. Tüm bu mekanizmalar, serum kalsiyumunun normal seviyelere dönmesine yardımcı olmaktadır.

Hiperkalseminin önemli nedenleri arasında aşırı PTH üretimi (örn., Birincil hiperparatiroidizm), aşırı 1,25(OH)₂D (örn., D vitamini intoksikasyonu, sarkoidoz), artmış kemik rezorpsiyonu (örn. Metastatik osteolitik tümörler, humoral hiperkalsemi, immobilizasyon, Paget hastalığı), kalsiyumun bağırsaktan emiliminde artış (örneğin, süt-alkali sendromu), kalsiyumun böbrek atılımında azalma (örneğin, tiazidler) ve bozulmuş kemik oluşumu (örneğin, adinamik kemik hastalığı) bulunmaktadır. Yüksek serum kalsiyumu, PTH sentezini ve salınımını inhibe eder. PTH ve hiperkalsemideki azalmaların, 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesini azalttığı ve bunun da 1,25(OH)₂D sentezini azalttığı bilinmektedir. Hiperkalsemi ayrıca tiroid bezindeki kalsitonin sentezini artıran C hücrelerini uyarmaktadır. Osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu, artan kalsitonin ve azalan PTH

ile bloke edilir. 1,25(OH)₂D'deki azalma, diyetle alınan kalsiyumun gastrointestinal sistem emilimini azaltır. Düşük PTH ve 1,25(OH)₂D seviyeleri de distal kıvrımlı tübülde kalsiyum yeniden emilimini inhibe ederek renal kalsiyum atılımını artırır (Ferrè ve ark., 2012; Houillier, 2013; Paul Lips ve Van Schoor, 2011; Riccardi ve Brown, 2010).

1.22. İkincil Hiperparatiroidizm

Fizyolojik koşullar altında PTH, serum kalsiyumunu korumakta, fosfor atılımını arttırmakta ve 1,25(OH)₂D üretimini uyarmaktadır. Bununla birlikte, böbrek fonksiyonu azaldıkça PTH yükselmektedir. GFR'deki bir azalma, serum fosfor ve FGF23 seviyelerinde artışa neden olur, bu da sonuç olarak 1- α -hidroksilaz aktivitesini ve 1,25(OH)₂D sentezini azaltmaktadır. 1,25(OH)₂D serum konsantrasyonlarında azalma, serum kalsiyum düzeylerini düşürmekte ve ikincil hiperparatiroidizm meydana gelmektedir (Goodman ve Quarles, 2008). FGF23'ün üremik olmayan bir ortamda PTH'yi baskıladığı bilinmesine rağmen, paratiroid bezi ilerleyici böbrek hastalığı ile FGF23'e dirençli hale gelir ve PTH salınımını ve sekonder hiperparatiroidizmin kötüleşmesini destekler (Ben-Dov ve ark., 2007). Bu nedenle, 1,25(OH)₂D ve artan FGF23 eksikliği, artan PTH üretiminin devam etmesine izin vermektedir.

PTH ve D vitamini, mineral metabolizmasının ana düzenleyicileridir ve PTH, 1,25(OH)₂D sentezini uyarır, bu da paratiroid bezleri üzerinde negatif geri bildirim uygulamaktadır (Khundmiri ve ark., 2016; Metzger ve ark., 2013). Kemik ve mineral hastalığı ve kronik böbrek hastalığının (KBH) tanı ve tedavisinde PTH konsantrasyonları rutin olarak ölçülmektedir ("K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease.," 2003; Moe ve Drüeke, 2009); bununla birlikte, PTH için hedef aralık, dolaşımdaki D vitamini durumuna bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir (Cavalier ve ark., 2012; Lee ve ark., 2015).

Yüksek PTH sekresyonu D vitamini eksikliği ile ilişkilidir (Forrest ve Stuhldreher, 2011; Khundmiri ve ark., 2016; Metzger ve ark., 2013). PTH için doğru referans aralıkları, primer hiperparatiroidizm ve son dönem böbrek hastalığı gibi durumların teşhisini kolaylaştırabilmektedir (Cantor ve ark., 2006; Eastell ve ark., 2014; Souberbielle ve ark., 2017; Souberbielle ve ark., 2003).

1.23. Referans Aralık Tanımlamaları

Referans aralıklar sağlık ve laboratuvar uzmanları tarafından hasta laboratuvar test sonuçlarını yorumlamak için kullanılan, sağlıklı ve sağlıksız bireyleri ayırmak için başvurulan temel araçtır (Özarda, Higgins ve Adeli, 2019). Toplumun tanınması ve hızla artan testlerin yorumlanmasında kolaylık sağlaması açısından referans aralıkların belirlenmesi önemlidir (İlçöl-Özarda ve Aslan, 2004).

Avrupa Birliği'nin tıbbi cihazlarındaki yönergesi, tanı üreticilerinin, test platformları ve reaktifleriyle kullanım için uygun referans aralıkları sağlamaları gerektiğini ve klinik laboratuvar akreditasyonu için Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) 15189 standardı, her bir laboratuvarın kendi referans aralıklarını periyodik olarak yeniden değerlendirmesi gerektiğini belirtmektedir (International Organization for standardization, 2012; Parliament, Of ve Union, 1998).

Popülasyon, diyet, teknik ve referans grubun seçiminin farklılığı dikkate alındığında her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi oldukça önemlidir (Young, 1992). Her laboratuvarın kendi referans aralıklarını hesaplaması zor olduğundan bir çok laboratuvar üretici firmanın referans aralıklarını kullanmaktadır (Gräsbeck, 1990).

Referans değer: Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS) ilgili dokümanında bir referans bireyde yapılan özel ölçümler veya gözlemler yolu ile elde edilen veriler olarak tanımlanmaktadır (Bakan, 2011; CLSI C28-A3, 2008; Horowitz, 2012; Ichihara ve Boyd, 2010). Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (IFCC) ise belirli bir kantite için tanımlanmış tek bir bireyden veya gruptan elde edilen veriler şeklinde tanımlamaktadır (Aslan, 2005).

Referans birey: Sağlık durumuna göre iyi tanımlanmış kriterler dikkate alınarak seçilmiş bireyi ifade etmektedir.

Referans örnek grubu: Referans popülasyonu temsil etmek üzere seçilen yeterli sayıda kişiyi belirtmektedir.

Referans popülasyonu: Genellikle bilinmeyen sayıda üyeye sahip, tüm referans bireylerden oluşan bir grup olarak ifade edilmektedir.

Referans aralık: Alt referans sınır ile üst referans sınır arasında kalan değerler olarak belirlenmiştir.

Referans dağılım: İstatistiksel yöntemler uygulanarak test edilebilen referans değerlerin dağılımını göstermektedir.

Referans limit: Referans dağılımından türetilen ve tanımlayıcı amaçlar için kullanılan değerdir.

Gözlemlenen değer: Bireylerin laboratuvar test sonuçlarını ifade etmektedir. Test edilen bireyin gözlem veya ölçüm sonucu elde edilen, referans değerler, referans dağılımları, referans limitleri veya referans aralıkları ile karşılaştırılacak belirli bir değeridir (CLSI, 2010).

1.24. Referans Bireylerin Seçim Yöntemleri

Referans aralıkların belirlenmesi için referans bireylerin mutlaka genç yetişkinler olması gerekmez. Aslında birçok durumda yaşa bağlı referans aralıkların klinik olarak daha uygun olabileceği öne sürülmektedir. Bununla birlikte, laboratuvar değerlerindeki yaşa bağlı bazı değişikliklerin sağlığı temsil etmeyebileceği de kabul edilmektedir (örneğin, geriyatrik hastada alkalik fosfatadaki artışlar).

Referans bireylerin belirli ve iyi tanımlanmış kriterler kullanılarak bir referans popülasyondan seçildiği direkt örnekleme tekniklerinin kullanımı kuvvetle desteklenmektedir. Bu kriterler numuneler toplanıp analiz edilmeden önce uygulandığında, buna *a priori* (test öncesi örnekleme) denir. Numune toplandıktan sonra aynı kriterler uygulanırsa, buna *posteriori* (test sonrası örnekleme) denir. Bazı durumlarda (örneğin, pediatri), direkt örnekleme tekniklerinin kullanılmasının zor olabileceği de kabul edilmektedir. Bu gibi durumlarda bazı araştırmacılar, bireylerin dikkate alınmadığı ancak bir veri tabanındaki değerlere belirli istatistiksel yöntemlerin uygulandığı indirekt tekniklerin kullanımını savunmaktadır.

Direkt yöntem: *A priori* örnekleme, referans bireylerin seçiminden önce iyi tanımlanmış dışlama kriterlerinin uygulandığı bir yöntemdir (CLSI, 2010). Analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve çok iyi biliniyorsa bu yöntem tercih edilmektedir. İleriye dönük ayıklama yapılmaktadır (Enli, 2001; İlçöl ve Aslan, 2004). Literatürden elde edilen bilgiler doğrultusunda çalışma için uygun dışlama kriterleri listesi oluşturulur. Bu kriterler

oluşturulduktan sonra, belirli kişileri örnekleme sürecinden çıkarmak ve seçilen kişileri alt gruplarına ayırmak için bir anket geliştirilir. Tüm bu süreç, herhangi bir kan örneği alınmadan önce gerçekleştirilir. Analiz için seçilen referans bireylerin sayısı, istatistiksel anlamda geçerli olmak için yeterli sayıda olmalıdır. *Posteriori* örneklemede, hariç tutma süreci farklı bir sırada gerçekleşir. Test sonrası örnekleme yaklaşımı, özellikle yeni veya yetersiz çalışılmış ve literatürün çok az bilgi içerdiği laboratuvar prosedürleri için uygun olabilir. Bir alt sınıfı tanımlayan faktörler başlangıçta bilinemeyeceğinden, bu yaklaşıma yönelik anketin, test öncesi örnekleme süreci için tasarlanandan daha kapsamlı olması gerekebilir.

İndirekt yöntem: İndirekt örnekleme tekniklerinde, referans aralıklarını belirlemek için bir veri tabanından (örneğin standart bir laboratuvar bilgi sistemi) laboratuvar değerleri kullanılır. Bu teknikler, sağlıklı deneklerden (örneğin pediatri) numune toplamanın çok zor olduğu durumlarda kullanılır. Bu yaklaşım daha basit ve daha ucuz olmasına rağmen, veri tabanında bulunabilecek sağlıklı bireylerin verilerini de içerebileceğinden ekstra önlemler alınmalıdır.

İndirekt yöntemde, hastane ve klinik hastalarında bile çoğu sonucun "normal" görüldüğü gözlemlerle doğrulanan varsayıma dayanmaktadır. Sağlıklı bireylerden gelen değerleri hariç tutmak için çeşitli yöntemler kullanılır ve hastane verilerinden referans değerleri çıkarmak için istatistiksel yaklaşımlar mevcuttur (Baadenhuijsen ve Smit, 1985; Bock ve ark., 2003; Ferré-Masferrer, Fuentes-Arderiu ve Puchal-Añé, 1999; Grossi, Colombo, Cavuto ve Franzini, 2005; Hoffmann, 1963; Kouri ve ark., 1994). Birçok çalışmada, referans aralıkları belirlemek için tüm yatan hastalardan (veya tüm ayaktan hastalardan) alınan veriler kullanılır (Baadenhuijsen ve Smit, 1985; Hoffmann, 1963). Ancak teknikler belki de nispeten sağlıklı bireylerden alınan veriler kullanılarak daha uygun bir şekilde kullanılmaktadır.

İndirekt yöntemlerle oluşturulan referans aralıkları kaba tahminler olarak kabul edilmelidir, çünkü verilerin çoğunun referans bireylerden geldiğine dair temel varsayım doğru olmayabilir. Mümkün olduğunda, referans aralıklarını belirlemek ve doğrulamak için indirekt yöntemler yerine direkt yöntemlerin kullanılması önerilmektedir (CLSI, 2010).

IFCC ve NCCLS önerilerine göre referans aralıkları belirlemek için bazı gereklilikler vardır. Bu gereklilikler şöyle sıralanmaktadır:

- Referans bireylerin seçimi için dahil etme veya dışlama kriterlerinin oluşturulması,
- Anket formunun tasarlanması,
- Referans aralıkları belirlenecek analitin özelliklerine göre soru eklenmesi,
- Laboratuvarın hazırlanması,
- Analitik kontrolün değerlendirilmesi ve sürdürülmesinin sağlanması,
- Belirlenen kriterler dikkate alınarak verilerin toplanması,
- Verilere ait dağılım grafiklerinin oluşturulup incelenmesi ve verilerin istatistiksel olarak analiz edilmesi,
- Parametrik veya nonparametrik yöntemlerden uygun olanın seçilip referans aralıklarının belirlenmesi aşamalarıdır.

1.25. Referans Sınırların Saptanması

Referans aralıkları parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerle, NCCLS ve IFCC önerilerine göre hesaplanmaktadır (Aslan, 2000; NCCLS C28-A, 1995; Solberg, 1987b). NCCLS parametrik olmayan yöntem ile referans aralıkların hesaplanmasını önerirken, IFCC hem parametrik hem de nonparametrik yöntem kullanılarak referans aralıkların hesaplanmasını önermektedir (Ash ve ark., 1983; Aslan, 2000; Jørgensen ve ark., 2001; NCCLS C28-A, 1995; Solberg, 1987b).

Referans aralıkları parametrik ve nonparametrik olarak hesaplamak için, örneklem büyüklüğüne ve verilerin temel dağılımına bağlı olarak çeşitli istatistiksel yöntemler kullanılabilir (Daly, Higgins, Adeli, Grey ve Hamid, 2017).

Referans bireylerden elde edilen veriler gerçekte Gaussian dağılımına uymamaktadır. Bu nedenle, parametrik ve nonparametrik yöntemin verilerin dağılımına bağlı olarak birbirlerine göre üstünlükleri bulunmaktadır (Lahti, Hyltoft Petersen, Boyd, Fraser ve Jørgensen, 2002).

Dağılımlar değerlendirilirken dağılımdan uzaklaşmış aşırı uç değerler hesaplamalara alınmamalıdır, bu aşırı uç değerler sonuçları olumsuz etkilemektedir (Enli, 2001). Referans kitlesinin dağılımında uç değerlerin bulunup, çıkarılması için bazı metotlar geliştirilmiştir (Toprakçı, 2000).

Dixon metodu ile aşırı uç değerlerin aranması: Bu metotta en küçükten en büyüğe doğru veriler sıralanmalıdır. Alt ve üst noktadaki uç değerler Dixon formülü ile tespit

edilmektedir (Toprakçı, 2000). Dixon'un önerdiği D/R oranına göre karar vermek için kestirim değeri, 1/3 olarak kabul edilmektedir.

$$D/R=1/3 \quad \text{veya} \quad D/R>1/3$$

D=Aşırı uç değer - ona en yakın değer R=Tüm veriler arasındaki aralık değeri

D/R kuralına göre, D değeri R değerinin 1/3'üne eşit veya 1/3'ünden büyük ise, test edilen veri hesaba katılmaz. Her çalışma dışı bırakılan veriden sonra bu işlem tekrar edilerek uç değerler ayıklanmaktadır. D/R kuralına zıt görüşler olsa bile, D/R kuralının ve kestirim değerinin nonparametrik yöntemle yapılan hesaplamalarda faydalı olduğu gözlenmektedir ve NCCLS'nin standardında mevcuttur (Aslan, 2000; Dixon, 1953).

Standart sapmanın kullanılmasıyla aşırı uç değerlerin saptanması: 120'den daha fazla veri olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Özellikle nonparametrik testlerde ve indirekt yöntemle elde edilen veriler için kullanılmaktadır. Dağılımda $\pm 4SD$ aşan değerler dışlanmaktadır. Bu yöntem GraphROC referans aralık hesaplama programında da bulunmaktadır ve programın yazarı tarafından önerilmektedir (Balcı, 2006; Kairisto ve Poola, 1995; Kalafat, 2008).

Klinik laboratuvar testleri yorumlanırken iki sınır değer arasındaki referans aralıklarıyla karşılaştırılmaktadır. Bu aralıklar farklı yöntemlerle hesaplanabilmektedir. Üç çeşit referans aralık önerilmektedir. Bunlar; yüzdeler arasındaki aralık, tolerans aralığı ve öngörü aralığıdır (Aslan, 2005).

Referans aralıkların hesaplanması için IFCC tarafından önerilen yüzdeler arasındaki aralık en kolay yöntemdir. Yüzdeler arasındaki aralık, referans dağılımın iki yüzdeliğiyle belirlenen aralık olarak tanımlanmaktadır. Yüzdeler referans, dağılımı bölen bir düzeydir. Bu düzeyin yeri temsil ettiği yüzde değerdedir veya onun sınırladığı değer altındadır.

Referans aralık değerleri %2,5 ve %97,5 düzeyleri arasında kalan %95'lik merkezi güven aralığıdır. Bu alanın hangi kritere göre seçildiği tam anlamıyla bir temele dayandırılmamaktadır. Ancak kabul görmektedir (Aslan, 2005).

Yüzdeler arasındaki aralık ile hesaplama yapabilmek için iki temel istatistiksel yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler, parametrik ve nonparametrik yöntemlerdir. Bu iki yöntem kendi içinde birçok modifiye yöntem içermektedir. Modifikasyonlar, yöntemin gücünü artırmaktadır ve daha düşük veri sayılarında anlamlı sonuçlar elde etmeyi

sağlamaktadır. Özellikle normal dağılıma uymayan biyolojik verilerde nonparametrik yöntemler tercih edilmektedir. Fakat bu yöntemlerin dezavantajı daha yüksek sayıda veriye ihtiyaç olmasıdır (Aslan, 2000).

Parametrik yöntemde güven aralıkları ve yüzdeler hesaplanırken dağılımın belirli tipte olduğu varsayılmaktadır ve hesaplamalarda ortalama ve standart sapma gibi parametreler kullanılmaktadır. Referans dağılım normal dağılım göstermiyorsa, verilerin logaritmik transformasyonu yapılır, transformasyon sonunda dağılımın normal olması beklenmektedir.

1.26. Parametrik Yöntemler

Parametrik yöntem nonparametrik yöntemden daha karmaşıktır ve veri sayısı yüksek olduğunda bilgisayar istatistik programları gerekmektedir. Parametrik yöntemde yüzdelerin hesaplanmasında dağılımın normal olduğu varsayılır. Bu nedenle parametrik yöntemde, verilerin dağılımının hipotetik Gaussian dağılımına göre uyum iyiliği testi ile değerlendirilmesi gerekliliği kritik aşamadır. Uyum iyiliği testini gerçekleştiren birçok istatistik program bulunmaktadır (Kolmogorov-Smirnov testi, çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı test veya Anderson-Darling testi gibi).

Referans bireylerden elde edilen veriler normal dağılım gösteriyorsa, 2,5 ve 97,5 yüzdeler ortalamının her iki tarafına standart sapma eklenerek hesaplanmaktadır.

2,5 yüzdeler = Ortalama $-1,96 \times SD$,

97,5 yüzdeler = Ortalama $+ 1,96 \times SD$ formülleri kullanılarak hesaplanmaktadır.

Referans veriler normal dağılıma uymuyor ise, matematiksel transformasyon ile normal dağılıma uyması sağlanabilmektedir. Sağa çarpık (pozitif çarpıklık) dağılımların logaritmik transformasyonlarının daha çok normal dağılıma uyum gösterdiği görülmektedir. Diğer durumlarda karekök transformasyonların daha uyum sağladığı gözlenmektedir. Bu iki transformasyon sonucunda yine normal dağılıma uyum sağlamıyorsa başka transformasyonlar denenebilmektedir. Bu konuyla ilgili birçok yayın bulunmaktadır (Aslan, 2005).

Parametrik yöntemlerle elde edilen güven aralıkları nonparametrik yöntemlerin güven aralıklarından daha dar bulunmaktadır. Böylece daha net bir yaklaşımda bulunmaktadır (Kalafat, 2008; Linnet, 1987; Toprakçı, 2000). Bazı yazarlar referans aralık belirlemede

parametrik yöntemin kullanılmasının daha uygun olduğunu ileri sürmektedir (Boyd ve Lacher, 1982; Kalafat, 2008; Toprakçı, 2000).

1.27. Non-Parametrik Yöntemler

Bu yöntemler normal dağılımın olmadığı durumlarda tercih edilmektedir. Özellikle hastane kayıtlarından temin edilen veri setlerinde kullanılmaktadır. Her bir alt grup için veri sayısının en az 120 olması gerekmektedir. 120'nin altındaki veri setlerinde ise modifiye yöntemler kullanılmaktadır. En çok kullanılan yöntem nonparametrik yüzde tahmini yöntemidir. Bu yöntemle alt ve üst değerler kesin olarak belirlenmektedir. Modifiye yöntemlerin çoğu bu yöntemi baz almaktadır. Burada dağılımın %95'lik kısmını kapsayan %2,5 ile %97,5'lük alana eşdeğer noktalar aranmaktadır. Küçükten büyüğe doğru veriler sıralanır ve aşağıdaki formüller kullanılmaktadır:

$$\text{Alt değer} = 0,025 \times (n+1)$$

$$\text{Üst değer} = 0,975 \times (n+1)$$

Bu formüllerde n , veri sayısını göstermektedir. Eğer sonuç küsuratlı çıkarsa yuvarlama yapılmaktadır. Örneğin, 3,5 çıkan bir alt değer 4'e yuvarlanır ve 4. sıradaki veri, dağılımın alt noktası olarak tanımlanmaktadır, aynı şekilde üst nokta da belirlenebilmektedir (Balcı, 2006; Solberg, 1987b).

Başka bir yöntem Wilks tarafından tanımlanmış olan nonparametrik tolerans aralığı yöntemidir (Wilks, 1942). Küçükten büyüğe doğru veriler sıralanır ve sıra numaralarına eşdeğer olan değerler veri sayısı ve güven aralığına göre bu tablolardan çıkartılır (Somerville, 1958).

Diğer bir yöntem Bhattacharya yöntemidir. Bu yöntem kullanılarak da referans aralıklar saptanabilmektedir. Buna göre, seçilmemiş birey verilerinin çoğunluğunun olduğu bölüm, sağlıkla ilişkili verilerden oluşmaktadır. Eğer hasta ve sağlıklı grupların verileri birbiri içine girmemişse, hastalıkla ilişkili veriler ile sağlıkla ilişkili veriler birbirinden matematiksel olarak ayrılabilir. Sağlıkla ilişkili veriler, "gama fonksiyon" diye adlandırılan bir işlemle, hastalıkla ilişkili verilerden ayrılmaktadır. Bu işlemde, analitler için elde edilen verilerin histogram grafikleri çizilmektedir. Histogram grafiklerinden faydalanılarak, logaritmik bazı hesaplamalar sonucu elde edilen noktalardan, doğrusal özellik gösteren aralıktakiler sağlıkla ilişkili veriler olarak kabul edilmektedir. Sağlıkla

ilişkili verilerin aritmetik ortalamasının ± 2 standart sapma uzaklığindeki veriler, referans aralık alt ve üst sınırları olarak saptanmaktadır (Baadenhuijsen ve Smit, 1985; Bhattacharya, 1967).



2.AMAÇ

Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarında geriye dönük D vitamini ve Mg değerleri incelendiğinde, mevcut referans değerlerine göre Türk toplumunda cinsiyet fark etmeksizin hasta sonuçlarının büyük bir kısmının düşük olduğu gözlemlenmektedir. D vitamini eksikliği altında genetik faktörler ve çevresel faktörler (beslenme ve güneşten yararlanma vb.) gibi etkiler olmakla birlikte ölçüm yapılan kitlerin referans aralıklarının yurtdışı bireylere göre belirlenmiş olmasının etkileri olabileceği düşünülmektedir. Genel kanı, biyokimyasal her parametrede her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesidir. Çalışmamızda Kocaeli ili ve çevresi için referans aralık belirlemek için toplumda sıklıkla eksikliği/yetersizliği görülen D vitamini ele alınmıştır. D vitamini ile ilişkili olduğu bilinen Ca ve P düzeylerinin de ölçümü yapılarak aralarındaki korelasyona bakılacaktır. Ayrıca, D vitamini ile metabolik ilişkisi bulunan PTH ve Mg'nin de ölçümleri yapılarak referans aralıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmamızın özgünlüğü, bugüne kadar Kocaeli ili ve çevresinde D vitamini, PTH ve Mg için referans aralık belirleme çalışması yapılmamış olmasıdır. Çalışmamızın sonucunda, yeni referans değerleri ile hekimlerin, bölge insanında D vitamini, magnezyum düzeyleri açısından daha doğru değerlendirme yapmalarını sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

3.YÖNTEM

Çalışmamız Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 07.08.2019 tarih, 2019/191 nolu onayı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü kararı ile gerçekleştirilmiştir (EK-1).

3.1. Çalışma Planı

CLSI'nin EP28-A3C tavsiyeleri doğrultusunda Kocaeli İli ve çevresi için D vitamini, Mg ve PTH testlerinin referans aralıklarının belirlenebilmesi için gerekli literatür taraması yapılmıştır. Direkt yöntemle yapılan bu çalışmada bireylere çalışma hakkında bilgi verilip, gönüllü olan bireylerden aydınlatılmış onam formunu (EK-2) okumaları ve uygun gördükleri takdirde imzalamaları istenmiştir. Dışlama kriterleri (EK-3) sorgulanarak uygun bireylerden anket formunu (EK-4) doldurmaları istenmiştir. D vitamininin güneş etkileşimli olmasından ötürü güneşe maruziyeti engelleyecek giyim şekline sahip kişiler çalışmaya dahil edilmemiştir.

NCCLS'nin ilgili dokümanında belirttiği üzere, parametrik olmayan yöntemlerde %90 güven aralığı için 120 bireyin yeterli olacağı ileri sürülmüştür. Bu nedenle çalışmamıza 18-60 yaşları arasında yaz ve kış mevsimlerinin her biri için kendini sağlıklı beyan eden ve dışlama kriterleri sonucu uygun olan 120 (63 kadın, 57 erkek) birey dahil edilmiştir. Katılımcı sayısı az olduğundan bireyler yaşa göre gruplandırılmamıştır.

Sağlıklı bireylerin seçimi toplumu yansıtabilmek adına, Kocaeli ilinden ve farklı mahallelerinden Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Eğitim Hastanesi'ne gelen hasta yakınlarından ve KOÜ hastane personellerinden yapılmıştır. 2020 yılı Haziran-Ağustos aylarında yaz mevsimi için gönüllü olan aynı kişilerden 2020 yılı Aralık-2021 yılı Ocak-Şubat aylarında kış mevsimi için de örnek alınmıştır. Yazın alınan örneklerde sadece D vitamini çalışılmıştır. Kışın alınan örneklerde ise hem D vitamini hem de PTH, Mg, Ca ve P testleri çalışılmıştır.

Gönüllülerden 10-12 saatlik açlık sonrası 08.00-10.00 saatleri arasında dinlenmiş ve oturur pozisyonda kırmızı kapaklı düz tüpe 3 ml kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri koagülasyonun gerçekleşmesi için 25 dk bekletildikten sonra 10 dk 3500 rpm'de santrifüj

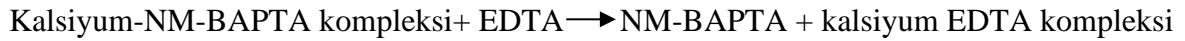
edilip serum kısmı ayrılmıştır. Elde edilen serum örnekleri numaralandırılarak ependorflara alınıp çalışılacak güne kadar -80 °C soğutucu dolapta muhafaza edilmiştir. Çalışma günü tam çözülme olması için örnekler oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Ependorflar vorteksenerek, örnekler otoanalizöre uygun olan tüplere alınıp çalışılmaya hazır hale getirilmiştir. Bu serumlarda D vitamini, Ca, Mg, P ve PTH analizleri Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarında yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar, Kitler ve Ölçüm Prensipleri

Çalışmamızdaki veriler Roche Cobas-8000 cihazında c702 modülünde (Ca, Mg ve P testleri) ve e801 modülünde (PTH testi) çalışılarak elde edilmiştir. Testlerin çalışılmasında orijinal kitler kullanılmıştır. Vitamin D örnekleri IDS Analyzer IDS-ISYS (Roma-İtalya) cihazında, IDS-iSYS 25 VitD^S kiti ile kemilüminesans yöntemine göre çalışılmıştır.

- Ca²⁺ için test yöntemi;

Kalsiyum iyonları, alkali koşullar altında 5-nitro-5'-metil-BAPTA (NM-BAPTA) ile reaksiyona girerek bir kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleks, daha sonra EDTA ile reaksiyona girer.



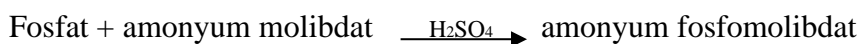
Absorbanstaki değişim, kalsiyum konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

- Mg²⁺ için test yöntemi;

Alkalin solüsyonda magnezyum, bir diazonyum tuzu olan ksilidil mavisi ile mor bir kompleks oluşturur. Magnezyum konsantrasyonu ksilidil mavisi absorbanstaki azalma aracılığıyla fotometrik olarak ölçülür.

- P için test yöntemi;

İnorganik fosfat, sülfürik asit varlığında amonyum molibdat ile (NH₄)₃[PO₄(MoO₃)₁₂] formülüne sahip bir amonyum fosfomolibdat kompleksi oluşturur.



Oluşan fosfomolibdatın konsantrasyonu, inorganik fosfat konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

- PTH için test prensibi:

Elektrokemilüminesans immünolojik “ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay) test prensibine göre ölçülür.

- 25(OH)D test prensibi:

Kemilüminesans test prensibine göre ölçülür.

3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

Direkt yöntemle katılımcılardan elde edilen tüm örnekler Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı’nda çalışılmıştır. Temin edilen tüm veriler excel programına not edildi. Ayrıca yaş ve cinsiyet bilgileri de detaylandırıldı.

Excel programına girilen tüm verilerin istatistiksel değerlendirmeleri IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistik analizleri yapıldı. Normal dağılıma uygunlukları kontrol etmek için Kolmogorov-Smirnov sonuçları dikkate alındı.

Aşırı uç değerlerin atılması için Dixon metodu kullanıldı. Aşırı uç değer yalnızca D vitamininin yaz verilerinde görüldü. Aşırı uç değerler atıldıktan sonra yeniden tanımlayıcı istatistik analizleri ve normal dağılıma uygunluk kontrolleri yapıldı. Normal dağılım gösteren Mg testi için cinsiyetler arası fark olup olmadığına Independent Samples T-testi (bağımsız örneklem T-testi) ile bakıldı. Normal dağılıma uymayan testler için Mann-Whitney U testini kullanarak hem cinsiyetler hem de yaz-kış arasında fark olup olmadığı kontrol edildi. 25(OH)D-kış, Ca, Mg, P ve PTH testlerinin korelasyonunu değerlendirebilmek için Spearman’s korelasyon katsayısı dikkate alındı. Çok sayıda veriye ihtiyaç olduğundan yaşa göre gruplandırma yapılamadı.

Referans aralıklarının belirlenebilmesi için normal dağılım gösteren testlere parametrik yöntem uygulandı. Parametrik yöntem formülleri:

Alt sınır: Ortalama – (1,96 x SD)

Üst sınır: Ortalama + (1,96 x SD)

Normal dağılım göstermeyen testler için nonparametrik yöntem uygulandı. Hesaplama sonucu çıkan değer tamsayıya yuvarlandı. Nonparametrik yöntem formülleri:

Alt Değer= 0,025 x (n+1) n: örnek sayısı

Üst Değer= 0,975 x (n+1)

Parametrik ve nonparametrik yöntemlerin uygulanmasıyla Mg, PTH ve D vitamini için referans aralıklar tespit edildi.

4.BULGULAR

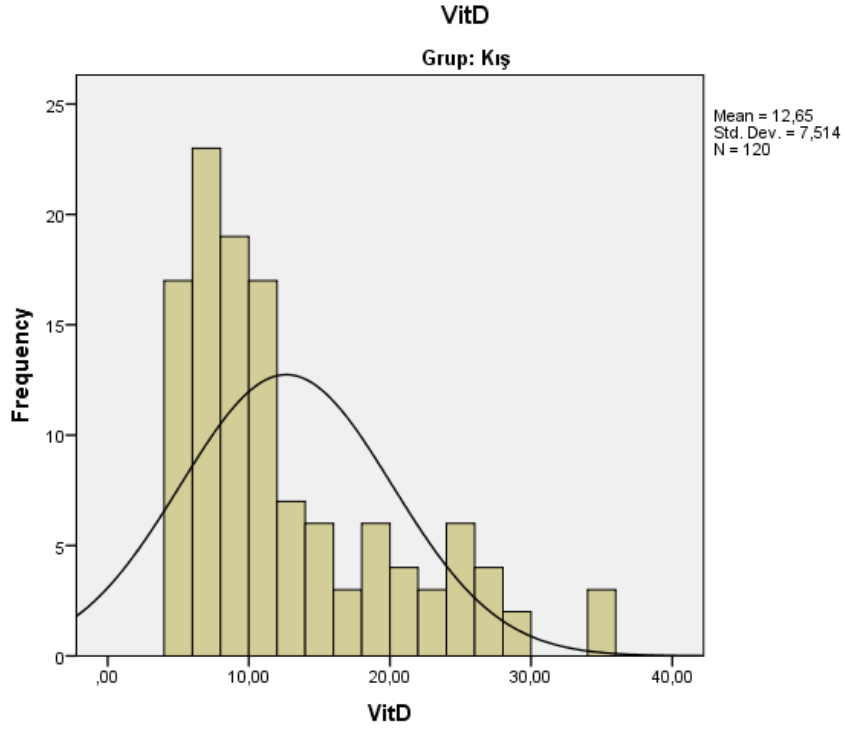
Çalışmamıza direkt yöntemle dahil ettiğimiz bireylerden D vitamini (kış), Ca, Mg, P ve PTH için 120 adet veri elde edildi. Yaz mevsiminde D vitamini için aşırı uç değerin atılmasıyla 119 adet veri elde edildi.

D vitamini (kış-yaz), Ca, Mg, P ve PTH test sonuçlarının tanımlayıcı istatistik analizleri Tablo 4.1’de gösterilmektedir.

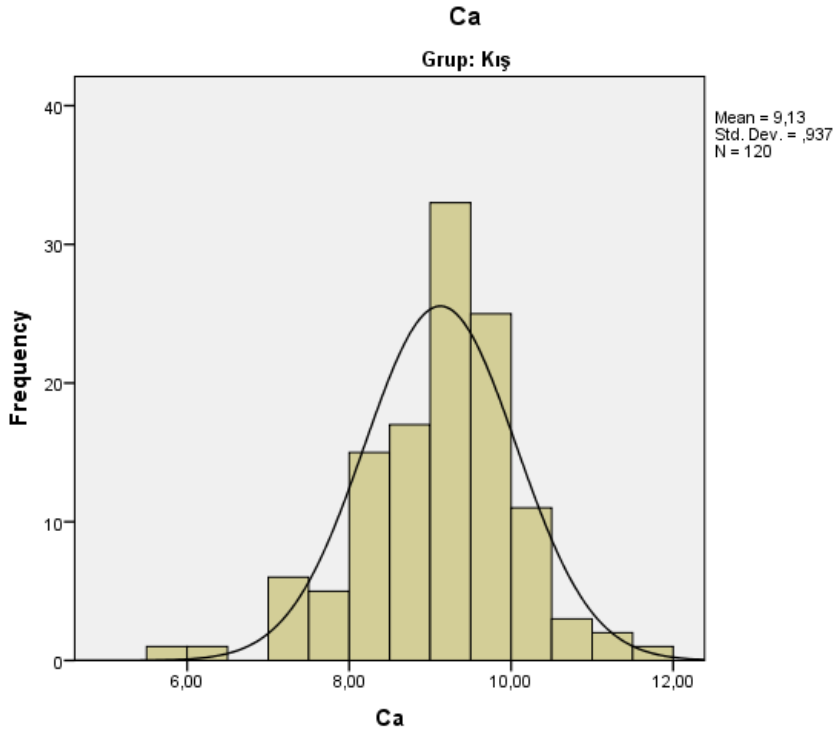
Tablo 4.1. Tanımlayıcı istatistik verileri

	n	ortalama±ss	ortanca	min-maks.
25(OH)D-kış (ng/mL)	120	12,65±7,51	10,05	4,00-35,90
Ca (mg/dL)	120	9,13±0,94	9,30	5,78-11,58
Mg (mg/dL)	120	2,02±0,25	2,03	1,27-2,56
P (mg/dL)	120	3,62±0,62	3,53	2,46-5,15
PTH (pg/mL)	120	27,08±14,45	24,60	4,34-79,10
25(OH)D-yaz (ng/mL)	119	21,50±8,57	19,60	5,20-45,50

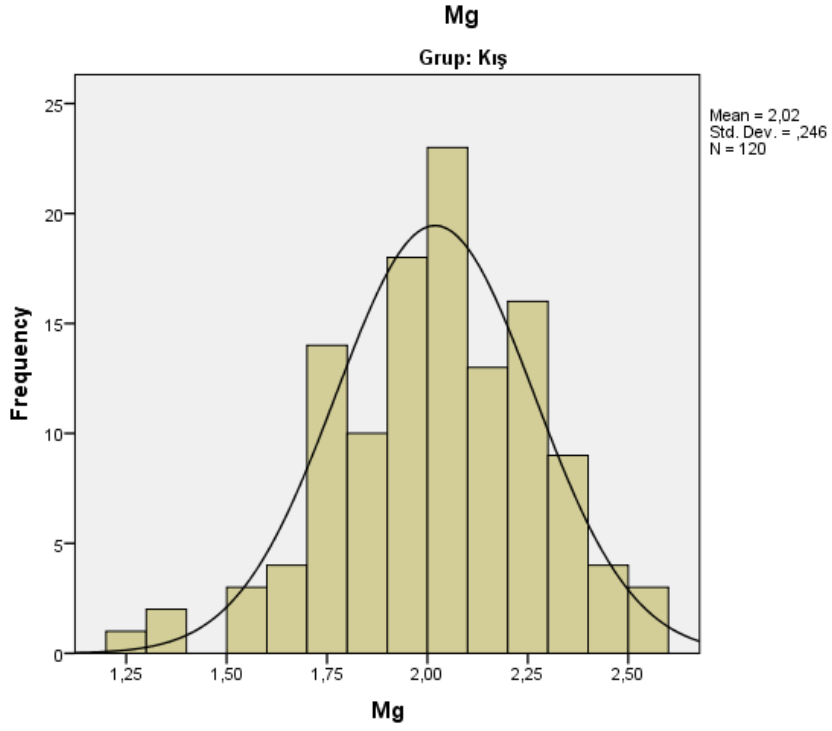
25(OH)D-kış, Ca, Mg, P, PTH ve 25(OH)D-yaz test sonuçlarına ait dağılım grafikleri sırasıyla Şekil 4.7- 4.8- 4.9- 4.10- 4.11 ve 4.12’de gösterilmiştir.



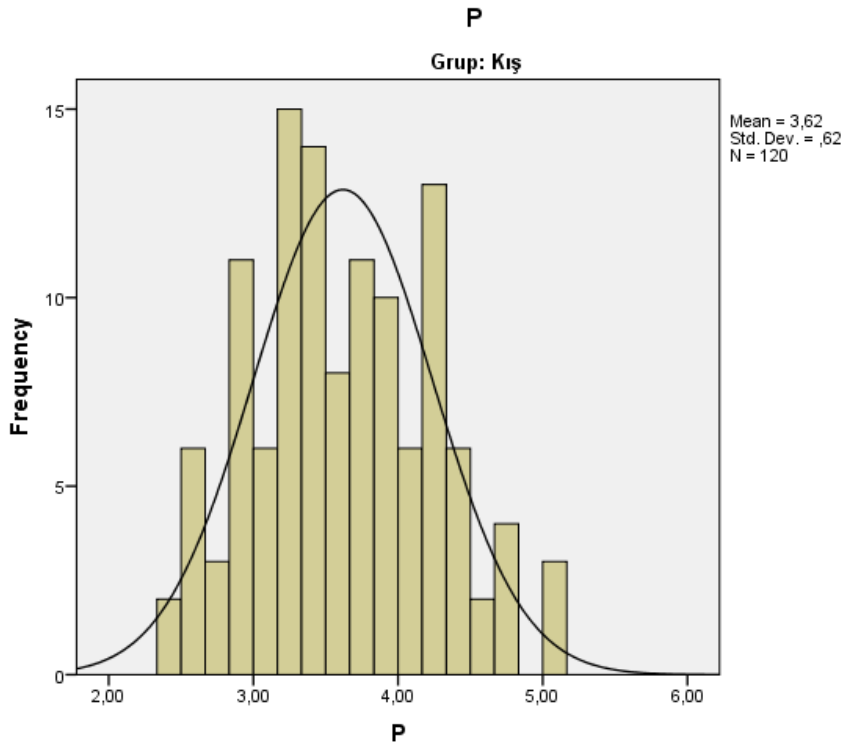
Şekil 4.7. 25(OH)D-kış testi için veri dağılımı grafiği



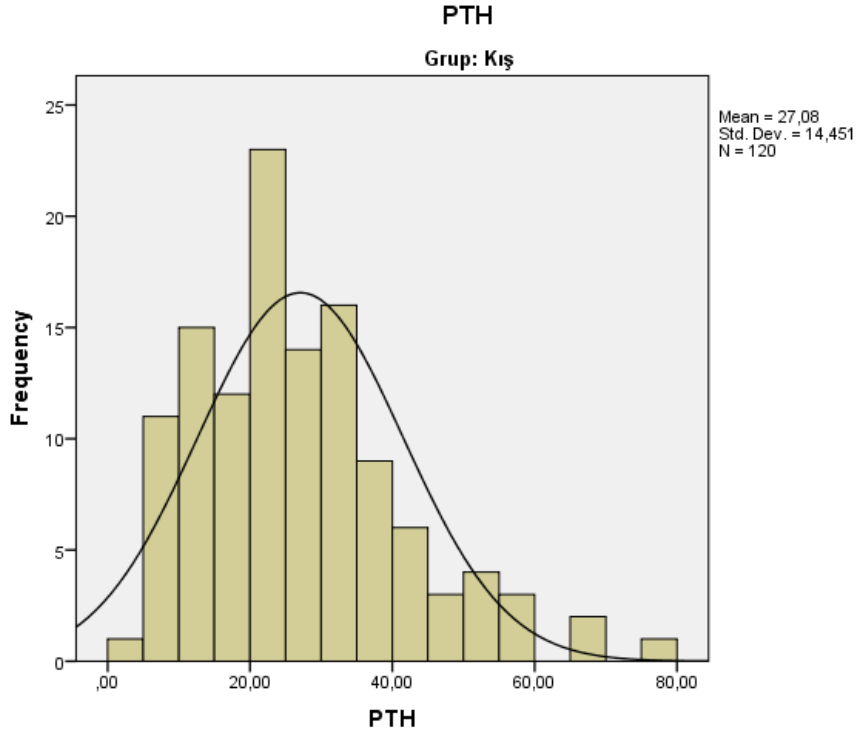
Şekil 4.8. Ca testi için veri dağılımı grafiği



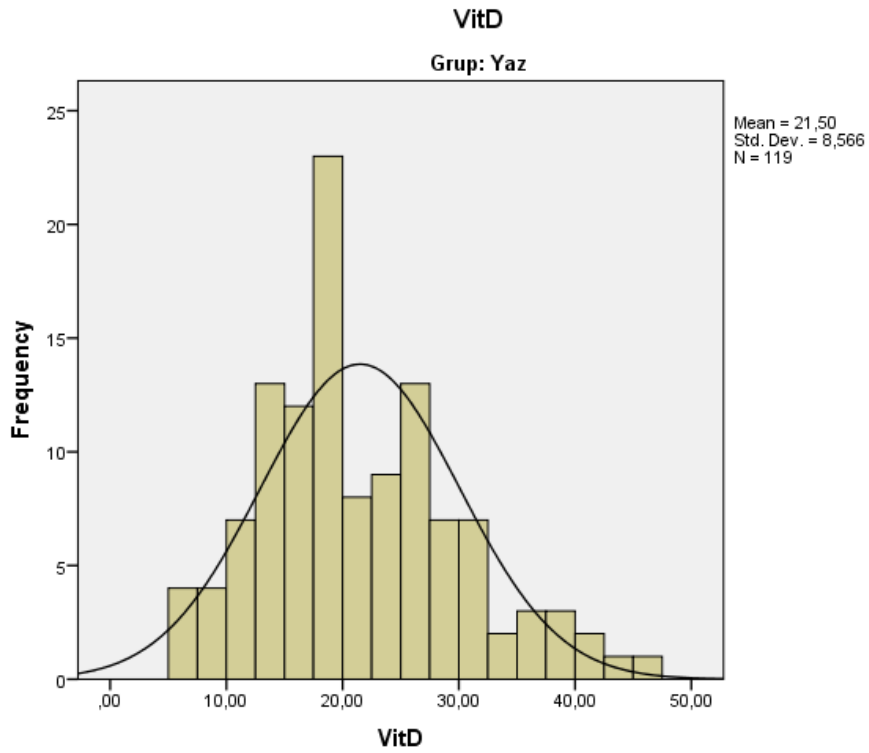
Şekil 4.9. Mg testi için veri dağılımı grafiği



Şekil 4.10. P testi için veri dağılımı grafiği



Şekil 4.11. PTH testi için veri dağılımı grafiği



Şekil 4.12. 25(OH)D-yaz testi için veri dağılımı grafiği

D vitamini (kış-yaz), Ca, Mg, P ve PTH test sonuçlarının cinsiyete göre tanımlayıcı istatistik analizleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Cinsiyete göre tanımlayıcı istatistik verileri

	Cinsiyet	n	ortalama±ss	ortanca	min-maks.
25(OH)D-kış (ng/mL)	Kadın	63	12,92±7,65	10,10	4,00-34,50
	Erkek	57	12,35±7,42	9,70	4,00-35,90
Ca (mg/dL)	Kadın	63	9,11±0,90	9,33	5,78-11,58
	Erkek	57	9,14±0,98	9,14	7,02-11,43
Mg (mg/dL)	Kadın	63	2,01±0,24	2,03	1,27-2,55
	Erkek	57	2,03±0,25	2,05	1,34-2,56
P (mg/dL)	Kadın	63	3,82±0,56	3,86	2,46-5,15
	Erkek	57	3,39±0,61	3,32	2,46-5,05
PTH (pg/mL)	Kadın	63	26,76±14,99	24,80	4,34-79,10
	Erkek	57	27,42±13,96	24,40	6,07-66,80
25(OH)D-yaz (ng/mL)	Kadın	63	22,09±9,35	20,20	5,20-45,50
	Erkek	56	20,84±7,62	19,45	9,20-43,30

Normal dağılıma uygun olup olmadıklarının kontrolü yapıldı. Veri sayımız 30’un üzerinde olduğu için Kolmogorov-Smirnov testi uygulanmıştır. Vitamin D’nin yaz ve kış mevsimlerinde normal dağılıma uymadığı görülmüştür. Mg ve P testlerinin cinsiyetlere göre ayırım yapılmadan normal dağılıma uygun olduğu görülmüştür. Tablo 4.3’te normal dağılım verileri gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Normal dağılım analiz verileri

	n	Kolmogorov-Smirnov p değeri	Shapiro-Wilk p değeri
25(OH)D-kış (ng/mL)	120	0,000	0,000
Ca (mg/dL)	120	0,023	0,011
Mg (mg/dL)	120	0,200	0,305
P (mg/dL)	120	0,200	0,111
PTH (pg/mL)	120	0,001	0,000
25(OH)D-yaz (ng/mL)	119	0,002	0,011

*p>0,05 normal dağılım anlamlılık düzeyi

Normal dağılıma uygunluk cinsiyetler açısından da değerlendirilmiştir. Veri sayısı 30'un üzerinde olduğu için Kolmogorov-Smirnov test sonuçları dikkate alınmıştır. Cinsiyetler açısından değerlendirmeler sonucunda sadece Mg'un normal dağılıma uyduğu görülmüştür. Anlamlılık değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Cinsiyetlere göre normal dağılım analiz sonuçları

	Kolmogorov-Smirnov p değeri		Shapiro-Wilk p değeri	
	Kadın (n=63)	Erkek (n=57)	Kadın (n=63)	Erkek (n=57)
25(OH)D-kış (ng/mL)	0,000	0,000	0,000	0,000
Ca (mg/dL)	0,006	0,200	0,000	0,860
Mg (mg/dL)	0,200	0,200	0,192	0,592
P (mg/dL)	0,200	0,011	0,940	0,008
PTH (pg/mL)	0,055	0,015	0,002	0,009
25(OH)D-yaz (ng/mL)	0,197	0,028*	0,187	0,030*

*p>0,05 normal dağılım anlamlılık düzeyi

*Aşırı uç değer atılması sonucu veri sayısı 56'dır.

Normal dağılım gösteren Mg testi için cinsiyetler arası değerlendirmede parametrik testlerden Independent-Samples T-Test uygulanmıştır. Levene's Test sonucuna göre varyanslar eşit dağılmıştır ve cinsiyetler arası fark görülmemiştir (p=0,589). Analiz sonuçları Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Mg'un cinsiyete göre analiz verileri

	Cinsiyet	n	ortalama±standart sapma	Levene's Testi p değeri	p değeri (2-tailed)
Mg	Kadın	63	2,01±0,24	0,411	0,589
	Erkek	57	2,03±0,25		

*p<0,05 anlamlılık düzeyi

Normal dağılım göstermeyen 25(OH)D-kış, Ca, P, PTH ve 25(OH)D-yaz testleri için Mann-Whitney U Testi uygulanarak cinsiyetler arasında fark olup olmadığı değerlendirildi. Analiz sonucunda sadece P testinde cinsiyetler arasında fark olduğu gözlenmiştir (p<0,05), sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Cinsiyet açısından normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U Testi sonuçları

	Mann-Whitney U Testi p değeri
25(OH)D-kış (ng/mL)	0,827
Ca (mg/dL)	0,966
P (mg/dL)	0,000
PTH (pg/mL)	0,713
25(OH)D-yaz (ng/mL)	0,477

*p<0,05 anlamlılık düzeyi

Normal dağılım göstermeyen 25(OH)D-kış ve 25(OH)D-yaz verileri arasında anlamlı fark olduğu Tablo.4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. 25(OH)D-kış ve 25(OH)D-yaz verileri analiz sonucu

	n	Mann-Whitney U Testi p değeri
25(OH)D-kış (ng/mL)	120	0,000
25(OH)D-yaz (ng/mL)	119	

*p<0,05 anlamlılık düzeyi

Çalıştığımız parametrelerin birbirleriyle olan korelasyonuna Spearman’s testi ile bakılmıştır. 25(OH)D-kış ve Ca, Mg, P arasında pozitif korelasyon görülmüştür (sırasıyla $r=0,220$, $p=0,016$; $r=0,124$, $p=0,177$; $r=0,095$, $p=0,300$). 25(OH)D-kış ve PTH arasında negatif korelasyon görülmüştür ($r=-0,057$, $p=0,533$). Ca ve Mg, P, PTH arasında pozitif korelasyon görülmüştür (sırasıyla $r=0,718$, $p=0,000$; $r=0,414$, $p=0,000$; $r=0,278$, $p=0,002$). Mg ve P arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,317$, $p=0,000$). Mg ve PTH arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,317$, $p=0,000$). P ve PTH arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,077$, $p=0,401$). Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Korelasyon analizi sonuçları

Grup (kış)	Korelasyon değeri (r)	p değeri
25(OH)D-Ca	$r=0,220$	$p=0,016$
25(OH)D-Mg	$r=0,124$	$p=0,177$
25(OH)D-P	$r=0,095$	$p=0,300$
25(OH)D-PTH	$r= -0,057$	$p=0,533$
Ca-Mg	$r=0,718$	$p=0,000$
Ca-P	$r=0,414$	$p=0,000$
Ca-PTH	$r=0,278$	$p=0,002$
Mg-P	$r=0,317$	$p=0,000$
Mg-PTH	$r=0,334$	$p=0,000$
P-PTH	$r=0,077$	$p=0,401$

4.1. Referans Aralık Değerleri

Mg'un referans aralıkları cinsiyet ayrımı yapılmaksızın parametrik yöntem ile belirlenmiştir. Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Mg'un direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları

Test	Direkt yöntem		Firma verileri	
	Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır
Mg (mg/dL)	1,53	2,51	1,6	2,6

Mg'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Mg'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları

Test	Cinsiyet	Direkt yöntem		Firma verileri	
		Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır
Mg (mg/dL)	Kadın	1,54	2,48	1,6	2,6
	Erkek	1,54	2,52		

PTH'un referans aralıkları cinsiyet ayrımı yapılmaksızın nonparametrik yöntem ile belirlenmiştir. Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. PTH'un direkt yöntem ile belirlenen ve firma referans aralıkları

Test	Direkt yöntem		Firma verileri	
	Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır
PTH (pg/mL)	6,08	66,80	15	65

PTH'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12. PTH'un cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları

Test	Cinsiyet	Direkt yöntem		Firma verileri	
		Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır
PTH (pg/mL)	Kadın	6,08	67,40	15	65
	Erkek	6,07	66,80		

25(OH)D-kış testinin referans aralıkları cinsiyet ayrımı yapılmaksızın non-parametrik yöntem ile belirlenmiştir. Tablo 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4.13. 25(OH)D-kış testi için direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları

Test	Direkt yöntem		Firma verileri		Durum
	Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır	
25(OH)D-kış (ng/mL)	4	34,50	0	20	Eksiklik
			20	30	Yetersizlik
			30	100	Yeterli

25(OH)D-kış testinin cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4.14. 25(OH)D-kış testi için cinsiyete göre direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları

Test	Cinsiyet	Direkt yöntem		Firma verileri		Durum
		Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır	
25(OH)D-kış (ng/mL)	Kadın	4	28,40	0	20	Eksiklik
				20	30	Yetersizlik
	Erkek	4	35,90	30	100	Yeterli

25(OH)D-yaz testinin referans aralıkları cinsiyet ayrımı yapılmaksızın non-parametrik yöntem ile belirlenmiştir. Tablo 4.15’te gösterilmiştir.

Tablo 4.15. 25(OH)D-yaz testi için direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları

Test	Direkt yöntem		Firma verileri		Durum
	Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır	
25(OH)D-yaz (ng/mL)	6,60	41,90	0	20	Eksiklik
			20	30	Yetersizlik
			30	100	Yeterli

25(OH)D-yaz testinin cinsiyete göre belirlenen referans aralıkları Tablo 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4.16. 25(OH)D-yaz testi için cinsiyete göre direkt yöntem ile belirlenen referans aralıkları ve firma referans aralıkları

Test	Cinsiyet	Direkt yöntem		Firma verileri		Durum
		Alt Sınır	Üst Sınır	Alt sınır	Üst sınır	
25(OH)D-yaz (ng/mL)	Kadın	5,60	41,90	0	20	Eksiklik
				20	30	Yetersizlik
	Erkek	9,20	43,30	30	100	Yeterli

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda, Kocaeli ve yöresi için kullanabileceğimiz D vitamini, PTH ve Mg referans aralıklarını ve bunların Ca ve P ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Bunun için de CLSI ve IFCC'nin önerileri doğrultusunda hareket ederek çalışmamızı yürüttük.

D vitamininin fizyolojik rolünün büyük ölçüde kas-iskelet sisteminin korunması olduğu kabul edilmektedir. Ancak bu molekülün biyolojik özellikleri, kalsiyum ve fosfat homeostazını sağlamaktan çok daha ileri gitmektedir. Çocukluk çağında yetersiz D vitamini alımı, raşitizm gelişmesine neden olabilir. Ayrıca araştırmacılar çocukluk çağında D vitamininin otoimmün hastalıkların (astım, diyabet tip 1), bulaşıcı hastalıkların (solunum yolu enfeksiyonları, grip) ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde rol oynadığını belirtmişlerdir (Braegger ve ark., 2013; Grossman ve ark., 2017).

D vitamini eksikliği tüm dünyada artmaktadır. Ayrıca D vitamini eksikliğini kemik ve kalsiyum metabolizmasını etkileyerek osteoporoz ve kırık riskini arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle birçok ülkede 25(OH)D düzeyleri araştırılmaktadır. Norveç ve Danimarka gibi Kuzey Avrupa ülkelerinde 25(OH)D düzeyinin enlem ve boylamdaki coğrafi koordinatları nedeniyle daha fazla güneş ışığı alan Portekiz ve İspanya gibi ülkelere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum, Kuzey Avrupa ülkelerinin diyetinde bol miktarda balık yağı ve morina karaciğeri yağı tüketimi ile ilişkilendirilmiştir. Orta Doğu'da 25(OH)D konsantrasyonları ülkeden ülkeye değişmektedir. Ülkeler arasındaki bu büyük değişkenliğin yanı sıra yaş ve cinsiyete bağlı olarak ülke içinde de farklılıklar bulunmaktadır (Van Schoor ve Lips, 2011). Örneğin, Hashemipour ve ark. popülasyonun 25(OH)D konsantrasyonunu 20.6 nmol/L (8,25 ng/mL) olarak bulurken, Moussavi ve ark. yaptıkları çalışmada, 18 yaşın altındaki denekler için 25(OH)D konsantrasyonlarını sırasıyla kızlar ve erkekler için 42 nmol/L (16,83 ng/mL) ve 92 nmol/L (36,86 ng/mL) olarak bulmuşlardır (Balahoroğlu ve ark.; Hashemipour ve ark., 2004). Ortadoğu ülkeleri arasında 25(OH)D konsantrasyonu için en düşük değeri Suudi Arabistan'da tespit etmişlerdir. Sedrani ve ark. yaptıkları çalışmada 25(OH)D'nin ortalama konsantrasyonunu genç erkeklerde 8,4±3,1 ng/mL, kadınlarda 11,5±4 ng/mL ve yaşlılarda 3,6±1,3 ng/mL olarak bulmuşlardır (Sedrani, Elidrissy ve El Arabi, 1983). Afrikalılarda nispeten daha yüksek serum 25(OH)D seviyeleri bulmuşlardır

(Aspray, Yan ve Prentice, 2005; Haarbuerger, Hoffman, Erasmus ve Pillay, 2009; M'Buyamba-Kabangu ve ark., 1987).

2005-2006 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yapılan bir çalışmada (National Health and Nutrition Survey-NHANES) 20 yaş üzerindeki yetişkinlerin %41,6'sında D vitamini seviyelerinin 20 ng/mL'nin altında olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmanın 1988 ile 2004 tarihli anket verilerinde D vitamini seviyesi ortalamasının 30 ng/mL'den 24 ng/mL'ye, 2004 ile 2006 verilerinde ise 24 ng/mL'den 19,9 ng/mL'ye gerilediği bildirilmiştir. Dünya genelinde sıkça D vitamini eksikliği tespit edilirken, Kuzey Asya ve Ortadoğu'da 10 ng/mL'nin altındaki düzeyler çok daha yüksek oranda bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda D vitamini eksikliğinin, İran'da %67, Lübnan'da %84, Tunus'ta %29, Suudi Arabistan'da %90'a varan oranlarda, Asya kıtasında ise Japonya'da %42, Hindistan'da %30-%48, Bangladeş'te %35, Rusya'da %47, Çin'de %45 olduğu belirtilmektedir (Dawson-Hughes, 2017; Mithal ve ark., 2009).

Avrupa ülkelerinde D vitamini eksikliği yetişkinlerde %2-%30 oranlarında değişmektedir, yaşlı nüfusta ise %80'e varan oranlarda görülebilmektedir. Finlandiya'da yetişkin kadınlarda %26, erkeklerde %28; Hollanda'da kadınlarda %56,1, erkeklerde %44,7; Almanya'da 50-85 yaş arasında %25 oranında D vitamini eksikliği tespit eden araştırmalar bulunmaktadır. Fransa'da 35-65 yaş arası toplumda yapılan SUVIMAX çalışmasında 51. ve 43.enlemlerde kuzeyde 43 ± 21 nmol/L ($17,23\pm 8,41$ ng/mL), güneyde 94 ± 38 nmol/L ($37,66\pm 15,22$ ng/mL) ortalama değerler bulunmuştur. Serum D vitamini seviyesinin güneşe maruziyet ve enlem ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Lips, 2007).

71 araştırmanın dahil edildiği bir sistematik derlemede riskli grup olarak bilinen kapalı mekan çalışanlarının ortalama D vitamini düzeylerinin açık alanda çalışanlara göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bildirilmiştir [sırasıyla $40,6\pm 13,3$ nmol/L ($16,27\pm 5,33$ ng/mL); $66,7\pm 16,7$ nmol/L ($26,72\pm 6,69$ ng/mL)]. D vitamini eksikliği (<20 ng/mL) vardiya usulü çalışanlarda %80, kapalı mekan çalışanlarında %78, açık alan çalışanlarında %48 olarak bulunmuştur. Vardiya usulü çalışanlar ve kapalı mekan çalışanlarının D vitamini eksikliği açısından yüksek risk altında olduğu tespit edilmiştir (Sowah, Fan, Dennett, Hagtvedt ve Straube, 2017).

Türkiye'de D vitamini eksikliği yaygın olarak görülmektedir (Alagöl ve ark., 2000; Atli, Gullu, Uysal ve Erdogan, 2005; Cigerli ve ark., 2013; Hekimsoy ve ark., 2010). 14-44 yaşları arasındaki 48 kadının dahil edildiği bir çalışmada giyim şekillerine göre %40 ile %60

oranında D vitamini eksikliği olduğu görülmüştür (Alagöl ve ark., 2000). Ege bölgesinde 20 yaş üzerindeki 391 erişkinin katıldığı bir çalışmada D vitamini eksikliğini %74,9 oranında olduğu görülmüştür. D vitamini eksikliği kadınlarda erkeklerden anlamlı derecede yüksektir (sırasıyla %78,7; %66,4) (Hekimsoy ve ark., 2010). İstanbul'da Baskent Üniversite Hastanesi'ne başvuran 2488 hastanın dahil edildiği bir çalışmada D vitamini yetersizliği %66, eksikliği %24 olarak saptanmıştır. 45 yaş üzerindeki erkeklerde kadınlara göre (19,4±11,3 ng/mL; 17,8±12,2 ng/mL), yaz ve sonbahar aylarında kış ve ilkbahar aylarına göre, obez olanlarda obez olmayanlara göre (15,6±10,4 ng/mL; 17,6±11,6 ng/mL) serum D vitamini seviyelerinin anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir (Cigerli ve ark., 2013).

Ülkemizde 21-52 yaşları arasındaki 118 ofis çalışanın dahil edildiği bir çalışmada, yaz aylarında yapılan ölçümlerdeki ortalama serum D vitamini seviyeleri kış aylarında yapılan ölçümlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (28,4±10,4 ng/mL; 13,8±6,6 ng/mL). Yaz ve kış aylarında yapılan ölçümlerde D vitamini seviyesi 30 ng/mL'nin altında olanların oranı sırasıyla %60,2 ve %96,6 olduğu tespit edilmiştir (Çınar, Harmancı, Yıldız ve Bayraktar, 2014).

Alagöl ve ark., Türkiye'deki kadınlarda giyim tercihleri nedeniyle 25(OH)D konsantrasyonundaki değişiklikleri incelemiştir. Çalışmalarında hastaları güneş ışığına maruz kalmaya uygun giyinme, geleneksel tarzda giyinme ve dini koşullara göre giyinme olarak üç gruba ayırmışlardır. Alagöl ve ark. yaptıkları çalışmada 25(OH)D ortalamasını sırasıyla 56±41,3 ng/mL, 32,9±4,4 ng/mL ve 9±5,7 ng/mL olarak bulmuşlardır. Türkiye'nin en yüksek güneş enerjisi alan illeri arasında yer alan Van ilini dikkate aldığımızda hastalarda yüksek 25(OH)D konsantrasyonlarının bulunması beklenebilir. Ancak tüm hastalarda ortalama 25(OH)D düzeylerinin 15,53 ng/mL olduğunu bulmuşlardır. Kadınlarda ortalama 25(OH)D (14,79±9,42 ng/mL) erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulmuşlardır (18,95±7,93 ng/mL) (p<0,001). Kadınlarda 25(OH)D düzeylerinin düşük olmasının nedenini bu bölgedeki geleneksel ve dini koşullara göre giyinmenin tercih edilmesi ile açıklamışlardır (Alagöl ve ark., 2000).

Birçok çalışmada 25(OH)D düzeyinin 20 ng/mL'den düşük olması eksiklik olarak kabul edilmektedir. 21-29 ng/mL arası yetersizlik olarak ifade edilirken 30 ng/mL ve üzeri değerler tüm çocuklarda ve erişkinlerde yıl boyunca sürdürülmesi tercih edilen seviyelerdir (Bischoff-Ferrari, Giovannucci, Willett, Dietrich ve Dawson-Hughes, 2006; Holick, 2009). Test sonuçları 20 ng/mL cut-off'a göre değerlendirildiğinde toplumun %78,22'sinde vitamin

D eksikliği saptanmıştır (Çatak, 2018). Türkiye'nin batısında Balıkesir ilinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada bu oranın %71,23 olduğu ve dünya genelinde de D hipovitaminozunun oldukça yaygın olduğu bildirilmektedir (Alpdemir ve Alpdemir, 2016; Mithal ve ark., 2009; Wagner, Hanwell ve Vieth, 2009). Kadınlarda ve ilkbahar-kış mevsimlerinde 25(OH)D eksikliğinin daha yaygın olduğu saptanmıştır (Çatak, 2018). Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda da kadın cinsiyette ve kış mevsiminde 25(OH)D düzeylerinin düşük olduğunu tespit ettik.

Her ne kadar daha genç yaş grubunda D hipovitaminozunun daha düşük olduğu bildirilmiş olsa da birçok çalışmada D vitamini düzeylerinin coğrafi bölge, cinsiyet, yaş, ırk, giyinme ve beslenme şekli, fiziksel aktivite, yetersiz gün ışığı maruziyeti ve kültürel alışkanlıklar gibi faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir (Looker ve ark., 2011; Mithal ve ark., 2009).

Diğer bir araştırmada 25(OH)D düzeylerinin 18-65 yaşları arası grupta >65 yaş grubuna göre daha düşük olduğu belirtilmesine rağmen bu farkın anlamlı olmadığı gösterilmiştir (Vurgun, Evliyaoğlu ve Yıldırım, 2016).

Bir çalışmada mevsimsel karşılaştırmalarda elde edilen sonuçların önceki araştırmalarla uyumlu olarak yaz ve sonbahar mevsimlerinde anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (Mithal ve ark., 2009). Fakat yine de yaz ayı ortalamalarının 20 ng/mL'nin altında olduğu görülmüştür. Çalışmamızda yaz ve kış mevsimi karşılaştırılması yapıldığında yaz mevsiminde anlamlı yükseklik olduğu ($p=0,000$) görülmüştür.

Laboratuvar test sonuçlarının değerlendirilmesinde referans aralıklar büyük rol oynamaktadır. Her laboratuvarın kendi referans aralıklarının belirlenmesi önerilmiştir ve toplumu en iyi yansıtacak referans popülasyonun özenle seçilmesi gerekmektedir (Solberg, 1987a). Referans bireyler IFCC ve NCLSI'nin belirlediği dışlama kriterlerine göre ya direkt metodla analiz öncesinde veya indirekt metodla belli kurallar dahilinde veri tabanından yararlanılarak seçilir (Alpdemir ve Alpdemir, 2016). Direkt metodun uygulaması zordur ve maliyeti yüksektir. İndirekt metod ise laboratuvar bilgi sistemindeki verilerden seçilmiş referans popülasyon aracılığıyla uygun istatistiksel analizler sonucu referans aralığın hesaplandığı, maliyeti düşük ve uygulaması kolay bir yöntemdir. Bir çalışmada 25(OH)D'nin referans aralığı %90 güven aralığında dağılımın %95'ini içine alacak şekilde hesaplanmıştır (Lumsden ve Mullen, 1978). Belirledikleri referans aralığın üretici firmanın

sağlıklı popülasyona dayalı oluşturduğu referans aralığına göre (7,4-44,0 ng/mL) düşük olduğunu gözlemlemişlerdir (Çatak, 2018).

Kocaeli ili ve çevresi için gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda direkt yöntem uygulayarak referans aralıkları %95 güven aralığında hesapladık. 25(OH)D'nin kış ve yaz mevsimi için hesaplanan referans aralık değerleri alt sınırı eksiklik düzeyinde ve üst sınırı ise yeterli düzeyde bulduk (25(OH)D-kış 4-34,50 ng/mL ve 25(OH)D-yaz 6,60-41,90 ng/mL).

D vitamini açısından yapılan çalışmalarda ülkemizde D vitamini eksikliği görüldüğü belirtilmektedir. Aslında tüm Türkiye'de D vitamini referans aralık çalışmaları yapılarak topluma dayalı referans aralıklar belirlendiğinde belki de eksiklik-yetersizliğin bu derece yüksek olmadığı gözlenebilir. Çünkü kitler ile birlikte verilen referans aralıklar o ülkede yaşayan insanlardan belirlenmiş referans aralıklardır. Bu da ülkenin konumuna, kişilerin genetik yapısına ve beslenme şekline göre değişiklik göstereceğinden Türk toplumu için yeterince belirleyici olamayacağını düşünmekteyiz. Sonuç olarak Kocaeli ve yöresindeki bireylerin D vitamininin metabolik durumunu değerlendirirken, firma referans aralıkları yerine kendi hesapladığımız verilerin kullanılmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Mineral metabolizmasının başlıca düzenleyicileri PTH ve D vitamindir. PTH, böbrekte 1,25(OH)₂D sentezini uyarmaktadır. 1,25(OH)₂D ise paratiroid bezleri üzerinde negatif bir geri bildirim uygulamaktadır (Khundmiri ve ark., 2016; Metzger ve ark., 2013). PTH için hedef aralık, dolaşımdaki D vitamini durumuna bağlı olarak önemli derecede değişebilmektedir (Cavalier ve ark., 2012; Lee ve ark., 2015).

PTH için doğru referans aralıkları, primer hiperparatiroidizm ve son dönem böbrek hastalığı gibi durumların teşhisini kolaylaştırabilmektedir (Cantor ve ark., 2006; Eastell ve ark., 2014; Souberbielle ve ark., 2017; Souberbielle ve ark., 2003).

Bir çalışmada Elecsys® PTH immünolojik testini kullanarak, D vitamini eksikliği olan bireylerde 17,9-58,6 pg/mL'lik bir PTH referans aralığı belirlenmiştir (Yalla, Bobba, Guo, Stankiewicz ve Ostlund, 2019). D vitamini düzeyi yeterli olan Kafkasyalı bireylerde yapılan çalışmalarda, 64 pg/mL (Elecsys®) ve 45,3 pg/mL (Elecsys®) üst limitleri bildirilmiştir (Cavalier ve ark., 2012; Touvier ve ark., 2014). Araştırmacılar, nüfus demografisi-özellikleri (örn. yaş, ırk, BMI), preanalitik etkenler (örn. numune alma zamanı, gönüllünün açlık durumu, EDTA plazma/serum) ve ayrıca merkeze özgü faktörlerin, üst limitteki farklılıklara

neden olabileceğini söylemektedirler (Carter, Carter, Jones ve Berry, 2004; “K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease.”, 2003; Moe ve Drüeke, 2009; Souberbielle ve ark., 2017).

Çalışmamızda, Kocaeli ili ve çevresi için D vitamininin gerçek referans aralıklarının kitler ile birlikte gelen referans aralıklarından farklı olabileceği fikrinden yola çıkarak D vitamini ile ilişkili olan PTH için de referans aralıklarını bulmayı hedefledik. PTH için firmanın referans aralıklarına göre bizim hesapladığımız referans aralık değerlerinin alt sınırı daha düşük ve üst sınırı ise yüksek bulundu.

Magnezyum, insan vücudunda kalsiyum, potasyum ve sodyumdan sonra en bol bulunan mineraldir. Magnezyum 600'den fazla enzimi aktive eder ve hücre dışı kalsiyum seviyelerini etkilemektedir (Caspi, Altman, Billington, ve Dreher, 2014). Hücre fonksiyonunun stabilitesi, RNA ve DNA sentezi ve hücre onarımı için olduğu kadar hücrenin antioksidan durumunun korunması için de gereklidir. Çok çeşitli taşıyıcıların ve enzimlerin aktivasyonu için önemli bir kofaktördür (Noronha ve Matuschak, 2002; Swaminathan, 2003). 1,25(OH)₂D'nin magnezyumun bağırsaktan emilimini uyarabildiği bildirilmiştir (Swaminathan, 2003).

Magnezyum, D vitamini bağlayıcı reseptör için bir kofaktör görevi görmektedir. Ayrıca belirtildiği gibi, hepatik 25-hidroksilasyon ve renal 1 α -hidroksilasyon yoluyla vitamin D'nin 1,25(OH)₂D aktif formuna metabolizması magnezyum bağımlı bir süreçtir. Magnezyum eksikliği, 1,25(OH)₂D seviyelerinin azalmasına ve PTH yanıtının bozulmasına neden olur ve magnezyum bağımlı D vitamini dirençli raşitizm ile ilişkilendirilmiştir (Anast, 1967; Ozsoylu ve Hanioglu, 1977; Swaminathan, 2003).

Çalışmamızda D vitamini metabolitlerinin oluşumunu aktive veya inaktive edecek yollar üzerinde kofaktör olarak önemli etkisi olduğu bilinen Mg'un referans aralıklarını hesaplamayı amaçladık.

Serum Mg konsantrasyonları için yapılan bir çalışmada, genel referans aralığı Alman Magnezyum Derneği (1,85-2,68 mg/dL) ve ABD'li Amerikalı uzmanlar (1,83-2,31 mg/dL) tarafından önerilen değerlerle uyumlu bir aralıkta bulunmuştur (1,83-2,55 mg/dL); üst sınır Alman Magnezyum Derneği'nin değerlerinden küçük ve ABD'nin değerlerinden büyük olmasına rağmen, alt referans sınırı nispeten aynı bulunmuştur. Üst sınır değerlerindeki

farklılığın etnik kökene bağlı olabileceği bildirilmiştir (Horn ve Pesce, 2002; Schimatschek ve Rempis, 2001).

Thin ve Thomson, 18-63 yaşları arasındaki 138 erkek ve kadın yetişkinler üzerinde çalışmış, serum Mg konsantrasyonları için 1,83-2,43 mg/dL aralığı bildirmiştir (Thin ve Thomson, 1967).

Çalışmamızda Mg'un referans aralık değerlerini 1,53-2,51 mg/dL olarak bulduk. Bulduğumuz referans aralık değerlerinde alt ve üst sınırların üretici firmanın referans aralıklarına yakın olduğu görüldü. Bölgemizde hastaneye başvuran bireylerde Mg düzeylerini değerlendirirken, rakamlar birbirine yakında olsa Kocaeli ve bölgesini yansıtan gerçek sonuçlar olduğu için hesapladığımız Mg referans aralıklarının kullanılmasının daha doğru olduğunu düşünmekteyiz.

5.1.Sınırlılıklar

NCCLS'nin ilgili dokümanında belirttiği üzere, parametrik olmayan yöntemlerde %90 güven aralığı için her bir alt grupta (cinsiyet) 120 bireyin yeterli olacağı ileri sürülmüştür. Ancak maddi kısıtlılıklar nedeniyle yaz ve kış mevsimi için maksimum 120 birey (63 Kadın, 57 Erkek) dahil edebildik. Birey sayısının azlığından dolayı verilerde yaşa göre gruplandırma yapamadık.

Kemik yoğunluğu düzeyleriyle D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyonu değerlendirmek amaçlarımızdan biriydi ancak maddi kısıtlılık nedeniyle gönüllülerin kemik yoğunluğu ölçülemedi.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Laboratuvar test sonuçlarının klinik olarak anlam kazanması için referans aralıkları ile birlikte rapor edilmesi gerekmektedir. Test kiti ve cihazı temin eden firmaların genellikle uluslararası firmalar olması nedeniyle laboratuvarlar en azından bölgesel düzeyde kendi referans aralıklarını belirlemelidir. Referans aralıklar genetik, çevresel faktörler, sosyo-ekonomik durum, beslenme vb. etkenlerden dolayı farklılıklar göstermektedir.

Referans aralık belirleme çalışmaları direkt yöntem ile gerçekleştirildiğinde daha iyi sonuç vermesinin yanında maddi zorlukları bulunmaktadır. Bu sebeple her iki yöntem de referans aralık belirlemek için kullanıma uygundur.

Kocaeli bölgesinde D vitamini, Mg ve PTH'n referans aralıkları için üretici firmanın belirlediği referans aralıklar yerine kendi belirlediğimiz referans aralıkların kullanılmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

- Agus ZS, Drezner MK. Causes of vitamin D deficiency and resistance. <http://www.uptodate.com/2015>
- Agus ZS: Hypomagnesemia. *J Am Soc Nephrol* 10: 1616–1622, 1999
- Akkoyun, H. T., Bayramoğlu, M., Ekin, S., & Çelebi, F. (2014). D Vitamini ve Metabolizma için Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(3). <https://doi.org/10.17094/avbd.05043>
- Alagöl, F., Shihadeh, Y., Boztepe, H., Tanakol, R., Yarman, S., Azizlerli, H., & Sandalci, Ö. (2000). Sunlight exposure and vitamin D deficiency in Turkish women. *Journal of Endocrinological Investigation*, 23(3). <https://doi.org/10.1007/BF03343702>
- Alfrey, A. C., Miller, N. L., & Trow, R. (1974). Effect of age and magnesium depletion on bone magnesium pools in rats. *Journal of Clinical Investigation*, 54(5). <https://doi.org/10.1172/JCI107851>
- Alizadeh Naderi, A. S., & Reilly, R. F. (2010). Hereditary disorders of renal phosphate wasting. *Nature Reviews Nephrology*, Vol. 6. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.121>
- Alon, U. S. (2011). Clinical practice - Fibroblast growth factor (FGF)23: A new hormone. *European Journal of Pediatrics*, Vol. 170. <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1382-5>
- Alpdemir, M., & Alpdemir, M. F. (2016). Determination of reference range with the indirect method of the 25-hydroxyvitamin D3 test in the Balıkesir region, Turkey. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(5). <https://doi.org/10.3906/sag-1504-19>
- Amanzadeh, J., & Reilly, R. F. (2006). Hypophosphatemia: An evidence-based approach to its clinical consequences and management. *Nature Clinical Practice Nephrology*, Vol. 2. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0124>
- Anast, C. S. (1967). Magnesium studies in relation to vitamin D-resistant rickets. *Pediatrics*, 40(3).
- Ash, K. O., Clark, S. J., Sandberg, L. B., Hunter, E., & Woodward, S. C. (1983). The influences of sample distribution and age on reference intervals for adult males. *American Journal of Clinical Pathology*, 79(5). <https://doi.org/10.1093/ajcp/79.5.574>
- Aslan D. Referans Değerlerin belirlenmesi ve Kullanılması. İçinde: Solberg H, (editor) *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. 5 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005: 251-261.
- Aslan D. Referans Aralıkların Hesaplanması. İçinde: Gezer, S. Güner, G. Tuncel, P. Eds. *Klinik Laboratuvarlarda Yöntem Seçimi Değerlendirilmesi ve Laboratuvara Uygulanması Kurs Kitabı*. 1. Baskı. Ankara, Türk Biyokimya Derneği, 2000: 80-119.
- Aspray, T. J., Yan, L., & Prentice, A. (2005). Parathyroid hormone and rates of bone formation are raised in perimenopausal rural Gambian women. *Bone*, 36(4). <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.01.002>
- Atli, T., Gullu, S., Uysal, A. R., & Erdogan, G. (2005). The prevalence of Vitamin D deficiency and effects of ultraviolet light on Vitamin D levels in elderly Turkish population. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 40(1). <https://doi.org/10.1016/j.archger.2004.05.006>
- Autier, P., Boniol, M., Pizot, C., & Mullie, P. (2014). Vitamin D status and ill health: A systematic review. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, Vol. 2. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70165-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70165-7)
- Ayuk, J., & Gittoes, N. J. L. (2011). How should hypomagnesaemia be investigated and treated? *Clinical Endocrinology*, 75(6). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04092.x>

Baadenhuijsen, H., & Smit, J. C. (1985). Indirect Estimation of Clinical Chemical Reference Intervals from Total Hospital Patient Data: Application of a Modified Bhattacharya Procedure. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 23(12). <https://doi.org/10.1515/cclm.1985.23.12.829>

Bakan E. *Tanıda Laboratuvar*. 1. Baskı. İstanbul, Aktif Yayınevi, 2011: 139- 174.

Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Klinik Biyokimya Bölümü. İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.

Balioni, C., Griffith, L. E., Striffler, L., Henderson, M., Patterson, C., Heckman, G., ... Raina, P. (2012). Vitamin D, cognition, and dementia; A systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 79(13). <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31826c197f>

Bauer, S. R., Hankinson, S. E., Bertone-Johnson, E. R., & Ding, E. L. (2013). Plasma vitamin d levels, menopause, and risk of breast cancer:Dose-response meta-analysis of prospective studies. *Medicine (United States)*, 92(3). <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3182943bc2>

Bekmez, M., Alataş, Ö., Devlet Hastanesi, I., Biyokimya, T., Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, E., & Biyokimya Anabilim Dalı, T. (2016). HPLC ve Immunoassay Yöntemleri İle Ölçülen D Vitamini Düzeylerinin Karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 14(141).

Ben-Dov, I. Z., Galitzer, H., Lavi-Moshayoff, V., Goetz, R., Kuro-o, M., Mohammadi, M., ... Silver, J. (2007). The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *Journal of Clinical Investigation*, 117(12). <https://doi.org/10.1172/JCI32409>

Berndt, T. J., Schiavi, S., & Kumar, R. (2005). "Phosphatonins" and the regulation of phosphorus homeostasis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, Vol. 289. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00072.2005>

Bhattacharya, C. G. (1967). A Simple Method of Resolution of a Distribution into Gaussian Components. *Biometrics*, 23(1). <https://doi.org/10.2307/2528285>

Biber, J., Hernando, N., & Forster, I. (2013). Phosphate transporters and their function. *Annual Review of Physiology*, Vol. 75. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183748>

Bindels, R. J. M. (2010). 2009 Homer W. Smith Award: Minerals in motion: From new ion transporters to new concepts. *Journal of the American Society of Nephrology*, Vol. 21. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010010001>

Bingham, C. T., & Fitzpatrick, L. A. (1993). Noninvasive testing in the diagnosis of osteomalacia. *The American Journal of Medicine*, 95(5). [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(93\)90335-M](https://doi.org/10.1016/0002-9343(93)90335-M)

Bischoff-Ferrari, H. A., Giovannucci, E., Willett, W. C., Dietrich, T., & Dawson-Hughes, B. (2006). Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 84. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.18>

Blaine, J., Chonchol, M., & Levi, M. (2015). Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7). <https://doi.org/10.2215/CJN.09750913>

Bock, B. J., Dolan, C. T., Miller, G. C., Fitter, W. F., Hartsell, B. D., Crowson, A. N., ... Williams, J. D. (2003). The Data Warehouse as a Foundation for Population-Based Reference Intervals. *American Journal of Clinical Pathology*, 120(5). <https://doi.org/10.1309/W8J85AG4WDG6JGJ9>

Boskey, A. L., Rimnac, C. M., Bansal, M., Federman, M., Lian, J., & Boyan, B. D. (1992). Effect of short-term hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone. *Journal of Orthopaedic Research*, 10(6). <https://doi.org/10.1002/jor.1100100605>

Bouillon, R., Eelen, G., Verlinden, L., Mathieu, C., Carmeliet, G., & Verstuyf, A. (2006). Vitamin D and cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 102(1-5 SPEC. ISS.). <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.09.014>

Braegger, C., Campoy, C., Colomb, V., Decsi, T., Domellof, M., Fewtrell, M., ... Van Goudoever, J. (2013). Vitamin d in the healthy European paediatric population. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 56(6). <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31828f3c05>

- Burnell, J. M., Liu, C., Miller, A. G., & Teubner, E. (1986). Effects of dietary alteration of bicarbonate and magnesium on rat bone. *American Journal of Physiology - Renal Fluid and Electrolyte Physiology*, 250(2 (19/2)). <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1986.250.2.f302>
- Campbell, A. K. (1988). Calcium as an Intracellular Regulator. In B. E. C. Nordin (Ed.), *Calcium in Human Biology* (pp. 261–316). London: Springer London. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-1437-6_11
- Cantor, T., Yang, Z., Caraiani, N., & Ilamathi, E. (2006). Lack of comparability of intact parathyroid hormone measurements among commercial assays for end-stage renal disease patients: Implication for treatment decisions. *Clinical Chemistry*, 52(9). <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.071589>
- Carter, G. D., Carter, R., Jones, J., & Berry, J. (2004). How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. *Clinical Chemistry*, 50(11). <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.040683>
- Caspi, R., Altman, T., Billington, R., & Dreher, K. (2014). The MetaCyc Database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of Pathway/Genome Databases -- Caspi et al. 36 (Supplement 1): D623 -- Nucleic Acids Research. *Nucleic Acids Research*, 36(Database).
- Cavalier, E., Delanaye, P., Vranken, L., Bekaert, A. C., Carlisi, A., Chapelle, J. P., & Souberbielle, J. C. (2012). Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 27(5). <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr535>
- Christakos, S., Ajibade, D. V., Dhawan, P., Fechner, A. J., & Mady, L. J. (2010). Vitamin D: metabolism. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 39(2), 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.02.002>
- Chung, M., Balk, E. M., Brendel, M., Ip, S., Lau, J., Lee, J., ... Trikalinos, T. A. (2009). Vitamin D and calcium: a systematic review of health outcomes. *Evidence Report/Technology Assessment*, (183), 1–420. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20629479>
- Cigerli, O., Parildar, H., Unal, A. D., Tarcin, O., Erdal, R., & Guvener Demirag, N. (2013). Vitamin D deficiency is a problem for adult out-patients? A university hospital sample in Istanbul, Turkey. *Public Health Nutrition*, 16(7). <https://doi.org/10.1017/S1368980012003588>
- Cinar, N., Harmanci, A., Yildiz, B. O., & Bayraktar, M. (2014). Vitamin D status and seasonal changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in office workers in Ankara, Turkey. *European Journal of Internal Medicine*, 25(2). <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.11.004>
- CLSI. (2010). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP28-A3c. *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- CLSI, Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline CLSI Document C28-A3, 4th ed. Pennsylvania, USA, 2008.
- Çatak Z (2018). Elazığ Bölgesinin 25 Hidroksivitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi ve Populasyona Dayalı Yeni Referans Aralıklarının Belirlenmesi. *Fırat tıp Dergisi*, 23(1), 6-10.
- Daly CH, Higgins V, Adeli K, Grey VL, Hamid JS. Reference interval estimation: methodological comparison using extensive simulations and empirical data. *Clin Biochem* 2017; 50:1145–58
- Dawson-Hughes B. Vitamin D deficiency in adults: definition, clinical manifestations, and treatment. <http://www.uptodate.com/2015>.
- Dawson-Hughes B. Vitamin D deficiency in adults: definition, clinical manifestations, and treatment. <http://www.uptodate.com/2017> adresinden 02.03.2019 tarihinde erişilmiştir
- Deluca, H. F. (1977). Vitamin D as a prohormone. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 26, Issue 7). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(77\)90025-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(77)90025-9)
- Dixon, W. J. (1953). Processing Data for Outliers. *Biometrics*, 9(1). <https://doi.org/10.2307/3001634>

- DRI. (2005). Institute of Medicine; Food and Nutrition Board; Dietary Reference Intakes: Energy; Carbohydrate; Fiber; fat; Fatty Acids; Cholesterol; Protein and Amino Acids. In *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*.
- Drüeke TB, Lacour B: Disorders of calcium, phosphate, and magnesium metabolism. In: *Comprehensive Clinical Nephrology*, edited by Feehally J, Floege J, Johnson RJ, 3rd Ed., Philadelphia, Mosby/Elsevier, 2007, pp 123–140.
- Eastell, R., Brandi, M. L., Costa, A. G., D'Amour, P., Shoback, D. M., & Thakker, R. V. (2014). Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: Proceedings of the fourth international workshop. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(10). <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1414>
- Elin, R. J. (1988). Magnesium metabolism in health and disease. *Disease-a-Month*, 34(4). [https://doi.org/10.1016/0011-5029\(88\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0011-5029(88)90013-2)
- Enli Y. Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2001.
- Ersöz B, Onat T, Emerk K ve Sözmen EY. (2002). Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. İnsan Biyokimyası. Ankara; p.467-472.
- Farrow, E. G., & White, K. E. (2010). Recent advances in renal phosphate handling. *Nature Reviews Nephrology*, Vol. 6. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.17>
- Ferré-Masferrer, M., Fuentes-Arderiu, X., & Puchal-Añé, R. (1999). Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clinica Chimica Acta*, 279(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(98\)00164-8](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(98)00164-8)
- Ferrè, S., Hoenderop, J. G. J., & Bindels, R. J. M. (2011). Insight into renal Mg²⁺ transporters. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 20(2). <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283435ee4>
- Ferrè, S., Hoenderop, J. G. J., & Bindels, R. J. M. (2012). Sensing mechanisms involved in Ca²⁺ and Mg²⁺ homeostasis. *Kidney International*, Vol. 82. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.179>
- Fine, K. D., Santa Ana, C. A., Porter, J. L., & Fordtran, J. S. (1991). Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *Journal of Clinical Investigation*, 88(2). <https://doi.org/10.1172/JCI115317>
- Forrest, K. Y. Z., & Stuhldreher, W. L. (2011). Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. *Nutrition Research*, 31(1). <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2010.12.001>
- Fragoso, T. S., Dantas, A. T., Marques, C. D. L., da Rocha, L. F., Melo, J. H. de L., Costa, A. J. G., & Duarte, A. L. B. P. (2012). 25-hydroxyvitamin D 3 levels in patients with systemic lupus erythematosus and its association with clinical parameters and laboratory tests. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 52(1).
- Friedman, P. A., & Gesek, F. A. (1995). Cellular calcium transport in renal epithelia: Measurement, mechanisms, and regulation. *Physiological Reviews*, Vol. 75. <https://doi.org/10.1152/physrev.1995.75.3.429>
- Gardner DG and Shoback D. (2007). Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology. *Eighth Edition*, 288-95.
- Gattineni, J., & Baum, M. (2012). Genetic disorders of phosphate regulation. *Pediatric Nephrology*, Vol. 27. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2103-2>
- Goodman, W. G., & Quarles, L. D. (2008). Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: Lessons from molecular genetics. *Kidney International*, 74(3). <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002287>
- Gräsbeck, R. (1990). Reference values, why and how. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 50(s201). <https://doi.org/10.1080/00365519009085800>
- Grossi, E., Colombo, R., Cavuto, S., & Franzini, C. (2005). The REALAB project: A new method for the formulation of reference intervals based on current data. *Clinical Chemistry*, 51(7). <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.047787>

- Grossman, Z., Hadjipanayis, A., Stiris, T., del Torso, S., Mercier, J. C., Valiulis, A., & Shamir, R. (2017). Vitamin D in European children—statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). *European Journal of Pediatrics*, 176(6). <https://doi.org/10.1007/s00431-017-2903-2>
- Grotz, W. H., Alexander Munding, F., Gugel, B., Exner, V. M., Kirste, G., & Schollmeyer, P. J. (1995). Bone mineral density after kidney transplantation: A cross- Sectional study in 190 graft recipients up to 20 years after transplantation. *Transplantation*, 59(7). <https://doi.org/10.1097/00007890-199504150-00010>
- Gürdöl, F. (2015). *Tıbbi Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Haarburger, D., Hoffman, M., Erasmus, R. T., & Pillay, T. S. (2009). Relationship between vitamin D, calcium and parathyroid hormone in Cape Town. *Journal of Clinical Pathology*, 62(6). <https://doi.org/10.1136/jcp.2008.062877>
- Haisch, L., Almeida, J. R., Abreu Da Silva, P. R., Schlingmann, K. P., & Konrad, M. (2011). The role of tight junctions in paracellular ion transport in the renal tubule: Lessons learned from a rare inherited tubular disorder. *American Journal of Kidney Diseases*, 57(2). <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2010.08.038>
- Hall, S. C., & Agrawal, D. K. (2017). Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. *Clinical Therapeutics*, Vol. 39. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.04.002>
- Hashemipour, S., Larijani, B., Adibi, H., Javadi, E., Sedaghat, M., Pajouhi, M., ... Booya, F. (2004). Vitamin D deficiency and causative factors in the population of Tehran. *BMC Public Health*, 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-4-38>
- Haussler, M. R., Whitfield, G. K., Kaneko, I., Forster, R., Saini, R., Hsieh, J. C., ... Jurutka, P. W. (2012). The role of vitamin D in the FGF23, klotho, and phosphate bone-kidney endocrine axis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, Vol. 13. <https://doi.org/10.1007/s11154-011-9199-8>
- Hebert, S. C., & Brown, E. M. (1996). The scent of an ion: Calcium-sensing and its roles in health and disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, Vol. 5. <https://doi.org/10.1097/00041552-199601000-00009>
- Hekimsoy, Z., Dinç, G., Kafesçiler, S., Onur, E., Güvenç, Y., Pala, T., ... Özmen, B. (2010). Vitamin D status among adults in the Aegean region of Turkey. *BMC Public Health*, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-782>
- Hoffmann, R. G. (1963). Statistics in the Practice of Medicine. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 185(11). <https://doi.org/10.1001/jama.1963.03060110068020>
- Holick, M. F. (2003). Vitamin D: A millenium perspective. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(2). <https://doi.org/10.1002/jcb.10338>
- Holick, M. F. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*.
- Holick, M. F. (2007). Medical progress: Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3). <https://doi.org/10.1056/NEJMra070553>
- Holick, M. F. (2009). Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application. *Annals of Epidemiology*, Vol. 19. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2007.12.001>
- Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline (Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism (2011) 96, (1911-1930)). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 96.
- Holick MF, Krane SM, Potts JT. Calcium, phosphorus, and bone metabolism: Calcium-regulation hormones. In: , Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al (Eds). Harrison's principles of internal medicine. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1995:2214.
- Horn, P. S., & Pesce, A. J. (2002). Effect of ethnicity on reference intervals. *Clinical Chemistry*, 48(10). <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.10.1802>

Horowitz G. Establishment and use of Reference Values. In: Carl A. Burtis , Edward R. Ashwood , David E. Bruns (eds). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5nd ed. New York, Elsevier Science 2012:95-118.

Hosseini-Nezhad, A., & Holick, M. F. (2012). Optimize dietary intake of vitamin D: An epigenetic perspective. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, Vol. 15. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3283594978>

Hosseini-Nezhad, A., & Holick, M. F. (2013). Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clinic Proceedings*, 88(7), 720–755. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.05.011>

Hosseini-Nezhad, A., Spira, A., & Holick, M. F. (2013). Influence of Vitamin D Status and Vitamin D3 Supplementation on Genome Wide Expression of White Blood Cells: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058725>

Houillier P: Calcium-sensing in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 22: 566–571, 2013

Ichihara K, Boyd JC. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL) An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2010, 48: 1537-51.43.

İlçöl YÖ, Aslan D. Bursa İli'nde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2004, 29: 183-192.

İlçöl, Y. Ö., Aslan, D. (2004). Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. *Turk J Biochem*.

International Organization for standardization. (2012). ISO 15189:2012 - Medical laboratories-Requirements for quality and competence. *International Organization for Standardization ISO*.

Işık Z.Solak Görmüş, N. E. (2003). Magnezyumun klinik önemi. *Genel Tıp Derg*, 12(2).

Johnson, J. A., & Kumar, R. (1994). Renal and intestinal calcium transport: Roles of vitamin D and vitamin D- dependent calcium binding proteins. *Seminars in Nephrology*, Vol. 14.

Jones, G. (2018). The discovery and synthesis of the nutritional factor vitamin D. *International Journal of Paleopathology*, Vol. 23. <https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2018.01.002>

Jørgensen, L. G. M., Stahl, M., Brandslund, I., Hyltoft Petersen, P., Borch-Johnsen, K., & De Fine Olivarius, F. (2001). Plasma glucose reference interval in a low-risk population. 2. Impact of the new WHO and ADA recommendations on the diagnosis of diabetes mellitus. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 61(3). <https://doi.org/10.1080/003655101300133621>

Jubiz, W., Canterbury, J. M., Reiss, E., & Tyler, F. H. (1972). Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: correlation with serum calcium, phosphate, albumin, and growth hormone levels. *The Journal of Clinical Investigation*, 51(8). <https://doi.org/10.1172/JCI107010>

K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. (2003). *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 42(4 Suppl 3).

Kairisto, V., & Poola, A. (1995). Software for illustrative presentation of basic clinical characteristics of laboratory tests - graphROC for windows. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 55(S222). <https://doi.org/10.3109/00365519509088450>

Kalafat H. Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli'ndeki Referans Aralıklarının Endirekt Yöntemle Belirlenmesi. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Mersin: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008.

Keller, J., & Schinke, T. (2013). The role of the gastrointestinal tract in calcium homeostasis and bone remodeling. *Osteoporosis International*, Vol. 24. <https://doi.org/10.1007/s00198-013-2335-4>

- Kendrick, J., Targher, G., Smits, G., & Chonchol, M. (2009). 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*, *205*(1). <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.033>
- Kenney, M. A., McCoy, H., & Williams, L. (1994). Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. *Calcified Tissue International*, *54*(1). <https://doi.org/10.1007/BF00316289>
- Khundmiri, S. J., Murray, R. D., & Lederer, E. (2016). PTH and vitamin D. *Comprehensive Physiology*, *6*(2). <https://doi.org/10.1002/cphy.c140071>
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group (2009). KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney international. Supplement*, (113), S1–S130. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.188>
- Kjærgaard, M., Waterloo, K., Wang, C. E. A., Almås, B., Figenschau, Y., Hutchinson, M. S., ... Jorde, R. (2012). Effect of vitamin D supplement on depression scores in people with low levels of serum 25-hydroxyvitamin D: Nested case-control study and randomised clinical trial. *British Journal of Psychiatry*, *201*(5). <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.111.104349>
- Konrad, M., Schlingmann, K. P., & Gudermann, T. (2004). Insights into the molecular nature of magnesium homeostasis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, Vol. 286. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00312.2003>
- Kouri, T., Kairisto, V., Virtanen, A., Uusipaikka, E., Rajamäki, A., Finneman, H., ... Näntö, V. (1994). Reference intervals developed from data for hospitalized patients: Computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clinical Chemistry*, *40*(12). <https://doi.org/10.1093/clinchem/40.12.2209>
- Kovacs, C. S., Manley, N. R., Moseley, J. M., John Martin, T., & Kronenberg, H. M. (2001). Fetal parathyroids are not required to maintain placental calcium transport. *Journal of Clinical Investigation*, *107*(8). <https://doi.org/10.1172/JCI11321>
- Kumar, R. (1995). Calcium transport in epithelial cells of the intestine and kidney. *Journal of Cellular Biochemistry*, *57*(3). <https://doi.org/10.1002/jcb.240570304>
- Kumar R: Calcium metabolism. In: *The Principles and Practice of Nephrology*, edited by Jacobson HR, Striker GE, Klahr S, 2nd Ed., St. Louis, MO, Mosby-Year Book, 1995, pp 964–971
- Kutay F. Laboratuvar Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi. İçinde: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay F, (editörler) *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Kitabı* İstanbul, Palme Yayıncılık, 2004:53-70
- Lahti, A., Hyltoft Petersen, P., Boyd, J. C., Fraser, C. G., & Jørgensen, N. (2002). Objective criteria for partitioning Gaussian-distributed reference values into subgroups. *Clinical Chemistry*, *48*(2). <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.2.338>
- Lai, C. C., Singer, L., & Armstrong, W. D. (1975). Bone composition and phosphatase activity in magnesium deficiency in rats. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A*, *57*(4). <https://doi.org/10.2106/00004623-197557040-00013>
- Lee, J. H., Choi, J.-H., Kweon, O. J., & Park, A. J. (2015). Discrepancy between Vitamin D Total Immunoassays due to Various Cross-reactivities. *Journal of Bone Metabolism*, *22*(3). <https://doi.org/10.11005/jbm.2015.22.3.107>
- Lichtman, M. A., Miller, D. R., Cohen, J., & Waterhouse, C. (1971). Reduced red cell glycolysis, 2, 3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate concentration, and increased hemoglobin-oxygen affinity caused by hypophosphatemia. *Annals of Internal Medicine*, *74*(4). <https://doi.org/10.7326/0003-4819-74-4-562>
- Lips, P. (2007). Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *103*(3–5). <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.076>

- Liu, P. T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B. H., Krutzik, S. R., ... Modlin, R. L. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 311(5768). <https://doi.org/10.1126/science.1123933>
- Looker, A. C., Johnson, C. L., Lacher, D. A., Pfeiffer, C. M., Schleicher, R. L., & Sempos, C. T. (2011). Vitamin D status: United States, 2001-2006. *NCHS Data Brief*, (59).
- Loughead, J. L., Mimouni, F., Ross, R., & Tsang, R. C. (1990). Postnatal changes in serum osteocalcin and parathyroid hormone concentrations. *Journal of the American College of Nutrition*, 9(4). <https://doi.org/10.1080/07315724.1990.10720393>
- Lumsden, J. H., & Mullen, K. (1978). On establishing reference values. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 42(3).
- M'Buyamba-Kabangu, J. R., Fagard, R., Lijnen, P., Bouillon, R., Lissens, W., & Amery, A. (1987). Calcium, vitamin D-endocrine system, and parathyroid hormone in black and white males. *Calcified Tissue International*, 41(2). <https://doi.org/10.1007/BF02555247>
- Marks, J., Debnam, E. S., & Unwin, R. J. (2010). Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, Vol. 299. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00508.2009>
- McGrath, J. (2001). Does "imprinting" with low prenatal vitamin D contribute to the risk of various adult disorders? *Medical Hypotheses*, 56(3). <https://doi.org/10.1054/mehy.2000.1226>
- Melamed, M. L., Michos, E. D., Post, W., & Astor, B. (2008). 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Archives of Internal Medicine*, 168(15). <https://doi.org/10.1001/archinte.168.15.1629>
- Metzger, M., Houillier, P., Gauci, C., Haymann, J. P., Flamant, M., Thervet, E., ... Ureña-Torres, P. (2013). Relation between circulating levels of 25(OH) vitamin D and parathyroid hormone in chronic kidney disease: Quest for a threshold. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(7). <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1294>
- MF, H. (2007). Vitamina D deficiency. *N Engl J Med*, 357.
- Mithal, A., Wahl, D. A., Bonjour, J. P., Burckhardt, P., Dawson-Hughes, B., Eisman, J. A., ... Morales-Torres, J. (2009). Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporosis International*, Vol. 20. <https://doi.org/10.1007/s00198-009-0954-6>
- Moe, S. M., & Drüeke, T. B. (2009). Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD–MBD). *Kidney International*, 76(113).
- Muir, S. W., & Montero-Odasso, M. (2011). Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59(12). <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2011.03733.x>
- National Kidney Foundation (2003). K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation*, 42(4 Suppl 3), S1–S201.
- NCCLS C28-A (1995) How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, NCCLS,17, No 18.
- N.R., M., F.C., M. J., J.V.L., S., J.S., L., & N.S., F. (2015). Is vitamin D deficiency a new risk factor for cardiovascular disease? *Open Cardiovascular Medicine Journal*, 9(1).
- Noronha, L. J., & Matuschak, G. M. (2002). Magnesium in critical illness: Metabolism, assessment, and treatment. *Intensive Care Medicine*, Vol. 28. <https://doi.org/10.1007/s00134-002-1281-y>
- Norris, K. C., & Williams, S. F. (2013). Race/ethnicity, serum 25-hydroxyvitamin D, and heart disease. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, Vol. 310. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.7229>

- Ozarda, Y., Higgins, V., & Adeli, K. (2019). Verification of reference intervals in routine clinical laboratories: Practical challenges and recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0059>
- Ozfirat, Z., & Chowdhury, T. A. (2010). Vitamin D deficiency and type 2 diabetes. *Postgraduate Medical Journal*, Vol. 86. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2009.078626>
- Ozkan B. Nutritional rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010; 4: 137-143.
- Ozsoylu, S., & Hanioglu, N. (1977). Serum magnesium levels in children with vitamin D deficiency rickets. *Turkish Journal of Pediatrics*, 19(3-4).
- Öncül Börekçi, N. (2019). Current information on Vitamin D deficiency. *The Journal of Turkish Family Physician*, 10(1). <https://doi.org/10.15511/jtftp.19.00135>
- Öngen, B., Kabaroğlu, C., Parıldar, Z., Üniversitesi, E., Fakültesi, T., Dalı, B. A., ... Dalı, B. (2008). D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi Biochemical and Laboratory Evaluation of Vitamin D. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 6(1).
- Pazirandeh S, Burns DL. Overview of vitamin D. <http://www.uptodate.com/2015>
- Pesce MA. Reference ranges for laboratory tests and procedures. Nelson textbook of pediatrics. 2008;18:2944-9.
- Polat,H.(2014). *Bazı Biyokimyasal Testlerin Referans Aralık Belirleme Çalışması* (Doctoral Dissertation).
- Ponsonby, A. L., McMichael, A., & Van der Mei, I. (2002). Ultraviolet radiation and autoimmune disease: Insights from epidemiological research. *Toxicology*, 181-182. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00257-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00257-3)
- Quamme, G. A. (2008). Recent developments in intestinal magnesium absorption. *Current Opinion in Gastroenterology*, Vol. 24. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282f37b59>
- Quamme, G. A. (2010). Molecular identification of ancient and modern mammalian magnesium transporters. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, Vol. 298. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00124.2009>
- Razzaque, M. S. (2009). The FGF23-Klotho axis: Endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*, Vol. 5. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2009.196>
- Riccardi, D., & Brown, E. M. (2010). Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, Vol. 298. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00608.2009>
- Rizzoli, R., & Bonjour, J. P. (2006). Physiology of Calcium and Phosphate Homeostases. In *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/B978-012088562-6/50021-2>
- Ryazanova, L. V., Rondon, L. J., Zierler, S., Hu, Z., Galli, J., Yamaguchi, T. P., ... Ryazanov, A. G. (2010). TRPM7 is essential for Mg²⁺ homeostasis in mammals. *Nature Communications*, 1(8). <https://doi.org/10.1038/ncomms1108>
- Saggese, G., Baroncelli, G. I., Bertelloni, S., & Cipolloni, C. (1991). Intact parathyroid hormone levels during pregnancy, in healthy term neonates and in hypocalcemia preterm infants. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 80(1). <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1991.tb11726.x>
- Schimatschek, H. F., & Rempis, R. (2001). Prevalence of hypomagnesemia in an unselected German population of 16,000 individuals. *Magnesium Research*, 14(4).
- Schlingmann, K. P., Kaufmann, M., Weber, S., Irwin, A., Goos, C., John, U., ... Konrad, M. (2011). Mutations in CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia . *New England Journal of Medicine*, 365(5). <https://doi.org/10.1056/nejmoa1103864>

- Schlingmann, K. P., Weber, S., Peters, M., Nejsum, L. N., Vitzthum, H., Klingel, K., ... Konrad, M. (2002). Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TPRM6, a new member of the TPRM gene family. *Nature Genetics*, 31(2). <https://doi.org/10.1038/ng889>
- Sedrani, S. H., Elidrissy, A. W., & El Arabi, K. M. (1983). Sunlight and vitamin D status in normal Saudi Subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 38(1). <https://doi.org/10.1093/ajcn/38.1.129>
- Solberg, H. E. (1987a). Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clinica Chimica Acta*. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(87\)90151-3](https://doi.org/10.1016/0009-8981(87)90151-3)
- Solberg, H. E. (1987b). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 25(5).
- Somerville, P. N. (1958). Tables for Obtaining Non-parametric Tolerance Limits. *The Annals of Mathematical Statistics*, 29(2). <https://doi.org/10.1214/aoms/1177706640>
- Souberbielle, J. C., Friedlander, G., Kahan, A., & Cormier, C. (2006). Evaluating vitamin D status. Implications for preventing and managing osteoporosis and other chronic diseases. *Joint Bone Spine*, Vol. 73. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2006.01.003>
- Souberbielle, J. C., Brazier, F., Piketty, M. L., Cormier, C., Minisola, S., & Cavalier, E. (2017). How the reference values for serum parathyroid hormone concentration are (or should be) established? *Journal of Endocrinological Investigation*, Vol. 40. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0553-2>
- Souberbielle, Jean Claude, Lawson-Body, E., Hammadi, B., Sarfati, E., Kahan, A., & Cormier, C. (2003). The use in clinical practice of parathyroid hormone normative values established in vitamin D-sufficient subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(8). <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030097>
- Sowah, D., Fan, X., Dennett, L., Hagtvedt, R., & Straube, S. (2017). Vitamin D levels and deficiency with different occupations: A systematic review. *BMC Public Health*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4436-z>
- Swaminathan, R. (2003). Magnesium metabolism and its disorders. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 24(2).
- Thacher, T. D., Fischer, P. R., Strand, M. A., & Pettifor, J. M. (2006). Nutritional rickets around the world: Causes and future directions. *Annals of Tropical Paediatrics*, Vol. 26. <https://doi.org/10.1179/146532806X90556>
- The nomenclature of steroids: Recommendations 1989. (1989). *European Journal of Biochemistry*, 186(3). <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1989.tb15228.x>
- Thin, C. G., & Thomson, P. A. (1967). Estimation of calcium and magnesium in serum and urine by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Clinical Pathology*, 20(3). <https://doi.org/10.1136/jcp.20.3.280>
- Toka, H. R., Al-Romaih, K., Koshy, J. M., DiBartolo, S., Kos, C. H., Quinn, S. J., ... Pollak, M. R. (2012). Deficiency of the calcium-sensing receptor in the kidney causes parathyroid hormone-independent hypocalciuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23(11). <https://doi.org/10.1681/ASN.2012030323>
- Topf, J. M., & Murray, P. T. (2003). Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, Vol. 4. <https://doi.org/10.1023/A:1022950321817>
- Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2000.
- Touvier, M., Deschasaux, M., Montourcy, M., Sutton, A., Charnaux, N., Kesse-Guyot, E., ... Souberbielle, J. C. (2014). Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status,

and calcium intake: Importance of the reference values. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(4). <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3349>

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2018: 119-27.

Tyler Miller, R. (2013). Control of renal calcium, phosphate, Electrolyte, and water excretion by the calcium-sensing receptor. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 27(3). <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.04.009>

Ustaalioglu, Y, Dirican, M. (2015). Plazma 25-OH Vitamin D Ölçümünde HPLC, CMIA ve ECLIA Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 41 (2), 53-58. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/uutfd/issue/35303/391870>

Van Schoor, N. M., & Lips, P. (2011). Worldwide vitamin D status. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 25. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2011.06.007>

Vurgun E, Evliyaoğlu O, Yıldırım S. Kanıta dayalı laboratuvar: D vitamini yetersizlik sınırlarının belirlenmesi. *Med Bull Haseki* 2016; 54: 76-82.

Wacker, M., & Holiack, M. F. (2013). Vitamin D-effects on skeletal and extraskelletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu5010111>

Wagner, D., Hanwell, H. E. C., & Vieth, R. (2009). An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. *Clinical Biochemistry*, 42(15). <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.07.013>

Walder, R. Y., Landau, D., Meyer, P., Shalev, H., Tsolia, M., Borochowitz, Z., ... Sheffield, V. C. (2002). Mutation of TPRM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nature Genetics*, 31(2). <https://doi.org/10.1038/ng901>

Weisinger, J. R., & Bellorín-Font, E. (1998). Magnesium and phosphorus. *Lancet*, Vol. 352. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)10535-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)10535-9)

Wesseling-Perry, K. (2010). FGF-23 in bone biology. *Pediatric Nephrology*, 25(4). <https://doi.org/10.1007/s00467-009-1384-6>

Whang, R., Hampton, E. M., & Whang, D. D. (1994). Magnesium homeostasis and clinical disorders of magnesium deficiency. *Annals of Pharmacotherapy*, Vol. 28. <https://doi.org/10.1177/106002809402800213>

Wilks, S. S. (1942). Statistical Prediction with Special Reference to the Problem of Tolerance Limits. *The Annals of Mathematical Statistics*, 13(4). <https://doi.org/10.1214/aoms/1177731537>

Witham, M. D., Nadir, M. A., & Struthers, A. D. (2009). Effect of vitamin D on blood pressure: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hypertension*, 27(10). <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32832f075b>

Yalla, N., Bobba, G., Guo, G., Stankiewicz, A., & Ostlund, R. (2019). Parathyroid hormone reference ranges in healthy individuals classified by vitamin D status. *Journal of Endocrinological Investigation*, 42(11). <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01075-w>

Young, D. S. (1992). Determination and validation of reference intervals. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 116(7).

Zipitis, C. S., & Akobeng, A. K. (2008). Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Disease in Childhood*, Vol. 93. <https://doi.org/10.1136/adc.2007.128579>

Prié, D., & Friedlander, G. (2010). Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 5(9), 1717–1722. <https://doi.org/10.2215/CJN.02680310>

ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Şule KOÇ
Doğum Yeri ve Tarihi	[REDACTED]
İletişim Adresi	[REDACTED]
Telefon	[REDACTED]
e-posta	[REDACTED]
Eğitim Bilgileri	Kocaeli Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu (2010-2011)
	Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (2011-2015)
Mesleki Deneyim	KOÜ Klinik Araştırmalar Birimi, Saha Görevlisi (2019-devam)
Yabancı Dil	İngilizce (iyi)
<u>Bilimsel Etkinlik</u>	
Sözlü Bildiri	1. Hunç, F., Koç, Ş. , Kocakır, E., Eraldemir, F.C., Maral Kır, H. (2019). Laboratuvar Veritabanı Kullanılarak Kemik Rezorpsiyon Belirteci Olan CTX ve 25 OH D3 Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. OP-6, s.40, cilt 44, ek sayı 1, IV. Türkiye in vitro Diyagnostik (IVD) Sempozyumu: Biyosensörler, İzmir.
	2. Kocakır, E., Koç, Ş. , Şahin, İ., Özsoy, D.Ö., Acar, E., Yaprak Bayrak, B., Teke, K., Kara, Ö., Özden Dillioğlugil, M. (2020). Berrak Hücreli Renal Hücre Karsinomu Hastalarının İdrar Örneklerinde MDA ve AOPP Parametrelerinin İncelenmesi. Oral Presentation (full- text), s.784-788, 3. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimyasal Bilimler Konferansı, Ankara.
Poster	1. Hunç, F., Acar, E., Baki Ünver, P., Koç, Ş. , Kocakır, E. (2020). Oksidatif Stres Biyobelirteçleri ve Kotinin Düzeylerinin Sigara Maruziyeti ile İlişkinin İncelenmesi. Poster Presentation (full- text), s.954-958, 3.Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimyasal Bilimler Konferansı, Ankara.

EKLER

EK-1.Etik Kurul Onay Formu



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ara Kat 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ
	Telefon	
	Faks	
	E-Posta	

Başvuru Bilgileri	Araştırmanın Adı	Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D, Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması			
	Araştırma Proje Numarası	KÜ GOKAEK 2019/191			
	Sorumlu Araştırmacı Unvanı/Adı/Soyadı	Prof. Dr. Hale MARAL KIR			
	Sorumlu Araştırmacının Uzmanlık Alanı	Biyokimya			
	Araştırma Merkezi	Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi			
	Destekleyici	KÜ BAPB			
	Araştırmanın Türü	Yüksek Lisans Tezi			
	Araştırmaya Katılan Merkezler	Tek Merkezli <input checked="" type="checkbox"/>	Çok Merkezli <input type="checkbox"/>	Ulusal <input checked="" type="checkbox"/>	Uluslararası <input type="checkbox"/>

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Var	Yok	Açıklama
	Başvuru Dilekçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başvuru Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırmanın Türü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Kan, İdrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle yapılacak araştırma
	Araştırma Protokolü	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Kullanılacak Form Örnekleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Aydınlatılmış Onam Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırma Bütçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Literatür Örneği	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Taahhütname	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	İzin Belgeleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başhekimlik Onayı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Özgeçmişler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Değişiklik Bilgi Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Proje Sonuç Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Diğer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Onay formu	08.05.2019/KOGOEK01.4	1/2

Karar Bilgileri	Karar No: KÜ GOKAEK 2019/1306 Proje No: 2019/191 Tarih: 07./04/2019
	Prof. Dr. Hale MARAL KIR yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik açıdan, <input checked="" type="checkbox"/> Uygun bulunmuştur. <input type="checkbox"/> Eksikliklerin tamamlanması koşulu ile uygun bulunmuştur.* <input type="checkbox"/> Uygun bulunmamıştır.*

Dayanakları	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi; İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi
-------------	--

Etik Kurul Üyeleri

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Toplantıda Bulunma		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Kadir Babaoğlu Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İ. Erdem Okay Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Haluk Emre Özel Üye	Restoratif Diş Tedavisi	Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özlem Yıldız Gündoğdu Üye	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Canan Baydemir Üye	Biyostatistik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yusufhan Yazır Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Semil Selcen Göçmez Üye	Farmakoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ceyla Eraldemir Üye	Biyokimya	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğretim Üyesi Aslıhan Akpınar Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* Gerekçe ve öneriler:

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Onay formu	08.05.2019/KOGOEK01.4	2/2

EK-2.Aydınlatılmış Onam Formu



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU:

- 1. Çalışmanın adı:** Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D , Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması
- 2. Araştırmacıların adları, kurumları ve iletişim numaraları.**
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Hale MARAL KIR danışmanlığında yürütülmektedir.
Tel: [REDACTED]
- 3. Araştırma amacının anlaşılır ve özet açıklaması:**
Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Lütfen biraz zaman ayırın ve aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun. Araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

Laboratuarda 25(OH) vitamin D ve magnezyum sonuçları incelendiğinde Türk toplumunda cinsiyet fark etmeksizin çok büyük oranda D vitamini eksikliği ve yetersizliği ayrıca magnezyum düzeylerinin de düşük olduğu görülmektedir. D vitamini eksikliği altında genetik faktörler ve çevresel faktörler (beslenme ve güneşten yararlanma) gibi etkiler olmakla birlikte ölçüm yapılan kitlerin referans aralıklarının (normal düzeyleri) yurtdışı bireylere göre belirlenmiş olmasının etkileri olabileceğini düşünmekteyiz. D vitamininin magnezyum ve parathormon ile olan metabolik ilişkileri sebebiyle bu parametrelerin de Kocaeli ve yöresinde referans aralıklarının (normal aralıklar) belirlenmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz.

Genel kanı biyokimyasal her parametrede her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesidir. Bizim de amacımız kendi referans aralıklarımızı belirleyerek Kocaeli ili ve yöresinde gerçekten D vitamini ve magnezyum eksikliği/yetersizliği var mı bunu ayırt etmektir.

- 4. Neden ben seçildim?**
Kocaeli yöresinde yaşadığınız ve çalışmamızın sonuçlarını etkilememesi adına D vitamini, çoklu vitamin ve magnezyum kullanmayan, obez ve kronik alkolizm olmayan, ortopedik hastalığı bulunmayan, gebe ve emzirme döneminde olmayan ve günde 5-6 taneden fazla sigara kullanmayan kişiler bu çalışmaya alınabilecektir. Bu kriterlere uygun olduğunuz için siz seçildiniz.
- 5. Araştırmaya katılmak / bir kez katıldıktan sonra sonuna kadar devam etmek zorunda mıyım?**
Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katıldığınız andan itibaren herhangi bir zarar görmeyeceksiniz. İsteddiğiniz zaman bu çalışmadan ayrılabilirsiniz.

- 6. Katılmayı kabul edersem bana ne yapılacaktır?**
Çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiğinizde;
 - Katılımcı anketini doldurmanız istenecek,

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar için Aydınlatılmış Onam Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 5	27.04.2016/KOGOEK01.2	1/3



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



- En az 10 saat açlık sonrası dinlenik ve oturur pozisyonda 1 tatlı kaşığı kadar kan alınacaktır.
- Doldurduğunuz anket gizlilik esasına göre saklanacaktır ve alınan kan yalnızca araştırma için kullanılacaktır.
- Ses, görüntü ve fotoğraf kullanılmayacaktır.

7. Araştırmaya katılmanın olası dezavantajları ve riskleri nelerdir?

Çalışmamızda beklenen herhangi bir risk yoktur.

8. Araştırmaya katılmanın olası yararları nelerdir?

Araştırma sonuçlarına göre gerçek D vitamini ve magnezyum eksikliği/yetersizliği durumu belirlenecektir. İsteğiniz halinde sonucunuz hakkında size bilgi verilecektir. Eğer gerçekten D vitamini ve magnezyum eksikliğiniz çıkarsa bilgilendirileceksiniz ve bir hekime yönlendirileceksiniz.

9. Araştırma masrafları: Çalışmaya dahil edildiğiniz durumda hiçbir ücret ödemeyeceksiniz ve bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kurumundan da ücret talep edilmeyecektir. Araştırma bütçesi Kocaeli Bilimsel Araştırmalar Proje Biriminden karşılanacaktır.

10. Araştırmada ters giden bir şey olursa?

Araştırma bir risk faktörü içermemektedir.

11. Kimlik bilgilerim ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?

Gizlilik: Ankette doldurduğunuz tüm kişisel bilgiler gizli tutulacaktır.

Bilgilere giriş: Bilgilere sadece araştırmayla ilişkili kişiler ulaşabilecektir.

12. Araştırma sonunda bana bilgi verilecek mi?

Çalışma kapsamında yapılacak test sonuçları isteğiniz halinde size bildirilecektir.

13. Araştırma sonuçlarına ne olacak?

Araştırma sonuçları yayınlanırken katılımcının tüm kişisel bilgileri gizli tutulacaktır.

14. Daha ayrıntılı bilgi için,

Prof. Dr. Hale Maral Kır Te [REDACTED]

Şule Koç Te [REDACTED]

15. Teşekkür:

Araştırmamıza katıldığınız için teşekkür ederiz.

16. İAEK onayı:

İAEK tarafından onaylandıktan sonra bilgilendirme formlarının "GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU" tarafından onaylandığı belirtilmeli ve antetli kağıda karar numarası ile basılmalıdır.

17. Şikâyet için başvuru adresi verilmelidir;

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar için Aydınlatılmış Onam Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 5	27.04.2016/KOGOEK01.2	2/3



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Araştırmaya katılımınızla ilgili herhangi bir şikâyetiniz varsa Kurula Etik Kurul raportörü Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar () vasıtasıyla ulaşabilirsiniz. Her tür şikâyetiniz gizlilikle değerlendirilecek, araştırılacak ve sonuç hakkında tarafınıza bilgi verilecektir.

ONAM FORMU (D²)

(Araştırmacı nüshası ve Katılımcı nüshası olmak üzere iki nüsha halinde basılmalı ve imzalı araştırmacı nüshası saklanmalıdır. Gerekli olduğunda Etik Kurul tarafından onam formları istenebilir)

Araştırmanın Adı: Kocaeli İli ve Çevresinde Sağlıklı Bireylerde 25(OH) Vitamin D , Parathormon ve Magnezyum'un Referans Aralıklarının Saptanması

	Evet	Hayır
Gönüllü Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırmada elde edilen biyolojik örneklerin madde 6'da belirtilen şartlarda gelecekte de kullanılmasına onay veriyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı?		

Gönüllü	Araştırmacı
İmza:	İmza:
Adı / Soyadı:	Adı / Soyadı:
Tarih:	Tarih:

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar için Aydınlatılmış Onam Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 5	27.04.2016/KOGOEK01.2	3/3

EK-3.Dışlama Kriterleri

D Vitamini Referans Aralık Çalışması

1. D vitamini, multi vitamin, magnezyum, kalsiyum vb. vitamin kullanmayan,
2. 18-60 yaş arasında kadın-erkek
3. Gebe olmayan
4. Emzirmeyen
5. Obez olmayan
6. Diyabet olmayan
7. Kronik hastalığı olmayan
8. Reçeteli ilaç kullanmayan
9. Meslek hastalığı olmayan
10. Genetik rahatsızlığı olmayan
11. Ortopedik hastalığı olmayan
12. Son zamanlarda ameliyat geçirmeyen
13. Son zamanlarda transfüzyon yapılmayan
14. Kronik alkol kullanmayan
15. Günde 5-6 taneden fazla sigara kullanmayan

Sağlıklı kişiler gönüllü katılımcı olabilirler.

İrtibat: Şule Koç

EK-4.Katılımcı Değerlendirme Anket Formu

Tüm bilgiler kesinlikle gizli tutulacaktır ve sizin kan örneğinizden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için kullanılacaktır.

Örnek no:

Örneğin alındığı tarih ve saat: (Laboratuvar Tarafından Doldurulacaktır)

1.Ad, Soyad:

2.Medeni hal:

3.Meslek:

4.Telefon:

5.Doğum tarihi:

6.Cinsiyet:

7.İrk:

8.Boy:

9.Ağırlık:

10.İkamet ettiğiniz il:

11.Kendinizi sağlıklı hissediyor musunuz? Evet Hayır

12.Düzenli olarak egzersiz yapıyor musunuz? Evet Hayır

Evet, ise haftada kaç saat?

Aktivitenin derecesi? Hafif Orta Ağır

13.Son zamanlarda hiç rahatsızlandınız mı? Evet Hayır

Eğer evet ise ne zaman ve neden?

14.Reçete edilmiş ilaç alıyor musunuz? Evet Hayır

Eğer evet ise ne kullanıyorsunuz?

Ne kadar süredir?

15.En son ne zaman ilaç aldınız? Adı:

16.Vitamin ilacı alıyor musunuz? Evet Hayır

Eğer evet ise ne ve ne sıklıkta?

17.Sigara kullanıyor musunuz? Evet Hayır

Eğer evet ise günde kaç adet?

Ne kadar süredir kullanıyorsunuz?

18.Alkol kullanıyor musunuz? Evet Hayır

Eğer evet ise ne sıklıkta?

19.Genel beslenme şekliniz nedir?

Ekmek ve Tahıl Grubu (buğday, pirinç, bulgur vb.)

Sebze ve Meyve Grubu

Et-Yumurta-Kurubaklagil Grubu (et, tavuk, balık, yumurta, mercimek, ceviz, fındık vb.)

Süt Grubu (süt, yoğurt, peynir)

20.Kadınlar İçin:

Adet görüyor musunuz? Evet Hayır

Hamile misiniz? Evet Hayır

Emzirme var mı? Evet Hayır

Anketi doldurduğunuz için teşekkür ederiz.