

T. C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**İDİYOPATİK ADÖLESAN SKOLYOZUNDA
VİTAMİN D RESEPTÖR GENİ BsmI
POLİMORFİZMİ**

DR. BÜLENT UYANIK

UZMANLIK TEZİ

İZMİR -2012

T. C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**İDİYOPATİK ADÖLESAN SKOLYOZUNDA
VİTAMİN D RESEPTÖR GENİ BsmI
POLİMORFİZMİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BÜLENT UYANIK

**Bu araştırma DEU Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından
2011215 sayı ile desteklenmiştir.**

İÇİNDEKİLER

TABLO DİZİNİ.....	VI
ŞEKİL DİZİNİ	VII
KISALTMALAR	VIII
TEŞEKKÜR	IX
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Tanım	4
2.2 Tanı	4
2.2.1 Fizik muayene.....	5
2.2.2 Cobb açısı.....	5
2.2.3 Risser işareti.....	6
2.3 Hasta Takip ve Yönetimi.....	6
2.4 Epidemiyoloji.....	6
2.4.1 Prevalans	6
2.4.1.1 Türkiye'de prevalans.....	7
2.4.1.2 Etnik çalışmalar	8
2.5 Skolyoz Sınıflaması	9
2.5.1 Konjenital skolyoz	9
2.5.2 İdiyopatik skolyoz	9
2.6 Etyoloji.....	11

2.6.1 İkiz - popülasyon çalışmaları	11
2.6.2 Kalıtım özellikleri	12
2.6.3 Moleküler sitogenetik çalışmalar	15
2.6.4 Bağlantı analizleri	15
2.7 Vitamin D	16
2.7.1 Ultraviyole ve D Vitamini sentezi	16
2.7.2 D Vitamini metabolizması	16
2.8 Vitamin D Reseptör Geni	19
2.8.1 Lokusu	19
2.8.2 Varyantları	20
2.8.3 Protein dizisi	20
2.8.4 VDR'nin fonksiyonel bölümleri	20
2.8.5 Dokulardaki ifadesi	21
2.8.6 VDR'nin genomik etkileri	22
2.8.7 VDR'nin ekstragenomik etkileri	24
2.8.8 VDR ve kemik dokusu	24
2.9VDRBsmI polimorfizmi	25
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1 Çalışma Grupları	30
3.2 Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler.....	30
3.3 Yöntem	32
3.3.1 DNA izolasyonu	32
3.3.2 DNA konsantrasyonu ölçümü	33
3.3.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	33

3.4 Striplerin Çalışılması ve Değerlendirilmesi	34
4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	38
5. BULGULAR	39
6. TARTIŞMA	43
7. SONUÇ	48
8. KAYNAKLAR	49
9. EKLER	64
9.1 Ek 1 Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	64
9.2 Ek 2 Kontrol Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	66

TABLO DİZİNİ

Tablo 1 Takip tedavi yönergesi.....	6
Tablo 2 Toplumda idiyopatik skolyoz sıklığı	7
Tablo 3 Skolyoz sınıflaması tablosu.....	10
Tablo 4 Dokulara göre ağırlıklı ifadesi	22
Tablo 5 VDR BsmI polimorfizminin metodolojilerdeki farklı isimleri	25
Tablo 6 Hasta ve kontrol genotipleri	40
Tablo 7 Hasta ve kontrol grubunun genotip sayı ve frekans yüzdeleri	41

SEKİL DİZİNİ

Şekil 1 Öne eğilme testiverotasyon için Skolyometre kullanımı	5
Şekil 2 Cobb açısı ve Risser işareti	5
Şekil 3 Vitamin D'nin aktifleştirilmesi	17
Şekil 4 Vitamin D üzerindeki modifikasyonlar	18
Şekil 5 VDR geni sitogenetik lokusu	19
Şekil 6 VDR geni intron, ekzon ve polimorfizmlerin bölgeleri	19
Şekil 7 VDR geni protein dizisi	20
Şekil 8 VDR geni yapısal ve fonksiyonel bölümleri	21
Şekil 9 Nükleer VDR'nin genomik etkileri	23
Şekil 10 VDR'nin hedef genleri	23
Şekil 11 Membranöz VDRm'in ekstragenomik etkileri	24
Şekil 12 VDR BsmI polimorfizminde tek nükleotit değişimi	26
Şekil 13 VDR BsmI polimorfizminin farklı toplumlardaki sıklığı	27
Şekil 14 Strip bant şeklinin değerlendirilmesi	36
Şekil 15 Hasta grubu genotip ve allelfrekans yüzdeleri	41
Şekil 16 Kontrol grubu genotip ve allel frekans yüzdeleri	41
Şekil 17 Grupların genotip ve allel frekansları grafiği	42

KISALTMALAR

- AİS : Adölesan İdiyopatik Skolyozu
- DNA : Deoksiribo nükleik asit
- PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu
- RPM : Dakikadaki dönüş sayısı
- HSP : Isı şok proteinleri
- Dk : Dakika
- SNP : Tek nükleotit değişikliği polimorfizmi
- GWA : Genom çaplı bağlantı analizi
- CNV : Kopya sayısı değişikliği
- aa : Amino asit
- ng : Nanogram
- KMD : Kemik mineral dansitesi
- BMI : Vücut kitle indeksi
- Ark. : Arkadaşları
- UTR : Translasyon olmayan bölge
- WB : Yıkama tamponu
- VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
- UV : Ultraviyole

TEŞEKKÜR

Eğitim s¼rem boyunca yetişmemde emeği geçen başta Uzmanlık Tezi sorumlu hocam ve Tıbbi Genetik AD başkanı Prof.Dr. Murat Derya ERÇAL'a,

Tez konunun belirlenmesi ve çalışmanın y¼r¼t¼lmesi aşamalarında katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayfer ÜLGENALP'e, Yard.Doç. Dr. Elçin BORA'ya, Doç. Dr. Özlem GİRAY BOZKAYA'ya, Uzm. Dr. Tufan ankaya'ya,

Hasta grubumu oluşturmamda b¼y¼k katkıları olan ve çalışma için her uğradığımda zamanlarını ayırıp değerli yardımlarını esirgemeyen Ortopedi ve Travmatoloji AD ğretim yeleri Prof. Dr. Ömer AKÇALI ve Prof.Dr. Haluk BERK'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hasta ve kontrol grubumu oluşturmamda destek veren arkadaşlarım Dr. Sezin CANBEK'e, Dr. Özlem Z'e, Dr. Özge AKSEL'e, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Lab. Teknikeri Orkide EYLEN ER'e ve Uzm. Biyolog Erkan KAYTANKAş'a,

Varlıkları ile her zaman bana g¼c veren Tıbbi Genetik AD alışanı t¼m arkadaşlarıma,

Saygı, sevgi ve teřekk¼rlerimle

B¼lent UYANIK

İzmir, 2012

ÖZET

İdiyopatik Adölesan Skolyozunda Vitamin D Reseptör Geni BsmI Polimorfizmi

Dr Bülent UYANIK

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir

Omurgada koronal planda yana doğru oluşan eğrilik nedeniyle direkt grafide ölçülen Cobb açısının on derecenin üzerinde olmasıyla tanımlanan Skolyoz; toplumda %3 gibi yüksek sıklıkta görülen, olguların %85 kadarında altta yatan neden bulunamadığı için idiyopatik olarak değerlendirilen, en sık adölesanlığa karşılık gelen 10 – 20 yaş aralığında ortaya çıkan, her iki cinsi eşit oranda tutmasına rağmen kızlarda on kat daha fazla ilerleyici bulunan, ikiz kardeşlerdeki konkordans ve olguların aile ağaçlarının incelendiği epidemiyolojik çalışmalar sonucunda birden fazla genin etkileşmesi sonucu poligenik kalıtımla oluştuğu düşünülen, etyolojisinde genetiğin büyük rol aldığı bir hastalıktır. Vitamin D reseptör geninin kemik dokusu üzerinde düzenleyici etkileri vardır ve BsmI polimorfizmi osteopeni ile ilişkilendirilmiştir. Osteopeni skolyozun klasik bir komponentidir. Çalışmamızın amacı İdiyopatik Adölesan Skolyozu ile Vitamin D reseptör geni BsmI polimorfizmi arasında etyolojik olarak ilişki olup olmadığını araştırmaktır.

Adölesan İdiyopatik Skolyozu tanısı koyulmuş, birbirleriyle akraba olmayan yedisi erkek 45'i kız toplam 52 hasta ve 20 – 35 yaş arasındaki, birbirleriyle akraba olmayan, yedisi erkek toplam 53 gönüllü kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir ve olguların periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak VDR BsmI genotipi strip test kullanılarak belirlenmiştir.

Hasta grubunda genotip dağılımı bb %25, Bb %59,6, BB%15,4 iken kontrol grubundaki dağılımın bb %28,3, Bb %37,3, BB %34 olduğu görülmüş ve iki grubun genotip frekanslarının farkının anlamlılığını gösteren Ki-kare değeri: 6,35 ve p değeri: 0,0417 olarak bulunmuştur.

Sonuçlar Vitamin D reseptör geni BsmI polimorfizminde Bb genotipi ile İdiyopatik Adölesan Skolyozu arasında ilişki olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: Adölesan İdiyopatik Skolyozu, VDR, BsmI, rs1544410

ABSTRACT

Vitamin D Receptor Gene BsmI Polymorphism in Adolescent Idiopathic Scoliosis

Dr Bülent UYANIK

Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Medical Genetics, İzmir

Scoliosis is defined as a lateral curvature of the spine in coronal plane, with bigger than ten degree angle (measured as Cobb angle in plain radiograph). Overall population prevalence is quite high as 3% and 85% of the cases has no etiological cause and termed as 'idiopathic'. Appear most frequently in puberty ages, between ten and 20 years old. Both sexes are affected equally but progression can occur ten times frequent in girls. With high concordance in twin studies and epidemiological studies on pedigrees of patient with scoliosis reflect an important genetic effect with poligenetic inheritance.

Vitamin D receptor gene has regulatory effect on bone tissue and BsmI polymorphism is associated with osteopenia. Osteopenia is a classical component of Scoliosis. The aim of this study is to find association between Adolescent Idiopathic Scoliosis and Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism, if exist.

Unrelated 45 female and seven male (totally 52) patients who were diagnosed as Adolescent Idiopathic Scoliosis and 46 female and seven male (totally 53) volunteer controls composed two investigated groups. All case's BsmI genotype were determined by strip test using genomic DNA isolated from peripheral blood.

Distribution of genotypes of patients in percentage were bb 25%, Bb 59,6%, BB 15,4% while control group's were bb 25%, Bb 59,6%, BB 15,4%. Chi-square value which was index for significancy of genotype frequency differences of two groups was 6,35 and p value: 0,0417.

The results revealed that, there maybe an association between Adolescent Idiopathic Scoliosis and Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism, Bb genotype.

Keywords: Adolescent Idiopathic Scoliosis, VDR, BsmI, rs1544410

1. GİRİŞ VE AMAC

Skolyoz, Tıbbın babası sayılan Hipokrat (MÖ:460-370) zamanından bu yana hekimlerin dikkat ve ilgisini üzerinde toplamasına rağmen, tedavisinde çok yol katedilse de nedeni halen tam anlamıyla bulunamamış sık görülen bir sağlık sorunu olarak karşımızdadır. Skolyoz sırt ağrısına, hareketlerdeki zorlanma nedeniyle fonksiyonel kapasitede azalmaya, estetik kaygılara ve buna bağlı psikolojik sıkıntılara, hatta eğriliğin ileri derecelerinde kardiyo-pulmoner fonksiyonel kayba neden olabilir. 1981’de yapılan uzun süreli bir gözlemi içeren yayında ortalama ömür beklentisinin skolyozlularda 14 sene daha kısa olduğu ortaya koyulmuştur. Amerika’da her yıl yeni tanı alan 100.000 skolyoz hastası olmaktadır. Bu 100.000 kişi her 4-6 ayda bir muayene ve direkt grafi ile değerlendirme programına alınmaktadırlar. 12-18 ay içerisinde yeni tanı alanların 7000-10.000 kadarının eğriliği korse kullanılması gereken seviyeye gelmekte, 36 ay içerisinde ise 1000-4.000 kadarı cerrahi tedaviye alınmak zorunda kalınmaktadır.¹ Cerrahi operasyon başına ortalama maliyeti 120.000 \$ olan skolyozun Amerika’ya yıllık maliyeti 4.000.000.000 \$’dır ve bu rakama sadece tedavi giderleri dahildir. İşgücü olarak fonksiyonel kayıp nedeniyle oluşan zarar ayrıca değerlendirilmelidir.²

Adölesan İdiyopatik Skolyozu toplumun %3’ü gibi azımsanamayacak bir kısmında görülür. Şimdiye kadar farklı etnik popülasyonlarda yapılan çalışmalar ile oluşumunda genetik etkilerin bulunduğu gösterilmiştir. Olguların %85’i gibi çoğunluğunda altta yatan neden tesbit edilememiştir. Bu çalışmada etyolojisi tam aydınlatılamamış Adölesan İdiyopatik Skolyozu’nun kemik dokusu dahil olmak üzere neredeyse her dokuda ifadesi ve yaygın düzenleyici etkileri bulunan Vitamin D reseptör geninin, sık görülen ve farklı fenotiplerle ilişkili birliktelik çalışmalarında anlamlı sonuçlar alınmış olan BsmI polimorfizmi arasında birliktelik olup olmadığını ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışma sonunda, birlikteliği gösteren bir sonuç ortaya çıkarsa poligenik kalıtımı olduğu düşünülen Adölesan İdiyopatik Skolyozu’nun genetik etiyopatogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlayabilmek umulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tanım

Skolyoz, omurgada koronal planda yana doğru eğrilik bulunması durumudur ve sıklıkla omurgada aksiyel ekseninde rotasyon ile birlikte dir. Omurganın en sık rastlanan deformitesidir. Tarihte ilk kez Hipokrat tarafından tariflenilmiştir. Yunancada ‘çarpık, eğrik’ anlamına gelen skolyoz teriminin ilk kullanımı ikinci yüzyılda Galen tarafından olmuştur.³⁻⁶

2.2 Tanı

Skolyozun tanısı klinik olarak muayene ve PA direkt grafler ile yapılır.

Muayene esnasında non-idiyopatik etyolojiyi (nöropatik, miyopatik, tümoral, pozisyonel, travma, sendromik) düşündürebilecek bulgular aranmalıdır.

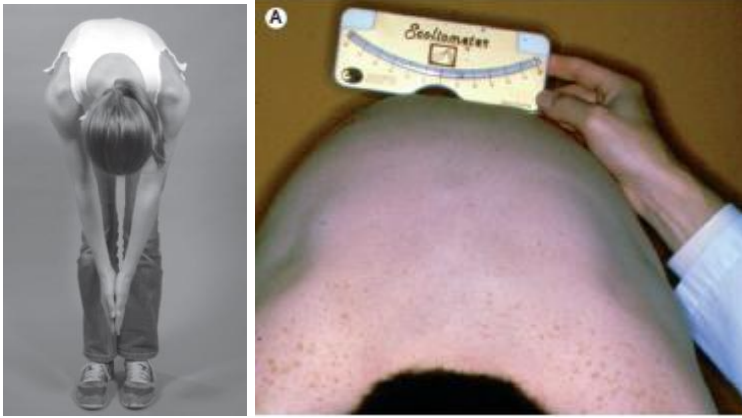
Takip ve Tedaviyi yönlendirecek bulgular: Etiyoloji, Cobb açısı, lokalizasyonu, hasta yaşı, cinsiyeti, rotasyon ešliğı ve iskelet olgunluğudur.

Skolyoz teriminin kullanılabilmesi için posteroanterior çekilen direkt grafide ölçülen Cobb açısının 10°’nin üzerinde olması konusunda uzlaşuya varılmıştır. 10°’nin altındaki eğrilikler ‘omurgada asimetri’ olarak tanımlanır ve klinik önemi bulunmadığı düşünülür.⁷

Skolyozu tarif ederken konumunu, yönünü, derecesini ve rotasyonun eşlik edip etmediğini belirlemek gerekir. Skolyozun yönü eğrinin konveks kısmının olduğu taraftır. Skolyozun konumu orta hattın en fazla deviyeye olmuş olan üstte sefalad ve altta kaudad vertebralarca belirlenir.⁸ Adölesan idiopatik skolyozunda eğrilik sıklıkla torakalde ve sağa yönelimlidir.⁹

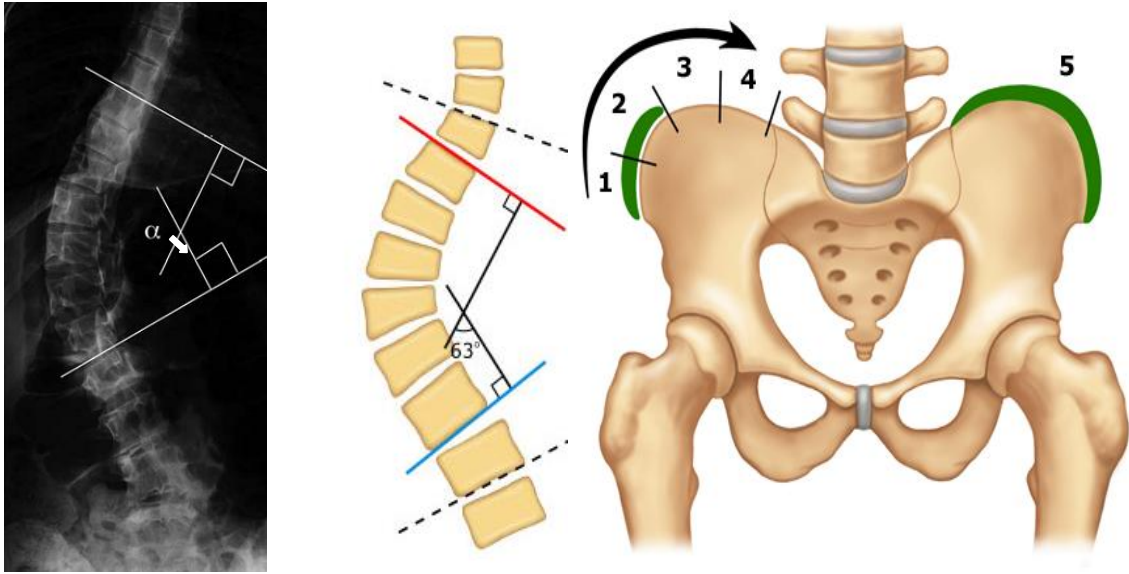
Cobb açısı hesaplanırken üstte ve altta orta hattın en fazla deviyeye olan, yönü dışa kaymış vertebralar bulunur. Üsttekine Sefalad, alttakine Kaudad vertebra denir. Sefalad vertebranın üst yüzeyinden geçen ve kaudad vertebranın alt yüzeyinden geçen birer çizgi çekilir. Skolyozun konveks tarafında bu çizgilerden çıkılan dikmeler birbiriyle kesiştirilir. Bu kesişimde aşağı ve yukarı bakan açılar Cobb açısıdır.

2.2.1 Fizik muayene



Şekil 1 Öne eğilme testi ve rotasyon için Skolyometre kullanımı¹⁰

2.2.2 Cobb açısı



Şekil 2 Cobb açısı ve Risser işareti¹¹

Açının derecesi ve eğriliğin lokalizasyon ve yönü not edilir. Konjenital skolyozu düşündürecek vertebra anomalisi, kemik tümörü düşündürecek radyolüsen alanlar, spinal kord tümörü düşündürecek interpedinküler mesafe artışı ve nöromusküler etyoloji düşündürecek paraspinal kas ve bağ dokusu anormalliklerine dikkat edilir.

2.2.3 Risser işareti

İliak apofizi anterolateralden posteromediale doğru basamaklı bir şekilde kemikleşir. Risser işareti iliak apofizin kemikleşme durumunu, dolayısıyla iskelet maturasyonunu değerlendirmede kullanılır. Risser 0: kemikleşme yok. Risser 1: %25'i kemikleşmiş, Risser 2: %26-50 kemikleşme, Risser 3: %51-75 kemikleşme, Risser 4: >%76 kemikleşme, Risser 5: tam kemikleşme ve füzyon anlamına gelir.¹²

2.3 Hasta Takip ve Yönetimi

Klasik olarak Cobb açısı, Risser işareti ve o anki hasta yaşı kullanılarak olgunun tedavi gerektirecek seviyeye ilerleme riski tahmin edilebilir. Hasta takibi ve tedavisi bu risk hesabına göre yönlendirilebilir.^{13,14}

Tablo 1 Takip tedavi yönergesi¹⁵

İskeleti immatür hastalar (Risser evresi 0-1, menarş sonrası 2 yıldan az)
Cobb 5-25° : İzlem (3-6 aylık aralar)
Cobb 25-40° : Korse ile tedavi
Cobb >40° : Cerrahi füzyon
İskeleti matür hastalar
Cobb 5-30° : İzlem (3-5 yıllık aralarla)
Cobb 30-50° : İzlem (1-2 yıllık aralarla)
Cobb >50° : Cerrahi tedavi

2.4 Epidemiyoloji

2.4.1 Prevalans

Doğumda konjenital skolyoz sıklığı 0,5-1 /1000 olarak bulunmuştur.¹⁶ Toplumda Cobb açısı 10°'yi geçen Adölesan İdiyopatik Skolyozluların oranı %3 olarak bulunmuştur. Bunların sadece %10'unda tedaviye gerektirecek dereceye ilerleme gerçekleşmiştir (toplumun %0,3'ü).

Başlangıç seviyesindeki hastalık her iki cinsiyeti eşit oranda tutmuştur. Progresyon durumu kızlarda erkeklere göre on kat sık görülmüştür. Skolyozun farklı derecelerinin görülme oranı toplumlar ve cinsiyetler arasında farklılıklar gösterir.¹⁷⁻²⁰

Tablo 2 Toplumda idiyopatik skolyoz sıklığı²¹

	Toplumda %	Kız : Erkek oranı
• Cobb açısı $\geq 10^\circ$:	2 - 3	1.4 - 2.4:1
• Cobb açısı $\geq 20^\circ$:	0.3 - 0.5	5.4:1
• Cobb açısı $\geq 30^\circ$:	0.1 - 0.3	10:1
• Cobb açısı $\geq 40^\circ$:	≤ 0.1	

2.4.1.1 Türkiye'de prevalans

2010 yılında İstanbul'da, yaşları 10 – 14 arasında değişen 4259 (2057 kız, 2022 erkek) çocuk ile yapılan bir okul taramasında skolyoz prevalansı %2,5 bulunmuştur (Kız/ erkek oranı 2,5/1). Cobb açısı skolyozlu olguların %72,7'sinde 10-20°, %27,3'ünde >20 ° saptanmıştır. Okul taramasında çocuk başına maliyet 47 sent, skolyoz vakası başına düşen ortalama gider 236 dolar, dolayısıyla okul taramaları maliyet / kazanç açısından uygun bulunmuştur.²²

2009 yılında Sivas'ta, bir ilköğretim okullarındaki 6,7 ve 8. sınıflara giden 1538'i kız 1637'si erkek 3175 öğrenciye öne eğilme ve omurga palpasyonu ile yapılan taramada; 10 kız, beş erkek toplam 15 öğrencide (%0,47), derecesi beş ile 20 derece arasında değişen skolyoz görülmüştür. Cinsiyetlerin tutuluşu arasında (kızlarda: %0,65, erkeklerde %0,31) anlamlı fark görülmemiştir (p: >0,05). İki yıl takip edilen olgulardan sadece birinde progresyon görülüp Milwaukee korsesi ile tedavi edilmiş, bu nedenle okul taramalarının gereği sorgulanmıştır.²³

1998 yılında Erzurum'da, yaşları 13-18 arasında değişen 900 askeri öğrenci adayında, PAAG ve lumbosakral grafileri çekildikten sonra sağlık kurulunca yapılan değerlendirmede, skolyoz sıklığı %2,3 bulunmuş. Skolyozlu olguların olmayanlara göre daha uzun oldukları tesbit edilmiştir (ortalama boy 165cm'e 168,9 cm).²⁴

2001 yılında Edirne Hafsa'da, üç ilköğretim okulunda beş -15 yaşları arasındaki 1173 (K: 544, E: 629) öğrencinin örneklem yolu ile 345'i seçilmiş, 79'u ortopedist muayenesi ve radyoloji ile değerlendirilmiş, öğrencilerden 13'ünde (%3,77) skolyoz tesbit edilmiştir. Kızlarda prevalansın %4,4, erkeklerde %3,23 olması cinsiyetler arasında tutulum açısından anlamlı istatistiksel bir fark olmadığını göstermiştir. Yaş gruplarının prevalansı karşılaştırıldığında da anlamlı istatistiksel fark saptanmamıştır. Alan çalışmalarında ön tarama yapıp şüphelenilen olguların ortopediste yönlendirilmesinin doğru tanı koyma oranını düşürmediği, dolayısıyla okul taramalarında uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

2012 yılında İzmir'in Bornova ilçesindeki toplam 57 ilköğretim okulundaki 8207 öğrenci taranmış, muayenesi şüpheli bulunanlar direkt grafi ile değerlendirilmiştir. Kırk öğrencide (%0,48) skolyoz saptanmış, kızlardaki prevalans (%0,77) erkeklerdekinin 3,4 katı (%0,2) bulunmuştur.²⁵

2.4.1.2 Etnik çalışmalar

Adölesan idiyopatik skolyozu bütün büyük etnik gruplarda değişen sıklıkta gözlenmektedir. Çoğu etnik çalışmada okul çağındaki çocuklarda sıklık %1-3 arasında bulunmuştur. İnsidanda görülen varyasyon yöntemlerdeki farklılıklara bağlanmıştır. Segil ve ark. Güney Afrika'daki çalışmada Bantu konuşan popülasyondaki insidansı(%0,03) beyaz ırktan yaşlılarına göre belirgin düşük bulmuştur (%2,5).²⁶ Modern insanın, tarihin erken çağlarında Afrika'dan göç ederek ayrılmasının aksine Bantu ırkı Afrika'da yerleşik kalmış, yakın zamanda yayılmaya başlamıştır.²⁷ İnsidandaki bu farklılık adölesan idiyopatik skolyozuna yol açan genetik varyasyonun, insanlar Afrika'dan göç ettikten sonra ortaya çıktığını düşündürmektedir.²⁸

Farklı ülke ve etnik gruplarda yapılan çalışmalarda ortaya koyulan etnik prevalanslar hep değişik olmakla birlikte aralarındaki fark genelde %1-1,5 arasında değişmektedir. Bu farklılıklar altta yatan genetik faktörlerin çeşitliliği veya çevresel şartların farklılığı ile açıklanmaya çalışılabilir.

2.5 Skolyoz Sınıflaması

Skolyozun eşlik ettiği hastalıklar etyolojilerine göre idiyopatik, konjenital, nöromusküler, tümöre sekonder gibi ana başlıklar altına toplanarak sınıflandırılmıştır. En sık görülen idiyopatik skolyozdur.

2.5.1 Konjenital skolyoz

Konjenital skolyozda anomali genelde asemente bar, hemivertebra, çoklu hemivertebra, kelebek ve kama vertebra şeklindedir ve Alagille, Spondilokostal Disostozis, Jarcho-Levin, Bertolotti, Kaudal Disgenezis (agenezis, regresyon), Serebrokostomandibular, Coffin-Siris, Kabuki make-up, Klippel-Feil, Lenz's (Xe bağlı), Goldenhar (Oküloaurikülovertebral), Rubenstein-Taybi, VATER-VACTERL gibi genetik sendromlar skolyoza eşlik edebilir.²⁹⁻³²

2.5.2 İdiyopatik skolyoz

'İdiyopatik skolyoz' terimi ise deformiteyi açıklayacak etyolojik bir neden bulunamadığı durumlarda kullanılan dışlayıcı bir tanıdır. Skolyoz hızlı büyüme- uzama atakları esnasında ortaya çıkma veya artış gösterme eğilimindedir. Hastalığın başlangıç yaşına göre üç kategoriye ayrılır:

- 1) İnfantil : 0 - 3 yaş arası
- 2) Jüvenil : 4 - 9 yaş arası
- 3) Adölesan: 10. yaştan iskelet gelişimi tamamlanıncaya kadar.

Bazen İnfantil ve Jüvenil skolyozlardan 'Erken başlangıçlı', Adölesan skolyozundan ise 'Geç başlangıçlı' idiyopatik skolyoz olarak bahsedilebilir. Adölesan idiyopatik skolyozu idiyopatik skolyozluların %80-85'inde görülür.³³⁻³⁵

Tablo 3 Skolyoz sınıflaması tablosu³⁶

İdiyopatik*	Diğer
Erken başlangıçlı	Mezenşimal kökenli
İnfanıl	Marfan sendromu
Juvenil	Ehlers-Danlos sendromu
Geç başlangıçlı (adölesan)	Konjenital eklem laksitesi
Konjenital vertebral defekt *	Homosistinüri
Hemivertebra	Travma
Wedge (kama) vertebra	Direkt vertebral trauma
Segmentasyon defekti	Irradiyasyon
Unilateral (bar)	Ekstravertebral travma
Bilateral (füzyon)	Ciddi toraks yanığı
Kosta Fuzyonu	Tümörler
Nöromusküler	Vertebral
Nöropati	Osteoid osteoma
Serebral palsi	Osteoblastom
Miyelomeningosel	Intraspinal
Gergin spinal kord	Ekstramedullar (ör: nörofibrom)
Spinal kord hasarı	Intramedullar (ör: astrositom)
Siringomiyeli	Çeşitli
Diastematomiyeli	Vertebra gövdesi enfeksiyonu
Friedreich ataksisi	Rikets
Charcot-Marie Tooth hastalığı	Osteogenesis imperfecta
Juvenil spinal müsküler atrofi	Schueurmann hastalığı
Poliyomiyelit	Akondroplazi
Miyopati	Klippel-Feil sendromu
Duchenne müsküler distrofi	Sprengel deformitesi
Nemaline miyopati	Kleidokranial disostozis
Faciyoskopulohumeral distrofi	Hiperfosfatazya
Limb-girdle müsküler distrofi	A Hipervitaminozu
Arthrogripozis	Hipotiroidi
	Disotonomi
	Juvenil idiyopatik artrit
	Mukopolisakkaridoz
	Bacak uzunluk farkı* ^Δ
	Primer postürel skoyoz ^Δ
	Nörofibromatozis*

* en sık nedenler • kardiyak ve genitoüriner anomali eşliği muhtemeldir Δ öne eğilme ve yatış pozisyonunda eğri kaybolur.

2.6 Etiyoloji

Skolyoz tek başına bir tanı olmayıp omurgadaki yapısal değişimin tarifidir. Skolyoz pek çok nedenle ortaya çıkabilir. Oxford Medical Databases - Dysmorphology & Neurogenetics Versiyon 1,0 programı kullanılarak (Oxford University Press Electronic Publishing) ‘scoliosis’ terimi ile yapılan taramada 363 sendromik ön-tanı sonucuna ulaşılmıştır.

Skolyoz etiyojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Klinik olarak eşlik eden bulguları, yerleşimi, eğriliğin derecesi, başlangıç yaşı, sadece bazı hastalarda progresyon olması, sonraki nesilde tekrar etme risklerinin değişik olması nedeniyle klinik ve etiyojik olarak heterojen bir hastalıktır.

2.6.1 İkiz - popülasyon çalışmaları

Adölesan idiyopatik skolyozunun etiyojisi net değildir. Genetik etki olduğunu gösteren ikiz ve aile çalışmaları mevcuttur. İkizlerle ilgili çalışmaların meta-analizinde tek yumurta ikizlerinde konkordans %75 görülürken, çift yumurta ikizlerinde bu oran %36 bulunmuştur.³⁷⁻⁴⁴ Harrington 15 derece’den büyük Cobb açısı olan skolyozluların kız kardeşlerinde skolyoz görülmesi oranını %27 olarak gözlemiştir.⁴⁵ Wynne ve ark. ise skolyozluların 1. derece akrabalarında skolyoz görülme sıklığını %11 olarak bulmuşlardır. Bu sıklık 2. derece akrabalarda %2,4 görülmüştür.⁴⁷ Danimarka İkiz kaydında bulunan 34.944 olguyu içeren bir yayında skolyoz görülme oranı %1,05 dir (erkeklerde %0,71, kızlarda %1,33). Tek yumurta ikizlerinde konkordans %13 iken çift yumurta ikizlerinde %0’dır. Ebeveynlerinde skolyoz görülmesi tek yumurta ikizlerinde %25 iken, çift yumurta ikizlerinde %0 bulunmuştur. Çalışmadaki insidans ve konkordans oranlarının düşüklüğü diğer çalışmalar ile olan yöntem farkı ile açıklanmıştır. (bilgiler sadece hastaların beyanları esas alınarak elde edilmiş).¹³¹ Ogilvie ve ark. 2006 yılında Utah’daki özgün bir popülasyonda adölesan idiyopatik skolyozlu 131 probandın 127’sinin (%97) bölgedeki diğer bir skolyozlu ailesi ile akraba olduğunu saptamıştır. Olguların %50 sinden fazlasının atalarının 1500’lerde İngiltere’de yaşadığı saptanmış, aile öyküsünden penetransın (%41-%34) ve ekspressivitenin (%38-%61) olduğu hesaplanmış, yazarlar en az bir major etkili gen yanında penetransı etkileyen başka genlerin bulunduğu poligenik kalıtım modeli olduğu kanaatine varmışlardır.⁴⁸

İkiz çalışmalarında çift yumurta ikizlerinde görülen %36 konkordans değerinin diğer popülasyon çalışmalarındaki kardeş tutulumu risklerinden belirgin fazla bulunması, ikiz çalışmalarında olguların radyolojik incelemelerinin popülasyon çalışmalarına nazaran daha çok yapılması ve daha çok muayene ile takip edilen popülasyon çalışmalarındaki yanlış negatiflik ile açıklanmaktadır. Görüntüleme yöntemleri ile doğrulama yanlış negatifliği azaltmaktadır.

2.6.2 Kalıtım özellikleri

Çeşitli araştırmacılar otozomal dominant kalıtım modelini önermişlerdir.⁴⁹⁻⁵⁶ Bu kalıtım şekli klinik bulgulardaki penetrans düşüklüğü ve ekspressivite değişikliği ile uyumludur. Fakat bu çalışmalar tek tek ailelerin veya küçük aile gruplarının incelemeleri şeklinde olgu sayısı az olan çalışmalardır.

Y 'ye bağlı kalıtım hiç bildirilmemiş fakat X'e bağlı dominant kalıtım üzerinde çok durulmuştur.⁵⁷ X'e bağlı dominant kalıtımı öneren Cowell'in orijinal çalışmasındaki olguların daha sonra diğer araştırmacılarca radyolojik yönden tekrar incelenmesiyle bu kalıtım modelinden uzaklaşmıştır. Riseborough'un çalışmasında skolyozluların 1. derece yakınlarında tekrar riskini %11; 2. derece yakınlarında %2,4; 3. derece yakınlarında %1,4 bulması poligenik multifaktöriyel kalıtım modeliyle uyumlu bulunmuştur.^{58,59} Birkaç veya birçok genin birbirleri ve çevre ile etkileşimleri sonucu skolyoz gelişmektedir. Bazı ailelerde Otozomal Dominant kalıtım görülse de skolyoz hiçbir kalıtım modeliyle tek başına açıklanamayan kompleks bir durumdur ve çoğu zaman da sporadik olarak görülmektedir.

Skolyoz pek çok genetik sendromun bulgusu olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan CHARGE, Charcot Marie Tooth, Prader Willi, Smith Magenis, Spinal Musküler Atrofi, Di George Sendromu gibi bazılarının ortak noktası etyolojilerinde sıklıkla küçük kopya sayısı değişimleri bulunmasıdır.⁶⁰⁻⁶⁵ Charcot–Marie–Tooth hastalığı tip 4B2 (11p15.4 delesyon), tip 1A (17p12-duplikasyon), Prader–Willi/Angelman sendromu(15q11–13-delesyon), Smith–Magenis sendromu (17p11- delesyon), Spinal muskuler atofi (5q13.2-delesyon), DiGeorgesendromu (22q11-delesyon), CHARGE sendromu (8q12.1-delesyon) gibi CNV (kopya sayısı değişikliği) ile giden hatalıklarda ilgili lokuslarda mikro delesyon-duplikasyon görülebilmektedir.⁶⁶ Kopya sayısı değişimleri muhtemeldir ki skolyoz gelişimine katkı sunmaktadır. Sturtz'un 17p duplikasyonu ile ilişkili Charcot Marie Tooth hastalığında

bulduğu gibi, kopya sayısı, hastalığın başlangıç yaşı, ciddiyeti, ilerleyişi gibi özellikleri ile korele olabilir; bu korelasyon ekspressivitedeki değişikliği ve penetrans düşüklüğünü açıklamada yol gösterici olabilir.

2009 yılında Utah'daki çalışmada hasta sayısı artırılarak genişletilmiş, dört nesil boyunca skolyozlu bireyler barındıran 69 Aileden 247 proband ve otozomal dominant kalıtım varsayılarak risk altında olduğu öngörülen 16 yaş üzerindeki 1260 birey araştırılmış, yüzde 50 olasılıkla hastalık genini taşıyan bu bireyler değerlendirildiğinde erkekler için penetransın %9, kızlar için %29 olduğu saptanmıştır. Yakınlık derecesi azaldıkça skolyoz görülme riski azalsa da üçüncü derece yakınlarındaki risk %9 olarak toplum ortalamasından hala bariz yüksek bulunmuştur. Skolyozun lokalizasyonu, derecesi, başlangıç yaşı, eğrilik şekli arasında en kalıtılan özelliğin eğriliğin lokalizasyonu olduğu bulunmuştur.⁶⁷

Bu bilgiler ışığında kalıtım özellikleri tekrar değerlendirildiğinde, kızlarda daha çok progresyon gösterdiği ve penetransı yüksek olduğu için daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından üzerinde durulmuş olan X'e bağlı dominant kalıtım, 18 ailede erkekten erkeğe geçiş gösterildiği için dışlanmıştır.

Aileler ve aynı ailedeki bireyler dahi dağınık yaşadıkları için çevresel şartlar da tek başına sonraki nesillerdeki tekrar etme durumunu izah edemeyeceği düşünülmüştür.

Ailesel skolyoz çalışmalarında yapılmış olan standart çözünürlükte sitogenetik incelemeler de kromozom anomalisi saptanmamıştır. Ancak submikroskobik değişimler dışlanamamıştır.

Otozomal resesif kalıtım şeklinin geçerli olabileceği düşünüldüğünde, iki skolyozlunun evliliğinden doğacak bütün çocukların da skolyozlu olmaları gerekirdi, oysa bu zorunlu durum skolyoz çalışmalarında hiçbir zaman gösterilememiştir. Yine otozomal resesif kalıtım olsaydı aile ağaçları incelenirken bazı mecburi taşıyıcı bireyler saptanmalıydı. Oysa ki incelenen onca ailede otozomal resesif kalıtımda beklenenden çok daha az zorunlu taşıyıcı saptanabilmiştir. Son olarak otozomal resesif kalıtımda hasta bireyin kardeşlerinde hastalık görülme riski ebeveynlerinde ya da çocuklarında görülme risklerinden çok daha fazla olmalıdır. Oysa skolyoz ailelerinde kardeş riski %23,2, çocuk ve ebeveyn riski de %21,1 bulunmuştur. Bu rölatif olarak sabit giden risk poligenik kalıtım ile uyum göstermektedir.

Otozomal dominant kalıtım şekli önerilirse hastanın 1. derece yakınlarında skolyoz riski %50 olmalı ve akrabalık derecesi düştükçe bu risk de yarıya düşmelidir. Çoğu hastanın ebeveyninin ve çocuğunun da hasta olması beklenir. Oysa skolyozluların 1. derece yakınlarının gerçek riski ortalama %24 (kızlar için %33, erkekler için %15) 'tür ve aileden aileye değişmektedir. Hastanın ailesinde hasta birey sayısı ne kadar fazla ise ve hastalığın şiddeti ne kadar fazla ise tekrar riski de o derece artmaktadır. Hasta bireyin tek bir ebeveyninin sülalesinde skolyozlu var ise tekrar riski %26 iken, iki ebeveyni tarafında da skolyozlular mevcut olduğunda ise tekrar riski dramatik olarak artıp %40'a çıkmaktadır. Bu risk dağılımı düşük penetranslı otozomal dominant kalıtımla değil, poligenik kalıtım ile uyşmaktadır. Ayrıca skolyoz ile ilgili çalışılmış hiçbir SNP belirli net bir penetrans göstermemiştir.

Skolyozun kalıtımı dominant veya resesif hastalıklardaki gibi, hasta-sağlıklı-taşıyıcı gibi keskin ve net olmayıp belirli genetik etkilerin biraraya gelip belli bir eşiği aşması sonucunda olmakta çıkmaktadır. Skolyozun kızlarda daha fazla görülmesinden anlaşılacağı gibi kızlar bu eşiği daha kolay aşmakta, muhtemelen cinsiyet farkından kaynaklanan bazı kolaylaştırıcı faktörler bulunmaktadır. Bir erkek skolyoz olduğunda ise muhtemeldir ki bir kıza göre daha fazla genetik yükü bulunmaktadır ve kızlardaki kolaylaştırıcı faktörler olmadan o kritik eşiği aşabilmiştir. Aile ağaçlarını incelediğimizde bir kız skolyozlunun kız kardeşinde skolyoz görülmesi riski %31 erkek kardeşinde görülme riski %14 iken; bir erkek skolyozlunun kız kardeşinde skolyoz görülmesi riski %64, erkek kardeşinin riski %27 'dir. Bu skolyozlu erkeklerdeki genetik yükün daha fazla olduğunun bir göstergesidir ve poligenik multifaktöriyel kalıtım ile uyşmaktadır. Risk dağılımının diğer tek gen hastalıklarının aksine aileden aileye değişmesi ve hastaların ebeveynlerinde akrabalığın genel popülasyon ortalamasının üzerinde olması poligenik kalıtım ile uyşmaktadır. Utah skolyoz çalışmasında akrabalık oranı 3.derece akraba evliliği için %9 bulunmuş, yerel toplum ortalamasının ise %3 olduğu görülmüştür.

Poligenik doğasından dolayı pekçok aday genin polimorfizmleri ile idiyopatik adölesan skolyozu arasında birliktelik çalışması yapılmıştır. Bunlardan skolyozla istatistiksel olarak anlamlı birlikteliği tesbit edilen polimorfizmler mevcuttur. Başka çalışmacılar tarafından tekrarlanan ya da başka toplumlarda yapılan çalışmalarda birbiriyle uyumlu ya da uyumsuz sonuçlar alınmıştır. Yeni ya da tekrarlanan çalışmalarla bilgiler güncellenerek artmaktadır.

2.6.3 Moleküler sitogenetik çalışmalar

Genetik hastalıkların çoğu submikroskopik değişimler ile izah edilmektedir.⁶⁸ Sorumlu geni bilinmeyen hastalıklarda tesbit edilen sitogenetik değişimler ilgili geni bulmada çok değerli ipuçları verebilir. Örneğin 17. kromozomdaki yeniden düzenlemeler Nörofibromatozis Tip1, 15. kromozomdaki sitogenetik değişimler Prader Willi- Angelman sendromlarının moleküler tanısına öncüllük etmiştir.^{69,70} Skolyozun görüldüğü pek çok sitogenetik anomali bildirilmesine rağmen aynı anomalinin görüldüğü diğer olgularda skolyoz görülmesi tekrar etmemiştir.⁷¹ Bir ailesel adölesan idiyopatik skolyozu incelemesinde 8. kromozomda perisentrik inversiyon bildirilmesini takiben kırılma noktasının 8q11.2 de gamma-1-syntrophin (*SNTG1*) kodlayan gen olduğu belirlenmiştir. Başka bir çalışmada 152 adölesan idiyopatik skolyozu hastasında *SNTG1* geninde mutasyon aranmış ve üçünde mutasyon bulunup sağlıklı 480 kontrol olgusunun hiçbirinde gösterilememiş olması adölesan idiyopatik skolyozluların küçük bir kısmında da olsa nedenin *SNTG1* mutasyonu olduğunu düşündürmektedir.⁷²

2.6.4 Bağlantı analizleri

Bağlantı analizi çalışmaları öncesinde hastalık fizyopatolojisi değerlendirilerek sorunun hangi dokuda nasıl bir disfonksiyondan kaynaklandığına yönelik bir hipotez kurulur. Bu hipoteze dayanarak aday genler belirlenir sonrasında bu gen bölgesinde bulunan genetik markerler seçilir. Ailesel olgularda olabildiğince çok sayıda hastalık taşıyan ve sağlıklı bireyde markerler incelenir. Markerlerin ayrılması (segregasyonu) ile hastalık görülmesi arasındaki ilişki gösterilmeye çalışılır. Bu yol ile kollajen kodlayan *COL1A1*, *COL1A2*; fibrillin kodlayan *FBN1*; elastin kodlayan *ELN* genleri için aile koleksiyonlarında bağlantı analizi yapılmış, neticede bağlantıyı gösteren bir sonuca ulaşılammıştır.^{73,74} Genetik teknolojisi geliştikçe bir ön hipotez kurmaya ihtiyaç bırakmayan, tek nükleotit değişimlerinin (SNP) tüm genom boyunca taranabildiği GWA (genom çaplı bağlantı) çalışmaları mümkün olmuştur. Bu GWA çalışmaları sonucunda bazı lokuslar ile adölesan idiyopatik skolyozu arasında bağlantı saptanmıştır.⁷⁵⁻⁸⁰ Özellikle 6, 9, 16 ve 17 kromozomlardaki ilgili bölgeler ilerideki çalışmalar için öncelikli hedef olarak belirlenmiştir.⁸¹

Skolyoz genetiği ile ilgili halen pek çok soru cevap beklemektedir: Genetik değişimler hastalık riskleri ne kadar artırmaktadır, hastalığı modifiye etmekte ne derece etkilidirler,

tedaviye yanıtı ve klinik gidişatı etkileyebilirler mi, farklı etnik gruplarda riskler farklı mıdır, erkek ve kızlar için görülen farklı riskler nasıl izah edilebilir, temelde hangi hücre tipindeki hangi moleküler fonksiyonun kaybı yatmaktadır, skolyoza yatkınlık genleri normal vertebral gelişimde ne gibi roller üstlenirler, progresyonu genetik testlerle önceden öngörebilir miyiz, hangi genetik gruptaki olgulara takip ve hangilerine tedaviye başlamak gerekir? Bu sorulara yanıt alındığında vertebral gelişimle ilgili çok önemli bilgilere ve skolyoz tedavisinde yeni umutlara sahip olabileceğiz.

2.7 Vitamin D

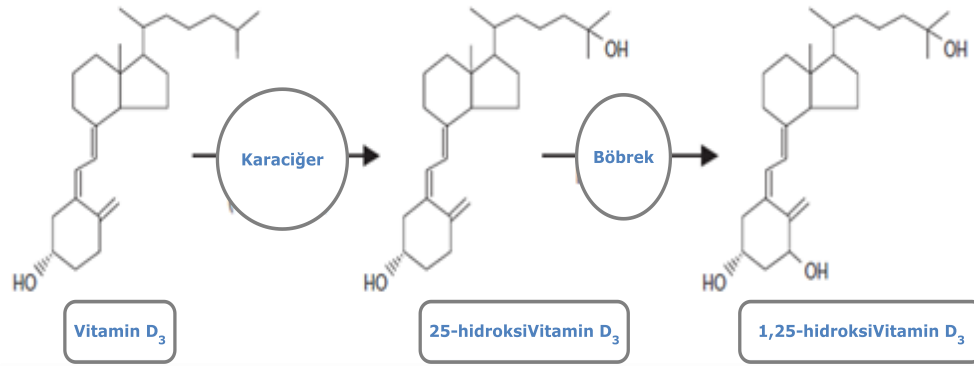
D Vitamini hem yapısı hem fonksiyonları açısından bir vitamin ya da gıda kaynağı olmayıp gerçekte çok yaygın ve çeşitli biyolojik etkileri olan bir hormondur. D vitamini steroid yapısında, intra ve ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor yoğunluğunun düzenlenmesinde etkili hormondur.

2.7.1 Ultraviyole ve D Vitamini sentezi

UV etkisi ile epidermiste 7-dehidrokolesterol (provitamin D₃) fotokimyasal transformasyonla 7-dehidrokolekalsiferol'e (previtamin D₃) sonra UV'ye bağlı isomerizasyonla D₃-vitaminine çevrilir. Bu çevrilme vücut ısısında 2-3 günde gerçekleşir. Güneş ışınlarının 290-315 nm dalga boyunda olması gerekmektedir. 295 nm dalga boyunda D vitamini sentezi en fazladır. Dünyanın hareketleri güneş ışınlarının geliş açısını değiştirir. Buna göre yaz aylarında öğle saatlerinde UV ile deride D-vitamini sentezi en fazladır.⁸³

2.7.2 D Vitamini metabolizması

Kanda D-vitamini metabolitleri "Vitamin D-Binding Protein" ile taşınır. D-vitamini metabolizmasında daha sonra karaciğer önemli bir rol oynamaktadır. Yirmibeşinci karbon atomunun hidroksilasyonu ile 25 hidroksikolekalsiferol (Kalsidiol) oluşturulmaktadır. Bu basamak çok sıkı bir metabolik regülasyonla gerçekleştiği için kanda 25-OH D₃ düzeyi D-vitamininin en doğru göstergesidir. Birkaç saat yarı ömrü olan aktif Vitamin D₃'e göre daha uzun yarı ömrü olduğu ve kandaki miktarı çok daha fazla olduğu için ölçümler hep bu kalsidiol üzerinden yapılır.⁸³



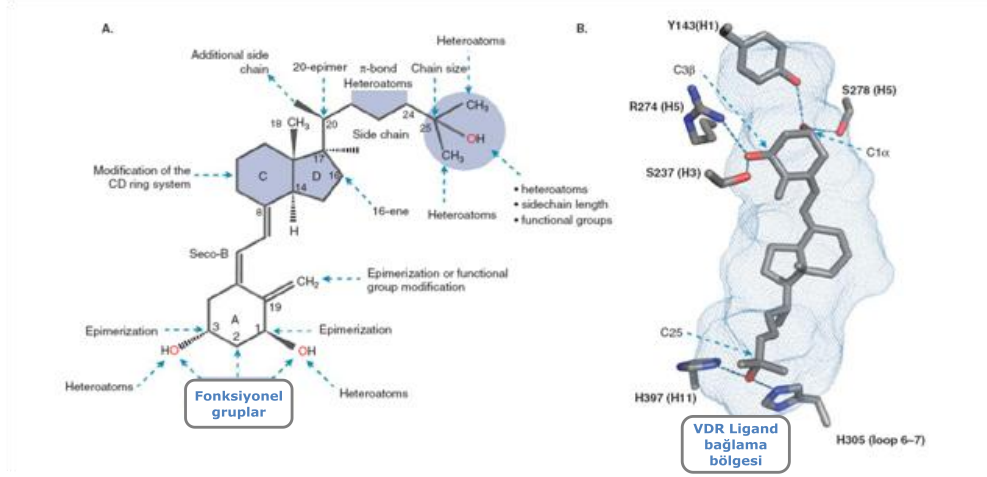
Şekil 3 Vitamin D'nin aktifleştirilmesi

D-vitamini metabolizmasında ikinci önemli organ böbrektir. Böbrekte bulunan 25-OH-D₃ 1- α -hidroksilaz enzimi, D-vitamininin a-halkasının 1.karbon atomunun α pozisyonuna bir -OH grubu katar. Bu reaksiyon ile aktif metabolit olan 1,25 dihidroksikolekalsiferol = kalsitriol oluşturulmaktadır. Bu metabolit 25-OH D₃'den 100-500 kez daha aktiftir.⁸³

1,25 (OH)₂D₃'ün böbrekte yapılması vücudun kalsiyum ihtiyacı ile ilişkilidir. Kalsitriol üretimi ayrıca PTH tarafından da kontrol edilmektedir. PTH direkt olarak böbrek hücrelerinin üzerine olan etkisiyle 1- α -hidroksilaz aktivitesini uyarır. Kalsitriol üretiminde diğer önemli bir faktör diyetle alınan fosfor miktarıdır. Diyet ile alınan fosfatın kısıtlanması ve hipofosfatemide birkaç gün içinde 1,25 (OH)₂ D₃'ün serum konsantrasyonunda bir artış oluşturmaktadır. Oysa diyet ile yüksek oranda fosfat alınması 1,25 (OH)₂ D₃'ün serum seviyesini düşürmektedir. Mineral dengesinin devamlılığı için D-vitaminin önemi büyüktür. D-vitamini, Paratiroid hormon (PTH) ve kalsitonin klasik hedef dokularda (barsak, kemik, paratiroid bezleri ve böbrek) ortak bir denge çerçevesinde etkilerini gösterirler.⁸³

Kemik dokusundaki süreğen yeniden yapılanma, osteoklastların rezorpsiyonu hızlandırmasına karşılık, osteoblastların dengeli bir şekilde yeni kemik oluşturmasıyla sağlanmaktadır. İlk aşama olan "aktivasyon" esnasında, kemik yüzeyini döşeyen aktive olmayan osteoblastlar uyarılır. Bunların verdiği sinyallerle osteoklastlar oluşurlar ve harekete geçerler. Daha sonra kemiği yıkmaya ve rezorbe etmeye başlarlar (rezorpsiyon aşaması). Yeteri kadar temizlenmiş kemik yüzeyine osteoblastlar gelerek yeni kemik oluşumunu başlatırlar (yapım aşaması). Çeşitli lokal ve sistemik hormonlar kemik döngüsünü etkilemektedir. 1,25 (OH)₂ D₃ yeni oluşan kemiğin mineralizasyonu ve kemik rezorpsiyonu

için gerekli bir hormondur. Kalsitriol 'e bağlı olarak kemik büyümesinin uyarılması ve kemiğin mineralizasyonu muhtemelen osteoblastlar üzerindeki direkt etkisi aracılığı ile kemik matriksin oluşturulmasıyla, hem de dolaylı etkisi ile barsaklardan emilen kalsiyum ve fosfat aracılığıyla sağlanmaktadır.⁸³



Şekil 4 Vitamin D üzerindeki modifikasyonlar⁸²

(A) Vitamin D'nin C₁, C₃ ve C₂₅ karbonları üzerindeki modifikasyonlar sayesinde (B) VDR LBP (ligand bağlama bölgesi) ile Vitamin D C₁, C₃ ve C₂₅ karbonları hidrofobik bağ kurabilir. Modifikasyonlar reseptörün Vitamin D'ye yönelik afinitesini artırır.

Diğer yandan, osteoblastlar 1,25 (OH)₂ D₃ reseptörlerine sahiptir. D- vitamini osteoblastlar tarafından üretilen osteokalsin düzeyini artırmaktayken tip-1 kollajen sentezini azaltmaktadır. Kalsitriol osteoklastları sayısal olarak artırmakta, ancak osteoklast fonksiyonlarını değiştirmemektedir. Kalsitriol'un kemik üzerindeki kısa süreli etkisi kemik kültürlerinde saptanmıştır. Kültür ortamına 1,25 (OH)₂ D₃ eklenmesinden sonraki birkaç saat içerisinde kemikten kalsiyum salınımı olduğu gösterilmiştir. Bu osteoklast deposunun hormon etkisi ile arttığını göstermektedir. PTH böbrekte 1,25 (OH)₂ D₃ sentezini katalize eden 1- α -hidroksilaz enzimini uyarmaktadır. Serumda 1,25 (OH)₂ D₃ düzeyinin artması, VDR aracılığıyla promotorunda negatif VDRE dizisi bulunan paratiroid hormon geninin aktivitesini azaltarak PTH sentez ve salınımını azaltır. Paratiroid bezlerindeki 1,25 (OH)₂ D₃ reseptörleri kronik böbrek yetmezliğinde azalmaktadır. Bu nedenle D vitamininin PTH üzerindeki negatif geribildirim mekanizması bozularak sekonder hiperparatiroidizm ortaya

çıkmaktadır. Kalsitriol'ün böbrek üzerindeki en önemli etkisi, 25-(OH)-D₃-1- α -hidroksilaz aktivitesinin inhibisyonudur. Böylece 1,25 (OH)₂ D₃ biyosentezi azalmaktadır.⁸³

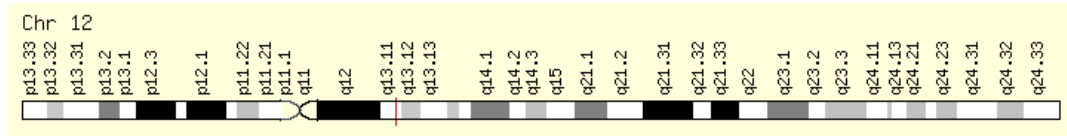
Kalsitriol'e bağlı en önemli etkilerden birisi barsaktan Ca ve P emilimini artırmasıdır. Bu emilim 1,25 (OH)₂ D₃ ile barsaktaki membranöz-VDR reseptörleri arasındaki etkileşme ve calbindin-D (barsak mukozasındaki kalsiyum-bağlayıcı proteindir) üretiminin artırılması aracılığı ile olmaktadır. İntestinal kalsiyum absorpsiyonupekçok faktöre bağlıdır ve her faktör belli bir bölgede daha etkilidir. Vitamin D özellikle kolonda olmak üzere tüm barsaklarda Ca emilimini artırmaktadır.⁸⁴

2.8 Vitamin D Reseptör Geni

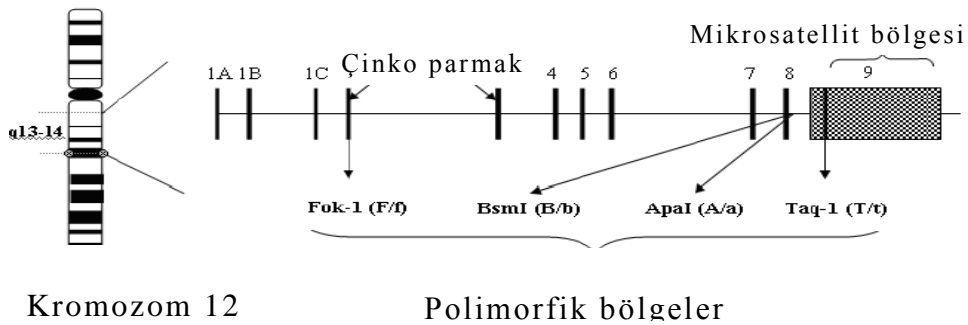
Vitamin D reseptörü, androjen, östrojen, glukokortikoid ve progesteron reseptörü gibi Tip1 Nükleer Reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu ailenin yapı ve işleyişlerinde büyük benzerlikler vardır.

2.8.1 Lokusu

Vitamin D reseptör (VDR) geni 12. Kromozomun uzun kolunda bulunur. Sitoplazma membranında ve nükleusta bulunan Kalsitriol bağlayan reseptörü kodlar. Onbir ekzonu vardır ve ekzon 7-8-9 un kodladığı kısım Kalsitriol'ü bağlar.



Şekil 5 VDR geni sitogenetik lokusu⁸⁵



Şekil 6 VDR geni intron, ekzon ve polimorfizmlerin bölgeleri⁸⁶

2.8.2 Varyantları

Varyant 3 (VDRB1) en uzun proteini kodlar. Varyant 2 (VDRA) 5'UTR ve kodlayan bölgesi ile varyant 3 ten ayrılır ve daha kısadır. Varyant 1 ve 2 aynı proteini kodlar. Birinci ve 2. varyantların farkı, başlangıç kodonundaki bir SNP'ten dolayı birinci metiyonin yerine dördüncü metiyoninin başlangıç kodonu olarak görülmesidir.⁸⁷

2.8.3 Protein dizisi

MEWRNKKRSDWLSMVLRTAGVEEAFGSEVSVRPHRRAPLGSTYLPPAPSG
MEAMAASTSLPDPGDFDRNVPRICGVCGRATGFHFNAMTCEGCKGFFRRSMKRK
AFTCPFNDCRITKDNRRHCQACRLKRCVDIGMMKEFILTDEEVQRKREMILKRK
EEELKDSLRLPKLSEEQQRIIAILLDAHKKTYDPTYSDFCQFRPPVRVNDGGGSHP
SRPNSHTPSFSGDSSSSCSHCITSSDMMDSFFSNLDLSEEDSDDPSVTLELSQ
LSMLPHLDLVSYSIQKVIGFAKMI PGFRDLTSEDQIVLLKSSAIEVIMLRSNESF
TMDDMSWTCNQDYKYRVSDVTKAGHSLELIEPLIKFQVGLKKNLHEEEHVLLMA
ICIVSPDRPGVDAALIEAIQDRLSNTLQTYIRCRHPPPGSHLLYAKMIQKLADLR
SLNEEHSKQYRCLFQPECSMKLTPLVLEVFGNEIS

Şekil 7 VDR geni protein dizisi⁸⁸

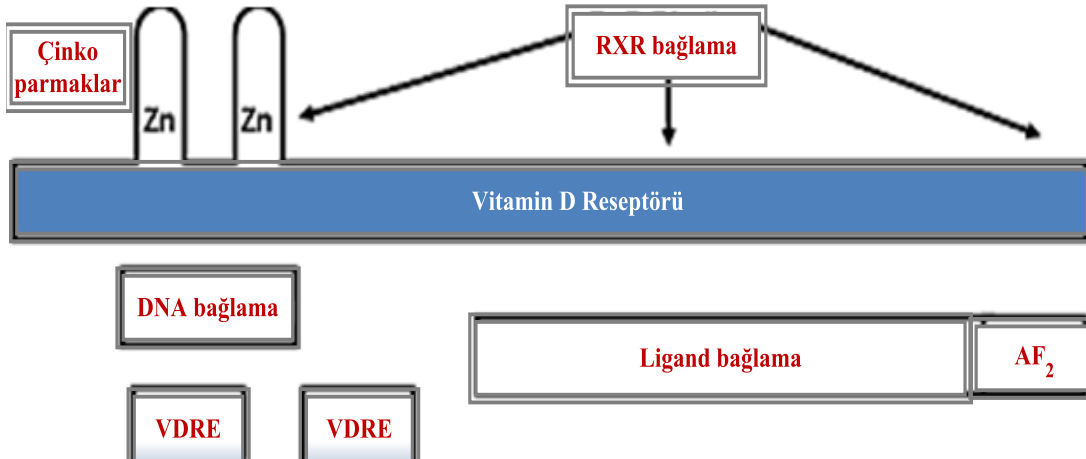
İlk satırdaki italik aminoasitler sadece en uzun varyant olan varyant üç'te bulunur. İkinci satırdan itibaren olan aminoasitler üç varyantta da ortaktır.

2.8.4 VDR'nin fonksiyonel bölümleri

Nukleusta bulunan VDR vitamin D'nin genomik etkilerine, sitoplazma membranında bulunan mVDR ise non-genomik etkilerine aracılık eder.

Reseptörün N-terminal kısmında iki çinko-parmak (bazalinde Zn bulunan parmak şeklinde kulp yapısından dolayı) bölgesi bulunur. Proksimal çinko-parmak reseptörün hedef genlerin promotor bölgelerinde bulunan ve VDRE (vitamin D response element) diye tanımlanan özgül DNA dizisi ile bağlanma spesifitesinde etkilidir. İkinci çinko-parmak VDR ile RXR'in (retinoid x receptor) heterodimer oluşturmasında görev alır. C- terminal uca gittikçe RXR ile heterodimer oluşturan bölge, vitamin D bağlayan Ligand bölgesi ve VDR'nin aktivitesini modüle eden SRC (steroid receptor coactivator) ve DRIP'in (vitamin D

receptor interacting protein) bağlandığı AF2 (assosiated factor 2) bölgesi bulunur. Bu ko-aktivatörler reseptöre vitamin D bağlıken bağlanır ve VDR RXR kompleksi ile RNA Polimeraz 2 arasında köprü kurarak transkripsiyona aracılık ederler. SRC histon asetil transferaz aktivitesindedir ve transkripsiyonun gerçekleşebilmesi için kromatindeki açılmayı sağlar.⁸⁶



Şekil 8 VDR geni yapısal ve fonksiyonel bölümleri

VDR Nükleer Reseptör Tip 1 ailesi üyesidir ve bu aile üyelerinin reseptör yapı ve işleyişlerinde benzerlikler vardır. VDR'nin ligand yokken sitoplazmada HSP (ısı şok proteini) ile bağlı reseptör monomerleri ligand bağlanmasıyla HSP'lerden ayrılarak dimerleşir (VDR retinoik asit X reseptörü ile heterodimer oluşturur). Bu ligand-dimer kompleksi nükleus membranından geçerek genomik DNA'ya ulaşır. Promotorunda VDRE (vitamin d yanıt elementi) dizisi taşıyan genler ile etkileşime geçer. Sonra transkripsiyonu yönlendiren diğer ko-aktivatörler-repressörlerle birlikte hedef genin ifadesini artırır ya da azaltırlar.⁸⁹

2.8.5 Dokulardaki ifadesi

Nükleusta bulunan VDR vitamin D'nin genomik etkilerine, sitoplazma membranında bulunan VDR ise non-genomik etkilerine aracılık eder. VDR intestinal sistem, böbrek, kemik, beyin, mide, kalp, pankreas, cilt, aktif T ve B lenfositler, overler, meme ve prostat dokusu gibi birçok dokuda saptansa da bütün dokularda universal ve simetrik dağılımlı değildir, dokudan dokuya değişir.⁹⁰ En fazla paratroid dokusunda ekspresse olmaktadır. Kemik dokusundaki ifadesi, tüm ifadesine göreceli olarak %0,74 tür. Fakat etkileri bakımından düşünüldüğünde,

VDR ekspresyonunun nükleer reseptör olması nedeniyle 200 ‘den fazla genin ifadesini değiştirdiğini dikkate almak gerekir.

Dokulardaki ağırlıklı ifade değerlerin hesaplanması: Önce her bir doku için ilgili genin ifadesinin o dokudaki tüm genlerin ifadesine oranı hesaplanır (i). Sonra ilgili genin farklı dokular için olan ifade oranları toplanır (t). O doku için ağırlıklı ifade (i / t) değeridir.

Tablo 4 Dokulara göre ağırlıklı ifadesi⁹¹

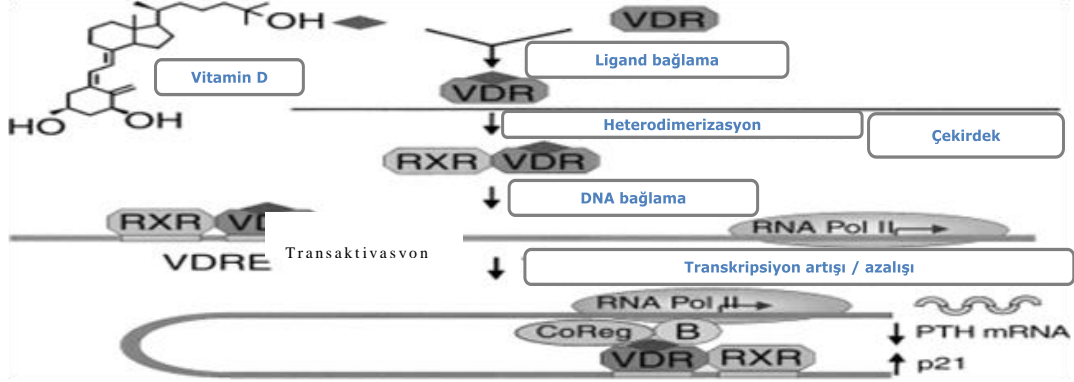
Dokulara göre ağırlıklı ifadesi (ilk 8 doku)	Doku	Ağırlıklı İfade (%)	Cluster Klonu / Doku klonu
	paratroid	52.72	38/18187
	farinks	6.94	1/3637
	over	3.49	11/79515
	ağız	2.94	5/42881
	incebarsak	2.70	16/149716
	lenf_nodu	2.25	7/78538
	asit	2.16	4/46769
	trakea	1.99	4/50614

2.8.6 VDR'nin genomik etkileri

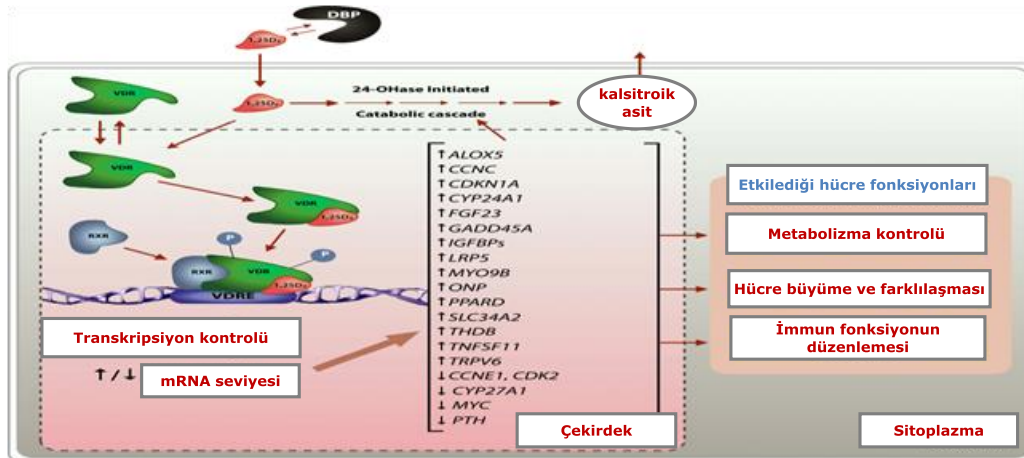
VDR hedef genleri, promotorlarında bulunan VDRE'ye bağlanarak transkripsiyonu artırırken promotorundan (n:negatif) VDRE dizisi bulunan genlerin transkripsiyonunu azaltır.⁹²⁻⁹⁴ VDRE üç nonspesifik nukleotide ayrılmış altı nükleotitli iki parçadan oluşur. RXR üstteki parçaya bağlanırken VDR alttaki parçaya bağlanır.⁹⁵ VDRE nükleotit dizisinde pekçok varyasyonlar görülebilir. VDRE'lerin yakınındaki DNA dizileri veya doku spesifik faktörler regülasyonun artış veya azalış şeklinde olmasını değiştirebilir.⁹⁶

RXR'e bağlanan ligandlar hedef genlerin transkripsiyonunu her iki yönde de değiştirebilir. RXR'lerin görevi VDRE afinitesini artırmak ve bağladığı ligandlarla hedef genlerin aktivasyonu regüle etmektir.⁹⁷

VDR'nin önde gelen hedef genleri osteokalsin, osteopontin, beta 3-integrin, renin and vitamin D 24-hidroksilaz'dır ve bu genlerin osteoblastik diferansiyasyon ve maturasyonda önemli görevleri vardır.⁸⁶ VDR geninin Vitamin D bağlayan bölgesini kodlayan DNA dizisinde mutasyon olduğunda Vitamin D reseptörüne bağlanamaz ve Vitamin D'ye dirençli Rikets oluşur. VDR etkisi olmadığında kemik dokusu mineralize olamaz ve terminal olgunlaşmasını tamamlayamaz.



Şekil 9 Nükleer VDR'nin genomik etkileri



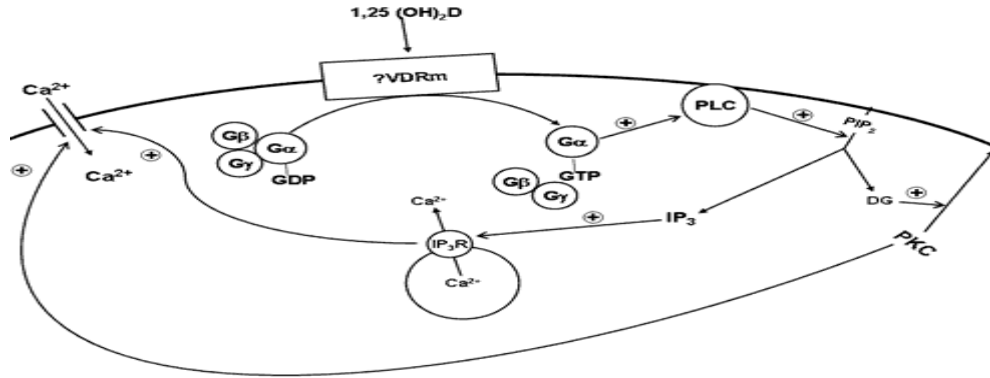
Şekil 10 VDR'nin hedef genleri⁹⁸

Sistemik dolaşımında DBP'e (vitamin D bağlayan protein) bağlı olan 1,25(OH)₂D₃ hücre membranını geçerek sitoplazmaya ulaşır. Ya sitoplazmadaki serbest VDR'ye bağlanır ya da 24 hidroksilaz ile katalize edilir. Hedef genlerdeki yanıt elementinin cinsine göre mRNA transkripsiyonu artırır ya da azaltır. İkiyüz'den fazla genin ekspresyonunu değiştirerek hücre metabolizmayı, farklılaşmayı ve hücre büyümesini düzenler.

Oligonükleotit mikroyarraylerle yapılan analizlerde 220 genin up-regülasyon, 80 genin de down-regülasyona uğradığı tesbit edilmiştir.⁹⁹ Dokulardaki bu yaygın ekspresyonu ve etkilerinden dolayı kanser, otoimmün ve alerjik hastalıklar, diyabet, kemik hastalıkları, boy uzunluğu, kısalığı, obezite gibi varyasyonlar, tiroid hastalıkları ve daha pek çok hastalıkla ilişkisini sorgulayan çalışmalar yapılmıştır.¹⁰⁰

2.8.7 VDR'nin ekstragenomik etkileri

Vitamin D ekstragenomik etkilerini daha az karakterize edilmiş olan ve sitoplazma membranı üzerinde bulunan mVDR (membranöz) üzerinden gösterir. Bu reseptörün etkileri osteoblast, kas, hepatosit ve intestinal hücrelerde gösterilmiştir ve hücre içine hızlı bir Ca girişi şeklindedir. Vitamin D bağlandığında mVDR aracılığı ile fosfolipaz C (PLC) aktive edilir, aktifleşen PLC fosfatidil inositol bi fosfat'ı inositol tri-fosfat (IF3) ve diaçil gliserol (DG)'e katalizler. Bu ikincil haberciler hücre içindeki organellerde depolanan Ca'un saliverilmesini ve (fosfokinaz C'yi aktifleyerek, indirekt yolla) Ca kanal aktivitesini stimüle ederek dışarıdan Ca girişini artırır. İntestinal ve renal hücrelerde Ca, lümene bakan fırçamsı taraftan girerken basolateral taraftan hücreyi terkeder ve transsellülerCa geçişi tamamlanarak Ca absorbe edilmiş olur. Diğer hücrelerde Ca girişi gerekli seviyeye ulaştığında bir geri bildirim düzeneği ile Ca akışı durur.



Şekil 11 Membranöz VDRm'in ekstragenomik etkileri⁸⁶

2.8.8 VDR ve kemik dokusu

Yassı kemikler intramembranöz yolla osteoprogenitor hücrelerin proliferasyonu tip1 kollajenden zengin osteoid bir matriks oluşturmasını takiben diferansiye olarak osteoblastlara

dönüşüp matriks içinde kalsiyum fosfat kristalleri depolaması ile oluşurlar. Daha sonra bu kemikler remodelizasyonla lamellar kemiklere dönüşür.

Uzun kemikler ise endkondromatöz yolla mezenşimal kök hücrelerin diferansiyasyon ile proteoglikandan zengin tip 2 kollajen matriks üreten kondrositlere, devamında tip 10 kollajen üreten hipertrofik kondrositlere dönüşüp, sonrasında bozulan bu hücrelerin veziküller içinde metalloproteinaz, fosfolipaz ve alkalin fosfataz enzimleri salarak kalsifikasyona uğraması ile oluşurlar. Vasküler invazyon, bozulmuş matriksten salınan VEGF'nin uyarılması ile oluşur. Hipertrofik kondrositler VDR'nin hedef genleri olan osteokalsin ve osteopontin ifade ederler ve vitamin D eksikliğinde terminal diferansiyasyona uğrayıp Ca ile mineralize olamazlar. VDR genindeki mutasyonlar Vitamin D'ye dirençli Rikets'e neden olmaktadır.¹⁰¹

2.9VDRBsmI polimorfizmi

Rs1544410 BsmI(b / B)

Tablo 5VDR BsmI polimorfizminin metodolojilerdeki farklı isimleri

HGVS isimleri

NC_000012.11:g.48239835C>T

(Aynı varyasyonun farklı metodolojilerdeki farklı isimleri)

NG_008731.1:g.63980G>A

NM_000376.2:c.1024+283G>A

Bir genin DNA dizisi olarak birbirinden farklı olan formlarına allel denir. Alleller arasındaki fark sadece tek bir nükleotit farklılığı ise bu SNP (tek nükleotit polimorfizmi) olarak tanımlanır. Tanımı gereği bir nükleotit değişiminin SNP olarak tanımlanabilmesi için toplumda görülme frekansının %1'den fazla olması gerekir.

VDR'nin intron 8 bölgesindeki bu varyasyon ilkönce kesim enzimleri kullanılarak tanımlanmıştır. Kesim enzimleri üç grupta toplanmıştır. İkinci gruptakiler restriksiyon endonükleazlar olarak tanımlanır ve ekzonükleazlardan farklı olarak çift zincirli DNA'nın herhangi bir yerindeki özgün diziyi tanıyarak yapışkan veya küt uçlar oluşturan kesimler

yapabilir (iki DNA zincirinin kesilme noktası aynı hizadaysa künt, değilse yapışkan uçlar oluşur). Genelde enzimin kesebildiği allel küçük harf ile kesemediği allel ise büyük harf ile temsil edilir.

Kesim enzimleri elde edildikleri organizmaya göre isimlendirilir. BsmI kesim enzimi *Bacillus stearothermophilus* (NUB 36 -N. Welker) bakterisinden elde edilir. VDR BsmI (Rs1544410) polimorfizminde yapışkan uçlar oluşur.

b = G alleli (- zincir'e göre), (+ zincir'e göre C alleli)

BsmI kesim yapabilir

GAGCAGAGCCTGAGTATTGG**GAATGC**GAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAAC

CTCGTCTCGGACTCATAACC**CTTAC**CGTCCGGACAGACACCGGGGTCTTG

5'...GAATGCN...3'
3'...CTTACGN...5'

BsmI enziminin kesim bölgesi

GAGCAGAGCCTGAGTATTGG**GAATGT**GAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAAC

CTCGTCTCGGACTCATAACC**CTTACA**CGTCCGGACAGACACCGGGGTCTTG

BsmI kesim yapamaz

B = A alleli (- zincir'e göre), (+zincir'e göre T alleli)

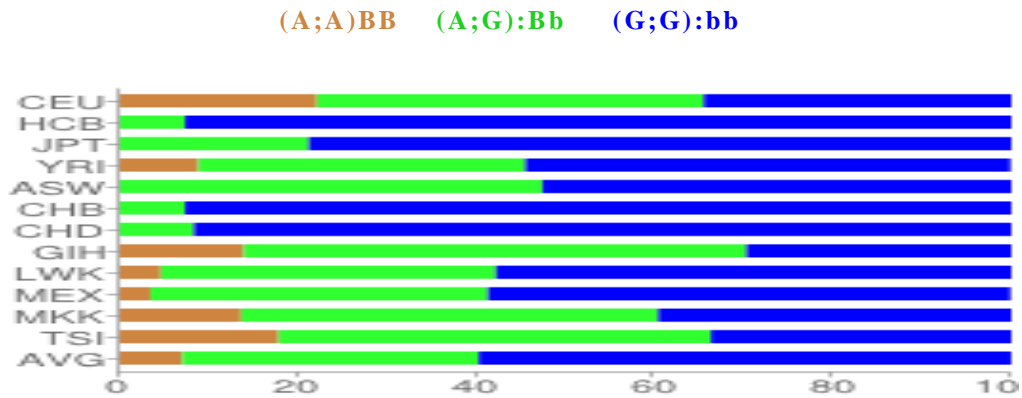
Şekil 12 VDR BsmI polimorfizminde tek nükleotit değişimi

İnsan Genom Projesinin sonuçlarından birisi de insanların DNA dizilerinin %99,9'unun ortak olduğu, tüm genomumuzun 0,001'lik bir kısmı ile diğer insanlardan ayrıldığı bilgisi olmuştur. Bu farklılığın en önemli kısmı SNP farklılıklarıdır. SNP'ler genom boyunca ortalama 1331 nükleotitte bir görülür. Fakat genomdaki yoğunlukları kromozomdan kromozoma değişkenlik gösterir. Örneğin otozomal kromozomlarda ortalama 1307 nükleotitte bir, X kromozomunda 2132, Y kromozomunda 6625 nükleotitte bir görülür. Tüm genomda 3.2 milyar nükleotit bulunduğuna ve ortalama 1331 nükleotitte bir SNP görüldüğüne göre bir insan genomunda $3.2 \text{ milyar} / 1331 = 2.4 \text{ milyon}$ SNP mevcuttur. Mikroarray yöntemi ile bir

örnekte milyonları bulan sayıda SNP aynı anda taranabilmekte ve hastalıkla ilgili SNP'lerin Genom çapında birliktelik çalışması yapılabilmektedir.¹⁰²

Genin hangi bölgesinde bulunduğu ile ilişkili olarak SNP 'lerin etkileri birbirinden farklı olabilir. Ekzon bölgesindeki bir SNP protein ürününü değiştirebilir (non-sinonim). Kırpılma (splicing) bölgesindeki bir SNP de protein ürününü değiştirebilir. Promotor bölgedeki bir SNP genin aktivitesini ve ifade edilmesini değiştirebilir. BsmI polimorfizmi intronik bölgede olduğu için reseptörün protein dizisini değiştiremez. Bu polimorfizmin nasıl etki ettiğine yönelik çalışmalar önceleri sonuçsuz kalsa da daha sonra hücredeki VDR mRNA seviyesini düşürerek etkili olduğunu gösterilmiştir.¹⁰³ VDR ifadesindeki bu düşüş VDR'nin hedef genlerindeki aktivitesini değiştirmekte ve BsmI polimorfizmi etkili olmaktadır.

SNP'ler mutasyonlardan farklı olarak hastalıklara neden olmazlar. Hastalıklara yatkınlığa neden olabilirler. Sıklıkla birliktelik (asosiyasyon) çalışmalarında kullanılırlar. Herhangi bir SNP birbirinden fenotipik olarak ayrılmış hasta veya kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilebilecek bir oranda farklı sıklıkta görülüyorsa hastalığa yatkınlık veya korunma oluşturan bir genetik marker bulunmuş demektir. Kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, alzheimer, migren gibi poligenik kalıtımı olduğu düşünülen pek çok kompleks hastalık veya fenotipik varyasyon veya ilaçlara yanıt ile SNP'lerin ilişkisini araştıran birliktelik çalışmaları yapılmaktadır.



Şekil 13 VDR BsmI polimorfizminin farklı toplumlardaki sıklığı¹⁰⁴

CEU - Avrupalı, HCB - Çinli Han soyu, JPT - Japon, YRI - Yoruba Afrika, ASW - Afroamerikan, CHD - Çin kökenli Amerikalı, GIH - Gujarati yerlisi, LWK - Kenya, MEX - Mexikalı, MKK - Masai Kenya, TSI - İtalya, AVG- üsttekilerin ortalaması.

Araştırılan hastalıkla ilişkili genlerin farklı allellerinin (SNP'lerin) kombinasyonları ile oluşturulan 'haplotip'ler ile yapılan birliktelik çalışmaları bir tek SNPkullanılarak yapılan çalışmalardan daha iyi sonuç vermektedir ve İdiyopatik Adölesan Skolyozu gibi poligenik hastalıkların doğasına daha uygundur.

VDR BsmI polimorfizminin farklı etnik kökene sahip toplumlardaki sıklığı değişkendir. Birliktelik çalışmaları yapılırken toplumdaki sağlıklı bireylerdeki prevalans karşılaştırma kriteri olarak mutlaka değerlendirilmelidir.

BsmI, VDR ile ilgili olarak ilk saptanan ve hakkında en çok çalışma yapılan polimorfizmdir. VDR'nin etkileri çok yaygın olduğu için kanser çeşitlerinden immunolojik ve romatolojik hastalıklara, obeziteden tuberküloz ve osteoporoz yatkinlığına kadar pek çok hastalıkla ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır.

Aktif Vitamin D₃'ün osteoblast ve osteoklast hücrelerinde hücre döngüsünü düzenleyerek kemik rezorpsiyonunu engellediği ve VDR'nin temel hedef genlerinden osteokalsin (kollajenlerden sonra kemikte en bol bulunan protein) ekspresyonunu artırarak normal kemik formasyonunu desteklediği gösterilmiştir.⁸³

Adölesanlık dönemi toplam kemik kitlesinin %40'ının kazanıldığı kritik bir dönemdir ve bu dönemde hipovitaminoz D yaşayan adölesanların hedef pik kemik kitlesine ulaşamadıkları gösterilmiştir.^{106,107} Kemik dokusunun önemli genetik düzenleyicilerinden olan VDR geni üzerindeki polimorfizmlerin vitamin D yolağının işlevselliğini bozarak osteopeniye neden olabileceği varsayılmış ve KMD (kemik mineral yoğunluğu) ile VDR polimorfizmlerinin birlikteliklerini inceleyen çalışmalar yapılmış ve birbiriyle çelişen farklı sonuçlar alınmıştır.^{108-117,129,130}

Morrison ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada VDR BsmI BB alleli ile düşük KMD arasında birliktelik saptanmıştır.¹¹¹ Tam tersi sonuç veren çalışmalar ise Lim ve ark. tarafından Kore'de yapılan ve BB genotipli hiç osteoporoz hastası saptayamadıkları ve Houston ve ark. tarafından İskoçya'da BB genotipli bireylerin bb genotiplilere göre daha yüksek femur boynu KMD'sine sahip olduklarını saptadıkları çalışmalar olmuştur.¹¹²⁻¹¹³

Amerika Birleşik Devletleri'nde Meksika kökenli kız çocuklarında yapılan başka bir çalışmada bb genotipli çocukların, BB genotiplilere göre %2-3 daha fazla KMD 'ye sahip

oldukları gösterilmiştir.¹²⁹ Ferrari tarafından yapılan başka bir çalışmada BB genotipi düşük KMD ve yüksek PTH (paratroid hormon) ile ilişkili bulunmuştur.¹³⁰ Avrupa'da farklı ülkelerden 26.000 kişi ile yapılan çok merkezli bir çalışmada da VDR polimorfizmleri ile KMD arasında ilişki saptanmamıştır.¹¹⁴

Türkiye'de 2010 yılında osteoporotik 50 ve non-osteoporotik 50 postmenapozal kadın ile yapılan çalışmada osteoporotik grupta Bb genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış (%38'e %18) ve Bb genotipi osteoporoz ile ilişkili bulunmuştur (p= 0,022).¹¹⁵ Aynı hastalıkla ilgili başka çalışmalarda BsmI polimorfizmi ile KMD arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.^{116,117} Türkiye'deki çalışmaların da sonuçları birbirleriyle çelişmektedir.

Tekrar eden çalışmalarda skolyozlu hastaların vertebralarında ve uzun kemiklerinde osteopeni görülmüştür.^{105,118-123} Sonrasında yapılan kontrollü çalışmalarda osteopeninin korse tedavisine bağlı olmadığı hastalığın doğal bir komponenti olduğu sonucuna varılmıştır.¹²⁴ Skolyoz osteopeni birlikteliğinin hastalığın etyolojisinde osteopeniye neden olan bir faktörün bulunabileceği düşüncesini doğurması nedeniyle kemik mineralizasyonunu düzenleyen Vitamin D yolağında işlev gören Vitamin D reseptör geni polimorfizmleri ile hastalık birlikteliğini inceleyen sınırlı sayıda makale yayınlanmıştır.^{105,125-127}

Bu çalışmalarda BsmI polimorfizmi ile idiyopatik adölesan skolyozu arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik rapor edilmiştir.^{105,125,126} VDR polimorfizminin VDR mRNA miktarını düşürüp VDR etkisini azaltarak vertebrada osteopeniye yol açıp skolyoza yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir.^{103,105}

3.GEREC VE YÖNTEMLER

3.1 Çalışma Grupları

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'na yapılan incelemeler sonucunda İdiyopatik Adölesan Skolyozu tanısı alan veya aynı tanı ile doğrudan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran; hepsi 10 yaş üzerinde olmak üzere adölesan ve erişkin bireylerden oluşan, birbirleri ile akraba olmayan yedisi erkek 45'i kız toplam 52 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya gönüllü olarak katılmak isteyen sağlıklı bireyler veya başka nedenlerle Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine başvuran; Adam's öne eğilme testi ile muayene edilip skolyoz olmadığı görülen, iskelet gelişimini etkileyen bilinen hastalığı olmayan, birbirleri ile akraba olmayan, 20 ile 35 yaş aralığındaki yedisi erkek 46 'i kız toplam 53 gönüllü bireyden kız – erkek oranı olarak hasta grubuna benzer kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubunun yaş aralığı İdiyopatik Adölesan Skolyozunun görülme yaş aralığından daha büyük tutularak kontrol grubunda Adölesan İdiyopatik Skolyozu görülme ihtimali dışlanmaya çalışıldı.

Hasta ve kontrol grubundaki erişkin bireylerin kendilerinden, adölesan olguların ebeveynlerinden çalışma hakkında bilgiler içeren 'bilgilendirilmiş gönüllü olur formu'na yazılı onayları alındı (Bkz: Ek 1 ve Ek 2).

3.2 Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

DNA eldesi için:

- 1) 200 µl periferik kan
- 2) NanoHelix Genomik DNA Prep Kiti Ver2 (kan)
- 3) Manuel pipetler (10-100 µl'lik ve 100- 1000 µl'lik)
- 4) Filtreli steril pipet uçları (100 µl'lik ve 1000 µl'lik)
- 5) Santrifüj cihazı (Eppendorf Centrifuge 5415 D)
- 6) Vorteks karıştırıcı
- 7) Isı bloğu

- 8) Buz kabı
- 9) 1,5 ml'lik ependorf tüpleri
- 10) Parafilm

DNA konsantrasyon ölçümü için:

- 1) Nanodrop cihazı (Nanodrop Spectrophotometer ND 1000)
- 2) Nanodrop ölçüm programı (ND-1000-V3.3.1)
- 3) Manuel pipet (10 µl'lik)
- 4) Filtreli pipet ucu (10 µl'lik)

Polimeraz zincir reaksiyonu için:

- 1) Thermocycler cihazı (PCR cihazı-Ependorf Mastercycler)
- 2) Termostabil DNA polimeraz enzimi (Fermentas ®)
- 3) Polimeraz enzimi için tampon solüsyonu
- 4) Primer nükleotit karışımı (GenID® RDB 2056 - VDR BsmI için)
- 5) MgCl₂
- 6) Distile su
- 7) PCR tüpleri (200 µl'lik)
- 8) Manuel Pipetler (0,5- 15 µl'lik)
- 9) Filtreli pipet uçları (10-100 µl'lik ve 100-1000 µl'lik)
- 10) Örnek DNA'sı

Revers hibridizasyon ile VDR BsmI polimorfizminin saptanması için:

- 1) GenID® 2055 Kiti (genetic risk factors for osteoporosis)
- 2) Hibridizasyon cihazı (ProfiBlot T48- TECAN)
- 3) Manuel pipetler (10 µl'lik, 25 µl'lik ve 1000 µl'lik)
- 4) Plastik forseps
- 5) Kurutma kâğıdı

3.3 Yöntem

3.3.1 DNA izolasyonu

DNA izolasyonu periferik kan veya doku örneklerindeki hücre membran ve çekirdeklerinin bazı kimyasal maddeler ve enzimler yardımıyla parçalanıp, çekirdek DNA'sının ortaya çıkarılması ve hücrenin diğer elamanlarından ayrılarak saf bir şekilde DNA elde edilmesi işlemidir.

NanoHelix Genomik DNA Prep. Kiti Ver2 (kan) içinde gelen solüsyon ve malzemeler kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

- 1) 200µl örnek kanı 1 ml RBL solüsyonu ile bir 1,5 ml'lik tüp içinde karıştırıldı.
- 2) 10 dk buz üzerinde bekletildi. Bekletilme esnasında aralıklarla 2-3 kez vorteks aracılığı ile karıştırıldı.
- 3) 10 dk 12.000 RPM (dakikadaki dönüş sayısı) 'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmı döküldü.
- 4) Tüp içindeki çökelti üzerine 300µl NGD1 ve 2 µl RNase A solüsyonu eklendi. 30-60 sn hızlıca vortekslendi.
- 5) 8µl Proteinaz K solüsyonu eklendi ve pipetaj ile karıştırıldı.
- 6) Tüp 10 dk ısı bloğunda 60°C'de bekletildi.
- 7) Sonrasında tüp buz üzerinde 5 dk. bekletildi.
- 8) 300 µl NPS2 solüsyonu eklenip kısaca vortekslendi.
- 9) Tüp 5 dk buz üzerinde bekletildi.
- 10) Sonrasında 5 dk 12.000 RPM'de santrifüj edildi.
- 11) Başka boş bir 2ml'lik tüpün içerisine kitle gelen filtre yerleştirildi.
- 12) Filtre üzerine 100µl MaxBinder solüsyonu eklendi.
- 13) 30 sn 12.000 RPM'de santrifüj edildi.
- 14) 10. basamakta santrifüj ettiğimiz tüpün üst kısmı 13. basamakta santrifüj ettiğimiz tüpün içindeki filtrenin üzerine pipet ile aktarıldı.
- 15) 1 dk 12.000 RPM'de santrifüj edildi. Filtrenin altına geçen kısım döküldü.
- 16) 500 µl WB solüsyonu eklendi. Sonrasında 30 sn 10.000 RPM'de santrifüj edildi.
- 17) WB içindeki alkolü uzaklaştırmak için 2 dk 13.000 RPM'de santrifüj edildi.

18) Filtre 1,5 ml'lik boş başka bir tüpe aktarıldı. Üzerine 50 µl EB eklendi. 2 dk 12.000 RPM 'de santrifüj edilip filtre atıldı.

19) Tüpün içindeki solüsyonda bulunan DNA tüp kapağı parafilm ile kaplanarak -20°C'de saklandı.

3.3.2 DNA konsantrasyonu ölçümü

- 1) PC'ye yüklü olan Nanodrop ölçüm programı açıldı.
- 2) Çıkan menüden 'Nükleik asit' seçildi.
- 3) Cihazın ölçüm kuyucuğuna 1,5 µl distile su koyuldu.
- 4) Ölçüm programındaki açılmış olan menüden 'OK' kısmına basıldı.
- 5) Cihazın ölçüm kuyucuğuna 1,5 µl distile su koyuldu.
- 6) Programındaki açılmış olan menüden 'Blank' kısmına basıldı.
- 7) Açılan menüden spektrofotometrik ölçüm 260nm'ye ayarlandı.
- 8) Cihazın ölçüm kuyucuğuna 1,5 µl izole edilmiş örnek DNA'sı koyuldu.
- 9) Menüden 'Measure' kısmına tıklandı.
- 10) Çıkan değer örneğimizin ng/µl cinsinden DNA konsantrasyonudur.

3.3.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Nükleik asitlerin in-vitro olarak çoğaltılması yöntemidir. PCR tüpü içindeki çift zincirli örnek DNA'sı ısısal döngü (thermocycler) cihazının ısıyı 95°C 'ye getirmesiyle zincirler birbirinden ayrılarak tek zincirli DNA haline döner (denatürasyon). Isı 55°C'ye düşürüldüğünde ilgili gen bölgesine özgün PCR primerleri örnek tek zincirli DNA üzerindeki komplementeri ile birleşir (annealing). Isı 72°C'ye yükseldiğinde ortamdaki DNA polimeraz enziminin çalışması için en uygun ısıya gelmiş olur ve yeni DNA iplikçığı primerlerden itibaren uzamaya başlar (polimerizasyon). Bu üç sıcaklık evresinden oluşan bir döngü sonrasında örnekteki ilgili gen bölgesinin miktarı teorik olarak iki katına çıkarılmış olur.

PCR reaksiyonumuz PCR tüpleri içinde toplam 25µl lik hacimlerde yapılır.

Her bir hasta için 250 µl'lik PCR tüpüne:

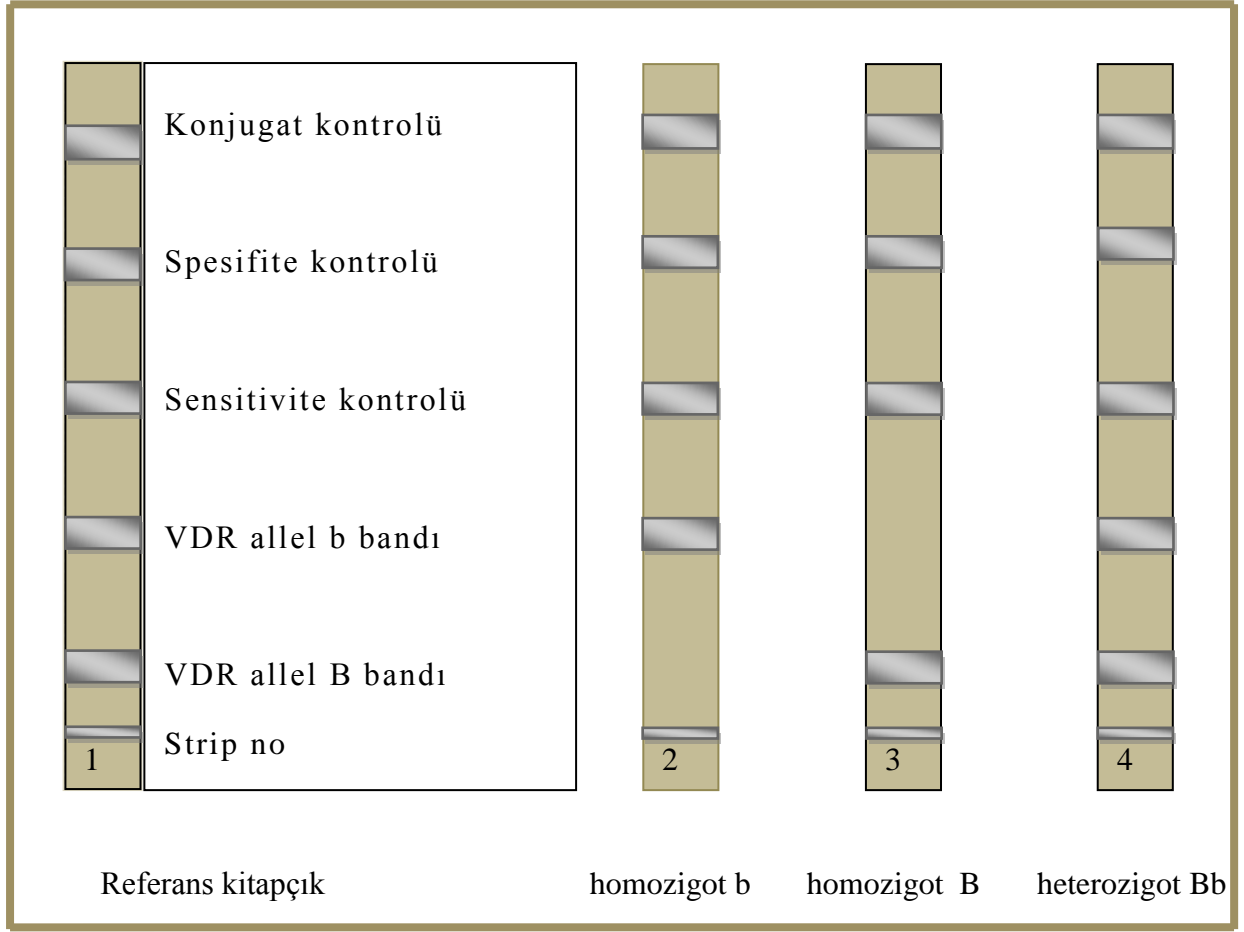
	Thermocycler programı şu şekildedir:
1) 15 µl nükleotit ve özgün biotinlenmiş primer içeren karışım	95°C 5dk
2) 2,5µl Taq tamponu	95°C 30 saniye
3) 1 µl MgCl	60°C 2 dakika
4) 0,4µl Taq polimeraz enzimi	95°C 10 saniye
5) 1,1 µl distile su	55°C 10 saniye
6) 5µl DNA(30ng/µl konsantrasyonda)	72°C 30 saniye
eklenir.	72 °C 8 dk
	8 °C ∞

3.4 Striplerin Çalışılması ve Değerlendirilmesi

Strip(çubuk) test yöntemi revers hibridizasyon temeline dayanmaktadır. Strip üretilirken bir nitroselüloz çubuk üzerine VDR BsmI bölgesi ile ilgili doğal (wild tip) ve varyant DNA dizisi iliştilmiştir. Örneklerin PCR'ı biyotin ile işaretlenmiş primerler kullanarak yapılır. Hazır stripler ve PCR ürünü hibridizasyon cihazındaki kanallara yerleştirip üzerlerine çift zincirli halde bulunan DNA'yı tek zincirli hale getiren denatürasyon sıvısı eklendiğinde DNA tek zincirli hale gelir. Bu sayede örneğe ait DNA tek zincirli sarmalı test çubuğu üzerindeki sabit haldeki DNA'larla özgün bir şekilde birleşip tekrar çift zincirli hale gelebilir (hibridizasyon). Örnek DNA'sı biyotinlenmiş primerler kullanılarak çoğaltılmıştır, dolayısıyla biyotinle işaretlenmiş durumdadır. Biyotin ile streptavidin özgün bir şekilde birbirine bağlanan iki moleküldür. Sonra test kanalına streptavidin ile birleşik haldeki (konjuge) ALP (alkalen fosfataz) ilave edilir. Daha sonra ALP'nin substratı ortama eklenir. ALP'nin substratı katalizlemesi ile bir renk reaksiyonu meydana gelir. Bu sayede test çubuğu üzerinde örnek

DNA'sının hibridize olduğu bölgelerde koyu renkli bantlar oluşmaya başlar. Oluşan bantların yerleri test kitapçığındaki rehbera bakılarak değerlendirilir ve örneğin allelleri belirlenir (genotiplendirme).

Strip testlerin çalışılması Autolipa hibridizasyon cihazında GenID® 2055 Kiti rehberindeki metoda uygun şekilde yapıldı. Cihaz açıldıktan sonra GenID® 2055 Kiti içinden çıkan hibridizasyon tamponu ve stringent yıkama tamponu cihazın ısınma tablalarına yerleştirilerek ısılarının 47°C'ye gelmesi sağlandı. Çalışılacak örnek sayısına göre cihazın hangi kanallarında çalışma yapılacağı belirlendi. Belirlenen kanalların her birine kit içinden çıkan denatürasyon solüsyonundan 20µl eklenir ve üzerine çalışılacak örneğin PCR ürününden 20µl ilave edilerek pipet ile karıştırılıp beş dakika oda ısısında beklemeye bırakıldı. Yerleştirdiğimiz tablada 47°C'ye ısıtılmış olan hibridizasyon tamponundan birer ml cihaz tarafından kanallara dağıtıldı. Kit ile gelen tüp içindeki stripler forseps yardımıyla çıkarılıp üzerinde rakam olan kısmı yukarı gelecek şekilde hibridizasyon kanalına yerleştirildi. Striplerin kanal içindeki solüsyon karışımıyla tamamen kaplandığı görüldü. Kanallar 30 dakika 47°C'de çalkalandı. Kanal içindeki solüsyon alınıp yerine önceden 47°C'ye ısıtılmış stringent yıkama tamponundan birer ml ilave edilerek bir dakika boyunca çalkalanarak yıkandı. Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrarlandıktan sonra önceden ısıtılmış olan stringent yıkama tamponundan her bir kanala birer ml ilave edilerek 47°C'de 15 dakika hafifçe çalkalandı. Bu aşamadan sonraki basamaklar oda ısısında gerçekleştirildi. Kanal içindeki solüsyon boşaltılarak kit içinde gelen ve önceden distile su ile 1/5 oranında seyreltilmiş olan rinse solüsyonu ile iki kez birer dakikalık çalkalayarak yıkama yapıldı ve kanallardaki solüsyonlar boşaltıldı. Kit içinde gelen ve beraberindeki tamponu ile 1/100 oranında önceden seyreltilmiş olan konjugat solüsyonundan birer ml alınıp kanallara ilave edildi ve 30 dakika oda ısısında çalkalandı. Kanallardaki solüsyonlar boşaltıldıktan sonra üç kez birer dakika süreyle birer ml rinse solüsyonu ilave edilerek çalkalayarak yıkama yapıldı. Solüsyonları boşaltılmış kanallara kit ile gelen substrat solüsyondan birer ml ilave edildi. Oda ısısında 10 dakika çalkalama yapıldı. Birer ml distile su ile iki kez yıkama yapılarak renk oluşturma reaksiyonu durduruldu. Forseps yardımıyla stripler kanallardan çıkarılıp kurutma kâğıdı arasında kurutuldu. Stripler ışıktan korunarak saklandı. Striplerin analizi GenID® 2055 Kiti kitapçığı içinde gelen rehberdeki bant şekilleri kıstas alınarak tek tek değerlendirildi.



Şekil 14 Strip bant şeklinin değerlendirilmesi

Konjugat kontrolü: Bu reaksiyon bandı konjugat solüsyonunun bağlanma yeterliliğini göstermektedir. Test sonucunda mutlaka oluşması gereken bir banttır. Eğer oluşmamışsa yalancı negatiflikler olabilir. Bu nedenle test tekrar edilmelidir.

Spesifite kontrolü: Normalde bu bant oluşmamalıdır. Bu reaksiyon bandı sadece yıkama aşamaları uygun olmayan düşük sıcaklıklarda gerçekleşir ise oluşur. Bant görülmesi non - spesifik bağlanmaları dolayısı ile yanlış pozitiflikleri düşündürür, test tekrarı gerekir.

Sensitivite kontrolü: Mutlaka görülmesi gereken bir banttır. Hibridizasyon sensitivitesinin en uygun olduğu durumlarda oluşur. Eğer görülmez ise yalancı negatiflikler olabilir, testin tekrarı gerekir.

VDR allel b (wild tip) bandı: Örnekte doğal (wild tip) allel mevcut ise görülen banttır.

VDR allel B (varyant tip) bandı: Örnekte varyant tip allel var ise görülür.

Örnek VDR BsmI bölgesi için heterozigot ise allel b ve allel B bantları birlikte görülür. Eğer bu allellerden sadece birisi görülüyor ise örnek o allel için homozigottur.

4.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Hasta ve kontrol grubunun allel ve genotip dağılımı ki- kare testi ile karşılaştırıldı.

Genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesine uyumluluğu hasta ve kontrol grupları için ayrı ayrı değerlendirildi.

0,05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bütün bu analizler için SHEsis programının çevrimiçi versiyonu kullanıldı (URL:<http://analysis2.bio-x.cn/myAnalysis.php>).¹²⁸

Veriler hasta ve kontrol grubu için oluşturulmuş alana örnek protokol numarasını takiben arada boşluklar bırakıp b alleli için G, B alleli için A olarak girildi (örn: BK01AG). Ki-kare, p değeri ve Hardy-Weinberg p değeri olarak çıktı alındı.

5.BULGULAR

Çalışmada yedisi erkek 45'i kız toplam 52 İdiyopatik Adölesan Skolyozu hastasından ve yedisi erkek 46'sı kız toplam 53 skolyozu ve iskelet gelişimini etkileyen bilinen hastalığı olmayan gönüllüden oluşan, cinsiyet dağılımı benzer iki grup oluşturuldu. Olguların Vitamin D Reseptör geni BsmI polimorfizmi açısından genotipleri belirlendi.

Grupların genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumluluğu ki-kare ve p değerleri kullanılarak değerlendirildi. Hasta grubu için ki-kare değeri: 2,15 ve p: 0,142 bulundu. Kontrol grubu için hesaplanan ki-kare değeri ise: 3,12 ve p değeri: 0.077, Hesaplanan p değerinin her iki grup için de $> 0,05$ olması genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olduğu şeklinde değerlendirildi.

Hasta grubunda b alleli 57 (%54,8), B alleli 47 (%45,2) olguda bulundu. Kontrol grubunda ise b alleli 50 (%47,2) B alleli 56 (%52,8) olguda görüldü. %95 CI (güvenirlilik aralığı)'da iki grubun allelik frekans farklılığını gösteren ki-kare değeri:1.225 ve p değeri: 0,268 bulundu. P değerinin $>0,05$ olması nedeniyle hasta ve kontrol grubu arasında allelik frekans açısından istatistiksel olarak anlamlı kabul edilebilecek bir fark olmadığı sonucuna ulaşıldı.

Hasta grubunda bb alleli 13 (%25), Bb alleli 31 (%59,6), BB alleli 8 (%15,4) olgudabulundu. Kontrol grubunda ise bb alleli 15 (%28,3), Bb alleli 20 (%37,7), BB alleli 18 (%34) olguda görüldü. İki grubun genotip frekans farklılığının anlamlılığını gösteren Ki-kare değeri: 6,35 ve p değeri: 0,0417 olarak bulundu. P değerinin $<0,05$ olması nedeni ile Vitamin D reseptör geni BsmI polimorfizmi Bb genotipi ile İdiyopatik Adölesan Skolyozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik olduğu görüldü.

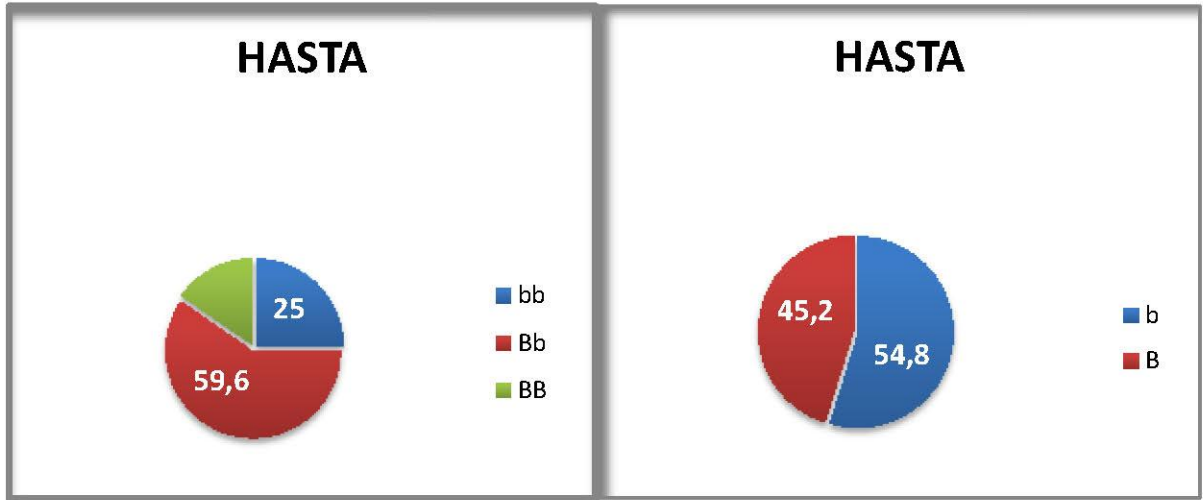
Tablo 6 Hasta ve kontrol genotipleri

Hasta grubunun genotipleri

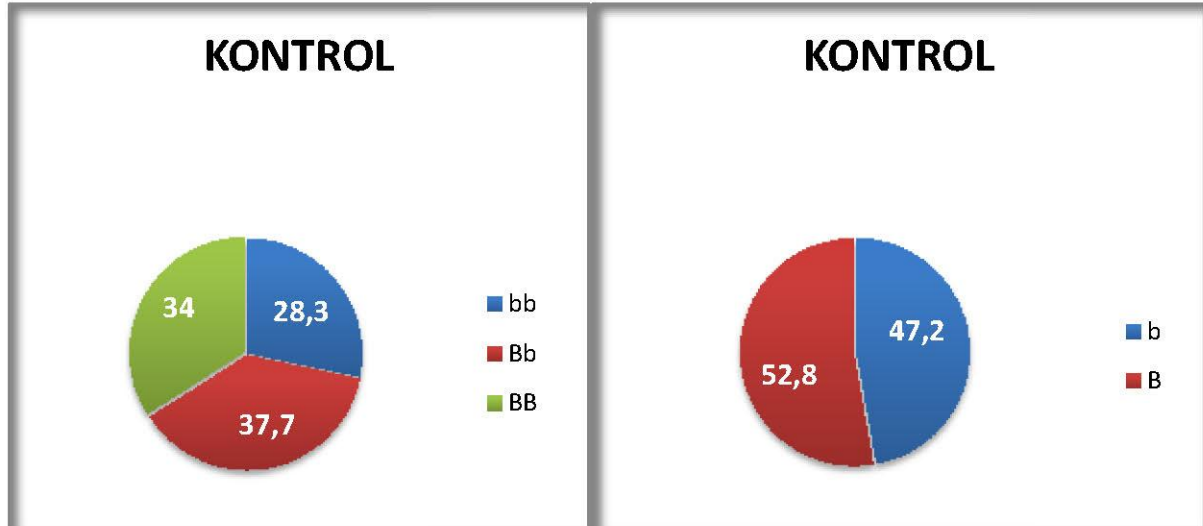
Protokolü	Cinsiyeti	Allelleri
BH01-KT	K	Bb
BH02-ADT	<u>E</u>	Bb
BH03-TŞ	<u>E</u>	BB
BH04-SHŞ	K	Bb
BH05-MC	K	bb
BH06-GA	K	bb
BH07-EK	K	Bb
BH08-ZB	K	bb
BH09-ÖÇ	K	BB
BH10-GA	K	Bb
BH11-BG	K	Bb
BH12-DK	K	BB
BH13-ZDY	K	Bb
BH14-İK	K	Bb
BH15-RB	<u>E</u>	bb
BH16-ŞU	K	bb
BH17-NY	K	bb
BH18-MA	K	Bb
BH20-İG	K	bb
BH21-EB	K	Bb
BH22-ÖÖ	K	Bb
BH23-BC	<u>E</u>	Bb
BH25-SS	K	Bb
BH26-EÖ	K	Bb
BH27-OD	<u>E</u>	Bb
BH28-TA	K	BB
BH29-İV	K	bb
BH30-MM	K	Bb
BH31-ÖK	K	bb
BH32-BV	K	BB
BH33-ZS	K	Bb
BH34-YA	K	BB
BH35-MD	K	BB
BH36-EçB	K	bb
BH38-DA	K	Bb
BH39-MG	K	Bb
BH40-SS	K	Bb
BH41-BA	K	Bb
BH42NBK	K	Bb
BH43-FB	<u>E</u>	BB
BH44-SG	K	bb
BH45-FZK	K	Bb
BH46-KB	<u>E</u>	Bb
BH49-LK	K	Bb
BH50-KA	K	Bb
BH51-MS	K	Bb
BH47-NK	K	Bb
BH48MAD	K	Bb
BH53-YT	K	bb
BH54-ET	K	Bb
BH55-YY	K	bb
BH56-DE	K	Bb

Kontrol grubunun genotipleri

Protokolü	Cinsiyeti	Allelleri
BK01-AŞ	K	Bb
BK02-SG	K	BB
BK03-ZB	K	Bb
BK04-DK	K	BB
BK05-ÖB	K	BB
BK06-AŞ	K	BB
BK08-SK	K	BB
BK09-EK	<u>E</u>	BB
BK10-EA	K	Bb
BK11-SA	<u>E</u>	Bb
BK12-BV	K	BB
BK13-CCS	<u>E</u>	Bb
BK14-BA	K	Bb
BK15-SG0	K	Bb
BK16-ZK	K	Bb
BK17-NA	K	BB
BK18-MKG	<u>E</u>	BB
BK19-EA	<u>E</u>	Bb
BK20-EG	<u>E</u>	Bb
BK21-ÇD	<u>E</u>	BB
BK22-GA	K	Bb
BK23-ST	K	BB
BK26-HS	K	BB
BK28-Bİ	K	Bb
BK29-EK	K	Bb
BK36-ŞI	K	Bb
BB41-ZY	K	Bb
BK42-GY	K	Bb
BK43-AÖ	K	Bb
BK44-HY	K	Bb
BK46-GO	K	Bb
BK48-EÇ	K	Bb
BK49-DÇT	K	BB
BK52-SG	K	Bb
BK54-SA	K	Bb
BK55-NG	K	Bb
BK56-SÇ	K	Bb
BK57-MK	K	Bb
BK58-ÖA	K	BB
BK59-NŞ	K	BB
BK60-BT	K	Bb
BK61-AK	K	BB
BK62-SY	K	Bb
BK63-AV	K	Bb
BK64-SU	K	Bb
BK65-LI	K	Bb
BK66-ZS	K	BB
BK67-HB	K	Bb
BK68-FA	K	Bb
BK69-ÜK	K	Bb
BK70-KY	K	BB
BK71-HM	K	Bb
BK72-BD	K	Bb



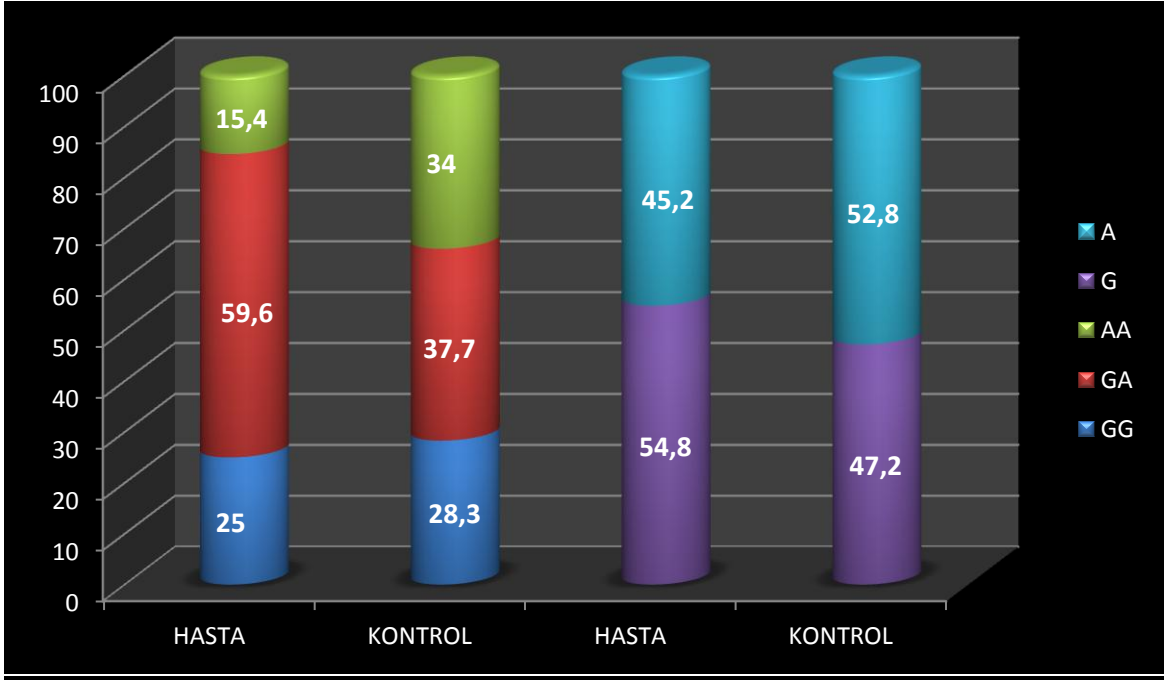
Şekil 15 Hasta grubu genotip ve allelfrekans yüzdeleri



Şekil 16 Kontrol grubu genotip ve allel frekans yüzdeleri

Tablo 7 Hasta ve kontrol grubunun genotip sayı ve frekans yüzdeleri

GRUPLAR	bb		Bb		BB	
	sayı	%	sayı	%	sayı	%
HASTA	13	25	31	59,6	8	15,4
KONTROL	15	28,3	20	37,7	18	34



Şekil 17 Grupların genotip ve allel frekansları grafiği

6.TARTIŞMA

Adölesan İdiyopatik Skolyozu toplumdan topluma değişkenlik göstermekle birlikte genel popölasyonun %3'ünde görölmektedir.¹⁷⁻²⁰ Hastaların aile ağaçları incelendiğinde, hasta akrabalarında skolyoz görölme riskinin genel toplum riskine göre, akrabalık derecesi ile ilgili olarak artış gösterdiği saptanmıştır.³⁷⁻⁴⁸ Kalıtım şeklini belirleme çalışmaları yapıldığında, poligenik kalıtım olduğu kanaatine varılmıştır.^{58,59,67} Hastalığın belirli genetik etkilerin biraraya gelip, belli bir eşiği aşması sonucunda oluştuğu düşünölmektedir. Bu poligenik doğasından dolayı pek çok gen polimorfizmleri ile ilgili birliktelik çalışmaları yapılmıştır. Bunlardan birisi de VDR BsmI polimorfizmidir.

VDR geni kemik dokusunun önemli düzenleyicileri arasındadır ve klasik etkisi olan kalsiyum, fosfor emilimi yanında, diğer genlerin ifadesini de değiştirerek yaygın bir etki sağlamaktadır. VDR geninin BsmI polimorfizminin osteopeni ve osteoporoz ile ilişkisini gösteren yayınlar mevcuttur.^{111,114,115} Osteopeni, Adölesan İdiyopatik Skolyozu'nun klasik bir bulgusudur.¹¹⁸⁻¹²⁴ VDR BsmI polimorfizmi ile Adölesan İdiyopatik Skolyozu arasındaki ilişkiyi irdeleyen az sayıda çalışma yapılmıştır. PubMed 'AdolescentİdiopathicScoliosis' ve 'VDR' terimleri ile tarandığında Ağustos 2012 itibariyle beş çalışmaya ulaşılmaktadır.^{46,105,125-127} Çalışmamız konu ile ilgili Türkiye'den yapılan ikinci çalışmadır.

Çalışma gruplarımızın genotip ve allelik frekans dağılımları karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar dikkati çekmiştir. Hasta grubunda bb genotipi %25, Bb genotipi %59,6, BB genotipi %15,4, kontrol grubunda ise bb genotipi %28,3, Bb genotipi %37,7, BB genotipi %34 sıklıkta görölmüştür. Hasta grubumuzdaki yüksek Bb sıklığı Xia ve ark. ile Chen ve ark. tarafından yapılan iki çalışma ile paralellik göstermektedir.^{125,126} Suh ve ark. ve Türkiye'den Yılmaz ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda ise benzer Bb sıklığı görölmemiştir. Yılmaz ve ark. kendi çalışma gruplarının genotip dağılımındaki farklılıkları anlamlı bulmazken, Suh ve ark. BB genotipini hasta grubunda anlamlı yüksek bulmuştur.^{127,105}

Allel frekansı ise hasta grubumuzda b alleli için %54,8, B alleli için %45,2 kontrol grubumuzda b alleli için %47,2, B alleli için %52,8 olarak saptanmıştır. İki grup arasındaki allelik frekans farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmezken, genotipik frekans farklılıkları anlamlı bulunmuştur. Literatürde VDR BsmI ile AİS birlikteliğini inceleyen dört çalışmadan yalnız birisi ilişkisiz oldukları sonucuna varırken, iki çalışma araştırmamıza

benzer şekilde, Bb genotipi ile AIS arasında anlamlı birliktelik göstermiştir.^{127,125,126} Bir yayında BB genotipinin hasta, bb genotipinin de kontrol grubunda daha sık görülmesi anlamlı olarak değerlendirilmiştir.¹⁰⁵ Toplamda iki yayındaki sonuçlar bizim çalışmamızı desteklerken, diğer ikisi iki farklı sonuca ulaşmıştır.

Xia ve ark. tarafından yapılan Çin kaynaklı çalışmada (2007) 164 AIS tanılı kız hasta, 122 sağlıklı kız ile VDR BsmI sıklığı açısından karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda Bb genotipi daha sık bulunmuştur. Ayrıca Bb genotipi (Vücut kitle indeksi) BMI'i ≤ 18 kg/m² olanlar ile kulaç boyu 160 cm'den kısa olanlarda BMI'i ≥ 18 kg/m² olanlarla kulaç boyu 160 cm'den uzun olanlara göre daha sık görülmüştür.¹²⁵ Çalışmamız Bb genotipinin sıklığı açısından bu araştırma ile benzerlik göstermektedir.

Chen ve ark. tarafından yapılan Çin kaynaklı diğer çalışmada (2008) da, AIS tanılı 146 kız ve 146 sağlıklı kontrolden oluşturulan gruplardaki VDR BsmI polimorfizmi sıklıkları karşılaştırılmıştır. Skolyozlu grupta Bb genotipi çalışmamıza benzer olarak daha sık görülmüştür. BsmI genotipleri ile lomber vertebra ve femur boynu KMD'si arasında ilişki saptanmamıştır.¹²⁶

Xia ve Chen ve ark. tarafından yapılan yüksek olgu sayılı bu çalışmalarda hastalık Bb genotipi ile ilişkilendirilmiştir. Hasta grubumuzda da benzer Bb sıklık yüksekliği görülmesi, her iki allelin bir arada olması halinde Vitamin D Reseptörü düzeyinde negatif bir etkileşimin olabileceği düşüncesini akla getirmiştir.^{125,126} Ancak polimorfik homozigot BB genotipinin hastalarımızda yüksek bulunmaması da AIS ile VDR BsmI polimorfizmi ilişkisi hakkında kesin bilgi vermemektedir.

Kore'den Suh ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2010), AIS tanısı almış 198 kız hasta ve 120 kontrolde VDR BsmI, VDR Fok1 ve VDR Cdx2 polimorfizmleri sıklıkları karşılaştırılmış, iki grup sadece BsmI polimorfizmi açısından farklı bulunmuştur. BB genotipi hasta, bb genotipi ise kontrol grubunda daha yüksek oranda bulunmuş, ayrıca lumbosakral vertebra KMD'si BsmI BB genotipli hastalarda daha düşük değerde saptanmıştır (hasta bb:%25,2, Bb:%51,5, BB:23,2; kontrol bb:%38, Bb:%50, BB:%10).¹⁰⁵ Bu yayında çalışmamızın aksine, BB genotipi hasta grubunda yüksek, Bb genotipi her iki grupta yakın dağılım göstermektedir. Bu araştırmanın sonuçları, genotip dağılımları itibariyle hem çalışmamızdan hem diğer iki Çin kaynaklı çalışmadan farklılık göstermektedir.^{125,126} Bu

araştırmaların farklı etnik gruplarda yapılmış olmasının, sonuçların farklılığı üzerinde etkili olabileceği dūřunūlmelidir. Bu etki hem VDR BsmI, hem de AİS ile ilişkili olabilecek diğer SNP'lerin, toplumlar arasında farklı sıklık ve kombinasyonlarda bulunması nedeniyle olabilir.

Inoue ve ark. tarafından yapılan (2002) Japonya kaynaklı bir çalışmada; AİS tanılı 304 kız hastada Cobb açısı progresyonunun VDR BsmI, Östrojen reseptörü (ER) geni XbaI ve CYP17 geni polimorfizmleri ile ilişkisi incelendiğinde, VDR BsmI polimorfizmi ile progresyon riski arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak ER XbaI polimorfizmi açısından XX genotipinin Xx genotipine göre daha riskli olduğu gürülmüştür.⁴⁶ Inoue ve ark. AİS varlığı ile VDR BsmI ilişkisini araştırmamışlardır. Çalışmamızda, ER XbaI polimorfizmine ve olgu sayımızdaki azlık ve tanımlayıcı-kesitsel araştırma planı nedeniyle VDR BsmI'in progresyon üzerindeki etkilerine bakılmamıştır.

Türkiye'den Yılmaz ve ark. tarafından yapılan (2012) alışmada, AİS tanılı 53 hasta ve 54 erişkin sağlıklı gönüllüde VDR BsmI, Matrilin-1 ve LCT C/T-13910 polimorfizmleri sıklıkları karşılaştırılmış, çalışılan polimorfizmlerden herhangi biri ile AİS varlığı ve Cobb açısı derecesi arasında anlamlı bir ilişki gösterilmemiştir (hastalar: bb:%36, Bb:%49, BB:%15; kontroller: bb:%40, Bb:%48, BB:%11).¹²⁷ çalışmamızla kıyasladığımızda hasta gruplarımızın BB sıklığı aynı iken, bb ve Bb sıklıklarının yaklaşık %10 farklı olduğu gürülmüştür. Hasta ve kontrol gruplarının diğer çalışmalara göre küçüklüğü de sonuçların farklılığını üzerinde etkili bulunabilir. Bu araştırmanın kontrol grubunun Kore'de Chen tarafından yapılan çalışmadaki kontrol grubuna benzerliği dikkat çekicidir.¹⁰⁵

Polimorfizmler doğaları gereği toplumdan topluma değişik sıklıklarda gürülürler. BsmI açısından da toplumlar arasında büyük varyasyonlar vardır. Çin'deki en büyük etnik grup olan Han kökenlilerde B alleli diğer dünya topluluklarına göre çok daha nadir gürülmektedir. Japondaki prevalans Çinlilere benzemekle birlikte çok daha artmıştır (B alleli frekansı Japon'larda %20, Çin'lilerde %7).¹⁰⁴ Beyaz ırka dahil çeşitli etnik gruplarda, Amerikan yerlilerinde ve Kenya'lı siyah ırkta prevalans birbirine daha yakındır. Çin toplumunda B allelinin çok nadir gürülmesi nedeniyle, polimorfizm çalışmalarında hasta grubunda tesbit edilebilecek polimorfizm sıklığı küçük sayılabilecek bir artış gösterse bile, istatistiksel değerlendirme sonucunda daha anlamlı bir fark oluşabilecektir. Belki de bu nedenle, BsmI ile ilgili çalışmalara bakıldığında Çin kökenli yayınlrın çokluğu göze çarpmaktadır.

Türkiye’de çeşitli hastalıkların VDR BsmI polimorfizmi ile ilişkisini inceleyen 20 civarında yayın yapılmıştır. Bu yayınlardaki grupların geneline bakıldığında prevalansın bb genotipi için en düşük %4, en yüksek %48, ortalama %29,14; Bb genotipi için en düşük %14, en yüksek %81,5 ortalama %52,9; BB genotipi için en düşük %0, en yüksek %38, ortalama %17,1 olduğu görülmektedir. Bu değerler Dünya ortalaması ile kıyaslandığında ülkemizde varyant B allelinin daha sık görüldüğü dikkati çekmektedir (Dünya ortalaması BB için %8, Bb için %32, bb için %60’tır).¹⁰⁴ Türkiye içindeki farklı popülasyonlarda dahi prevalansta büyük varyasyonlar görülmüştür. Bu farklılıkların nedeninin; Anadolu coğrafyasının göç yolları üzerinde olması ve tarih boyunca çeşitli nedenlerle Anadolu’ya gelip yerleşmiş farklı etnik kökenlerin bulunması veya seçilen olgu gruplarının çok bölgesel kalmış olması düşünülebilir.

Kontrol grubumuzda BB genotipinin %34 olan prevalansının, Türkiye’de BsmI ile ilgili çalışmaların ortalaması olan %17’nin iki katı, Dünya ortalaması olan %8’in dört katından fazla olması oldukça dikkat çekicidir. bb genotipinin %28,3’lük prevalansı ile Türkiye ortalaması olan %29,1’e yakınlığı ve %60 olan Dünya bb prevalansı ortalamasının yarısı kadar bulunması ülkemizin özgün genetik özelliklerini göstermesi açısından önemlidir. Kontrol grubumuzun Bb frekansı %37,7 ile Dünya ortalamasına (%32) yakın iken, %52,9’luk Türkiye ortalamasından düşüktür. Diğer çalışmalar ile kıyasladığımızda, kontrol grubumuzun yüksek BB sıklığı ile oldukça farklı olduğu gözlemlenmektedir. Tanrıöver ve ark. tarafından yapılan, postmenapozal dönemdeki osteoporotik 50 ve osteoporotik olmayan 50 kadının VDR BsmI polimorfizmi sıklığı açısından karşılaştırıldıkları çalışmada, kontrol grubunun genotipik sıklıkları bb %38, Bb %14, BB %38 değerlerinde saptanmıştır.¹¹⁵ BB genotip sıklığı kontrol grubumuzdan da yüksek olan bu çalışmada, Bb genotipi osteoporotik grupta daha sık görülmüştür. Bu çalışma, hem kontrol grubu BB genotip sıklığının kontrol grubumuza benzemesi, hem de skolyoz etyolojisini açıklamak için sorgulanan osteoporoz ile Bb genotipinin birlikteliğini göstermesi açısından dikkat çekicidir.

Kontrol grubumuzdaki bu yüksek BB sıklığı İzmir ilinin göç aldığı bölgelerin diğer çalışmaların yapıldığı büyük şehirlere göre farklılıklar gösterebileceğini düşündürebilir. Kontrol grubunun, etik nedenlerle radyolojik olarak incelenmeyip, sadece Adam’s öne eğilme testi ile değerlendirilmiş olmasının da grubunun özellikleri üzerinde etkili bulunabileceği düşünülmüştür. Polimorfik BB genotipinin kontrol grubumuzda hasta grubumuza göre daha

sık saptanmasına ve istatistiksel olarak anlamlı çıkmasına rağmen, b (polimorfik olmayan) allelinin kontrol grubunda yüksek olabileceği beklenirken, düşük bulunması nedeniyle AİS için anlamlı olmayabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın ilk dört çalışmadaki farklarından biri, kontrol grubumuzun yaş aralığının 20-35 yaş aralığında olması ile adölesanlardan seçilmiş bir kontrol grubunda sonradan gelişebilecek skolyoz ihtimalinin de dışlanmaya çalışılmış olmasıdır. Diğer çalışmalarda kontrol ve hasta grupları aynı yaş aralığından seçilmiştir. Bir diğer fark, ilk dört çalışmada sadece kız hastalar ve kontrolleri ile çalışılmış, erkek hastalar çalışmaya dahil edilmemişlerdir. Çalışmamızda 52 hastanın ve 53 kontrol gönüllüsünün yedisi erkek olgulardan oluşmaktadır. AİS gibi poligenik kalıtılan ve hastalığın daha nadir ilerlediği erkek cinsiyetinde genetik yükün daha fazla olduğu düşünülürse, grubumuzda ne kadar erkek hasta olursa genetik etkinin o kadar kolay gösterilebileceğine de dikkat edilmelidir.

Hasta grubumuzdaki yedi erkekteki genotip sıklıkları (bb:1 (%14), Bb:4 (%57), BB:2 (%28)) kontrol grubundaki yedi erkekteki dağılımdan sadece birer sayıyla farklıdır (bb:0 (%0), Bb:4 (%57), BB:3 (%42)). Skolyoz her üç genotipe sahip erkekte de görülmüştür. Erkek olguların azlığı nedeniyle ayrıca istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Hasta grubumuzdan üç olgunun birinci derece akrabalarında (iki skolyozlu annenin kız çocuğunda ve bir skolyozlu kızın kız kardeşinde) da AİS görülmüştür. Bu üç olgunun genotipleri skolyozlu akrabaları ile aynı olup Bb, Bb ve bb şeklindedir. Bu olgular değerlendirmeye dahil edilmemiştir.

Çalışmamızın önceki çalışmalara göre kısıtlılıklarından birisi olgu sayısının az olmasıdır. Çalışma gruplarımızın büyüklüğü gerekli minimum örnek sayısı yeterliliğini sağlasa da arzulanan daha fazla olgumuzun olması, sonuçların yeterliliğini daha da artırabilirdi.

Sonuç olarak toplumdan topluma ve çalışmadan çalışmaya değişen ve birbiriyle çelişen sonuçlar mevcuttur. Bu uyumsuzluk polimorfizmlerin etnik popülasyonlarda farklı sıklıklarda görülmesi ve poligenik-multifaktöriyel kalıtılan özelliklerle ilgili genetik çalışmalarda çalışmaya dâhil edilmemiş diğer genetik etkilerin de dikkate alınması gerektiği bilgisini doğrulamaktadır.

7.SONUC

- 1) Bb genotipi hasta grubunda daha sıktır. BB genotipi ise kontrol grubunda daha sıktır. bb genotipi ise her iki grupta da birbirine yakın sıklıkta görülmüştür. Bu farklılıkların anlamlı kabul edilebilmesi ve Bb genotipinin hastalık için risk faktörü, BB genotipinin hastalıktan koruyucu, bb genotipinin ise ilişkisiz olduğunu düşünebilmek için olgu ve kontrol sayısının artırıldığı ve kontrollerin radyolojik olarak incelendiği çalışmaların yapılması önerilir.
- 2) Polimorfik B alleli ile AİS arasında, hem olgu hem de kontrol grubu karşılaştırıldığında, birbirlerini belirgin olarak destekleyen bir ilişki gözlenememiştir.
- 3) Ülkemizde B allelinin diğer ülkelere göre daha sık olması dikkat çekicidir.
- 4) Olgu sayısı istatistiksel analiz için ancak yeterli olduğundan, polimorfizm ve genotiplerin Adölesan İdiyopatik Skolyozu'ndaki eğrilik tipi ve şiddeti ile ilişkisine yorum getirilememiştir. Olgu sayısı artırılarak çalışmaya devam edilmesi yararlı olacaktır.
- 5) VDR BsmI'in başka SNP'lerle kombine edilmesiyle oluşturulacak haplotiplerle, Adölesan İdiyopatik Skolyozu birliktelik çalışmaları yapılması faydalı olacaktır.
- 6) Adölesan İdiyopatik Skolyozlu erkek olgularda her üç genotip de gözlenmiştir.

8.KAYNAKLAR

- 1) Weinstein SL,Zavala DC. Idiopathic scoliosis: long-term follow-up and prognosis in untreated patients. J Bone Joint Surg Am. 1981;635:702-12
- 2) Yawn BP, Yawn RA. The estimated cost of school scoliosis screening. Spine. 2000;18:2387-91
- 3) Herring JA, Back Pain. In: Tachdjian's Pediatric Orthopaedics. 3rd Ed, New York: W.B. SaundersCompany; 2002:213-299
- 4) Alici E. Skolyoz. In: Omurga Hastalıkları ve Deformiteleri. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Yayınları; 1991:271-384
- 5) Ogilvie JW. Historical Aspect of scoliosis. In: Winter RB, Bredford DS, Lonstein JH, OgilvieJW. Eds. MOE'S Textbook of Scoliosis and Other Spinal Deformities. 3rd Ed. Philadelphia: W.B. SaundersCompany; 1995:1-5
- 6) Mehlman CT. Idiopathic Scoliosis. Emedicine from WebMD. 2004. URL:<http://www.emedicine.com/orthoped/topic504.htm>
- 7) Kane WJ. Scoliosis prevalence: a call for a statement of terms. Clin Orthop Relat Res. 1977;126:43-6
- 8) Tachdjian MO. The Spine In: Clinical Pediatric Orthopedics: The Art of Diagnosis and Principles of Management. Stamford: Appleton and Lange CT; 1997:325
- 9) Kusumi K. Dunwoodie S.L. Eds. The Genetics and Development of Scoliosis, 1st Ed.New York: Springer Book; 2010:155. ISBN 978-1-4419-1405-7 e-ISBN 978-1-4419-1406-4 DOI 10.1007/978-1-4419-1406-4

- 10) Gutknecht S. Adolescent Idiopathic Scoliosis. *Pediatric Perspective*. 2009;18:4:3
- 11) Scherl S A, Phillips W, Torchia M M. Clinical features; evaluation; and diagnosis of adolescent idiopathic Scoliosis. URL:<http://www.uptodate.com/contents/clinical-features-evaluation-and-diagnosis-of-adolescent-idiopathic-scoliosis?view=print>
- 12) Lonstein JE, Carlson JM. The prediction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;67:1061-1071
- 13) Nachemson AL. Prediction of progression of the curve in girls who have adolescent idiopathic scoliosis of moderate severity. Logistic regression analysis based on data from The Brace Study of the Scoliosis Research Society. *JBJS*. 1995;77:815-822
- 14) Lonstein JE, Carlson JM. The reduction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;64:481-488.
- 15) Acaroğlu E. İdiyopatik skolyozda genel değerlendirme ve konservatif tedavi. *TOTBİD*. 2002;1.1:10-14
- 16) Shands AR, Eisberg HB. The incidence of scoliosis in the state of Delaware. A study of 50,000 minifilms of the chest made during a survey for tuberculosis. *J Bone Joint Surg*. 1955;37A:1243
- 17) Gore DR, Pässehl R, Sepic S, Dalton A. Scoliosis screening: results of a community project. *Pediatrics*. 1981;672:196-200
- 18) Miller NH. Cause and natural history of adolescent idiopathic scoliosis. *Orthop Clin North Am*. 1999;303:343-352
- 19) Weinstein SL. Adolescent idiopathic scoliosis: prevalence and natural history. *Instr Course Lect*. 1989;38:115-128

- 20) Roach JW. Adolescent idiopathic scoliosis. *Orthop Clin North Am.* 1999;303:353-65
- 21) Weinstein SL. Adolescent idiopathic scoliosis: prevalence and natural history. *Instr Course Lect.* 1989;38:115-28
- 22) Ugras AA, Yilmaz M, Sungur I, Kaya I, ark. Prevalence of scoliosis and cost effectiveness of screening in schools in Turkey. *J Back Musculoskelet Rehabil.* 2010;23:45-8
- 23) Cilli K, Tezeren G, Taş T, Bulut O, ark. School screening for scoliosis in Sivas, Turkey. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2009;435:426-430
- 24) Keskin D. Genç erkeklerde idiyopatik skolyoz görülme sıklığı. *MJAU.* 1998;30:36-38
- 25) İbişoğlu YU, Çalış FA, On AY. Prevalence of Scoliosis among Primary School Children Aged 12-14 Years Living in a Town in Western Turkey. *Turk J Phys Med Rehab.* 2012;58:109-13
- 26) Segil CM. The incidence of idiopathic scoliosis in the Bantu and White population groups in Johannesburg. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1974;56:393
- 27) Jobling MA, Hurles ME, Tyler-Smith C. Eds. *Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples, and Disease.* New York: Garland; 2004:145-8
- 28) Quintana-Murci L, Quach H, Harmant C, Luca F, ark. Maternal traces of deep common ancestry and asymmetric gene flow between Pygmy hunter-gatherers and Bantu-speaking farmers. *Proc. Natl. Acad. Sci.U. S. A.* 2008;105:1596–1601
- 29) Kusumi K, Dunwoodie SL. Eds. *The Genetics and Development of Scoliosis, 1st Ed.* New York: Springer Book; 2010:155. ISBN 978-1-4419-1405-7 e-ISBN 978-1-4419-1406-4 DOI 10.1007/978-1-4419-1406-4

- 30) Alagille D, Odievre M, Gautier M, Dommergues JP. Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental, and sexual development, and cardiac murmur. *J Pediatr.* 1975;86:63-71
- 31) Mortier GR, Lachman RS, Bocian M, Rimoin DL. Multiple vertebral segmentation defects: analysis of 26 new patients and review of the literature. *Am J Med Genet.* 1996;61:310-319
- 32) Jarcho S, Levin PM. Hereditary malformations of the vertebral bodies. *Johns Hopkins Med J.* 1938;62:216
- 33) McAlister WH, Shackelford GD. Classification of spinal curvatures. *Radiol Clin North Am.* 1975;131:93-112
- 34) Goldstein LA, Waugh TR. Classification and terminology of scoliosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1973;93:10-22
- 35) Riseborough EJ, Wynne-Davies R. A genetic survey of idiopathic scoliosis in Boston, Massachusetts. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1973;55:974-982
- 36) Bilgi kaynakları: Tunnessen WW. Scoliosis. In: *Signs and Symptoms in Pediatrics*, 3rd ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;1999:619; Newton PO, Wenger DR. Idiopathic and congenital scoliosis. In: *Lovell and Winter's Pediatric Orthopaedics*, 5th ed, Morrissy RT, Weinstein SL Eds, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001:677; Cassar-Pullicino VN, Eisenstein SM. Imaging in scoliosis: what, why and how? *Clin Radiol.* 2002;57:543
- 37) De George FV, Fisher RL. Idiopathic scoliosis: genetic and environmental aspects. *J. Med. Genet.* 1967;44:251-257

- 38) Carr AJ. Adolescent idiopathic scoliosis in identical twins. *J. Bone Joint Surg. Br.*1990;726:1077
- 39) Gaertner R.L. Idiopathic scoliosis in identical monozygotic twins. *South. Med. J.* 1979;722:231–234
- 40) Senda M, Harada Y, Nakahara S, Inoue H. Lumbar spinal changes over 20 years after posterior fusion for idiopathic scoliosis. *Acta Med. Okayama.* 1997;516:327–331
- 41) Kesling KL, Reinker KA. Scoliosis in twins. A meta-analysis of the literature and report of six cases. *Spine.*1997;2217:2009–2014
- 42) McKinley LM, Leatherman KD. Idiopathic and congenital scoliosis in twins. *Spine.* 1978;33:227–229
- 43) Murdoch G. Scoliosis in twins. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1959;41-B:736–737
- 44) Scott TF, Bailey RW. Idiopathic scoliosis in fraternal twins. *J. Mich. State Med. Soc.* 1963;62:283–284
- 45) Harrington PR. The etiology of idiopathic scoliosis. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1977;126:17–25
- 46) Inoue M, Minami S, Nakata Y, Takaso M. Prediction of curve progression in idiopathic scoliosis from gene polymorphic analysis. *Stud Health Technol Inform.* 2002;91:90-6
- 47) Wynne-Davies R. Familial idiopathic scoliosis. A family survey. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1968;501:24–30
- 48) Ogilvie JW, Braun J, Argyle V, Nelson L, ark. The search for idiopathic scoliosis genes. *Spine Phila Pa.* 2006;316:679-81

- 49) Staub HA. Eine skoliotikerfamilie. Ein beitrage zur frage der kongenitalen skoliose und der hereditat der skoliosen. Z. Orthop. Chir. 1922;43:1 Danish
- 50) Garland HG. Hereditary scoliosis. Br. Med. J. 1934;1:328
- 51) Filho NA, Thompson MW, Genetic studies in scoliosis. J. Bone Joint Surg. Am. 1971;53:199
- 52) Cowell HR, Hall JN, MacEwen GD. Genetic aspects of idiopathic scoliosis. A Nicholas Andry Award essay. Clin. Orthop. Relat. Res. 1970; 86:121–131
- 53) Riseborough EJ, Wynne-Davies R. A genetic survey of idiopathic scoliosis in Boston, Massachusetts. J. Bone Joint Surg. Am. 1973;55:974–982
- 54) Robin GC, Cohen T. Familial scoliosis. A clinical report. J. Bone Joint Surg. Br. 1975;57:146–148
- 55) Wynne-Davies R. Familial idiopathic scoliosis. A family survey. J. Bone Joint Surg. Br. 1968;50:24–30
- 56) Bell M, Teebi AS. Autosomal dominant idiopathic scoliosis? Am. J. Med. Genet. 1995;55:112
- 57) Cowell HR, Hall JN, MacEwen GD. Genetic aspects of idiopathic scoliosis. A Nicholas Andry Award essay. Clin. Orthop. Relat. Res. 1970;86:121–131
- 58) Horton D. Common skeletal deformities. In Emery & Rimoin's Principles and Practices of Medical Genetics, DL. Rimoin, J.M. Connor, RE. Pyeritz, BR. KorfedsAmsterdam: Churchill Livingstone Elsevier; 2002: 4236–4244

- 59) Riseborough EJ, Wynne-Davies R. A genetic survey of idiopathic scoliosis in Boston, Massachusetts. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1973;55:974–982
- 60) Gao X, Gordon D, Zhang D, Browne R, ark. CHD7 gene polymorphisms are associated with susceptibility to idiopathic scoliosis. *Am. J. Hum. Genet.* 2007;80:957–965
- 61) Sturtz FG, Latour P, Mocquard Y, Cruz S, ark. Clinical and electrophysiological phenotype of a homozygously duplicated Charcot-Marie-Tooth type 1A disease. *Eur. Neurol.* 1997;38:26–30
- 62) Holm VA, Laurnen E.L. Prader-Willi syndrome and scoliosis. *Dev. Med. ChildNeurol.* 1981;23:192–201
- 63) Greenberg F, Lewis R.A, Potocki L, Glaze D, ark. Multi-disciplinary clinical study of Smith-Magenis syndrome deletion 17p11.2. *Am. J. Med.Genet.* 1996;62:247–254
- 64) Sucato DJ. Spine deformity in spinal muscular atrophy. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2007;89 Suppl1:148–154
- 65) Bassett AS, Chow EW, Husted J, Weksberg R, ark. Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome, *Am. J. Med. Genet A.* 2005;138:307–313
- 66) Kusumi K. Dunwoodie SL. Eds. *The Genetics and Development of Scoliosis.* 1st Ed. New York: Springer Book; 2010:182. ISBN 978-1-4419-1405-7 e-ISBN 978-1-4419-1406-4 DOI 10.1007/978-1-4419-1406-4
- 67) Ward K, Ogilvie J, Argyle V, Nelson L, ark. Polygenic Inheritance of Adolescent Idiopathic Scoliosis: A Study of Extended Families in Utah, *Am J Med Genet Part A.* 152A:1178–1188

- 68) Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for Mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat. Genet.* 2003;33,Suppl:228–237
- 69) Ledbetter DH, Rich DC, O’Connell P, Leppert M, ark. Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation. *Am. J. Hum. Genet.* 1989;44:20–24
- 70) Bittel DC, Butler MG. Prader-Willi syndrome: Clinical genetics, cytogenetics and molecular biology. *Expert Rev. Mol. Med.* 2005;7:1–20
- 71) Kulkarni S, Nagarajan P, Wall J, Donovan ark. Disruption of chromodomain helicase DNA binding protein 2 CHD2 causes scoliosis. *Am, J. Med. Genet A.* 2008;146A:1117–1127
- 72) Bashiardes S, Veile R, Allen M, Wise C.A, ark. SNTG1, the gene encoding gamma1-syntrophin: a candidate gene for idiopathic scoliosis. *Hum. Genet.* 2004;115:81–89
- 73) Carr AJ, Ogilvie DJ, Wordsworth BP, Priestly LM, ark. Segregation of structural collagen genes in adolescent idiopathic scoliosis. *Clin. Orthop. Relat Res.* 1992;274:305–310
- 74) Miller NH, Mims B, Child A, Milewicz DM, ark, Genetic analysis of structural elastic fiber and collagen genes in familial adolescent idiopathic scoliosis, *J. Orthop. Res.* 1996;14:994–999
- 75) Wise CA, Barnes R, Gillum J, Herring JA, ark. Localization of susceptibility to familial idiopathic scoliosis. *Spine.* 2000;25:2372–2380
- 76) Chan V, Fong GC, Luk KD, ark. A genetic locus for adolescent idiopathic scoliosis linked to chromosome 19p13.3. *Am. J. Hum. Genet.* 2002;71:401–406

- 77) Salehi LB, Mangino M, De Serio S, De Cicco D, ark. Assignment of a locus for autosomal dominant idiopathic scoliosis IS to human chromosome 17p11. *Hum. Genet.* 2002;111:401–404
- 78) Justice CM, Miller NH, Marosy B, Zhang J, ark. Familial idiopathic scoliosis: evidence of an X-linked susceptibility locus. *Spine.* 2003;28:589–594
- 79) Miller NH, Justice CM, Marosy B, Doheny KF, ark. Identification of candidate regions for familial idiopathic scoliosis. *Spine.* 2005;30:1181–1187
- 80) Ocaka L, Zhao, Reed A, Ebenezer ark. Assignment of two loci for autosomal dominant adolescent idiopathic scoliosis to chromosomes 9q31.2-q34.2 and 17q25.3-qtel. *J. Med. Genet.* 2008;45:87–92
- 81) Kusumi K, Dunwoodie SL. Eds. *The Genetics and Development of Scoliosis*, 1st Ed. New York: Springer Book; 2010:176. ISBN 978-1-4419-1405-7 e-ISBN 978-1-4419-1406-4 DOI 10.1007/978-1-4419-1406-4
- 82) Carlberg C, Molnár F, Mouriño A. Vitamin D receptor ligands: the impact of crystal structures. *Expert Opin. Ther. Patents.* 2012; 224:417-435
- 83) Küçükali Türkyılmaz A. Fibromiyalji hastalarında kemik mineral yoğunluğu ile serum D vitamini düzeyinin ağrı ve yaşam kalitesi üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı İstanbul Fizik Tedavi Rehabilitasyon Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2009:28-30
- 84) Feldman D, Pike JW, Adams JS Eds. *Vitamin D*. Third Ed. Elsevier's Science Inc. DOI: 10.1016/B978-0-12-381978-9.10019-8:350
- 85) URL:<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=VDR&search=VDR+Gene>

- 86) Bikle D. Vitamin D: Production, metabolism, and mechanisms of action. URL: <http://www.endotext.org/parathyroid/parathyroid3/parathyroid3.htm>
- 87) URL: <http://smd.stanford.edu/cgi-bin/source/sourceResult?criteria=7421&choice=Gene&option=LLID>
- 88) URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_001017535?report=GenBank
- 89) URL: http://pfam.janelia.org/family/zf-C4#Type_I
- 90) Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev.* 1992;13:719-764
- 91) URL: <http://smd.stanford.edu/cgi-bin/source/sourceImage?File=Hs.524368>
- 92) Liu SM, Koszewski N, Lupez M, Malluche HH, ark. Characterization of a response element in the 5'-flanking region of the avian chicken PTH gene that mediates negative regulation of gene transcription by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and binds the vitamin D₃ receptor. *Mol Endocrinol.* 1996;10:206-215
- 93) Kremer R, Sebag M, Champigny C, Meerovitch K, ark. Identification and characterization of 1,25-dihydroxyvitamin D₃- responsive repressor sequences in the rat parathyroid hormone-related peptide gene. *J Biol Chem.* 1996;271:16310-16316
- 94) Wu J, Garami M, Cao L, Li Q, ark. 1,25OH₂D₃ suppresses expression and secretion of atrial natriuretic peptide from cardiac myocytes. *Am J Physiol.* 1995;268:E1108-1113
- 95) Lemon BD, Freedman LP. Selective effects of ligands on vitamin D₃ receptor- and retinoid X receptor-mediated gene activation in vivo. *Mol Cell Biol.* 1996;16:1006-1016

- 96) Alroy I, Towers TL, Freedman LP. Transcriptional repression of the interleukin-2 gene by vitamin D3: direct inhibition of NFATp/AP-1 complex formation by a nuclear hormone receptor. *Mol Cell Biol.* 1995;15:5789-5799
- 97) Prufer K, Racz A, Lin GC, Barsony J. Dimerization with retinoid X receptors promotes nuclear localization and subnuclear targeting of vitamin D receptors. *J Biol Chem.* 2000;275:41114-41123
- 98) Carlberg C, Molnár F. Current status of vitamin d signaling and its therapeutic applications. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 2012; 1;12:6
- 99) Kawata H, Kamiakito T, Takayashiki N, Tanaka A. Vitamin D3 suppresses the androgen-stimulated growth of mouse mammary carcinoma SC-3 cells by transcriptional repression of fibroblast growth factor 8. *Journal Of Cellular Physiology.* 2006;207:793–799
- 100) Valdivielso J.M, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta.* 2006;371 1–12
- 101) Hughes MR, Malloy PJ, Kieback DG, Kesterson RA, ark. Point mutations in the human vitamin D receptor gene associated with hypocalcemic rickets. *Science.* 1988;242:1702-1705
- 102) Mergen H. Tek nükleotit polimorfizmleri. Hacettepe Üniversitesi. URL: http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/sunu/s_snp2.pdf
- 103) Luo XY, Yang MH, Wu FX, Wu LJ. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism B allele, but not BB genotype, is associated with systemic lupus erythematosus in a Han Chinese population. *Lupus.* 2012;211:53-9. Epub 2011 Oct 17
- 104) URL:<http://www.snpedia.com/index.php/Rs1544410>

- 105) Suh KT, Eun IS, Lee JS. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J.* 2010;19:1545–1550
- 106) Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S. Puberty and bone development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002;16:53–64
- 107) Lehtonen-Veromaa MK, Mottonen TT, Nuotio IO, Irjala KM, et al. Vitamin D and attainment of peak bone mass among peripubertal Finnish girls: 3y prospective study. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:1446–1453
- 108) Ames S, Ellis K, Gunn S, Copeland K, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children. *J Bone Miner Res.* 1999;14:740–746
- 109) Laaksonen M, Karkkainen M, Outila T, Rita H, et al. Vitamin D receptor gene start codon polymorphism FokI is associated with forearm bone mineral density and calcaneal ultrasound in Finnish adolescent boys but not in girls. *J Bone Miner Metab.* 2004;22:479–485
- 110) Lorentzon M, Lorentzon R, Nordstrom P. Vitamin D receptor gene polymorphism is related to bone density, circulating osteocalcin and parathyroid hormone in healthy adolescent girls. *J Bone Miner Res.* 2001;19:302–307
- 111) Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* 1994;367:284–287
- 112) Lim S K, Park Y S, Park J M, Song Y D, et al. Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1995;80: 3677-3681

- 113) Houston LA, Grant SFA, Reid DM, Ralston SH. Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. *Bone*. 1996;18: 249-252
- 114) Uitterlinden A G, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, ark. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 2006;145; 255-264. Note: Erratum: *Ann. Intern. Med.* 145: 936 only 2006
- 115) Tanriover MD, Tatar GB, Uluturk TD, Erden DD, ark. Evaluation of the effects of vitamin D receptor and estrogen receptor 1 gene polymorphisms on bone mineral density in postmenopausal women. *Clin Rheumatol.* 2010;29:1285–1293
- 116) Kahraman H. Lack of association between vitamin D receptor gene polymorphism BsmI and osteomalacia *J Bone Miner Metab.* 2004;22:39–43
- 117) Uysal AR. Vitamin D Receptor gene polymorphism and osteoporosis in the Turkish population. *Genetic Testing.* 2008;12:4
- 118) Burner WL, Badger VM, Sherman FC. Osteoporosis and acquired back deformities. *J Pediatr Orthop.* 1982;2:383–385
- 119) Cheng JC, Guo X, Sher AH, Persistent osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis. A longitudinal follow up study. *Spine.* 1999;24:1218–1222
- 120) Cheng JC, Qin L, Cheung CS, Sher AH, ark. Generalized low areal and volumetric bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1587–1595
- 121) Cook SD, Harding AF, Morgan EL, Nicholson RJ, ark. Trabecular bone mineral density in idiopathic scoliosis. *J Pediatr Orthop.* 1987;7:168–174

- 122) Eun IS, Park WW, Suh KT, Kim JI, ark. Association between osteoprotegerin gene polymorphism and bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur SpineJ.* 2009;18:1936–1940
- 123) Thomas KA, Cook SD, Skalley TC, Renshaw SV, ark. Lumbar spine and femoral neck bone mineral density in idiopathic scoliosis: a follow up study. *J Pediatr Orthop.* 1992;12:235–240
- 124) Yu Ws, Chan Ky, Yu FW. Bone quality in adolescent idiopathic scoliosis girls - a case-control study. *Stud Health Technol Inform.* 2012;176:471
- 125) Xia CW, Qiu Y, Sun X, Qiu XS. Vitamin D receptor gene polymorphisms in female Adolescent Idiopathic scoliosis patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2007;5;8721:1465-9. Chinese
- 126) Chen WJ, Qiu Y, Zhu F, Zhu ZZ. Vitamin D receptor gene polymorphisms: no association with low bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis girls. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2008;1;4615:1183-6. Chinese
- 127) Yilmaz H, Zateri C, Uludag A, Bakar C, ark. Single-Nucleotide Polymorphism in Turkish Patients with Adolescent Idiopathic Scoliosis: Curve Progression Is not Related with MATN-1, LCT C/T-13910, and VDR BsmI. *Journal Of Orthopaedic Research.*2012:1459-63.DOI 10.1002/jor.22075
- 128) Shi YY, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci. *Cell Res.* 2005;152:97
- 129) Sainz J, Van Tornout J. M, Loro L, Sayre J, Roe T F, Gilsanz V. Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepubertal American girls of Mexican descent. *New Eng. J. Med.* 1997;337: 77-82

130) Ferrari S, Manen D, Bonjour JP, Slosman D, Rizzoli R. Bone mineral mass and calcium and phosphate metabolism in young men: relationships with vitamin D receptor allelic polymorphisms. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1999;84:2043-2048

131) Andersen MO, Thomsen K, Kyvik KO. Adolescent idiopathic scoliosis in twins: a population-based survey. *Spine.* 2007;32:927-930

9.EKLER

9.1 Ek 1 Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Skolyoz (omurgada yana eğrilik) hastalığının oluşumu ve ilerleyişinde Vitamin D Reseptör geninin etkileri konulu yeni bir araştırma yapmayı planladık. Araştırmanın ismi "İdyopatik adölesan skolyozunda vitamin D reseptör geni BsmI polimorfizmi"dir.

Skolyozun çok çeşitli nedenleri mevcuttur ve son yıllarda genetik bir yatkınlığın olduğuyla ilgili yayınlar vardır. Vitamin D sindirim sisteminden kalsiyum Emilimini artırarak kanda ve dolayısıyla kemikte kalsiyum miktarını düzenleyen bir hormondur. Etkisini hücre zarı ve çekirdeğindeki Vitamin D algacına (reseptörüne) bağlanarak gösterir. Vitamin D reseptör genindeki değişimler bu reseptörün yapısını veya miktarını dolayısıyla Vitamin D etkisini değiştirir. Vitamin D reseptör genindeki değişimlerin kemik mineralizasyonunu azaltarak (osteopeni) skolyoza neden olduğu yolunda görüşler vardır.

Sizin de bu araştırmaya skolyoz hastası olarak katılmanızı öneriyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmanın Yürütüleceği Klinik: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD / Ortopedi ve Travmatoloji AD

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni sizde bu hastalığın bulunmasıdır. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz ortopedik değerlendirmeniz sonrasında rutin tetkikleriniz için kan alınırken alacağımız 2-4 cc kanınızdan elde ettiğimiz DNA'dan genetik testler yapacağız. Aynı DNA'nız ileride durumunuzla ilişkili başka gen çalışmalarında veya kontrol grubu olarak da kullanılabilir. Araştırma giderleri size veya sosyal güvenlik kurumunuza yüklenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Genetik testlerin sonucu kişilere bir rapor olarak verilmeyecektir. Çalışma sonuçları klinik olarak kullanılmak üzere Ortopedi ve Travmatoloji AD'daki sorumlu hekiminizle paylaşılacaktır. **Kişi ismi zikredilmeden** bilimsel dergi ve platformlarda yayınlanabilecektir.

Yapılacak araştırmanın getireceği olası yararlar: Planladığımız analiz sonuçlarının skolyoz hastalığının oluşumu ve ilerlemesindeki genetik etkilerin öğrenilmesinde yararlı olabileceğini öngörmekteyiz. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi

tedavide yeni yaklaşımlar getirebilecek ve ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayabilecektir. Bir sonuç ortaya çıktığında ve klinik yarara dönüştüğü takdirde bu yarar skolyoz rahatsızlığı olanlarda hastalığın düzeltilmesi konusunda yol gösterici olabilir.

Kan alımı sırasında çok az bir acı hissedilebilir; kan alma bölgesinde morarma çok nadiren de pıhtı ve enfeksiyon olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızca alınacaktır

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın *herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da* sahipsiniz.

Ayrıca tıbbi durumunuza herhangi bir zarar verilmeden araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirsiniz.

Bu çalışmayla ilişkili sağlık kaydınız kurumumuzun yerel Etik Kurul Komitesi ve Sağlık Bakanlığı haricinde kesinlikle gizli kalacaktır. Çalışma sonuçları bir yayın veya sunumda kullanılırken *kesinlikle isminiz kullanılmayacaktır.*

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarda söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Tarih: / / 20

Katılımcı

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Velisi (Katılımcı çocuk ise)

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Görüşme tanığı

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Sorumlu hekim

Adı / Soyadı: Bülent UYANIK

Tel: 5059374416

İmza

9.2 Ek 2 Kontrol Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Skolyoz (omurgada yana eğrilik) hastalığının oluşumu ve ilerleyişinde Vitamin D Reseptör geninin etkileri konulu yeni bir araştırma yapmayı planladık. Araştırmanın ismi "İdyopatik adölesan skolyozunda vitamin D reseptör geni BsmI polimorfizmi"dir.

Skolyozun çok çeşitli nedenleri mevcuttur ve son yıllarda genetik bir yatkınlığın olduğuyla ilgili yayınlar vardır. Vitamin D sindirim sisteminden kalsiyum Emilimini artırarak kanda ve dolayısıyla kemikte kalsiyum miktarını düzenleyen bir hormondur. Etkisini hücre zarı ve çekirdeğindeki Vitamin D algacına (reseptörüne) bağlanarak gösterir. Vitamin D reseptör genindeki değişimler bu reseptörün yapısını veya miktarını dolayısıyla Vitamin D etkisini değiştirir. Vitamin D reseptör genindeki değişimlerin kemik mineralizasyonunu azaltarak (osteopeni) skolyoza neden olduğu yolunda görüşler vardır.

Sizin de bu araştırmaya kontrol gönüllüsü olarak katılmanızı öneriyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmanın Yürütüleceği Klinik: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD / Ortopedi ve Travmatoloji AD

Araştırmaya davet edilmenizden nedeni sizde bu hastalığın bulunmasıdır. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz ortopedik değerlendirmeniz sonrasında rutin tetkikleriniz için kan alınırken alacağımız 2-4 cc kanınızdan elde ettiğimiz DNA'dan genetik testler yapacağız. Aynı DNA'nız ileride durumunuzla ilişkili başka gen çalışmalarında veya kontrol grubu olarak da kullanılabilir. Araştırma giderleri size veya sosyal güvenlik kurumunuza yüklenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Genetik testlerin sonucu kişilere bir rapor olarak verilmeyecektir. Çalışma sonuçları klinik olarak kullanılmak üzere Ortopedi ve Travmatoloji AD 'daki sorumlu hekiminizle paylaşılacaktır. **Kişi ismi zikredilmeden** bilimsel dergi ve platformlarda yayınlanabilecektir.

Yapılacak araştırmanın getireceği olası yararlar: Planladığımız analiz sonuçlarının skolyoz hastalığının oluşumu ve ilerlemesindeki genetik etkilerin öğrenilmesinde yararlı olabileceğini öngörmekteyiz. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi

tedavide yeni yaklaşımlar getirebilecek ve ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayabilecektir. Bir sonuç ortaya çıktığında ve klinik yarara dönüştüğü takdirde bu yarar skolyoz rahatsızlığı olanlarda hastalığın düzeltilmesi konusunda yol gösterici olabilir.

Kan alımı sırasında çok az bir acı hissedilebilir; kan alma bölgesinde morarma çok nadiren de pıhtı ve enfeksiyon olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızca alınacaktır

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın *herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da* sahipsiniz.

Ayrıca tıbbi durumunuza herhangi bir zarar verilmeden araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirsiniz.

Bu çalışmayla ilişkili sağlık kaydınız kurumumuzun yerel Etik Kurul Komitesi ve Sağlık Bakanlığı haricinde kesinlikle gizli kalacaktır. Çalışma sonuçları bir yayın veya sunumda kullanılırken *kesinlikle isminiz kullanılmayacaktır*.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarda söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Tarih: / / 20

Katılımcı

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Velisi (Katılımcı çocuk ise)

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Görüşme tanığı

Adı / Soyadı:

Tel:

İmza

Sorumlu hekim

Adı / Soyadı: Bülent UYANIK

Tel: 5059374416

İmza