

Obezite ve D vitamini

Mehmet Burak Yavuz Çimen¹, Özlem Bölgen Çimen²

¹ Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

² Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Obezite; Dünya Sağlık Örgütü tarafından “Sağlığı riske edecek şekilde aşırı yağ birikimi” olarak tanımlanmaktadır. Birçok metabolik olayda rol alan yağ doku sadece bir depo organı değil, 250’den fazla farklı peptid/proteini sekrete edebilen endokrin bir organdır. Vitamin D bir prohormondur ve insanda 7-dehidrokolesterolden sentez edilebilir. Takiben karaciğer ve böbrekte hidroksilaz enzimleri ile aktif hormon olan kalsitriole ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) dönüştürülür. Dolaşımdaki $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hücre çekirdeğine ulaşır ve vitamin D reseptörüne bağlanıp, genetik düzenlenmeye neden olur. İlgili genlere etki ederek Ca ve P metabolizmalarının düzenlerken, diğer taraftan, hücre döngüleri veya bağışıklık mekanizmaları, kas kasılmaları, sinir uyarı iletimleri gibi birçok fizyolojik olayı da yönlendirilmektedir. D vitamini eksikliği küresel bir salgın olarak kabul edilmektedir. Ülkemizde de eksiklik ve yetersizliğinin yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Eksikliği nedenleri arasında; yetersiz güneş ışığı maruziyeti, nutrisyonel eksiklik, emilimi engelleyen hastalıklar, ilaçlar, karaciğer ve böbrek hastalıkları, metabolik eksiklikler sayılabilir. D vitamini eksikliğinin için tek başına rikets, osteomalazi gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı bilinmekle birlikte, diyabet, metabolik sendrom, multipl skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, epilepsi, polikistik over ve kanser gibi hastalıklarda da rol alabileceği değerlendirilmektedir. Günümüzde HPLC, ECL ve LC-MS/MS yöntemleri ile $25(\text{OH})\text{D}_3$ ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ düzeylerinin ölçümü gerçekleştirilebilmektedir. Ancak düzeyi değerlendirmek için, $25(\text{OH})\text{D}$ düzeylerine bakılması önerilmektedir. $25(\text{OH})\text{D}_3$ ölçümünde yöntemler arası farklılıklar ve kalibratörlerde standardizasyon yokluğu laboratuvarlar arası farklılıklara yol açmaktadır. $25(\text{OH})\text{D}_3$ ’ün analitik, biyolojik ve mevsimsel değişkenliği de ölçüm belirsizliğine katkıda bulunmaktadır. Vitamin D ile obezite arasında, sebep-sonuç ilişkisini araştıran ileriye dönük randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunmakla birlikte, ölçüm metodları arasındaki farklılıkların kaldırılması, referans metodların kullanılması ve standardizasyonun sağlanması önemli görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: D vitamini, obezite, vitamin D eksikliği

Yazının geliş tarihi: 09.03.2016 **Yazının kabul tarihi:** 03.06.2016

Yazışma Adresi: Prof. Dr. M. Burak Y. ÇİMEN Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD. Yenişehir/MERSİN Tlf: 0324 2410000/1173, 0533 2699293, E-posta:mybcimen@hotmail.com

Obesity and vitamin D

Abstract

Obesity is defined as abnormal or excessive fat accumulation that may impair health by WHO. Adipose tissue is known as not only a storage organ, but also an endocrine tissue which can synthesize more than 250 peptides/proteins and act in many metabolic circumstances. Vitamin D is a prohormone which can be synthesized from 7-dehydrocholesterol in human. It is known to be converted to active hormone, calcitriole ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) by hydroxylation enzymes in liver and kidney. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in circulation reaches cell nucleus, binds to vitamin D receptor and triggers genetic modulations. It modulates Ca and P metabolism affecting the involved genes. On the other hand, it also conducts many physiological cases such as; cell cycles, immunity mechanisms, muscle contraction and nerve stimulus. Vitamin D deficiency is accepted as a global epidemia. It is determined that vitamin D deficiency and insufficiency is prevalent in our country. Nutritional deficiencies, insufficient sunlight exposure, absorptional diseases, liver and kidney disorders, drugs, metabolic disorders may cause vitamin D deficiency. It is known that vitamin D deficiency is the major responsible factor in pathogenesis of rickets, osteomalacia, it is also evaluated as having a role in diabetes mellitus, metabolic syndrome, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, epilepsy, polycystic over and cancer. $25(\text{OH})\text{D}_3$ and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levels are estimated using HPLC, ECL and LC-MS/MS techniques. The obtained level of $25(\text{OH})\text{D}_3$ among many labs appears in a wide spectrum due to differential methods and possible imbalance of the devices. However, analytical, seasonal and biological variability of vitamin D also increases the uncertainty of measurement. In addition to the need of prospective randomised controlled studies; investigating the cause and effect relation between vitamin D and obesity is also highly needed. Besides, limiting the discrepancies resulted from differential methodology; in contrast employing reference methods and standardization are highly essential.

Key Words: Vitamin D, obesity, vitamin D deficiency

Giriş

Obezite; Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından "Sağlığı riske edecek şekilde aşırı yağ birikimi" olarak tanımlanmaktadır. Beden yağ kütlelerinin, yağsız kütleye oranının aşırı artması sonucu boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının arzu edilen düzeyin üstüne çıkması olan bu süreç yağ doku ile yakından ilişkilidir. Beden Kitle İndeksi (BKİ) değerinin >25 olması aşırı kiloluluk, >30 olması ise obezite olarak tanımlanmaktadır. Aşırı kiloluluk ve obezite; diabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi birçok kronik hastalık için major risk faktörü olarak kabul edilmektedir.¹

Birçok metabolik olayda rol alan yağ doku sadece bir depo organı değil, adipokinler olarak adlandırılan biyoaktif ürünleri de sentezleyebilen, 250'den fazla farklı

peptid/proteini sekrete edebilen endokrin bir organdır.² Adipoziter plastiktir, büyüklük (hipertrofi) ve sayıca (hiperplazi) artıp hızla genişleyebilirler. Hipertrofik adipoz dokuda yeni adipoziterin diferansiyasyon ve iyileşme yeteneği bozulmuştur ve hipertrofi, obezite ile güçlü şekilde ilişkilidir.³

D Vitamini (D Hormonu = Güneş Hormonu)

1600'lü yıllarda ilk olarak rickets tanımı kapsamında Whistler tarafından söz edilmiştir.⁴ Daha sonra 1900'lü yılların başında; yağda çözünme, üretiminin ultraviyole (UV) güneş ışığı ile ilişkisi ve antirakitik faktör olması gibi özellikleri tanımlanırken, 1930'lu yıllardan sonra ise vitamin D_2 (ergokalsiferol) ve provitamin D_3 (kolekalsiferol) formlarının keşfi gerçekleştirilmiştir.⁵

Vitamin D bir prohormondur; bitkilerde bulunan ergokalsiferol ya da hayvansal dokularda mevcut kolekalsiferol olarak iki formda bulunur. İnsan vücudunda 7-dehidrokolesterolden sentez edilebilir ve 290–315 nm dalga boyunda UV-B güneş ışınlarına maruziyetle, fotokimyasal dönüşümü aracılığıyla kolekalsiferol oluşturulabilir. D₂ ve D₃ vitaminleri biyolojik olarak aktif değildir. Sentezlenen ve gıdalar aracılığıyla dışarıdan alınan vitamin D dolaşıma verilir ve vitamin D Bağlayıcı Proteine (VDBP) bağlanarak taşınır.^{6,7} Takiben karaciğer parankiminde 25 hidroksilaz enzimi (CYP2R1) vasıtasıyla 25 hidroksivitamin D₃'e (25(OH)D₃) dönüştürülür. 25(OH)D₃ depolanmaz ve hemen kana salıverilir. 25(OH)D₃ serumda bol miktarda mevcut en stabil metabolittir, biyolojik yarı ömrü 12-19 gündür ve vitamin D'nin serumdaki en iyi laboratuvar göstergesidir. 25(OH)D₃, daha sonra baskın olarak böbrekte mitokondriyal 1-alfa hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile aktif hormon olan kalsitriol (1,25(OH)₂D₃) ve kalsidiol (1,25(OH)₂D₂) dönüştürülür. Önceleri sadece böbrekler tarafından sentezlendiği düşünülen 1-alfa-hidroksilaz enziminin yağ doku, meme, pankreas, beyin, plasenta ve prostat gibi birçok dokuda da sentezlenebildiği de bilinmektedir.⁸ Ayrıca 25(OH)D₃ ve 1,25(OH)₂D₃, fonksiyonları tam olarak ortaya konulmamış olmakla birlikte 24 hidroksilaz (CYP24) enzimi aracılığıyla, biyolojik olarak inaktif ürün olan 24,25(OH)₂D₃'e dönüştürülür ve suda eriyen kalsitroik asite katabolize edilir.^{9,10}

Dolaşımdaki 1,25(OH)₂D₃ hücre membranı ve sitoplazmayı geçerek çekirdeğe ulaşır. Vitamin D Reseptörüne (VDR) ve ardından nükleer retinoik asit reseptörüne (RXR) bağlanıp, genetik düzenlenmeye neden olur. İlgili genlere etki ederek kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) metabolizmalarının dengelenmesi aracılığıyla kemik yapılanmasını etkilemektedir.¹¹ Diğer taraftan, hücre döngüleri veya bağışıklık mekanizmalarıyla ilişkili birçok gende (renin, insülin, katelisin, sitokinler, vs) düzenlenme

sağlanırken, membrana bağlı VDR aracılığıyla da kas kasılmaları, sinir uyarı iletimleri gibi birçok fizyolojik olay yönlendirilmektedir.^{12,13}

D vitamininin Etkileri

Yakın zamanlarda D vitamininin temel hedef organları kabul edilen barsak, böbrek ve kemik yanında yağ doku, pankreas, deri, endotel, düz kas, miyokard, beyin, plasenta, meme, prostat, over, pitüiter, immün kökenli hücreler, kolon kanseri hücrelerinde de nükleer VDR'lerinin bulunduğu belirlenmiştir. Kemikte osteoklast öncülerinin farklılaşmasını uyararak kemikte Ca mobilizasyonu sağlamaktadır. D vitamininin barsaklarda Ca ve P emilimi, böbreklerde Ca reabsorpsiyonu, paratiroid bezlerinde parathormon (PTH) salgısının baskılanması gibi etkilerle gerçekleşen fonksiyonu Ca ve P homeostazının sağlanmasıdır.¹⁴⁻¹⁶

D vitamininin bu düzenlemelere ilave olarak, nonkalsemik etkilerinin de olduğu bilinmektedir. Vitamin D, ekstrasellüler Ca konsantrasyonunun düzenlenmesi ve pankreas β hücrelerine Ca girişinin sağlanmasında fonksiyon görmektedir. Bu mekanizmayla pankreastan insülin salgılayan β -hücrelerinde VDR ve 1-alfa-hidroksilaz enzimlerinin sentezi uyarılırken, takiben insülin üretim ve sekresyonu da uyarılır. Ayrıca vitamin D iskelet kaslarında GLUT-4 ekspresyonunun düzenlenmesinde rol almasının yanında adipozitlerde GLUT-4 translokasyonunu da uyarılmaktadır.¹⁷⁻¹⁹ Vitamin D peroksizom bağımlı mekanizmalarla dolaylı olarak Peroksizome Proliferasyonunu Aktive Edici Reseptör Gama (PPAR- γ) ile etkileşim göstererek adiponektin üretimini de stimüle edebilmektedir.^{20,21} Diğer taraftan artmış adipozite durumlarında renin anjiotensin sistem aktivitesi artış gösterdiği için adipoz dokuda artmış renin anjiotensin sistem aktivitesine bağlı olarak obezitede relatif olarak düşük adiponektin düzeylerinin saptandığı ve D vitamini etkisiyle artış sağlanabileceği de bildirilmiştir.²² Ayrıca dolaşımda yüksek leptin ve interlökin-6, D vitamini sentezi üzerinde reseptör aracılığıyla inhibitör etki gösterebilir.²³

Birçok mekanizma aracılığıyla immün sistem uyarımı ve enfeksiyonların baskılanması, osteoid doku oluşumu, hücresel proliferasyonun baskılanması, renin üretiminin baskılanması ile anjiyogenezis ve kan basıncının düzenlenmesi gibi roller üstlenir.^{24,25}

Son yıllarda gerçekleştirilen doz-yanıt çalışmaları, barsaklardan Ca emiliminde 25(OH)D₃'ün molar gücünün kalsitriole kıyasla 125-400 kat daha fazla olduğunu göstermektedir. 25(OH)D₃'ün serum konsantrasyonlarının 500-1000 kat daha fazla olduğu göz önüne alındığında, dolaşımdaki vitamin D aktivitesine 25(OH)D₃'ün %55-90 oranında katkısı olduğu varsayılabilir.²⁵ İntestinal Ca absorpsiyonunda kalsitriolden ziyade serum 25(OH)D₃ düzeylerinin daha iyi bir göstergesi olduğunu gösteren kesitsel çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, 25(OH)D₃'ün, kas hücre kültüründe Ca girişini artırdığı, hücre içi Ca'un sarkoplazmik retikuluma alımını ve P'nin birikimini uyardığı da bilinmektedir.^{27,28}

Vitamin D Eksikliği

Dünya genelinde D vitamini eksikliği artık küresel bir salgın olarak kabul edilmektedir ve eksikliğin yayılımı özellikle giderek daha fazla endişe verici hale gelmektedir. Gözlemsel çalışmalar göstermiştir ki; sanayileşmiş ülkeleri içeren dünyanın kuzey bölgelerinin birçoğunda özellikle coğrafi nedenlere bağlı olarak D vitamini yetersizliği yaygın olarak gözlenmektedir.²⁹⁻³¹ Ülkemizde ise D vitamini eksikliğin % 51,8, D vitamini yetersizliğinin ise % 20,7 oranında olduğu tespit edilmiştir.³²

25(OH)D₃ düzeyi 20 ng/mL'den düşük ise D vitamini eksikliği, 21-29 ng/mL arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/mL'den yüksek ise yeterli düzey ve 150 ng/mL'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak kabul edilmektedir (1 ng/mL = 2.5 nmol/L).³⁰

D Vitamini Eksikliği Nedenleri:

1. *Yetersiz Güneş Işığı Maruziyeti:* Azalmış deri sentezi, güneş koruyucu kullanımı, deri grefti uygulamaları, mevsim ve enlem değişiklikleri.
2. *Nutrisyonel Eksiklik:* Bebek, çocuk ve yaşlılarda sıklıkla görülen bu durum, hastalıklara bağlı gıda kısıtlamaları, barsaklardan emilim azalması ve yetersiz beslenme gibi nedenlerle ortaya çıkabilmektedir. 0-24 ay arası çocuklar, adolesanlar, doğurganlık çağındaki kadınlar, yaşlılar, gebe ve emzikli kadınlar D vitamini eksikliği açısından risk taşımaktadır.
3. *Emilimi Engelleyen Hastalıklar:* Bazı hastalıklar (çölyak hastalığı, crohn hastalığı ve kistik fibrozis..vs) barsaklarda, D vitamini emilimini engellerken, obezite tedavisinde uygulanan gastrik bypass ameliyatları sonrasında da görülebilir.
4. *İlaçlar:* İlaçlara bağlı artmış hepatik katabolizma etkili olmaktadır. Bunun yanında glukokortikoidler (metabolizmayı bozarak), fenitoin, fenobarbital (karaciğerde etkin forma dönüşümü engelleyerek), orlistat, kolestiramin (barsaklardan emilimi engelleyerek), karbamazepin, izoniazid, teofilin, rifampin, antiretroviral tedavi ajanları gibi pek çok ilaç D vitamini metabolizmasını etkileyebilmektedir.
5. *Karaciğer ve Böbrek Hastalıkları:* Karaciğer (KC) hastalığına bağlı bozuk hidroksilasyon, Evre 4-5 kronik böbrek yetmezliğine bağlı 1,25(OH)₂D₃ yetersiz üretim ve nefrotik sendromda görülen 1,25(OH)₂D₃ ve VDBP renal kayıpları dolayısıyla ortaya çıkabilmektedir.
6. *Metabolik Eksiklikler:* Herediter vitamin D dirençli rikets veya obezite gibi kalıtsal olan/olmayan birçok hastalık D vitamini eksikliğiyle birlikte gözlenmektedir.^{33,34}

Obezlerde Vitamin D Eksikliği Nedenleri:

- ✓ Sınırlı hareketliliğe ve sosyal uyuma bağlı olarak açık hava etkinliklerine daha az katılımı
- ✓ Güneş ışınları ile yeterince karşılaşmama, güneş kremi ve şapka kullanımı
- ✓ Zayıf bireylere göre daha kapalı kıyafetler giyme
- ✓ Temel diyet alışkanlıkları (balık, süt, yoğurt, peynir tüketiminin yetersizliği)
- ✓ Vitamin D den fakir, abur cubur gıdalarla beslenme
- ✓ Siyahi ve Asyalılarda laktoz intoleransına sekonder gelişen diyet farklılıkları
- ✓ Vitamin D yağda eriyen bir molekül olduğundan, obezlerde yağ dokuda tutularak biyoyararlanımı azalır. Bu nedenle vücutta yeterli miktarda olmasına rağmen serum düzeyi düşük ölçülebilir.
- ✓ Yüksek PTH dolayısıyla artan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeylerinin KC'de $25(\text{OH})\text{D}_3$ sentezini baskılaması
- ✓ Hepatik steatoza bağlı KC'de $25(\text{OH})\text{D}_3$ sentezinin azalması sayılabilir.^{35,36}

Düşük vitamin D düzeylerinin obeziteye yol açması daha güçlü bir bakış açıdır. Vitamin D ve obezite ilişkisini araştıran çalışmaların çoğu kesitseldir. Elde edilen verilerin standardizasyonu zordur. Bu nedenle araştırma sonuçları çelişmektedir. Yapılan çalışmalarda D vitamini düzeyi düşük erişkinlerde obezitenin daha sık ortaya çıktığı gösterilmiştir.^{20,37}

Yağ hücrelerine Ca geçişini arttırdığı durumlarda lipogenez uyarılırken lipolizin baskılandığı gösterilmiştir. Artan Ca, sentezde rol alan yağ asidi sentaz enzimini aktifleyerek lipogenez uyarırken, fosfodiesteraz enzimini inhibe ederek katekolaminlerin etkilediği lipolizi baskılar ve yağ dokuda trigliserid birikimine neden olur. Shi ve ark³⁸ çalışmasında; $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verilmesiyle genomik etki ve VDR aracılığıyla nongenomik etki ile doza bağımlı olarak yağ dokuya Ca geçişinin önemli derecede arttığı ve bu etki

aracılığıyla obezitede rol oynadığı vurgulanmıştır. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yağ dokuda, yağ asidi sentaz mRNA ekspresyonunu %40 artırırken uncoupling protein 2 (UCP₂) üretimini de durdurur. UCP₂ mitokondriyal proton akışı sağlayarak termogenezisi artırıcı rol oynadığından, bu inhibisyon obeziteyi artırıcı etki gösterir. Diyetle Ca artışı $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ serum düzeyini baskılamaktadır. Transgenik farelerde hücreye Ca akışının azalmasıyla, lipogenezin baskılandığı, lipolizin uyarıldığı ve UCP₂ ekspresyonuna bağlı yağ doku azalması gösterilmiştir.³⁹ Ca almındaki farklılıklarda toplumların beslenme alışkanlıkları önemli olmakla birlikte, ek olarak vitamin D alımı ve Ca'dan zengin diyet ile yağ kitlesinin azaldığı, en azından artmadığı da gösterilmiştir.⁴⁰

D vitamini, serum PTH düzeyinin önemli belirleyicisidir ve artmış PTH adipozitlerde 1-alfa hidroksilaz aktivitesini artırarak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezi ve hücreye Ca girişini artırırken yağlanma ve obeziteye neden olmaktadır. Ayrıca PTH kas hücrelerinde lipid oksidasyonunu da baskılayarak mekanizmaya katkı sağlamaktadır. Vitamin D eksikliğiyle birlikte adipozitede artış, dislipidemi ve insülin sekresyonunda azalma görülmesi eksikliğin obezitede potansiyel bir neden olduğunu düşündürmekle birlikte, vitamin D düzeyini artırarak obezitenin tamamen önüne geçebilmek iyimser bir düşünce gibi durmaktadır. Normal kilolu bireylerle kıyaslandığında, obezlerde PTH düzeylerinin daha düşük doz D vitamini ile baskılanabildiği önerilmektedir. Buna göre obez bireylerde Ca-PTH ilişkisinde farklı bir düzenlenme söz konusu olabilir. Yapılan çalışmalarda, D vitamini eksikliği olanlarda, eksikliği yerine koyan ve PTH baskılanmasını sağlayan dozlarda takviyenin faydalı olabileceği ortaya konmuştur. Diğer taraftan obezlerde yüksek doz D vitamini (15.000 IU/gün) doku renin-anjiyotensin-aldosteron sistem aktivitesini azalttığı da gösterilmiştir.⁴¹ İn vitro hayvan çalışmalarında adipozitlerde $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin HDL sentezi için gerekli Apo-A₁ sentez ve gen ekspresyonunu düzenlediği

de gösterilmiştir. D vitamini desteğinin HDLc üzerindeki faydaları, artmış 1,25(OH)₂D₃ ün 24,25(OH)₂D ye dönüşümü ve bunun Apo-A₁ üzerindeki etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.⁴²

Bazı çalışmalarda BKİ>30 kg/m² olarak tanımlanan obezitenin düşük vitamin D düzeyiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. BKİ'de her birim artışın yaş, cins, laboratuvar ve ölçüm ayı gibi gerekli düzeltmelerinden sonra 25(OH)D₃'de %1,15 azalmaya yol açtığı önerilmektedir. Obez çocuklarda yapılan bir çalışmada serum 25(OH)D₃ düzeyinde yaklaşık 5 ng/ml bir artışın BKİ'de 1 kg/m² azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁴³ Diğer taraftan BKİ'de 1 kg/m² düşüşün 25(OH)D₃ düzeylerinde azalmaya eşlik ettiğini bildiren yayınlar da mevcuttur.⁴⁴

Obezlerde serum 25(OH)D₃ düzeyinin normal ağırlıklı olanlara göre daha düşük olduğu ve geniş yağ dokusunun vitamin D sekestrasyonu için daha geniş bir havuz oluşturduğu ve böylece obezlerde serum 25(OH)D₃ düzeyinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan düşük vitamin D düzeyinin kaslarda oluşturacağı hipotonisite ve bunun yaratacağı hipoaktif yaşam da obezite gelişimine katkıda bulunan bir diğer faktör olabilir.⁴⁵ Wortsman ve ark⁴⁶ tarafından yapılan bir çalışmada, BKİ <25 ve >30 olan sağlıklı bireyler bir fototerapi ünitesinde bütün vücut UVR ışınlamasına tabi tutulmuş, bazal ve 24 saat sonra 25(OH)D₃ düzeyleri ölçülmüş ve gruplar arasında bazal 25(OH)D₃ düzeylerinde fark bulunamamıştır. UV-R sonrası her iki grupta 25(OH)D₃ düzeylerinin artmış olduğu belirlenirken; vücut yüzeyi daha fazla olan obezlerin 25(OH)D₃ düzeylerinin, kontrollere göre %57 daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ek olarak obez ve kontrollerin derilerinde 7-dehidrokolekalsiferol düzeyleri benzer bulunmuştur. Bu veriler artan şişmanlıkla UV-B sentezi sonrası yağ dokuda daha fazla vitaminin depolanmasına bağlı olarak, D vitamini düzeylerinin düşebileceği şeklinde tartışılmıştır. Bu bulgular, vücut yağındaki ayrı tutulmanın D vitamini için bir kış rezervuarı olabileceğini önermektedir.

Mevcut hipotez ancak yağ dokudaki D vitamini miktarının ölçülmesiyle doğrulanabilir. Yine Aypak ve ark⁴⁷ tarafından Türk toplumu üzerinde yapılan bir çalışmada; Ca, P ve alkalin fosfat düzeylerinde bir farklılık gözlenmezken, 25(OH)D₃ düzeylerinin morbid obezlerde, aşırı kilolu bireylere kıyasla anlamlı düzeyde (p<0.000) düşük olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda Vitamin D-BKİ ilişkisi dışında vücut büyüklüğü de göz önünde bulundurulması önerilirken, vücut büyüklüğüne göre uyarlandığında obezler ve normal kilolu bireyler arasında fark olmadığını gösterilmiştir. "Tek ölçü tüm bedenlere uymaz".⁴⁵ Randomize kontrollü bir başka çalışmada 400 IU/gün-4800 IU/gün aralığında uygulanan D vitamini desteğine yanıtın vücut büyüklüğüne bağlı değişimi araştırılmıştır. D vitamini desteği sonrasında tüm obez kadınlarda yeterli seviyeye ulaşılmış ancak BKİ<25 olanlarda seviyelerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.⁴⁸

Bazı çalışmalarda vitamin D ve Ca desteğinin kilo kaybı üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını ancak yağ kitle ve dağılımını etkileyebileceğini gösterilmiştir. Bu etki 25(OH)D₃ 20 ng/ml'den düşükken gözlenirken, bu sınırın üzerinde gözlenmemiştir. Buna göre vitamin depoları dolu ise takviyenin ek etki sağlamadığı önerilmektedir. Kış aylarından sonra şişmanlık ile 25(OH)D₃ düşüşü arasındaki zıt ilişki, hem yaşlı erkek, hem de postmenopozal kadınlardan alınan geçmişteki bulgularla uyuşan plasebo grubunda da gözlenmiştir. Yaşlı bireylerde, bazal D vitamini vücut boyutu ve şişmanlıkla zıt ilişkilendirilirken, şişmanlık kış aylarından sonra D vitamini sentezi yokluğunda, doğal mevsimsel D vitamini düşüşünü hafifletmektedir.⁴⁹

Antropometrik vücut ölçüleri ve şişmanlığın, bazal D vitamini miktarı, kış aylarından sonra D vitamini miktarındaki düşüş ve ilave sonrası D vitamini miktarındaki değişimle sadece yaşlı bireylerde bağdaştırılması, D vitamini metabolizmasındaki yaşa bağlı farkların temel göstergesidir. Tersine, genç yetişkinlerde (20-

40 yaş) vücut boyutu, şişmanlık, bazal D vitamini ya da D vitamininin ilaveye yanıtı arasında böyle bir ilişki görülmemiştir.⁵⁰

D vitamini eksikliğinin tek başına rikets, osteomalazi gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı uzun yıllardır bilinmekle birlikte, DM, metabolik sendrom, multipl skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, epilepsi, polikistik over ve kanser gelişimi gibi hastalıklarda da yardımcı bir faktör olarak rol alabileceği değerlendirilmektedir.^{51,52}

10.000'den fazla denek katılımıyla gerçekleştirilen bir çalışmada; çocuklarda 2000 IU/gün vitamin D destek tedavisinin Tip-1 DM riskini azalttığı belirtilmektedir. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada, Tip-1 DM önlenmesinde vitamin D takviyesinin etkin olduğu gösterilmiştir. Hayatlarının ilk yılında 2000 IU vitamin D verilen çocuklarda Tip-1 DM oluşma riskinin belirgin olarak azaldığı, uzun yıllar gerçekleştirilen takipler sonucu anlaşılmıştır.⁵³ Tip I DM gelişiminin düşük vitamin D alımıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Vitamin D'nin immünsupresan bir molekül olduğu bilindiğinden, bu sonuç sürpriz olarak kabul edilmemektedir.⁵⁴

Nurses Health Study'de DM hikayesi olmayan 84.000 kadında yaş, BKİ ve diyet dışı değişkenlere göre düzeltme sağlandığında, 20 yıl içinde 4843 DM oluşumu göreceli riskinin 400 IU vitamin D alanlarda, 800 IU alanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.⁵⁵ Ayrıca 1200 mg Ca ile birlikte günlük 800 IU vitamin D alanlarda Tip-2 DM gelişme riski; günlük 600 IU Ca ve 400 IU vitamin D alan bireylere göre %33 daha düşük bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde postprandiyal glukoz ve insülin sensitivitesi, yüksek vitamin D düzeyleri ile birlikteyken, düşük vitamin düzeyleri, insülin direnci ve β hücre disfonksiyonu ile ilişkili bulunmaktadır.⁵⁶ Yapılan çalışmalarda Tip-2 DM'lu kadınlarda, 1332 IU/gün düzenli vitamin D replasmanı ile insülin sensitivitesinde anlamlı düzeyde iyileşme kaydedildiği belirlenmiştir.⁵⁷

25(OH)D₃ düzeyleri ile insülin

duyarlılığı arasında pozitif ilişki, insülin duyarlılığı ile PTH düzeyleri arasında negatif ilişki gösterilmiştir ve insülin direnciyle ilişkili D vitamini eksikliğinin hafif derecede hiperparatiroidiye yol açtığı da görülmüştür. Vitamin D yetmezliği veya eksikliği ile epidemiyolojik veriler gözden geçirildiğinde, insandaki metabolik sendromun bütün elementleri ile 25(OH)D₃ düzeyleri arasında ters bir ilişki olduğu anlaşılmıştır.⁵⁸ NHANNES çalışmasına ait veriler değerlendirildiğinde zamanla içerisinde hipertansiyon, obezite, insülin rezistansı ve glukoz intoleransındaki artma ile birlikte, 25(OH)D₃ düzeylerinde meydana gelen düşme ve aynı zaman dilimi içinde gözlenen BKİ artışı çok ilginçtir. Araştırmalar intestinal by-pass geçiren morbid obezlerde 25(OH)D₃ düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir, bu da yağ dokusunun normal 25(OH)D₃ düzeylerinde süratle kaybedildiğini göstermektedir.⁵⁹

Eksikliğin yüksek insidansı yanında, kilo kaybı için başvuru olan obezite cerrahisi gibi uygulamaların da yaygınlaşmasıyla görülme sıklığında daha fazla artış gözlenmektedir. Ayrıca cerrahi uygulamalar takiben malabsorbsiyona yol açabilmekte, dolayısıyla preoperatif ve postoperatif destek tedavisi önem taşımaktadır. Bununla beraber destek açısından farklı görüşler bulunmaktadır.⁶⁰ Institute of Medicine Guideline⁶¹; obez ve obez olmayan bireylerde replasman açısından fark yoktur şeklinde bir değerlendirmede bulunurken; Endocrin Society⁶²; obez bireylerde 2-3 kat fazla replasman yapılmasını önermektedir.

Oral vitamin D₃ alımı aynı miktardaki D₂'ye göre %70 daha yüksek 25(OH)D₃ serum düzeyleri yaratır. Vitamin D düzeyini değerlendirmek için, 1,25(OH)₂D₃ yerine yarı ömrü 2-3 hafta olan, hem vitamin D alımını hem de endojen yapımı gösteren 25(OH)D₃ düzeyine bakılmalıdır. Biyolojik aktif form 1,25(OH)₂D₃ ideal ölçüm için uygun değildir. Çünkü yarı ömrü 4-6 saat kadar kısa ve dolaşımdaki düzeyleri 25(OH)D₃'den 1000 kat daha düşüktür. Dolaşımdaki 25(OH)D₃ düzeyleri, serum 24,25(OH)₂D₃ düzeylerinin 10 misli daha yüksektir. Artmış serum

1,25(OH)₂D₃ düzeyleri, 25OHD'nin inaktif 24,25-(OH)₂D₃'e dönüşümünü uyarır ve D vitamini depoları boşaltılmasına neden olmaktadır.⁶³

Günümüzde UV dedektör kullanılarak Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC), VDBP kullanılarak elektrokemilüminesans (ECL) ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometri/Kütle Spektrometri (LC-MS/MS) yöntemleri ile 25(OH)D₃ ve 1,25(OH)₂D₃ düzeylerinin ölçümü gerçekleştirilebilmektedir. 25(OH)D₃ düzeylerinin belirlenmesinde, çalışma süreleri, ölçüm aralıkları, değerlendirilen metabolitlerdeki farklılıklara rağmen her üç yöntem de, HPLC ve ECL daha fazla olmak üzere, rutin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.⁶⁴ HPLC ve LC/MS-MS yöntemleri; yoğun laboratuvar uygulaması ve ileri teknoloji ve uzmanlık gerektirmesi yanında işlem süreleri de immünoassaylere kıyasla daha uzundur. Kromatografik metodların aksine immünoassay yöntemler daha hızlı analiz süresine sahip olduklarından ve uzmanlık gerektirmediklerinden tercih edilmektedirler.⁶⁵ Diğer taraftan 25(OH)D₃ sonuçları açısından, LC-MS/MS ve immünoassay metodlarını karşılaştıran çalışmalarda, immünoassaylerin (+) bias gösterdiği belirlenmiştir. Bu da vitamin D eksikliğinde düşük sonuçlara neden olarak aşırı tedaviye yol açabilmektedir.⁶⁶

25(OH)D₃ ölçümünde yöntemler arası farklılıklar, kalibratörlerde standardizasyon yokluğu, tek bir kesim noktasının belirlenmesinde zorluk yaratmakta ve laboratuvarlar arası farklılıklara yol açmaktadır. Ayrıca 25(OH)D₃'nin analitik, biyolojik ve mevsimsel değişkenliği de ölçüm belirsizliğine katkıda bulunan diğer faktörlerdir. Obezlerde 1,25(OH)₂D₃ düzeylerinde elde edilen çelişkili sonuçlar, kullanılan tekniklerdeki çeşitliliğe bağlıdır.⁶⁷ Rutin uygulamada tedavi sonrası 25(OH)D₃ serum konsantrasyonunun 3-4 ay sonrasında ölçülmesi önerilmektedir. Takiben 6 ayda bir ölçümle doz optimizasyonu yapılmalıdır.⁶⁸

Vitamin D ile kronik hastalıklar ve özellikle obezite arasında, D vitamini

eksikliğinin mi obeziteye neden olduğu, yoksa obezite gelişim süreciyle beraber vitamin metabolizmasındaki farklılıkların mı eksikliğe yol açtığı konusunda sebep-sonuç ilişkisini araştıran ileriye dönük randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunmakla birlikte, ölçüm metodları arasındaki farklılıkların ortadan kaldırılması, yapılacak çalışmalarda referans metodların kullanılması ve standardizasyonun sağlanması gibi ayrıntılar konunun daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. <http://www.who.int/topics/obesity/en/> Erişim Tarihi: 03.03.2016.
2. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004;89(6):2548-2556.
3. Drolet R, Richard C, Sniderman AD, Mailloux J, Fortier M, Huot C, Rhe'aume C, Tchernof A. Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women. *Int J Obesity* 2008;32:283-291.
4. O'Riordan JL, Bijvoet OL. Rickets before the discovery of vitamin D. *Bonekey Rep* 2014;8;3:478.
5. DeLuca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Bonekey Rep* 2014;8(3):479.
6. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(suppl):1689-1696.
7. Alptekin Demirkol N. Vitaminler. In: Gürdöl F, Ademoğlu E Eds: *Biyokimya*, 1st Ed., İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2006:583-604.
8. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM. 1 α -hydroxylase and the action of vitamin D. *J Molecular Endocrinol* 2000; 25:141-8.
9. Dominiczac MH, Broom I. Micronutrients and Minerals. In: Baynes JW, Dominiczac MH Eds: *Medical Biochemistry*, 2nd Ed., Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005:127-42.

10. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004;79:362-371.
11. Arnaud R. The direct role of vitamin D on bone homeostasis. *Arch Biochem Biophys* 2008;473(2):225-230.
12. Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW, Thompson PD, Hsieh JC, Remus LS, Selznick SH, Whitfield GK. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinology* 1997;154:557-573.
13. Santoro D, Caccamo D, Lucisano S, Buemi M, Sebekova K, Teta D, Nicola L. Interplay of Vitamin D, erythropoiesis, and the renin-angiotensin system. *Biomed Res Int* 2015;145828.
14. Carmeliet G, Dermauw V, Bouillon R. Vitamin D signaling in calcium and bone homeostasis: a delicate balance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol* 2015;29: 621-631.
15. Bouillon R, Van Cromphaut S, Carmeliet G. Intestinal calcium absorption: molecular vitamin D mediated mechanisms. *J Cell Biochem* 2003;88(2):332-339.
16. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80(suppl):1678-1688S.
17. Wright ORL, Hickman IJ. The effect of 25-hydroxyvitamin D on insulin sensitivity in obesity: is it mediated via adiponectin? *Can J Physiol Pharmacol* 2013;91:496-501.
18. Peterson CA, Tosh AK. Vitamin D insufficiency and insulin resistance in obese adolescents. *Ther Adv Endocrinol Met* 2014;5(6):166-189.
19. Alvarez JA, Ashraf A. Role of Vitamin D in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis. *Int J Endocrinol* 2010;351-385.
20. Cândido FG, Bressan J. Vitamin D: link between osteoporosis, obesity, and diabetes? *Int J Mol Sci* 2014;15(4):6569-6591.
21. Liu E., Meigs JB, Pittas AG, McKeown NM, Economos CD, Booth SL, Jacques PF. Plasma 25-hydroxyvitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *J Nutr* 2009;139(2):329-334.
22. Vaidya A, Forman JP, Underwood PC, Hopkins PN, Williams GH, Pojoga LH, Williams JS. The influence of body mass index and renin-angiotensin-aldosterone system activity on the relationship between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin in caucasian men. *Eur J Endocrinol* 2011;164:995-1002.
23. Koszowska AU, Nowak J, Dittfeld A, Brończyk-Puzoń A, Kulpok A, Zubelewicz-Szkodzińska B. Obesity, adipose tissue function and the role of vitamin D. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(2):260-264.
24. Samuel S, Sitrin MD. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutrition Rev* 2008;66(Suppl. 2):116-124.
25. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocrine Rev* 2004;26(5):662-687.
26. Sözen T. D hormonu: güncel gelişmeler. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2011;42:14-27.
27. Barger-Lux MJ, Heaney RP, Lanspa SJ, Healy JC, DeLuca HF. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:406-411.
28. Heaney RP, Barger-lux MJ, Dowell S, Chen TC, Holick MF. Calcium absorptive effects of vitamin D and its major metabolites. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(12):4111-4116.
29. Pearce SHS, Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ* 2010;340:5664.
30. Davies JH, Shaw NJ. Preventable but no strategy: vitamin D deficiency in the UK. *Arch Dis Child* 2011;96(7):614-615.
31. Fidan F, Alkan BM, Tosun A. Çağın Pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği. *Türk Osteoporoz Dergisi* 2014;20:71-74.
32. Uçar F, Taşlıpınar MY, Soydaş AÖ, Özcan N. Ankara etlik ihtisas eğitim ve araştırma hastanesine başvuran hastalarda 25-OH

- Vitamin D düzeyleri. *Eur J Basic Med Sci* 2012;2(1):12-15.
33. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008;87(suppl):1080-1086S.
 34. Çalışkan A, Atak N. Çocukluk çağı obezitesine genel bir bakış. *TAF Preventive Medicine Bulletin* 2013;12(5):571-578.
 35. Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, Arcaro G. "Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease" *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17(7):517-524.
 36. Deepu D, Hardigan P, Bray N, Penzell D, Savu C. The incidence of vitamin D deficiency in the obese: a retrospective chart review. *J Comm Hosp Int Med Pers* 2015;5:26069.
 37. Mai XM, Chen Y, Camargo CA Jr, Langhammer A. Cross-sectional and prospective cohort study of serum 25-hydroxyvitamin D level and obesity in adults: the HUNT study. *Am J Epidemiol* 2012;15;175(10):1029-1036.
 38. Shi H, Norman AW, Okamura WH, Sen A, Zemel MB. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates human adipocyte metabolism via nongenomic action. *FASEB J* 2001;15(14):2751-2753.
 39. Soares MJ, Murhadi LL, Kurpad AV, Chan She Ping-Delfos WL, Piers LS. Mechanistic roles for calcium and vitamin D in the regulation of body weight. *Obes Rev* 2012;13:592-605.
 40. Kamycheva E, Joakimsen RM, Jorde R. Intakes of calcium and vitamin D predict body mass index in the population of northern Norway. *J Nutr* 2003;133(1):102-106.
 41. Aydın M. Vitamin D ve obezite. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2012;8(2):88-90.
 42. Wehmeier KR, Alamir AR, Sultan S, Haas MJ, Wong NC, Mooradian AD. 24,25-dihydroxycholecalciferol but not 25-hydroxycholecalciferol suppresses apolipoprotein A-I gene expression. *Life Sci* 2011;88(1-2):110-116.
 43. Vimalaswaran KS, Berry DJ. Causal relationship between obesity and vitamin D Status: Bi-directional mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *Plos Med* 2013, 10(2), 1-11.
 44. McGill AT, Stewart JM, Lithander FE, Strik CM, Poppitt SD. Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J* 2008;7:4.
 45. Cipriani C, Pepe J, Piemonte S, Colangelo L, Cilli M, Minisola S. Vitamin D and its relationship with obesity and muscle. *Int J. Endocrinol* 2014; 841248:1-11.
 46. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of Vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72(3):690-693.
 47. Aypak C, Yıkılkan H, Dicle M, Önder Ö, Görpelioglu S. Erişkin obez hastalarda D vitamini düzeyinin vücut kitle indeksi ile ilişkisi. *Haseki Tıp Bülteni* 2013; 954: 95-98.
 48. Gallagher JC, Yalamanchili V, Smith LM. The effect of Vitamin D supplementation on serum 25(OH)D in thin and obese women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:195-200.
 49. Wamberg L, Kampmann U, Stødkilde-Jørgensen H, Rejnmark L, Pedersen SB, Richelsen B. Effects of vitamin D supplementation on body fat accumulation, inflammation, and metabolic risk factors in obese adults with low vitamin D levels - results from a randomized trial. *Eur J Intern Med* 2013;24(7):644-649.
 50. Forsythe LK, Livingstone MBE, Barnes MS, Horigan G, McSorley EM, Bonham MP, Magee PJ, Hill TR, Lucey AJ, Cashman KD, Kiely M, Strain JJ, Wallace JM. Effect of adiposity on vitamin D status and the 25-hydroxycholecalciferol response to supplementation in healthy young and older Irish adults. *British J Nutr* 2012;107:126-134.
 51. Özkan B, Döneray H. D Vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2011;54:99-119.

52. Yavuz D, Mete T, Yavuz R, Altunoğlu A. D Vitamini, kalsiyum ve mineral metabolizması, D vitaminin iskelet dışı etkileri ve kronik böbrek yetmezliğinde nutrisyonel D vitamini kullanımı. *Ankara Med J* 2014;14(4):162-171.
53. Mohr SB, Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Ricordi C. Is there a role of vitamin D Deficiency in type 1 diabetes of children? *Am J Prev Med* 2010;39(2):189-190.
54. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358(9292):1500-1503.
55. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006;29(3):650-656.
56. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79:820-825.
57. Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, Dakovska L, Kovacheva R. the effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract* 2003;57(4):258-261.
58. Prasad P, Kochhar A. Interplay of vitamin D and metabolic syndrome: a review. *Diabetes Metab Syndr* 2015;6:S1871.
59. Yetley EA. Assessing the vitamin D status of the US population. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:558-564.
60. Jorde R, Sneve M, Torjesen P, Figenschau Y. No improvement in cardiovascular risk factors in overweight and obese subjects after supplementation with vitamin D3 for 1 Year. *J Intern Med* 2010;267(5):462-472.
61. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA. the 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the institute of medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(1):53-58.
62. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH. Weaver CM; Endocrine Society. evaluation, treatment, and prevention of vitamin d deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911-1930.
63. Öngen B, Kabaroglu C, Parıldar Z. D vitamininin biyokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2008;6(1):23-31.
64. Wootton AM. Improving the measurement of 25-hydroxyvitamin D. *Clin Biochem Rev* 2005;26,33-36.
65. Arneson WL, Arneson DL. Current methods for routine clinical laboratory testing of vitamin D levels. *Lab Medicine* 2013;44(1):38-42.
66. Holmes EW, Garbincius J, McKenna KM. Analytical variability among methods for the measurement of 25-hydroxyvitamin D: still adding to the noise. *Am J Clin Pathol* 2013;140(4):550-560.
67. Yücel N, Kara NU, Madenci ÖÇ, Dağdelen L, Akbaba D, Kaptanağası AO. Evaluation of vitamin D assays in relation to the measurement range and the statistical method. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2014;34(4):406-416.
68. Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, Carter G, Chlebna-Sokół D, Czech-Kowalska J, Dębski R, Decsi T, Dobrzańska A, Franek E, Głuszko P, Grant WB, Holick MF, Yankovskaya L, Konstantynowicz J, Książyk JB, Książopolska-Orłowska K, Lewiński A, Litwin M, Lohner S, Lorenc RS, Lukaszkiwicz J, Marciniowska-Suchowierska E, Milewicz A, Misiorowski W, Nowicki M, Povoroznyuk V, Rozentryt P, Rudenka E, Shoenfeld Y, Socha P, Solnica B, Szalecki M, Tałałaj M, Varbiro S, Żmijewski MA. *P Endokrynol Pol* 2013;64(4):319-327.