

**T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇÖLYAK HASTALARINDA VİTAMİN D
RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİ**

Dr. Esra ARAÇ

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2015

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇÖLYAK HASTALARINDA VİTAMİN D
RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Esra ARAÇ

UZMANLIK TEZİ

Danışman

Doç. Dr. Hasan Ali YÜKSEKKAYA

KONYA, 2015

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi ve hazırlanmasının her aşamasında desteğini gördüğüm ve her türlü yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Hasan Ali Yüksekaya'ya;

Destek ve yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Meltem Gümüş'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, klinik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım ve uzman hekimlerime;

Birlikte çalıştığım süre içinde yardım ve dostluklarını gördüğüm asistan arkadaşlarıma, hemşire, klinik personeli ve intern doktor arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan ve sevgilerini her zaman hissettiğim anne ve babama,

Son olarak her zaman yanımda olan, beni yalnız bırakmayan, manevi desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim sevgili eşim ve biricik oğluma;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Esra ARAÇ

ÖZET

ÇÖLYAK HASTALARINDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Esra ARAÇ, Uzmanlık Tezi, KONYA 2015

Amaç: Çölyak hastalığı genetik yatkınlığı olan bireylerde gluten alımına bağlı ince bağırsak mukozasında inflamasyon ile karakterize sıklıkla malabsorbsiyon ile seyreden otoimmün bir hastalıktır. Vitamin D reseptör geni allellerinin otoimmün hastalıklar, birçok kanser türleri, nörolojik hastalıklarla ilişkili olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Çalışmamızda pediatrik ÇH'nda VDR BsmI ve FokI polimorfizmlerinin etkisini ve allel varyantlarının VD düzeyleri ve KMY ile olan ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışmamıza ÇH nedeniyle takipli 105 hasta ve kontrol grubu olarak 100 sağlıklı çocuk alındı. Her iki gruptan VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri genotipleri çalışıldı ve gruplar arası genotip dağılımları karşılaştırıldı. Hasta grubunda tanı anındaVD düzeyi ve KMY ölçümü yapıldı. Bu parametreler Marsh evrelerine ve BsmI/FokI polimorfizmi genotiplerine göre analiz edildi. İstatistiksel analizde SPSS 18 programı kullanıldı.

Bulgular: Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özellikleri benzerdi. Hasta ve kontrol gruplarında VDR BsmI ve FokI polimorfizmi genotipleri dağılımları benzerdi ve aralarında anlamlı fark bulunmadı. Hasta grubunun tanı anında kemik mineral yoğunluğu Z skoru ortalaması $-1,5 \pm 0,88$ SD idi ve %61'inde osteopenik ve osteoporotik düzeylerdeydi. Vitamin D düzeyi ortalaması $19,5 \pm 12,4$ ng/ml idi ve %24'ünde normal değerden anlamlı düşüktü. Vitamin D düzeyleri ve KMY Z skoru; Marsh evre 3 ve evre 4 hastalarda ve VDR BsmI/FokI polimorfizmi genotiplerinde benzerdi ve aralarında anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: Hasta grubunda KMY Z skoru ortalaması düşüktür ve hastaların yarısından fazlasında düşük düzeylerdeydir. VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri genotip dağılımları çölyak hastalarında ve sağlıklı çocuklarda benzerdir ve aralarında fark bulunmamaktadır.

Anahtar kelimeler: Çölyak hastalığı, vitamin D, kemik mineral yoğunluğu, vitamin D reseptör gen polimorfizmi

ABSTRACT

POLYMORPHISMS OF VITAMIN D RECEPTOR GENE IN THE CELIAC DISEASE IN CHILDREN

Dr. Esra ARAÇ, Doctoral Thesis, Konya, 2015

Aim: Coeliac disease patients with genetic tendency is an autoimmune disease that is characterized with inflammation on small intestine mucosa depending on consumption of gluten, and mostly leading malabsorption. Vitamin D receptor gene alleles is associated with cardiovascular diseases, autoimmune diseases, many forms of cancer, neurological diseases display by many studies. We aimed to determine the effect VDR BsmI and FokI polymorphisms in pediatric celiac patients and relationship between vitamin D, bone mineral density and allelic variant of these.

Method: 105 patients who followed with coeliac disease and 100 healthy children control group were included in our study. VDR BsmI and FokI polymorphism genotypes were researched and distribution of genotypes were compared in both group. Vitamin D level and BMD were studied in the patient group at the time of diagnosis. These measured parameters were analyzed with Marsh stages and BsmI /FokI polymorphism genotypes. Statistical analyze were made by using SPSS 18 programme.

Results: Age and sex property of patient and control group were similar. Distribution of VDR BsmI and FokI polymorphism genotypes were similar and no find meaningful difference in two group. Mean BMD Z score were -1.5 ± 0.88 SD and %61 of patient group have lower level of BMD at the time of diagnosis. Mean of VD level were 19.5 ± 12.4 ng/ml in patient group and %24 of patient group have lower level of VD. VD level and score of BMD in patient group with stage 3,4 Marsh and also VDR BsmI /FokI polymorphism genotypes were similar and no find meaningful difference.

Conclusion: Mean of Z score of BMD were below normal level and more than half of patient group in. VDR BsmI and FokI polymorphism genotypes disturbance were same in both coeliac patient and healthy children and no find difference.

Key words: Coeliac Disease, vitamin D, bone mineral density, vitamin D receptor polymorphism

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Çölyak Hastalığı.....	2
2.1.1. Tanım.....	2
2.1.2. Tarihçe.....	2
2.1.3. Epidemiyoloji.....	3
2.1.4. Çölyak Hastalığında Etyoloji.....	5
2.1.5. Çölyak Hastalığında Genetik.....	7
2.1.6. Patogenez.....	8
2.1.7. “GLUTEN ICEBERG” – Yeni Yaklaşımlar.....	9
2.1.8. Klinik.....	9
2.1.9. Tanı.....	15
2.1.10. Çölyak Hastalığında Ayırıcı Tanı.....	21
2.1.11. Tedavi.....	22
2.1.12. Çölyak Hastalığında Komplikasyonlar.....	22
2.1.13. Çölyak Hastalığında Seyir ve Prognoz.....	23
2.2 Vitamin D.....	23
2.2.1 Vitamin D Metabolizması.....	24
2.2.2 Vitamin D Eksikliği.....	25
2.2.3 Vitamin D Reseptörü (VDR).....	26
2.2.4. Vitaminin D’ nin İmmun Düzenleyici Etkisi.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Hasta Seçimi.....	32
3.2 Kullanılan Yöntemler.....	33
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	51
6. KAYNAKLAR.....	57

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: Çölyak hastalığında dünyada ve Türkiye’de yapılmış epidemiyolojik çalışmalar...4	
Tablo 2: Çölyak hastalığında gastrointestinal bulgular.....10	10
Tablo 3: Çölyak hastalığı tanısında serolojik testlerin etkinliği (Farrell RJ ve ark 2001).....16	16
Tablo 4: Çölyak hastalığı tanısında kullanılan puanlama sistemi19	19
Tablo 5: İmmün hücrelerde kalsitriolün etkileri.....30	30
Tablo-6: Hasta ve kontrol grupları demografik özellikleri karşılaştırılması.....37	37
Tablo-7: Çalışma grubunun genel özellikleri.....40	40
Tablo-8: Hasta ve kontrol grupları BsmI polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması.....43	43
Tablo-9: Hasta ve kontrol grupları FokI polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması.....44	44
Tablo-10: Marsh Evre 3 ve 4 BsmI polimorfizmi genotip sayıları49	49
Tablo-11: Marsh Evre 3 ve 4 FokI polimorfizmi genotip sayıları.....49	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil-1: Vitamin D metabolizması ve etkileri.....	24
Şekil-2: VDR BsmI polimorfizminde tek nükleotit değişimi	26
Şekil-3: Vitamin D reseptör genindeki polimorfizm bölgeleri.....	27
Şekil-4: Tanı yaşına göre hasta sayıları	35
Şekil-5: Tanı yaş gruplarına göre hasta sayıları	36
Şekil-6: Cinsiyete göre hasta sayıları.....	36
Şekil-7: Marsh evresine göre hasta sayıları.....	36
Şekil-8: Z skoru değerlerine göre hasta sayıları.....	38
Şekil-9: Vitamin D düzeylerine göre hasta sayıları.....	39
Şekil-10: Marsh Evreleri ve Z skorlarına göre hasta sayıları.....	41
Şekil-11: Marsh evreleri ve vitamin D düzeylerine göre hasta sayıları.....	42
Şekil-12: BsmI polimorfizmi genotiplerinde vitamin D düzeyleri.....	45
Şekil-13: FokI polimorfizmi genotiplerinde vitamin D düzeyleri.....	46
Şekil-14: BsmI polimorfizmi genotiplerinde kemik mineral yoğunluğu ölçümü Z skoru değerleri	47
Şekil-15: FokI polimorfizmi genotiplerinde kemik mineral yoğunluğu ölçümü Z skoru değerleri.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

ÇH	: Çölyak Hastalığı
GİS	: Gastrointestinal Sistem
DM	: Diabetis mellitus
ESPGHAN	: European Society of Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
İEL	: İnter Epiteyal Lenfosit
VD	: Vitamin D
VDR	: Vitamin D Reseptörü
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleks
tTG	: Transglutaminaz
Anti-tTG	: Anti-transglutaminaz
AGA	: Anti gladin
EMA	: Anti endomisyal
dTG	: Doku Transglutaminaz
Anti dTG	: Anti Doku Transglutaminazı (Anti dTG)
ARA	: Anti retikülin antikor
a-DGP	: Antideamide gliadin peptid antikor
ELİSA	: Enzyme-Linked İmmünoSorbent Assay
POCT	: Point of care testing
NIH	: National Institute of Health
GSE	: Gluten sensitive enteropathy
25(OH)D	: 25-hidroksi vitamin D

1,25 (OH)₂D	: Kalsitriol
24,25(OH)₂D	: Kalsitroik asit
PTH	: Parat hormon
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
RXR	: Retinoid X Reseptörü
VDRE	: Vitamin D responsive elements
SNP	: Tek nükleotit polimorfizmi
mRNA	: Mesajcı ribo nükleik asit
LD	: Bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium)
3' UTR	: 3' untranslated region
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
C/EBPβ (CCAAT)	: Enhancerbinding protein-beta
TLR	: Toll-like reseptör
LPS	: Lipopolisakkarit
CAMP	: Katelisidin antimikrobiyal peptid
AMP	: Antimikrobiyal peptid
PAMPs	: Patojen ilişkili moleküler paternler
KMY/BMD	: Kemik mineral yoğunluğu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çölyak hastalığı (ÇH), genetik yatkınlığı olan kişilerde gluten içeren yiyeceklerin yenmesiyle ortaya çıkan otoimmün bir enteropatidir. Hastalarda diare, karın ağrısı ve kilo kaybı belirgin bulgulardır. Hastalık birçok sistemi etkileyebilir. İzole büyüme geriliği, puberte gecikmesi, raşitizm, osteoporoz, alopesi, aminotransferaz yüksekliği, hepatosteatoz atipik formlardır. Otoimmün mekanizma ile oluşan pek çok hastalıkla birlikte bulunabileceği gibi tip 1 diabetes mellitus ile birlikteliği de siktir. Tip 1 DM li hastaların %5–10 unda çölyak hastalığı saptanmaktadır. Özellikle DQ2 ve DQ8'i kodlayan spesifik HLA allellerinin varlığı tanıda yardımcıdır. Vitamin D reseptor geni allellerinin kardiyovasküler hastalıklar, obesite, insülin rezistansı ve tip-2 diabetes mellitus, osteoporoz, otoimmün tiroiditler ve diğer otoimmün hastalıklar, birçok kanser türleri, Parkinson ve Alzheimer gibi nörolojik hastalıklarla ilişkisi yoğun olarak araştırılmaktadır. Genetik polimorfizmlerin araştırılmasına karşı gittikçe artan bir ilgi mevcuttur. Eğer genetik polimorfizmler hastalığın gelişmesinde ve prognozunda etkili ise, bu durumda polimorfizmlerin popülasyonda tanımlanması; teşhis, tedavi ve hastalıktan korunma anlamında yeni stratejilerin oluşturulabilmesine yardımcı olacaktır.

Çölyak hastalığında genetiğin rolü ancak genetik yatkınlık olarak tanımlanabilmiştir. Dolayısıyla HLA alleleri dışında genetik araştırmalar yapılması gerekli gibi görünmektedir. Bu otoimmün hastalıkta vitamin D'nin rolü olup olmadığı önemli bir araştırma konusu olarak durmaktadır. Biz de çalışmamızda çölyak hastalığı ile VDR gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çölyak Hastalığı

2.1.1. Tanım

Gluten duyarlı enteropati, çölyak sprue olarak da bilinen çölyak hastalığı genetik olarak duyarlı bireylerde gluten içeren gıdaların alımının tetiklediği otoimmün kronik bir enteropatidir. Gluten isimli proteine karşı oluşan immün yanıt sonucunda proksimal ince bağırsağın tutulumu ile karakterize malabsorbsiyon tablosu gelişir. ÇH etkenin uzaklaştırılması ile remisyona giren tek otoimmün hastalıktır.

2.1.2. Tarihçe

Yüzyıllar öncesinde Neolitik dönemde gıda antijenleri ve gıda intoleransı keşfedilmiş ve ilk gıda diyetleri uygulanmıştır. Bundan 8000 yıl sonra Yunanlı hekim Areteaus çölyak hastalığını tanımlamış ve isimlendirmiştir (Guandalini S.2007). 19. Yüzyılın başında Dr. Mathew Baillie muhtemelen Areteaus'dan habersiz malnütrisyona ve batında gaz distansiyonuna yol açan kronik ishalleri yetişkin hastalar üzerinde bir araştırma yapmış ve bu hastaların pirinç tükettiklerinde rahatladıklarını gözlemlemiştir. Bundan yaklaşık 75 yıl sonra İngiliz doktor Samuel Gee ÇH'nı günümüzdeki şekliyle tanımlamıştır (Paveley W.F. 1988). 1920'lerde muz diyeti tedavisi ortaya çıkmış ve yıllarca tedavinin mihent taşı olarak kendini kabul ettirmiştir. 1924 yılında Sidney Haas çölyak hastalığı tanımlı on anoreksik çocuk üzerinde yaptığı çalışmada sekizine muz diyeti uygulamış, ikisine diyet vermemiştir. Diyet almayan iki çocuk ölmüştür. Muz diyeti ekmek, patates, kraker ve diğer tüm tahıllardan arındırılmış gıdalardan oluşmaktadır, bu tedavinin başarısı diyetteki gıdaların gluten içermemesinden kaynaklanmaktadır.(Abel E.K. 2010).Bundan kırk yıl sonra Dicke ve arkadaşları, buğday proteininin suda erimeyen fraksiyonu olan glutenin alkolde eriyen bölümü olan gliadinin, yağ malabsorbsiyonu oluşturan başlıca etken olduğunu söylemişlerdir (Losowsky M.S. 2008). 1950'li yılların ortalarında distal duodenumdan yapılan biyopsiler sonucunda hastalığın proksimal ince bağırsak mukozası üzerindeki spesifik etkileri tanımlanmıştır. 1960'lı yılların sonunda hastalık tanısının jejunal biyopside villöz atrezinin gösterilmesi ile konulacağı ve hastalığın üç temel özelliği tanımlanmıştır. Bunlarga glutensiz diyetle klinik remisyona sağlanması ve bağırsaktaki mikroskopik bulguların gerilemesi, diyetin bozulması ile tüm bu bulguların tekrarlanması şeklinde belirlenmiştir. Bu kriterler 1969 yılında Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji,

Hepatoloji ve Beslenme Derneği (ESPGHAN) tarafından tanı kriterleri olarak düzenlenmiştir. 1964 yılında Berger tarafından anti-gliadin antikoru tespit edilmiş ve tanımlanmıştır. 1990 yılında ESPGHAN tarafından kriterler yeniden gözden geçirilerek revize edilmiştir (Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition 1990). Bundan sonraki yıllarda çölyak hastalığı otoimmün bir hastalık olarak kabul görmüştür ve ilişkili olduğu genler belirlenmiştir (DQ2 ve DQ8 gibi). Hastalığın otoantijeni olarak doku transglutaminaz enzimi tanımlanmıştır. Günümüzde çölyak hastalığı tanısında modifiye ESPGHAN kriterleri kullanılmaktadır. Bugün için, çölyak hastalığı birçok yönüyle en iyi bilinen gluten ile tetiklenen otoimmün bir hastalıktır.

2.1.3. Epidemiyoloji

Önceleri nadir bir hastalık olarak bilinen ve kuzey-batı Avrupa'nın hastalığı olarak nitelendirilen ÇH'nın son yıllarda tarama amaçlı serolojik testlerin kullanımı ile yaygınlığı artmıştır (Farrell RJ ve ark 2002; Maki M. Ve ark 2004). 1980'li yıllarda Avrupa'da prevalansı 1:5000 olan nadir bir hastalık olarak değerlendirilirken AGA ve anti-tTG gibi hassas ve nispeten daha ucuz serolojik yöntemlerle yapılan taramalar Avrupa ülkelerinde prevalansın 1/83-1/500 arasında olduğunu göstermiştir (Catassi C ve ark 1996; Remes Troche JM ve ark 2006). Sıklığı 2,5-15 yaş arasındaki çocuklarda 1/80-1/300 olarak bildirilmektedir. Birçok ülkeden gelen sonuçlar genel toplumda çölyak yaygınlığını %0,5-1 olarak bildirmektedir (Hill ID 2003; Madani S ve ark 2006). ÇH patogenezinde coğrafik ve genetik faktörlerin dışında başka faktörler de sorumlu tutulmaktadır. Diyetteki gluten miktarı bir diğer önemli faktördür, öyle ki buğday tüketiminin çok olduğu Avrupa, Amerika ve Ortadoğu'da hastalık çok sık görülürken, buğday tüketiminin az olduğu Uzak Doğu Asya'da çok az görülmektedir (Asher H ve ark 1991; Cummins AG ve ark 2009). Hastalık kızlarda erkeklerden daha sık görülür. Akraba evliliğinin sık olması, buğdayın ana besin ögesi olarak kullanımı ve ek gıdaya geçerken unlu gıdaların diyetle erken eklenmesi gibi nedenlerden dolayı ülkemizde ÇH yaygınlığının oldukça fazla olması beklenmektedir. Ülkemizde ilk kez Ertekin ve arkadaşlarının Erzurum merkezli 6-17 yaş arası okul çağı çocuklarında yaptıkları bir çalışmada ÇH yaygınlığı serolojik olarak 1/115, biyopsi ile kanıtlanmış yaygınlık 1/158 olarak bulmuşlardır (Ertekin V ve ark 2005). Monozigot ikizlerde ve birinci derece akrabalarda yaygınlık on kat yüksektir. Ayrıca Tip 1 diyabetes mellitus, otoimmün tiroid hastalıkları, Down sendromu, Turner sendromu ve selektif immünglobulin A eksikliği gibi hastalıklarda yaygınlığı normal topluma göre yüksektir (Larizza D ve ark 2001; Hansson T ve ark 2005).

Tablo 1: Çölyak hastalığında dünyada ve Türkiye’de yapılmış epidemiyolojik çalışmalar

Ülke/Şehir	Çalışma Grubu	Sayı	Sıklık	Yıl
Türkiye	Çocuk (6-17 Yaş okul çocuklarında)	20190	1/212	2010
Türkiye (Ankara)	Çocuk (2-18 yaş sağlıklı ve hastaneye başvuran çocuk hastalarda)	1000	1/100	2008
Türkiye (Erzurum)	Çocuk (6-17 yaş okul çocuklarında)	1263	1/115 Biopside 1/158	2005
Türkiye (Kayseri)	Erişkin (hastaneye başvuran)	906	1/100	2005
Türkiye (Ankara)	Kan vericiler	2000	1.3/100	2004
Türkiye (Ankara)	Kan vericiler	5054	1/140	2003
Avrupa (Finlandiya, Almanya, İtalya, İngiltere)	Çocuk ve erişkin	29212	1/100	2010
Yunanistan	Erişkin	2230	1/558	2007
Tunus	Çocuk (6-12 yaş okul çocuklarında)	6286	1/157	2007
İran	Erişkin	2799	1/104	2006
Meksika	Kan vericiler	1009	1/37	2006
Tunus	Kan vericiler	2500	1/355	2006
ABD	Erişkin (Afrika kökenliler)	700	1/77	2006
Portekiz	Çocuk	536	1/134	2006
Brezilya	Kan vericiler	3000	1/273	2006
Rusya	Kan vericiler	1740	1/42	2006
Finlandiya	Çocuk	536	1/134	2006
İsviçre	Çocuk (11-18 yaş okul çocuklarında)	2000	1/132	2002
İngiltere	Erişkin	7550	1/100	2003

İspanya	Çocuk (Okul çocuklarında))	3378	1/281	2002
Avustralya	Erişkin	3011	1/251	2001
Macaristan	Çocuk (3-6 yaş)	427	1/85	1999
Sahra (Batı Afrika)	Çocuk	989	1/20	1999
İrlanda	Erişkin	300	1/122	1997
İtalya	Çocuk	17201	1/210	

2.1.4. Çölyak Hastalığında Etyoloji

Hastalığın ortaya çıkması; genetik yatkınlık, çevresel faktörlerle temas ve immünolojik mekanizmaların rol aldığı ince bağırsak mukoza zedelenmesinin varlığına bağlıdır (Altunbaş ve ark 1998; Raanan S. 2003). Hastalığın etyolojisini incelemeye yönelik çalışmalarda, vakaların çoğunda MHC (Major Histokompatibilite Kompleksi) bölgesinin 6p21,3 kromozomunda yerleşmiş olan HLA (Human Leukocyte Antigen) genlerinin varyantları olan HLADQA1* 0501 ve DQB1*0201 allellerini taşıyanlarda ÇH riskinin artmış olduğu gözlenmiştir (Hourigan C.S. 2006).

Gluten suda erimeyen bir protein olup özellikle buğday, arpa, yulaf ve çavdarda bulunur. Glutenin alkol ile reaksiyona girmesi sonucu gliadin adı verilen bir molekül ortaya çıkar. Gliadin'in incebağırsak mukozasına zarar verme mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte genetik olarak duyarlı bireylerde çevresel ve immünolojik faktörlerin hastalığı başlattığı düşünülmektedir (Farrell RJ ve Kelly CR 2006; Ellis HJ ve Ciclitira PJ 2003).

Bu çevresel faktör gliadin olup elektroforetik olarak toplam dört fraksiyonu mevcuttur. Bu dört fraksiyonun tamamı çölyak hastaları için toksiktir. Gliadin'in bu fraksiyonlarının organ kültürlerinde intestinal mukozayatoksik olduğu intraepitelyal lenfositlerin toplanmasını sağlayarak epitelyal lezyonlara yol açtığı gösterilmiştir (Farrell RJ ve Kelly CR 2006).

Çölyak hastalığı'nda genetik predispozisyonu olan bireylerde hastalığın mukozal lezyonlarının oluşmasında humoral ve hücrel aşırı immün yanıtların rol oynadığı ortaya

konmuştur (Chand N ve ark 2006). Yine gliadinin 56-75. aminoasitlerinin çölyak hastalığında T hücre cevabı için epitop görevi yaptığı tespit edilmiştir. Oluşan gliadin spesifik CD4+ T lenfositler intestinal mukozaya karşı inflamatuvar reaksiyona yol açarlar (Farrell RJ ve Kelly CR 2006, Chand N ve ark 2006). Bir diğer hipotez de gliadin proteini ile enterik patojenler arasında immünolojik benzerliklerin olması ve gluten antijenlerine karşı immünolojik cevabın oluşmasıdır (Ellis HJ ve Ciclitira PJ 2003; Farrell RJ ve Kelly CR 2006).

Aile çalışmaları göstermiştir ki genetik faktörler ÇH'nda önemli rol oynamaktadırlar. Birinci derece akrabalarda prevalans yaklaşık olarak %10 civarında iken tek yumurta ikizlerinde %70'lerdedir (Farrell RJ ve ark 2006). ÇH ile ilgili HLA antijenleri HLA-DQ2 ve HLADQ8 haplotipleridir (Chand N ve ark 2006). Bunlardan özellikle HLA-DQ2 haplotipi hastaların büyük bölümünde mevcuttur. Ancak tüm HLADQ2 taşıyıcılarının %1'inden azında ÇH'ığı mevcuttur (Chand N ve ark 2006, Shamir R. 2003). Sonuç olarak ÇH genetik olarak duyarlı bireylerde gliadinin immünolojik mekanizmalarla incebağırsak mukozasını etkilemesi ile ortaya çıkan kompleks otoimmün bir enteropatidir (Chand N ve ark 2006).

HLA tiplemesinin hastalığın belirli klinik durumlarda belirlenmesi için faydalı bir test olduğu kabul edilmektedir. ÇH sınıf I HLA molekülüyle ilişkili bulunmuş ve daha sonra DR3, DR5, DR7 (De Marchi M ve ark 1979) ve sınıf II HLA kompleksinde ki DQ2/DQ8 alelleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Congia M ve ark 1994; Zubillaga P ve ark 2002). Yapılan çalışmalar DQ2'yi ve özellikle HLA-DQ2 (A1*0501,B1*0201) heterodimerini kodlayan HLA-DQA1*0501 ve DQB1*0201'nin kombinasyonunu ÇH'nın ilk sebebi olarak öne çıkarmıştır (Tosi R ve ark 1983). Daha az sayıda hastada ise DQA1*03- DQB1*0302 heterodimeri ya da tek başına DQA*05 veya DQB1*02 varlığı saptanmıştır (Hourigan C.S. 2006). Genel olarak ÇH'nda aday gen çalışmalarında, HLADQ dışında genetik yatkınlık lokusu kesin olarak belirlenememiş ÇH, HLA-DQ2 ve/veya HLA-DQ8 genlerini taşıyan kişilerde gelişir, fakat glutene maruz kalan ve genetik olarak yatkınlığı olan kişilerin tamamında gelişmez. Bilinmeyen çevresel faktörler, stres (enfeksiyon, ameliyat veya hamilelik) ve henüz belirlenememiş genler de hastalığın gelişimi için önemlidir (Liu J ve ark 2002).

Çölyak hastalığı çevresel tetikleyicisi ve otoantijeni bilinen tek otoimmün hastalıktır. Çevresel tetikleyicisi glutendir. Otoantijen ise ince bağırsak epitel hücresi enterosite

ait doku transglutaminaz (tTG) enzimidir. Otoimmün hastalık olarak diğer önemli bir özelliği de tetikleyicinin (gluten) ortadan kaldırılmasıyla tam düzelmenin sağlanmasıdır.

2.1.5. Çölyak Hastalığında Genetik

Hastalıktan çok sayıda gen sorumludur. Bu genler doğrudan hastalıkla değil, hastalığa yatkınlıkla ilgilidir. Yatkınlık genleri öncelikle 6. kromozom HLA bölgesinde taşınır. Özellikle HLA-DQ2 ve DQ8 doku tiplerine çölyaklıların %90-95'inde rastlanmaktadır. Genel toplumda bu oran %20-30'dur. Bu nedenle HLA-DQ2 ve DQ8 doku tipine sahip olanlar çölyak hastalığı riski taşırlar ve bu doku tipleri hastalığın tanı yöntemleri içinde yer alır. Bu doku tipleri hastalık için tek başına yeterli değildir ve prevalansı %53 oranında etkilemektedir. Diğer HLA genleri DR3 ve DR4'de özellikle Büyük Sahra bölgesinde risk oluşturmakta ve bu bölge çocuklarında 18'de bir gibi yüksek prevalansa yol açmaktadır. Ayrıca 2,3,5,6,9,11,18,19. kromozomlar da %60'a varan bir oranda yatkınlıkta rol oynamaktadır.

ÇH'nda HLA tiplmesi, DQ2 ve DQ8 için yüksek derecede sensitif, fakat zayıf spesifisiteye sahiptir ve bu yüzden pozitiflik durumu daha az önem taşımaktadır. Her ne kadar DQ2 alelleri nerdeyse tüm ÇH'ı tarafından eksprese edilirse de genel populasyonun DQ2 haplotipi için %30'u ve DQ8 için de %20'si pozitifdir. HLA tiplendirmesi ÇH için riski belirlemede iyi bir yoldur fakat hastalığın klinik seyrinin derecesini belirlemede yeterli değildir (Casinotti A ve ark 2009). HLA-DQB1*0201 alleli yönünden homozigot olanlarda klinik tanı konduğunda hastada, ağır villöz atrofi, genç yaş, ciddi diyare, düşük kan hemoglobin değerinin görüldüğü. Veglutensiz diyetle villöz atrofide düzelmenin yavaş olduğu rapor edilmiştir (Jores RD ve ark 2007). DQB1*02homozigot hastaların belirlenmesi, hastalığın ağır komplikasyonlarının belirlenmesine yardım eder (Haines ML ve ark 2008).

2.1.6. Patogenez

Hastalık oluşumunda genetik faktörlerle birlikte çevresel faktörlerin bir arada bulunması gerekmektedir. Genetik olarak HLA kalıtımı (DQ ve/veya DQ8) olan bireylerde diyete çevresel tetikleyici ajan olan glutenin girmesi ile hastalık gelişir. Ancak toplumun %30-40 kadarı HLA DQ8ya da HLA DQ2 taşımasına karşın çölyak hastası değildir. Özetle çölyak hastalığına genetik yatkınlığı sağlayan bu doku tiplerine sahip bireyler ancak bazı çevresel faktörlere maruz kaldıklarında çölyak hastalığı oluşturabilirler (Hill ID ve ark 2005).

Hücre yüzeyinde bulunan insan lökosit antijenleri yabancı antijenleri tanıyıp immün sistemin efektör hücrelerine sunarak immün yanıtın başlamasında rol alırlar. HLA antijenleri Klas I, Klas II ve Klas III olarak sınıflanırlar. Gen bölgelerinde Klas I, II ve III MHC molekülleri kodlanmaktadır. MHC Klas I gen bölgesi HLA A, HLA-B ve HLA C genlerini içermekte ve HLA A, B ve C moleküllerini kodlamaktadır. MHC Klas II gen bölgesi HLA DR, DP ve DQ genlerini içermekte ve HLA DR, DP ve DQ moleküllerini kodlamaktadır. MHC Klas III gen bölgesi, Klas I ve Klas II gen bölgeleri arasında bulunur ve HLA dışında bazı proteinleri kodlamaktadır. Bunlar kompleman komponentleri (C2, C4 ve faktör B) sitokinler (interferon, tümör nekrozis faktör) ve enzimler (21 hidroksilaz koenzim) dir.

Gluten alımı sonucunda ince bağırsak mukozasında bulunan gliadin peptidleri ile HLA klas II moleküllerinin birleşmesi ile oluşan immünolojik olaylar zinciri klinik bulguların gelişmesine neden olur. Bu reaksiyonu en fazla gösteren doku grupları HLADQ2 ve DQ8'dir (Maki M, Lohi O, 2004; Hill ID ve ark, 2005; Kaukinen K ve ark 2002). Gliadin molekülü toksik yapısı nedeniyle genetik olarak yatkın kişilerde inflamatuvar yanıtı başlatan öncü moleküldür (Molberg O ve ark 2001). İnce bağırsaklar başta olmak üzere daha birçok organda bulunan dokutransglutaminaz enzimi serumda bulunan anti gladin (AGA),anti endomisyal (EMA), anti doku transglutaminazı (Anti dTG), anti retikülin (ARA) ve benzeri antikorlar için hedef niteliği taşımaktadır. Bu antikorlar tanıda kolaylıkla kullanılan serolojik tarama testlerini oluştururlar (Dieterich W. ve ark 1997). İntraselüler bir enzim olan doku transglutaminazı inflamasyona yanıt olarak inflamatuvar ve endotelial hücreler ile fibroblastlardan salgılanır. Gluten peptidleri moleküllerin HLA DQ2 ve HLA DQ8'e bağlanmalarını artırarak gluten-duyarlı T hücrelerinin aktivasyonuna yol açar. Bu immün yanıt villus atrofi, kript hiperplazisi ve ince bağırsak yüzey epitelinin

hasarı ile sonuçlanır. Hasarlanma proksimal ince bağırsakta en üst düzeydedir, ancak distalde farklı uzaklıklara da ilerler. Son zamanlardaki gözlem, ÇH'nda malabsorbsiyon belirti ve bulgularının kesinlikle çok farklı derecelerde ve şekillerde olabildiğidir. Glutenin indüklediği enteropati ince bağırsakların emilim ve sindirim kapasitesinde belirgin azalma ve buna bağlı immatür epitelyal hücrelerde göreceli artış ile sonuçlanır. Pankreatik sekresyon düşük kolesistokinin ve sekretin düzeylerine bağlı olarak azalır(Ventura A ve ark 1999; Cataldo F ve ark 2003 Mustalahti K. 2006).

2.1.7. “GLUTEN ICEBERG” – Yeni Yaklaşımlar

Glutenli gıdalar aslında tüm insanlarda bazı toksik etkiler oluşturmaktadır. Gluten doğrudan immün ve non-immün yanıtlara yol açabilmektedir. İçerdiği “Wheat Germ Agglutinin”, lektin toksik etkiler oluştururken, gliadorphin, gliamorphin opiat benzeri etkilere neden olmaktadır. Çölyaklı olmayanlarda da çölyak benzeri ancak farkedilmeyecek düzeyde yan etkiler oluşmaktadır. Bu durum son yıllarda “Gluten Iceberg” olarak adlandırılmaktadır. Buğdayın dünyadaki ilk tahıl olarak M.Ö. 10.000'de 2 kromozomlu başladığı serüven bugün 45 kromozomlu bir yapıya dönüşmüştür. Tarımsal uğraşlar ve günümüzün genetik uygulamaları insanoğlunun bu en temel gıdasının adeta bir kabusa dönüşmesine yol açmıştır (Fasano A 2003).

2.1.8. Klinik

Çölyak hastalığı kliniği gastrointestinal sistem ve GİS dışı bulgulardan oluşmaktadır. Yağlı, donuk görümlü, alışılmıştan daha sık ve bol miktarda dışkı ise bu patolojinin en önemli göstergesidir.

Kolay serolojik tarama testlerinin kullanılmaya başlanması ile hafif bulguları olan hastalar tanı alabilmekte ve ishal, karın şişliği, iştahsızlık gibi tipik hastalık belirtileri artık gittikçe daha az görülmektedir (Maki M, Collin P. 1997).

Çölyak hastalığının klinik spektrumu 5 farklı formda incelenebilir. Bir çok epidemiyolojik çalışma göstermiştir ki; daha az klinik bulgu veren durumlar (sessiz, potansiyel ve oligosemptomatik formlar) kliniği aşikar olanlardan çok daha fazladır(Guandalini S, 2004; Kansu A 2007).

Çölyak Hastalığının Sınıflandırılması

1. Klasik çölyak hastalığı: Diyetle gluten alımı başladıktan sonra daha çok süt çocuklarında özellikle 6-24. aylarda gözlenen tipik olarak büyüme-gelişme geriliği, kronik ishal veya cıvık dışkılama, kusma, karın ağrısı, karın şişliği, kas zayıflığı, hipotoni,iştahsızlık gibi gastrointestinal bulgular ve malabsorbsiyonla seyreden formdur. Tanı gecikir ve gluten alımı devam ederse ciddi malnütrisyon, hatta kaşeksi gelişebilir. Semptomlar diyetteki gluten miktarına ve bireyin immünolojik yanıtına göre değişir. Dışkı karakteristik olarak soluk, açık renkli, cıvık ve kötü kokuludur. Çocukta tekrarlayan şiddetli ishal atakları olabilir. Kilo alımı ve boy uzaması ise malabsorbsiyon ve/veya iştah azalmasına bağlı olarak yaşına göre geri kalır. Hastaların dörtte birinde vitamin D ve kalsiyum eksikliğine bağlı olarak rikets tablosu gelişebilir (Maki M, Lohi O 2004; Hill ID ve ark 2005; Fasano A ve ark 2005).

2. Atipik çölyak hastalığı: Tekrarlayan karın ağrısı, bulantı, kusma, karında gaz, diş mine tabakası bozuklukları ve tekrarlayan aftöz stomatit tedaviye cevap vermeyen veya nedeni kesin belli olmayan demir eksikliği anemisi, osteoporoz veya osteopenik kemik hastalıkları, kronik artrit, kardiyomyopati gibi kalp kası bozuklukları, karaciğer fonksiyonlarında bozukluk, nörolojik bozukluklar gibi GİS dışı bulgular mevcuttur ve genellikle büyük çocuk ve yetişkinlerde görülür (Maki M ve ark 2004; Guandalini S. 2004; Hill ID ve ark 2005; Demirçeken FG 2011). ÇH'nın en sık görülen GİS dışı bulgusu oral demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisidir. Subklinik çölyak hastalarının %46'sında demir eksikliği anemisi bulunmaktadır (Bottaro G ve ark 1999). Dermatitis herpetiformis ise daha çok genç erişkinlerde görülen ve ÇH'nın dermatolojik eşdeğeri olan, ekstremitelerde, kalçada, yüzde, boyunda ve gövdede makülopapüler döküntülerle seyreden bir tablodur. İmmünolojik aracılıklı başka deri bulgularının (linear IgA dermatozu, ürtiker, herediter anjionörotik ödem, kutanöz vaskulit, psöriazis, eritema nodozum, viitiligo, alopesi areata gibi) yanısıra yetersizlikle ilgili mukokutanöz bulgular da (demir,çinko, vitamin B12 ve folik asit eksikliklerine bağlı) ÇH'nda görülür. Atipik bulguları ve yakınmaları olan bireylerin çoğunda gastrointestinal belirtiler yoktur (Green PH 2005; Jones S ve ark 2006; Mukherjee R ve ark 2010).

Çölyak Hastalığında Klinik Bulgular:

a. Gastrointestinal:

Tablo 2: Çölyak hastalığında gastrointestinal bulgular

ERKEN BAŞLANGIÇ	GEÇ BAŞLANGIÇ
<ul style="list-style-type: none">● 2 Yaş altı● Kronik ishal/yağlı dışkı iştahsızlık● Kilo alamama● Karın şişkinliği (abdominal distansiyon)● Kas erimesi, cilt altı yağ dokusunun kaybolması● Apati (donukluk)/huzursuzluk,● Hipotoni	<ul style="list-style-type: none">● Çocukluktan erişkin döneme kadar her yaş● ishal veya cıvık dışkı (değişken/aralıklı)● Bulantı/kusma● Karında rahatsızlık hissi/şişkinlik (dispepsi)● Tekrarlayan karın ağrısı● Kilo kaybı● Kabızlık

b. Gastrointestinal Sistem Dışı:

Kas ve iskelet sistemi belirtileri mukoza ve deri belirtileri:

- Kısa boy
- Rikets
- Osteoporoz
- Diş mine tabakası bozuklukları
- Artrit ve artralji
- Miyopati
- Dermatitis herpetiformis
- Tekrarlayan aftöz stomatit
- Vaskülit

Hematolojik belirtiler ve üreme sistemi belirtileri:

- Anemi (demir, folat, B12 eksikliği)
- Lökopeni
- Trombositopeni
- Vitamin E veya vitamin K eksikliği

- Gecikmiş ergenlik
- Adet düzensizlikleri ve amenore
- Tekrarlayan düşükler ve/veya infertilite

Nöro-psikiyatrik belirtiler:

- Serebral kalsifikasyonla birlikte olan epilepsi
- Serebellar ataksi
- Periferel nöropati
- Anksiyete, depresyon, demans, şizofreni, dikkat eksikliği ve algı bozuklukları
- Baş ağrısı

Diğer belirtiler

- Karaciğer enzim yüksekliği ve kronik hepatit
- Açıklanamayan kilo kaybı
- İntestinal lenfoma
- Yorgunluk
- Saç dökülmesi

3. Sessiz çölyak hastalığı: Sağlam görünen bir çocuk veya erişkinde birinci derece akrabalarında ÇH, otoimmün (Tip 1 DM gibi) ya da genetik (Down sendromu, Turner sendromu gibi) bir hastalığa sahip olması nedeniyle yapılan taramalar sonucunda veya toplum taramaları ile yakalanan hastalardır. Bu grupta ÇH %4-5 sıklıkta bildirilmektedir. Bu kişilerde yaygın görülen özellikler; huzursuzluk ve okul performansında düşüklük gibi davranış bozuklukları, fiziksel sağlığın bozulması ve kronik halsizlik, önemli olsun ya da olmasın demir eksikliğinin varlığı, azalmış kemik mineral yoğunluğudur (Lionetti E ve ark 2011; Mäki M, Collin P. 1997).4

4. Latent çölyak hastalığı:Serolojik testleri pozitif ve biyopsisinde düz bir ince bağırsak mukozasına sahip olup glutensiz diyet başlanan; daha sonra gluten içeren diyet alırken ince bağırsak histolojisinin normal olduğu hastalardır. Bu hastalar ileri yaşamlarında hafif ya da ciddi enteropati geliştirebilirler (Polanco I, 2008).

5. Potansiyel çölyak hastalığı: Endomisyum antikoru (EMA) ve/veya anti-dTG antikorları pozitif olduğu halde ince bağırsak biyopsileri normal veya minimal değişiklik gösteren olgulardır. Bu olguların genotipleri de DQ-2veya DQ-8 gibi çölyak ile uyumlu doku gruplarındandır. Önceleri hiçbir bulguları olmamasına karşın sonraki yıllarda erişkin tipi gluten enteropatisi olma riski taşırlar. Bu nedenle izlenmeleri gerekir(Metha G ve ark 2008; Maki M ve ark 2004).

Anne sütünün daha uzun ve yoğun olarak bebek beslenmesinde yer alması ve glutenin diyeteye daha geç girmesi hastalığın klasik formu olan çocukluk çağında hayatı tehdit edici malabsorbsiyon tablosunun daha ileri yaşlarda – sıklıkla 10-40 yaş arasında - görülen atipik erişkin tipi ÇH formuna dönüşmesine yol açmıştır (Ventura A ve ark 1999, Akobeng AK ve ark 2006; Epub 2005). Ancak 3 ay öncesinde bebek beslenmesinde gluten alınmasının yanı sıra 7 aydan sonra glutenin ilk kez verilmesinin de ÇH gelişme riskini arttırdığını gösteren yayınlar vardır. Dolayısıyla ek gıdalara başlanılan geçiş dönemi beslenmesi sürecinin de özellikle devam ettirilen anne sütü ile birlikte ideal olarak yaşamın 4-7. ayları arasında olması gerektiği bildirilmektedir. Bu şekilde diyeteye giren glutene karşı immünolojik toleransın sağlanması anne sütünün pek çok immünoaktif özelliği sayesinde daha olası görülmektedir (Ivarsson A ve ark 2002; Guandalini S. 2007).

ÇH'na eşlik eden diğer hastalıklar ve bazı sendromlar ile ÇH'na benzerlik gösteren durumlar klinik değerlendirmede unutulmamalı, bu nedenlerle izlenen hastalarda düzenli aralıklarla ÇH araştırması yapılmalıdır (Ivarsson A ve ark 1999).

Çölyak Hastalığına Eşlik Eden Durumlar ve Bazı Sendromlar:

Otoimmün hastalıklar

- Tip 1 Diyabetes mellitus
- Otoimmün tiroidit (Hashimoto tiroiditi)
- Sjögren sendromu
- Demir eksikliği
- İntrakranial kalsifikasyonlu epilepsi
- Serebellar ataksi
- Osteopeni/Osteoporoz

- IgA nefropatisi
- Karaciğer işlev bozuklukları ve hastalıkları
- Hiposplenizm
- Pankreatitis
- Üreme sistemi bozuklukları
- Atrofik glossitis
- İdiopatik pulmoner hemosiderozis
- Evans sendromu
- Depresyon
- Genetik hastalıklar
 - Down sendromu
 - Turner sendromu
 - Williams sendromu
 - Seçici IgA eksikliği

Çölyak Hastalığına Benzerlik Gösteren Durumlar:

- Geçici gluten intoleransı
- Geçici besine duyarlı enteropatiler
 - İnek sütü duyarlılığı enteropatisi
 - Soya ve diğer besin proteinlerine intolerans
- Gastroenterit ve postenterit sendromları
- Eozinofilik enteropati
- Giardiazis
- Otoimmün enteropati
- Mikrovillus atrofisi
- Kazanılmış hipogamaglobulinemi (HIV)
- Birincil bağışıklık yetmezliği

- Bakteriyel aşırı üreme
- Protein enerji malnutrisyonu
- İnce bağırsak lenfoması

İştahsızlık, kronik inatçı ishal, kronik kabızlık, tekrarlayan karın ağrısı ve kusma, diş mine hipoplazisi, idiopatik kısa boy, belirgin puberte gecikmesi, osteoporoz, tedaviye yanıt vermeyen demir eksikliği anemisi durumlarında mutlaka ÇH'na yönelik serolojik testler yapılmalıdır. ÇH tanısı konmuş hastaların birinci derece akrabaları, otoimmün tiroidit, Tip 1 diyabet, Down sendromu, Turner sendromu, Williams sendromu, seçici immünglobulin A (IgA) eksikliği gibi yüksek riskli gruplarda da ÇH taraması belli aralıklarla yapılmalıdır (Richey R ve ark 2009).

2.1.9. Tanı

ÇH kesin tanısı günümüzde Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Nutrisyon Topluluğunun (ESPGHAN) önerileri doğrultusunda konulmaktadır (Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition, 1990).

Çölyak hastalığı için ESPGHAN tanı kriterleri (1990)

1. ÇH düşündürülen öykü ve klinik bulguların olması
2. ÇH düşündürülen serolojik inceleme sonuçları
3. ÇH ile uyumlu histolojik bulgular
4. Glutensiz diyet sonrası kesin klinik ve serolojik düzelme yanıtı
5. Olguların iki yaşından büyük olması
6. ÇH ile benzerlik gösteren diğer durumların ayırt edilmesi

ÇH tanısında kullanılan serolojik testler: Tipik veya atipik bulgularla ÇH düşündürülen olgularda ilk aşamada serolojik testler yapılarak pozitif antikor aranmalıdır. Serolojik testler tarama amacı için en değerli yöntemlerdir. Bu testlerle besinlerdeki proteinlere (gluten) ve bağırsak mukozasındaki yapısal proteinlere (endomisyum, retikülin, transglutaminaz) karşı oluşmuş antikorlar aranmaktadır (Maki M ve ark 2004; Fasano A ve ark 2005).

Antigliadin antikor: Normal bireylerde ve başka sebeple oluşan gastrointestinal enflamasyonlarda da pozitif sonuç verebilmesi ve duyarlılığı ile özgüllüğünün düşük olması nedeniyle ÇH tanısında günümüzde artık kullanılmamaktadır (Caja S ve ark 2011). AGA antikorlarının minimal diyet kaçağında dahi daha çabuk serumda saptanabilmeleri diyete uyumu göstermede hastaların monitorizasyonunda kullanılabilir (Guandalini S 2004).

Antiendomisyum antikor: EMA çölyak hastalığı için %90 duyarlılığı ve %100 özgüllüğü sahiptir ancak yorumlanması güç ve maliyeti pahalı olan immünfloresan testtir. Toplum taramalarında AGA'dan daha üstündür. Tanıda AGA ile birleştirildiğinde duyarlılığı ve negatif öngörü değeri %100'dür (Russo PA ve ark 1999). Glutensiz diyeti takiben negatifleşme diğer antikorlardan daha önce olmaktadır (Biagi F ve ark 2001). Tedavi edilmemiş ÇH olan 97 olguda EMA'nın duyarlılığı %98, özgüllüğü %100, pozitif öngörü%100, negatif öngörü %94 olarak bulunmuştur (Mankai A ve ark 2005).

Anti doku transglutaminaz antikor: tTG endomisyum dokusunu antijen olarak algılayan EMA'nın antijenik bir determinantıdır. ELİSA yöntemi ile yapılabilmesi nedeniyle kolay, ucuz ve kolayca yorumlanabilen bir testtir. Sensitivitesi %61-100 ve spesifitesi %86-100'dür (Kansu A. 2007). EMA ve tTG antikorun birlikte pozitif olmasının ince bağırsak biyopsisi gerekliliğini azaltabileceği yönünde görüşler bildirilmektedir (Mankai A ve ark 2005).

Antiretikülin antikor: %90 özgüllük ve duyarlılığa sahip, immün flöresan yöntemi ile çalışılan bir testtir(Caja S ve ark 2011).

Antideamide gliadin peptid antikor (a-DGP): AGA'ya göre yüksek özgüllüğe ve duyarlılığa sahiptir (Branski D ve ark 2012). Sensitivitesi %79-98, spesifitesi ise %80-95'tir (Evans KE ve ark 2011).

Çölyak hastalığı serolojisi üzerine ESPGHAN'ın raporunda bir damla kanda DTG antikor olarak bakılan hızlı test kitlerinin (POCT) sensitivitesinin %96.4 ve spesifitesinin ise %97.7 olduğu; ancak DTG IgA ve EMA'nın daha iyi bir performansa sahip olduğu belirtilmiştir (Husby S ve ark 2012).

Tablo 3: Çölyak hastalığı tanısında serolojik testlerin etkinliği (Farrell RJ ve ark 2001)

ÇÖLYAK SEROLOJİK SENSİTİVİTE VE SPESİFİTE TESTİ						
	IgA- AGA	IgG-AGA	IgA-DPG	IgG-DPG	Iga - Ttg	IgA -EMA
SENSİTİVİTE	%52- %100	73%	73%	66%	%92- %100	%88- %100
SPESİFİTE	%92-%97	45%	89%	97%	91%- %100	%91- %100
AGA,antigliadin antikorları;DGP, deamine gliadin peptid antikorları; Ttg, doku transglutaminazları; EMA, endomizal antikorlar						

Semptomatik kişilerde EMA ve DTG'nin birlikte kullanımı ile biyopsi sonuçları karşılaştırıldığında ÇH'larını bulma oranı %100'dür. Çeşitli çalışmalar DTG antikorlarının yüksek konsantrasyonlarının düşük veya sınırdaki değerlere göre villöz atrofiyi daha iyi yansıttığını göstermiştir. DTG, ÇH'nı saptamada kullanılacak ilk test olarak önerilmektedir. İki yaşından küçük çocuklarda EMA ve DTG'nin yüksek oranda negatif olması nedeniyle bu yaş grubunda en çok AGA'nun ölçülmesi önerilmektedir. Ancak bu yaş grubunda AGA'nın spesifitesinin düşük olması nedeniyle semptomatik olan erken yaştaki çocuklarda serolojisi negatif olsa bile ince bağırsak biyopsisi önerilmektedir. Düşük yaşta serolojinin negatif olması anne sütü alımı, düşük IgA seviyeleri ve immün sistemin henüz gelişmemiş olmasına bağlanmaktadır (Hill ID ve ark 2005; Husby S ve ark 2012; Steele R. 2011).

İntestinal Biyopsi ve Histopatoloji

İnce bağırsak biyopsisi tanıda halen altın standarttır (Martin Stern. 2000; Horvath K ve ark 2002)

Tanıda biyopsiyi ne zaman önerelim veya yapalım?

1. Amerikan Gastroenteroloji Derneği “şüphelenilen” bütün olgularda biyopsi yapılmasını önermektedir (Ciclitira PJ ve ark 2001).

2. A.B.D Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health= NIH) ”pozitif seroloji varsa” veya “serolojik sonuçlar açık olarak tanısal değilse, ama klinik şüphe varsa önermektedir(NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease, 2004).

3. ESPGHAN ise “pozitif seroloji veya kuvvetli klinik şüphe varsa” biyopsi yapılmasını önermektedir ((Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition, 1990).

Sonuç olarak serolojik testleri pozitif olan her olguya ince bağırsak biyopsisi yapılmalıdır. Biyopsi glutenli diyet alırken ve yamalı tutulum olabileceği için birkaç noktadan yapılmalıdır.

Histolojik bulgular; artmış İEL sayısı (Her 100 enterosite karşı 25’ten fazla lenfosit olması), kript hiperplazisi ve “düz mukoza” olarak tanımlanan total villus atrofisi şeklindedir ancak hiçbiri ÇH’a spesifik değildir. Tanı klinik, serolojik testler ve biyopsi sonuçlarının bir arada değerlendirilmesi ile koyulur.

Günümüzde histopatolojik tanı için Marsh kriterleri kullanılmaktadır.

Günümüzde kabul edilen Marsh sınıflamasının yeni versiyonu ile GSE histopatolojik sınıflaması şöyledir

Tip 1: Normal villus yapısı ile birlikte artmış İEL (İELOzis) (Oberhuber 1, Ensari 1).

Tip 2: İELOzis ve kript hiperplazisine eşlik eden kısalmış villus yapısı (Oberhuber 2, Ensari 1)

Tip 3: İELOzis ve kript hiperplazisi ile hafif A/belirgin B/tamamenC düzleşmiş mukoza (Oberhuber 3A, 3B, Ensari 2; Oberhuber 3C, Ensari 3)

Tip 4: Atrofik mukoza (Kript hipoplazisi ve hafif inflamasyonla olan düz mukoza artık kullanılmamaktadır)(Oberhuber G ve ark 1999; Ensari A. 2010).

ESPGHAN'ın 2012 rehberinde ÇH'nın tanısı için basit bir skora sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde semptomlar, serum antikorları, HLA ve biyopsi bulguları değerlendirilmektedir. ÇH tanısı için toplam 4 puan yeterlidir(Husby S ve ark 2012).

Tablo 4: Çölyak hastalığı tanısında kullanılan puanlama sistemi

Çölyak hastalığı tanısında ESPGHAN'nın önerdiği basit puanlama sistemi	Puanlar
Belirtiler	
Malbsorpsiyon sendromu	2
ÇH ile ilgili diğer belirtiler yada Tip 1 DM yada 1. derece yakınlarda ÇH varlığı	1
Belirtisiz	0
Serum antikorları	
EMA pozitifliği ve/veya anti- dTG antikorların normalin üst sınırından 10 kat yüksek olması	2
Anti- dTG antikorların düşük pozitifliği veya izole anti- DGP pozitifliği	1
Serolojik testler yapılmamış	0
Serolojik testler yapılmış ancak tüm ÇH'ye özgü antikorlar negatif	-1
HLA	
Tam HLA- DQ2 (cis yada trans) veya HLA DQ8 heterodimerlerin pozitifliği	2
HLA yapılmamış ya da %50 HLA DQ2 pozitifliği (sadece HLA- DQR1-0202)	1
HLA DQ2 ve HLA DQ8 negatifliği	0
Histoloji	
Marsh 3b yada 3c (subtotal villus atrofi, düz mukoza)	2
Marsh 2 yada 3a (villus boyu/kript derinliği oranında orta derecede azalma)yada Marsh 0-1 bağırsak dokusunda dTG antikorların pozitifliği	1
Marsh 0-1 ya da biopsi yapılmamış	

2.1.10. Çölyak Hastalığında Ayırıcı Tanı

Çölyak hastalığının kronik diyare yapan ve benzer histopatolojik değişikliklere neden olan hastalıklardan ayırıcı tanısı yapılmalıdır.

Çölyak hastalığının ayırıcı tanısının yapılması gereken hastalıklar:

1. Geçici gıda alerjisi (inek sütü proteini ve soya proteini alerjisi dahil)
2. Gastroenterit ve postenterit
3. Malnutrisyon
4. Giardiyazis
5. Eozinofilik gastroenteropati
6. Bakteriyel overgrowth
7. intestinal lenfoma
8. Otoimmün enteropati
9. İmmün yetmezlik (primer immün yetmezlik, graft versus host hastalığı ve HIV vb.) (Shamir R. 2003).

Çölyak hastalığında hasta glutensiz diyete alındıktan sonra klinik bulguların düzelmesi ve serolojik testlerin negatifleşmesi de tanıda oldukça değerlidir ve takipte de kullanılır (Fine KD ve ark 1997). Tanının deneyimli bir merkezde konulması ömür boyu sürececek bir hastalık açısından çok önemlidir. Tanısal hatalar ciddi morbitide ve mortalite nedenidir.

2.1.11. Tedavi

Çölyak hastalığının günümüzde tek ve kesin tedavi şekli diyetten ömür boyu glutenli ürünlerin çıkarılmasıdır. Diyetteki ana tahıl grubunu gluten ve diğer protaminleri içermeyen pirinç ve mısır oluşturur (Maki M ve ark 2004). Kararlı giden hastalarda yulafın kontamine olmamış şeklinin diyetle eklenmesinin diyet kalitesini artırdığı yönünde çalışmalar olmakla birlikte henüz kesin fikir birliği bulunmamaktadır (Lionetti E ve ark 2011). Son yıllarda çölyak hastalarının diyetinde glutenden arındırılmış buğday unu ve bu undan yapılan ürünler de kullanılmaktadır. Hastalara ve hastalara bakmakla yükümlü olan yakınlarına glutensiz diyet hazırlanması, yiyeceklerin hazırlanması sırasında ya da kullanılan her türlü kişisel bakım ürününün gluten ile kontaminasyon olasılıklarının da detaylı bir şekilde anlatılması tedavinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

Akut dönemde glutensiz diyet yanında eksikliği olan vitamin ve diğer besin öğeleri destekleyici tedavi olarak hastaya başlanmalıdır. Başlıca demir, B12 vitamini, folik asit, çinko, kalsiyum ve D vitamini desteği ile diğer vitamin, eser element destekleri gerekebilir. Bağırsak epitelinin hasarına bağlı gelişen sekonder disakkaridaz eksiklikleri için de bağırsak epiteli rejenere olup emilim düzelinceye kadar -ilk haftalarda- süt, süt ürünleri, meyve ve meyve sularından kaçınılmalıdır. (Fasano A ve ark 2001; Farrell RJ ve ark 2002; Hill ID ve ark 2005).

Diyet tedavisine tam uyulduğundan ilk iki hasta içinde %70 oranında klinik düzelme görülmekte, serolojik testlerin ve histopatolojik bulguların negatifleşmesi ise ortalama altı ayda olmaktadır. Malabsorbsiyonla ilişkili büyüme geriliği gibi sorunlar 2-3 yılda düzelmekte, hastalar kendi yaşlarına uygun boy ve vücut ağırlığı persentillerine ulaşmaktadırlar (Kaukinen K ve ark 2010).

2.1.12. Çölyak Hastalığında Komplikasyonlar

Çölyak hastalığının erken tanı ve tedavi ile önlenemez en önemli komplikasyonları lenfoma (enteropati ile ilişkili T hücreli lenfoma) (Askling J ve ark 2002), diyabetes mellitus, epilepsi, osteopeni ve infertilitedir. (Olds G ve ark 2002)

Çölyak hastalığında özellikle adrenal hipoandrojenizm, çocukluk çağında görülmemekle birlikte üreme sorunları çok yaygındır. En sık Dermatitis herpetiformis olmak üzere alopesi (areata veya totalis) ve psoriasis de görülebilen cilt hastalıklarıdır.

Nörolojik hastalıklardan serebellar ataksi ve periferik nöropati en yaygın görülmele birlikte psikiyatrik problemlerde tanımlanmıştır. (Chand N ve ark 2006)

Otoimmün hastalıklardan otoimmün kolestatik karaciğer hastalığı, otoimmün tiroid hastalığı çölyak hastalarında sağlıklı topluma göre çok daha siktir(Volta U ve ark 2002; Ch'ng CL ve ark 2007).Nadir de olsa ağız, özofagus, farenks ve incebarsağın karsinomları da görülür.

Her türlü geçmeyen, kronik yakınmalar karşısında hekim çölyak hastalığını düşünmeli ve tanıya yönelik incelemeleri başlatmalıdır. Erken tanı ve uygun tedavi ile uzun dönemde gelişebilecek komplikasyonlar engellenmiş olur.

2.1.13. Çölyak Hastalığında Seyir ve Prognoz

Çölyak hastalığında tanı erken konur ve yaşam boyu glutensiz diyet uygulanır ise prognoz mükemmeldir. Ancak tedavi yapılmaz ise mortalitenin 1, 9 - 3, 4 kat arttığı çalışmalarda gösterilmiştir (Farrell RJ, Kelly CR; 2002).

Erken tanı ve yaşam boyu glutensiz diyetin hastalığın komplikasyonlarının gelişmesini önleyici etkisi olduğu bilinmektedir. (Gren PHR ve ark 2001)

Çölyak hastalığında malignite özellikle malign lenfoma gelişirse mortalite ve morbidite yükselir ve bu nedenle bu hastalarda prognoz oldukça kötüdür (American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Celiac Sprue. Gastroenterology. 2001).

2.2. Vitamin D

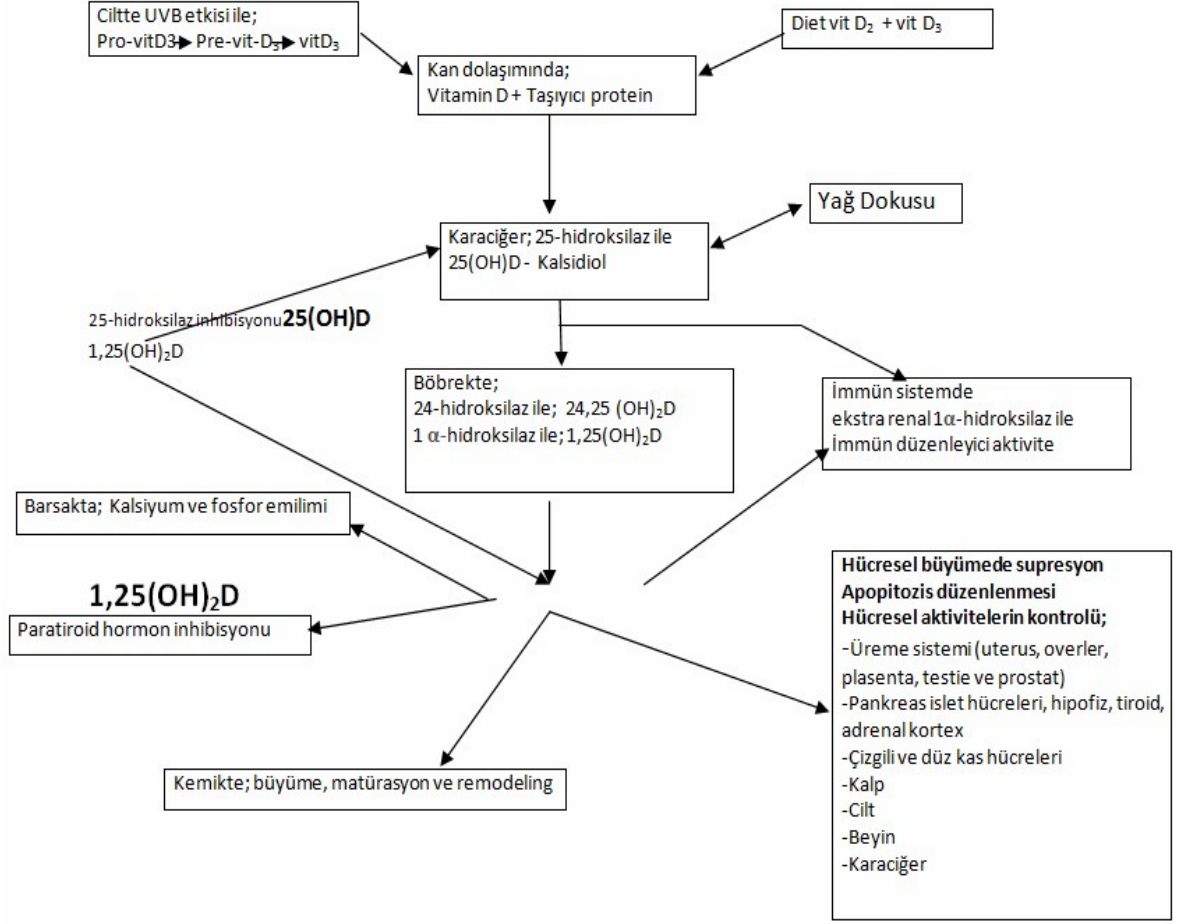
Vitamin D özellikle kemik metabolizması ve kalsiyum-fosfor dengesi üzerinde önemli role sahip yağda eriyen bir vitamindir (Oliveira NMP, Lemos MC 2010). Son yıllarda yapılan çalışmalar vitamin D'nin endokrin sistemle yakın ilişki içerisinde olduğunu ve özellikle immün düzenlenme, hücre farklılaşması ve çoğalmasında önemli etkileri olduğunu ortaya koymuştur(Haussler MR ve ark 1998).

Epidemiyolojik ve laboratuvar çalışmaları vitamin D eksikliğinin başta rikets ve kemik hastalıkları olmak üzere diyabet, kardiyovasküler sistem hastalıkları, otoimmün hastalıklar, kanser ve tüberkülozis ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Uitterlinden AG ve ark 1996). Vitamin D'nin biyolojik aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D kanser hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinin büyüme ve farklılaşmasını düzenler. Ayrıca kanser, hücre ölümü, tümör invazyonu ve anjiogenez üzerinde etkilerinin olduğu yönünde kanıtlar vardır (Hewison M ve ark 2000; Osborne JE ve ark 2002; Ordonez-Moran P ve ark 2005; Bouillon R ve ark 2006).

2.1.14. Vitamin D Metabolizması

Diyetle ve deride güneş ışınlarının etkisi ile elde edilen vitamin D karaciğerde 25-hidroksilaz enzimin etkisi ile 25-hidroksi vitamin D (25(OH)D)'ye diğer bilinen adıyla kalsidiol'e dönüşür(Valdivielso JM, Fernandez E 2006). Vitamin D bağlayıcı protein ile böbreklere taşınan 25(OH)D burada 1 α -hidroksilaz ve 24-hidroksilaz enzimlerinin etkisi ile 1.25-dihidroksivitamin D ve 24,25-dihidroksivitamin D'ye dönüşür. Daha aktif olan 1.25(OH)₂D'nin diğer adı kalsitrioldür, 24,25(OH)₂D ise kalsitroik asit olarak bilinen inaktif formdur ve safra yolu ile atılır. 1.25(OH)₂D'nin plazma konsantrasyonları 25(OH)D düzeyi, 1 α -hidroksilaz ve 24-hidroksilaz enzim düzeyleri ile düzenlenir. 1 α -hidroksilaz enzimi ise parathormon, serum fosfor ve 1.25(OH)₂D düzeyleri ile düzenlenir (Takeyama K ve ark 1997; Dusso AS, Brown AJ 2005).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda 1 α -hidroksilaz enzimi aktif vitamin D sentezi yapan bazı immün sistem hücrelerinde de tespit edilmiştir.



Şekil-1: Vitamin D metabolizması ve etkileri

2.1.15. Vitamin D Eksikliği

25(OH)D'nin normal düzeyleri halen tartışmalı bir konudur. Yüksek PTH seviyesi düşük vitamin D düzeyini gösteren bir biyomarker olarak kullanılabilir. Birlikte bazı araştırmalar serum vitamin D düzeyinin 32 ng/ml'den düşük olmasını eksiklik olarak tanımlamaktadır (Kamen D ve ark 2008). Halen normal serum vitamin D düzeyi konusunda bir fikir birliği yoktur ancak serum PTH düzeylerinde artışa yol açmayacak düzeylerin normal kabul edilmesi konusunda bir anlaşma söz konusudur. (Dawson-Hughes ve ark 2005; Bandeira F ve ark 2006)

Çoğu yazar tarafından vitamin D eksikliği 20ng/ml'nin altındaki değerler için yetmezliği ise 20-30ng/ml değerleri olarak tanımlanmıştır(Thomas MK ve ark 1998). Uluslararası tıp enstitüsü Institute of Medicine (IOM) tarafından eksiklik 25(OH)D seviyesinin 12ng/ml'nin altındaki değerler, yetmezlik 12-20ng/ml arasındaki değerler,

normal seviye ise 20-50ng/ml olarak tanımlanmıştır(Ross AC ve ark 2011). İmmün sistemin düzgün çalışmasını sağlayacak normal vitamin D seviyesi henüz tanımlanmamış olup bugün için kabul gören normal değerlerden farklı olabilir (Cantorna MT ve ark 2004).

2.1.16. Vitamin D Reseptörü (VDR)

1,25(OH)₂D'ün hedef dokudaki biyolojik etkilerinin gerçekleşebilmesi için yüksek afiniteli reseptör olan VDR varlığı gereklidir (Baker AR ve ark 1988).50 kda ağırlığında nükleer bir reseptör olan VDR hücre siklusu, apoptoz ve farklılaşmayı içeren pek çok kompleks genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol almaktadır. VDR 12q13.1 bölgesine yerleşmiş, >100 kb uzunluğunda bir gen lokusu tarafından kodlanır(Labuda M ve ark 1992).VDR geni iki promoter bölge, sekiz protein kodlayan ekson ve altı adet tanımlanmamış eksondan oluşmaktadır (Baker AR ve ark 1988). VDR'nin DNA üzerindeki etkilerini gerçekleştirebilmesi için retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerik bir kompleks oluşturması gerekmektedir.Vitamin D₃ aracılı etkiler, ligand-VDR-RXR kompleksinin, vitamin D ilişkili genlerin promoter bölgelerinde bulunan, vitamin D'ye yanıt veren elemanlar (vitamin D responsive elements=VDRE) olarak adlandırılan bölgelere bağlanması ile ortaya çıkar (Labuda M ve ark 1992; Yu VC ve ark 1991).

VDR polimorfizmi

Gen polimorfizmi, aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir. Bir veya daha fazla bazın diziyeye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) sonucu meydana gelebilir. 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. Bundan daha az rastlanan aleller mutasyon olarak adlandırılır ve polimorfizmlere göre çok daha nadirdir. Polimorfizmin etkisi yerleşim yerine bağlıdır. Genin kodlanan bölgesindeki polimorfizmler protein yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Genin promoter bölgesinde transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için uygun DNA motifleri vardır. Bu bölgede meydana gelen polimorfizmler transkripsiyon faktörlerinin bağlanmalarını veya bağlanma etkinliklerini değiştirebilir. mRNA kopyasının kalıcılığını ve dayanıklılığını belirleyen 3'UTR bölgesindeki

polimorfizmler mRNA kalıcılığını düzenleyen proteinlerin mRNA'ya bağlanmasını ve sentez edilen protein miktarının değişmesine sebep olabilir.

Uluslararası biyoteknoloji bilgi merkezi VDR geninde 30'dan fazla polimorfizm tanımlamıştır. Üzerinde en çok çalışılan dört mutasyon ApaI, BsmI, TaqI ve FokI'dir. Yapılan çalışmalar bu üç polimorfizmin de bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium=LD) gösterdiklerini ortaya koymaktadır. BsmI polimorfizmi intron 8'de adeninin yerine guaninin geçmesi ile oluşur.

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

BsmI kesim yapabilir

GAGCAGAGCCTGAGTATTGGGAATGCGCAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAAC
CTCGTCTCGGACTCATAACCCTTACGCGTCCGGACAGACACCGGGGTCCTTG

BsmI enziminin kesim bölgesi

GAGCAGAGCCTGAGTATTGGGAATGTGCAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAAC
CTCGTCTCGGACTCATAACCCTTACACGTCCGGACAGACACCGGGGTCCTTG

BsmI kesim yapamaz

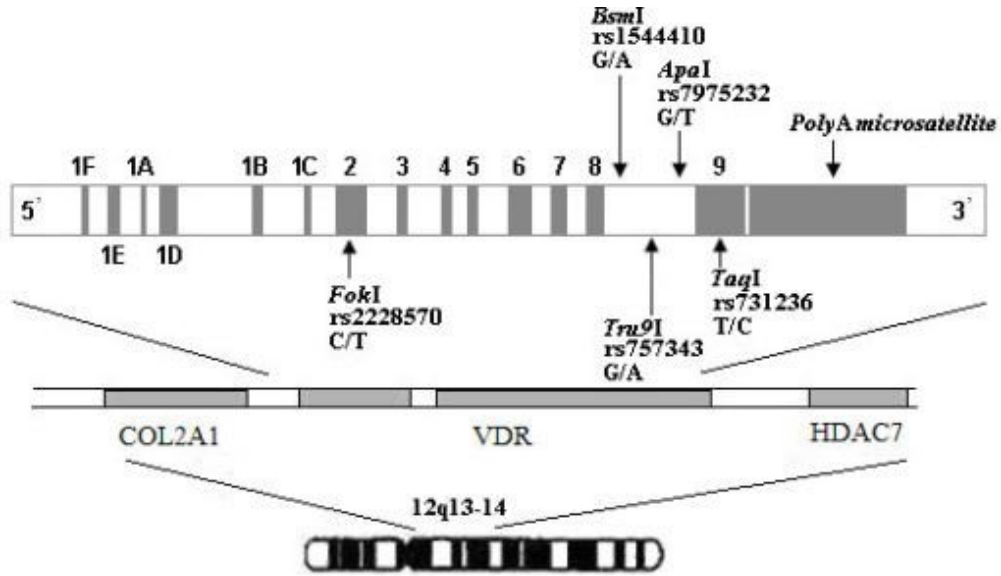
B= A alleli (- zincir'e göre), (+zincir'e göre T alleli)

Şekil-2: VDR BsmI polimorfizminde tek nükleotit değişimi

BsmI, VDR ile ilgili olarak ilk saptanan ve hakkında en çok çalışma yapılan polimorfizmdir. VDR'nin etkileri çok yaygın olduğu için kanser çeşitlerinden immünolojik ve romatolojik hastalıklara, obeziteden tuberküloz ve osteoporoz yatkınlığına kadar pek çok hastalıkla ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Genin hangi bölgesinde bulunduğu ile ilişkili olarak SNP'lerin etkileri birbirinden farklı olabilir. Ekzon bölgesindeki bir SNP protein ürününü değiştirebilir (non-sinonim). Kırılma (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 olduğu gösterilmiştir. VDR ifadesindeki bu düşüş VDR'nin hedef genlerindeki aktivitesini değiştirmekte ve BsmI polimorfizmi etkili olmaktadır(Luo XY ve ark 2012).

ApaI ve TaqI polimorfizmleri 3' UTR (3' untranslated region) bölgesinde gelişir. ApaI polimorfizmi intron 8 de timinin yerine guaninin geçmesi ile oluşur. TaqI polimorfizmi ise ekson 9 da sitozinin yerine timin geçmesi ile kodon değişimi ile sonuçlanır

fakat sentezlenen aminoasit (izolösin) değişmez. Bu polimorfizmler mRNA'nın stabilizasyonunda değişiklikle sonuçlanır. Ekson 2'de yer alan intron 1 bölgesinde sitozin yerine timin gelmesi ile oluşan FokI mutasyonu polimorfizmi timin yerine sitozin geçmesi ile başlangıç kodonunda değişikliğe yol açar ve sonuçta daha yüksek transkripsiyonel aktiviteye sahip olan 427 aminoasitli F aleli yerine 424 aminoasitli f aleli oluşur. (Uitterlinden AG ve ark 1996; Jurutka PW ve ark 2000; Arai H ve ark 1997)



Şekil-3: Vitamin D reseptör genindeki polimorfizm bölgeleri

2.1.17. Vitaminin D' nin İmmun Düzenleyici Etkisi

VDR T lenfositler, nötrofiller, antijen sunan hücreler (makrofaj, dendritik hücreler, vb.) gibi immün sistemin çoğu hücresinde bulunur (Provvedini DM ve ark 1983). Vitamin D'nin enfeksiyon, otoimmün hastalık, transplantasyon toleransını kontrol etmedeki etkinliği, 1,25(OH)₂D₃'ün monosit makrofaj, antijen sunan hücreler, dendritik hücreler ve lenfositler üzerindeki diferansiyasyon etkilerine bağlanabilir (Dusso AS ve ark 2005). Vitamin D₃'ün immün hücre fonksiyonlarını etkilediği in vitro ortamlarda da gösterilmiştir (Canning MO ve ark 2001). 1,25(OH)₂D₃ antijen sunan hücrelerin en potenti olan dendritik hücrelerin maturasyonunu inhibe eder ve T lenfositler üzerine direk etki ederek T hücre proliferasyonunu engeller (van Etten E ve ark 2005). VDR'lerin, T lenfositlerde yüksek konsantrasyonda mevcut olduğu gösterilmiş, aktive T lenfositlerinin önemli miktarda VDR içerdiği saptanmıştır (Provvedini DM ve ark 1983 , Hewison M ve ark 2004). Antijen ile uyarılmış insan ve mürin T lenfositlerinin proliferasyonları ve sitokin sekresyonları, invitro 1,25(OH)₂D₃'ün eklenmesiyle inhibe edilir (van Etten E ve ark 2005). Bu da

1,25(OH)₂D₃'ün T hücre aracılı immün yanıtlar üzerinde modülatör etkileri olduğunu göstermektedir. B lenfositlerinde, VDR 0sergilenmesi tam olarak gösterilemediği için, B hücre fonksiyonları üzerinde etkisi olmadığı düşünülmektedir (Veldman CM ve ark, 2000). Vitamin D3 miyeloid serinin diferansiasyonunda rol oynar. Birçok yayın immatür monositlerin olgun makrofajlara dönüşmesini Vitamin D₃'ün sağladığını göstermektedir (Manolagas SC ve ark 1990). Bu hormon; fagositoz, bakteri öldürme ve kemotaksis gibi makrofaj aktivitelerini de artırır (Canning MO ve ark 2001) ve monosit benzeri diğer hücrelerden TGF-β üretimini artırmaktadır. TGF-β immün hücrelerde hücre tipine, çevreye, diferansiasyon ve aktivasyon durumuna göre inhibitör ve stimülatör olabilir (Lyakh LA ve ark 2005). Vitamin D, siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p 21'in gen transkripsiyonunu indükler ve böylece monositlerden direk olgun makrofajlara diferansiasyonu sağlar (Liu M ve ark 1996). 1,25(OH)₂D₃ ayrıca antibakteriyel, antitümöral ve antiviral etkilerinde kritik rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan C/EBPβ (CCAAT/enhancerbinding protein-beta)'yı indükler. C/EBPβ'nın indüksiyonu, monositlerin makrofajlara farklılaşmasında, bakteriyel enfeksiyonlara karşı korunmada ve tümör gelişiminin engellenmesinde rol oynar (Ji Y ve ark 2004). 1,25(OH)₂D₃, hücre içi patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitede önemli rol oynayan TLR'lerin koreseptörü olarak görev gören CD14'ün ekspresyonunu da indükler (Heilborn JD ve ark 2003). Ekstrarenal 1 α-hidroksilaz (CYP27B1) aktive makrofajlar ve dendritik hücrelerce ekprese edilir ve primer olarak immün yanıtlarla özellikle de gama interferon ve TLR paternini tanıyıcı reseptör agonistlerince düzenlenir. Bu durum immün sistemi dolaşan 25-hidroksi vitamin D düzeylerine cevaplı hale dönüştürür (White JH2008). Liu ve arkadaşları mikrodizi çalışmalarında bakteriyel lipopeptidlerle uyarılan insan makrofaj TLR1/2 heterodimerlerinin hem CYP21B hem VDR ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir. Bu çalışma immün cevabın dolaşımdaki 25-hidroksi-vitamin D düzeylerine bağımlı olduğunu açıkça göstermiştir (Liu PT ve ark 2006). Benzer şekilde TLR4/CD14 reseptör kompleksinin lipopolisakkaritlerce uyarılması da CYP27B1 ekspresyonunu indükler (White JH 2008). CD14, TLR-4 ile birlikte, makrofajlarca, bakteriyel LPS'ye yönelik immün yanıtın indüklenmesinde önemli rol oynamaktadır (Liu PT ve ark 2006). TLR'nin LPS ile uyarılması, katelisin antimikrobiyal peptid (cathelicidin antimicrobial peptid=CAMP) ve defensin β2 gibi antimikrobiyal peptidlerin (AMP) ekspresyonunu uyarır (Medzhitov R. 2001). Makrofaj, monosit ve keratonositlerce üretilen ve bir antimikrobiyal peptid olan katelisin bakteri, mukobakteri, mantar ve virüslere karşı etkilidir. 1,25(OH)₂D katelisin sentezini stimüle etmektedir. Bakteriyel lipopolisakkarit ve mikobakterium tüberkülozis ile karşılaşan monosit ve makrofajlarda VDR geninin aktive olması ile artan 1,25(OH)₂D düzeyi katelisin üretiminde artmaya neden olur.

25(OH)D eksikliği olan bireylerde mikroorganizmalara karşı oluşan bu yanıt zayıflamış olarak görülür. (Liu PT ve ark 2006) AMP'ler bakteriyel, fungal ve viral atağa karşı doğal bağışıklığın öncüleridir ve direk olarak patojen membranlarının bütünlüğünü bozarak etki ederler (White JH. 2008). Enfeksiyonlara karşı primer savunmada rol oynayan, CAMP ve defensin β 2 genlerinin promotör bölgeleri, VDRE bölgeleri içermektedir (Wang TT ve ark 2004). TLR ailesinin görevi ökaryotlarda olmayan patojenlerin üzerindeki moleküler yapıları tanımadır. Patojenlerin üzerindeki bu moleküler yapılara patojen ilişkili moleküler paternler (PAMPs=pathogen associated molecular patterns) denir. TLR'nin PAMPs'ları tanıması, kemokin ve sitokinleri indükleyerek hem doğal hem kazanılmış bağışıklığın tetiklenmesine yol açar (Adams JS. 2006). Bu veriler insan makrofajlarında TLR aracılı antimikrobiyal yolların aktivasyonunun VDR ve 1,25(OH)₂D₃ aracılı olduğunu açıkça vurgulamaktadır. 1,25(OH)₂D₃, LPS ile birlikte veya tek başına, nötrofillerde de CAMP sergilenmesini indüklemektedir (Hewison M ve ark 2004). CAMP, antibiyotiğe dirençli patojenlere karşı savunmada temel rol oynamaktadır ve hayvan modellerinde de sepsise karşı direnci artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca T lenfosit, B lenfosit ve dendritik hücreler lokal olarak 1.25(OH)₂D üretebilmektedir. Vitamin D T hücre reseptörlerinde supresyon, sitokin profilinde değişim (IFN- γ ve IL-2 düzeylerinde azalma, TGF- β 1, IL4, IL5 ve IL10 düzeylerinde artma), Th1/Th2 oranında tersine dönme, Th17 hücrelerinde supresyon, IL17 üretiminde azalma; IL6, IL12, ve IL23 üretiminde supresyon; düzenleyici T hücre ve supresör T hücre aktivitesinde uyarılma; B hücre farklılaşmasında ve immünglobulin sentezinde baskınlanmaya yol açar. Tüm bu etkilerin sonucunda 1.25(OH)₂D nin inflamatuvar cevap, otoantikor üretimi ve tüm bunların sonucunda oluşan doku hasarında önemli role sahip olduğu anlaşılmıştır.

1.25(OH)₂D 'nin otoimmünite üzerine etkisine en uygun fenomen; immün toleransta 1.25 (OH)₂D 'nin dendritik hücreler üzerine etkisiyle ortaya çıkan koruyucu ve onarıcı rolüdür. Böylece 1.25(OH)₂D bu hücrelerin olgunlaşmasında farklılaşmasında migrasyonunda T regülatör hücrelerinin fonksiyon ve üretimini uyarmada, kritik bir immün sistem tolerans mediatörüdür (Kamen DL, Tangpricha V 2010; Griffin MD ve ark 2001; Lanzavecchia A, Sallusto F 2001).

Tablo 5: İmmün hücrelerde kalsitriolün etkileri

Dentritik hücreler	Azalmış proliferasyon Azalmış diferansiyasyon, yaşam süresi ve matürasyon Azalmış CD40, CD80, CD86, MHC-2: azalmış T hücre stimülasyonu Azalmış IL-12; Th1 cevabının indirek inhibisyonu Artmış IL-10 ve Fox-P3: Treg indüksiyonu Azalmış Th17 indüksiyonu
Makrofajlar	Azalmış IL-6 ve IL-23; azalmış Th17 cevabı Azalmış TNF ve IL1 Azalmış MHC-2; azalmış antijen sunumu Artmış cathelicidin, fagositoz ve hemotaksis Artmış enfeksiyona cevap situmilasyonu Azalmış TLRs 9/4/2
T hücreleri	Artmış IL-5±IL-4 transkripsiyonu Artmış Th2 cevabı stünilasyonu Azalmış Th1 hücre proliferasyonu, azalmış IL-2 ve IFNy, azalmış Th1 cevabı Artmış IL-10 üretimi (Tr1 hücrelerinde) Azalmış Th17 diferansiyasyonu ve IL-17 üretimi Azalmış CD8 hücre sitotoksitesi
B hücreleri	Azalmış proliferasyon Azalmış diferansiyasyon (plazma hücrelerine) Azalmış Ig üretim

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Hasta Seçimi

2007-2014 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji bölümünde ESPGHAN kriterleri doğrultusunda tanı konan 105 Çölyak hastası çocuk (77 kız, 28 erkek) çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalar pediatrik gastroenterolog tarafından değerlendirilerek yaş, cinsiyet, klinik bulgular, soygeçmiş verileri kaydedildi. Klinik bir şikayeti olmayan, serolojisi negatif olan ve ailelerinde çölyak hastalığı öyküsü bulunmayan 100 sağlıklı çocuk (56 kız, 44 erkek) kontrol grubu olarak seçildi.

Çölyak Hastalığı için ESPGHAN tanı kriterleri

1. ÇH düşündürülen öykü ve klinik bulguların olması
2. ÇH düşündürülen serolojik inceleme sonuçları
3. ÇH ile uyumlu histolojik bulgular
4. Glutensiz diyet sonrası kesin klinik ve serolojik düzelme
5. Olguların iki yaşından büyük olması

6. ÇH ile benzerlik gösteren diğer durumların ayırt edilmesi.) Revised criteria for diagnosis of coeliac disease (Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Arch Dis Child 1990).

Tanı anında hastaların endoskopik intestinal biopsileri histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Villöz atrofinin derecesi Modifiye Marsh Kriterlerine göre sınıflandırılmıştır.

- I. Normal villus yapısı ile birlikte artmış intraepitelyal lenfosit (İELOzis)
 - II. İELOzis ve kript hiperplazisine eşlik eden kısalmış villus yapısı
 - III. İELOzis ve kript hiperplazisi ile a) hafif b) tamamen c) düzleşmiş mukoza
 - IV. Atrofik mukoza (kript hipoplazisi ve hafif inflamasyonla olan düz mukoza)
- (Marsh MN 1992.)

Çalışma protokolü için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesinden izin alındı.

Hasta grubu ile sağlık problemi olmayan kontrol grubunu oluşturan çocuklar ve ailelerinden onam alındı.

3.2.Kullanılan Yöntemler

DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)'li tüplere alındı. DNA izolasyonu için dört farklı solüsyon kullanıldı. Bu solüsyonlar; RBC solüsyonu, cell lysis solüsyonu, protein precipitation solüsyonu, DNA hidrasyon solüsyonu. İki adet 2000 ul lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine hastanın ismi yazıldı. Tüplerden birine 900 ul RBC solüsyonu konuldu ve üzerine 300 ul tam kan ilave edilip en az 5 dk beklendi. Süre sonunda 14000 rpm de 20 sn santifrüj edildi. Tüp santifrüjden çıkarılıp süpernatant döküldü. Tüpün dibinde beyaz hücre pelleti makroskobik olarak görüldü. Tüpteki pelletin üzerine 300 ul cell lysis solüsyonu eklenip pipetajlandı, sonra üzerine 100 ul protein precipitation solüsyonu konuldu ve vortekslendi. 14000 rpm de 1 dk santifrüj edildi. Diğer boş ependorf tüpüne 300 ul isopropanol alkol konuldu. Santifrüjden çıkarılan tüpün üzerindeki süpernatant, isopropanol alkol konulmuş olan diğer ependorf tüpüne alındı ve tüpün kapağı kapatılarak 40-50 defa alt-üst edildi ve DNA makroskobik olarak görüldü. Tüp tekrar santifrüjde 14000 rpm de 1 dk çevrildi. Tüp içerisindeki alkol dökülüp üzerine %70 lik etanol konuldu. 14000 rpm de 1 dk santifrüj edilen tüpün içindeki etanol iyice döküldü. Üzerine 150-250 ul DNA hidrasyon solüsyonu konuldu ve en az 5dk, en fazla 1 saat 65 C de hot-platede bekletildi. Böylece DNA hazır hale getirilmiş oldu.

VDR Geni FokI (rs10735810) ve BsmI (rs1544410) Polimorfizmlerinin Taranması

VDR geninde yer alan polimorfizmlerin analizi için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) nükleik asitlerin in-vitro olarak çoğaltılması yöntemidir. PCR tüpü içindeki çift zincirli örnek DNA'sı ısısız 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. Yapılan PCR ' da son konsantrasyonu 0,6 pikomol/µl olacak şekilde primer çifti kullanılmıştır. Diğer PCR bileşenleri; 10 mM Tris-HCl (25 °C pH: 8,8), 50 mM KCl, son konsantrasyonu 0,2 mM olacak şekilde deoksinükleotittrifosfatlar [dATG, dGTP, dCTP, dTTP (Fermentas, Litvanya)] ve 15 mM MgCl₂' dür. Toplam hacim 25 µl' ye ddH₂O ile tamamlanarak PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

VDR BsmI polimorfizmini içeren gen bölgesi;

5'- CAA CCA AGA CTACAA GTA CCG CGT CAG TGA-3'

5'- AAC CAG CGG GAAGAG GTC AAG GGA-3';

FokI polimorfizmini içeren gen bölgesi;

5'- AGC TGG CCCTGG CAC TGA CTC TGC TCT-3' 5'-

ATG GAA ACA CCTTGC TTC TTC TCC CTC-3'

primerleri kullanılarak PCR tekniği ile çoğaltılmış, amplifikasyon sonunda BsmI polimorfizmi için 825bp'lik, FokI polimorfizmi için 265 PCR ürünleri elde edilmiştir.

PCR'da sıcaklık koşulları; 95 °C' de 5 dk denatürasyon, 40 döngü olarak 95 °C' de 1 dk denatürasyon, 60°C' de 1 dk hibridizasyon, 72 °C' de uzama ve 72 °C' de 7 dk son uzama olarak gerçekleştirilmiştir (T100, Biorad).

PCR sonrası PCR ürünleri %2'lik agoroz jele 5µl yüklenerek agoroz jel elektroforezinde kontrol edilmiş; doğru gen bölgesinin amplifikasyonu görülmüşse restriksiyon endonükleaz ile kesim işlemi yapılmıştır.

PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz İle Kesimi

VDR BsmI ve FokI polimorfizmlerinin taranması için sırası ile BsmI ve FokI enzimleri kullanılmıştır. 12,5 µl hacimdeki PCR ürünü 33mM Tris-asetat, 10mM Magnezyum asetat, 66 mM Potasyum asetat ve 0,1 mg/ml BSA (37 C,pH:7,9) içeren RE tamponu ve her birey için 10 ünite/µl uygun enzim olacak şekilde hazırlanan tamponenzim

karışımı ile muamele edilmiştir. PCR ürünü-enzim-tampon karışımı enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 37°C'de 14-16 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Agoroz Jel Elektroforezi

Restriksiyon enzim kesim sonuçları %3' lük agoroz jelde değerlendirilmiştir. Uygun enzim ile kesim yapılmış ürünler orange G ile muamele edilerek jele yüklenmiştir. 90-100V akımda 30-50 dk kadar yürütülmüş (Biogen, ABD) sonuçlar ultraviyole ışıktta incelenmiştir.

Örnekler UV ışık altında değerlendirildiğinde;

BsmI polimorfizmi için bb olan bireylerde 649 ve 176 bç'lik, BB olan bireylerde 825 bç'lik, Bb olan bireylerde 825, 650, 175 bç'lik bantlar görülmüştür.

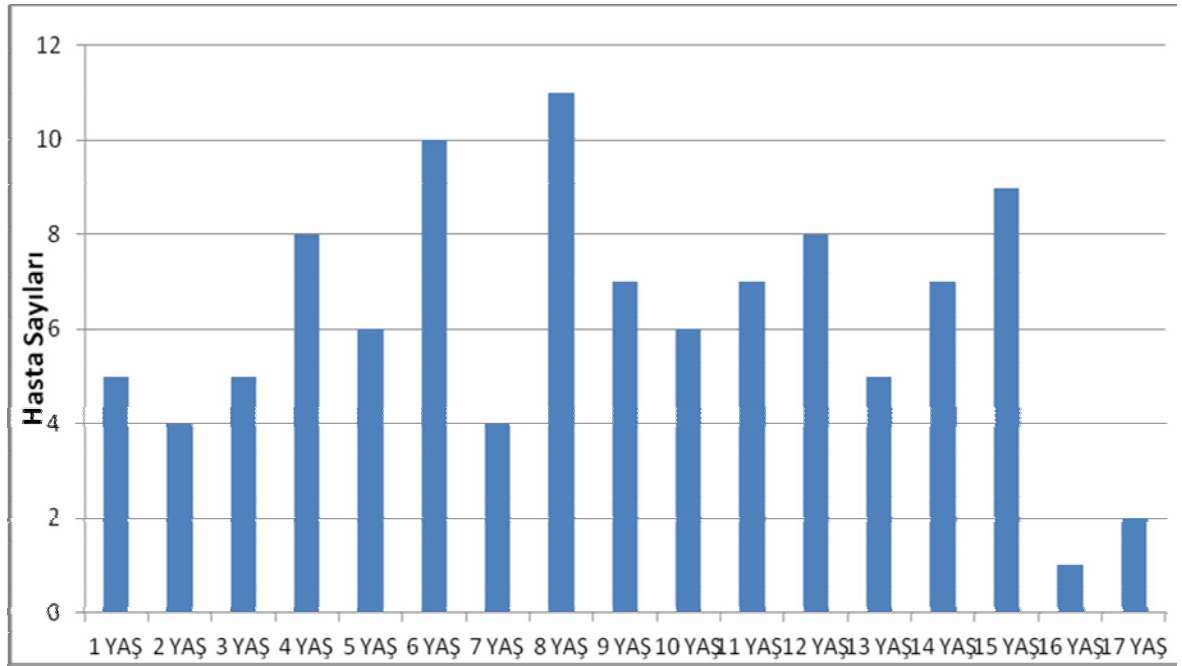
FokI polimorfizmi için ff olan bireylerde 196, 69 bç'lik, FF olan bireylerde 265 bç'lik, Ff olan bireylerde 265, 196, 69 bç'lik bantlar görülmüştür.

İstatistiksel Analiz

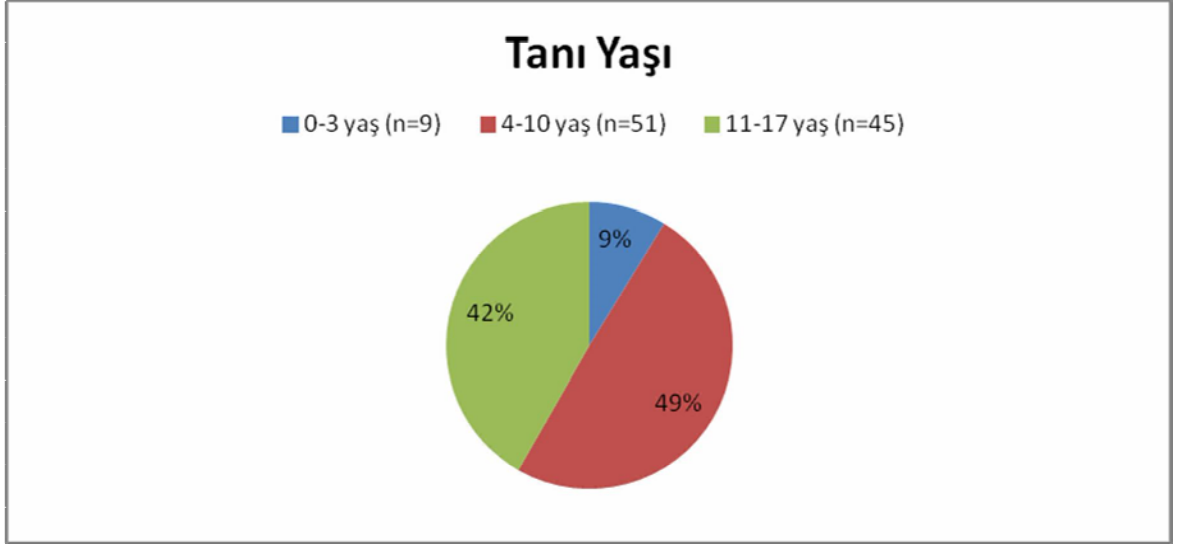
Veriler elektronik ortama aktarıldı ve SPSS 18.0 programı kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Tüm grupların tanımlayıcı ve sıklık analizleri yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında kategorik verilerin analizinde ki-kare testi, sürekli verilerin analizinde T-testi ve kruskal wallis varyans analizi kullanıldı. VDR polimorfizmleri ile çölyak hastalığı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Odds ratio(OR) ve %95 güven aralığı(CI) hesaplanarak ki-kare testi kullanıldı. Allel gruplarının karşılaştırılmasında $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

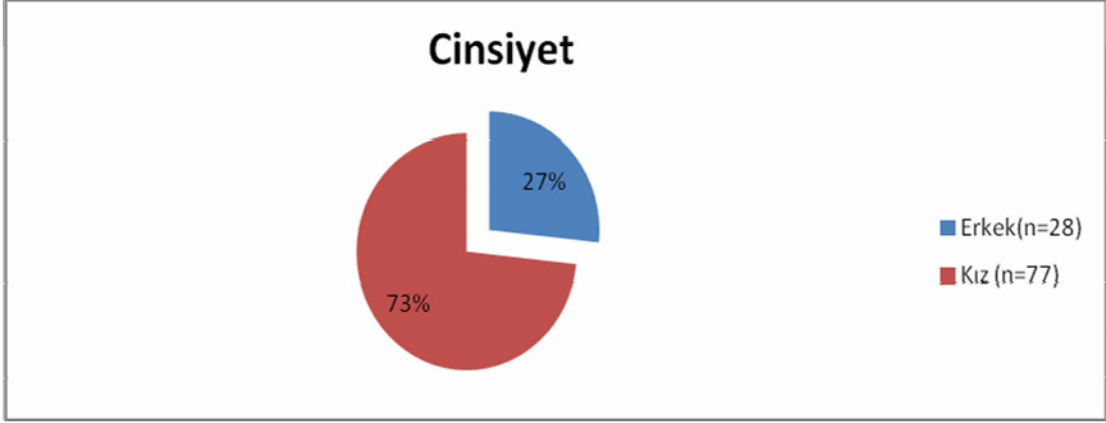
Çalışmaya hasta grubu olarak Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda takipli 105 çölyak hastalığı olan çocuk alındı. Çalışma grubumuzda 105 ÇH ortalama tanı yaşı $9,2 \pm 4,18$ yıl (16ay-18 yıl) idi. Tanı yaşına göre ve yaş gruplarına göre hasta sayıları şekil-4 ve 5'te gösterilmiştir. Çalışma grubundaki çocukların %73,3'ü (n=77) kız, %26,7 (n=28) erkek cinsiyette idi (Şekil-5). Çalışma grubundaki çocukların %58 (n=61)'i Marsh evre 3, %42 (n=44)'si Marsh evre 4 idi (Şekil-6).



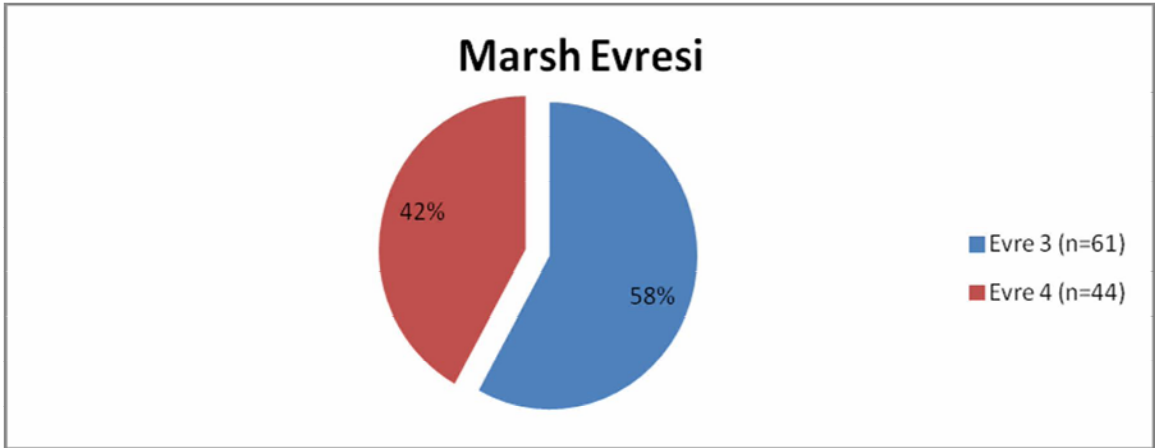
Şekil-4: Tanı yaşına göre hasta sayıları



Şekil-5: Tanı yaş gruplarına göre hasta sayıları



Şekil-6: Cinsiyete göre hasta sayıları



Şekil-7: Marsh evresine göre hasta sayıları

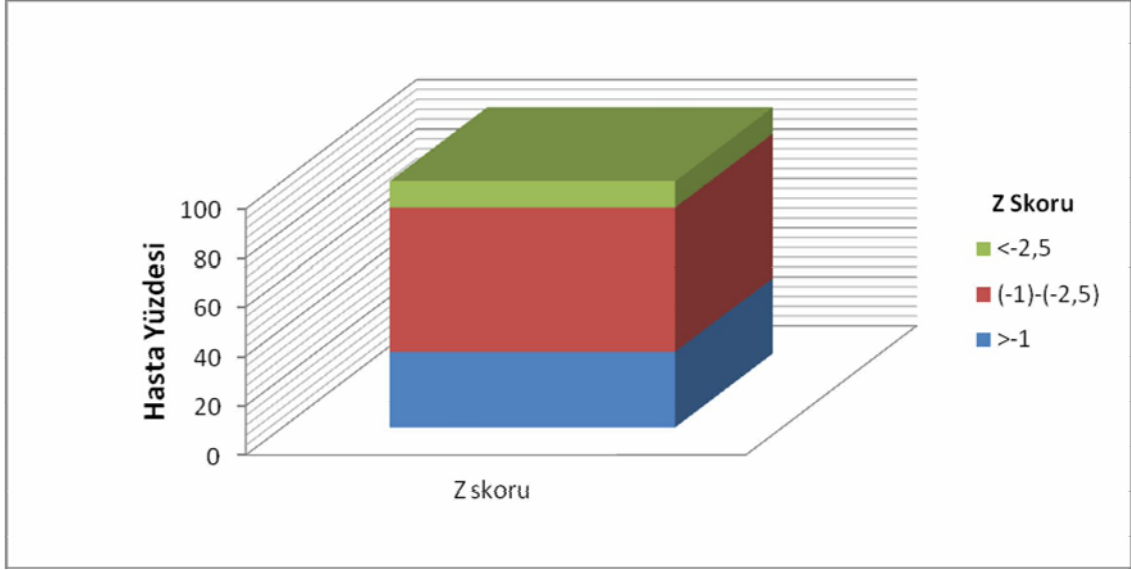
Hasta grubundan elde edilen verileri karşılaştırmak için 100 sağlıklı çocuk kontrol grubu oluşturuldu. Hasta grubunun yaş ortalaması $12,8 \pm 4,18$ yıl(ort \pm SD), medyan yaş 14,3, kontrol grubunun yaş ortalaması $9,3 \pm 4,17$ yıl, medyan yaş 10.5 olarak bulundu.

Hasta ve kontrol grubunda yaşlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0,842$). Çalışma grubunun %73,3 (n=77)'ü kız, %26,7 (n=28)'si erkek; kontrol grubunun %56 (n=56)'sı kız, %44 (n=44)'ü kız cinsiyette idi, her iki grup arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0,09$). Tablo-6'da hasta ve kontrol grupları yaş ve cinsiyet ilişkisi gösterilmiştir.

Tablo-6: Hasta ve kontrol grupları demografik özellikleri karşılaştırılması

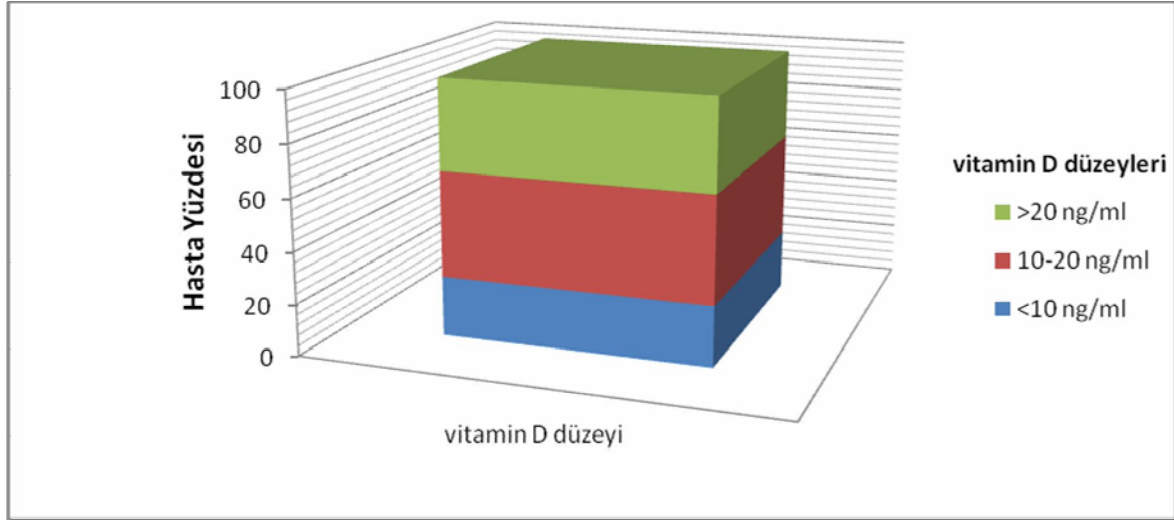
	Hasta Ortalama \pm SD (n=105)	Kontrol Ortalama \pm SD (n=100)	p değeri
Yaş (yıl)	12.8 \pm 4.18	9.3 \pm 4.17	0,842
Cinsiyet Erkek % (n)	%26,7(28)	%44(44)	0,09
Kız % (n)	%73,3(77)	%56(56)	

Tanı anında 75 hastada kemik mineral yoğunluğu ölçümü yapıldı. Z skoru ortalaması $-1,5 \pm 0,88$, medyan değer $-1,5$ ((0,6)-(-3,8)) bulundu. Z skorları hastaların %30,7 (n=22)'sinde -1'den yüksek, %58,7 (n=44)'sinde -1 ile -2,5 arasında, %10,6 (n=8)'sında 2,5'tan düşük idi.



Şekil-8: Z skoru değerlerine göre hasta sayıları

Tanı anında 51 hastadan bakılan vitamin D düzeyi ortalaması $19,5 \pm 12,4$ ng/ml, medyan değer 17,25 (3,8-62) ng/ml bulundu. Vitamin D değerleri hastaların %23,5 (n=12)'inde 10 ng/ml'nin altında, %41,2 (n=21)'sinde 10-20 ng/ml arasında, %35,5 (n=18)'inde 20 ng/ml'nin üstünde normal olarak bulundu.



Şekil-9: Vitamin D düzeylerine göre hasta sayıları

Hastaların üçünde ek otoimmün hastalık, dokuzunda anne, baba ya da kardeşte çölyak hastalığı öyküsü bulunmaktaydı. Tablo-6'da çalışma grubunun genel özellikleri özetlenmiştir.

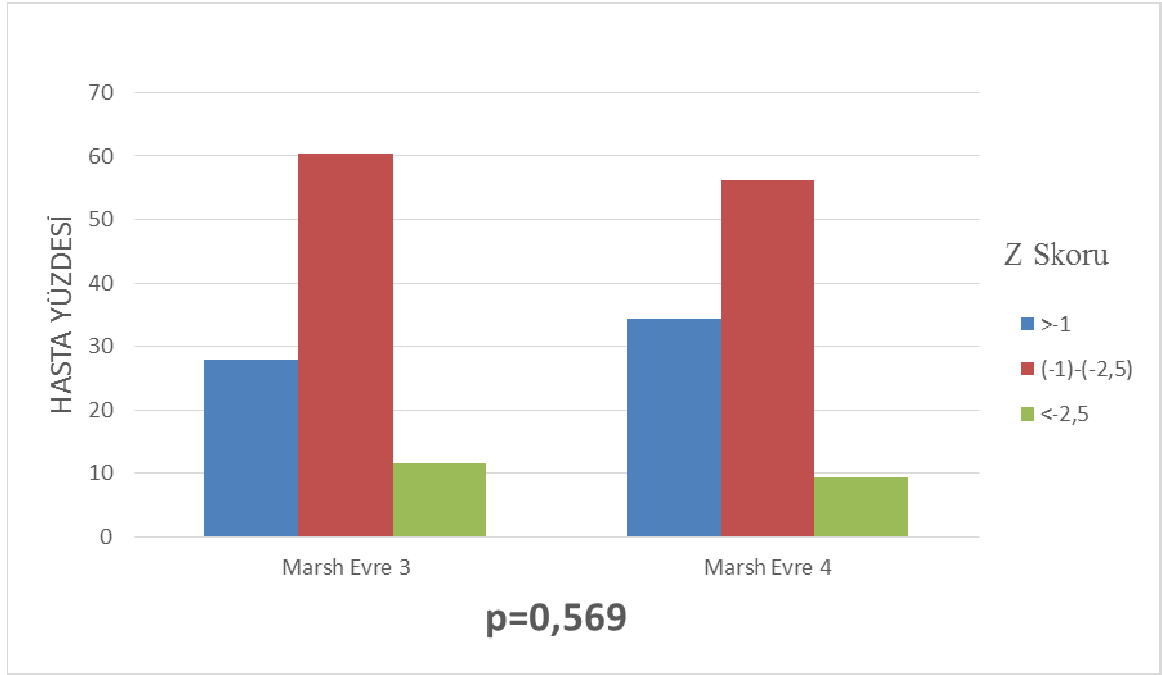
Tablo-7: Çalışma grubunun genel özellikleri

Yaş	9,2±4,18 yıl (16ay-18 yıl)		
Tanı Yaşı	0-3 yaş	4-10 yaş	11-17 yaş
	%9(n=9)	%49(n=49)	%42(n=45)
Cinsiyet	Kız		Erkek
	%73 (n=77)		%27 (n=28)
Marsh Evresi	Evre 3		Evre 4
	%58 (n=61)		%42 (n=44)
Ek Otoimmün Hastalık	%2,9 (n=3)		
Ailede Çölyak Varlığı	%8,6 (n=9)		
Vitamin D değerleri (n=51)	<10ng/ml	10-20 ng/ml	>20 ng/ml
	%23,5 (n=12)	%41,2 (n=21)	%35,5 (n=18)
Kemik Mineral Yoğunluğu Z Skorları (n=75)	>-1	(-1)-(-2,5)	<-2,5
	%30,7 (n=22)	%58,7 (n=44)	%10,6 (n=8)

Marsh evre 3 olan 43 hastanın kemik mineral yoğunluğu Z skoru ortalaması $1,5 \pm 0,87$, medyan değer $-1,6$ ($(-3,8)-(0,6)$) bulundu. Z skorları hastaların %11,6 ($n=5$)'sında $-2,5$ 'ten düşük, %60,4 ($n=26$)'ünde -1 ile $-2,5$ arasında, %28 ($n=12$)'inde 1 'den yüksekti.

Marsh evre 4 olan 32 hastanın kemik mineral yoğunluğu Z skoru ortalaması $1,4 \pm 0,90$, medyan değer $-1,4$ ($(-3,5)-(0)$) bulundu. Z skorları hastaların %9,4 ($n=3$)'ünde $2,5$ 'ten düşük, %56,2 ($n=18$)'sinde -1 ile $-2,5$ arasında, %34,4 ($n=11$)'ünde -1 'den yüksek idi (Şekil-9).

Marsh evre 3 ve 4 olan hasta grupları arasında kemik mineral yoğunluğu Z skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,569$).

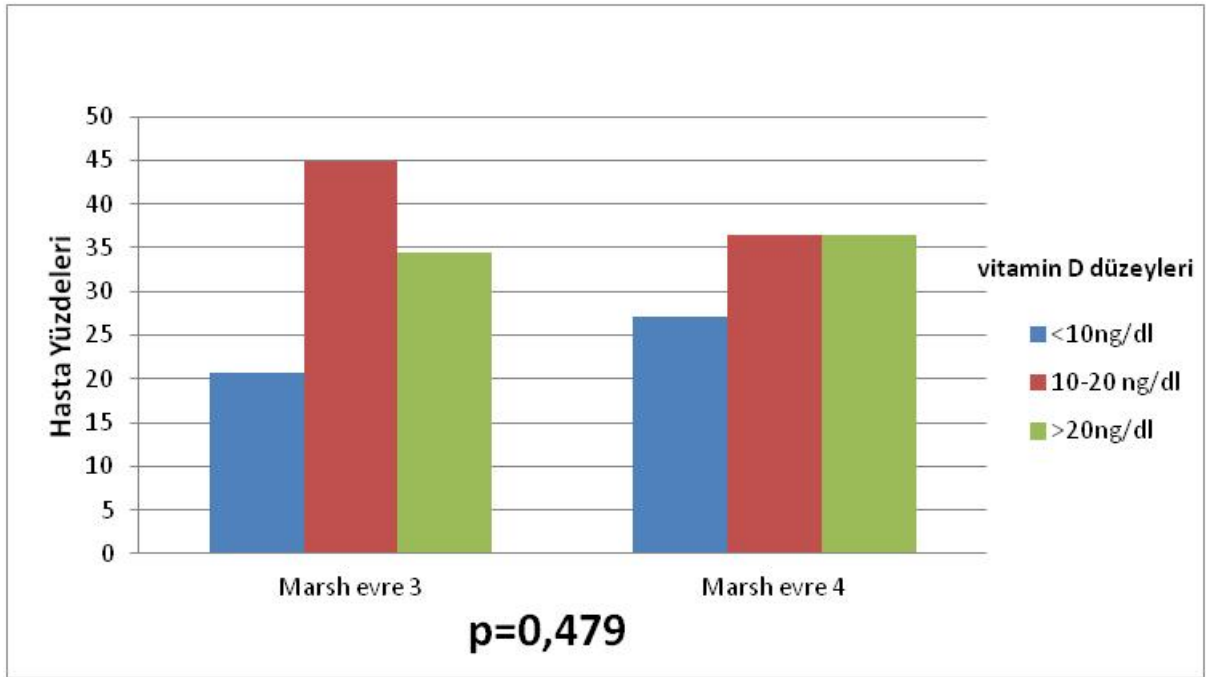


Şekil-10: Marsh Evreleri ve Z skorlarına göre hasta sayıları

Marsh evre 3 olan 29 hastanın vitamin D düzeyi ortalaması $20,6 \pm 12,95$ ng/ml, medyan değer 18,15 (3,8-62) ng/ml bulundu. Vitamin D değerleri hastaların %20,7 (n=6)'sinde 10 ng/ml'nin altında, %44,8 (n=13)'ünde 10-20 ng/ml, %34,5 (n=10)'ünde 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

Marsh evre 4 olan 22 hastanın vitamin D düzeyi ortalaması $18,2 \pm 11,80$ ng/ml, medyan değer 13,25 (3,8 -46) ng/ml bulundu. Vitamin D değerleri hastaların %27,3 (n=6)'ünde 10 ng/ml'nin altında, %36,4 (n=8)'ünde 10-20 ng/dl, %36,4 (n=8)'ünde 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

Marsh evre 3 ve 4 olan hasta grupları arasında vitamin D düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,479$).



Şekil-11: Marsh evreleri ve vitamin D düzeylerine göre hasta sayıları

Hasta ve kontrol grubunda VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri çalışıldı. Hasta grubundaki 105 hastanın BsmI polimorfizm analizinde %14,3 (n=15)'ü BB, %56,2 (n=59)'si Bb, %29,5 (31)'i bb genotipineydi. Kontrol grubundaki 100 çocuğun %12 (n=12)'si BB, %50 (n=50)'si Bb, %38 (n=38)'i bb genotipindeydi. Hasta ve kontrol grubunda BsmI polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,435) (Tablo-8).

Tablo-8: Hasta ve kontrol grupları BsmI polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması

BsmI Polimorfizmi Genotipi	Çalışma Grubu (n=105)	Kontrol Grubu (n=100)	P Değeri
BB	%14,3 (n=15)	%12 (n=12)	0,435
Bb	%56,2 (n=59)	%50 (n=50)	
bb	%29,5 (n=31)	%38 (n=38)	

Hasta grubundaki 105 hastanın FokI polimorfizm analizinde %50,5 (n=53)'i FF, %41,9 (n=44)'u Ff, %7,6 (8)'sı ff genotipineydi. Kontrol grubundaki 100 çocuğun %48 (n=48)'si FF, %43 (n=43)'si Ff, %9 (n=9)'i ff genotipindeydi. Hasta ve kontrol grubunda BsmI polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı(p=0,907) (Tablo-9).

Tablo-9: Hasta ve kontrol grupları FokI polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması

FokI Polimorfizmi Genotipi	Çalışma Grubu (n=105)	Kontrol Grubu (n=100)	P Değeri
FF	%50,5 (n=53)	%48 (n=48)	0,907
Ff	%41,9 (n=44)	%43 (n=43)	
ff	%7,6 (n=8)	%9 (n=9)	

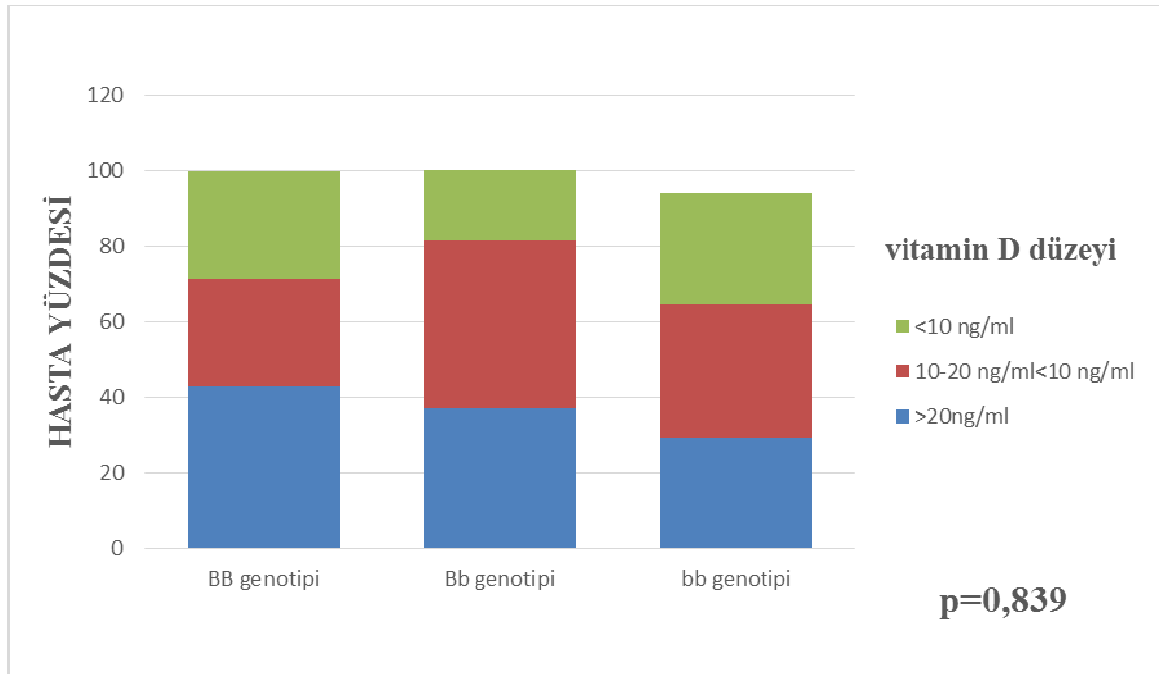
51 hastanın tanı anındaki Vitamin D düzeyleri ile BsmI ve FokI polimorfizmi genotipleri karşılaştırıldı.

BB genotipindeki hastaların vitamin D düzeyi ortalaması $19,9 \pm 12,4$ ng/ml, medyan değer 16,2 (3,8 -40) ng/ml bulundu. Vitamin D düzeyleri hastaların %28,5 (n=2)'inde 10ng/ml'nin altında, %28,5 (n=2)'inde 10-20 ng/ml, %42 (n=3)'sinde 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

Bb genotipindeki hastaların vitamin D düzeyi ortalaması $21,4 \pm 14,1$ ng/ml, medyan değer 15,8 (4,3-62) ng/ml bulundu. Vitamin D düzeyleri hastaların %18,5 (n=5)'inde 10ng/ml'nin altında, %44,4 (n=12)'ünde 10-20 ng/ml, %37,1 (n=10)'inde 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

bb genotipindeki hastaların vitamin D düzeyi ortalaması $16,4 \pm 9,34$ ng/ml, medyan değer 17,25 (3,8-35,7) ng/ml bulundu. Vitamin D düzeyleri hastaların %29,4 (n=5)'ünde 10 ng/ml'nin altında, %35,2 (n=6)'sinde 10-20 ng/ml, %29,4 (n=5)'ünde 20 ng/ml'nin üzerinde idi (Şekil-11).

BsmI polimorfizmi genotipleri arasında vitamin D düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,839$).



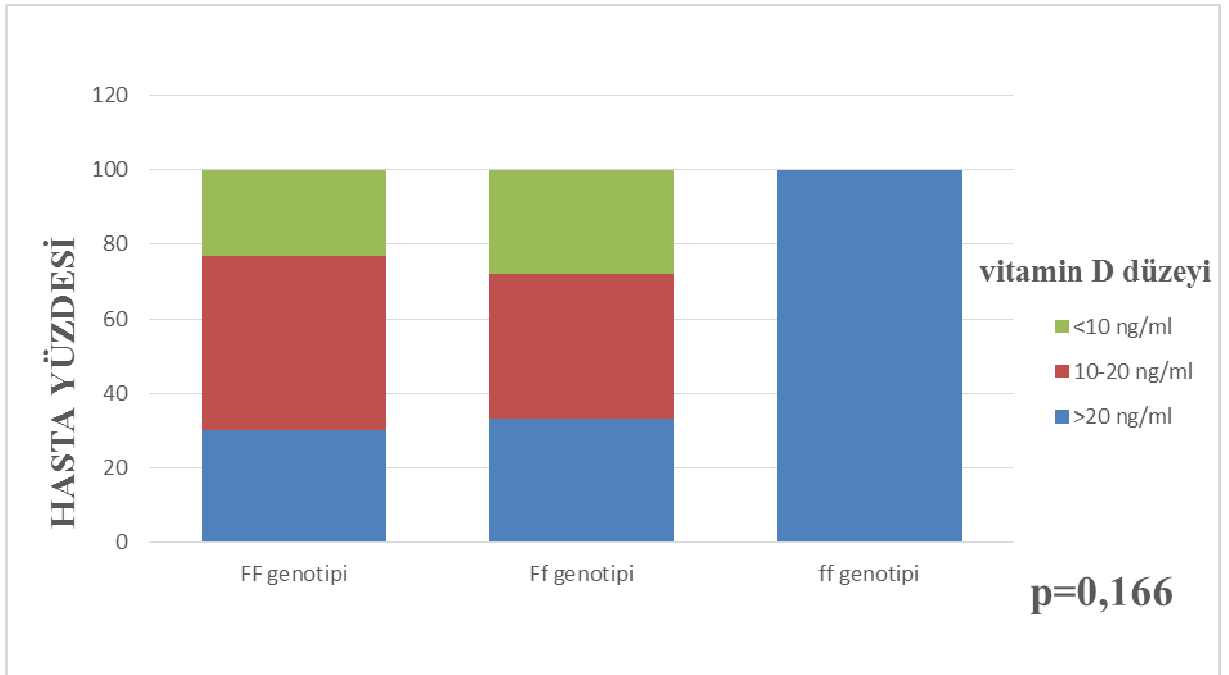
Şekil-12: BsmI polimorfizmi genotiplerinde vitamin D düzeyleri

FokI polimorfizmi FFgenotipindeki hastaların vitamin D düzeyi ortalaması $18,5 \pm 12,73$ ng/ml, medyan değer 16,6 (3,8 -62) ng/ml bulundu. Vitamin D düzeyleri hastaların %23,3 (n=7)'ünde 10 ng/ml'nin altında, %46,7 (n=14)'sinde 10-20 ng/ml, %30 (n=9)'unda 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

Ff genotipindeki hastaların vitamin D düzeyi ortalaması $19,2 \pm 11,9$ ng/ml, medyan değer 16,45 (5 -44,8) ng/ml bulundu. Vitamin D düzeyleri hastaların %27,8 (n=5)'inde 10 ng/ml'nin altında, %38,9 (n=7)'unda 10-20 ng/ml, %33,3 (n=6)'ünde 20 ng/ml'nin üzerinde idi.

ff genotipindeki üç hastanın da vitamin D düzeyleri 20 ng/ml'nin üzerinde idi (27,3-28-40 ng/ml) (Şekil 12).

FokI polimorfizmi genotipleri arasında vitamin D düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p=0,166).



Şekil-13: FokI polimorfizmi genotiplerinde vitamin D düzeyleri

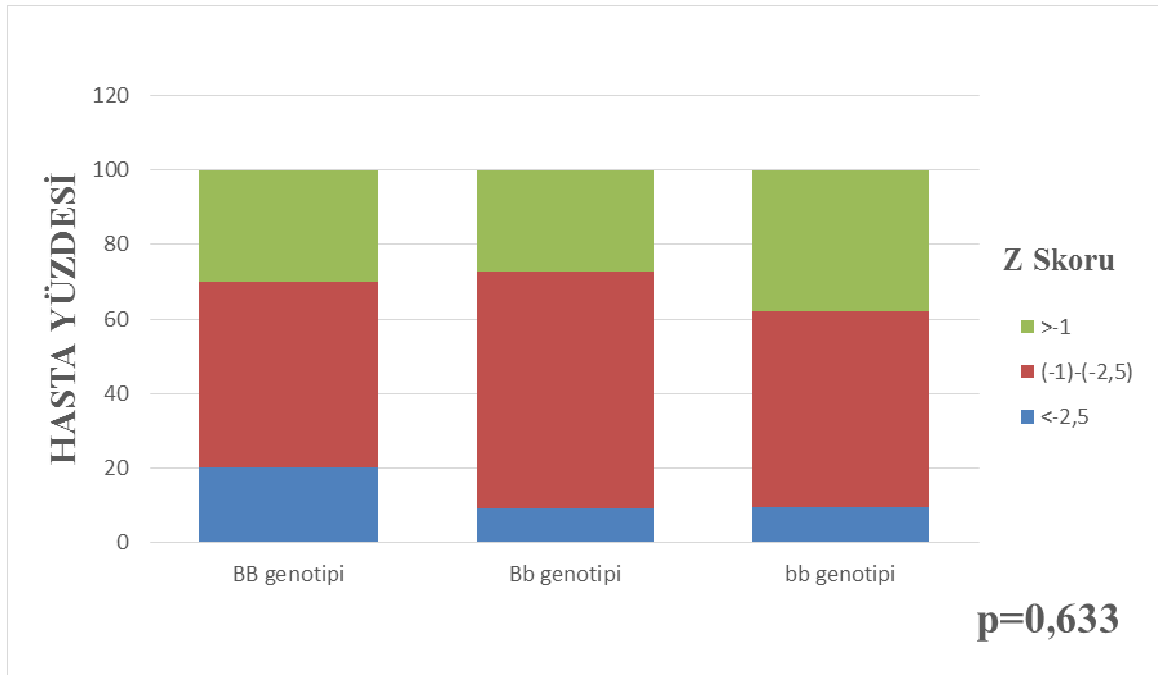
75 hastanın tanı anındaki kemik mineral yoğunluğu ölçümü ile elde edilen Z skorları BsmI ve FokI polimorfizmi genotipleri ile karşılaştırıldı.

BsmI polimorfizmi BB genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,56 \pm 0,95$, medyan değeri $-1,45$ ($(-3,4)$ - $(-0,1)$) bulundu. Z skoru hastaların %30 (n=30)'unda -1 'den yüksek, %50 (n=5)'sinde -1 ile $-2,5$ arasında, %20 (n=2)'sinde $-2,5$ 'den düşüktü.

Bb genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,57 \pm 0,88$, medyan değeri $-1,6$ ($(3,8)$ - $(0,6)$) bulundu. Z skorları hastaların %27,3 (n=12)'ünde -1 'den yüksek, %63,6 (n=28)'sında -1 ile $-2,5$ arasında, %9,1 (n=4)'inde $-2,5$ 'den düşüktü.

bb genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,38 \pm 0,87$, medyan değeri $-1,45$ ($(3,5)$ - $(0,3)$) bulundu. Z skorları hastaların %38,1 (n=8)'inde -1 'den yüksek, %52,4 (n=11)'ünde -1 ile $-2,5$ arasında, %9,5 (n=2)'inde $-2,5$ 'den düşüktü (Şekil-13).

BsmI polimorfizmi genotipleri arasında Z skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,633$).



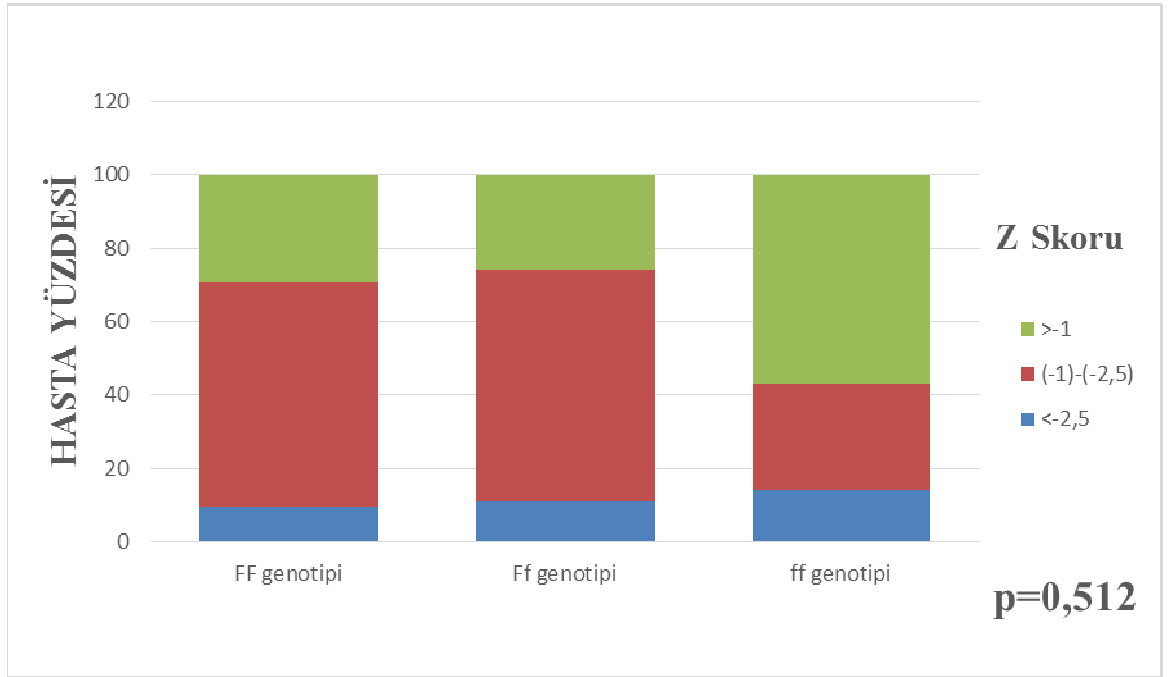
Şekil-14: BsmI polimorfizmi genotiplerinde kemik mineral yoğunluğu ölçümü Z skoru değerleri

FokI polimorfizmi FF genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,49 \pm 0,91$, medyan değeri $-1,5$ ($(-3,8)-(0,6)$) bulundu. Z skoru hastaların %29,3 (n=12)'ünde -1'den yüksek, %61 (n=25)'inde -1 ile -2,5 arasında, %9,7 (n=4)'sinde -2,5'den düşüktü.

Ff genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,64 \pm 0,86$, medyan değeri $-1,8$ ($(3,4)-(0)$) bulundu. Z skorları hastaların %25,9 (n=7)'unda -1'den yüksek, %63 (n=17)'ünde -1 ile -2,5 arasında, %11,1 (n=3)'inde -2,5'den düşüktü.

ff genotipindeki hastaların Z skoru ortalaması $-1,3 \pm 0,86$, medyan değeri $-1,05$ ($(2,8)-(-0,5)$) bulundu. Z skorları hastaların %57,1 (n=4)'inde -1'den yüksek, %28,6 (n=2)'sında -1 ile -2,5 arasında, %14,3 (n=1)'ünde -2,5'den düşüktü (Şekil-14).

FokI polimorfizmi genotipleri arasında Z skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,512$).



Şekil-15: FokI polimorfizmi genotiplerinde kemik mineral yoğunluğu ölçümü Z skoru değerleri

Marsh evre 3 hastaların BsmI polimorfizmi genotip dağılımı; %13,1 (n=8) BB, %60,7 (n=37) Bb, %26,2 (n=16) bb şeklindeydi. Marsh evre 4 hastaların genotip dağılımı; %16 (n=7) BB, %50 (n=22) Bb, %34 (n=15) bb şeklindeydi. Marsh evre 3 ve Marsh evre 4 olan hastaların BsmI genotipleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,786).

Marsh evre 3 ve evre 4 olan hastaların BsmI polimorfizmleri genotipik dağılımları ve hasta sayıları Tablo-10'da özetlenmiştir.

Tablo-10: Marsh Evre 3 ve 4 BsmI polimorfizmi genotip sayıları

	BB(n=15)	Bb(n=59)	bb(n=31)	p Değeri
Marsh Evre 3	%13,1 (n=8)	%60,7 (n=37)	%26,2 (n=16)	0,786
Marsh Evre 4	%16 (n=7)	%22 (n=50)	%34 (n=15)	

Marsh evre 3 hastaların FokI polimorfizmi genotip dağılımı; %54 (n=33) FF, %41 (n=25) Ff, %5 (n=3) ff şeklindeydi. Marsh evre 4 hastaların FokI polimorfizmi genotip dağılımı; %45,4 (n=20) FF, %43,2 (n=19) Ff, %11,4 (n=15) ff şeklindeydi. Marsh evre 3 ve Marsh evre 4 olan hastaların FokI genotipleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,406).

Marsh evre 3 ve evre 4 olan hastaların FokI polimorfizmleri genotipik dağılımları ve hasta sayıları Tablo-11'de özetlenmiştir.

Tablo-11: Marsh Evre 3 ve 4 FokI polimorfizmi genotip sayıları

	FF(n=53)	Ff(n=44)	ff(n=8)	p Değeri
Marsh Evre 3	%54 (n=33)	%41 (n=25)	%5 (n=3)	0,406
Marsh Evre 4	%45,4 (n=20)	%43,2 (n=19)	%11,4 (n=5)	

SONUÇLARIN ÖZETLERİ

1. Çalışmamızda yer alan 105 çölyak hastası çocuktan oluşan hasta grubu ve 100 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu.
2. Hasta grubunun %9'u 0-3, %49'u 4-10, %42'si 11-17 yaş aralığında tanı almıştı.
3. Hasta grubunun tanı anında kemik mineral yoğunluğu Z skoru ortalaması $1,5 \pm 0,88$ SD, vitamin D düzeyi ortalaması $19,5 \pm 12,4$ ng/ml idi.
4. Marsh evre 3 ve evre 4 olan gruplarda vitamin D düzeyleri ve KMY Z skoru değerleri açısından farklılık bulunmadı.
5. Hasta ve kontrol gruplarında VDR BsmI ve FokI polimorfizmi genotipleri dağılımları benzerdi ve aralarında istatistiksel fark bulunmadı.
6. Hasta grubunda BsmI genotipleri arasında vitamin D düzeyleri benzerdi ve istatistiksel olarak fark bulunmadı.
7. Hasta grubunda FokI genotipleri arasında vitamin D düzeyleri benzerdi ve istatistiksel olarak fark bulunmadı.
8. Hasta grubunda BsmI genotipleri arasında KMY Z skoru değerleri benzerdi ve istatistiksel olarak fark bulunmadı.
9. Hasta grubunda FokI genotipleri arasında KMY Z skoru değerleri benzerdi ve istatistiksel olarak fark bulunmadı.
10. Marsh evre 3 ve evre 4 olan gruplarda BsmI ve FokI polimorfizmi genotip dağılımları benzerdi ve aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı.

5.TARTIŞMA

Çölyak hastalığı buğday, arpa, çavdar aracılığıyla gluten veya glutenle ilişkili protein alımından sonra ince bağırsak malabsorpsiyonu ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (Trier J. 2000). Çölyak hastalığının patogeneğinde intestinal mukozanın glutene hassasiyeti yatmaktadır. Glutenin mukozaya verdiği hasarın moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Klinik bulgular değişken çevresel, genetik ve immün etkenlere bağlı olarak çeşitlilik gösterir. Sık rastalanan bağırsak dışı bulgular arasında anemi, büyüme geriliği, menstural bozukluklar, infertilite, osteopeni, nörolojik semptomlar, tekrarlayan spontan abortuslar, aftöz stomatit, dermatitis herpatiformis ve diş bozuklukları sayılabilir (Ribaldone D. G ve ark 2011). Önceleri diyare gibi gastrointestinal yakınmalar, kilo kaybı ve büyümede gerilik gibi klasik semptomlarla prezante olduğu düşünülerek tanınan ÇH'nın günümüzde hiç semptomsuz olabileceği gibi oldukça atipik semptomlarla da prezante olabildiği bilinmektedir. Atipik formların tanısı yıllarca konulamayabilir ve kalsiyum, vitamin D düzeylerinde düşüklük ile kemik mineral yoğunluğunda azalmayla sonuçlanabilir (Rampertab S. D ve ark 2006).

Sağlıklı kemik gelişimi ve immün sistem regülasyonunda major rol oynayan vitamin D ÇH'nda sıklıkla düşük seviyelerde tespit edilmektedir. Glutensiz diyetle başlamamış olan çölyak hastalarında intestinal mukozada gelişen villöz atrofi nedeniyle oluşan malabsorpsiyon tüm diğer nutrisyonel faktörler gibi kalsiyum ve vitamin D'nin de emilimine engel olur. Yapılan çalışmalar erişkin çölyak hastalarında vitamin D eksikliğinin prevalansını erkeklerde %64, kadınlarda %71 olarak belirlemektedir (Javorsky B.R. ve ark 2004) ancak literatürde ülkemizden benzer bir sonuç bulunmamaktadır. Çalışmamızda tanı anında hastalarımızın vitamin D düzeyi ortalama $19,5 \pm 12,4$ ng/ml ve hastalarımızın %23,5'inde 10 ng/ml'nin altında anlamlı düşük bulunmuştur.

Kemik mineral yoğunluğunda azalmayla karakterize olan osteoporoz kemik kırılabilirliğinde artışa yol açarak travmatik kemik kırıklarına neden olur. Malabsorpsiyon sendromları, kalsiyum eksikliği ve kortikosteroid kullanımı sekonder osteoporozun iyi bilinen nedenlerindedir (Stazi A.V. 2013). İnflamatuar bağırsak hastalıklarında olduğu gibi inflamatuvar durumlar da osteoporozu da açabilir (Adriana ve ark 2014). ÇH'da malabsorpsiyona katkıda bulunan inflamasyon KMY'da azalmaya yol açar. İntestinal mukoza hasarına bağlı gelişen kalsiyum malabsorpsiyonu ve beraberinde bulunan vitamin D eksikliği serum kalsiyum seviyelerinde azalmayla sonuçlanır (Keaveny A. P ve ark

1996;Zanchi C ve ark 2008). Yaş, cinsiyet, Marsh evresi, pre ve postmenopozal faktörlerle değişmekle birlikte yapılan çalışmalar yetişkin çölyak hastalarında düşük KMY (osteopenik ve osteoporotik) prevanlasınının %58 olduğunu göstermiştir. Bu durum beraberinde artmış kemik kırığı riskini de getirmektedir (Mazure R. ve ark 1994; Mautalen C. ve ark 1997; Sategna-Guidetti C. ve ark 2000). Stefano Pantaleoni ve arkadaşlarının 2014 yılında yetişkinlerde yaptıkları bir çalışmada 169 çölyak hastasının tanı anında ve bir yıl glutensiz diyet yaptıktan sonra KMY T skorları karşılaştırılmış. Hastaların lomber T skoru ortalaması $-1,9 \pm 1,2$ 'den diyet sonrasında $-1,7 \pm 1,3$ 'e; femoral T skoru ortalaması $-1,8 \pm 1,0$ 'dan diyet sonrasında $-1,6 \pm 1,0$ 'a yükselmiş (StefanoPantaleoni ve ark 2014). 2014 yılında yapılan bir diğer çalışmada yaşları 4 ile 15 arasında değişen 99 çölyak hastası çocuğun KMY Z skoru değeri %13'ünde -2'nin altında, %22'sinde -2 ile -1 arasında bulunmuş (Trovato CM ve ark 2014). Ülkemizden Elazığ'da 118 çölyak hastası ile 2014 yılında yapılan bir diğer çalışmada KMY Z skoru ortalaması $-1,54 \pm 1,13$ SD bulunmuş. Yine ülkemizden 2008 yılında yaşları 6 ay - 13 yaş arasında olan 52 çölyak hastasının geriye dönük olarak değerlendirilmesinde 41 hastada KMD ölçümü yapılmış %65,8'i normal, %22'sinde osteopeni, %12,2'sinde osteoporoz saptanmış (Kondolot M ve ark 2008). Çalışmamızda da benzer şekilde tanı anında hastalarımızın KMY Z skoru ortalaması $-1,5 \pm 0,88$ bulunmuştur ve hastalarımızın %58,7'sinde osteopenik, %10,6'sında osteoporotik düzeylerde Z skorları tespit edilmiştir.

Günümüzde çölyak hastalığının histopatolojik sınıflaması için Marsh kriterleri kullanılmaktadır. Evre 3 villöz düzleşme ve kript hiperplazisini tanımlarken; evre 4 atrofik mukozayı tanımlar. Çalışmamızda histopatolojik tanısı Marsh evre 3 ve evre 4 olan hastalar ile KMY Z skoru değerleri ve vitamin D düzeyleri karşılaştırıldı, iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Bu durum çölyak hastalığında bağırsağın yama tarzında tutulmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca evre 3 ve evre 4 çölyak hastalarında BsmI ve FokI genotip dağılımları da benzer bulundu.

İmmün yanıtla ilgili hücrelerde VD reseptörünün olduğu belirlenmiştir ve aktive olmuş dendritik hücrelerin VD sentez ettikleri gösterilmiştir. Primer lenfoid organlar (kemik iliği ve timus) immün sistemin geliştiği ve değişime uğradığı merkezlerdir ve buralarda VDR gösterilmiştir. Sessiz CD4 hücreleri düşük konsantrasyonlarda VDR eksprese ederler, aktive olduklarında bu ekspresyon beş kat artar, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün kazanılmış, antijen spesifik immün yanıt üzerine etkisi T lenfosit proliferasyonun

inhibisyonu (özellikle Th1 kolu üzerine) ile karakterizedir. CD4 T hücrelerinin 1,25(OH)₂D₃ ile tedavi edilmesi, Th1 hücre proliferasyonunu ve sitokin yapımını inhibe eder; ortama 1,25(OH)₂D₃'ün eklenmesi ise IL-2 ve IFN- γ 'nın CD4 hücreleri tarafından salgılanmasını azaltır, IL-5, IL-10 yapımını artırır ki bu, T hücre yanıtını Th₂'nin baskınlığına iter. IL-4 regülasyonunda 1,25(OH)₂D₃'ün etkisi çelişkilidir. Th₂ ile ilgili IL-4 yapımı, in vivo 1,25(OH)₂D₃ tedavisiyle “up-regule” edilir. Bazı gözlemlerde ise hem Th₁ ve hem de Th₂ hücrelerinden, sitokin yapımının (IL-4 dahil) inhibisyonu gözlenmiştir. 1,25(OH)₂D₃ ile IL-6 ekspresyonu inhibe edilir ki bu sitokin, T17 hücrelerinin uyarır, T17 hücreleri, otoimmün reaksiyonun önemli bir komponentidir. Ayrıca 1,25(OH)₂D₃ fagositozu, makrofajlar tarafından bakteri öldürülüşünü uyarır; fakat dendritik hücrelerin ve makrofajların antijen sunma kapasitelerini baskılar; makrofajların, lenfositlerde antijen prezentasyonunda hücre yüzeyinde MHC-II moleküllerinin ekspresyonunu azaltır. Dolayısıyla vitamin D VDR aracılığı ile T hücrelerini baskılayarak immün sistem üzerinde düzenleyici etkilere sahiptir ve yapılan pekçok çalışma ile VDR gen polimorfizminin tip 1 diyabet, otoimmün tiroidit, multipl skleroz, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Geniş bir toplum çalışması olan “Nurses Health Study I and II” de Vitamin D alımı en yüksek beşlide olan kadınlarda, multipl skleroz gelişmesi %40 daha az bulunmuş (Munger KLM ve ark. 2004). “Iowa Women’s Health Study” de 29.368 kadında romatoidartrit oluşu, vitamin D alımı ile ters orantılı bulunmuş, ayrıca romatoidartrit ağırlığı ile VD serum konsantrasyonlarının ilgili olduğu, anlaşılmıştır (Merlino LA ve ark. 2004). İlginç olarak VD yeterli olsa bile, D hormonu verilmesinin, hayvanlarda otoimmüniteyi inhibe ettiği gösterilmiştir.

2004 yılında Mahmoud M Kamel ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada 74 tip 1 DM hasta ile 28 sağlıklı kişiden oluşan iki grupta VDR TaqI ve ApaI gen polimorfizmi çalışılmış. ApaI tanıma bölgesinde (GGGCC/C) bulunan 213 numaralı nükleotid diyabetik hasta grubunda %18.9 oranında aa genotipindeyken kontrol grubunda bu oran %57.1 olarak saptanmış ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiş (p<0.05). TaqI tanıma bölgesinde (T/CGA) bulunan 494 numaralı nükleotid her iki grupta da tüm vakalarda amplike olmuşken 293 numaralı nükleotidte bulunan ikinci bölge bazı vakalarda bulunmuş (diyabetik grupta %18.9, kontrol grubunda %7.1) ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiş (p<0.05) (Mahmoud M kamel ve ark 2004).

Yazıcı D ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada 111 Hashimoto tiroiditi tanımlı hasta ile 159 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda ApaI, TaqI, FokI ve BsmI polimorfizmleri araştırılmış. ApaI ve BsmI polimorfizmlerinin genotipleri her iki grupta benzer oranlarda bulunmuşken TaqI TT ve FokI FF genotiplerinin Hashimoto hastalığı için artmış risk taşıdığı belirlenmiştir. Yine benzer şekilde Micheal A Pani ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları çalışmada 95 Addison hastası ile 220 sağlıklı kişiden oluşan iki grupta ApaI, TaqI, FokI ve BsmI genotipleri araştırılmış. FokI ff ve TaqI tt genotipleri Addison hastalığı olan grupta daha yüksek sayıda bulunmuş (Micheal A pani ve ark 2002). 2005 yılında San-Pedro JI ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 37 çölyak hastası ve 64 tip 1 diyabet hastasında VDR gen polimorfizmi (Fok I, Bsm I, Apa I veTaq I) araştırılmış. FokI ‘ff’ genotipinin çölyak hastalığı için risk oluşturduğu belirlenmiş. (SanPedro JI1 ve ark; 2005). Çalışmamızda kliniğimizde çölyak hastalığı tanısı ile takip edilmekte olan 105 çocuktan oluşan hasta grubu ile 100 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubunda FokI ve BsmI polimorfizmlerinin genotiplerini analiz ettik. Hasta ve kontrol gruplarında VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri genotip dağılımları benzerdi ve aralarında istatistiksel fark bulunmadı. Ancak VDR geninin bilinen otuzdan fazla farklı polimorfizmi bulunduğundan dolayı daha geniş hasta gruplarında farklı polimorfizmlerin çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Osteoporoz, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile oluşan bir hastalıktır. Çevresel faktörler gen ekspresyonunu kontrol ederek hastalığın seyrini belirleyebilir (Ferrasi S. 2005). Osteoporozun genetik yatkınlığı ile ilgili yayınlanmış pek çok çalışma bulunmaktadır. Genlerin iki yolla iskelet sistemini etkiledikleri düşünülmektedir. Birinci yol, vücuda kalsiyum alımının, emiliminin ve üriner kalsiyum atılımının düzenlenmesi; ikinci yol ise, genetik defektlerden dolayı oluşan metabolizmal sorunlardır (Deng H.W. ve ark 2000). Yapılan çalışmalarla genetik varyasyonların osteoporoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Vitamin D reseptör genindeki polimorfizmlerin ve allel varyasyonlarının kemik mineral yoğunluğu ile yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Literatüre baktığımızda 2000 ile 2013 yılları arasında osteoporoz ile VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırarak çok sayıda yayın mevcuttur. Bu araştırmaların çoğu postmenopozal kadınlar üzerinde yapılmıştır ve %50’den fazlasında BsmI ve FokI polimorfizmleri ile osteoporoz arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir (Mohammedi Z. ve ark 2014). Son yıllarda otoimmün hastalık gruplarında VDR gen polimorfizmleri ile vitamin D düzeyleri ve osteoporoz risk ilişkisi araştırılmaktadır. 2013 yılında 82 yetişkin multipl sklerozlu hasta

grubunda BsmI polimorfizmi ile kalsiyum metabolizması ve KMY arasındaki ilişki araştırılmış, bb alleli taşıyanlara kıyasla BB alleli taşıyanlarda KMY Z skoru değeri daha yüksek bulunmuş, vitamin D düzeylerinde ise fark bulunmamış (Lambrinouadaki I ve ark 2013). Kocabaş A. ve arkadaşları 2010 yılında 90 tip 1 diyabetli hasta serisinde VDR BsmI, ApaI, TaqI ve Cdx-2 polimorfizmleri ile kemik metabolizma parametreleri ve KMY'nu karşılaştırmışlar ancak VDR polimorfizmleri ile bu değerler arasında ilişki tespit edilmemiş (Kocabaş A. ve ark 2010). 2000 yılında 42 konjenital hipotiroidisi olan çocukta VDR BsmI gen polimorfizmi ile KMY araştırılmış fakat aralarında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiş (Léger J ve ark 2000). Literatürde çölyak hastalarında VDR gen polimorfizmleri ile vitamin D düzeyleri ve KMY ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Hasta grubumuzdaki çölyak hastalarının tanı anındaki KMY Z skoru değerleri ve vitamin D düzeyleri ile VDR BsmI ve FokI polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç olarak bu çalışmamızda çölyak hastalığında VDR gen reseptör polimorfizmlerini, vitamin D düzeylerini ve KMY'nu değerlendirdik;

1. Ortalama KMY Z skorunun düşük olduğu, hastaların %58,7'sinde osteopenik, %10,6'sında osteoporotik düzeyde olduğu,
2. Vitamin D düzeylerinin %24'ünde anlamlı düşük olduğu,
3. Marsh evreleri ile KMY ve vitamin D düzeyleri arasında ilişki olmadığı,
4. VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri genotiplerinin sağlıklı gruptan farklı olmadığı,
5. VDR BsmI ve FokI polimorfizmleri ile vitamin D düzeyleri ve KMY arasında ilişki olmadığı sonucuna vardık.

Çölyak tanısı konan olgularda KMY ölçümü yapılarak gerekirse D vitamini ve kalsiyum desteği yapılması gerektiğinin unutulmaması ve VDR geninin bilinen 30'dan fazla polimorfizminin mevcut olmasından dolayı konuyla ilgili daha geniş hasta gruplarında farklı polimorfizm çalışmalarının da yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

6.KAYNAKLAR

- Abel EK.** The rise and fall of celiac disease in the United States. *J Hist Med Allied Sci.* 2010;65:81-105.
- Adams JS.** Vitamin D as a defensin. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006; 6(4): 344-346
- Adriani A,** Pantaleoni S, Luchino M et al. Osteopenia and osteoporosis in patients with new diagnosis of inflammatory bowel disease. *Panminerva Medica.* 2014;56(2):145–149.
- Akobeng AK,** Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child* 2006; 91: 39-43.
- Altunbas B,** Kansu A, Girgin N. Celiac disease in Turkish short-statured children and the value of antigliadin antibody in diagnosis. *Acta Pediatr Jpn* 1998; 40: 457-60.
- Altuntas Y,** Yılmaz E, Tasan E, Hatemi H: Türk toplumunda HLA dağılımı ve bazı HLA'lar ile bazı hastalıklar arasındaki ilişkiler, *Endokrinolojide Yönelisler*,1996, 5(2): 58-62
- American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Celiac Sprue. Gastroenterology.** 2001; 120: 1522-1525.
- Arai H,** Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997;12:915–21.
- Asher H,** Krantz I, Kristiansson B. Increasing incidence of coeliac disease in Sweden. *Arch Dis Child* 1991;66: 608-611.
- Askling J,** Linet M, Gridley G, Halstensen TS, Ekstrom K, Ekblom A. Cancer incidence in a population-based cohort of individuals hospitalized with celiac disease or dermatitis herpetiformis. *Gastroenterology.* 2002;123:1428-1435.
- B.R. Javorsky,** N. Maybee, S.H. Padia, A.C. Dalkin. Vitamin D Deficiency in Gastrointestinal Disease. *Practical Gastroenterology.* March 2006, p. 5272.
- Baker AR,** McDonnell DP, Hughes M, Crisp TM, Mangelsdorf. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988 May;85(10):3294-8.
- Bandeira F,** Griz L, Dreyer P, Eufrazino C, Bandeira C, Freese E (2006) Vitamin D deficiency: a global perspective. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 50(4):640–646

- Biagi F**, Pezzimenti D, Campanella J, Vadacca GB, Corazza GR. Endomysial and tissue transglutaminase antibodies in coeliac sera: a comparison not influenced by previous serological testing. *Scand J Gastroenterol* 2001;36: 955-958
- Bikle D**. Nonclassic Actions of Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(1): 2634
- Blume SW**, Curtis J. R. Medical costs of osteoporosis in the elderly Medicare population. *Osteoporosis International*. 2011;22(6):1835–1844.
- Bottaro G**, Catalda F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR. The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an analysis on 1026 consecutive cases. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 691-696
- Bouillon R**, Eelen G, Verlinden L, Mathieu C, Carmeliet G and Verstuyf A: Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*102. 2006: 156-62
- Branski D**, Troncone R. Gluten-Sensitive Enteropathy (Celiac Disease). In: Kliegman RM, Stanton BF, Schor NF, St. Geme JW, Behrman RE (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics* 19 th ed., Philadelphia: Elsevier Saunders 2012: 1308-1311
- Briani C**, Samaroo D, Alaedini A. Celiac disease:From gluten to autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*; 2008,7: 644-50
- Caja S**, Mäki M, Kaukinen K, Lindfors K. Antibodies in celiac disease: implications beyond diagnostics. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 103-10
- Canning MO**, Grotenhuis K, de Wit H, Ruwhof C, Drexhage HA. 1-alpha,25Dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)(2)D(3)) hampers the maturation of fully active immature dendritic cells from monocytes. *Eur J Endocrinol*. 2001; 145(3): 351-357
- Cantorna MT**, Mahon BD Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229(11):1136–1142.
- Casinotti A**, Birindelli S, Clerici M ve ark HLA and autoimmun digestive disease: A clinically oriented review for gastroenterologists. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 195-217.
- Cataldo F**, Marino V. Increased prevalence of autoimmune diseases in first-degree relatives of patients with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 470-3
- Catassi C**, Fabiani E, Ratsh IM, et al: The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996: 412:29-35.

- Chand N, Mihas AA.** Celiac Disease Current Concepts in Diagnosis and Treatment. *Journal Clinical Gastroenterology* 2006; 40(1):3-14.
- Ch'ng CL, Jones MK, Kingham JGC.** Celiac Disease and Autoimmune Thyroid Disease. *Clinical Medicine and Research.* 2007; 5(3): 184-192.
- Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS.** AGA technical review on Celiac Sprue. *American Gastroenterological Association. Gastroenterology* 2001;120: 1526-40
- Congia M, Cucca F, Frau F ve ark A gene dosage effect of the DQA1*0501/DQB1*0201 allelic combination influences the clinical heterogeneity of celiac disease.** *Hum İmmünol* 1994; 40: 138-42.
- Cummins AG, Roberts-Thomson IC.** Prevalence of celiac disease in the Asia Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;2:1347-51
- Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R** Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2006;16(7):713–716
- De Marchi M, Borelli I, Olivetti E ve ark** Two HLA DR alleles are associated with celiac disease. *Tissue Antigens* 1979; 14: 309-16
- Demirçeken FG.** Gluten Enteropatisi (Çölyak Hastalığı): Klasik bir öykü ve güncel gelişmeler. *Güncel Gastroenteroloji;* 2011; 15: 58-72
- Deng HW, Chen WM, Recker S, Stegman MR, Li JL, Davies KM, Zhou Y, Deng H, Heaney R, Recker RR.** Genetic determination of Colles' fracture and differential bone mass in women with and without Colles' fracture. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1243–1252.
- Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al.** Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.
- DJ, Haussler MR, Pike JW, Shine J and O'Malley BW:** Cloning the expression of full length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85: 3294-3298
- Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E.** Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289: F8-28
- Ellis HJ, Ciclitira PJ.** Celiac Disease. *Textbook of Gastroenterology 4". Edition Lippincott Williams and Wilkins Chapter 76,* 2003:1580-1598.
- Ensari A.** Gluten-sensitive Enteropathy (Celiac Disease) controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 826-36.
- Ertekin V, Selimoglu MA, Kardas F, Aktas E.** Prevalence of celiac disease in Turkish children. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 689-691

- Evans KE, Sabders DS.** What is the use of biopsy and antibodies in coeliac disease diagnosis? (Symposium). *J Intern Med* 2011; 269: 572-581.
- Farrell RJ, and Kelly CP.** *Am J Gastroenterol* 2001;96:3237-46
- Farrell RJ, Kelly CR** Celiac Sprue and Refracter Sprue. In: Sleisenger and Fordtran's *Gastrointestinal and Liver Disease* 8th edition Saunders Elseiver, 2006: 2277-2306.
- Fasano A, Catassi C.** Coeliac disease in children. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 467-78.
- Fasano A, Catassi C.** Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120: 636
- Fasano A.** Celiac disease: how to handle a clinical chameleon. *N Engl J Med* 2003; 348:2568-2570.
- Ferrari S.** Osteoporosis: a Complex Disorder of Aging with Multiple Genetic and Environmental Determinants. *World Rev Nutr Diet.* 2005;95:35-51.
- Fine KD, Meyer RL, Lee EL.** The prevalence and causes of chronic diarrhea in patients with celiac sprue treated with a gluten free diet. *Gastroenterology.* 1997; 112:1830-1838.
- Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.** Guideline for the Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children: Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 1-19.
- Green PH.** The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology* 2005; 128 (4 Suppl 1): S74-8.
- Gren PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, et al.** Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. *The American Journal of Gastroenterology.* 2001; 96 (11):126-131.
- Griffin MD, Lutz W, Phan VA, Bachman LA, McKean DJ, Kumar R** Dendritic cell modulation by 1 α ,25 dihydroxyvitamin D₃ and its analogs: a vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(12):6800–6805
- Guandalini S.** Celiac Disease. In: Guandalini S (ed). *Textbook of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* United Kingdom, Taylor and Francis, 2004; 435-450
- Guandalini S.** The influence of gluten: weaning recommendations for healthy children and children at risk for celiac disease. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2007; 60: 139-51; discussion 151-5

- Guandalini S**, A Brief History of Celiac Disease, 2007, *Impact* vol 7 issue 3
- Haines ML**, Anderson RP, Gibson PR. Systematic review: the evidence base for long-term management of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 1042-66.
- Hansson T**, Dahlbom I, Rogberg S, Nyberg BI, Dahlstrom J, Anneren G, et al. Antitissue transglutaminase and antithyroid autoantibodies in children with Down syndrome and celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 25-27.
- Haussler MR**, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Dominguez CE and Jurutka PW: The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res*; 1998, 13: 325-349.
- Heilborn JD**, Nilsson M F, Kratz G, Weber G, Sørensen O, Borregaard N, Stahle-Backdahl M. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in reepithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. *J Invest Dermatol*. 2003; 120: 379-89
- Hewison M**, Zehnder D, Bland R and Stuart PM: 1 α -hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol*. 2003; 25:141-148.
- Hewison M**, Zehnder D, Chakraverty R, Adams JS. Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 α -hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol*. 2004; 215: 31-8
- Hill ID**, Dirks MH, Liptak GS, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005; Jan;40(1):1-19.
- Hill ID**. Celiac disease--a never-ending story? *J Pediatr* 2003; 143: 289-291.
- Horvath K**, Hill ID. Anti-tissue transglutaminase antibody as the first line screening for celiac disease: Good-bye antigliadin test? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2702-4.
- Hourigan C.S**. The molecular basis of coeliac disease. *Clin Exp Med* 2006; 6: 53-9.
- Husby S**, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 136-160.
- Ivarsson A**, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Am breast-feeding protects against celiac disease. *J Clin Nutr* 2002; 75: 914-2

- Ivarsson A**, Persson LA, Juto P, et al. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adults: a Swedish population-based study. *J Intern Med* 1999; 245: 63-8.
- Ji Y**, Studzinski GP. Retinoblastoma protein and CCAAT/enhancer-binding protein beta are required for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced monocytic differentiation of HL60 cells. *Cancer Res.* 2004; 64: 370-7
- Jones S**, D'Souza C, Haboubi NY. Patterns of clinical presentation of adult coeliac disease in a rural setting. *Nutr J* 2006; 5: 24.
- Jores RD**, Frau F, Cucca F ve ark HLA-DQB1*0201 homozygosis predisposes to severe intestinal damage in celiac disease. *Scand J Gastroenterology* 2007; 42: 48-53.
- Kamel MM**, Fouad SA, Salaheldin O, El-Razek Ael-R, El-Fatah AI Impact of vitamin D receptor gene polymorphisms in pathogenesis of Type-1 diabetes mellitus. *Int J Clin Exp Med.* 2014 Dec 15;7(12):5505-10.
- Kamen D**, Aranow C Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2008; 20(5):532–537
- Kamen DL**, Tangpricha V Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med,* 2010;88(5):441– 450
- Kansu A.** Çölyak Hastalığında Güncel Gelişmeler. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007; 3: 18-24
- Kaukinen K**, Lindfors K, Collin P, et al. Review: Coeliac disease - a diagnostic and therapeutic challenge. *Clin Chem Lab Med.* 2010 Jun 27.
- Kaukinen K**, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 695-9
- Keaveny AP**, Freaney R, McKenna MJ, Masterson J, O'Donoghue DP Bone remodeling indices and secondary hyperparathyroidism in celiac disease. *The American Journal of Gastroenterology.* 1996;91(6):1226– 1231.
- Kocabaş A**, Karagüzel G, Imir N, Yavuzer U, Akçurum S. Effects of vitamin D receptor gene polymorphisms on susceptibility to disease and bone mineral density in Turkish patients with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010 Dec;23(12):1289-97.
- Labuda M**, Fujiwara TM, Ross MV, Morgan K, Garcia Heras J, Ledbetter DH, Hughes MR and Glorieux FH: Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13-14. *J. Bone Miner Res* 1992; 7: 1447-1453

- Lambrinouadaki I**, Patikas E, Kaparos G, Armeni E, Rizos D, Thoda P, Alexandrou A, Antoniou A, Tsivgoulis G, Gatzonis S, Panoulis C, Triantafyllou N. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism, calcium metabolism and bone mineral density in patients with multiple sclerosis: a pilot study. *Neurol Sci.* 2013 Aug;34(8):1433-9.
- Lanzavecchia A**, Sallusto F. Regulation of T cell immunity by dendritic cells. *2001; 106(3):263–266*
- Larizza D**, Calcaterra V, De Giacomo C, De Silvestri A, Asti M, Badulli C, et al. Celiac disease in children with autoimmune thyroid disease. *J Pediatr* 2001;139: 738-740.
- Léger J**, Tourrel C, Ruiz JC, Czernichow P, Garabedian M. Vitamin D receptor genotype and bone mineral density in Caucasian children with congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000 Jun;13(6):599-603.
- Lionetti E**, Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *Int Rev Immunol* 2011; 30: 219231
- Liu J**, Juo SH, Holopainen P, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. *Am Human Genet* 2002; 70: 51-9.
- Liu M**, Lee MH, Cohen M, Bommakanti M, Freedman LP. Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev.* 1996; 10: 142– 153
- Liu PT**, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT, Schaubert J, Wu K, Meinken C, Kamen DL, Wagner M, Bals R, Steinmeyer A, Zügel U, Gallo RL, Eisenberg D, Hewison M, Hollis BW, Adams JS, Bloom BR, Modlin RL. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science.* 2006; 311: 1770-1773
- Losowsky MS**. A history of coeliac disease. *Dig Dis.* 2008;26:112-20.
- 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;21:53-9.
- Lyakh LA**, Sanford M, Chekol S, Young HA, Roberts AB. TGF-beta and vitamin D3 utilize distinct pathways to suppress IL-12 production and modulate rapid differentiation of human monocytes into CD83+ dendritic cells. *J Immunol.* 2005; 15; 174(4): 2061-2070

- Madani S, Kamat D.** Clinical guidelines for celiac disease in children: what does it mean to the pediatrician/family practitioner? *Clin Pediatr (Phila)* 2006;45: 213-219.
- Maki M, Lohi O.** Celiac Disease. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR (eds). *Pediatric Gastrointestinal Disease*. 4th ed. Ontario: B.C. Decker, 2004: 932-43.
- Mankai A, Sakly W, Landolsi H, et al.** Tissue transglutaminase antibodies in coeliac disease, comparison of an enzyme linked immunosorbent assay and a dot blot assay. *Pathol Biol*. 2005; 53: 204-9.
- Manolagas SC, Hustmyer FG, Yu XP.** Immunomodulating properties of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Kidney Int Suppl*. 1990; 29: 9-16.
- Marsh MN:** Gluten, Major Histocompatibility Complex and the small intestine. *Gastroenterology* 1992;102:330-54.
- Martin Stern:** Working group on serologic screening for celiac disease. Comparative evaluation of serologic test for celiac disease: A European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31:513-9
- Mautalen C, Gonzalez D, Mazure R, Vazquez H, Lorenzetti M P, Maurino E, Niveloni S, Pedreira S, Smecuol E, Boerr LA, Bai JC** Effect of treatment on bone mass, mineral metabolism, and body composition in untreated celiac disease patients. *The American Journal of Gastroenterology*.1997;92(2):313–318.
- Mazure R, Vazquez H, Gonzalez D, Mautalen C, Pedreira S, Boerr L, Bai JC** Bone mineral affection in asymptomatic adult patients with celiac disease. *The American Journal of Gastroenterology*.1994;89(12):2130– 2134.
- Meda Kondolot, Fulya Demirçeken, Ülker Ertan, 52 Vaka İle Türk Çocuklarında Çölyak Hastalığı Türkiye Çocuk Hast Derg** 2009;3(1):10-17
- Medzhitov R.** Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2001; 1: 135-45
- Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Crhan JR, Criswell LA, Saag KG.** Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50:72-7
- Metha G, Taslaq S, Littreford S, et al.** The changing face of the celiac disease. *Br J Hosp Med (Lond)* 2008; 69: 84-7.
- Molberg O, McAdam S, Lundin KE, et al.** T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 2001; 31: 1317-23.

- Monticielo OA**, Teixeira TM, Chies JAB, Brenol JCT, Xavier RM, Vitamin D and polymorphisms of VDR gene in patients with systemic lupus erythematosus, *Clin Rheumatol* 2012, 31:1411–1421
- Mukherjee R**, Egbuna I, Brar P, et al. Celiac disease: similar presentations in the elderly and young adults. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3147-53.
- Munger KLM**, Zhang S M, O'Reilly E. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 62:60-5
- Mustalahti K**. Unusual manifestations of celiac disease. *Indian J Pediatr* 2006; 73: 711-6.
- NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease**. NIH Consensus State Sci Statements. 2004; 21: 1-23.
- Niewinski MM**. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. *J Am Diet Assoc*, 2008; 108:661-72.)
- Oberhuber G**, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for standardized report schema for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1185-94
- Olds G**, McLoughlin R, OMorian C, et al. Celiac disease for the endoscopist. *Gastrointestinal Endoscopy* 2002; 56(3): 407-415.
- Ordonez-Moran P**, Larriba MJ, Pendas-Franco N, Aguilera O, Gonzalez-Sancho JM and Munoz A: Vitamin D and cancer: an update of in vitro and in vivo data. *Front Biosci* 2005; 10: 2723-2749.
- Osborne JE** and Hutchinson PE: Vitamin D and systemic cancer: is this relevant to malignant melanoma? *Br J Dermatol* 2002; 147: 197-213.
- Pantaleoni S**, Luchino M, Adriani A, Pellicano R, Stradella DR et al Bone Mineral Density at Diagnosis of Celiac Disease and after 1 Year of Gluten-Free Diet. *Scientific World Journal*. 2014; 2014:173082.
- Paveley WF** From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BMJ*. 1988; 297: 1646– 1649.
- Polanco I**. Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47 Suppl 1: S3-S6.
- Provvedini DM**, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science*. 1983; 221: 1181-3
- Raanan S**. Advances in celiac disease. *Gastroenterol Clin N Am* 2003; 362: 38391.

- Remes Troche JM**, Ramirez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, Alonso-Ramos A, Velazquez A, Uscanga LF: Coeliac disease could be a frequent disease in Mexico: prevalence of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40:697-700
- Revised criteria for diagnosis of coeliac disease.** Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-911.
- Ribaldone DG**, Astegiano M, Fagoonee S, Rizzetto M, Pellicano R. Epilepsy and celiac disease. *Panminerva Medica*. 2011;53(4):213–216.
- Richey R**, Howdle P, Shaw E, Stokes T. Recognition and assesment of coeliac disease in children and adults: summary of NICE guidance. *BMJ* 2009; 338: b1684
- Ross AC**, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK et al 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
- Russo PA**, Chartrand LJ, Seidman E. Comperative analysis of serologic screening test for the inital diagnosis of coeliac disease. *Pediatrics* 1999;104:75-78
- Sanders DS.** Celiac disease and IBS-type symptoms: the relationship exists in both directions. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 707-8.
- San-Pedro JI**, Bilbao JR, Perez de Nanclares G, Vitoria JC, Martul P, Castaño L; Heterogeneity of vitamin D receptor gene association with celiac disease and type 1 diabetes mellitus; Autoimmunity. 2005 Sep;38(6):439-44.
- Sategna-Guidetti C**, Grosso SB, Mengozzi G, Aimo G, Zaccaria T, Di Stefano M, Isaia GC The effects of 1-year gluten withdrawal on bone mass, bone metabolism and nutritional status in newly-diagnosed adult coeliac disease patients. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2000;14(1):35–43.
- Shamir R.** Advances in Celiac Disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2003;32:931-947
- Sinaga BY**, Amin M, Siregar Y, Sarumpaet SM. Sarumpaet Correlation between Vitamin D Receptor Gene FOKI and BSMI Polymorphisms and the Susceptibility to Pulmonary Tuberculosis in an Indonesian Batak-ethnic Population; *Acta Med Indones*. 2014 Oct;46(4):275-82
- Stazi AV.** Micronutrient deficiencies in osteoporosis. *Minerva Medica*. 2013;104:455–470
- Steele R.** Diagnosis and management of coeliac disease in children. *Postgrad Med J* 2011; 87: 19-25).

- Takeyama K**, Kitanaka S, Sato T, Kobori M, Yanagisawa J, Kato S. 25Hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase and vitamin D synthesis. *Science* 1997;77(5333):1827–1830
- Thomas MK**, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, Shaw AC, Deraska DJ, Kitch BT et al Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med* 1998;338(12):777–783.
- Tosi R**, Vismara D, Tanigaki N et al Evidence that celiac disease is primarily associated with a DC locus allelic specificity. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 28: 395-404.
- Trier J**. Celiac Sprue and Refractory sprue. In : Feldman M, Scharschmidt BF, Sleissenger MH. *Gastrointestinal and Liver Disease*. 7th. Ed., Philadelphia: Saunders Co, 2000; 1817-41
- Trovato CM**, Albanese CV, Leoni S, Celletti I, Valitutti F, Cavallini C, Montuori M, Barbato M, Catalano C, Cucchiara S. Lack of clinical predictors for low mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Dec;59(6):799-802.
- Uitterlinden AG**, Pols HA, Burger H, Huang Q, Van Daele PL, van Duijn CM, Hofman A, Birkenhager JC and van Leeuwen JP: A large-scale population-based study of the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. *J Bone Miner Res*, 1996;11: 1241-1248.
- Valdivielso JM**, Fernandez E Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*, 2006;371(1–2):1–1
- Van Etten E**, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 97: 93-101
- Veldman CM**, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys*. 2000; 374: 334-8.
- Ventura A**, Magazzù G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 297-303
- Volta U**, Rodrigo L, Granito A, et al. Celiac Disease in Autoimmune Cholestatic Liver Disorders. *The American Journal of Gastroenterology*. 2002; 97(10): 2609-2613.
- Wang TT**, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, Tavera-Mendoza L, Lin R, Hanrahan JW, Mader S, White JH. Cutting edge: 1,25dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*. 2004; 173: 2909-12

White JH. Vitamin D signaling, infectious diseases, and regulation of innate immunity. *Infect Immun.* 2008; 76(9): 3837-3843

Yu VC, Deisert C and Andersen B: RXRs: A co-regulator that enhances binding of retinoic acid, thyroid hormone, and vitamin D receptors to their cognate response elements. *Cell,* 1991;67: 1251-1266.

Zahra Mohammadi, Fateme Fayyazbakhsh, Mehdi Ebrahimi, Mahsa M Amoli, Patricia Khashayar, Mahboubeh Dini, Reza Nezam Zadeh, Abbasali Keshtkar, and Hamid Reza Barikani Association between vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok1 and Bsm1) and osteoporosis: a systematic review, *J Diabetes Metab Disord.* 2014; 13(1): 98. ☒

Zanchi C, Di Leo G, Ronfani L, Martellosi S, Not T, Ventura A. Bone metabolism in celiac disease. *The Journal of Pediatrics.* 2008;153(2):262– 265.

Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I et al. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genetic markers and clinical presentation in coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34: 548-54.