

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

AİLESEL MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA
VİTAMİN D RESEPTÖRANALİZİ

UZMANLIK TEZİ

HAZIRLAYAN
DR. FATMA EBRU YÜCEL

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ÖZDEN KAMIŞLI

MALATYA-2016

TEŞEKKÜR

Sayın Prof. Dr. Abdulcemal ÖZCAN ve Doç. Dr. Özden KAMIŞLI başta olmak üzere Sayın Yrd. Doç. Ceren ACAR ve Sayın Yrd. Doç. Mert SÖZEN'e tezimin oluşmasındaki değerli ve büyük katkılarından dolayı teşekkür eder, uzmanlık sürecimde emeği geçen tüm hocalarım ve asistan arkadaşlarıma da ayrıca teşekkür ederim.

Çalışmamıza sağladığı maddi destekten ötürü İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Birimi'ne ayrıca teşekkürlerimizi sunarız.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iii
ŞEKİLLER.....	iv
TABLolar	v
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1. GENEL BİLGİLER	2
1.1. MULTİPL SKLEROZ.....	2
1.1.1. Etyopatogenez.....	3
1.1.2. Klinik Belirti ve Bulgular.....	5
1.1.3. Multipl Skleroz Klinik Seyri	7
1.1.4. Tanı	8
1.1.5. Tedavi.....	11
1.2. D VİTAMİNİ	15
1.2.1. D Vitamini ve Otoimmun Hastalıklar	17
1.3. VİTAMİN D RESEPTÖRÜ.....	18
2.GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
2.1.Kan Örneklerinin Toplanması:	25
2.2.DNA İzolasyonu	25
2.3. DNA Konsantrasyonun Ölçülmesi:.....	27
2.4.Genotipleme:.....	27
3. BULGULAR.....	29
4. TARTIŞMA	38
5.SONUÇ.....	43
6.ÖZET.....	44
7.SUMMARY.....	46
8.KAYNAKLAR.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

MS	: Multipl Skleroz
HLA II	:İnsan lökosit Antijeni II
SSS	:Santral Sinir Sistemi
EAE	:Eksperimental Alerjik Ansefalit
EBV	:Ebstein Barr Virüsü
HHV-6	:Herpes Simpleks Virüsü-6
MR	:Manyetik Rezonans
BOS	:Beyin Omurilik Sıvısı
OKB	:Oligoklonal Bant
VEP	:Vizuel Uyarılmış Potansiyel
SEP	:Sensoryel Uyarılmış Potansiyel
MEP	:Motor Uyarılmış Potansiyel
BAEP	:Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyel
ACTH	:Adrenokortikotrop Hormon
IVMP	:İntravenöz Metilprednizolon
IVIG	:İntravenöz Immünglobulin
SSRI	:Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörü
SNRI	:Selektif Noradrenalin Geri Alım İnhibitörü
25(OH)D	:Kalsidiol
1,25(OH)2 D3	:Kalsitriol
VDR	:Vitamin D Reseptörü
MHC II	:Major Doku Uygunluk Kompleksi
RXR	:Retinoid X Reseptörü
SNP	:Tek Nukleotid Polimorfizmi
RS	:RefSNP
MARRS	:Membranla İlişkili Hızlı Cevaplı Steroid Bağlayıcı Reseptör

ŞEKİLLER

Şekil 1:İnsan Vitamin D Reseptör Geni.....	21
Şekil 2:Fok I Allel Genotip Dağılım Grafiği.....	32
Şekil 3:Apa I Allel Genotip Dağılımı	33
Şekil 4:Taq I Allel Genotip Dağılımı.....	34



TABLÖLAR

Tablo 1. Multipl skleroz prognozunda olumlu ve olumsuz faktörler	15
Tablo 2: Genotipleme İşlemi için Kullanılan Karışım Tablosu	27
Tablo 3: Taq I Polimorfizm Genotip ve Allel Sıklıkları	35
Tablo 4: Fok I Polimorfizmi Genotip ve Allel Sıklıkları	36
Tablo 5: Apa I Polimorfizmi Genotip ve Allel Sıklıkları.....	37
Tablo 6: Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri.....	48



GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS) sıklıkla genç erişkinlerde görülen, santral sinir sisteminin progresif demyelinizan bir hastalığıdır (1). Multipl sklerozun patogenezi ve fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamamış olup genetik ve multipl çevresel faktörlerin patogenezi de rolü olduğu düşünülmektedir (2). MS kliniğinde sıklıkla duysal belirtiler görülmekle birlikte görme bozukluğu, motor belirtiler, ataksi, nistagmus, mesane işlev bozukluğu, depresyon, yorgunluk eşlik edebilmektedir (2).

D vitamini insan vücudunda düzenleyici ve fonksiyonel etkileri olan steroid yapılı bir hormondur. İmmün sistem üzerinde düzenleyici rolü olan D vitamini, monosit ve T hücreleri tarafından major histocompatibility kompleks (MHC) II sunulmasını azaltır, B hücrelerinin proliferasyonunu, plazma hücrelerinin diferansiasyonunu, immünglobülin E ve M salınımını, hafıza B hücrelerinin üretimini ve aktive B hücrelerinin apoptozisini sağlar. Ayrıca T hücre proliferasyonunu ve pro-inflamatuvar sitokin salınımı azaltır (3). MS hastalarında D vitamini seviyesinin düşük olması, Th1 aracılıklı immün cevapta D vitamininin modülatör rol aynadığı hipotezini düşündürmüştür. D Vitamini, immün sistem üzerindeki etkilerini çekirdekte bulunan vitamin D reseptörü (VDR) ile gösterir. VDR geninin spesifik varyasyonları D vitamini fonksiyonlarında ve metabolizmasında değişikliğe yol açabilmektedir (4).

MS hastalığı ile VDR polimorfizmleri arasındaki ilişki bir çok çalışmayla araştırılmıştır. Literatüre baktığımızda, 1., 2. ve 3. derece akrabaları arasında MS hastası bulunan (ailesel MS) ailelerde VDR polimorfizmini araştırarak bir çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmamızda amacımız ailesel MS özelliği olan hastalarda VDR gen polimorfizminin araştırılması, eğer varsa MS ile ilişkili polimorfizmlerin ortaya konulmasıdır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. MULTİPL SKLEROZ

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin inflamatuvar, demyelinizan ve dejeneratif bir hastalığıdır (1).

Multipl skleroza dair tanımlamalar ilk olarak 1824 yılında Olivier'in bildirisi ile olmuştur. Hastalığın klinik ve patolojik olarak klasik tanımlanması 1968 yılında Jean Martin Charcot tarafından yapılmıştır (1).

Multipl skleroz, 20-40 yaş arasında, genç erişkinlerde sıklıkla görülür. Ancak nadir olarak daha genç ve daha ileri yaşlarda bildirilen vakalar da bulunmaktadır. Kadınlarda daha sık görülür; kadın: erkek oranı; 2:1'dir (5).

Hastalık en sık olarak kuzey Avrupa ve kuzey Amerika'da gözlenirken (1/800-1/1000), ekvator ve kutup bölgelerine gidildiğinde görülme sıklığı (1/100.000) azalır. Görülme sıklığı ırk ve etnik gruplara göre değişkenlik gösterir. Beyaz ırk ve Avrupa kökenlilerde daha sık görülmektedir. MS patogenezinde çevresel etkenlerin de rol oynadığı düşünülmekte olup; 15 yaşından önce yapılan göçlerde bireyin yeni yerleştiği bölgenin özelliğini gösterdiği, 15 yaşından sonra göç edildiyse daha önce yaşadığı bölgenin özelliğini taşıdığı tespit edilmiştir (2). Türkiye'de hastalığın sıklığı ile ilgili net bir veri olmamakla birlikte hastalığın sık görüldüğü kuzey Avrupa ile nispeten seyrek görüldüğü Asya arasında olduğu düşünülmektedir (7).

Yapılan çalışmalarda MS için genetik faktörlerin önemli olduğu tespit edilmiştir. İkiz çalışmalarında MS görülme riski monozygotik çiftlerde %26 saptanırken, dizigotik çiftlerde risk %2.4 olarak tespit edilmiştir (8).

1.1.1.Etyopatogenez

Multipl sklerozun patogenezi ve fizyopatolojisi tam olarak bilinmemektedir. Genetik ve multiplçevresel faktörler arasında kompleks bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Otoimmün mekanizmalar, genetik faktörler, enfeksiyonlar, güneş ışınları, ultraviyole, D vitamini, nonenfeksiyöz faktörlerin (diyet, sigara, organik çözücüler, stres, travma) rol oynadığı düşünülmektedir (2).

Otoimmün mekanizmalar: Proinflamatuvar sitokin hakimiyeti ve bozulmuş immün regülatuar mekanizmaların MS gelişiminde sorumlu olduğu düşünülmektedir. İnsan lökosit antijeni II (HLA II) ve T hücre reseptörünü kodlayan genlerin ve muhtemel viral enfeksiyonların da patogeneze katkısı olduğu düşünülmektedir (2).

Otoreaktif T ve B hücrelerinin kendi vücut hücrelerine karşı tepkisizliğinin kırıldığı otoimmün hastalıklar arasında kabul edilen multipl sklerozda otoreaktif T ve B hücrelerinin ana hedefinde santral sinir sistemin (SSS) myelin dokusu ve oligodendroglial hücreler bulunmaktadır. Asıl inflamatuvar yanıt, T hücre aracılı immün reaksiyondur. Bu durum, ikincil makrofaj aktivasyonuna yol açar. Makrofaj ve mikroglialar myelin destrüksiyonuna neden olurlar. Multipl sklerozun Th1 hücre yönlendiricili bir hastalık olduğu kavramı Eksperimental Alerjik Ensefalit (EAE) modellerine dayanır. Kompleman aracılı ve antikor aracılı hasar mekanizmaları da tabloya eşlik etmektedir (2).

Moleküler benzerlik teorisinde olduğu gibi otoreaktif hücrelerin kendi vücut antijenlerine benzerlik gösteren bakteriyel veya viral peptit antijenleri ile aktive olduğu düşünülür. Gama interferon salınımına neden olan muhtemelen bir enfeksiyon CD4 T lenfositlerini aktive etmektedir. Aktive CD4 Th1 hücreler proinflamatuvar sitokin (IL-2, IFN-gama, TNF gibi) sekrete ederek kan beyin bariyeri endotel hücreleri yüzeyindeki adezyon moleküllerini aktive eder ve T hücrelerin SSS'ne geçmesini neden olur ve inflamasyon başlatılır (2).

Multiple sklerozda en sık myelin basic proteine karşı antikor tespit edilmiştir. Bu durum antikor aracılı demiyelinizasyonun da MS etyolojisinde rol oynadığı düşündürmektedir. Patolojik olarak aktif lezyon alanında Ig depolanması ve myelinin makrofajlar tarafından reseptör aracılı fagositozu gözlemlenir (9).

Genetik: İkiz çalışmaları, ailesel olgular ve epidemiyolojik veriler MS’de multigenik bir yatkınlığı desteklemektedir. Hastaların yaklaşık %20’sinde en az bir akrabada multipl skleroz olduğu gözlemlenmiştir. Risk kardeşler arasında daha yüksek olup, çocuklarda, hala-teyze, amca-dayı ve kuzenlerde daha düşüktür. MS yatkınlık genlerini araştıran çalışmalarda 6. kromozomun HLA kompleks bölgesinin aday olduğu tespit edilmiştir (2).

İnfeksiyonlar: Epstein Barr virüsü (EBV), insan herpes virüsü (HHV-6), kızamık virüsü başta olmak üzere bazı virüslerin MS ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. EBV adolosan çağda enfeksiyöz mononükleoz tablosuna yol açar. MS ile enfeksiyöz mononükleoz birbirleriyle ilişkili bulunmuş olup; iki hastalık da benzer coğrafik alanlarda daha yoğundur. EBV nükleer antijeni ile myelin basic protein antijenik epitopu benzerlik gösterir. EBV myelin spesifik otoreaktif T hücreleri uyarmaktadır (2).

Human herpes simpleks virüs 6, patolojik çalışmalarda multipl skleroz plaklarında gösterilmiş olup, virüs DNA’sı plak yakınlarındaki oligodendrositlerde tespit edilmiştir. Multipl skleroz hastalarının kan,serum ve beyin omurilik sıvılarında da yine virüs DNA’sı tespit edilmiştir (2)

Multipl skleroz etyopatogenezinde rol aynadığı düşünülen bakteriler; acinetobakter, pseudomonas aeruginosa, clamydia pneumoniae’dir. Bu bakterilerin myelin basic protein ile çapraz reaksiyon verdikleri düşünülmektedir (2).

Güneş ışınları-ultraviyole ve D vitamini: Coğrafi dağılım ile ilgili teoriye göre ultraviyole ve güneş ışığı maruziyeti,MS riskini azaltmaktadır. Güneş ışığı maruziyeti ile D vitaminin inaktif formunun aktif formu olan 1,25 (OH) D3’ e (1,25 dihidroksivitamin D3, kalsitriol) dönüşümü ile makrofaj aktivasyonu, inflamatuvar sitokin üretiminde artış, periferik kanda IL-2 mRNA düzeyinde azalma ve immünolojik self-toleransta artma gerçekleşmektedir (2).

Nonenfeksiyöz nedenler: Organik çözücüler,diş dolgusunda kullanılan amalgam, fiziksel travma, stres, diyetteki yağlar, yüksek eğitim düzeyi, sigara, östrojen, tetanoz toksoidi, antibiotik, antihistaminikler MS de rolü olduğu düşünülen faktörler arasındadır (2).

1.1.2. Klinik Belirti ve Bulgular

Multipl sklerozun belirti ve bulguları SSS'de oluşan nöropatolojik değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkar. SSS'nin birçok bölgesini etkilediği için farklı klinik tablolarla karşımıza çıkar.

En sık karşılaşılan başlangıç belirtisi duysal belirtilerdir. Daha az sıklıkta görmebozukluğu, motor belirtiler, ataksi, nistagmus, mesane işlev bozukluğu ve yorgunluk görülür (2).

Duysal Belirtileri:

Karıncalanma, yanma, batma ve hissizlik şeklinde oluşabilir. Günler, haftalar veya aylar sürebilir. Hastaların büyük çoğunluğunda kalıcı duyu kusuru gözlenir. Altekstremit distallerinde vibrasyon ve pozisyon duyusunda azalma sıklıkla görülen bulgulardandır (2).

Ağrı ve Paroksizmal Belirtiler:

Ağrı karakteristikbelirti değildir. Sıklıkla radiküler ağrı veya trigeminal nevralji gözlenir. Paroksizmal belirtiler MS için niteleyicidir. Paroksizmal tonik spazmlar, paroksizmal duysal ataklar, paroksizmal dizatri, paroksizmal ataksi gelişebilir (2).

Lhermitte Bulgusu:

Boyun fleksiyonu ile geçici olarak oluşan elektriksel akım, karıncalanma duyusudur. Varlığında spinal korda ait tutulum için araştırma yapılmalıdır (8).

Motor belirtiler:

Paraparezi, kuadriparezi, hemiparezi, monoparezi şeklinde olabilir. Alt ekstremit ekuvetsizliği üst ekstremiteye göre daha sık gözlenir. Refleks canlılığı, klonus, patolojik refleks, spastisite gibi birinci motor nöron belirtileri sıklıkla gözlenir (2).

Görsel Belirti ve Bulgular:

%20 hastada başlangıç belirtisi olup; %50 hasta yaşamı sırasında en az birdefa optik nöropati atağı geliştirir. En sık görülen belirti, birkaç gün içerisinde gelişen bir gözde görmede azalmaşikayetidir. İnternükleer oftalmopleji ise MS için patognomonik değere sahiptir (6,8).

Serebellar Belirti ve Bulgular:

Dismetri, disdiadokinezi, aksiyon tremoru, yürüme ataksisi, denge kaybı gelişebilir (2).

Kognitif İşlev Bozuklukları:

Hastaların %40-60'ında ortaya çıkar. Kortikal, subkortikal ve limbik sistem yollarının etkilenmesi altta yatan mekanizma olarak değerlendirilmektedir. Yakın bellek, dikkat, bilgi işlem süreci-hızı, görsel ve mekânsal algılamada bozulma en sık etkilenen bilişsel alanlardır (10).

Duygulanım Bozuklukları:

En yaygın olarak depresyon görülse de anksiyete bozukluğu da sıklıkla karşımıza çıkabilir. Genellikle sağ hemisferi beyin sapı yapılarına bağlayan kortikobulber yolların etkilenmesinin bu tablodan sorumlu olduğu düşünülmektedir (8).

Mesane İşlev Bozuklukları:

Multipl skleroz hastalarının yaklaşık % 75'inde karşılaşılan bir sorundur. Hastalık süresi uzadıkça görülme olasılığı artar. Spinal kord tutulumu, medial frontal lob ve ponsyerleşimli lezyonlar mesane işlev bozukluğuna yol açabilir. Detrüsör kasındaki instabiliteye bağlı olarak idrar inkontinansı oluşabilir (6,8,11).

Cinsel İşlev Bozukluğu:

Multipl skleroz hastalarının 2/3'ünde azalmış libido sorunu mevcuttur. Erkeklerde ereksiyon sağlamada ve sürdürmede güçlük, kadınlarda vajinal lubrikasyon olmaması başlıca seksüel işlev bozuklukları olarak görülür (8).

Epilepsi:

Kortikal veya subkortikal bölgedeki lezyonlar nöbet nedeni olabilir. Multipl skleroz hastalarında epilepsi yaklaşık %5 oranında gözlenir (2).

Yorgunluk:

Multipl skleroz hastalarının %65-97'si yorgunluktan şikayetçidir. Yorgunluk hissi dinlenme durumunda dahi oluşabilir, hasta dinlenme ile rahatlamaz. Primer progresif MS hastalarında daha nadir gözlenir. Uykusuzluk, anemi, hipotroidi, sıcaklık artışı, enfeksiyon, elektrolit dengesizliği veya spastisiteye bağlı olarak da gelişebilir (2).

Gastrointestinal Sorunlar:

En sık konstipasyon sorunu gözlenirken, diyare ve inkontinans daha nadir olarak gözlenir. Pelvik duvar spastisitesi, gastro-kolik refleks azalması, mobilizasyonun

azalması,abdomen , antikolinerjik-antidepresan-kalsiyum-antispastik ilaçların kullanımı konstipasyona sebep olabilir(8).

1.1.3. Multipl Skleroz Klinik Seyri

Multipl sklerozun alt tipleri aşağıda belirtildiği gibidir:

Relapsing/remitting MS:

Multipl skleroz olgularının başlangıcında %85 oranında görülür. Günler,haftalarıiçerisinde düzelen ataklarla seyreder. Genellikle izleyen haftalar ve aylar içerisinde tam iyileşme hali gözlenir. Ataklar arasında nörolojik durum stabil seyreder (2,8).

Sekonder progresif MS:

Ataklardan sonra tam düzelme olmaksızın yeni atakla birlikte özürlülük artar. Relapsing-remitting MS hastalarının yaklaşık %50'si 15 yıl sonra sekonder progresif forma geçişyapar (2,8).

Primer progresif MS:

MS hastalarının %15'inde gözlenir. Klasik atak görülmez, hastalığın başlangıcından itibaren sinsi ilerleyiş mevcuttur. Genellikle 40 yaşından sonra başlar, özürlülük hızlı gelişir (2,8).

Progresif relapsing MS:

MS hastalarının %5'inde görülür. Primer progresif form gibi başlangıçtan itibaren sinsi ilerleme gözlenirken, sekonder progresif form gibi nadir ataklar geliştirirler (2,8).

Radyolojik İzole Sendrom:

Klinik olarak MS ile uyumlu herhangi bir semptom veya bulgu göstermemiş kişilerin başka bir nedenle yapılan manyetik rezonans (MR) incelemelerinde tesadüfen MS ile uyumlu bulguların tespit edilmesidir (2).

Klinik İzole Sendrom:

Merkezi sinir sisteminin inflamatuvar-demyelinizan lezyonu ile ilişkili olduğu kabul edilen ve ilk kez ortaya çıkan bir nörolojik olay olarak tanımlanmaktadır. Olguların çoğunda asemptomatik/sessiz başka lezyonlar nadir olmayarak seçilebilmektedir (2).

Tek Atak Progresif MS:

Tek atak geçirdikten sonra progresif seyir gösteren klinik formudur (2,8).

1.1.4. Tanı

Multipl skleroz tanısı klinik bir tanı olup; ayrıntılı öykü, nörolojik muayene, MR incelemeleri, beyin omurilik sıvı (BOS) incelemesi ve uyarılmış potansiyel incelemesi tanı için yardımcıdır (2,8).

Multipl skleroz için ilk olarak 1965 yılında tanının tamamen klinik olarak konulmasını öngören Schumacher tanı kriterleri yayınlanmış, 1983 yılında Schumacher tanı kriterlerinin yerini Poser kriterleri almıştır. Poser kriterleri 'laboratuvar destekli kesin multipl skleroz' tanımlamasını gündeme getirmiştir. 2001 yılında McDonald ve arkadaşları tarafından MR görüntülemelerinden yararlanarak, olası ve kesin multipl skleroz tanısını belirlemek için ayrıntılı ölçütler tanımlanmıştır (8,13). 2005 ve 2010 yıllarında McDonald tanı kriterleri revize edilmiştir (14).

Schumacher tanı kriterleri:

- Nesnel SSS işlev bozukluğu
- Ak madde yapılarının etkilenmesi
- SSS'de 2 ya da daha fazla bölgenin etkilenmesi
- Relapsing-remitting ya da progresif seyir (>6 ay)
- 10-50 yaşlarında başlangıç
- Belirti ve bulguların bu alanda çalışan uzman nörolog tarafından daha iyi bir açıklamasının olmaması

Poser tanı kriterleri:

- Klinik olarak kesin MS diyebilmek için;
 - 2 atak ve 2 ayrı lezyonun klinik bulgusu
 - 2 atak, bir lezyonun klinik bulgusu ve diğer bir lezyonun paraklinik bulgusu gereklidir.
- Laboratuvar destekli kesin MS ;
 - 2 atak ya da klinik veya paraklinik bir lezyon bulgusu, BOS oligoklonal bant /IgG pozitifliği

- 1 atak, 2 ayrı lezyonun klinik bulgusu ve BOS oligoklonal bant /IgG pozitifliği
- 1 atak, 1 lezyonun klinik bulgusu ve 1 lezyonun klinik va başka farklı bir lezyonun paraklinik bulgusu ve BOS oligoklonal bant /IgG pozitifliği gereklidir.

Mc Donalds Kriterleri (2001):

- 2 ya da daha fazla atak; 2 ya da daha fazla lezyonun objektif klinik kanıtı
 - Ek bulguya ihtiyaç yok
- 1 atak; 2 ya da daha fazla lezyonun objektif klinik kanıtı
 - Ek bulgular; MR’da zaman içinde dağılım kriterleri veya ikinci atağı beklemek
- 2 ya da daha fazla atak; 1 lezyonun objektif klinik kanıtı
 - Ek bulgular ; MR’da alan içinde dağılım kriterleri veya MR’da 2veya daha fazla lezyon+anormal BOS veya farklı lokalizasyonu gösteren bir atak beklemek
- 1 atak; bir lezyonun (monosemptomatik prezentasyon; klinik izole sendrom) objektif klinik kanıtı
 - Ek bulgular; MR’da alan içinde dağılım kriterleri veya MR’da 2veya daha fazla lezyon+anormal BOS ve MR’da zaman içinde dağılım kriterleri veya ikinci atağı beklemek
- MS telkin eden progresif seyir
 - Ek bulgular; Anormal BOS ve MR’da alan içinde dağılım kriterleri:1)beyinde 9 veya daha fazla T2 lezyonu veya 2)spinal iki veya daha fazla lezyon veya 3)4-8 beyin lezyonu + 1spinal lezyon veya Anormal VEP ile birlikte MR’da alan içinde dağılım kriterleri: 4-8 beyin lezyonu veya 4’den az beyin lezyonu+ 1spinal lezyon ve MR’da zaman içinde dağılım kriterleri veya bir yıldan beri sürekli progresyon

McDonaldskriterleri (2010):

- Jukstakortikal, periventriküler, infratentorial, medulla spinalis yerleşiminden 2ve/veya daha fazla bölgesinde 1 veya daha fazla T2 lezyon varlığı (uzay içinde dağılım)
- İlk MR’da asemptomatik gadolinyum tutan lezyon olması, takiplerde yeni T2 lezyon varlığı (gadolinyum tutan ya da tutmayan) (zaman içerisinde dağılım)

1.1.4.1. Manyetik Rezonans Görüntüleme:

Kranial MR multipl skleroz için en duyarlı incelemedir. Medula spinalis MR incelemelerinde klinik olarak kesin MS hastalarının %80'inde lezyonlar mevcuttur (15).

MS lezyonlarının MR özellikleri;

- Lezyon sayısının 3'ten fazla olması,
- Lezyon büyüklüğünün 6 mm'den büyük olması
- Uzun eksenlerinin lateral ventriküllere dik olarak uzanan oval şekilli lezyonlar olması
- Periventriküler, korpus callosum, posterior fossa yerleşimli olmasıdır.

1.1.4.2. Bos İncelemesi:

BOS (beyin omurilik sıvısı) incelemesi multipl skleroz hastalığı için değerli bir tanı aracıdır. Hastaların 1/3 ünde akut dönemde lenfosit hakimiyetli pleositoz görülebilir, total protein hafifçe yükselmiştir. İntratekal IgG düzeylerinde artış gözlenir. IgG indeksi ve sentez hızı klinik kesin MS olgularının %70-90'ında artış gösterir. BOS da oligoklonal bant (OKB) pozitifliği %90 hastada tespit edilir (13).

$$\text{Ig G indeksi} = \frac{(\text{BOS Ig G} / \text{serum Ig G})}{(\text{BOS Albumin} / \text{serum albümin})}$$

- 0.7'nin üzeri artmış oran
- Hastaların %70'inde yüksek saptanır.

OKB Pozitif Paternler:

Patern 1: Serum ya da BOS da oligoklonal bant yok. İntratekal IgG sentezi yapılmıyor.

Patern 2: Sadece BOS ta oligoklonal bant pozitif. İntratekal IgG sentezi mevcut. MS için tipiktir.

Patern 3: BOS ve serumda aynı bantların olması. İntratekal ve sistemik IgG üretimini gösterir. MS'de gözlenebilir.

Patern 4:Serumdaki bantların BOS'a yansımastır. Sistemik IgG sentezini gösterir.

Patern 5: BOS ve serumda anormal monoklonal proteinler izlenir. Periferik IgG sentezini telkin eder.

1.1.4.3. Uyarılmış Potansiyeller:

Görme, işitme ve duyu yolları boyunca ileti hızını ölçmede yararlıdır. Subklinik demyelinizasyon bölgelerini ortaya koyabilir. Optik nörit öyküsü olan hastaların %90'ından fazlasında anormal VEP (visuel evoked potential) bulguları tespit edilir. Klinik olarak kesin MS olgularının ¾ ünde SEP' te (somatosensorial evoked potential) yavaşlamış ileti bulunur. Motor uyarılmış potansiyel (MEP), VEP, SEP ve BAEP (brainstem auditory evoked potential) kullanılmakta olup BAEP en az hassas olan testtir (2).

1.1.5. Tedavi

MS hastalığının günümüzdeki tedavisi dört anabşlık altında toplanabilir:

- Akut atak tedavisi
- İmmünmodülatuar tedavi
- İmmünsüpresif tedavi
- Semptomatik tedavi

1.1.5.1. Atak Tedavisi:

Kortikosteroidler atak tedavisi için en sık kullanılan ilaçlardır. Kortikosteroidler sitoplazmik reseptörlere bağlanarak hücre nükleusunun içine girerler, proinflatuar sitokinlerin transkripsiyonunu ve proinflatuar enzimleri inhibe ederler. Atakların akut tedavisinde kortikosteroid kullanılma amacı kortikosteroidleri antinflatuar etkilerinden faydalanmaktır. ACTH (adrenokortikotrop hormon) tedavisinin atak döneminde düzelme hızını arttırdığı gösterilmiştir, fakat uzun süreli tedavi edici etkisi yoktur. Akut ataklarda intravenöz metilprednizolon (IVMP) kullanımı tercih edilmektedir. 3-10 gün süre ile 500-1000 mg/gün şeklinde verilmesi önerilen

tedavi şeklidir. Kortikosteroid kullanılması rağmen %30 hastada yeterli iyileşme gözlenmeyebilir. Gün aşırı, 7-9 kür plazma ferez uygulaması da tedavi seçenekleri arasındadır. İntravenöz immunglobulin (IVIG) uygulamasının atak oranını azalttığı, özür lülüğü azaltma eğilimi olduğuda bildirilmiştir (5,8).

1.1.5.2. İmmünmodülatuar Tedavi:

İmmünmodülatuar tedavi ile atak sıklığını azaltmanın yanında süregelen ilerleyici döneme girişi önlemek, özür lülüğün ilerlemesini durdurmak yani hastalığın doğal seyrini değiştirmek de amaçlanmaktadır. Bu grupta IFN beta-1b, IFN beta-1a, glatiramer asetat (GA), natalizumab, fingolimod, teriflunomid, dimetil fumarat kullanılabilir (12,16).

IFN beta-1b ve IFN beta-1a antiviral ve bağışıklık sistemini düzenleyici işlevleri olan peptid sınıfı ilaçlardır. IFN beta-1b ve IFN beta 1a'nın sitokin modülasyonu, antijen sunumunun inhibisyonu gibi etkileri vardır. Atakların şiddetini azaltır. MR takiplerinde duraklama izlenir, lezyonlar daha büyük hacimlere ulaşmazlar. Enjeksiyon yeri reaksiyonu, grip benzeri belirtiler, karaciğer enzimlerinde yükselme ve lenfopeni gibi yan etkiler görülebilir (2).

Glatiramer asetat myelin basic proteininde sıklıkla bulunan dört aminoasidin (L-glutamik asit, L-alanin, L-tirozin, L-lizin) düzensiz bir bileşimidir. Glatiramer asetat tedavisi ile relaps oranında ve MR bulgularında düzelme olduğu ortaya koyulmuştur. Glatiramer asetat antijen sunumunu inhibe eder, antijen spesifik supresör T hücrelerin indüksiyonunu sağlar, CD4 T hücrelerinin Th1'den Th2'ye dönüşümünü sağlar (17).

Natalizumab lenfositlerin alfa-4 integrin reseptörlerini bloke ederek VCAM-1'e bağlanmasını engeller ve transmigrasyonu önler. T hücre apoptozisini artırır. Natalizumab kullanımı ile ilgili progresif multifokal lökoensefalopati olguları bildirilmiştir. Tedavi öncesi JC virüs pozitifliğini kontrol etmek gerekir (2).

Fingolimod sfingozin-1-fosfat molekülüne bağlanarak lenfositlerin lenf nodlarından çıkışını engeller. T hücre sayısını azaltır. Fingolimod kullanan hastalarda herpes enfeksiyon ve cilt kanserlerinin sıklığı, karaciğer fonksiyon testi yüksekliği ve maküler ödem görülebilir (18,19). Hastalara tedavi öncesi varisella zoster antikör tayini yapılması ve gerekli ise aşı yapılması önerilmektedir. Sfingozin-1 fosfat reseptörü kardiyovasküler sistemde dahil olmak üzere birçok dokuda bulunmaktadır (20).

Fingolimod atriyal miyositler üzerine sfingozin-1 fosfat 1 ve 3 reseptörleri ile etki eder ve ilk doz bradikardisine sebep olur. Nadir olarak 1. ve 2. derece atrioventriküler bloklara sebep olabilir (18,19). İlk doz ilaç alımı sırasında 6 saatlik yakın klinik takip ve kardiyak monitorizasyon önerilmektedir. Kan lenfosit sayısındaki düşme belirli aralıklarla takip edilmeli, 200/ml²'nin altına düşen değerlerde tedaviye ara verilmelidir. Maküler ödem tedavinin başlangıç dönemlerinde görülebilen nadir(%0.4) bir yan etkidir(18,19). Tedavi kesildikten sonra düzelme gösterir.

Teriflunomid primidin sentez yolağında görevli dihidroorotat dehidrojenaz enzimini inhibe eder. Aktif metaboliti leflunomiddir. Aktive lenfosit proliferasyonunun inhibisyonunu sağlar.En sık gözlenen yan etkiler yüzde kızarma, ishal, mide bulantısı ve karın ağrısıdır (21,22).

Dimetil fumarat fumarik asit esteridir. Nöroprotektif ve immünmodülatuar etkileri mevcuttur. Etki mekanizması net olarak ortaya konulamamıştır (23).

1.1.5.3. İmmünsüpresif Tedavi

Bağışıklık sistemini baskılayıcıya da işlevini değiştiren ilaçlar kullanılmaktadır. Bu amaçla azatioprin, siklofosfamid, siklosporin, metotreksat, mitoksantron kullanılmaktadır(16,24).

Azatioprin bir pürin antimetabolitidir. Karaciğer toksisitesi, hematolojik yan etkileri ve malignite geliştirme riskine karşı dikkatli olunmalıdır (25).

Siklofosfamid alkilleyici bir ajan olup hızlı bölünen lenfositler üzerinde sitotoksik etkiye sahiptir. Hemorajik sistit, infertilite, malignite geliştirme riskleri gözönünde bulundurulmalıdır (2).

Metotreksat bir folat antagonistidir. Uzun süreli kullanımda pulmoner fibrozis ve hepatik yan etkiler görülebilir (2).

Mitoksantron TNF α , IL-2, IL-10 ve IFN- γ düzeyini azaltarak immünsüpresif etki oluşturan bir ajandır. Toplam dozu 120 mg/m² aşmayacak şekilde; 12 mg/m² dozunda uygulama yapılır. Kardiyak toksisite ve akut lösemi gelişimi açısından dikkatli olunmalıdır (2).

1.1.5.4. Semptomatik Tedavi:

MS hastalarında sıklıkla izlenen ve hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde bozan kronik belirtilere yönelik semptomatik tedaviler kısa ve uzun dönem tedavinin parçası olmalıdır.

Spastisite için ilk olarak germe ağırlıklı egzersizler uygun olacaktır. Benzodiazepin, baklofen (20-120 mg/g), tizanidine, dantrolen, botulinium toksin kullanılabilir. Yüksek doz baklofen kullanılması gereken hastalarda intratekalbaklofen pompası ile dirençli spastisitenin azaltılması sağlanılabilir (2).

Üriner sistem disfonksiyonlarına yönelik olarak; hiperaktif mesane için pelvik tabanı güçlendirici egzersizler, desmopressin tedavisi ve antikolinerjik ajanlar, dissinerjik mesane için aralıklı katater uygulaması ve antikolinerjik ajanlar, hipoaktif mesane için mesane eğitimi ve aralıklı katater uygulaması kullanılabilir. Mevcut tedavi ile tatmin edici sonuçlar elde edilemezse detrüsr aşırı aktivitesi için antimuskarinik ajanlar, cerrahi seçenekleri düşünülebilir. Detrüsr sfinkter dissinerjisi için aralıklı temiz kateter uygulaması, botulinium toksin uygulaması yapılabilir (2,26).

Kabızlık için bol lifli gıda ile beslenme, bol sıvı tüketimi, fiziksel aktiviteyi artırmak denenmelidir; yeterli gelmezse laksatif ajanlar, lavman kullanılabilir. Gayta inkontinansı için diyetle lifli gıdaların azaltılması gereklidir. Loperamid veya difenoksilat atrofün kullanılabilir (26).

Cinsel işlev bozukluğu varsa önce nedenini belirlemek gereklidir. Ürolojik, jinekolojik, psikolojik ve hormonal nedenler gözden geçirilmelidir. Eretil işlev bozukluğu için oral fosfodiesteraz inhibitörleri önerilmektedir (2).

Tremor özellikle ilerleyen evrelerde görülür. Sıklıkla beta blokörler tercih edilir. Antiepileptik ajanlar (primidon, gabapentin, lamotrijin, valproat) seçenekler arasındadır. El bileğine ağırlık takılması tremor amplitüdünü düşürmektedir. Şiddetli ve tedaviye dirençli tremor hastalarında derin beyin stimülasyonu denenebilir (2).

Patolojik yorgunluk (fatigue) tarif eden hastalarda ayrıntılı sorgulama yapılmalı ve neden olabilecek diğer nedenler araştırılmalıdır. Düzenli uyku, egzersiz, sigaranın bırakılması önerilebilir. Farmakolojik tedavi olarak amantadin, modafinil kullanılabilir (2).

Depresyon MS hastalarında normal popülasyona göre daha sık gözlenmektedir. SSRI ya da SNRI grubundan bir ilaç tercih edilebilir. Yanetki profili nedeni ile trisiklik antidepresanlar tercih edilmemelidir (2).

Multipl sklerozda demografik ve klinik prognostik faktörler Tablo 1’de gösterilmiştir (27).

Tablo 1. Multipl skleroz prognozunda olumlu ve olumsuz faktörler

Olumlu Faktörler	Olumsuz Faktörler
Kadın cinsiyet	Erkek cinsiyet
Erken yaşta başlangıç	Geç yaşta başlangıç
Optik nörit, sensoryel monosinaptik başlangıç	Başlangıçta piramidal, serebellar, spinal ve/veya sfinkter disfonksiyonu bulguları
İlk atağın sekelsiz ve çabuk düzelmesi	İlk atağın sekelli ve uzun sürede düzelmesi
EDSS 3 olana kadar geçen sürenin uzun olması	İlk 5 yılda orta derecede özür lülüğ e ulaşılması
Ataklarla seyir ve seyrek atak	Progresif seyir
Düşük sosyoekonomik düzey	Yüksek sosyoekonomik düzey

1.2. D VİTAMİNİ

D vitamini insan vücudunda birçok düzenleyici ve fonksiyonel etkileri olan steroid yapılı bir hormondur. Bir ön hormon olan D vitamininin kolekalsiferol (vitamin D3) ve ergokalsiferol (vitamin D2) olmak üzere iki kaynağı vardır. Her iki formu da steroid yapılıdır. Kemik ve kalsiyum dengesi kontrolünde önemli işlevleri vardır (28).

D vitamini ya diyetve takviyeler ile alınır ya da endojenolarak üretilir. Balık, yumurta sarısı, süt ve meyve sularında bulunur (28). Diyet ile alınan D vitamini ihtiyaç duyulanın yalnızca %30’unu karşılayabilmekte olup; biyolojik olarak aktif değildir (29), asıl olarak özellikle yaz aylarında daha yoğun olarak oluşan 290-315 nm dalga boyunda olan ultraviyole B ışınları ile maruziyet sonucu elde edilir (30). Biyolojik olarak aktif formu 1.25 dihidroksivitamin D3 (kalsitriol) formudur. İlk olarak karaciğerde hidroksillenerek inaktif ara form olan 25 hidroksivitamin D’ye (kalsidiol)

dönüştürülür. İkinci basamakta 25 hidroksivitamin D formu böbrekte 25 hidroksivitamin D₃ -1 alfa-hidroksilaz enzimi ile hidroksillenerek aktif formu olan 1 alfa 25 hidroksivitamin D'ye (1,25 (OH)₂ D₃) (kalsitriol) dönüştürülür (31). Aktif D vitamini hücre içine girerek vitamin D reseptörlerine (VDR) bağlanır, işlevlerini görür (32).

D Vitamin seviyesinin en güvenilir belirteci serumdaki kalsitriol seviyesidir. Serum seviyesi 25 nmol/L den düşükse ağır derecede eksik, 25-80 nmol/L ise ortaderecede eksik, 80 nmol/L den yüksekse yeterli olarak değerlendirilmektedir.

D Vitamini hem karaciğer hem de böbrekte 24-hidroksilasyonu yapılarak katabolize edilir (33).

İmmün sistemde bulunan monosit, makrofaj, dendritik hücre, aktive B ve T hücreleri D vitamini reseptörlerine sahiptir. Reseptör uyarımı ile monositlerin makrofajlara dönüşümünü sağlar (34), kemotaktik ve fagositik kapasiteleri ve antibakteriyel kapasiteleri artırılır (35). Aktif D vitamini, monosit ve T hücreler tarafından majör histocompatibility kompleks (MHC) II sunulmasını azaltarak otoimmüniteyi engelleyici role sahiptir (36). B hücrelerinin proliferasyonunu, plazma hücrelerinin diferansiasyonunu, immünglobülin E ve M salınımını, hafıza B hücrelerinin üretimini ve aktive B hücrelerinin apoptozisini sağlar. Ek olarak T hücre proliferasyonunu azaltır, proinflamatuvar sitokin salınımı azaltır. Sonuç olarak kalsitriol, antiinflamatuvar etkisi ile immünmodülasyonda çok önemli bir role sahiptir (37).

Kalsitriol ile Th1 aracılıklı otoimmün hastalıkların baskılanabildiği, immün cevabın değiştirilebildiği tespit edilmiştir (3). T hücrelerinin aktivasyonu ile D vitamini reseptör ekspresyonu artırılır (38).

Kalsitriol osteokalsin, osteopontin, kalbindin, 24-hidroksilaz genleri tarafından da regüle edilir. D vitamini metabolitleri dendritik hücrelerin ve makrofajların antijen sunum kapasitesini azaltır ve Th1'in Th2 lenfositlere dönüşümünü sağlar, böylece diabetes mellitus tip 1 hastalığı gelişmesine engel olur (39). Yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser, inme, kognitif yıkım ve demans gelişimi arasında ilişki tespit edilmiştir (40).

D vitamini eksikliği; vitamin D₃'ün ciltte yetersiz endojen yapımı, diyetle yetersiz alım ve/veya D vitamininin ince bağırsaktan yeteri miktarda emilememesi nedeniyle gelişebilir. D vitamini eksikliğinin en yaygın risk faktörleri; güneş ışığı maruziyetinin yetersiz olması, deri pigmentasyonu, prematür ve dismatür doğum, obezite, malabsorbsiyon, ırk, yaş ve çevresel faktörlerdir (41). D vitamini eksikliği

Avrupa’da Asya ve Amerika’ya göre daha fazla görülmektedir. Avrupa’da en yüksek serum kalsitriol seviyesi İskandinav ülkelerinde iken en düşük seviyeler Akdeniz ülkelerinde tespit edilmiştir. Bu durum yüksek güneş ışığı maruziyeti, açık renk deri ve kuzey ülkelerinde gölgeden kaçınmadavranışının olması ve multivitamin kullanımı ve Akdeniz ülkelerinde koyu renk derinin yaygın olmasına bağlanmıştır (42). D vitamini eksikliğin prevalansının yüksek olduğu bir diğer toplum Afrika Amerikanlarıdır. Çünkü koyu renk deriye sahip insanların güneş ışığı maruziyetinden D vitamini sentezleme yetenekleri, açık renk deriye sahip insanlara göre azalmıştır. Yine Hollanda’da yaşayan doğu göçmenlerinde ve Orta Doğu’da özellikle İran’da D vitamini eksikliği sık gözlenmektedir. Geleneksel hayat stilinin de muhtemel rol oynadığı düşünülmektedir (43).

Hiçbir risk faktörü olmayan yaşlı insanlarda D vitamini depolarının yetersizliği yaşlılarda sıklıkla görülen D vitamini eksikliğin bir sebebi olabilir. Yaşlı insanların çoğunlukla ev içerisinde olmaları ve ultraviyole B ışınlarından D vitamini sentezi yapma yeteneklerinin azalmış olması da sebepler arasındadır. Uzun süre hastane yatışı gerektiren premorbid durumları nedeniyle yeterli D vitamin desteği alamıyor olabilirler, geleneksel ve kültürel giyim tarzları da sebep olabilir(44).

Sağlıklı bireylerde D vitamini eksikliğin gelişmesini önleyebilmek için 51 yaş altı erişkinlerde 200 İU, 51-70 yaş arası 400 İU, 70 yaş üzerinde 600 İU alım önerilmektedir. Postmenapozal kadınlar ve güneş ışığı maruziyetinin olmadığı çocuk ve erişkin yaş gruplarında 800-1000 İU/gün D vitamini önerilmektedir (45).

1.2.1.D Vitamini ve Otoimmün Hastalıklar

D vitamininin inflamatuvar kemik hastalığı, otoimmün tiroidit, romatoid artrit, tip1diabetes mellitus, konnektif doku hastalığı, skleroderma, sistemik lupus eritematozus, alerjik ensefalomyelit, ve MS gibi birçok otoimmün hastalık ile ilişkisi araştırılmıştır. Yüksek D vitamini alımı ile romatoid artrit ve diabetes mellitus tip 1 riskinin azaldığı tespit edilmiştir (46,47).

MS hastalarında D vitamini seviyesinin düşük olması, Th1 aracılıklı immün cevapta D vitamininin modülatör rol aynadığı hipotezini düşündürmüştür (48). D vitamini seviyesinin düşük olması MS riskini artırır ve MS hastalığının daha ağır formda geçmesine neden olabilir (49).

Serum kalsitriol seviyesinde her 10 nmol/L artış MS gelişiminde %20 azalma ile ilişkilendirilmiş, yüksek serum kalsitriol seviyesinin koruyucu etkisi olduğu kanaatine varılmıştır. Günlük 1000-4000 IUs destek, serum Dvitaminiseviyesini 99 nmol/l den yüksek olmasını sağlar ve MS riskini %62 oranında azaltır (50).

MS hastalığının ekvator ve ekvatora yakın bölgelerde daha az sıklıkta görülmesine rağmen, güneş ışığı maruziyetinin az olduğu ekvatorlardan uzak enlem bölgelerinde daha fazla görülüyor olması D vitamini ile MS gelişimi arasında ilişki olduğunu düşündürmüştür (51).

1.3. VİTAMİN D RESEPTÖRÜ

Vitamin D reseptörü (VDR) steroid/tiroid nükleer reseptör ailesine mensup intrasellüler bir reseptördür. Çekirdekte bulunan VDR D vitamininin genomik etkilerine, sitoplazma zarında bulunan VDR ise genomik olmayan etkilerine yol açar. D vitamini reseptörleri gastrointestinal sistem, böbrek, kemik, mide, kalp, pankreas, cilt, overler, meme, prostat dokusu, beyin, periferik monositler, timüs dokusu ve periferik T hücrelerinde bulunmaktadır (52,53). VDR'nin timus ve periferik monosit hücrelerindeki varlığı D vitamininin T hücre gelişiminde ve fonksiyonundaki kritik rolüne dikkat çekmektedir. VDR, nükleer reseptör geni ailesine mensup, retinoid X reseptörünün (RXR) heterodimer formudur. VDR kalsitriol ile bağlanınca gen ekspresyonunu regüle eden transkripsiyon faktörü gibi davranır. Kalsitriol VDR/RXR'ye bağlandıktan sonra heterodimer stabilize olur, hücre içerisinde artmış heterodimer oranı ve hedef genlerde artmış transaktivasyona sebep olur, hücre proliferasyonunu, diferansiyasyonunu, immunomodülasyonu da içeren bir çok işlem gerçekleştirilir (54).

D vitamini, VDR'ye bağlandıktan sonra IL 1,2,6 ve 12, IFN gama, TNF alfa ve beta üretimini inhibe eder. Bu sitokinler kronik inflamatuvar otoimmün hastalık gelişiminde kritik role sahip Th1 gelişimini indüklerler (55).

Kalsitriol doğal CD4 hücrelerinin üzerine direk etkili olan Th2 hücrelerinin gelişimini arttırır ve regülatör T hücrelerini indükler(56). VDR agonistleri primer olarak; proinflamatuvar sitokin salınımını ve patojenik T hücrelerini (Th1 ve Th17) inhibe ederler ve Th2 hücrelerinin T regülatör hücreye dönüşümünü arttırırlar. VDR agonistlerinin antiinflamatuvar, immün regülatuar ve protolerojenik özellikleri doğuştan veya edinilmiş immün cevabın fizyolojik regülasyonunda önemli rol oynamakta ve

otoimmün bozukluklar için potansiyel tedavi seçenekleri arasında düşünülmektedirler (57).

Kalsitriolün biyolojik aktivitelerinin çoğu ligand-aktivasyonlu transkripsiyon faktörünü etkileyen VDR ile regüle edilir. VDR geninin genetik varyantları gen aktivasyonunda önemli defektlere, kalsiyum metabolizmasını etkilemeye, hücre proliferasyonu ve otoimmün hastalıklar riskinde artışa sebep olabilmektedir (58).

VDR geni 12q13.1 kromozomunda lokalize olup, 8 intron ve 9 ekzona bölünmüştür, yaklaşık 100 kb uzunluğundadır. İlk ekzon genin bir çok doku spesifik transkript üretebilen promoter bölgesine lokalizedir. Ekzon 2 ve 3 DNA bağlayan, ekzon 6-9 ise ligand bağlayan bölgelerdir (52).

Toplumda sıklıkla görülen DNA sekans varyantları ‘polimorfizm’ olarak adlandırılır, ılımlı fakat doğru biyolojik etkiye sahiptirler. Bir popülasyonda görülme sıklığı en az %1’dir. Hastalık nedeni değildir fakat hastalığa yatkınlık nedeni olabilirler. Polimorfizm ile genlerin kodlanan dizi değişimleri farklı protein çeşitliliğine, bu durum da farklı fenotiplerin (genetik ve çevresel etkenlerin yarattığı özelliklerin canlının dış görünüşündeki yansıması) ortaya çıkmasına sebep olur. Kan grupları, Rh faktörü ya da MHC polimorfizme örnek olarak verilebilir. İnsan genomunda fazla miktarda ve yüksek sıklıkta olmaları yaygın görülen hastalık risklerini açıklayabilmek için hedef seçilmelerine neden olmuştur (59).

VDR geni ile ilgili 30 polimorfizm listelenmiştir (60).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP; single nukleotid polymorphisms) en sık görülen polimorfizm çeşididir. Ortalama 1331 bazda 1 kez görülürler; bir insanda toplamda 3.2 milyar baz mevcuttur. Dolayısıyla bir kişi 2.4 milyon (3.2 milyar/1331) baz oranında heterozigottur. Bu durum bireyler ve popülasyonlar arasında değişebildiği gibi kromozomlar ve lokuslar arasında da değişmektedir.

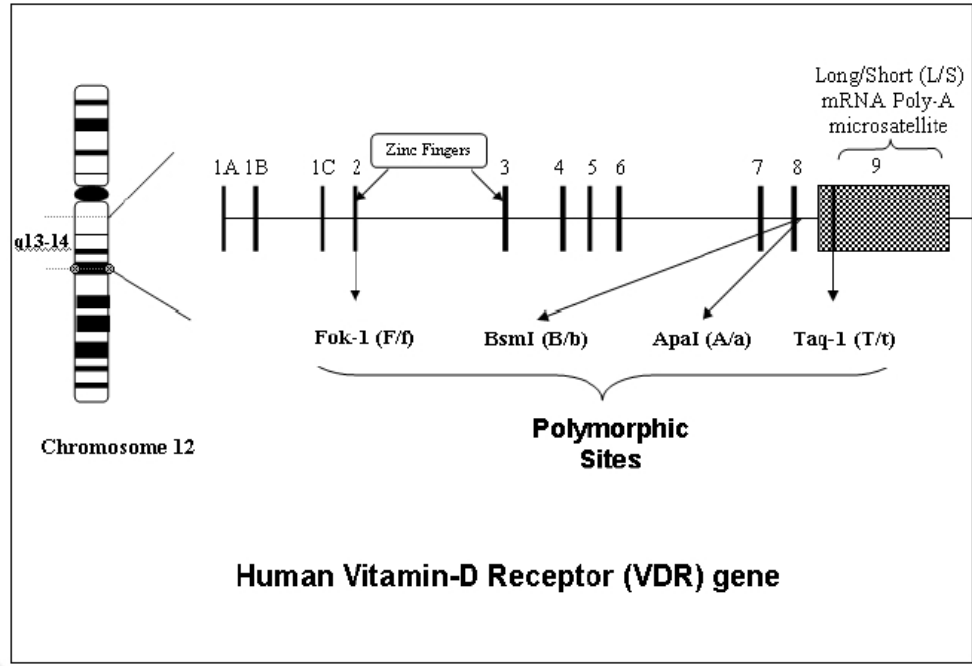
SNP’ler ;

- ✓ sessiz SNP’ler
- ✓ protein fonksiyonunu etkileyen SNP’ler olmak üzere 2’ye ayrılır.

Sessiz SNP’ler gen fonksiyonlarını, kalıtılan özellikleri etkilemezler. Protein fonksiyonunu etkileyen SNP’ler ise ya direkt etki ile aminoasit dizinini değiştirirler ya da indirekt etki ile regülatuar dizinin fonksiyonunu değiştirici etki gösterirler. SNP’ler transisyon (pürin-pürin, primidin-pirimidin), transversiyon (pürin-pirimidin) şeklinde olabilir. SNP’ler hastalıklara yatkınlık oluşturuca etkiye sahiptirler. SNP taramaları ile hangi varyant allelin hastalıkla yakın ilişkili olduğu belirlenebilmektedir. DNA

örneklerinde spesifik SNP alleleri incelenerek bireylerin hastalıklara yatkınlıklarını belirlenebilir, hastalık taraması yapılabilir (61).

İnsanlarda VDR geni ile ilgili olarak en sık Apa I (rs-7975232), Bsm I (rs-1544410), Taq I (rs-731236) ve Fok I (rs-2228570) olmak üzere dört ‘tek nükleotid polimorfizmi’ tanımlanmıştır. Bu polimorfizmler restriksiyon için kullanılan Taq I, Apa I, Bsm I, Fok I restriksiyon enzimleri ile anılmaya başlamıştır. Apa I, Bsm I, Taq I ve Fok I restriksiyon endonükleaz enzimleri olup; spesifik kısa DNA dizilerini özgül olarak tanırlar ve bu dizilimlere yakın bölgelerden veya bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden DNA’yı keserler. Referans SNP (rs) numarası gende bulunan spesifik tek nükleotid polimorfizmi için verilmiş olan referans numarasıdır. Tek nükleotid polimorfizmlerinin adlandırılmaları ‘rs’ numaraları ile de olur. Apa I ve Bsm I polimorfizmleri genin 3’ ucunda bulunan ekzon 8 ve 9 arasındaki intronda, Taq I ise ekzon 9’da lokalizedir. Fok I polimorfizmi ise ekzon 2’de, translasyon başlangıç kodonun yakınında lokalize olmuştur, Fok I (rs-2227580) polimorfizmi ile farklı boyutta protein üretimi meydana gelir, genin aktivasyonunda değişiklik oluşturulur. Proteinin kısa formu (424 aminoasit) uzun formundan (427 aminoasit) daha aktiftir. Apa I (rs-7975232) polimorfizminde A/C yer değişikliği, Bsm I (rs-1544410) polimorfizminde A/G yer değişikliği, Taq I (rs-731236) polimorfizminde ise T/C yer değişikliği meydana gelir, bu polimorfizmler VDR proteini üzerinde yapısal değişiklikler yaratmaz (60). VDR’nin genetik varyasyonları vitamin D seviyesinde değişikliğe yol açar ve otoimmün hastalıklara yatkınlık oluşturabilir (62).



Şekil 1: İnsan Vitamin D Reseptör Geni

Taq I (rs-731236), Fok I (rs-2228570), Apa I (rs-7975232) ve Bsm I (rs-1544410) polimorfizmlerinin gen dizilimleri ve tek nükleotid polimorfizmleri aşağıda gösterildiği gibidir;

TaqI/rs731236: CTGGGGTGCAGGACGCCGCGCTGAT(C/T)GAGGCCAT
CCAGGACCGCCTGTCCA

FokI/rs2228570: GGCCTGCTTGCTGCTGTTCTTACAGGGA(A/C/G/T)GG
AGGCAATGGCGGCCAGCACTTCC

ApaI/rs7975232: AAGGCACAGGAGCTCTCAGCTGGGC(A/C)CCTCACT
GCTCAATCCCACCACCCC

BsmI/rs1544410: TTCCTGGGGGCACAGACAGGCCTGC(A/G)CATTTCC
AATACTCAGGCTCTGCTC

Uluslararası Biyoteknoloji bilgi merkezinin 'Entrez SNPs' (single nucleotide polymorphisms) veritabanına göre 30'un üzerinde VDR gen polimorfizmi listelenmiştir, sadece birkaç tanesinin otoimmün hastalıklarla ilişkisine dair çalışma vardır, çok sınırlı sayıda polimorfizm immünregülasyon ve MS ile ilişkilendirilmiştir (60). Apa I polimorfizmi başta üzere çok sayıda enfeksiyöz hastalıkla ve tip 1 diabetes mellitus, sistemik lupus eritematozis gibi otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmişlerdir (4,63,64). VDR geninin spesifik varyasyonları D vitamini fonksiyonları ve metabolizmasında değişikliğe yol açabilmektedir. Bu VDR polimorfizmleri sistemik

lupus eritematozus,diabetes mellitus tip 1 gibi birçok otoimmün hastalıklar için artmış risk oluşturmaktadır (65).

VDR gen polimorfizmi ile D vitamini ve immün sistem ilişkisi şimdiye kadar yapılançalışmalar için ilgi çekici konular olmuştur. Dünyada birçok farklı popülasyondaMS ile VDR gen polimorfizmi ilişkisi vaka kontrollü çalışmalarla araştırılmıştır (65-72),Bu konuyla ilgili ilk çalışmalar Japon popülasyonunda yapılmış ve bu bulgular Avustralya popülasyonunda yapılmış çalışma ile genişletilmiştir (65,66).

77 MS hastasının dahil edildiği bir Japon çalışmasında VDR Bsm I ve Apa I polimorfizmleri ile MS arasında ilişki tespit edilmiştir (67).

Avusturalya’da yapılan bir çalışmada 104 relapsingremitting, sekonder progresif ve primer progresif MS hastası çalışmaya dahiledilmiştir. FokI, ApaI ve Taq I polimorfizmleri araştırılmıştır. Taq I polimorfizmi MS hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklı bulunmuş, Apa I geni de MS hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. Fok I polimorfizmi ise MS hastaları ve kontrol grubunda farklı bulunmamıştır. Bu çalışma VDR geninin MS gelişiminde özellikle progresif seyir gösteren subtiplerinde riski arttırdığını desteklemiştir (68).

Dicknikson ve arkadaşlarının yapmış olduğu 136 hasta ve 235 kontrol grubundan oluşan bir çalışmada Cdx-2, Fok I, Taq I polimorfizmi ve MS gelişme riski araştırılmış fakat ilişki saptanmamıştır. Fakat çocukluk çağında kış güneşi maruziyeti ve Cdx-2 polimorfizmi ile MS gelişim riski ilişkili bulunmuştur (69).

Simon ve arkadaşlarının yapmış olduğu 214 vaka ve 428 kontrol grubundan oluşan çalışmasında Fok I polimorfizmi olan hastalarda düşük D vitamini alımı ile birlikte MS gelişme riski yüksek tespit edilmiştir (70).

Cox MB ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada TaqI polimorfizmi ile MS riskinde artış bulunmuştur (71).

Smolders ve arkadaşlarının yapmış olduğu 212 hasta ve 289 kontrol grubundan oluşan çalışmada Apa I, Taq I polimorfizmleri ile serum kalsidiol ve kalsitriol seviyeleri ile MS riski arasında anlamlı sonuç bulunmamıştır (65).

Yunanistan’da 69 hasta ve 81 kontrol ile yapılan çalışmada ise Taq I ve Bsm I polimorfizmleri ile MS geliştirme riski arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (72).

Ailesel MS tanımlaması, soygeçmişinde MS tanısına sahip akrabası olan MS hastaları için kullanılmıştır.1. Derece akrabasında MS tanısı olan bir bireyin MS olma ihtimali %4 olarak belirlenmiştir. Bu risk MS görülme ihtimali yüksek bölgelere gidildikçe % 15-20’lere çıkmaktadır. Monozigot ikizinde MS varsa görülme ihtimali

%31, diğ er 1. Derece akrabada varsa bu risk %3-5'lere gerilemektedir. 2. ve 3. derece akrabalarda olması MS gelişme riskinde de düş üş e sebep olmaktadır (73). Ailesel MS özelliğ i taşıyan hastalarda benzer bir çalışma daha önceden yapılmamış olup; bu hastalarda genetik özelliklerin daha net ortaya koyulabilmesi muhtemeldir. Bu  alışma ile bölgemizde bulunan ailesel MS  zelliğ i taşıyan hastalarda en sık görülen VDR tek gen polimorfizmleri olan Taq I, Apa I ve Fok I polimorfizm ve MS ilişkisinin araştırılması planlanılmıştır.



2.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için İnönü Üniversitesi Etik Kurul'u tarafından 2015/31 sayılı numarayla onay alındı. Çalışmamıza destek olması amacı ile İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Birimi'ne başvuru yapıldı; 2015/43 sayılı numara ile onay verildi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan ve kontrol grubundan onam formu alındı.

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Nöroloji Kliniğinde 2009-2016 yılları arasında takip edilen 618 multipl skleroz hastasının dosyaları incelendi. İncelenen 618 hasta dosyasından 25 hastanın ailesel MS özelliği gösterdiği tespit edildi. Çalışma kriterlerine uyan bu hastaların telefon numaralarına ulaşıldı, çalışma hakkında bilgi verildi. Çalışmaya katılan aileler ve aile bireyleri numaralandırıldı. Toplamda 25 aile numaralandırıldı; her ailede en az 2, en fazla 3 MS hastası bulunmaktaydı. Hastaların tümünden ve ulaşılabilir olan anne-babalarından, ve/veya kardeşlerinden ve ailedeki akraba MS hastalarından kan örnekleri alındı. Çeşitli sebeplerle (telefon numarasına ulaşılamama, vefat etmiş olma, yurt dışında olma..vb) ulaşılamayan hasta ve hasta yakınlarından kan örnekleri alınamadı. Ailesel MS özelliği gösteren 29 hasta çalışmaya dahil edilebildi.

Kan örneklerinin temini Ocak 2015- Şubat 2016 tarihleri arasında yapıldı. 29 multipl skleroz hastası ve 120 sağlıklı birey çalışmamıza dahil edildi. Dahil edilen bireyler hasta ve kontrol, kadın hasta ve kadın kontrol, erkek hasta ve erkek kontrol olarak gruplandırıldı.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 18-60 yaş arasında olması,
- Soygeçmişte multipl skleroz tanısı olan akrabasının olması,

- Gebe olmaması,
- Başka sistemik hastalığı olmaması olarak belirlendi.

18-60 yaş arası, gebe olmayan ve başka sistemik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Dışlama kriterleri;

- Soygeçmişte multipl skleroz tanısı olmayan MS hastaları,
- 18 yaşından küçük, 60 yaşından büyük olması
- Gebe olması olarak belirlendi.

18 yaşından küçük, 60 yaşından büyük, gebe olan ve/veya başka sistemik hastalığa sahip olan gönüllüler çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmamız 4 aşamada gerçekleştirildi;

2.1.Kan Örneklerinin Toplanması:

Çalışma için; soygeçmişinde 1 ve/veya daha fazla bireyde MS tanısına sahip bireyler olan MS hastalarından, hastaların ulaşılabilenanne-baba ve/veya kardeşlerinden; kontrol grubu olarak da yukarıda sayılan kriterlere sahip sağlıklı gönüllülerden 2 cc venöz kan örnekleri Edta'lı tüplere alındı.

Kan örnekleri toplandıktan sonra, alınan kanlardan DNA'nın izole edilmesi, DNA konsantrasyonunun ölçümü ve genotipleme işlemleri gerçekleştirildi.

Toplamda 29 MS hastası ve 120 sağlıklı gönüllü bireyden kan alındı. Herbir polimorfizm için yeterli DNA konsantrasyonu elde edebildiğimiz ve genotipleme işlemine yanıt verebilen örnekler istatistiksel olarak incelendi.

2.2.DNA İzolasyonu

200 µl kan örneği üzerinde Purelink Genomik DNA kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Kit aşağıda belirtilen yöntemle çalışıldı;

Kan lizatı:

- Su banyosu 55 dereceye kadar ayarlandı.
- 200 µl kan örneği steril mikrosantrifüj tüpüne koyuldu.
- 20 µl proteinaz K eklendi. 20 µl RNase A eklendi.
- Kısa süreli vorteksleme yapıldı.

- Oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
- 200 µl Purelink Genomic Lysis/Binding Buffer eklendi.
- Homojen bir karışım elde edilene kadar vortekslendi.
- Proteinlerin parçalanması amacı ile 55 derecede, 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

- 200 µl %96-100 etanol eklenildi.
- Homojen olacak şekilde 5 saniye vortekslendi.

DNA' nın bağlanması:

- Toplama tüpüne kolonlar yerleştirildi.
- Hazırlanan 640 µl blood lysate spin kolonuna aktarıldı.
- 10.000 x g de 1 dakika süre ile oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Toplama tüpleri atıldı.
- Spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi.

DNA'nın yıkanması:

- Spin kolonuna etanol eklenilmiş 500 µl Wash Buffer 1 eklenildi.
- Oda sıcaklığında 10.000 xg de 1 dakika süre ile santrifüj edildi.
- Toplama tüpleri atıldı ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin kolonuna etanol eklenilmiş 500 µl Wash Buffer 2 eklenildi.
- Kolon maksimum hızda oda sıcaklığında 3 dakika süre ile santrifüj edildi
- Toplama tüpleri atıldı.

DNA' nın çıkarılması:

- Spin kolon steril bir şekilde 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- Kolona 25-200 µl Purelink Genomic Elution Buffer(Genomik Elüsyon Tamponu) eklendi.
- Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Kolon maksimum hızda, oda sıcaklığında 1 dakika süre ile santrifüj edildi.
- Bu şekilde tüpte genomik DNA izole edilmiş oldu.
- Daha fazla DNA elde etmek için aynı kolon temiz 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne alındı.
- Kolona 25-200 µl GenomikElution Buffer (Genomik Elüsyon Tamponu) eklendi.
- Oda sıcaklığında, maksimum hızda 1,5 dakika süre ile santrifüj edildi.

DNA' nın saklanması:

- +4 derecede ya da küçük hacimlere bölünerek -20 derecede saklandı.

2.3. DNA Konsantrasyonun Ölçülmesi:

DNA konsantrasyonunun ölçümü için Qubit dsDNA BR (Broad-Range) Assay Kitleri kullanıldı.

Kitin çalışma yöntemi aşağıda belirtildiği gibidir:

- 0.5 µl örnek ve standartlar tüplere konuldu.
- Tüp kapakları etiketlendi. Qubit dsDNA BR Reagent 1:200 in Qubit dsDNA BR Buffer ile dilue edilerek Qubit çalışma solüsyonu hazırlandı.
- Qubit çalışmasolüsyonu hazırlığında her seferinde temiz plastik tüpler kullanıldı. Cam tüpler kullanılmadı.
- Her bir tüpte en az 200 µl kadar hacim elde edildi.
- Standart için kullanılan her bir tüp içerisine 190 µl Qubit çalışma solüsyonu eklenildi.
- Uygun tüplere 10 µl Qubit standardı eklenildi.
- 2-3 saniye süre ile vorteksleme yapıldı.
- Her örneklem tüpüne Qubit çalışma solusyonu eklenilerek 200 µl volüm elde edildi.
- Oda ısısında 2 dakika inkübasyona bırakıldı. Qubit cihazı ile DNA konsantrasyonları ölçüldü.

2.4.Genotipleme:

Genotipleme işlemi için aşağıdaki karışım kullanıldı;

Tablo 2: Genotipleme İşlemi için Kullanılan Karışım Tablosu

2x Master mix	10 µl
20x Assay mix	1 µl
Sd H2O	7 µl
DNA	2 µl
	Toplam 20 µl

Pipetaj yapılan karışım step one plus real time cihazına yüklenilerek genotiplleme reaksiyonu gerçekleştirildi.

PCR profili aşağıdaki gibidir:

- 95 derecede 10 dk,
- 95 derecede 0-15 sn, 40 döngü
- 60 derecede 1 dk , 40 döngü çalıştırıldı.

Sonuçlar cihazınstep-one software'inden alındı. İstatistiksel olarak analizleri gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatiksel analiz için SPSS paket programı (versiyon 17.0) kullanıldı. Sürekli nicel değişkenler ortalama ve standart sapma, kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi.Karşılaştırmalarda Pearson ki-kare, Pearson kesin ki-kare ve Süreklilik düzeltmeli ki-kare testleri kullanıldı. Sayısal veriler normal dağılıma uygun olmadığı için meydan, minimum ve maksimum değerler ile tanımlanmış ve karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi. Popülasyondaki bireylerin sahip oldukları gen frekansları Hardy-Weinberg kuralına göre hesaplandı.

3. BULGULAR

Çalışmamız için 29 MS hastası ve 120 sağlıklı gönüllü bireyden kan alındı. Hastaların 21'i kadın, 8'i erkekti. Çalışmamıza katılan hastalar için minimum yaş 19, maksimum yaş 54, ortalama yaş $33,7 \pm 10,7$ olarak belirlendi. Hastaların 23'ü relapsing remitting MS, 5'i sekonder progresif MS, 1'i primer progresif MS tanısına sahipti. Ortalama hastalık yılı $7,6 \pm 5,6$ olarak tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri tablo 6'da ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Taq I gen polimorfizmi analizinde 1 hasta (26 no'lu), Apa I gen polimorfizmi analizinde 3 hasta (12, 19 ve 22 no'lu) DNA konsantrasyonlarının düşük olması nedeni ile çalışmaya dahil edilmedi. Fok I gen polimorfizmi analizi için kan örneği alınan tüm hastalarımız çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda ise 61 kadın, 59 erkek bulunmaktaydı. Kontrol grubu için minimum yaş 18, maksimum yaş 58, ortalama yaş $33,1 \pm 8,5$ olarak belirlendi. Kontrol grubunda Taq I gen polimorfizmi analizinde 48 birey, Apa I gen polimorfizmi analizinde 39 birey, Fok I gen polimorfizmi analizinde 6 birey DNA konsantrasyon düşüklüğü nedeni ile çalışmaya dahil edilemedi.

Taq I polimorfizm analizinde kontrol grubu için 72 birey, hasta grubu için 28 birey çalışmaya dahil edildi. Hasta grubunda 26 no'lu hasta DNA konsantrasyonunun düşük olması nedeni ile çalışmadan çıkarıldı. Hasta bireylerin 20'si kadın, 8'i erkekti. Hasta grubunda minimum yaş 19, maksimum yaş 54, ortalama yaş $33,1 \pm 10,4$ olarak tespit edildi. Ortalama hastalık yılı $7,7 \pm 5,7$ olarak belirlendi. Hastaların 22'si relapsing remitting MS, 5'i sekonder progresif MS, 1'i primer progresif MS tanısı ile takip edilmekteydi. Kontrol grubunda 35 kadın, 37 erkek bulunmaktaydı. Kontrol grubunda 48 sağlıklı gönüllü, DNA konsantrasyon düşüklüğü nedeni ile çalışmaya dahil edilemedi. Kontrol grubunda minimum yaş 18, maksimum yaş 58, ortalama yaş

32,8±8,8 olarak tespit edildi.Hasta-kontrol, kadın hasta-kadın kontrol ve erkek hasta-erkek kontrol allel ve genotip dağılımı Tablo 3’de belirtilmiştir.

Taq I polimorfizm analizinde GG genotipi için hasta popülasyonu ile kontrol popülasyonu arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p:0.025$). Kontrol grubunda 7’si kadın, 8’i erkek olmak üzere 15 bireyde GG genotipi tespit edilirken, hasta bireylerin hiçbirinde GG genotipi tespit edilmemiştir. AA genotipine sahip 13 hasta (6’sı kadın, 7’si erkek), 31 kontrol (15’i kadın, 16’sı erkek), AG genotipine sahip 15 hasta (14’ü kadın, 1’i erkek),26 kontrol (13’ü kadın, 13’ü erkek) mevcuttur. Kadın hasta-kadın kontrol grup arasında ($p:0,028$) anlamlı farklılık tespit edilirken erkek hasta-erkek kontrol arasında ($p:0,079$) anlamlı farklılık yoktu.

Fok I polimorfizm çalışmasındakontrol grubu için 114 birey, hasta grubu için 29 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Hasta bireylerin 21’i kadın, 8’i erkekti. Çalışmamıza katılan hastalar için minimum yaş 19, maksimum yaş 54, ortalama yaş 33,7±10,7 olarak belirlendi. Ortalama hastalık yılı 7,6±5,6 olarak tespit edildi. Hastaların 23’ürelapsing remitting MS, 5’i sekonder progresif MS, 1’i primer progresif MS tanısı ile takip edilmekteydi. Kontrol grubunda 57 kadın, 57 erkek bulunmaktaydı.Kontrol grubu için minimum yaş 18, maksimum yaş 58, ortalama yaş 32,8±8,5 olarak belirlendi. Fok I polimorfizmi için hasta-kontrol, kadın hasta-kadın kontrol ve erkek hasta-erkek kontrol allel ve genotip dağılımı tablo 4’de belirtilmiştir.

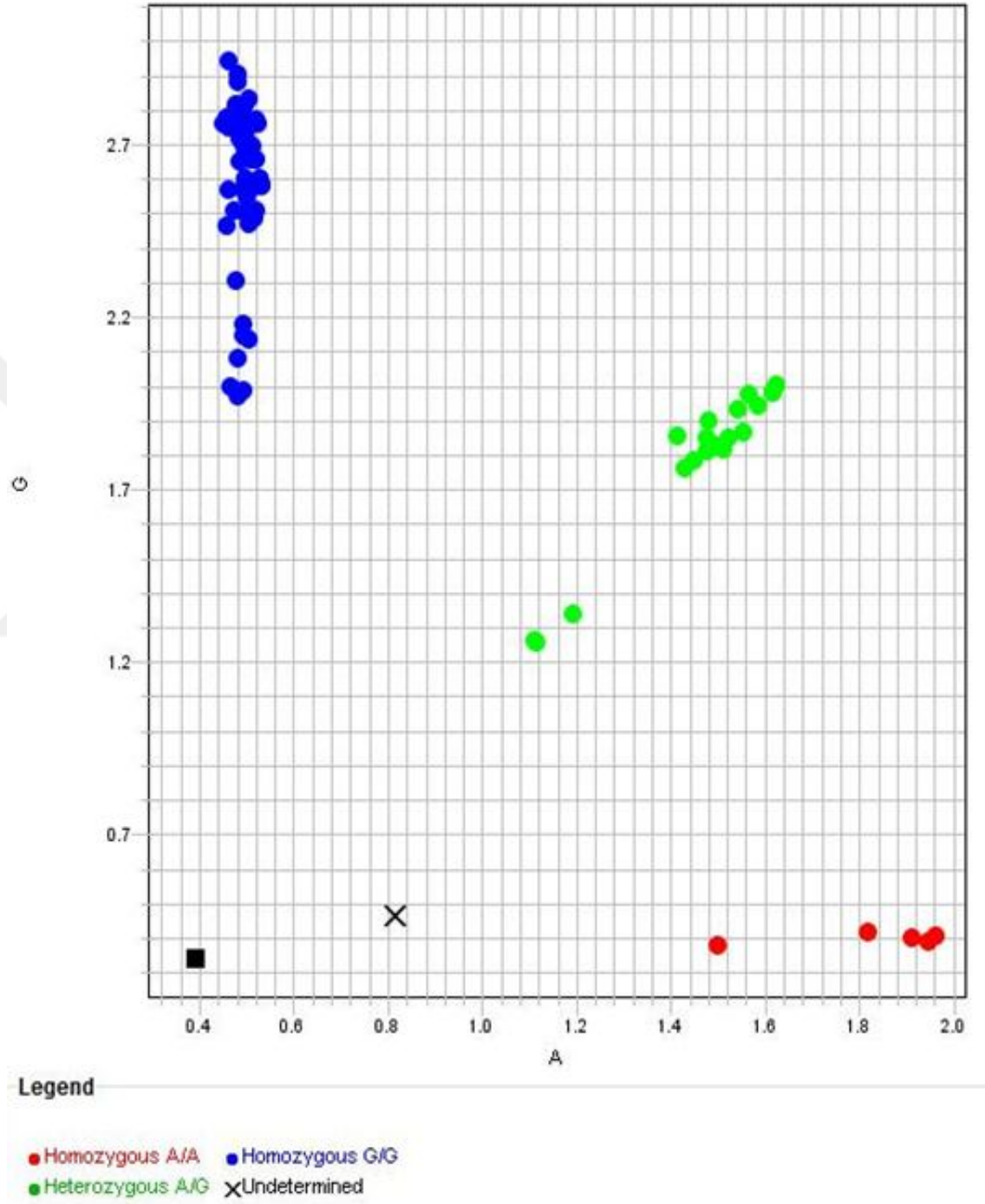
Fok Ipolimorfizm analizinde AA genotipine sahip 1 hasta (1’i kadın), 8 kontrol (3’ü erkek, 5’i kadın), AG genotipine sahip 6 hasta (5’i kadın, 1’i erkek), 34 kontrol (18’i kadın, 16’sı erkek), GG genotipine sahip 22 hasta (15’i kadın, 7’si erkek), 72 kontrol (34’ü kadın, 38’i erkek) mevcuttur.Fok Ipolimorfizm analizinde hasta bireyler ve kontrol grup arasında AA-AG-GG genotipleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p:0,042$).Kadın hasta-kadın kontrol grup ($p:0.658$) arasında ve erkek hasta-erkek kontrol grup ($p:0,517$) arasında da anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Apa I polimorfizm çalışmasında kontrol grubu için 81 birey ve hasta grubu için 26 birey çalışmaya dahil edilmiştir.Hasta bireylerin 20’si kadın, 6’sı erkekti.Hasta grubunda minimum yaş 21, maksimum yaş 54, ortalama yaş 33,9±10,1 olarak tespit edildi. Ortalama hastalık yılı 7,46±5,2 olarak belirlendi.Hastaların 21’i relapsing remitting MS, 4’ü sekonder progresif MS, 1’i primer progresif MS tanısı ile takip edilmekteydi. Kontrol grubunda 46 kadın, 35 erkek bulunmaktaydı.Kontrol grubu için minimum yaş 18,

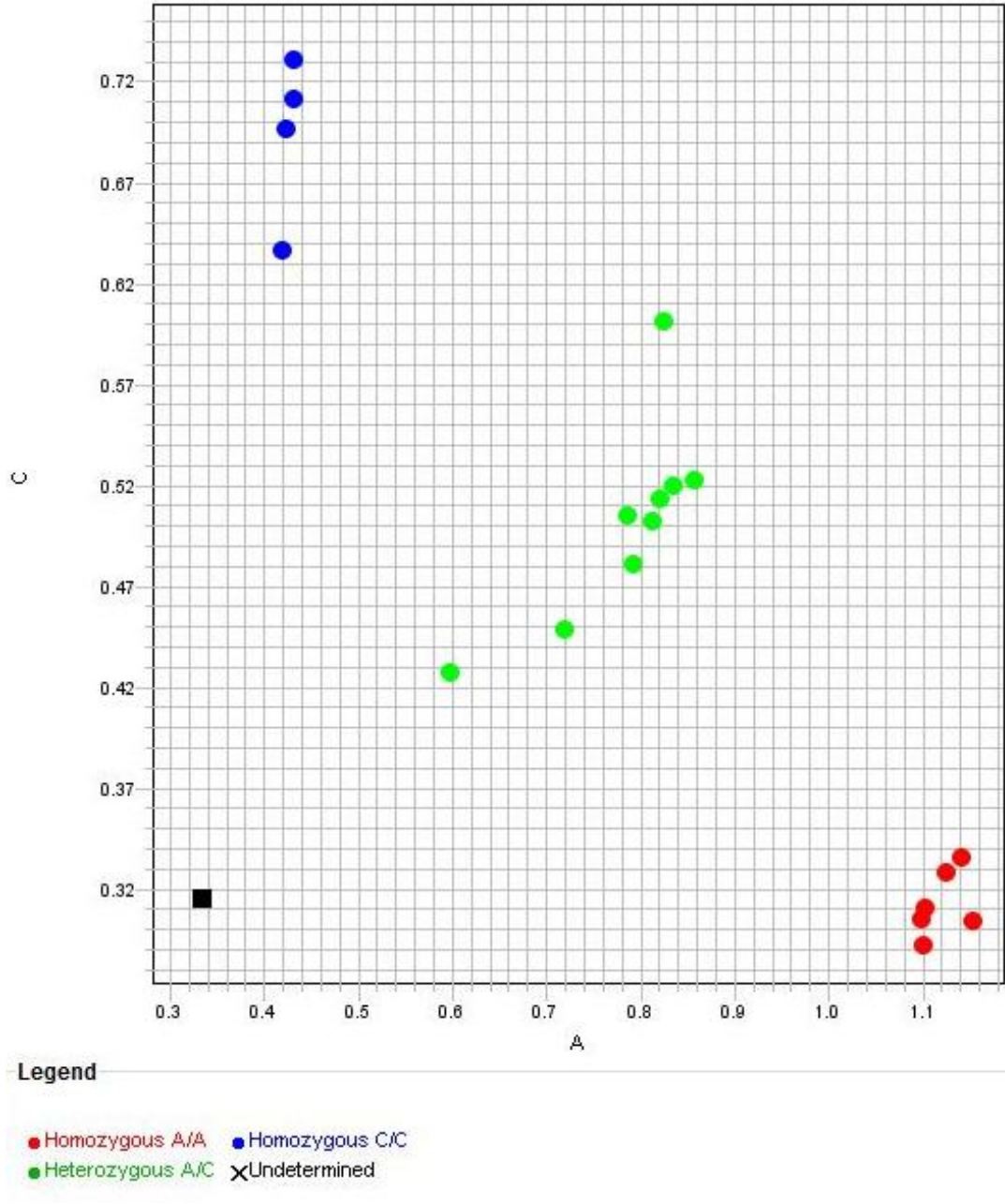
maksimum yaşı 58, ortalama yaşı $34 \pm 8,7$ olarak belirlendi. Apa I polimorfizmi için hasta-kontrol, kadın hasta-kadın kontrol ve erkek hasta-erkek kontrol allel ve genotip dağılımı tablo 5’de belirtilmiştir

Apa I polimorfizm analizinde AA genotipine sahip 8 hasta (7’si kadın, 1’i erkek), 28 kontrol (18’i kadın, 10’u erkek), AC genotipine sahip 13 hasta (11’i kadın, 2’si erkek), 37 kontrol (18’i kadın, 19’u erkek), CC genotipine sahip 5 hasta (2’si kadın, 3’ü erkek), 16 kontrol (10’u kadın, 6’sı erkek) bulunmaktaydı. Apa I polimorfizmi için kontrol ve hasta bireyler arasında AA-AC-CC genotipleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p:0.956$). Kadın hasta-kadın kontrol grup ($p:0,383$) arasında ve erkek hasta-erkek kontrol ($p:0,273$) arasında da anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

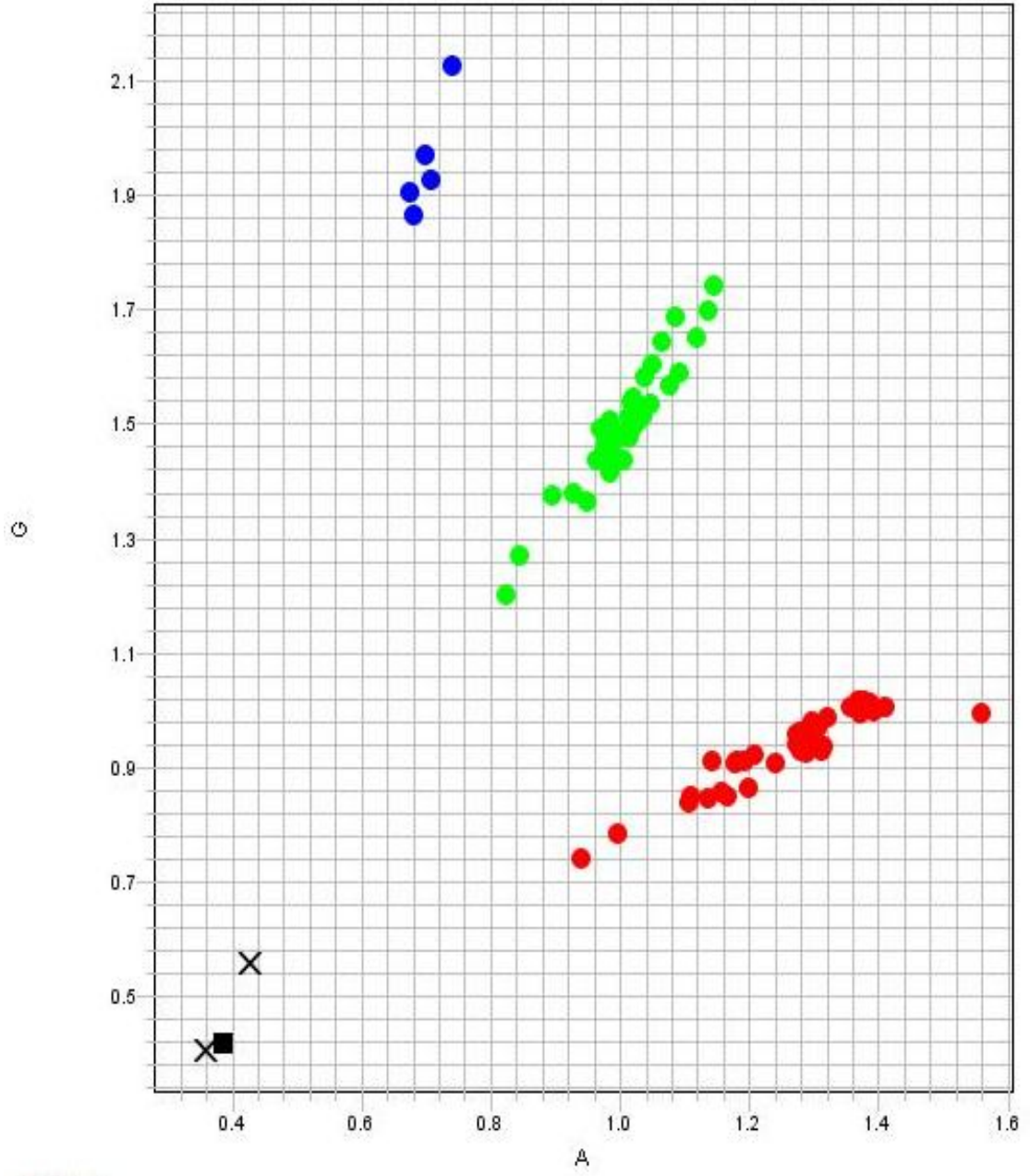
Fok I, Taq I ve Apa I polimorfizmlerinin allel dağılım grafikleri Şekil 2, Şekil 3 ve 4’ te gösterilmiştir.



Şekil 2:Fok I Allel Genotip Dağılım Grafiği



Şekil 3: Apa I Allel Genotip Dağılımı



Legend

- Homozygous A/A
- Homozygous G/G
- Heterozygous A/G
- × Undetermined

Şekil 4: Taq I Allel Genotip Dağılımı

Tablo 3: Taq I Polimorfizm Genotip ve Allel Sıklıkları

GRUP	AA	AG	GG	p	Hardy Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	31(43,1%)	26(36,1%)	15(20,8%)	0,025	0,041	88(61,1)	56(38,9)	0,149
Hasta	13(46,4%)	15(53,6%)	0(0%)		0,053	41(73,2)	15(26,8)	
KADIN	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	15(42,9%)	13(37,1%)	7(20,0%)	0,028	0,201	43(61,4)	27(38,6)	0,867
Hasta	6(30,0%)	14(70,0%)	0(0%)		0,016	26(65,0)	14(35,0)	
ERKEK	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	16(43,2%)	13(35,1%)	8(21,6%)	0,079	0,109	45(60,8)	29(39,2)	0,025
Hasta	7(87,5%)	1(12,5%)	0(0%)		0,850	15(93,8)	1(6,2%)	

Tablo 4: Fok I Polimorfizmi Genotip ve Allel Sıklıkları

GRUP	AA	AG	GG	p	Hardy Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	8(7%)	34(29,8%)	72(63,2%)	0,422	0,168	50(21,9)	178 (78,1%)	0,233
Hasta	1(3,4%)	6(20,7%)	22(75,9%)		0,483	8(13,8%)	50(86,2)	
KADIN	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	5(8,8%)	18(31,6%)	34(59,6%)	0,658	0,264	28(24,6)	86(75,4)	0,405
Hasta	1(4,8%)	5(23,8%)	15(71,4%)		0,512	7(16,7%)	35(83,3)	
ERKEK	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	3(5,3%)	16(28,1%)	38(66,7%)	0,517	0,456	22(19,3)	92(80,7)	0,302
Hasta	0(0%)	1(12,5%)	7(87,5%)		0,850	1(6,3%)	15(93,8)	

Tablo 5: Apa I Polimorfizmi Genotip ve Allel Sıklıkları

GRUP	AA	AC	CC	p	Hardy Weinberg p	A	C	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	28(34,6%)	37(45,7%)	16(19,8%)	0,956	0,553	93(57,4)	69(42,6)	0,963
Hasta	8(30,8%)	13(50%)	5 (19,2%)		0,945	29(55,8)	23(44,2)	
KADIN	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	18(39,1%)	18(39,1%)	10(21,7%)	0,383	0,191	54(58,7)	38(41,3)	0,829
Hasta	7(35%)	11(55%)	2(10%)		0,438	25(62,5)	15(37,5)	
ERKEK	AA	AG	GG	p	Hardy- Weinberg p	A	G	p
	n (%)	n (%)	n (%)			n (%)	n (%)	
Kontrol	10(28,6%)	19(54,3%)	6(17,1%)	0,273	0,554	39(55,7)	31(44,3)	0,262
Hasta	1 (16,7%)	2(33,39%)	3 (50,0%)		0,540	4(33,3%)	8(66,7%)	

4. TARTIŞMA

Multipl skleroz santral sinir sisteminin kronik demyelinizan bir hastalığıdır. Genç ve orta yaş erişkinlerde özürllülüğe en sık yol açan hastalıklarından biridir. Dünya genelinde 2.1 milyon kişinin etkilendiği ve prevelansının gittikçe artacağı düşünülmektedir (74). Multipl skleroz patogeneğinde genetik ve çevresel faktörlerin ve özellikle T hücre aracılı otoimmünitenin olduğu düşünülmektedir. D vitamini immün sistemin potansiyel modülatörü olup multipl skleroz hastalarında D vitamini eksikliği üzerinde yoğunlaşmıştır (75).

D vitamini insan vücudunda bir çok düzenleyici ve fonksiyonel etkisi olan bir steroid hormondur. D vitamini etkilerini VDR ve membranla ilişkili hızlı cevaplı steroid bağlayıcı reseptör (MARRS) aracılığı ile göstermektedir. Vitamin D reseptör geninin belli polimorfizmleri D vitamininin fonksiyon ve metabolizmasını modifiye edebilmektedir (76). Çeşitli etnik gruplarda VDR gen polimorfizminin rolü ile ilgili bir çok çalışma gerçekleştirilmiş, çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Dünyada birçok ülkede VDR polimorfizmi ile MS ilişkisi araştırmaları yapılmıştır. İlk olarak Japonya’da 1999 yılında MS ile Bsm I polimorfizm araştırması yapılmış (67) ; arkasından 2000 yılında yine Japonya’da Graves hastalığı ile MS ilişkisi araştırılmıştır (77). 2005 yılında Avusturalya’da Taq I, Apa I, Fok I polimorfizm ve MS ilişkisi araştırılmıştır (78). Yunanistan’da 2011 yılında benzer bir çalışma yapılmıştır (72). 2015 yılında Tunus (80), Kuveyt (81), Güneydoğu İran (83), Slovakya’da (86) yapılan çalışmalar takip etmiştir.

Yapılan araştırmalarda sıklıkla Taq I, Apa I, Fok I ve Bsm I polimorfizmleri ve MS ilişkisi incelenmiştir çünkü bu polimorfizmler en sık görülen VDR geni tek nükleotid polimorfizimleridir. Ailesel MS özelliği gösteren hastalarda böyle bir çalışma

daha önceden yapılmamış olup, biz de bu çalışma ile bölgemizde bulunan ailesel MS hastaları ile VDR geni Taq I, Apa I ve Fok I polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Bsm I gen polimorfizmi, kit temin edilemediği için araştırmamıza dahil edilemedi.

Japonya’ da 77 hasta ve 95 kontrol ile yapılmış bir çalışmada Bsm I ve Apa I polimorfizmi ile MS arasında ilişki tespit edilmiştir (67). Bizim çalışmamızda Bsm I polimorfizm araştırması yapılmamıştır, Apa I polimorfizm araştırmasında ise anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Farklı sonuçlar elde edilmesi hasta popülasyonumuzun kısıtlı sayıda olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Avusturalya’da 104 hasta ve 104 kontrolün yer aldığı MS vaka-kontrollü yapılmış bir çalışmada MS hastalarında Taq I polimorfizm incelemesinde hasta ve kontrol genotip dağılımında hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı farklılık tespit edilmiştir (78). Bizim çalışmamızda da Avusturalya popülasyonunda yapılmış çalışmayı destekleyici olarak ailesel MS özelliği taşıyan hasta bireyler ile kontrol grup Taq I genotip dağılımında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p:0.025$). Elde edilen veriler Türk popülasyon genetik özellikleri ile Avusturalya popülasyonunun genetik özelliklerinin benzer olabileceğini düşündürmüştür.

Yine aynı çalışmada MS hastalarında Apa I polimorfizmi için de anlamlı farklılık tespit edilmiş ve bu polimorfizmin primer progresif ve sekonder progresif MS için yatkınlık oluşturduğu sonucu bulunmuştur (78). Çalışmamızda yapılmış olan Apa I polimorfizm analizinde hasta grubumuzda kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmamızda MS alttiplerine göre analiz yapılmamıştır, kısıtlı sayıda olan hasta grubu alttiplere bölündüğünde her bir alttip için anlamlı sonuç çıkarmaya yetecek hasta sayısına ulaşamamıştır. Fok I polimorfizm araştırması ise bizim çalışmamızla benzer olarak sonuçlanmış, dağılımda anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Kanada popülasyonunda yapılmış olan Taq I ve Apa I polimorfizmleri araştırmasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (79). Bizim çalışmamızda Apa I polimorfizmi ile ilişki tespit edilmezken, Taq I polimorfizmi hasta ve kontrol grubunda anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Yunan popülasyonunda 69 MS hastası ve 81 kontrol ile yapılmış çalışmada Bsm I ve Taq I polimorfizmleri araştırılmış fakat herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Bu çalışmada kalça ve lomber vertebra kemik mineral dansitesinin MS hastalarında

kontrol gruba göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Düşük kemik mineral dansitesi ile Bsm I ve Taq I polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki olmadığı tespit edilmiştir (72).

Dicknikson ve arkadaşlarının yapmış olduğu 136 hasta ve 235 kontrol grubundan oluşan bir çalışmada Cdx-2, Fok I, Taq I polimorfizmi ve MS gelişme riski araştırılmış fakat ilişki saptanmamıştır. Fakat çocukluk çağında kış güneşi maruziyeti ve Cdx-2 polimorfizmi ile MS gelişim riski ilişkili bulunmuştur. Aynı çalışmada her gün 2 saatten az güneş ışığı maruziyeti olan hastalarda G alleli ile azalmış MS riski arasında ilişki tespit edilmiştir. Bu durum VDR gen polimorfizmleri ile MS arasındaki ilişkinin geçmiş güneş ışığı maruziyetine bağlı olabileceğini düşündürmüştür (69).

Simon ve arkadaşlarının Amerika Birleşik Krallığı'nda yapmış olduğu 214 hasta ve 428 kontrol grubundan oluşan çalışmada Fok I polimorfizmi olan hastalarda düşük D vitamini alımı ile birlikte MS gelişme riski yüksek tespit edilmiştir. VDR geni tek nükleotid polimorfizmleri (Apa I, Taq I, Bsm I ve Fok I) ile MS arasında bağlantı tespit edilememiştir (70). Bizim çalışmamızda da Apa I ve Fok I polimorfizm analizinde anlamlı sonuç çıkmamıştır, fakat bu çalışmadan farklı olarak Taq I polimorfizminde anlamlı farklılık saptanmıştır ($p:0.025$)

Cox MB ve arkadaşlarının 2012 yılında İngiltere'de yapmış olduğu bir çalışmada Taq I polimorfizmi ile MS riskinde artış bulunmuştur (71).

Smolders ve arkadaşlarının yapmış olduğu 212 hasta ve 289 kontrol grubundan oluşan çalışmada Apa I, Taq I polimorfizmleri ile serum kalsidiol ve kalsitrol seviyeleri ile MS riski arasında anlamlı sonuç bulunmamıştır. Fok I polimorfizmi ile MS arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (65).

Tunus'da 60 relapsing-remitting MS hastasının ve 114 kontrolün dahil edildiği bir çalışma yapılmıştır. Hasta popülasyonu 22 erkek ve 38 kadından oluşmaktadır. Kontrol grubu ise 47 erkek, 67 kadından oluşmaktadır. Bu çalışma Taq I polimorfizminde T allel varlığının yaş ve cinsiyet gruplarına göre Tunus popülasyonunda MS gelişme riskine karşı koruyucu olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile MS gelişme riskinde VDR'nin rolü olduğu görüşü desteklenmiştir. Fakat Apa I polimorfizm ile MS arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir (80).

Bu çalışma ile Avusturalya'da yapılmış olan Taq I polimorfizmi ile MS gelişme riski arasında ilişki olduğu sonucu desteklenilmiş olup; bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada cinsiyet ayrımına göre de analiz yapılmış olup; her iki grupta Taq I polimorfizmi ile MS hastalığı ilişkilendirilmiştir. Bizim

çalışmamızda da Taq I polimorfizmi analizinde G allel varlığının ailesel MS hastalarında kadın hastalarda MS gelişme riskine karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir. Literatürde Taq I polimorfizm analizi ile ilgili uyumsuz sonuçların hastaların etnik kökeniyle, örneklem büyüklüğü, çalışmanın dizaynı ya da MS hastalığı patogenezinde bir çok genin rol oynaması nedeni ile olabileceği düşünülmüştür. Yine bu çalışmada bizim çalışmamız ile uyumlu olarak Apa I polimorfizm ile MS gelişme riski arasında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır (80).

Kuveyt popülasyonunda 50 MS hastası ve 50 kontrolün dahil edildiği bir çalışma yapılmıştır. MS hastalarının 33'ü kadın, 17'si erkek, kontrol grubunun 31'i kadın, 19'u erkek olarak tespit edilmiştir. Çalışmada vitamin D seviyesi, vitamin D desteği, VDR polimorfizmi ve güneş ışığı maruziyeti ile MS riski arasında ilişki araştırılmıştır. Vitamin D seviyesinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı farklılık göstermediği, MS hastalarında vitamin D desteğinin vitamin D düzeyini etkilemediği tespit edilmiştir. MS hastalarında Taq I genotip dağılımının kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. (81). Apa I genotip dağılımında MS hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Apa I ve Taq I polimorfizmi ile ilgili olarak; Kuveyt popülasyonunda yapılmış bu çalışmada, Tunus (80) ve bizim ailesel MS hasta popülasyonumuzdaki verilerin benzeri elde edilmiştir. Avusturalya'da yapılmış olan (78) çalışma Taq I polimorfizm MS ilişkisini desteklemektedir fakat Apa I polimorfizminin Avusturalya'da MS ile ilişkili tespit edilmiş olması bu çalışma ile uyumsuz tarafıdır.

Güneydoğu İran bölgesinde 88'i kadın, 25'i erkek 113 MS hastası ve 94'ü kadın, 28'i erkek 122 sağlıklı bireyin olduğu kontrol grubu ile çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Taq I polimorfizmi ve Apa I polimorfizmi ile MS duyarlılığı arasındaki ilişkinin araştırılması planlanılmıştır. Her iki polimorfizm ile MS arasında ilişki tespit edilmiş olup; bu sonuçlar Japonya (67), Avusturalya (78) ile uyumludur. Bizim çalışmamızda da Taq I polimorfizmi analizinde anlamlı sonuçlar elde edilmiş fakat Apa I polimorfizmi ile uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir. MS hastalarının kan ve beyin omurilik sıvısındaki kalsidiol, kalsiyum seviyesi ile kontrol grubunun seviyeleri arasında farklılık tespit edilmemiştir (82). Bu çalışma ile VDR gen polimorfizminin VDR fonksiyonları üzerindeki rolü net olarak değerlendirilememiştir; D vitamin fonksiyonlarını indirek etkileyen ligand-reseptör affinitesi, sinyal yolağı (83) ya da gen ekspresyonu (84) nedeni ile olabilir.

Slovakya 'da Cierny ve ark'nın yapmış olduğu 270 MS hastasının ve 303 kontrolün dahil edildiği bir çalışmada VDR gen Fok I polimorfizmi ile MS duyarlılığı araştırılması amaçlanmıştır. MS hastaları klinik disabilite progresyonlarına (yavaş-orta-hızlı progrese olanlar) göre 3 altgruba ayrılmışlardır. MS hastaları ile kontrol grup arasında Fok I genotip ve allel sıklık oranında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Erkek hasta-erkek kontrol grup karşılaştırmasında anlamlı sonuçlar elde edilememişken, kadın MS hastaları ile kadın kontrol grup karşılaştırılmasında kadın MS hastalarında Fok I polimorfizminin daha sık olduğu tespit edilmiştir ($p:0.042$). Bu durumun MS hastalığının kadın popülasyonda daha sık görülmesinin sonucu olabileceği düşünülmüştür. Altgruplar arası yapılan karşılaştırmada anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (86). Ayrıca bu çalışmada cinsiyet ayrımına göre de analiz yapılmış olup; kadın MS hastalarında Fok I polimorfizmi ile MS hastalığı ilişkilendirilmiştir. Bizim alışmamızda ailesel MS hastalarında Fok I polimorfizm kadın hasta-kadın kontrol ,erkek hasta-erkek kontrol analizi yapılmış olup;her iki cinsiyette de anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir. Fok I genotipinin kalsitriol plazma seviyesi için olası bir prediktör olabileceği düşünülmüştür. Düşük serum kalsitriol plazma seviyesi ile Fok I polimorfizmi 150 kanadalı olguda (85) ve 212 flemenk olguda (46) tespit edilmiştir. MS hastalığının etyopatolojisinin kompleksliği nedeni ile VDR gen polimorfizmi ile MS arasında kesin bir ilişki kurmak zordur(86).

Japon popülasyonunda VDR gen polimorfizmi ile Graves hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada 180 Graves hastası (48'i erkek 132'si kadın) ve 195 kontrol (67'si erkek, 128'i kadın) alışmaya dahil edilmiş. Bsm I ve Apa I polimorfizmleri ile Graves hastalığının ilişkili olduğu tespit edilmiş, özellikle VDR Fok I polimorfizminin Japon kadınlarda Graves hastalığı ilişkili olduğu tespit edilmiş. Apa I polimorfizminin osteoporoz riskini tahmin edebildiği düşünülmüştür (87). Bizim alışmamızda ailesel MS ile Bsm I polimorfizm ilişki analizi yapılmamış olup; yapılan Taq I, Apa I ve Fok I polimorfizm ile ailesel MS ilişkisi analizlerinde MS ile benzer şekilde otoimmün bir hastalık etyolojisine sahip Graves hastalarında tespit edilen Fok I ve Apa I polimorfizm bağlantısı tespit edilememiştir .

Yapılan literatür incelemesi sonucunda ailesel MS özelliği gösteren hastalarımızda MS ile ilişkili bulduğumuz Taq I polimorfizm sonuçları ile ilgili olarak; İngiltere (71), Avusturalya (78), Tunus (80) ve Güneydoğu İran (82) bölgelerinde çalışmamızı destekleyici sonuçlar elde edildiğini tespit ettik.

Yapılmış bir çok çalışmada MS hastaları ile polimorfizm ilişkisi analiz edilirken genellikle kontrol ve hasta grubu üzerinden karşılaştırmalar yapılmış. Çalışmamızda kontrol ve hasta grubu karşılaştırması yanında kadın hasta-kadın kontrol, erkek hasta-erkek kontrol karşılaştırması yaptık. Kuveyt (80) ve Slovakya'da (86) yapılmış olan çalışmalarda hastaların cinsiyet farklılıklarına göre kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldığını tespit ettik. Diğer çalışmalarda bu ayrıntıya yer verilmemişti. Kuveyt çalışmasında Taq I polimorfizmi ile MS ilişkisi analizinin kadın hastalarda anlamlı çıktığı tespit edilmiş, bizim çalışmamızda da Taq I polimorfizmi kadın hastalarda anlamlı sonuçlanmıştır. Slovakya'da yapılmış olan çalışmada Fok I polimorfizmi analizinin kadın hastalarda anlamlı olduğu tespit edilmiş fakat bizim çalışmamızda Fok I analizinde kadın hasta-kadın kontrol ,erkek hasta-erkek kontroller arasında farklılık tespit edilememiştir.

Toplumda ailesel MS görülme sıklığı az olup (1. derece akrabasında MS olması durumunda %4 sıklıkta (73)); bizim çalışmamızda da 29 ailesel MS hastası çalışmaya dahil edilebilmiştir. Çalışmadan elde edilen Fok I ve Apa I polimorfizm analizi verilerinin anlamsız çıkmasının nedeni hastalığa yatkınlık oluşturmuyor olmaları ya da hasta sayımızın kısıtlı olması olabilir. Çalışmamızda MS hastalarının hastalık alttiplerine göre ayrımı yapılamamış olup; kısıtlı sayıda olan hasta grubu alttiplere bölündüğünde her bir alttip için anlamlı sonuç çıkarmaya yetecek hasta sayısına ulaşamamıştır. Hastaların kan örneklerinin az olması ve yeni kan temininde zorluk yaşanması nedeni ile kalsitriol düzeyleri ile MS ve polimorfizm ilişkilendirilmesi yapılamamıştır.

Yaptığımız bu çalışma bir ön çalışma niteliğinde olup; detaylı ilişkilendirme (serum kalsitriol seviyesi, hastalık alttiplerine göre ayırım, kemik dansitometre ve vücut kitle indeksi ilişkilendirilmesi) yapabilmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Hasta sayısının daha fazla olduğu ileri çalışmalar, daha iyi bilgi sahibi olmamıza yardımcı olacaktır.

5.SONUÇ

Çalışmamızda bölgemizde yaşayan ailesel multipl skleroz hastalarında vitamin D reseptör geninin en sık görülen tek gen polimorfizmleri olan Taq I, Fok I ve Apa I polimorfizminin hastalık için yatkınlık oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır. Taq I polimorfizm analizinde hasta grubumuz ile kontrol grubumuz arasında anlamlı bir farklılık ortaya konulmuş olup; bu durumun literatürdeki farklı popülasyonlarda da tespit edilmiş olması ilgi çekici olmuştur. Araştırılan diğer polimorfizmler ile hastalık yatkınlığı arasında net bir ilişki ortaya konulamamıştır. Bu durum ile ilgili olarak; Fok I ve Apa I polimorfizmleri ile MS arasında ilişki yoktur ya da çalışmamızdaki hasta popülasyonumuzun kısıtlı sayıda olmasından kaynaklanmıştır. Yaptığımız çalışmamızda Taq I polimorfizm analizinde ailesel MS hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğunu tespit ettik, ileride daha geniş popülasyonlarda ve diğer otoimmün hastalıklarda yeni yapılacak çalışmalar ile çalışmamızdan çıkan sonuçların desteklenilmesine ihtiyaç vardır.

6.ÖZET

Amaç: Multipl skleroz genç ve orta yaş erişkinlerde özürllülüğe en sık yol açan, santral sinir sisteminin kronik demyelinizan bir hastalığıdır. Multipl skleroz patogeneğinde genetik ve çevresel faktörlerin ve özellikle T hücre aracılı otoimmünitenin olduğu düşünülmektedir. D vitamini immün sistemin potansiyel modölatörüdür ve etkilerini VDR aracılığı ile göstermektedir. VDR polimorfizmleri D vitamininin metabolik ve fonksiyonel etkilerinde değişiklik oluşturabilmektedir. Literatürde bir çok ülkede VDR tek gen polimorfizmi ve MS ilişkisi ile ilgili çalışmalar yapılmış olup; ailesel MS özelliği gösteren hastalarla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile bölgemizde bulunan ailesel MS hastalarında VDR geni Taq I, Apa I ve Fok I polimorfizmleri ile MS arasında herhangi bir ilişki olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2009-2016 yılları arasında kliniğimizde takibi olan, 18-60 yaş arası, soygeçmişinde MS öyküsü bulunan 29 MS hastası ve 18-60 yaş arası 120 kontrol dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundan 2 cc venöz kan örnekleri alındı. DNA izolasyonu, DNA konsantrasyon ölçümü ve genotipleme işlemleri gerçekleştirildi. Popülasyon hasta ve kontrol grubuna ayrıldı. Hasta-kontrol, kadın hasta-kadın kontrol ve erkek hasta-erkek kontrol genotip karşılaştırması yapıldı.

Bulgular: VDR Taq I polimorfizm analizinde hasta grubu ile kontrol grup arasında anlamlı farklılık tespit edildi. GG genotipi hasta grubunda hiç tespit edilmemişken, kontrol grubunda GG genotipi mevcuttu ($p:0.025$). Kadın hasta-kadın kontrol grubunda sonuçlar anlamlı iken ($p:0,028$) erkek hasta-erkek kontrol grubunda anlamlı sonuçlar elde edilemedi ($p:0,079$). VDR Fok I polimorfizm analizinde hasta bireyler ve kontrol grup arasında AA-AG-GG genotipleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi($p:0,042$), kadın hastalar ve kontroller ($p:0.658$), erkek hastalar ve kontroller

($p:0,517$) arasında anlamlı farklılık yoktu. VDR Apa I polimorfizmi için kontrol ve hasta bireyler arasında AA-AC-CC genotipleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p:0,956$), kadın hastalar ve kontroller ($p:0,383$), erkek hastalar ve kontroller ($p:0,273$) arasında anlamlı farklılık yoktu.

Sonuç: Bölgemizde bulunan ailesel MS hastalarında Taq I polimorfizmi hastalığa yatkınlık oluşturuyor olabilir. Apa I ve Fok I polimorfizmleri ile MS arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi. Sonuç olarak multipl skleroza yatkınlık oluşturabilecek vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin tespit edilebilmesi, çalışmamızdan çıkan sonuçların desteklenilmesi için daha geniş hasta grupları ileve diğer otoimmün hastalıklar ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



7.SUMMARY

Objectives: Multiple sclerosis is a chronic demyelinating disease of central nervous system, mostly causing disability on young and middle age adults. It is considered that on the multiple sclerosis pathogenesis there are genetic and environmental factors and in particular t-cell-mediated autoimmunity. Vitamin D is a potential modulator of immune system and its effects are seen via vitamin D receptors (VDR). VDR polymorphisms may generate modifications on the metabolic and functional effects of vitamin D. Many of studies have been performed relating to VDR single gene polymorphism and MS relation in many countries on literature; it isn't familial MS property. With this study it is intended to be researched if there is any relation between VDR gene and Taq I, Apa I and Fok I polymorphisms on the familial MS patients in our region.

Material and Method: 29 MS patients, monitoring in our clinic from 2009 to 2016, at the range of 18-60 ages and having a MS background on their family history and 120 controls on 18-60 ages were included in our study. 2 cc venous blood samples were received from patient and control group. DNA isolation, DNA concentration measurement and genotyping processes were performed. Population was divided by patient and control group. Comparing of patient-control, woman patient-woman control and man patient-man control genotype was performed.

Results: A meaningful difference was determined between patient group and control group on VDR Taq I polymorphism analysis. GG genotype wasn't be determined on the patient group, it was available on the control group ($p:0.025$). While the results were meaningful on the patient-woman control group ($p:0,028$), meaningful results

weren't be obtained on the patient-man control group ($p:0,079$). On the VDR Fok I polymorphism analysis, meaningful difference wasn't be determined among AA-AG-GG genotypes between patients and control groups ($p:0,042$), meaningful difference wasn't be available between woman patients and controls ($p:0.658$) and man patients and controls ($p:0,517$). For VDR Apa I polymorphism, meaningful difference wasn't be determined among AA-AC-CC genotypes between control and patients ($p:0.956$), meaningful difference wasn't be available between woman patients and controls ($p:0,383$) and man patients and controls ($p:0,273$).

Conclusion: Taq I polymorphism on familial MS patients in our region may create liability to disease. Any relation wasn't be determined between Apa I and Fok I polymorphisms and MS. Consequently, in order to be determined vitamin D receptor gene polymorphisms, may create liability to multiple sclerosis on Turkish population, it needs to be performed new studies with larger patient groups and other autoimmunity diseases.

Tablo 6: Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

HASTA	HASTANIN YAŞI	HASTALIK BAŞLANGICIN DAN İTİBAREN GEÇEN SÜRE	MS ALT TİPİ	AİLEDE BULUNAN MS HASTASI İLE YAKINLIK DERECEŚİ
1. HASTA	22 YAŞ	4 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
2. HASTA	31 YAŞ	12 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
3. HASTA	21 YAŞ	6 YIL	RRMS	AMCASI
4. HASTA	43 YAŞ	21 YIL	SPMS	ERKEK KARDEŚİNİN OĞLU
5. HASTA	32 YAŞ	5 YIL	RRMS	TEYZESİNİN KIZI
6. HASTA	49 YAŞ	17 YIL	SPMS	KIZ KARDEŚİ VE KIZI
7. HASTA	31 YAŞ	12 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ VE KIZ KARDEŚİNİN KIZI
8. HASTA	28 YAŞ	3 YIL	RRMS	DAYISININ OĞLU
9. HASTA	22 YAŞ	2 YIL	RRMS	TEYZESİNİN KIZI
10. HASTA	30 YAŞ	8 YIL	RRMS	BABASININ TEYZESİNİN KIZI
11. HASTA	24 YAŞ	8 YIL	RRMS	AMCASININ OĞLU
12. HASTA	19 YAŞ	2 YIL	RRMS	AMCASININ KIZI
13. HASTA	54 YAŞ	3 YIL	PPMS	AMCASININ KIZI
14. HASTA	21 YAŞ	9 YIL	SPMS	TEYZESİNİN KIZI
15. HASTA	35 YAŞ	2 YIL	RRMS	AMCASININ OĞLU
16. HASTA	22 YAŞ	1 YIL	RRMS	ANNESİNİN DAYISININ OĞLU
17. HASTA	34 YAŞ	8 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
18. HASTA	38 YAŞ	17 YIL	RRMS	DAYISI VE KIZ KARDEŚİ
19. HASTA	25 YAŞ	6 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
20. HASTA	44 YAŞ	6 YIL	RRMS	ERKEK KARDEŚİ
21. HASTA	46 YAŞ	12 YIL	SPMS	KIZ KARDEŚİ
22. HASTA	53 YAŞ	20 YIL	SPMS	KIZ KARDEŚİNİN KIZI
23. HASTA	31 YAŞ	3 YIL	RRMS	TEYZESİNİN KIZI
24. HASTA	25 YAŞ	5 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
25. HASTA	28 YAŞ	3 YIL	RRMS	ERKEK KARDEŚİ
26. HASTA	47 YAŞ	12 YIL	RRMS	AMCASININ OĞLU
27. HASTA	51 YAŞ	6 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ
28. HASTA	42 YAŞ	2 YIL	RRMS	AMCASININ KIZI
29. HASTA	31 YAŞ	7 YIL	RRMS	KIZ KARDEŚİ

8.KAYNAKLAR

1. Oliver CP. La Moelle Epinière et de ses maladies. Paris: Crevot; 1824.
2. Emre M. Nörolojinin Temel Kitabı, 1. Baskı, Güneş Yayınevi. Ankara 2012; 1114-16.
3. Zella JB, DeLuca HF. Vitamin D and autoimmune diabetes. J Cell Biochem 2003; 88(2):216-22
4. Ates O, Dolek B, Dalyan L, Musellim B, Ongen G, Topal-Sarikaya A. The association between BsmI variant of vitamin D receptor gene and susceptibility to tuberculosis. Molecular Biology Reports 2011;38:2633
5. Adams RD, Victor M, Principles of Neurology, 7. edition, Mc Graw-Hill international editions. 2001; 954-79.
6. Azzimondi G, Stracciari A, Rinaldi R, D'Alessandro R, Pazzaglia P. Multiple sclerosis with very late onset: report of six cases and review of the literature. Eur Neurol. 1994;34(6):332-6.
7. Alshubaili AF, Alramzy K, Ayyad YM, Gerish Y. Epidemiology of multiple sclerosis in Kuwait: new trends in incidence and prevalence Eur Neurol 2005;53(3):125-31.
8. Gilroy J. Basic Neurology, çeviri ed: Rana Karabudak, 3.baskı, Güneş Yayınevi. Ankara 2002;199-219.
9. İdman E. Multipl Skleroz'un İmmunopatogenezi.Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi 2004; 2:171-6
10. Ruchkin DS, Grafman J, Krauss GL, Johnson R Jr, Canoune H, Ritter W. Event-related brain potential evidence for a verbal working memory deficit in multiple sclerosis. Brain 1994;117 (2):289-305.
11. Burina A, Sinanovic O. Bladder, bowel and sexual dysfunction in patient with mulitple sclerosis Med Arch 2006; 60(3):182-4.
12. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol. 2001;50(1):121-7

13. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol.* 1983 ;13(3):227-31.
14. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol.* 2005;58(6):840-6.
15. Paty DW. Magnetic Resonance in Multiple Sclerosis. *Current Opinion in Neurology and Neurosurgery* 1993, 6 :202-8.
16. Zimmermann C, Walther EU, Goebels N, Lienert C, Kappos L, Hartung HP, Hohfeld R. Interferon beta-1b for treatment of secondary chronic progressive multiple sclerosis *Nervenarzt.* 1999;70(8):759-63.
17. Neuhaus O, Farina C, Wekerle H, Hohfeld R. Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 56:702-8.
18. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010; 362(5):387–401.
19. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010; 62(5):402–15.
20. Means CK, Brown JH. Sphingosine-1– phosphate receptor signalling in the heart. *Cardiovasc Res.* 2009; 82(2):193–200.
21. Gold R, Kappos L, Arnold DL et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2012; 367(12):1098–107.
22. Fox RJ, Miller DH, Phillips JT et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2012; 367(12):1087–97.
23. Fox RJ, Kita M, Cohan SL, et al. BG-12 (dimethyl fumarate): a review of mechanism of action, efficacy, and safety. *Curr Med Res Opin.* 2014;30(2):251-62
24. Durelli L, Clerico M. The importance of maintaining effective therapy in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2005; 252:3-38
25. Casetta I, Luliano G, Filippini G. Azathioprine for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; (4):CD003982.
26. Wiesel PH, Norton C, Glickman S, Kamm M. Pathophysiology and management of bowel dysfunction in multiple sclerosis. *European journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2001; 13: 441-448.

27. Brex P, Ciccarelli O, O Riordan JI et al. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2002; 346:158-64.
28. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases. *Am J Clin Nutr* 2004; 80 (6) :1678-88
29. Holick MF. Vitamin D;importance in the prevention of cancers.*Am J Clin Nutr* 2004; 79 (3) :362-71
30. Moreiraa TS,Hamadehb MJ. The role of vitamin D deficiency in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *e-SPEN, the European e-Journal of clinical nutrition and metabolism* 2010;5(4):55-65
31. Heikkinen et al. *Nukleic acids research*, 2011;39(21):9181-93
32. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92(1):4-8
33. Ataş A, Çakmak A, Soran M. D vitamin metabolizması ve Rikets hastalığı 2008; 4:1-7
34. Griffin MD,Xing N,Kumar R. Vitamin D and its analogs as regulators of immune activation. *Annu Rev Nutr* 2003; 23:117-45
35. Martineau AR,Newton SM, Norman AW et al. IFN gamma and TNF indepentent vitamin D inducible human suppression of mycobacteria. *J Immunol* 2007; 178(11):7109-8
36. Xu H,Soruri A,Gieseler RK. 1.25 dihidroxyvitamin D3 exerts opposing effects to IL-4, phagocytosis of human monocytes. *Scand J Immunol* 1993; 38(6):535-40
37. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca H. 1,25-dihidroksivitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multipl sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(15):7861-4
38. Correale J,Ysraelit MC, Gaitan MI. Immunomodulatory effects of vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132(5):1146-60
39. Chiu KC, Chu A, Go VL,Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79(5):820-5
40. Soni M, Kos K, Lang IA, Jones K, Melzer D, Llewellyn DJ. Vitamin D and cognitive function. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2012; 243:79-82
41. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 4-8
42. Sharla SH. Prevalence of subclinical vitamin D deficiency in different European countries. *Osteoporos Int* 1998; 8: 7-12
43. Grootjans-Geerts I. Hypovitaminosis D a veiled diagnosis 2001; 145: 2057-60

44. Holick MF, McCollum AL. Vitamin D new horizons for the 21. Century. *Am J clin Nutr* 1994; 60:619-30
45. Bordelon P, Ghetu MV, Langan R. Recognition and management of vitamin D deficiency. *Am Fam Physician* 2009;80: 841-6
46. Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, Hupperts R. Vitamin D as an immune modulator in multiple sclerosis, a review. *J Neuroimmunol* 2008; 194(1-2):7-17
47. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth –cohort study. *Lancet* 2001;358(9292): 1500-3
48. Pierrot-Deseilligny C. Clinical implications of a possible role of vitamin D in multiple sclerosis. *J Neurol* 2009; 256(9): 1468-79
49. Smolders J, Menheere P, Kessels A, Damoiseaux J, Hupperts R. Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14(9): 1220-4
50. Kragt J, Van Amerongen B, Killestein J, Dijkstra C et al. Higher levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with a lower incidence of multiple sclerosis only in women. *Mult scler* 2009; 15(1): 9-15
51. Allison RS. Geographic distribution of multiple sclerosis. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1960;35(147):18-22
52. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338(2):143-56
53. Henry HL, Norman AW. Vitamin D: metabolism and biological actions.. *Annu Rev Nutr* 1984; 4:493-520
54. Yasmin R, Williams RM, Xu M, Noy N. Nuclear import of the retinoid X receptor, the vitamin D receptor, and their mutual heterodimer. *J Biol Chem* 2005; 280:40152-60
55. Huang et al. Association of vitamin D receptor gene Bsm I polymorphisms in Chinese patients with SLE. *Lupus* ;11:31-34
56. Gregori S, Giarratana N, Smirolto S, Uskokovic M, Adorini L. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 2002; 51:1367-74
57. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; 4:204-12

58. Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Kikuchi K. Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol* 2009; 50:1202-9
59. Nusbaum R, McInnes R, Willard H, Boerkoel C. Thompson ∞ Thompson Genetics in Medicine. 6. Baskı, Güneş Yayınevi. Ankara 2005; 87-93
60. Smolders J, Peelen E, Thewissen M, Menheere P, et al. The relevance of vitamin D receptor gene polymorphisms for of vitamin D research in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2009; 8(7) :621-6
61. Wright F. Genetic Variation: Polymorphisms and Mutations. MRC Human Genetics Unit, 2005:DOI: 10.1038/npg.els.0005005
62. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25 hydroxy vitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *J Am Med Assoc* 2006; 296:2832-8
63. Mohammadnejad Z, Ghanbari M, Ganjali R, Afshari JT, Heydarpour M, Taghavi SM, Fatemi S, Rafatpanah H. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and type 1 diabetes mellitus in Iranian population. *Molecular Biology Reports* 2012; 39:831
64. Mostowska A, Lianeri M, Wudarski M, Olesinska M, Jagodzinski PP. Vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus. *Molecular Biology Reports* 2013; 40:803
65. Smolders J, Damoiseaux J et al. Association study on two vitamin D metabolites in multiple sclerosis. *Ann Y Acad Sci* 2009; 1173:515-20
66. Harada K, Nakanuma Y. Biliary innate immunity and cholangiopathy. *Hepatol Res* 2007; 37:430-437
67. Fukazawa ve ark. Association of vitamin D receptor polymorphism with multiple sclerosis in Japanese. *J.neurol. Sci* 1999; 166:47-52
68. Lotti ve ark. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. *J.neurogenetics* 2005; 19:25-38
69. Dicknikson JL, Perera DI et al. Past environmental sun exposure and risk of multiple sclerosis; a role for the Cdx-2 vitamin D receptor variant in this interaction. *Multiple Scler* 2009; 15(5):563-570
70. Simon KC, Munger KL ve ark. Polymorphisms in vitamin D metabolism related genes and risk of multiple sclerosis. *Multiple Scler* 2010; 16(2):133-38
71. Cox MB, Ban M et al. Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq I with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18(1):16-22

72. Sioka C, Papakonstantinou S, Markoula S et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in multiple sclerosis patients in northwest Greece. *Journal of Negative Results in BioMedicine* 2011; 3:1-10
73. Sadovnick A.D., Baird P.A. Multiple sclerosis: Updated risks for relatives. *Am. J. Med. Gen.* 1988;29:533-541.
74. Kidd PM. Multiple sclerosis, an autoimmune inflammatory disease: prospects for its integrative management. *Altern Med Rev* 2001; 6: 540-66
75. Sahraian MA, Pakdaman H, Harandi AA. Is it time to revise the classification of geographical distribution of multiple sclerosis? *Iran J Neurol* 2012; 11(2):77-8
76. Fernandes de Abreu DA, Eyles D, Feron F. Vitamin D, a neuroimmunomodulator implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34:265-77
77. Ban Y, Taniyama M. Vitamin D receptor gene polymorphism in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:4639-43
78. Tajouri L, Ovcarić M, Curtain R, Johnson MP. Variation in the Vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. *J Neurogenet* 2005; 19:25-38.
79. Steckley et al. Genetic analysis of vitamin D related genes in Canadian multiple sclerosis. *Neurology* 2000; 54:729-32
80. Ben W, Chebel S, Frih Ayed M, Aounit M, Boukadida J. Age- and gender-specific effects on VDR gene polymorphisms and risk of the development of multiple sclerosis in Tunisians: a preliminary study. *International Journal of Immunogenetics*, 2015; 42:174–81
81. Al-Temaimi R, Al-Enezi A, Al-Serri A, Al-Roughani R, Al-Mulla F. The Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms with Multiple Sclerosis in a Case-Control Study from Kuwait. *PLoS One* 2015; 10(11):e0142265. doi:10.1371/journal.pone.0142265
82. Moghtaderi A, Tamadon GH and Haghighi F. 25 hydroxyvitamin D3 concentration in serum and cerebrospinal fluid of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Prague Medical Report* 2013; 114:162–171
83. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Van Leeuwen H and Pols HAP. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2004; 89-90:187–193

84. Durrin LK, Haile RW, Ingles SA, and Coetzee GA. Vitamin D receptor 3-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Basis of Disease* 1999; 1453:311–20
85. Orton SM, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Chao MJ, et al. Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(2):441–7
86. Cierny D, Michalik J, Kurca E, Dobrota D, Lehotsky J. FokI vitamin D receptor gene polymorphism in association with multiple sclerosis risk and disability progression in Slovaks; *Neurological Research* 2015; 37(4): 301-308
87. Ban Y, Taniyama M. Vitamin D receptor gene polymorphism in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:4639-43