

BÖLÜM 2

D VİTAMİN DÜZEYİ VE ANALİZ YÖNTEMLERİ

Cemal POLAT¹

GİRİŞ

D vitamini kalsiyum ve fosfor metabolizmasının kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. D vitaminin 2 ana formu ve çeşitli metabolitleri vardır. D vitaminin iki ana formu D2 vitamini (ergokalsiferol) ve D3 vitamini (kolekalsiferol) (Şekil 1)(1–4). Kolekalsiferol insan ve hayvan dokularında bulunur, ciltte güneş ışığı yardımıyla (Ultraviyole-B) 7-dehidrokolesterolden sentezlenir. Ergokalsiferol bitkilerde bulunur, mayalar tarafından üretilen ergosterolün irradyasyonu ile üretilir (3,5,6). D2 vitamini, karbon 22 ve karbon 23 arasında çift bağ ve karbon 24 üzerindeki bir metil grubu ile D3 vitamini arasındaki farklardır. D vitamini veya metabolitleri için bir alt simge olmadan yazıldığında, her iki vitamin sınıfı da dâhil edilmiş olur (4,7). D vitaminin çoğu deride endojen olarak sentezlenebilmektedir. Yetersizlik durumunda diyetle alınması gerekir (8,9). D2 ve D3 vitamini biyolojik olarak aktif değildirler. İn vivo iki dizi hidroksilasyon reaksiyonu ile aktif forma dönüşürler. İlk hidroksilasyon reaksiyonu karaciğerde, ikinci hidroksilasyon reaksiyonu böbrekte gerçekleşir (2,3,10).

D vitamini lipofiliktir (11–13). D vitamini dolaşımında, esas olarak D vitamini bağlayıcı proteinlere [DBP, daha az bir kısmı albümin ve lipoproteinlere bağlı olup sadece küçük bir kısmı (%1'den az) serbest formda bulunurlar] bağlanarak taşınırlar (14). D vitamini kanda DBP ile karaciğere taşınır. Karaciğerde D vitamini, 25-hidroksilaz ile katalizlenerek 25-hidroksivitamin D [25(OH)D=kalsidiol] oluşumuna neden olur. Karaciğerde sentezlenen 25(OH)D plazmada en fazla bulunan yapı olup, D vitaminin asıl depo şeklidir. 25(OH)D vitamini DBP tarafından böbreğe taşınır (11,12). 25(OH)D proksimal renal tübülde 1 α -hidroksilaz ile katalizlenerek, D vitamininin biyolojik eylemlerinin çoğundan sorumlu olan 1,25-dihidroksivitamin D [1,25(OH)2D=kalsitriol] oluşumu gerçekleşir (10). Böbrekte sentezlenen 1,25(OH)2D en güçlü D vitamini yapısıdır. Aktif yapı olan 1,25(OH)2D, hücre içi reseptör proteinleriyle (D vitamini reseptörü) etkileşimden sonra spesifik gen ekspresyonunu düzenleyerek fonksiyon gösterir. 1,25(OH)2D primer görevi plazmadaki kalsiyum ve fosfat düzeyini düzenlemektir (4,15). Ayrıca böbrekte 1,25(OH)2D'e ilaveten, 1,25(OH)2D ile karşılaş-

¹ Uzm. Dr., Isparta Şehir Hastanesi Tıbbi Biyokimya Kliniği, drcpolat@gmail.com

(Tablo 3) ile sınırlı olması gerekir (6). Tüm steroid hormonları arasında 1,25(OH)2D ölçümü en zor olanıdır. 1,25(OH)2D dolaşımdaki konsantrasyonu pikomolar düzeyde olması, metabolitin aşırı hidrofobikliği ve öncüsü olan 25(OH)D dolaşımında nanomolar seviyelerde olması tayinini büyük ölçüde zorlaştıran durumlardır (19). 1,25(OH)2D ölçümü için kullanılan en yaygın yöntemler; Radyoreseptör assay (RRA), Radyoimmunoassay (RIA) ve Kromatografik yöntemlerdir (4,18). RRA 1,25(OH)2D ölçümü için ilk kullanılan testtir. Klinik laboratuvarlarda nadiren kullanılır (4). 1978'de 1,25(OH)2D için ilk RIA tanıtıldı. RIA nispeten spesifik değildi, ayrıca hantal numune hazırlama adımları vardı. 1996 yılından sonra yeni RIA yöntemi ile 1,25(OH)2D ölçümede önemli ilerleme kaydedilmiştir. Piyasada ticari kitleri mevcuttur (19,31). Hâlihazırda 1,25(OH)2D ölçümü için LC-MS/MS yöntemleri tanımlanmış olsa da şimdiye kadar 1,25(OH)2D için referans yöntemi yoktur (6).

C3) 24,25(OH)2D

24,25(OH)2D ölçmek için herhangi bir immünoassay testi yoktur. Metaboliti ölçmek için CPBA testleri tanımlanmıştır (4). Fakat şu anda 24,25(OH)2D sadece LC-MS/MS ile ölçülebilmektedir (6).

SONUÇ

D vitamini ve metabolitleri oldukça lipofildir. Dolaşımda esas olarak spesifik proteinlere bağlı olarak taşınırlar. D vitamini çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadırlar. D vitaminin eksikliği veya yetersizliği dünya çapında bir sağlığı sorunudur. D vitamininin referans düzeyleri (eksiklik, yetersizlik, optimal vs.) için çalışmalar devam etmektedir. Molekül yapısından kaynaklı D vitamini tayin metodunda zorluklar yaşanmaktadır. 25(OH)D için referans yöntem belirlenmiştir. Fakat diğer D vitamini metabolitleri için çalışmalar devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Serteser M, Coskun A, Inal T, Unsal I. Challenges in vitamin D analysis / İzazovi u analizi vitamina D. *Journal of Medical Biochemistry*. 2012;31(4):326-332. DOI: [10.2478/v10011-012-0016-z](https://doi.org/10.2478/v10011-012-0016-z)
2. Salwen MJ. Vitamins and trace elements. In: McPherson RA, Pincus MR (eds.) *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 22nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011. p. 417-428.
3. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and novel actions. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2018;72(2):87-95. DOI: [10.1159/000486536](https://doi.org/10.1159/000486536)
4. Fraser WD. Bone and mineral metabolism. In: Rifai N, Harvath AR, Wittwer CT (eds.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 6nd ed. USA: Elsevier; 2018. p. 1422-1491.
5. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(2):471-478. DOI:[10.1210/jc.2009-1773](https://doi.org/10.1210/jc.2009-1773)
6. Altieri B, Cavalier E, Bhattoa HP, Pérez-López FR, López-Baena MT, Pérez-Roncero GR, et al. Vitamin D testing: advantages and limits of the current assays. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2020;74(2):231-47. DOI: [10.1038/s41430-019-0553-3](https://doi.org/10.1038/s41430-019-0553-3)
7. Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(2):507-510. DOI: [10.1093/ajcn/88.2.507S](https://doi.org/10.1093/ajcn/88.2.507S)
8. Thacher TD, Clarke BL. Vitamin D insufficiency. *Mayo Foundation for Medical Education and Research*. 2011;86(1):50-60 DOI: [10.4065/mcp.2010.0567](https://doi.org/10.4065/mcp.2010.0567).
9. Holick MF. Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine*. 2007;357(3):266-81. DOI: [10.1056/NEJMr070553](https://doi.org/10.1056/NEJMr070553)
10. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: Metabolism. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2010;39(2):243-53. DOI: [10.1016/j.ecl.2010.02.002](https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.02.002).
11. Murray RK, Bender DA, Botham KM et al. *Harper'in Biyokimyası*. (Gül Güner AKDOĞAN, Biltan ERSÖZ, Nevbahar TURGAN, Çev. Eds.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2015.
12. Harvey RA, Ferrier DR. *Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları: Biyokimya*. (Engin ULUKAYA Çev. Ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2015.
13. Shenkin A, Roberts NB. Vitamin and trace elements. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5nd ed. USA: Elsevier; 2012. p. 895-983.
14. Pilz S, Zittermann A, Trummer C, Theiler-Schwetz V, Lerchbaum E, Keppel MH, et al. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocrine Connections*. 2019;8(2):27-43. DOI: [10.1530/EC-18-0432](https://doi.org/10.1530/EC-18-0432)
15. The Medical Biochemistry Page. **Vitamins: Water and fat soluble**. (20.04.2022 tarihinde <https://themedicalbiochemistrypage.org/adresinden> ulaşılmıştır).
16. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin D defi-

- ciency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*. 2008;122(2):398-417. DOI: 10.1542/peds.2007-1894.
17. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. *Türkiye Beslenme Rehberi (TÜBER) 2015*. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1031; 2016.
 18. Horst RL, Hollis BW. Vitamin D assays and their clinical utility. In: Holick MF (eds). *Vitamin D. Nutrition and Health*. Totowa, NJ: Humana Press; 1999. p. 239-271. DOI:10.1007/978-1-4757-2861-3_15
 19. Hollis BW. Assessment of Circulating 25(OH)D and 1, 25(OH)2D: Emergence as clinically important diagnostic tools. *Nutrition reviews*. 2008;65:87-90. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00348.x
 20. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;87(4):1080-1086. DOI: **10.1093/ajcn/87.4.1080S**
 21. Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutrition bulletin*. 2014;39(4):322-350. DOI: 10.1111/nbu.12108.
 22. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(7):1911-1930.
 23. Aspray TJ, Bowering C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, et al. National Osteoporosis Society vitamin D guideline summary. *Age and ageing*. 2014;43(5):592-5. DOI: 10.1093/ageing/afu093.
 24. Kennel KA, Drake MT, Hurley DL. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clinic proceedings*. 2010;85(8):752-757. DOI: 10.4065/mcp.2010.0138.
 25. T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Tetkik ve Teşhis Hizmetleri Daire Başkanlığı. Bu test nerede yapılıyor. (08.04.2022 tarihinde <https://ckysweb.saglik.gov.tr/labtestlerapp/testlabara.aspx> adresinden ulaşılmıştır).
 26. Kamu Hastaneleri Genel Müdürlüğü, Verimlilik ve Kalite Uygulama Daire Başkanlığı. Verimlilik yerinde değerlendirme rehberi. Sağlık Bakanlığı; 2019. (08.04.2022 tarihinde <https://khgmverimlilikkalitedb.saglik.gov.tr/TR,48025/verimlilik-yerinde-degerlendirme-rehberi.html> adresinden ulaşılmıştır).
 27. Zerwekh JE. The measurement of vitamin D: analytical aspects. *Annals of clinical biochemistry*. 2004;41(4):272-281. DOI: 10.1258/0004563041201464.
 28. Su Z, Narla SN, Zhu Y. 25-Hydroxyvitamin D: analysis and clinical application. *Clinica chimica acta*. 2014;433:200-205. DOI: 10.1016/j.cca.2014.03.022.
 29. Garg U. 25-Hydroxyvitamin D Testing: Immunoassays Versus Tandem Mass Spectrometry. *Clinics in laboratory medicine*. 2018;38(3):439-453. DOI: 10.1016/j.cll.2018.05.007.
 30. Tai SS, Nelson MA. Candidate Reference Measurement Procedure for the Determination of (24R),25-Dihydroxyvitamin D₃ in Human Serum Using Isotope-Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2015;87(15):7964-7970. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01861.
 31. Hollis BW, Horst RL. The assessment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D: where we are and where we are going. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2007;103(3-5):473-476. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2006.11.004.