

**T.C.
Marmara Üniversitesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı**



**TİP 2 DİYABETİKLERDE D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN ENDOTEL
FONKSİYONU VE OSTEOPROTEGERİN DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİ**

**Uz. Dr. Mutlu GÜNEŞ
Yan Dal Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dilek Gogas Yavuz**

İstanbul 2011

TEŐEKKÜR

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Sn. Prof. Dr. Sema Akalın, Prof. Dr. Dilek Gogas

Yavuz ve Doç. Dr. Oğuzhan Deyneli'ye,

Çalışma arkadaşlarım Dr. Seda Sancak, Serap Yalın, Őule Temizkan, Alev Selek ve

Hmő. Sevim Özcan'a endokrinoloji eğitimim sırasında bana verdikleri destekten dolayı,

Ayrıca sevgili eşim Elif Güneş ve oğlum Ahmet Mutlu Güneş'e ümidimi yitirdiğim anlarda

bana verdikleri sonsuz desteklerinden dolayı,

Teőekkürü borç bilirim.

KISALTMALAR

ABD: Akıma bağlı dilatasyon

ACEi: Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü

ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti

AGE: Advanced glycated endproducts

AKS: Akut koroner sendrom

BÇ: Bel çevresi

BKİ: Beden kitle indeksi

BMP: Bone morphogenetic protein

CRP: C reaktif protein

hsCRP: Yüksek duyarlılıklı C reaktif protein

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial

DDKH: Damar düz kas hücresi

DF: Doku faktörü

DM: Diabetes mellitus

DKB: Diyastolik kan basıncı

EF: Ejeksiyon fraksiyonu

eNOS: Endotel kaynaklı NO sentaz

HRT: Hormon replasman tedavisi

HPTH: Hiperparatiroidi

İR: İnsülin rezistansı

KAKS: Koroner arter kalsiyum skoru

KIMK: Karotis intima medya kalınlığı

KVH: Kardiovasküler hastalık

MI: Miyokardiyal infarksiyon

NB: Nabız basıncı

NGSP: Amerikan Ulusal Glikolize Hemoglobin Standardizasyon Programı

NO: Nitrik oksit

OB: Osteoblast

OK: Osteoklast

OP: Osteoporoz

OPG: Osteoprotegerin

RAGE: Advanced glycated endproducts reseptörü

PAI-1: Plazminojen aktivator inhibitörü-1

RANK: Reseptör aktivator nükleer faktör κ β

RANKL: Reseptör aktivator nükleer faktör κ β ligand

RAXR: Retinoik asit X reseptörü

PGI2: Prostosiklin

PTH: Paratiroid hormon

SKB: Sistolik kan basıncı

TNF: Tümör nekroz faktör

TURDEP: Türk Diyabet Epidemioloji Çalışması

TNFSA: Tümör nekroz faktör süperailisi

UVB: Ultraviyole B

VCAM-1: Vasküler hücre adhezyon monekülü-1

VDR: Vitamin D reseptörü

Vitd3: Vitamin D3

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfalar</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tip 2 Diabetes Mellitus	3
<u>2.1.1 Tanım</u>	3
<u>2.1.2 Epidemiyoloji</u>	3
<u>2.1.3 Diyabetin makrovasküler komplikasyonları</u>	3
2.1.3.1 Diyabetik bireylerin damarlarında meydana gelen yapısal değişiklikler	4
2.1.3.2 Diyabetik bireylerin damarlarında meydana gelen fonksiyonel değişiklikler	5
2.2. Endotel Fonksiyonu	6
<u>2.2.1 Endotel fonksiyonu ve kardiovasküler hastalık ilişkisi</u>	7
<u>2.2.2 Tip 2 Diabetes Mellitus ve endotel fonksiyonu</u>	8
2.3 Kemik Döngüsü ve Endotel ile İlişkisi	8
<u>2.3.1 Kemiğin fizyolojik döngüsü</u>	8
<u>2.3.2 Endokrin organ olarak kemik ve kardiovasküler hastalıklarla ilişkisi</u>	9
2.4 Osteoprotegerin	11
<u>2.4.1 Metabolizması</u>	11
<u>2.4.2 Osteoprotegerin'nin yer aldığı sistemler</u>	11
<u>2.4.3 Osteoprotegerin ve kardiovasküler hastalık ilişkisi</u>	11
<u>2.4.4 Osteoprotegerin ve diyabet</u>	12
<u>2.4.5 Osteoprotegerin ve endotel fonksiyonu</u>	13
2.5 D Vitamini	13
<u>2.5.1 D vitamini metabolizması</u>	13
<u>2.5.2 D vitamini ve etkili olduğu sistemler</u>	15
<u>2.5.3 D vitamini ve kardiovasküler hastalıklar ile ilişkisi</u>	15
<u>2.5.5 D vitamini ve endotel fonksiyonu</u>	16
<u>2.5.4 D vitamini ve Diabetes Mellitus</u>	16
3. MATERYAL VE METOD	17
4. SONUÇLAR	21
5. TARTIŞMA	30
6. ÖZET	35

7. İNGİLİZCE ÖZET

37

8. KAYNAKLAR

39

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa β (RANK) ve reseptör aktivatör nükleer faktör kappa β ligandın (RANKL) dahil olduğu tümör nekroz faktör (TNF) ailesi kemik döngüsü üzerine önemli etkilere sahiptir. Osteoblast, stromal hücreler ve T hücre yüzeyinde yer alan RANKL ile osteoklast yüzeyinde yer alan RANK etkileşime girer (1). RANK ve RANKL etkileşimi bir dizi hücre içi ve hücre-hücre olaylarını başlatarak osteoklast gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Suda çözünen glikoprotein yapıda bir madde olan Osteoprotegerin (OPG) RANK ve RANKL etkileşimini RANKL için tuzak oluşturarak engellemektedir (2). Osteoprotegerin (OPG), RANKL/RANK ve TNF üçlüsünün kemik yapım ve yıkımında önemli görevleri bulunmaktadır (1). Osteoprotegerin vücutta kemik, damar endoteli ve düz kas hücresinin de içinde bulunduğu bir çok dokuda tespit edilmiştir (3).

İn vitro ve hayvan çalışmaları OPG'nin vasküler kalsifikasyonu inhibe ettiğini ayrıca insanlarda yapılan çalışmalar vasküler kalsifikasyonda OPG'nin arttığını göstermişlerdir (4, 5).

Osteoprotegerin -/- fare modellerinde ciddi osteoporoz geliştiği tespit edilirken aynı zamanda beklenmeyen sonuç olarak vasküler kalsifikasyon tespit edilmiştir. Bu farelere dışarıdan rekombinant OPG'nin infüzyonunun vasküler kalsifikasyonu önlediği saptanmıştır (4, 5). Ancak oluşan kalsifikasyonu geri döndürmediği de görülmüştür (6). Buradaki pasif teori OPG eksikliğine bağlı olarak kemikte osteoklast aktivitesinde artış olduğu ve buna bağlı olarak damar duvarındaki matriks yapıda kalsifikasyonların olduğudur (1, 2). Yine benzer bir çalışmada OPG -/- farelerde yüksek P ve 1,25 OH D3 vitamini içeren diyet verildiğinde damarlardaki kalsifikasyonun arttığı gösterilmiştir (7). Hayvan çalışmalarında OPG -/- farelerin damarlarında kalsifikasyon meydana gelmesi OPG'nin vasküler kalsifikasyonu önleyebileceği fikrinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Ancak OPG -/- farelerde oluşan kalsifikasyonun ateroskleroza bağlı kalsifikasyondan iki temel farkı mevcuttur: birincisi kalsifikasyon aterosklerotik plak zemini olmadan gelişmekte, ikincisi aterosklerozda kalsifikasyon daha çok intima ve ve endotelde iken OPG -/- farelerde daha çok medya tabakasında oluşmaktadır (4, 8).

Xiang ve arkadaşlarının (ark.) yaptıkları bir çalışmada tip 1 ve tip 2 Diabetes mellitus (DM) olan hastalar alınmış, insülin tedavisinden 6 ay sonra OPG düzeylerinde belirgin iyileşme ve akıma bağlı dilatasyonda da düzelme tespit etmişlerdir (9,10).

Osteoprotegerinin endotel bütünlüğünün bozulması sonucu damarlardaki hasara ikincil olarak artabileceğini de öne sürenler mevcuttur (11, 12). Yukarıdaki çalışmalardan da anlaşıl-

lacağı üzere OPG'nin vasküler kalsifikasyonda rol alan bir medyatör mü, yoksa vasküler kalsifikasyonun veya endotel hasarının bir sonucu mu olduğu tartışmalıdır.

D vitamini düzeylerinin (VitD3) kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisinin incelenmesi artan ilgiye sahiptir. Yapılan toplum temelli çalışmalar D vitamini düzeyleri düşük bireylerin kalp krizi ve inme geçirme sıklığının arttığı göstermektedir (13). Bununla beraber risk artışı oluşturmadığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (14).

Bu çalışmada tip 2 diyabetiklerde D vitamini düzeylerinin endotel fonksiyonu ve osteoprotegerin düzeyleri ile ilişkisinin araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tip 2 Diabetes Mellitus

2.1.1 Tanım

Tip 2 Diabetes mellitus insülin sekresyonunun, insülin etkisinin veya her ikisinin birlikte azalması sonucu kan şekerinin kronik olarak yüksek seyrettiği hastalıktır (15). Kronik hiperglisemi böbrek, göz, sinir sistemi, kan damarları ve kalp gibi bir çok organda fonksiyon kaybına neden olmaktadır (16).

Diyabet tanısı kan şekeri düzeylerine göre konulur. Aşağıda belirtilen kriterlerden birinin varlığı diyabet tanısı için yeterli kabul edilmektedir (15);

- Açlık kan şekeri ≥ 126 mg/dl
- Çok su içme, çok idrara çıkma ve açıklanamayan kilo kaybı semptomları olan bireylerde rastgele bakılan venöz kan şekerinin ≥ 200 mg/dl
- 75 gr oral glukoz tolerans testinde 2. saat kan şekerinin ≥ 200 mg/dl
- Hemoglobin A1c (Hgb A1c) düzeylerinin $\geq 6,5$ (Amerikan Ulusal Glikolize hemoglobin Standardizasyon Programı (NGSP) tarafından sertifikalandırılmış ve Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) refans esseyleri ile bakılan)

2.1.2 Epidemiyoloji

Tip 2 DM'lu hastalar tüm diyabetiklerin yaklaşık %85-95'ini, tüm popülasyonun da %5-7 sini oluşturmaktadır (15, 16). Ancak bu durum bölgesel ve etnik farklılıklar göstermektedir. Afrika ülkelerinden Togo'da toplumdaki sıklığı %0' a yakın iken, Amerika Birleşik Devletleri'nde yer alan Pima yerlilerinde ise oran %50'lere kadar yükselmektedir. Ülkemizde 1997-1998 yılları arasında yapılan TURDEP-1 çalışmasında toplumdaki tip 2 DM prevalansı kadınlarda %8, erkeklerde %6,2 ve tüm popülasyonda %7,2 olarak saptanmıştır (17). Geçtiğimiz yıl verileri açıklanan TURDEP-II çalışması göstermiştir ki toplumdaki tip 2 DM'lu birey oranı son 12 yılda artarak %13,7'e çıkmıştır (18). Ülkemizdeki verilere göre 40 yaşından sonra artış göstermektedir, hastalığın zirve yaptığı yaşlar 65-75'li yaşlardır (18). Altmış yaş üzerindeki bireylerdeki sıklığı %35'leri bulmaktadır (18).

2.1.3 Diyabetin makrovasküler komplikasyonları

Diyabetik bireylerin en önemli mortalite nedenlerinden birisi kardiovasküler hastalıklardır. Tüm diyabetiklerin %75'nin ölüm nedenini oluştururlar. Koroner arter hastalığı,

periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalık başlıca makrovasküler komplikasyonlardır (19).

Koroner arter hastalığı tüm diyabetiklerin %30'unun ölüm nedenidir (19). Diyabetik bireyler normal popülasyona göre yaklaşık 2-4 katlık artmış risk taşırlar (19, 20, 21, 22). Her iki cinsiyette de risk artışı paraleldir. Diyabetik kadınlar kardiovasküler hastalıklarda sahip oldukları premenapozal koruyucu özelliklerini kaybederler (19).

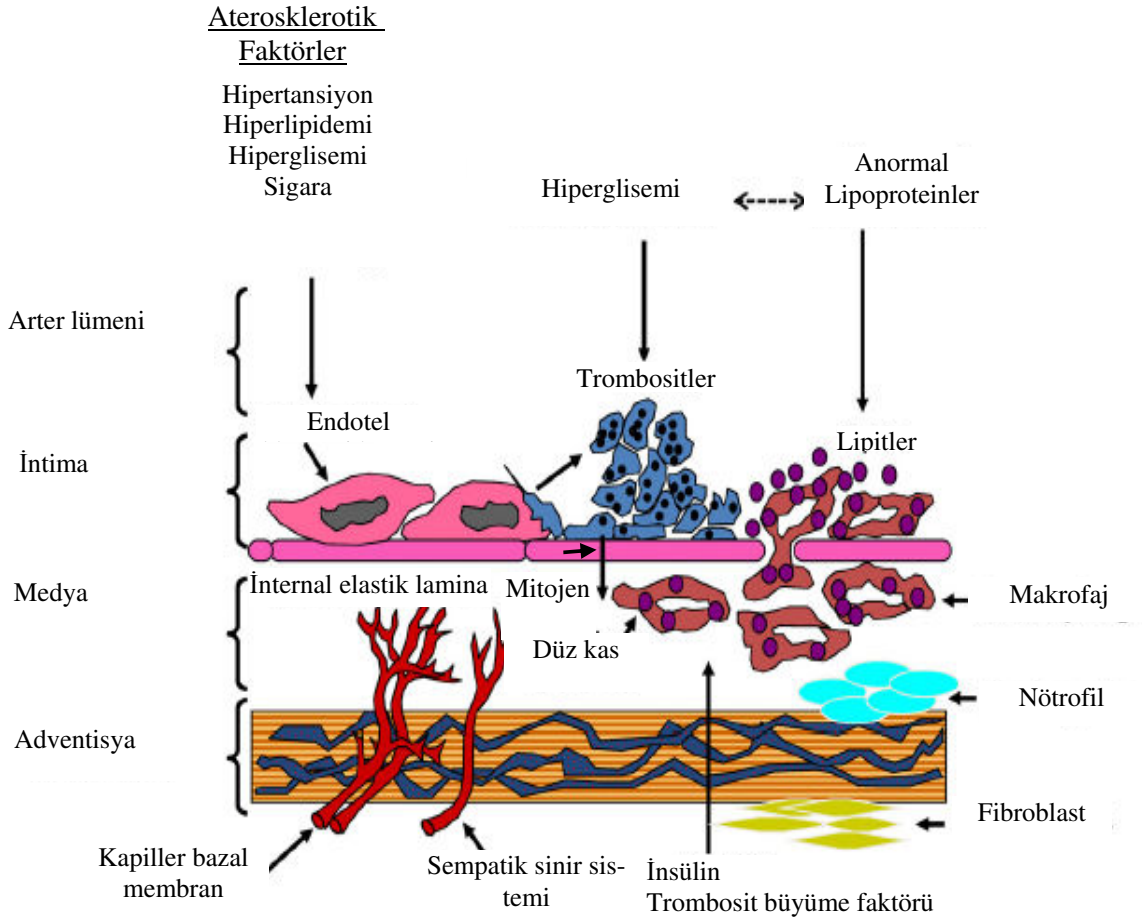
Aterom plağının oluş mekanizması diyabetiklerde de normal bireylerdekine benzerdir. Dislipidemi, hipertansiyon ve hiperglisemi diyabetiklerde de ateroskleroz oluşumunun ana faktörlerindedir (19). Ancak diyabetiklerde aterom plağı daha erken, hızlı ve yaygın olmaktadır. Ayrıca diyabetik bireylerde daha distal ve küçük damarları da etkileme eğilimindedir (19). Diyabetik bireylerin koroner arterlerindeki aterom plağı ülser olmaya ve trombüs oluşturmaya daha eğilimlidir (19). Bütün bunlar hiperglisemi, HT ve dislipideminin diyabetik bireylerin damarlarında yol açtığı yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin sonucunda olmaktadır (19).

2.1.3.1 Diyabetiklerin damarlarında meydana gelen yapısal değişiklikler

Diyabetik bireylerde arteriyal intima kalınlaşmaktadır. İntima medya kalınlaşması kardivasküler hastalıkların erken bulgularındandır (23). Diyabet süresi ve hiperglisemi şiddeti ile intimal kalınlaşmanın doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (24).

Non enzimatik olarak glikoz ile birleşen proteinler advanced glycated endproducts (AGE) olarak da adlandırılmaktadır. Endotel yüzeyinde yer alan kendisine özgü reseptörlere (RAGE) bağlanarak endotel hücrelerinin anti-trombotik özelliğini tersine çevirirler (25). Ayrıca makrofajların ve trombositlerin yapışma özelliklerinde de artış meydana gelmekte bu da makrofajların endotel altına doğru göçüne yol açmaktadır. Makrofajların endotel altında toplanması aterom plağının oluşmasını ve gelişmesini sağlayan ana faktörlerindedir. Endotel hücrelerinin bozulmuş anti-adhezyon özelliği aterosklerozun tetiğini çekmektedir (26, 27).

Aterosklerotik sürecin yanında plazmadaki glikolize proteinlerin ve kollojen yıkım ürünlerinin oluşturduğu hyalin amorf yapıda depozitler damar düz kas çeperinde birikmektedir. Benzer değişiklikler yaşlı kişilerde ve hipertansiyonu olan bireylerde de görülmektedir (19). Daha çok küçük ve orta ölçekteki damarları etkileyen glikoprotein yapıdaki depozitler PAS boyası ile boyanma özelliğine de sahiptir (19). Artan depozitler damarlarda daralmaya neden olarak kan dolaşımını bozmaktadırlar. Ayrıca damarlarda esneklik kaybı meydana getirmekte ve hipertansiyona yol açmaktadır (19).



Şekil 1. Damar duvar yapısı ve ateroskleroz patogenezi (28).

2.1.3.2 Tip 2 Diyabetiklerin damarlarında meydana gelen fonksiyonel değişiklikler

Endotel en büyük endokrin organdır. Endotel tabakası kanda dolaşan proteinlerin damar dışına sızmasını önlemenin ötesinde çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Endotel tabakası intravasküler koagülasyonun engellenmesi, damarların tonusunun sağlanması ve dolayısıyla arteriyel rezistanstanın oluşturulması gibi bir çok görevi bulunmaktadır (19). Arteriyel rezistans diyastolik tansiyonun ve doku perfüzyonun ana belirleyicilerindedir.

Diyabetik bireylerde endotel kaynaklı vazomotor fonksiyonun bozulduğu bilinmektedir. Vazomotor disfonksiyonun ortaya çıkması ateroskleroz varlığının en önemli kanıtlarından birisidir (29). Tip 2 diyabetiklerde özellikle endotel kaynaklı vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir (30, 31). Bozulmuş endotel fonksiyonu yaygın endotel hasarının bir bulgusudur ve ileride oluşacak aterosklerotik olayların habercisi olarak yorumlanmaktadır (32).

Endotelde kendisine özgü reseptöre bağlanan AGE oksidatif stres oluşturur. Oksidatif stres endotel disfonksiyonuna yol açarak aterosklerotik süreci başlatır. Tip 2 diyabetiklerde AGE'nin yanında RAGE düzeyleri de artmıştır (25). Endotel dışında monosit, makrofaj, kalp kası, nöronlar, mezenkimal ve düz kas hücrelerinde de yer alan RAGE oksidatif stresin genişlemesine katkıda bulunur (25). Yapılan hayvan çalışmalarında dışarıdan verilen AGE endotel disfonksiyonuna neden olurken, anti-AGE verilmesi ile endotel disfonksiyonunu geriletmişti gösterilmiştir (26).

2.2 Endotel Fonksiyonu

Endotel tabakasının bir çok işlevinin bulunmasına karşın intravasküler koagülasyonun ve damar tonusunun koordinasyonu aterosklerozun oluşmasında ve takibinde öne çıkan fonksiyonlarıdır.

Endotel tabakasından endotelin 1 gibi çok potent vazodilatör medyatörler salgıladığı gibi, aynı zamanda çok potent vazodilatör özelliğine sahip nitrik oksit (NO) ve prostosiklinler (PGI₂) de salgılanmaktadır. Damar tonusunu ayarlayan en önemli medyatör NO'dir. L-argininden endotel kaynaklı NO sentaz (eNOS) aracılığıyla sentezlenmektedir. Endotel hücresi üzerinde yer alan spesifik reseptörler aracılığıyla eNOS asetil kolin, insülin ve bradikinin gibi kimyasal medyatörler tarafından indüklenebilmektedir (33). Bu medyatörlere endotel kaynaklı vazodilatörler denilmektedir. Buna karşın sodyum nitroprussit ise direkt olarak kendisi NO kaynağı oluşturmakta, bu nedenle de endotelden bağımsız vazodilatör olarak adlandırılmaktadır (19). Vazomotor disfonksiyonun ortaya çıkması ateroskleroz varlığının en önemli kanıtlarından birisidir (34, 35).

Ultrasonografi ile değerlendirilen akıma bağlı dilatasyon endotel fonksiyonu hakkında bilgi veren noninvaziv testlerden birisidir. Fiziksel veya kimyasal uyarılara damarların fonksiyonel cevap oluşturması esasına dayanır. Kan akımının kesilmesine veya artışına damarın vazodilatasyonla yanıt vermesi akıma bağlı dilatasyon (ABD) olarak adlandırılmaktadır. İlk olarak Celermajer ve ark. tarafından tanımlanmıştır (36). Akıma bağlı oluşan fiziksel stres damar yüzeyinde voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını uyararak hücre içine kalsiyum geçişine neden olmaktadır (37). Kalsiyum hücre içinde prostanoide sentezi ve eNOS aktivasyonuna neden olur. Artan NO ve PGI₂ damarda dilatasyona yol açar. Oda ısısı, stres, menstrüel siklus, kan şekeri düzeyi, sigara, yemek yenmesi ABD üzerine etkili faktörlerdir. Ayrıca gün içerisinde de değişkenlik göstermektedir (37). Akıma bağlı dilatasyon oranının azalması endotel disfonksiyonunun önemli klinik bulgularından birisidir (35).

Endotel tabakasının anti-koagülasyon fonksiyonu diğer önemli fonksiyonlarından

birisidir (26). Doku faktörü (DF), plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), vasküler hücre adhezyon monekül-1 (VCAM-1) bu süreçte yer alan prokoagülan ve adhezyon moneküllerinden bazılarıdır (27, 38, 39). Artmış VCAM-1 ekspresyonu monosit adezyonunu artırarak aterom plağının başlaması ve gelişmesinde önemli medyatörlerden birisidir. Kimyasal yolak sürecinin sonunda makrofajların endotel tabakası altında birikmesi ve lipid içerikli makrofajlara dönüşmesi ile aterom plağı oluşmaya başlamaktadır. Entotel tabakası altında biriken lipid içerikli makrofajlar klinikte de kullanılan intima medya kalınlığı ölçümü ile kantitatif olarak belirlenebilmektedir.

2.2.1 Endotel fonksiyonu ve kardiovasküler hastalık ilişkisi

Kardiovasküler hastalıklarda endotel fonksiyonun bozulduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Anderson ve ark. koroner anjiyografi için gönderilen hastalarda koroner anjiyografi sırasında endotel bağımlı medyatörlerden olan asetilkolin ile koroner arterlerin vazoreaktivitesi değerlendirmişler. Çalışmada brakiyal arterin ABD ile koroner arterlerin vazoreaktivitesi arasında korelasyon saptamışlardır (40). Enderle ve ark. yine koroner anjiyografi için yönlendirilen 122 hastayı dahil ederek yaptıkları çalışmada, koroner arter hastalığı olanların, anjiyografisi normal olanlara göre daha düşük ABD oranına sahip olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada brakiyal arter ABD oranının \leq % 4,5 olmasının koroner aterosklerotik hastalığı %71 duyarlılık, %81 özgüllükle öngörebileceğini de ortaya koymuşlardır (41). Gokce ve ark. periferik arter hastalığı nedeniyle operasyon için cerrahi kliniğine yönlendirilen 199 hastanın preoperatif brakiyal arter ABD düzeylerini ölçmüşler, sonrasında ortalama 1.2 yıllık takip etmişlerdir. Takip süresi içinde kardiovasküler olay geçirenlerde ABD oranını daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ayrıca ABD'nun kardiovasküler olayları öngermeye bağımsız faktör olduğunu ortaya koymuşlardır (34). Ancak Fathi ve ark. klasik kardiyak risk faktörleri dikkate alınarak kardiovasküler olay riskini hesapladıklarında veya kardiovasküler hastalığının olup olmaması durumuna göre 444 hastayı dahil ederek yaptıkları çalışmada, bazal ABD oranlarına bakmışlar. Sonrasında ortalama 24 aylık takip süresinde ABD oranı düşük persentilde olanların yüksek persentilde olanlara kıyasla daha fazla kardiovasküler olaya maruz kaldığını tespit etmişlerdir. Ancak ABD oranının kardiovasküler olayları ön görmede bağımsız faktör olmadığını göstermişlerdir (42). Akıma bağlı dilatasyon oranının kardiovasküler olayların öngörülmesinde bağımsız bir faktör olup olmadığı tartışmalıdır.

Karotis intima medya kalınlığı ölçümlerinin kardiovasküler olayların ve inmenin öngörülmesinde bağımsız bir belirteç olduğu ise ortaya konulmuştur (43, 44, 45).

2.2.2 Tip 2 diabetes mellitus ve endotel fonksiyonu

Lim ve ark. yaptıkları çalışmada bozulmuş açlık kan şekeri olanlar, tip 2 DM'lu ve kan şekeri normal olup yakın akrabasında tip 2 DM olanlarda ABD'nun bozulmuş olduğunu saptamışlardır (46). Brakiyal arterin ABD koroner arter vazoreaktivitesi ile yakından ilişkilidir. Ayrıca koroner arter olaylarını ön görmedeki etkisi yüksek riskli hasta grubunda kanıtlanırken düşük riskli hasta grubundaki etkisi gösterilememiştir. (34, 36, 40, 47). Akıma bağlı dilatsiyonun tip 2 DM 'lu hasta grubundaki koroner hastalıklarının öngörmesi konusunda yeterli veri bulunmamaktadır (47).

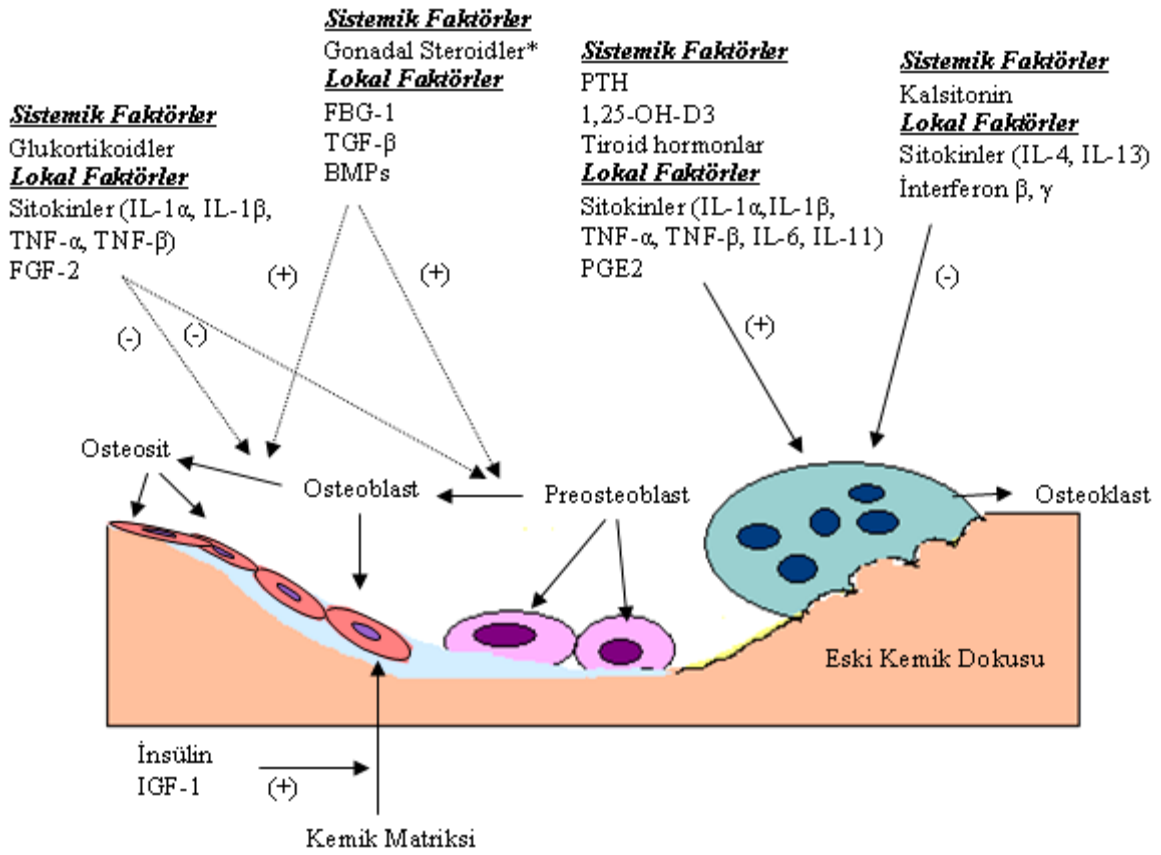
Yapılan çalışmalarda diyabetik hasta popülasyonunda KIMK'nı 0,71–0,98 mm saptanırken kontrol grubunda 0,66–0,85 mm olarak saptanmıştır, kontrol grubundan daha yüksek olduğu saptanmıştır (48, 49). Koroner arter hastalığı öyküsü olmayan diyabetik bireylerin KIMK' ları, koroner arter hastalığı olan hastalarla aynı olduğu tespit edilirken, Tip 2 DM'lu olup koroner hastalığı olan bireylerin en yüksek KIMK'na sahip olduğu görülmüştür (49). Falsom ve ark. 'inn yaptıkları 1500 diyabetik bireyleri içeren bir çalışmada KIMK'nın diğer faktörlerle kombine edildiğinde ileride oluşabilecek koroner arter hastalıklarını öngörebildiğini ortaya koymuşlardır (50)

2.3 Kemik Döngüsü ve Endotel ile İlişkisi

2.3.1 Kemiğin fizyolojik döngüsü

Kemik dokusunun metabolizması osteoklast ve osteoblastların ana fonksiyonunu üstlendiği çok hücreli bir sistem tarafından düzenlenmektedir (51). Kemik bir taraftan osteoklastlar tarafından yıkılırken diğer taraftan osteoblastlarla yapılmaktadır. Kemiğin osteoklastlar tarafından yıkılması ve eş zamanlı osteoblastlar tarafından yapılmasına osteoblast-osteoklast eşleşmesi denilmektedir. Bu eşleşme hayat boyu devam eder ancak her dönemde aynı oranda değildir. Eşleşmedeki yön osteoklast lehine kayduğunda kemikte yıkım meydana gelmektedir (51). Osteoblastlar ve osteoklastlar salgıladıkları kimyasal medyatörler ile etkileşim içindedirler (51). Osteoblast-osteoklast etkileşimi şekil 2'de özetlenmiştir.

Kemiğin sürekli olarak yapılıp yıkılması yeniden yapılanma olarak da adlandırılmaktadır. Yeniden yapılanma süreci sistemik ve lokal bir çok hormon ve kimyasal medyatörler ile kontrol edilmektedir. Aynı şekilde kemikte salgılanan proteinlerin ve hormonların da sistemik etkileri olmaktadır (51).

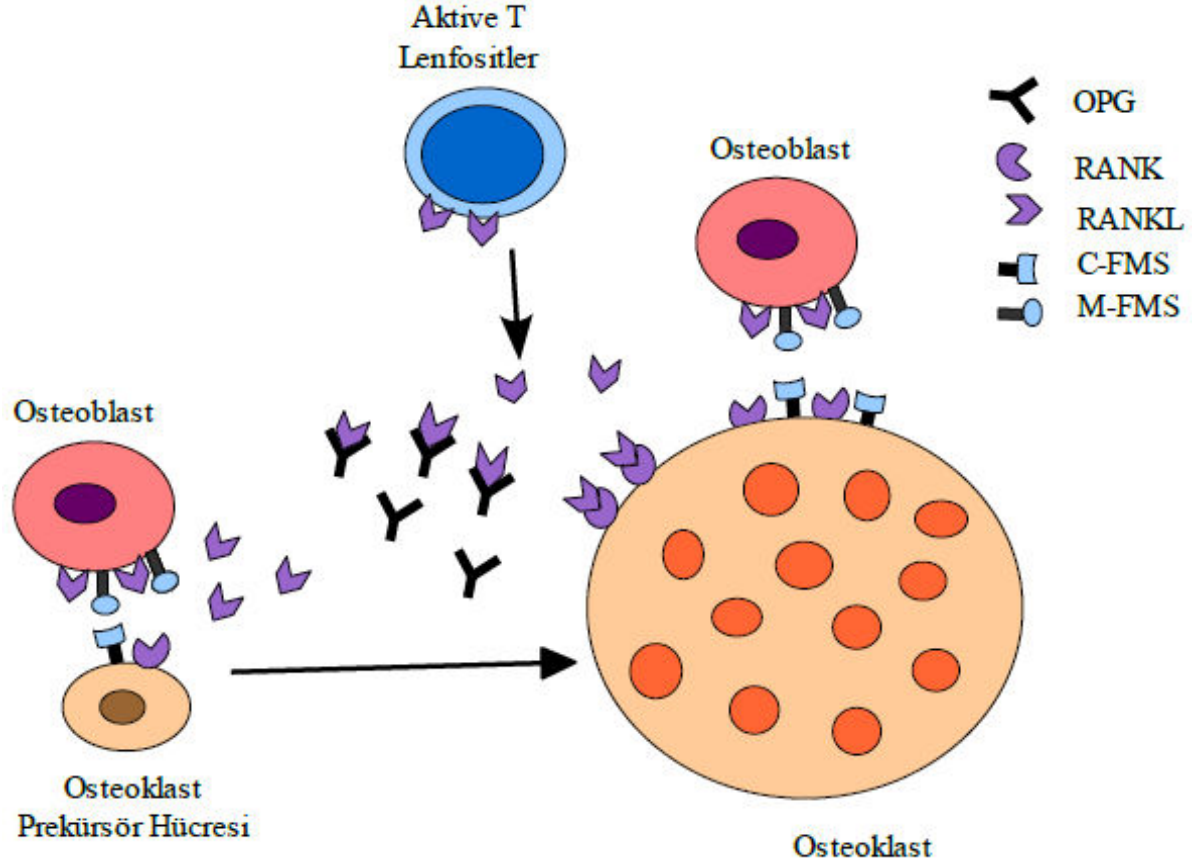


Şekil 2. Kemik döngüsü ve etki eden sistemik, lokal faktörler

2.3.2 Endokrin organ olarak kemik ve kardiovasküler hastalıklarla ilişkisi

Kemik döngüsünde yer alan bazı proteinlerin kardiovasküler hastalıklarla ilişkili olduğuna ilişkin veriler artmaktadır (52). Kemik kaynaklı olup kardiovasküler hastalıklar ile ilişkisi araştırılan proteinler RANK ve RANKL, OPG, bone morphogenetic protein (BMP), Runx2, Wnts, osteopondin, matriks Gla protein ve dolaylı olarak etki oluşturan osteokalsindir (52).

Osteoblastlardan salgılanan RANKL osteoklastlar üzerinde yer alan RANK ile etkileşerek bir takım hücre içi sinyal yollarını tetiklemektedir. Reseptör sonrası yolların uyarılması ile aktive olan osteoklastlar kemikte rezorpsiyona neden olmaktadır (51). Osteoprotegerin RANKL' bağlanarak RANK ile etkileşmesini engellemekte, dolayısıyla osteoklast aktivasyonunu engellemekte ve kemiğin korunmasına yardımcı olmaktadır (53). Osteoprotegerin knock-out farelerde yapılan çalışmalarda osteoporoz gelişmesinin yanı sıra damar düz kas tabakasında kalsifikasyon da gelişmektedir (54). Ayrıca OPG yüksek bireylerde kardiovasküler olayların daha fazla olduğu saptanmıştır (55). Osteoblastogenezin düzenlenmesinde rol alan BMP-2 ve Runx2 aynı zamanda aterom plağı içerisinde de saptanmış ve aterom plağının gelişmesinde rol aldıkları gösterilmiştir (54).



Şekil 3. Osteoblast osteoklast etkileşimi ve OPG'nin rolü

Osteoblastların farklılaşmasında görev alan diğer bir yapı Wnt sinyal yolağıdır. Damar düz kas hücrelerinde kalsifikasyonun oluşmasında Wnt sinyal yolağı için reseptör görevi gören LRP-5 ve LRP-6'nın görev aldığı saptanmıştır (56). Bu reseptörlerden LRP-6'ı ilgilendiren mutasyonlarda hem erken ateroskleroz hem de osteoporoz gelişmektedir (57).

Kollajen olmayan bir protein olan osteopondin aterom plağında inflamasyonun gelişmesini T hücre ve makrofaj göçünü uyararak sağlamaktadır (58).

Matriks Gla protein eksikliği oluşturulan farelerde kısa boy, osteopeni ve kemik kırıklarının olduğu saptanmış, bunun yanısıra damar cidar kalsifikasyonu saptanmıştır (57).

Osteokalsin eksikliğinin ise insülin sekresyonunu bozduğu, farelerin obez ve glukoz intoleransına yol açtığı gösterilmiştir (59).

2.4 Osteoprotegerin

2.4.1 Metabolizması

Osteoprotegerin bir glikoprotein olup ilk olarak Simonet ve ark. tarafından 1997 yılında tanımlanmıştır (3). Tümör nekroz faktör süperailisi (TNFSA) için reseptör görevi oluşturan OPG kemik koruyucu olarak da nitelenmektedir. Tümör nekroz faktör süperailisi 10 ve 11 için reseptör görevi gören OPG, özellikle TNFSA11 için oluşturduğu tuzak nedeniyle kemiği koruduğu düşünülmektedir. Tümör nekroz faktör süperailisi 11 kemikte osteoklast aktivasyonuna yol açarak kemik kaybına neden olmakta, TNFSA11'in OPG ile nötralize edilmesi kemiğin yıkımını önlemektedir (60).

Osteoprotegerin knockout farelerde ciddi osteoporoz ve kemik kırıkları saptanmıştır (54). Buna karşın kandaki OPG'nin kaynağı konusunda henüz bir fikir birliği oluşmuş değildir. Bu konuda en çok benimsenen görüş damar düz kas hücresinin (DDKH) ana kaynağı olduğudur. Osteoprotegerin salınımı heparin ile uyarılabilmekte (61). Osteoprotegerinin eliminasyonun ana kaynağı bilinmemekte ancak böbrek fonksiyon kaybında düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle böbrekten elimine olduğu düşünülmektedir (61, 62).

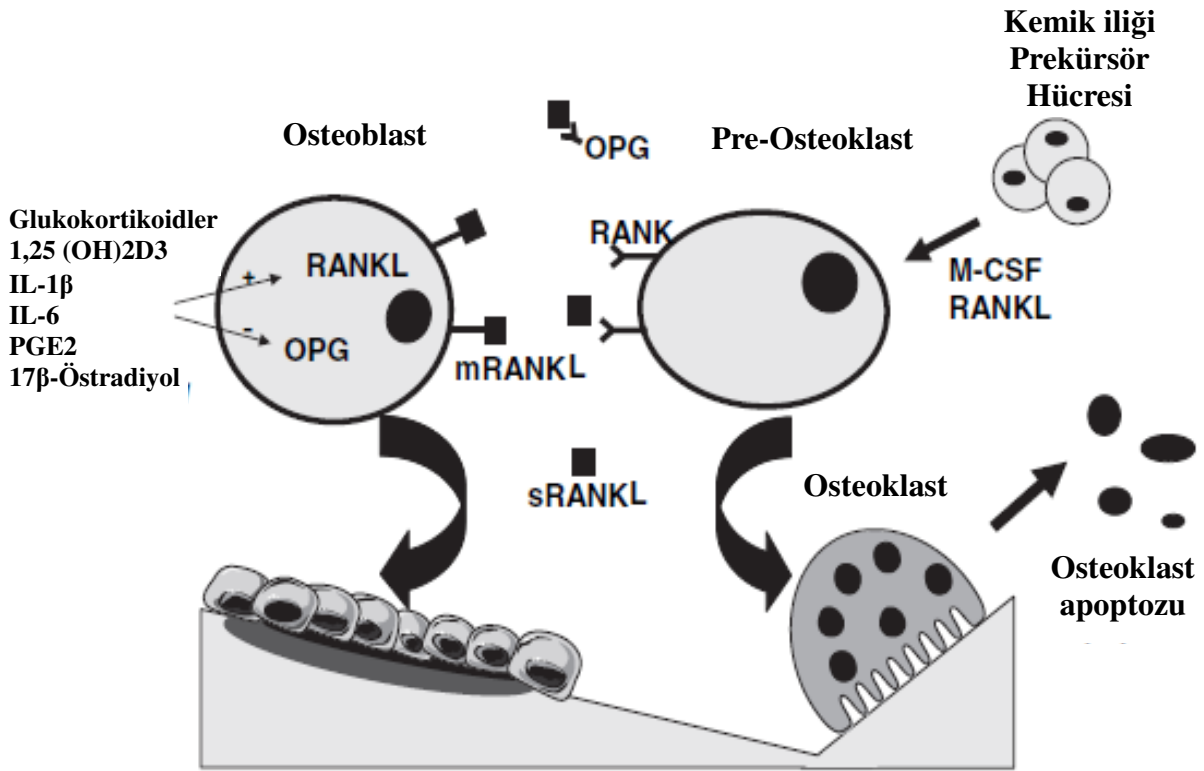
2.4.2 Osteoprotegerin'nin yer aldığı sistemler

Osteoprotegerin başlıca kemikte ve damarlarda sentezlenmekle birlikte plasenta, akciğer, kalp ve böbrek OPG'nin sentezlendiği diğer dokulardır (63, 64). Yapılan çalışmalar OPG knock out farelerde osteoporozun gelişmesine ek olarak aorta ve renal arterlerinin medya tabakasında kalsifikasyon geliştiği gözlemlenmiştir (54). Arteriyel sistemin medya tabakasında meydana gelen bu kalsifikasyon osteoporozun bir sonucu mu olduğu hala anlaşılmasada vasküler kalsifikasyonun önlenmesinde OPG'nin önemli bir rol olabileceği konusunda yeni fikir akımının oluşmasına neden olmuştur (54). Osteoprotegerinin damarlardaki kalsifikasyonu önlemede etkili olabileceği düşünülse de OPG'nin kardiovasküler hastalıklarla ilişkisinin ortaya konması daha dikkat çekici olmuştur.

2.4.3 Osteoprotegerin ve kardiovasküler hastalık ilişkisi

Osteoprotegerinin KVH ile ilişkisinin araştırıldığı birçok klinik çalışma mevcuttur. Kiechl ve ark.'ları toplum temelli bir çalışmada karotik arterde arterioskleroz başlangıç, progresyonu ve ciddiyetini değerlendirdikleri çalışmada hastaları 10 yıl boyunca takip etmişlerdir. Yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, sosyal sınıf, sigara, BKİ, lipitler, fibrinojen, ferritin ile düzeltme yapıldığında OPG'nin 10 yıllık progresyonda önemli bir belirteç olduğu ortaya konmuştur (65). Yüksek OPG değerleri KVH ve vasküler mortalite ile ilişkili bulunur-

ken non vasküler mortalite ile ilişkilendirilmemiştir (65). Omland ve ark. akut koroner sendrom (AKS) geçiren 897 bireyi ortalama 89 ay kadar izlemiştir. Bu süre içinde AKS bağlı ölüm, kalp yetmezliği, hastaneye yatış, miyokardiyal infarksiyon (MI) ve inme sıklığı izlenmiştir. Bazal OPG düzeyleri mortalite ile kuvvetli bir şekilde ilişkilendirilmiş, buna karşın tekrarlayan MI ile zayıf bir ilişki ortaya konmuştur. Konvansiyonel risk faktörlerine göre ayarlama yapıldığında bile ilişkinin devam ettiği görülmüştür (66). M. Nybo ve L.M. Rasmussen'in yaptıkları metaanalizde de OPG'nin KAH öngörülmesinde önemli bir parametre olduğunu ileri sürmüşlerdir (60).



Şekil 4. Kemik döngüsü ve OPG, RANK, RANKL sisteminin kemik döngüsündeki yeri (67)

2.4.4 Osteoprotegerin ve diyabet

Browner ve ark.'larının 65 yaş altı 490 kişiyi 10 yıllık takip sonrasında elde ettikleri verilerde tip 2 DM'lu hastalarda OPG düzeylerinin %30 daha fazla olduğu saptanmıştır. Bunun yanında OPG düzeyleri yüksek persentilde yer alan grupta kardiovasküler mortalitenin 4 kat artmış olduğu ortaya koymuştur. Yaş, HT, DM, lipit, C reaktif protein (CRP), sigara, hormon replasman tedavisi (HRT) ve beden kitle indeksi (BKI) ile düzeltme yapıldığında dahi risk artışının sürdüğü görülmüştür (55). Anand ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 510 tip 2

DM'lu bireyi yaklaşık 2 yıl kadar takip edilmişlerdir. Bu çalışmada koroner arter kalsiyum skoru (KAKS) ile IL-6, yüksek duyarlılıklı CRP (hsCRP) ve OPG düzeylerine bakmışlardır. Yüksek OPG düzeylerinin yüksek KAKS ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca KAKS'u bağımsız tek risk faktörü olarak saptanırken, sadece OPG düzeylerinin subklinik hastalığı öngördüğü, OPG düzeylerine göre üst çeyrekte yer alanların alt çeyrekte yer alanlara göre 5,76 katlık risk artışına sahip oldukları görülmüştür (68). Anand ve ark.'larının yaptıkları başka bir çalışmada 398 tip 2 DM'lu birey 2,5 ± 0,4 yıl takip edilmişler, daha önce KAH öyküsü ve semptomu olmayan bireylerde KAKS ve hsCRP, IL-6 ve plasma OPG düzeylerine bakılmış. Yaş, cinsiyet, HT, basal KAKS, HbA1c >7, bel kalça oranı, IL-6, OPG, β bloker kullanımı, kalsiyum kanal bloker kullanımı, anjiotensin kovertin enzim blokerleri (ACE), statinler ve Framingham/UKPDS risk skorlaması univariable olarak KAKS ile ilişkili bulunurken, multivariable analizde bazal KAKS, HgbA1c ve statin kullanımının bağımsız risk faktörü olduğu ortaya konmuştur (69).

2.4.5 Osteoprotegerin ve endotel fonksiyonu

Osteoprotegerin ile endotel disfonksiyonu ilişkisini ilk ortaya koyan Rasmussen ve ark. olmuştur. Tip 2 DM'lu bireylerde artmış OPG düzeylerinin ABD da azalma ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (70). Daha sonra Xiang ve ark. sırasıyla tip1 ve tip 2 DM'lu kişilerde insülin tedavisi ile OPG düştüğünü ve buna paralel olarak ABD'da da iyileşme meydana geldiğini saptamışlardır (10). Golledge ve ark. periferik arter hastalığı olan bireylerde yüksek OPG düzeyleri ile ABD'nun anılanı olarak düştüğünü tespit etmişlerdir (71). Siepi ve ark. postmenopozal kadınlarda yüksek OPG düzeyleri ile KIMK ve ABD arasında korelasyon saptamışlardır (72).

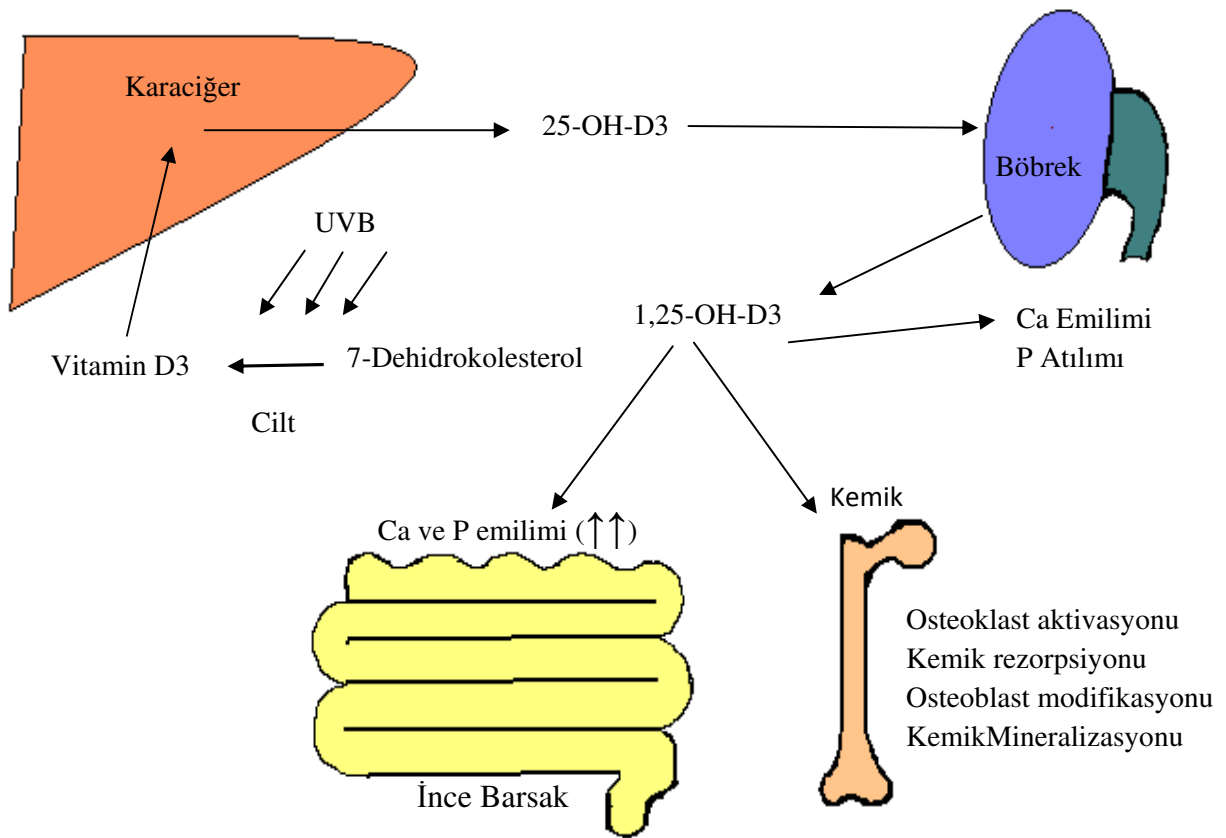
2.5. D Vitamini

2.5.1 D vitamini metabolizması

D vitamini (VitD3) epidermiste 7-dehidrokolesterolden ultraviyole B (UVB) ışınları aracılığıyla sentezlenmekte (73). Fazla miktarda UVB maruz kalmak VitD3 toksikasyonuna neden olmaz çünkü, fazla miktardaki VitD3 UVB etkisiyle inert izomerine dönüştürülür (73). Buna karşın oral alınan VitD3 intoksikasyona neden olabilir. Vitamin D3 Karaciğerde kandaki major depo metaboliti olan 25 OH D3 formuna dönüşmekte. Böbrekte aktif formu olan 1,25 (OH)2 D3 dönüştürülmektedir. D vitaminin aktif formu kas ve kemik sağlığının korunmasında önemli görevleri bulunmaktadır (73). Aktif VitD3 hücre membranını geçerek nukleusa ulaşır burada VDR 'ne bağlanır. Oluşan 1,25(OH)2D3-VDR kompleksi retinoik asit X resöptörüne (RAXR) bağlanır ve nükleer transkripsiyon faktörünün oluşmasına neden olur. Transkripsiyon

yon faktöründe protein sentezini tetikler (73, 74). Vitamin D3 direkt veya dolaylı olarak 200 genin regülasyonundan sorumlu tutulmaktadır (73).

D vitamini eksikliği bölgelere göre ve yaş grubuna göre değişmekle birlikte genç erişkinlerdeki % 50 civarındadır (75, 76). D vit düzeyini etkileyen başlıca faktörler yaş, cilt rengi, giyinme tarzı, eve bağımlı olmak, ekvatora olan uzaklığın artması gibi. Modern yaşamla birlikte VitD3 sentezi azalmakta. Vaktin çoğunluğunun kapalı ortamlarda geçirilmesi ve güneşten kaçınılması, güneşe çıkılsa bile koruyucu güneş kremlerinin kullanılması VitD3 sentezinin azalmasına neden olmaktadır (77). On beş ve üzerinde koruyucu faktörlü güneş kremleri VitD3 sentezini %99 oranında azaltmaktadırlar (77).



Şekil 5. D vitamini sentezi ve aktivasyonu, aktif D vitamininin mineral metabolizması üzerine etkisi

Yaşla birlikte VitD3 sentez kapasitesi azalmakta, aynı dozda güneş ışığına maruz kalan 70 yaşındaki bireylerde 20 yaşındakilerle kıyaslandığında VitD3 sentezinin %75 oranında azaldığı gösterilmiştir (77). Ekvator bölgesinden uzaklaştıkça güneş ışınlarının yeryüzüne iniş açısı değişmekte ve daha düşük düzeylerde VitD3 sentezine yol açmaktadır. Obezitede VitD3 sentezi azalmakta, aynı dozda UVB maruz kalan obez bireylerde obez olmayanlara kıyasla VitD3 sentezi %50 daha az olmaktadır (77).

Tablo 1. Yetişkinlerde D vitamini düzeyleri

Durum	Serum 25 (OH) D3 düzeyi
Eksik	<20 ng/ml
Yetersiz	21-29 ng/ml
Yeterli	30-100 ng/ml
Fazla	> 100 ng/ml
Toksik	> 150 ng/ml

Endocrine Society Clinical Practice Guideline Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency 2011 göre hazırlanmıştır (78)

2.5.2 D vitamini ve etkili olduğu sistemler

Vitamin D3 reseptörleri (VDR) damar düz kas hücrelerinde, kalp kasında, endotel hücrelerinde, böbrekte, lenfositlerde ve pankreas beta hücrelerinde bulunmaktadır (74). Damar düz kas ve endotel hücresinin de 1 hidroksilaz aktivitesi bulunmaktadır (73).

2.5.3 D vitamini ve kardiovasküler hastalık ilişkisi

Vitamin D3 eksikliği inme, kalp krizi, hipertansiyon ve tip 2 dm ile ilişkilendirilmiştir (79). Bunlardan bazıları şöyledir VitD3 ile MI , stroke , KKY ile , diyabetiklerde KAH'nın ve normal popülasyonda periferik arter hastalığının VitD3 düzeyleri ile ters yönde ilişkili olduğu ortaya konmuştur (13, 79-83). Amerikada yapılan NHANES III çalışmasında toplam 15,088 kişi en az bir kez VitD3 baktırdıkları tespit edilmiş, bu kişilerin bazal VitD3 düzeyinin düşük olması HT, Tip 2 DM, HL ve obezite ile ilişkilendirilmiştir (13). Ayrıca aynı çalışmada VitD3 düzeyinin düşük olması koroner arter hastalığı buna bağlı MI, kardiyak mortalite, kalp yetmezliği ve inme sıklığı ile de ilişkili bulunmuştur.

D vitamini ve aterosklerotik olayları karşılaştıran en önemli araştırmalardan birisi Framingham çalışma grubundaki bireylerin yakın akrabalarının dahil edildiği çalışmadır. Çalışmaya daha önce KAH geçirmemiş toplam 1,739 kişi alınmış, kişiler bazal VitD3 düzeylerine bakıldıktan sonra ortalama 5,4 yıl kadar takip edilmişlerdir. Bu araştırmada hipertansiyonu olan grupta ölümcül MI, ölümcül olmayan MI, iskemi, inme ve KKY VitD3 düşük olan grupta daha fazla olduğu tespit edilmiştir (79). Hipertansiyonu olmayan grupta ise fark bulunmamıştır.

Vitamin D3 düşük bireylerde HT, DM ve Hiperlipidemi sıklığının daha fazla olmasının nedenlerine bakıldığında, VitD3 düşük bireylerde renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonu kalp ve damarlarda hipertrofiye neden olmaktadır (74). Bu hipotezi doğrulayan başka araştırmalar da mevcuttur, dışarıdan verilen 1,25 (OH)₂ D₃ bireylerin renin-

anjiotensin-aldosteron sistemini bloke etmiş ve sistolik tansiyonda düşüğe yol açmıştır (84). Krause ve ark.'ları kişilerin UVB maruziyetini artırarak, VitD3 düzeylerinde %180'lik bir artış elde etmişler, buna paralel olarak hem sistolik hem de diastolik kan basıncında 8 mmhg'lik bir düşüş gözlemlenmiştir (79). Tip 2 DM'lu bireylerde yapılan randomize, plasebo kontrollü başka bir araştırmada 1 defa 100,000 IU D2 verilmesinin ardından sistolik tansiyonda 14 mmhg'lik bir düşüş sağlanmış ve ejeksiyon fraksiyonunda (EF) iyileşme gözlemlenmiştir (79). Vitamin D3 düşüklüğünde paratiroid hormon (PTH) düzeylerinde artış olmaktadır. Hiperparatiroidide KAH riski artırmakta, kronik VitD3 düşüklüğü sekonder hiperparatiroidiye (HPTH) yol açarak KAH riskini artırıyor olabilir. Bunu düşündüren bir başka inceleme ise primer HPTH hastalarda cerrahi olanların olmayanlara kıyasla %40 daha az MI, inme ve ölüm gözlemlenmiş olmasıdır (85).

2.5.4 D vitamini ve endotel fonksiyonu

D vitamini replasmanın endotel fonksiyonu üzerine olumlu etki yaptığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Sugden JA ve ark. VitD3 düzeyleri < 20 ng/ml olan 34 tip 2 DM'lu hastada bir gruba 100.000 IU D2 replasmanı, diğer gruba ise plasebo vermişler VitD3 replasmanı alan grupta ABD'da %2.3 iyileşme tespit etmişlerdir (86). Tarçın ve ark. ortalama 25 OH D3 düzeyleri <25 nmol/L olan 23 kişi ile yaş ve cinsiyet uyumlu ortalama 25 OH D3 düzeyleri 75 nmol/L olan 23 sağlıklı bireyi dahil ederek yaptıkları çalışmada, VitD3 replasmanı sonrasında endotel fonksiyonun iyileştiğini tespit etmişlerdir (87).

2.5.5 D vitamini ve Diabetes Mellitus

Yapılan bir çalışmada VitD3 düzeyinin düşük olması ile insülin rezistansı (IR) ve b-hücre disfonksiyonu arasında bağlantı tespit edilirken (88, 89), başka bir çalışmada ise HT ve DM ile ilişkilendirilmiştir (90, 91). D vitamini replasmanı alan bireylerin dahil edildiği başka bir çalışmada günde 800 IU üzerinde replasman alanların 400 IU alanlara göre daha az oranda tip 2 DM yakalandıkları saptanmıştır (92). Yine Pittas ve ark. 25 OH D3 düzeyleri düşük bireylerde tip2 dm insidensini daha sık bulmuşlardır (93). Bu bulgu 5 çalışmayı içeren metaanalizde de doğrulanmıştır (94).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Denek Seçimi

3.1.1 Çalışmaya dahil edilme kriterleri

18-65 yaş arası en az bir yıldır tip 2 diyabet tanısı alanlar ve sağlıklı gönüllüler.

Çalışmaya katılmayı kabul edenler

3.1.2 Çalışmadan dışlanma kriterleri

Malignitesi olanlar

D vitamini ve kalsiyum preparatı kullananlar

Çalışmaya katılmak istemeyenler

Eşlik eden sistemik hastalığının olanlar (KBY, KOAH, KKY, Kronik karaciğer hastalığı olanlar), Romatoid Artrit, Ankilozan spondilit, Çöliak veya diğer malabsorbsiyon ile seyreden hastalık, hipo-hipertiroidi, hiperparatiroidisi olanlar, prolaktinoma tanısı alanlar

5 mg/gün 15 günden fazla prednizolona eş değer steroid kullanımı

Herhangi bir nedenle Organ nakli uygulanan hastalar

Hamileler

3.2 Çalışma Yöntemleri

Çalışmaya uygun olan hastalardan yazılı onam alındıktan sonra çalışmaya dahil edildiler. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi etik kurulu tarafından onaylanmıştır. Sekiz saatlik açlık sonrasında sabah erken kan örnekleri alındı. Serum ve Plazma örnekleri ayrılarak -20°C saklandı. Daha sonrasında radyolojik değerlendirme yapıldı.

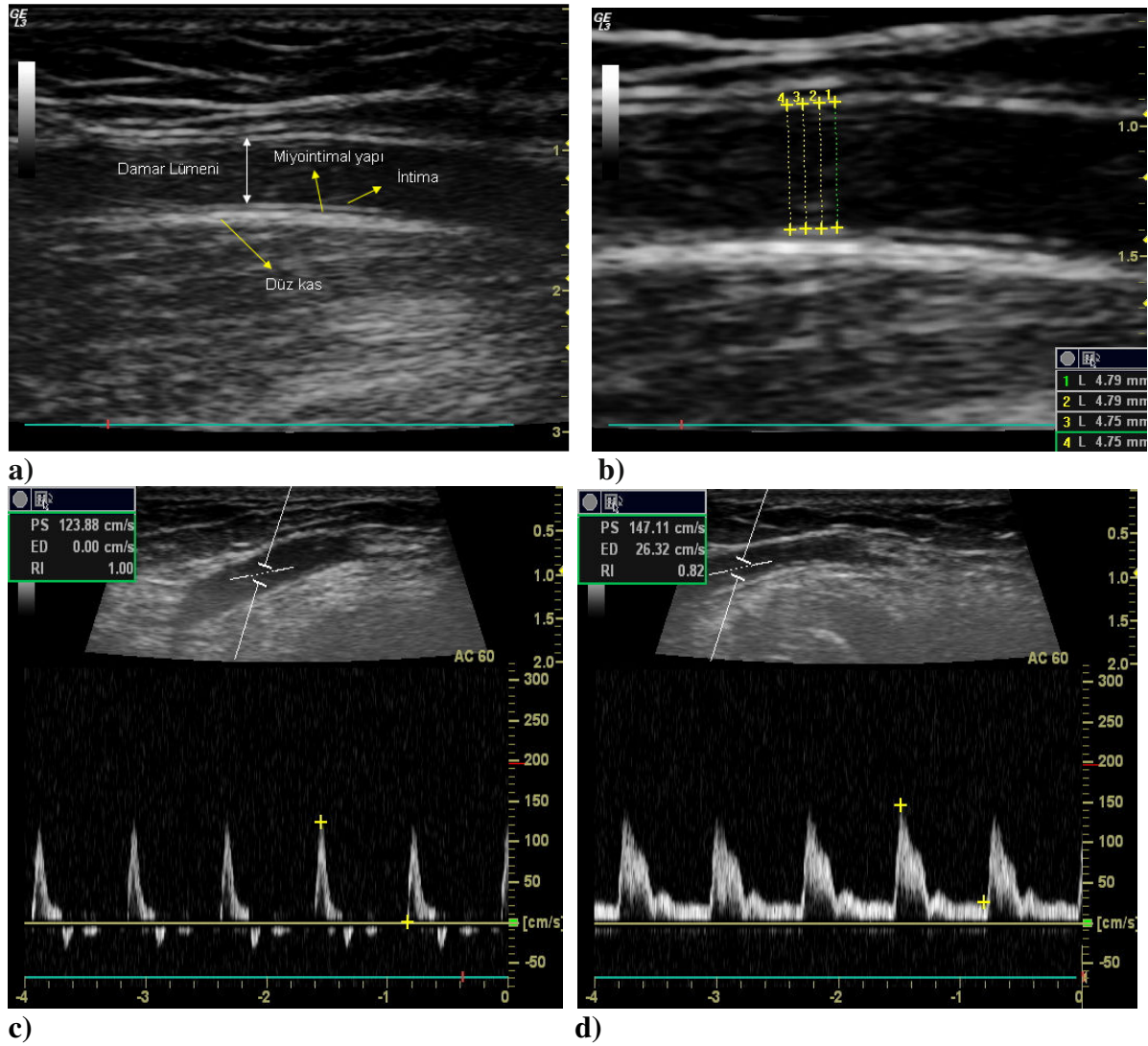
Çalışma Marmara Üniveristesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (BAPKO proje No: SAG-C-TUP-040310-0030)

3.2.1 Akıma bağlı dilatasyon

Hastaların ABD'u brakial arterden Amerikan Heart Association/Amerikan Colloge of Cardiology (37) tarafından yayımlanan kılavuz baz alınarak yapılmıştır.

Hastalar endotel fonksiyonu ölçümü öncesinde geceden itibaren 8 saat boyunca herhangi bir şey yememeleri ve işlemden önceki 2 saat içinde sigara içmemeleri, c vitamini almamaları konusunda uyarıldılar. Mevcut medikal tedavilerine devam etmeleri söylendi. İşlemden 30 dakika önce sakin ve sessiz odada bekletildiler. Sakin, sessiz ve ısısı 20-25C olan ortamda sorumlu araştırmacı tarafından 12 Mhz linear transducer kullanılarak (GE Logic III expert, USA) brakial arterden antekübital fossanın 2 cm üzerinden diyastolik fazda bazal damar çapı

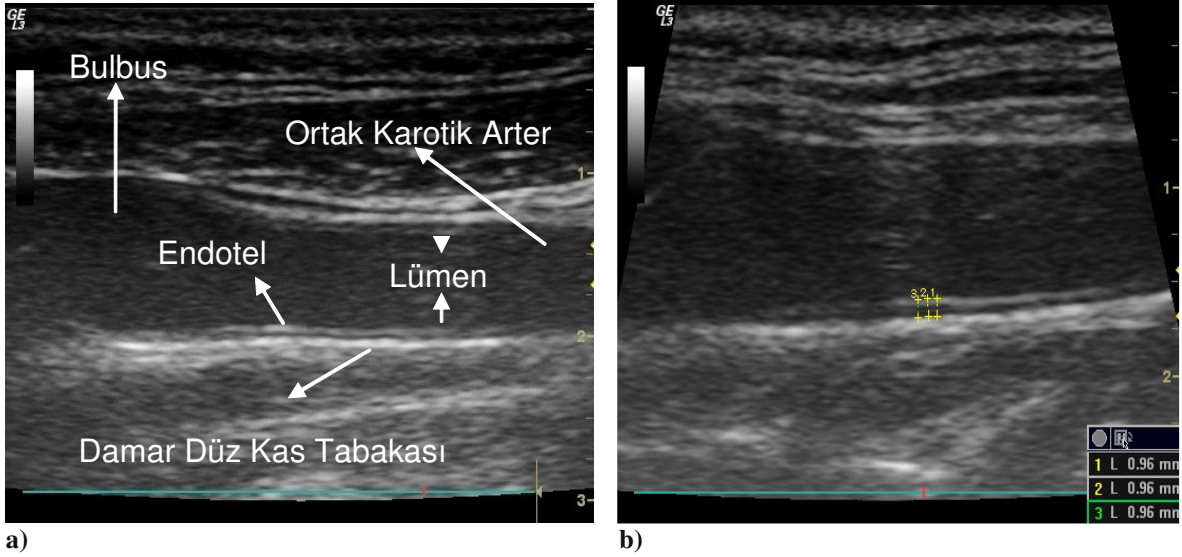
ve akım hızı ölçüldü. Sistolik ve diastolik period eş zamanlı sürekli elektrokardiografi (EKG) monitorizasyonu ile belirlendi.



Şekil 6. Brakial arterin ultrasonografi görüntüleri; a) anatomik yapılar, b) brakial arterin çap ölçümü görülmektedir. c) Spektral doplerde akımın iskemiye bağlı değişkenliği hastanın brakial arterinde bazal akım hızı 123,88 cm/s, d) Aynı hastada iskemi sonrasında akım hızı 147,11 cm/s,



Şekil 7. Akıma bağlı dilatasyon (ABD) ve nitrat sonrasında damar duvarındaki değişikliğin şematik görünümü



Şekil 8. Soladaki resimde ortak karotik arter, arterin anatomik yapısı ve bifurkasyon görülmekte. Sağdaki resimde yapılan karotis intima medya kalınlık ölçümü yer almaktadır.

Tansiyon manşonu ile brakial arterde sistolik tansiyon değerinin 50 mmHg kadar üzerine veya 250 mmHg'nın üzerine çıkarılarak kan akımı 5 dakika boyunca engellendi. Sonrasında tansiyon manşonu çözüldü, ilk 15 sn içinde kan akımındaki artış gözlemlendi ve kaydedildi. Sonraki 45-60 sn içinde damar çapı ölçüldü. Damar çapı ön duvardaki intima tabakası ile arka duvardaki medya tabakası arasındaki mesafe olarak değerlendirilmiştir. En az 3 ölçüm yapıldı ve ölçümlerin ortalaması değerlendirmeye alındı. Daha önce yapılan değerlendirmede ölçümler arasındaki araştırmacı farkının % 5 altında olduğu saptanmıştı.

3.2.2 Karotis intima medya kalınlığı

Karotis intima medya kalınlıkları ABD ile aynı seansta Barth ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde yapıldı (özl .230). Hasta yatar pozisyonda ve başı ultrasonu yapan operatörün aksi yönüne 45°'lik bir açıyla dönük şekilde 12 Mhz linear transducer kullanılarak (GE Logic III expert, USA) bifurkasyondan 10 mm öncesindeki damarın arka duvarından intima ve medya tabakası belirlendikten sonra hem sağdan hem de soldan en az 3 ölçüm yapılarak değerlendirildi. Tüm ölçümlerin ortalaması alındı. Daha önce yapılan değerlendirmede ölçümler arasındaki araştırmacı farkının % 5 altında olduğu saptanmıştı.

3.2.3 Biyokimyasal ölçümler

Osteoprotegerin düzeyleri RayBio® Human Osteoprotegerin (Norcross, GA, USA) ELİZA kiti kullanılarak ölçüm yapıldı. İnter-assay coefficient of variation %6.44-17.17.

25 (OH) D3 vitaminİ yüksek performanslı likit kromatografi yöntemi (Spectra System, Recipe chemical and instruments GmbH, Germany) kullanılarak ölçüldü. Kitin test içi (intra-assay) ve test arası (inter-assay) değişkenlik katsayıları sırasıyla %1.5-2.6 ve %3.6-4.0 arasındadır.

PTH düzeyleri Roche-Hitachi E170 cihazı kullanılarak kemiluminesans yöntemi ile ölçüldü (Roche Diagnostics GmbH D-68298 Mannheim, Germany).

3.4 İstatistik

Verilerin karşılaştırılmasında SPSS 13 programı kullanılmıştır.

Normal dağılım belirlendikten sonra, normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında student t testi, normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında ise Man Withney U testi kullanılmıştır. Korelasyon için ise Pearson ve Spearman testleri kullanılmıştır. Korelasyon saptanan veriler liner lojistik regresyon ile bağımsız faktör olup olmadığı araştırılmıştır. Oranların karşılaştırılmasında ki kare kullanılmıştır.

4. SONUÇLAR

Çalışmaya 49 diyabetik ve 45 kontrol olmak üzere toplam 94 denek alındı. Diyabetik bireylerin 26'sını kadınlar, 23'nü erkekler oluşturmaktaydı. Kontrol grubu ise 26'si kadın, 19'u erkeklerden oluşmaktaydı, iki gruptaki kadın erkek sayısı benzerdi (p=0,68). Hastaların demografik özellikleri tablo 2'de laboratuvar özellikleri ise tablo 3 de gösterilmiştir. Diyabetiklerin ortalama diyabet süresi $7,66 \pm 5,27$ yıl, yüzde 47'si (23) insülin kullanmaktaydı diğer özellikler tablo 2'de verilmiştir. Cinsiyete göre demografik ve laboratuvar özellikleri tablo 5 ve 6 da özetlenmiştir.

Tablo 2. Çalışma grubunun demografik özellikleri

	Tip 2 DM	Kontrol
Diyabet süresi (yıl)	$7,66 \pm 5,27$	-
İnsülin kullanan (%)	47 (23)	-
İnsülin kullanım süresi (yıl)	1,0 (ÇAA: 0-4,0)*	-
Retinopati (%)	18,37 (9)	-
Nefropati (%)	16,33 (8)	-
Nöropati (%)	24,49 (12)	-
Hipertansiyon (%)	73,47 (36)	-
Hipertansiyon süresi (yıl)	$4,71 \pm 4,55$	-
Hiperlipidemi (%)	79,59 (39)	-
Hiperlipidemi süresi (yıl)	$4,46 \pm 3,74$	-
Koroner arter hastalığı (%)	12,24 (6)	-
Serebrovasküler hastalık (%)	4,08 (2)	-
Sigara (%)	22,45 (11)	2,2 (1)
Sigara içme süresi (yıl)	0 (ÇAA:0-6,5)*	15

*Normal dağılım göstermediğinden ortanca ve çeyrekler arası aralık (ÇAA) verilmiştir

Tablo 3. Çalışma gruplarının klinik özellikleri

	Tip 2 DM Grubu (n=49)	Kontrol Grubu (n=45)	p
Yaş (yıl)	49,3 ± 10,1	48,3 ± 7,48	0,24
Sistolik tansiyon (mmHg)	132,84 ± 18,45	120,05 ± 15,29	<0,001
Diyastolik tansiyon (mmHg)	82,92 ± 10,87	75,82 ± 9,06	0,001
Nabız basıncı (mmHg)	49,92 ± 13,91	44,23 ± 9,68	0,03
BKI (kg/m ²)	31,45 ± 4,58	28,20 ± 4,42	0,001
Bel çevresi (cm)	102,33 ± 7,65	95,57 ± 10,08	0,003

Beden kitle indeksi (BKI),

Tablo 4. Çalışma grubunun labarotuvuar özellikleri

	Tip 2 DM Grubu (n=49)	Kontrol Grubu (n=45)	p
Akıma bağlı dilatasyon (%)	4,2 ± 3,1	7,6 ± 4,1	0,01
Bazal bamar çapı (mm)	3,83 ± 0,69	3,98 ± 0,73	0,33
KİMK (mm)	0,65 ± ,13	0,54 ± 0,10	0,01
25 (OH) D3 (ng/ml)	15,1 ± 11,0	18,8 ± 11,0	0,22
Osteoprotegerin (pg/ml)	617,0 ± 111,0	481,0 ± 96,0	<0,001
PTH (pg/ml)	30,9 ± 14,3	37,0 ± 12,6	0,05
AKŞ (mg/dL)	149,0 ± 49,9	78,4 ± 12,8	<0,001
Hgb A1c %	7,2 + 1,8	-	

Parathyroid hormon (PTH), Karotis intima medya kalınlığı (KİMK), açlık kan şekeri (AKŞ)

4.1 Osteoprotegerin

Diyabetik bireylerdeki OPG düzeyleri kontrole grubuna göre daha yüksek bulundu.

Osteoprotegerin'nin AKŞ ($r=0,44$, $p<0,001$), SKB ($p=0,004$, $r=0,34$) ve DKB ($p=0,001$, $r=0,38$) düzeyleri ile korelasyon gösterdiği görüldü. D vitamini düzeyleri arttıkça OPG düzeylerinin de arttığı görüldü. Ancak bu artış istatistiksel anlamlılık sınırında kaldı ($p=0,06$, $r=0,25$). Yapılan regresyon analizinde AKŞ ($r^2=0,43$, $p=0,001$), KIMK ($r^2=0,52$, $p=0,011$) ve SKB ($r^2=0,44$, $p=0,022$) bağımsız risk faktörü olarak saptandı.

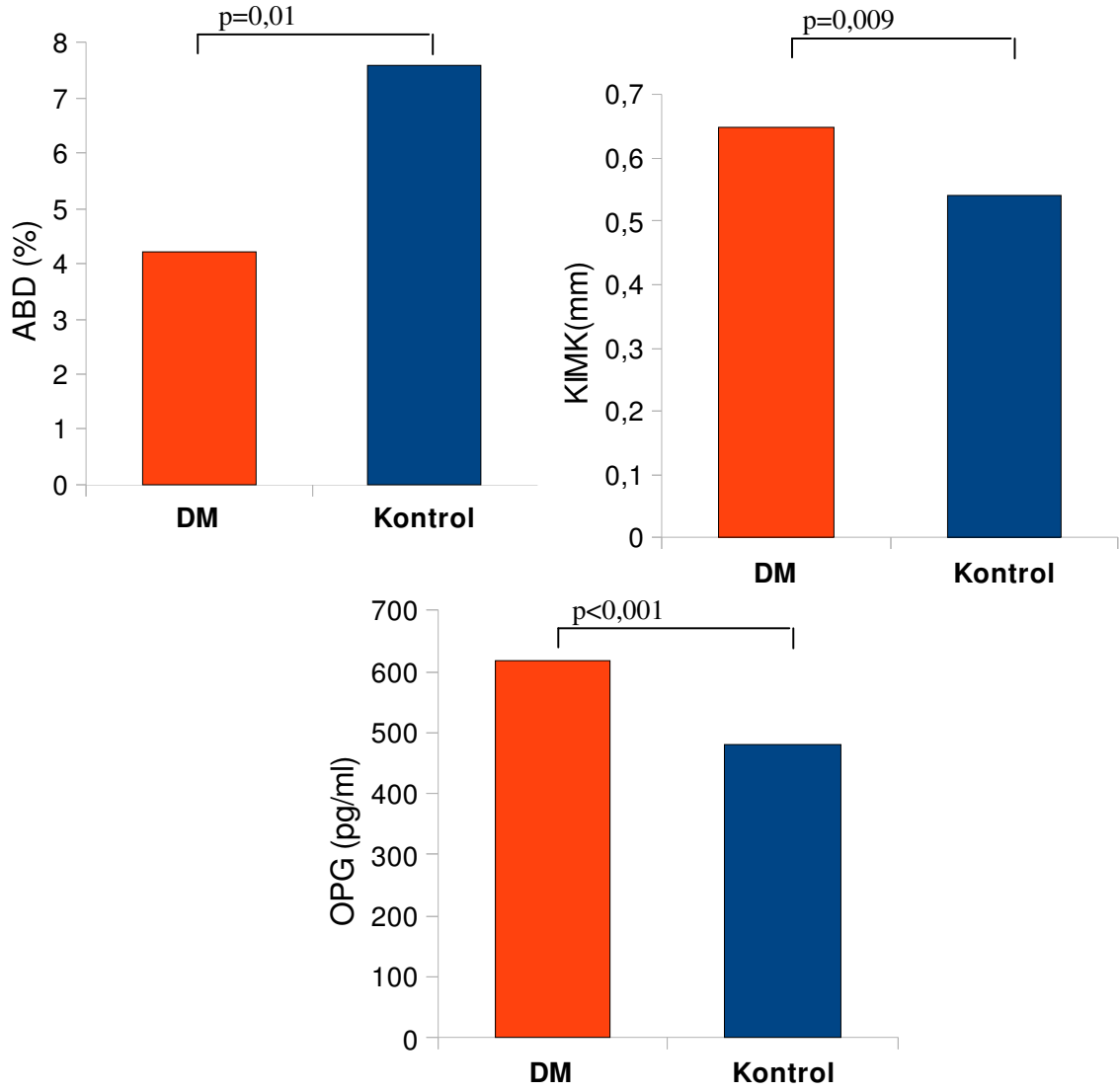
Tüm çalışma grubu ele alındığında kadınlarda $566,48 + 135,08$ pg/ml, erkeklerde $522,44 + 105,35$ pg/ml ($p=0,12$) olarak saptandı, alt gruplara bakıldığında tip2 DM grubunda kadınlarda $637,9 \pm 121,4$ pg/ml, erkeklerde $585,3 \pm 98,1$ pg/ml ($p=0,15$), kontrol grubunda kadınlarda $498,2 \pm 111,5$ pg/ml, erkeklerde $455,4 \pm 64,3$ pg/ml ($p=0,03$) olarak ölçüldü.

4.2. Karotis İntima Medya Kalınlığı

Diyabetik hastalardaki ortalama KIMK'ı $0,65 \pm 0,13$ mm, kontrol grubunda $0,54 \pm 0,10$ mm olarak saptandı, diyabetiklerin daha yüksek KIMK'ına sahip olduğu görüldü ($p<0,001$).

Genel popülasyonda KIMK erkeklerde $0,67 \pm 0,11$ mm, kadınlarda $0,60 \pm 0,10$ mm olarak tespit edilirken ($p=0,002$), tip 2 DM grubundaki kadınlarda $0,64 \pm 0,10$ mm, erkeklerde $0,70 \pm 0,12$ mm ($p=0,048$), kontrol grubunda erkeklerde $0,62 \pm 0,09$ mm, kadınlarda $0,55 \pm 0,11$ mm ($p=0,02$) olarak saptandı. Tüm popülasyonda ve alt gruplarda erkeklerin kadınlara nazaran daha yüksek KIMK'ına sahip oldukları görüldü.

Yaş ($r= 0,41$, $p<0,001$), SKB ($r=0,30$, $p=0,004$), NB ($r= 0,27$, $p=0,011$), bel çevresi (BÇ) ($r=0,40$, $p=0,001$) ve beden kitle indeksi (BKİ) ($r=0,28$, $p=0,014$) değerleri ile KIMK arasında pozitif korelasyon saptandı. Yapılan regresyon analizinde yaş ($r^2=0,32$, $p=0,003$) ve BÇ'nin ($r^2=0,64$, $p=0,001$) KIMK üzerine etkili bağımsız faktör oldukları görüldü.

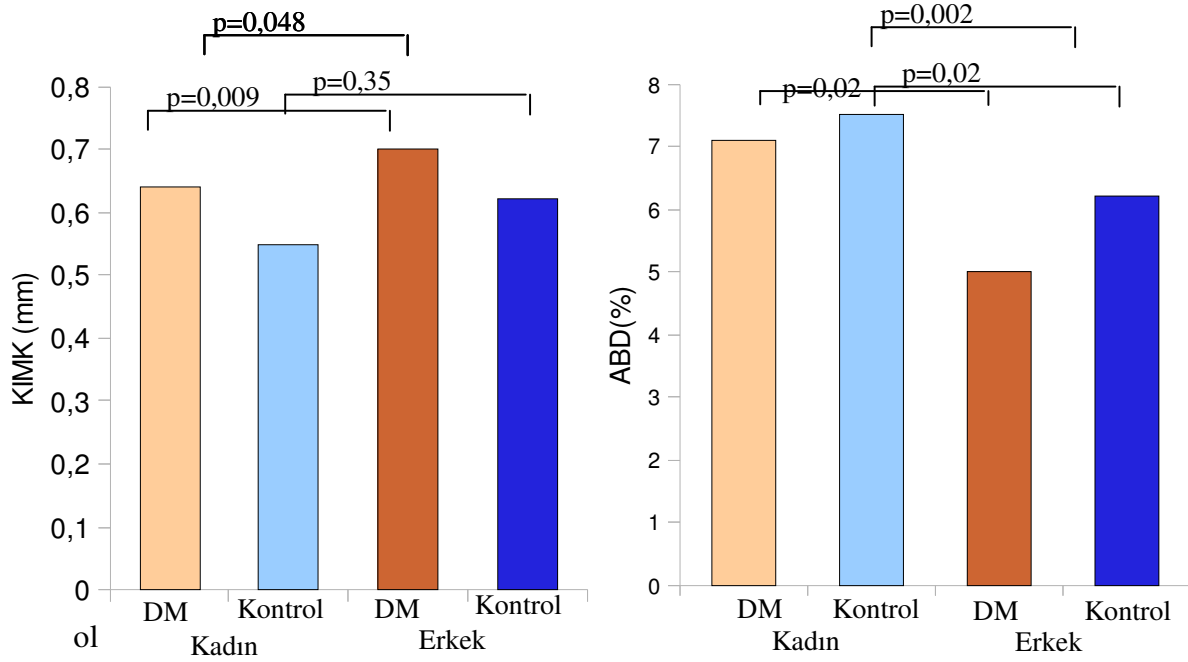


Şekil 9. Akıma bağlı dilatasyon (ABD), Osteoprotegerin (OPG) ve karotis intima medyakalınlıklarının (KIMK) diyabetik ve kontrol grubundaki dağılımı

4.3 Akıma Bağlı Dilatasyon

Diyabetik bireylerde ortalama ABD % $4,2 \pm 3,1$, kontrol grubundaki ortalama ABD % $7,6 \pm 4,1$ olarak saptandı, iki grup arasında anlamlıydı ($p=0,01$). Bazal damar çapına bakıldığında tip 2 DM grupta $3,83 \pm 0,69$ mm, kontrol grubundaki $3,98 \pm 0,73$ mm olarak tespit edildi aradaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0,33$). Akıma bağlı dilatasyon ile yaş arasında negatif bir korelasyon saptandı ($r= -0,21$, $p=0,041$). Regresyon analizinde yaşın ABD üzerinde etkili bağımsız risk faktörü olduğu görüldü ($r^2= -0,38$, $p=0,021$). Kadınlarda

ABD oranı % $7,3 \pm 4,4$, erkeklerde ise % $5,55 \pm 4,0$ olarak tespit edildi iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,048$). Alt grup analizleri şekil 10 gösterilmiştir.



Şekil 10. Karotis intima medya kalınlığı (KIMK) ve akıma bağlı dilatasyonun (ABD) cinsiyete göre dağılımı

4.4 25 OH D3 Düzeyleri

Diyabetiklerde 25 OH D3 düzeyleri $15,1 \pm 11,0$ ng/ml, kontrol grubundaki $18,8 \pm 11,0$ ng/ml iki grup arasında fark saptanmadı ($p=0,22$). D vitamini düzeylerine göre eksiklik sınırı olarak kabul edilen 30,0 ng/ml göre ayrıldıklarında, < 30 ng/ml olan grupta OPG düzeyleri $528,15 \pm 100,63$ pg/ml, > 30 ng/ml grupta $612,14 \pm 121,70$ pg/ml olarak saptandı. İki grup arasındaki fark anlamlıydı ($p=0,024$). Ayrıca 25 OH D3 düzeyleri arttıkça OPG düzeylerinin de arttığı tespit edildi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı, istatistiksel anlamlılık sınırında kaldığı görüldü ($p=0,06$, $r=0,25$). Hem tüm çalışma grubundaki hem de diyabetik ve kontrol grubuna ayrı ayrı bakıldığında kadınlar ve erkeklerdeki VitD3 düzeyleri benzer olduğu görüldü.

4.5 Sistolik, Diyastolik Tansiyon ve Nabız Basıncı

Diyabetik grupta ortalama sistolik kan basıncı (SKB) ve diyastolik kan basıncı (DKB) düzeyleri $132,84 \pm 18,45$ mmHg, $82,92 \pm 10,87$ mmHg, kontrol grubunun sistolik ve diyastolik tansiyon düzeyleri $120,05 \pm 15,29$ mmHg, $75,82 \pm 9,06$ mmHg (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,001$). D vit ile tansiyon değerleri arasında korelasyon saptanmadı.

Sistolik tansiyon düzeyi arttıkça KİMK'nın arttığı saptandı ($p=0,004$, $r=0,30$). Yaş arttıkça hem SKB ($p<0,001$, $r=0,45$) hem de DKB ($p=0,013$, $r=0,26$) düzeyinin arttığı saptandı. Yine bel kalınlığı ve beden kitle indeksi (BKI) arttıkça SKB (BÇ: $r=0,38$, $p=0,001$, BKİ: $r=0,42$, $p<0,001$) ve DKB düzeyinin arttığı saptandı (BÇ: $r=0,38$, $p=0,001$, BKİ: $r=0,33$, $p=0,002$).

Yapılan regresyon analizinde yalnızca yaş ($r^2=0,33$, $p=0,006$),ve BKI'nin ($r^2=0,59$, $p<0,001$) SKB için bağımsız risk faktörü olduğunu tespit edilirken, DKB için sadece BKİ bağımsız risk faktörü olarak saptandı ($r^2=0,44$, $p=0,002$).

Diyabetik grupta kadınlar ve erkeklerin SKB, DKB düzeyleri benzer bulundu ($p=0,17$, $p=0,68$). Buna karşın kontrol grubunda erkeklerin daha yüksek SKB düzeylerine sahip iken ($p=0,004$), DKB değerleri ise benzer idi ($p=0,54$).

Kontrol grubunun nabız basıncı (NB) $42,55 \pm 8,94$ mmHg, diyabetik bireylerin ise $50,52 \pm 14,20$ mmHg olarak saptandı ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,01$). Daha yaşlı ($p<0,001$, $r=0,39$) ve KİMK'ları ($p=0,006$, $r=0,28$) daha fazla olan bireylerin nabız basınçlarının da yüksek olduğu görüldü. Yapılan regresyon analizinde yaş ($r^2=0,44$, $p=0,001$) ve BKİ ($r^2=0,39$, $p=0,004$) NB üzerine etkili bağımsız faktör olarak saptandı. Nabız basıncında tip 2 DM grubundaki erkek ve kadınlar arasında farklılık saptanmazken, kontrol grubunda erkeklerin daha yüksek nabız basıncına sahip oldukları görüldü ($p=0,01$).

4.6 Beden Kitle İndeksi ve Bel Çevresi

Diyabetik bireylerin BÇ $102,33 \pm 7,65$ cm ve BKI'nin $31,45 \pm 4,58$ kg/m², kontrol grubunun BÇ $95,57 \pm 10,08$ cm ve BKI'ne $28,20 + 4,42$ kg/m² göre daha yüksek düzeylerde olduğu saptandı (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,001$).

Yaş ($r=0,29$, $p=0,014$), BKI ($r=0,74$, $p<0,001$), KİMK ($r=0,40$, $p=0,001$), SKB ($r=0,38$, $p=0,001$) ve DKB ($r=0,42$, $p<0,001$) düzeyleri ile bel BÇ arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Osteoprotegerin ile de korelasyon eyliminde olduğu görüldü ($p=0,09$, $r=0,21$).

Bel çevresinin NECP/ATP III metabolik sendrom kriterleri dikkate alınarak erkekler için ≥ 102 cm, kadınlar için ≥ 88 cm normal kabul edildiğinde, erkeklerin % 60'da normal sınırlarda, kadınların ise %78,6'da normalin üzerinde olduğu saptandı aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$). Katılımcılar kontrol grubu ve Tip2 DM grubu olarak incelendiğinde, kontrol grubundaki erkeklerin %72,2'sinin BÇ normal sınırlarda iken, kadınların ise %66,7'sinin bel çevresi değerleri normalin üzerinde saptandı aradaki fark anlamlı bulundu ($p=0,028$). Tip 2 diyabetiklerde kadınların %94,4 'nün bel çevresi normalin

üzerinde saptanırken, erkeklerde %58,3'de normalin üzerinde olduğu görüldü yine aradaki fark anlamlıydı (p=0,026).

Beden kitle indeksinin BÇ (r=0,74, p<0,001), KIMK (r=0,27, p=0,014), SKB (p=0,001, r=0,38), DKB (r=0,33, p=0,002) ve NB (r=0,26, p=0,017) ile korele olduğu görüldü

Tablo 5. Cinsiyete göre demografik özellikler

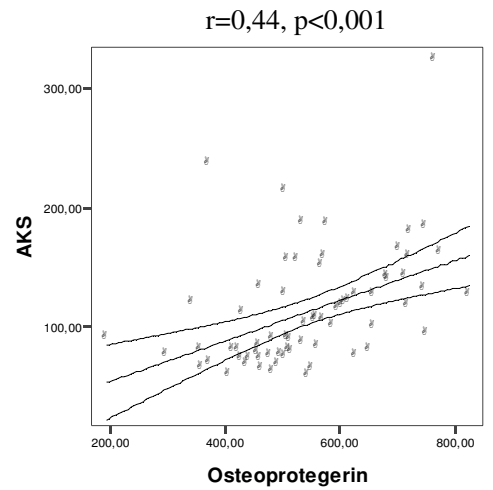
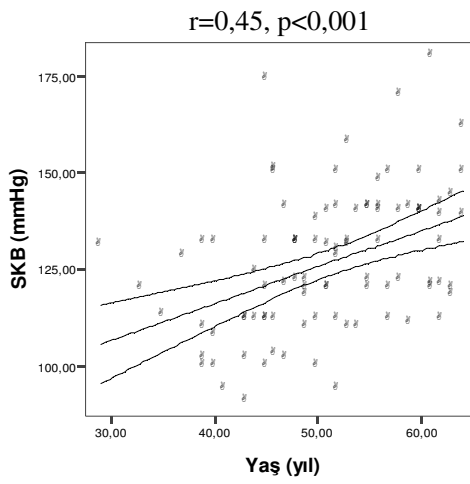
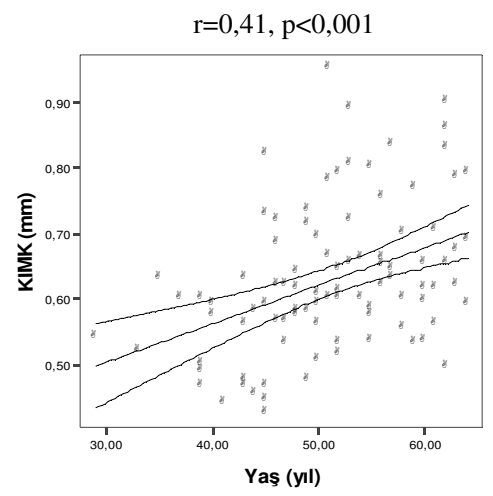
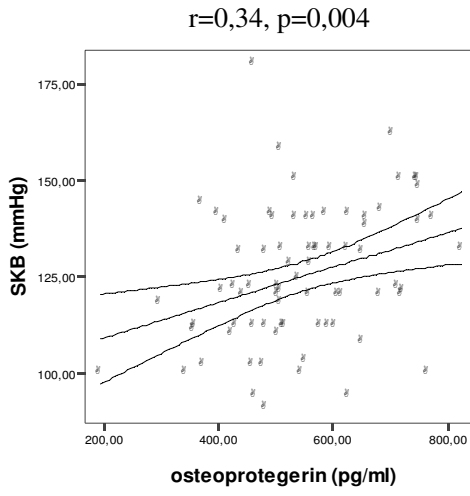
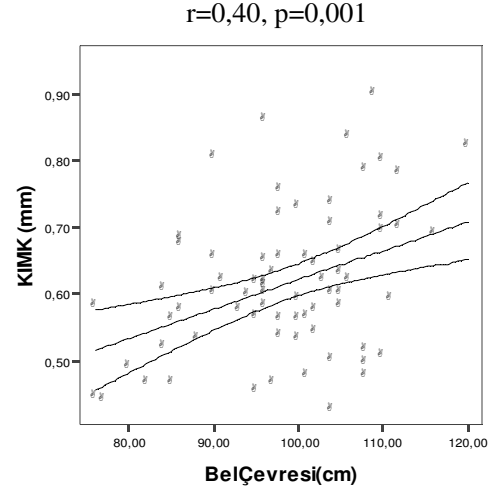
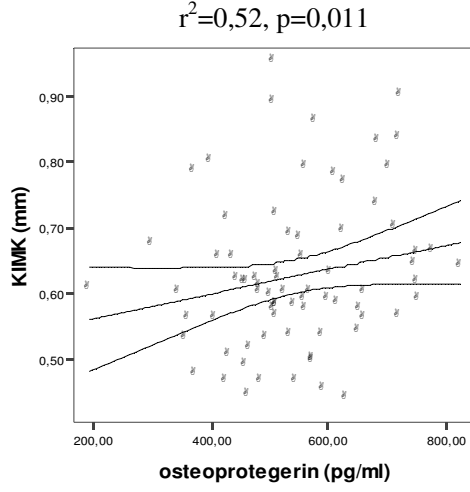
	Tip 2 DM Grubu (n=49)			Kontrol Grubu (n=45)		
	Kadın (n=26)	Erkek (n=19)	p	Kadın (n=26)	Erkek (n=19)	p
Yaş (yıl)	52,2 ± 10,3	47,9 ± 9,9	0,17	47,62 ± 5,1	53,4 ± 7,3	0,003
SKB (mmHg)	136,2 ± 18,6	129,0 ± 17,9	0,17	114,68 ± 15,8	127,1 ± 11,5	0,004
DKB (mmHg)	83,5 ± 8,8	82,22 ± 12,99	0,68	73,6 ± 9,6	78,7 ± 7,6	0,54
NB (mmHg)	52,7 ± 15,5	46,78 ± 11,47	0,13	41,1 ± 9,4	48,4 ± 8,7	0,01
BKI (kg/m ²)	32,4 ± 4,8	30,3 ± 4,2	0,14	28,9 ± 5,1	27,3 ± 3,3	0,24
BÇ (cm)	102,2 ± 7,6	102,5 ± 8,1		95,3 ± 10,9	95,9 ± 9,1	
Normal BÇ (%)	5,6	41,7	0,03	32,3	72,2	0,03

Sistolik kan basıncı (SKB), diyastolik kan basıncı (DKB), nabız basıncı (NB), beden kitle indeksi (BKİ), bel çevresi (BÇ),

Tablo 6. Cinsiyete göre laboratuvar özellikleri

	Tip 2 DM Grubu (n=49)			Kontrol Grubu (n=45)		
	Kadın (n=26)	Erkek (n=19)	p	Kadın (n=26)	Erkek (n=19)	p
ABD (%)	7,1 ± 4,8	5,0 ± 3,2	0,09	7,5 ± 4,1	6,2 ± 4,8	0,32
KIMK (mm)	0,64 ± 0,10	0,70 ± 0,12	0,048	0,55 ± 0,11	0,62 ± 0,09	0,02
25 (OH) D3 (ng/ml)	20,0 ± 15,2	17,4 ± 9,9	0,55	15,8 ± 13,2	15,0 ± 6,5	0,87
OPG (pg/ml)	637,9 ± 121,4	585,3 ± 98,1	0,15	498,2 ± 111,5	455,4 ± 64,3	0,03
PTH (pg/ml)	30,4 ± 11,9	31,7 ± 17,8	0,78	38,9 ± 12,0	33,7 ± 13,5	0,25

Akıma bağlı dilatasyon (ABD), karotis intima medya kalınlığı (KİMK), Osteoprotegerin (OPG), paratiroid hormon (PTH)



Şekil 11. Karotis intima medya kalınlıkları (KIMK) ile osteoprotegerin (OPG), bel çevresi ve yaş, Sistolik kan basıncı (SKB) OPGve yaş, OPG ile açlık kan şekeri (AKŞ) arasındaki korelasyon grafikleri

Tablo 7. Tüm çalışmada grubunda klinik ve biokimyasal parametrelerin korelasyonu

		OPG	25OHD3	PTH	ABD	KIMK	Bel	BKİ	SKB	DKB	NB	Yaş
OPG	r	1	0,25	-0,09	0,05	0,20	0,21	0,23	0,34**	0,38**	0,16	0,05
	p		0,06	0,44	0,65	0,08	0,09	0,08	0,004	0,001	0,17	0,64
25 OH D3	r		1	-0,2	0,07	-0,02	0,06	-0,14	0,11	0,02	0,15	0,06
	p			0,13	0,61	0,88	0,68	0,30	0,39	0,89	0,25	0,63
PTH	r			1	-0,06	0,07	-0,06	0,11	0,17	0,07	0,19	0,15
	p				0,59	0,56	0,63	0,35	0,14	0,54	0,10	0,19
ABD	r				1	-0,12	-0,08	-0,11	-0,18	-0,06	-0,21*	-0,28**
	p					0,24	0,52	0,33	0,09	0,58	0,042	0,007
KIMK	r					1	0,40**	0,27*	0,30**	0,20	0,27*	0,41**
	p						0,001	0,014	0,004	0,052	0,011	0,000
Bel	r						1	0,74**	0,38**	0,42**	0,18	0,29*
	p							0,000	0,001	0,000	0,14	0,014
BKİ	r							1	0,38**	0,33**	0,26*	0,19
	p								0	0,002	0,017	0,08
SKB	r								1	0,75**	0,82**	0,45**
	p									0,000	0,000	0,000
DKB	r									1	0,24*	0,26*
	p										0,022	0,013
NB	r										1	0,39**
	p											0,000
Yaş	r											1
	p											

Akıma bağlı dilatasyon (ABD), beden kitle indeksi (BKİ), bel çevresi (BÇ), diyastolik kan basıncı (DKB), karotis intima medya kalınlığı (KİMK), nabız basıncı (NB), Osteoprotegerin (OPG), paratiroid hormon (PTH), Sistolik kan basıncı (SKB), * p<0,05, ** p<0,01

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada diyabetiklerde serum osteoprotegerin düzeylerinin daha yüksek olduğu, erken ateroskleroz göstergelerinden akıma bağlı dilatasyon düşük ve karotis intima medya kalınlıkları yüksek izlendi.

Elde ettiğimiz bu veriler literatür ile uyumluluk göstermektedir. Browner ve ark.'ları 65 yaş üstü 490 kadında yaptıkları prospektif çalışmada OPG düzeylerinin tip 2 DM'lu bireylerde kontrollere göre daha yüksek saptamışlardır (56). Aynı çalışmada tüm nedenlere bağlı mortalite odds ratio oranını 1.4 [%95 CI 1.2–1.8] olarak bulmuşlardır (56). Jorgensen ve ark. tip 2 DM'lularda insülin tedavisi sonrasında OPG düzeylerinde düşme olduğunu gözlemlemişlerdir (95). Reinhard ve ark.'ları toplam 283 tip 2 DM'lu bireyi ortalama 16.8 yıl kadar izlemişlerdir (96). Çalışmada kandaki OPG'nin düzeyleri ile kardiovasküler ve tüm nedenlere bağlı ölüm olayları arasında diğer risk faktörlerine göre ayarlama yapıldığında dahi devam eden bir ilişki saptamışlardır (96). Osteoprotegerin düzeylerini çeyreklere ayırdıklarında tüm nedenlere bağlı ölüm ve kardiovasküler nedenli ölüm olaylarında OPG ile ilişkili olarak arttığını saptamışlardır (96). Başka bir çalışmada Nybo ve ark. akut inme geçirmiş 254 bireyde OPG düzeyleri üst çeyrekte olanların alt çeyrekte olanlara kıyaslandığında artmış riske sahip olmadığını ortaya koymuşlardır. Osteoprotegerin düzeylerinin kardiovasküler mortalite ile ilişkili olup inme ilişkilendirilememiş olması nedeniyle inmeye neden olan patogenetik mekanizmaların kardiovasküler hastalıklardan farklı olduğunu öne sürmüşlerdir (97). Bizim çalışmamızda da diyabetik bireylerin OPG düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ve beklenenden farklı değildi. Ancak çalışmamızda VitD3 düzeyleri ve OPG arasındaki istatitiki sınırdaki korelasyon izlendi. Şimdiye kadar yapılan bir çok prospektif çalışmada VitD3 düzeyleri ile tip 2 DM sıklığını, HT, HL, kardiovasküler olaylar ve total mortalite arasında negatif korelasyon olduğu ortaya konmuştur (13, 79-83). Literatürü incelediğimizde hipertansiyon ile VitD3 arasındaki ilişki daha net olarak ortaya konulmuş durumdadır. Dep ve ark. böbrek hücrelerinde 1,25 (OH)₂ D₃'ün glikoza bağlı anjiotensinojen ekspresyonunun azaltılmasına yol açtığını, buna ilaveten renini baskıladığını göstermişlerdir (98). Krause ve ark. kişilerin UVB maruziyetini artırarak, VitD3 düzeylerinde %180'lik bir artış elde etmişler, buna paralel olarak hem sistolik hem de diastolik kan basıncında 8 mmhg'lik bir düşüş gözlemlemişlerdir (77). Tip 2 DM'li bireylerde yapılan randomize, plasebo kontrollü başka bir araştırmada 1 defa 100,000 IU D₂ verilmesinin ardından sistolik tansiyonda 14 mmhg'lik bir düşüş sağlanmış ve ejeksiyon fraksiyonunda (EF) iyileşme gözlemlenmiştir (77). Diyabet ile VitD3 arasındaki ilişki

araştırılmaktadır. D vitamini eksikliğinin glukoz ile uyarılmış insülin sekresyonunu bozduğu öne sürülmüş, Pittas ve ark.'ları yaptıkları çalışmada 314 beyaz ırktan bireyi bir kısmına 500 mg elementer kalsiyum (Ca) + 700 IU D3, diğer gruba plasebo vererek 3 yıl kadar takip etmişlerdir. Üç yılın sonunda bozulmuş açlık kan şekerine sahip bireylerin Ca + vit D3 grubunda daha yavaş ilerlediğini saptamışlardır. Kan şekeri normal olan bireylerde plasebo ile karşılaştırıldığında fark saptanmamıştır (99). Buna karşın Gedik ve ark. VitD3 tedavisi ile insülin sekresyonun düzeldeğini ortaya koymuşlardır (100). D vitamini ile mortaliteyi araştıran çalışmalara baktığımızda toplum kökenli bir çok çalışmada, bunların başında Anderson ve ark.'nın Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group adı altında yaptıkları 40,000 üzerinde bireyin dahil edildiği çalışmada diyabet, hipertansiyon, hiperlipidi ve periferik damar hastalıklarının VitD3 düşük grupta daha sık olduğunu tespit etmişler (101). Ayrıca koroner arter olaylarının, kalp krizinin, kalp yetmezliği ve inme sıklığının diğer risk faktörleri dikkate alındığında dahi VitD3 eksik olan grupta arttığını saptamışlardır (79). Ancak bütün bu bulgulara rağmen VitD3 düzeyleri ile koroner olayların ve mortalitenin arttığı bilgisi tartışılmaktadır. Framingham kohordunda tamamıyla sağlıklı 1,739 kişide VitD3 düşüklüğü ile kardiovasküler olay arasında sadece HT olan grupta korelasyon saptanmıştır. HT olmayan grupta herhangi bir ilişkinin ortaya konulamamış olması bu durumun tartışılmasına yol açmıştır (79). Shen ve ark.'nın yaptıkları çalışma ile bu tartışmayı daha da arttırmışlardır. Çalışmada Amerikanın pensilvanya bölgesinde yaşayan 697 kişi alınmıştır. Vitamin D reseptöründe tek gen polimorfizmi (TGP) ile koroner arter kalsifikasyonun ilişkisini incelemişlerdir. Sitokrom P 24B1 (Sit P24B1) ve Sit P24A1 TGP sıklığını koroner kalsifikasyon ile ilişkili olduğu görülmüş (102). Polimorfizm ayrıca European ancestry (Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy study, n=916) ve Penn Coronary Calcification Sample (n=2061) alışmalarını da dahil ederek yaptıkları meta-analizde polimorfizm içeren bireylerin koroner arter kalsifikasyonunu çok kuvvetli şekilde öngördüğu saptanmıştır ($p=2.9*10(-6)$). Bu alışma ile VitD3 düzeylerinden çok olayların VitD3'nin metabolizması ile ilişkili olabileceği düşünölmeye başlanmıştır (102). Price ve ark. erkek farelerde yaptıkları çalışmada 22 gün boyunca warfarin ve VitD3 ile arteriyal kalsifikasyonu uyararak arttırmışlardır. Hem warfarinin hemde VitD3'ün uyardığı arteriyel kalsifikasyonun OPG ile engellenebildiği görülmüştür. Onlar OPG'nin kemik yıkımını engelleryerek yaptığını savunmuşlardır (103). Daha önce OPG ile VitD3 düzeyini inceleyen bir çalışmaya rastlamadığımız için mevcut bulgularımızın yapılacak prospektif çalışmalar ile desteklenmeye ihtiyacı vardır.

Çalışmamızda KIMK'ları diyabetiklerde kontrol grubundan daha yüksek tespit edildi. Ayrıca KIMK'ları erkeklerde kadınlardan daha yüksek olduğu görüldü. Bu bulgu literatürdeki bulgularla paralellik göstermekteydi. O'Leary ve ark. 5117 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada KIMK'nın koroner olaylar ve inme ile ilişkilendirmişlerdir (44). O'Leary ve ark. ortak karotik arter, bulbus ve internal karotik arterden aynı planda 3 farklı kesit alarak hem yakın duvar hemde uzak duvarda ölçüm yapmışlar ve ortalamasını almışlardır. Aynı çalışmada hem internal hem de ortak karotik arter KIMK'nı erkeklerde daha yüksek bulmuşlardır (44). Yakın duvar ölçümlerinin ateroskleroz ile ilişkisinin tam gösterilememiş olması nedeniyle biz uzak duvar ölçümü yapmayı tercih ettik. Yine bu çalışmada ortak karotik arter KIMK erkeklerde daha yüksek saptanması yanı ile bizim çalışmamıza benzemektedir. Başka bir çalışmada Lee ve ark. 13,790 kişiyi ortalama 9 yıl kadar izlenmişler. Çalışmaya KAH olan ve olmayan, tip 2 DM'lu ve tip 2 DM olmayan bireyleri almışlardır (49). Tip 2 DM'u olup ancak KAH'ı olmayan bireylerin KIMK KAH olan bireylerin KIMK ile aynı bulunmuştur. Kontrol grubunda KİMİK en düşük bulunurken, hem KAH hem de tip 2 DM olanlarda ise en yüksek saptamışlardır (49). Başka bir çalışmada Bernard ve ark. kardiovasküler hastalık açısından sorguladıklarında asemptomatik olan 229 tip 2 DM'lu bireyi 5 yıl kadar takip etmişler ve KIMK'ının kardiovasküler olayları ön görmede bağımsız bir risk faktörü olduğu, framingam risk skorlamasının eğri altındaki alana benzer tanısal özelliğe sahip olduğunu göstermişlerdir (104). Vik ve ark. genel popülasyonda yaptıkları çalışmada bilinen kardiovasküler risk faktörlerine göre ayarlama yapıldığında dahi KİMİK ile OPG arasında devam eden korelasyon saptamışlardır (105). Bizim çalışmamızda da KİMİK ile OPG arasında diğer faktörlere göre ayarlama yapıldığında devam eden ilişki saptandı. Bu bulgu Vik ve ark. bulgusu ile uyumluydu. Biz aynı ilişkinin tip 2 DM'lu bireylerde de devam ettiğini gösterdik. Bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda da gösterildiği gibi yaş KIMK'ları üzerine etkili önemli bir faktördür.

Diyabetik bireylerde ABD kontrol grubundan daha düşük düzeylerdeydi. Mayer ve ark. tip 2 DM'lu ve obezlerde ABD'nun kontrol grubuna göre kıyaslandığında azaldığını ortaya koymuşlardır (106). Henry ve ark. Hoorn çalışmasında tip 2 DM'lu kişilerde ABD'nun bozulduğunu, ancak bozulmuş açlık şekeri olanlarda kontrollerden farklı bulunmamıştır (107). Ayrıca aynı çalışmada tip 2 DM'nin endotel fonksiyon kaybında bağımsız faktör olduğunu saptamışlardır (107). Yine bu çalışmada hipergliseminin ve hiperinsülineminin endotel fonksiyon bozukluğunda minimal katkı sağladığını göstermişlerdir (108). Gokce ve ark. yaptıkları çalışmada ABD'nun diğer klasik risk faktörlerine göre ayarlandığında kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır (34).

Enderle ve ark. yaptıkları çalışmada koroner arter hastalığı olmayanların ABD oranının, koroner arter hastalığı olanlardan daha yüksek tespit etmişler ve koroner olayları ön görmede güvenilir bir test olabileceğini ileri sürmüşlerdir (41). Aynı çalışmada ABD için eşik değeri % $\leq 4,5$ olarak aldıklarında koroner arter hastalığını 0,71 duyarlılık ve 0,81 özgüllükle ön gördüğünü saptamışlardır (41). Buna karşın koroner arterlerdeki tıkalı damar sayısı ile korelasyon saptamamışlardır. Fathi ve ark. düşük riskli hastalarda koroner olayları öngörmede ABD'nun yetersiz kalabileceğini ortaya koymuşlardır (42). Shin JY ve ark. tip 2 DM'lularda yaptıkları çalışmada yüksek OPG düzeyleri olanlarda ABD'u düşük saptamamışlardır (108). Bizim çalışmamızda ABD ile OPG arasında korelasyon saptanmadı. Buna karşın çalışmamızda ABD ile yaş arasında negatif korelasyon saptadık, bu durum literatür bilgisi ile uyumluluk göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda kadınların ABD oranı erkeklerden yüksek saptandı, iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu. Çalışmamızda yer alan kadınların erkeklere göre daha genç olması iki grup arasındaki farkın bir nedeni olabileceği gibi, ayrıca çalışma grubumuzun bulunduğu yaş aralığında kadınların henüz menapoza girmemiş olması bunun diğer nedeni olabilir.

D vitamini düzeyleri diyabetiklerde ve kontrol grubunda VitD3 düzeyleri benzerdi ve eksiklik düzeyindeydi. Cigolini ve ark. 459 tip 2 DM ve 459 sağlıklı katılımcıların yer aldığı çalışmalarında tip 2 DM bireylerin ortalama VitD3 düzeylerini kontrol grubunu göre daha yüksek saptamışlardır (82). Bizim çalışmamızdaki tip 2 diyabetiklerin VitD3 düzeyleri Cigolini ve ark. çalışmasındakilerle benzerdir. Ancak çalışmamızda kontrol grubunun VitD3 düzeylerinin yetmezlik sınırının altında olması önceki çalışmalardan farklıdır. Dolayısıyla kontrol grubunun çoğunluğunu hastane personelinin oluşturuyor olması biasa neden olmuş olabilir.

Bizim çalışmamızda Vit D3 düzeyleri ile endotel fonksiyonunu yansıtan parametreler arasında ilişki saptanmadı. Yiu ve ark.'larının 280 tip 2 DM'lu ve 73 yaş, cinsiyet uyumlu kontrol grubunda endotel fonksiyonu ve endotel progenitör hücrelerinin VitD3 ile ilişkisini araştırmışlardır. Tip 2 DM'lu bireylerde endotel progenitör hücrelerinin azaldığını saptamışlardır. Bunun yanında VitD3 düzeyleri azaldıkça endotelial progenitör hücrelerde de azalma saptamışlardır (109). Tarçın ve arkadaşları yaş ortalaması 22 yıl olan katılımcılar üzerinde yaptıkları çalışmada VitD3 eksikliği olan grupta ABD oranını daha düşük saptamışlardır (87). Yine aynı çalışmada VitD3 replasmanı sonrasında ABD'nun düzeldiğini ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda ABD ile VitD3 arasında korelasyon saptanmasının nedenlerinden birisi çalışma grubunun hemen hemen tamamının VitD3 düzeylerinin yetmezlik sınırının altında olması olabilir.

Yaptığımız çalışmanın zayıf yanları; Birincisi kesitsel olması nedeniyle ortaya çıkan bulgulara dayanarak neden sonuç ilişkisinin kurulamayacağı, ikincisi çalışmamızın nispeten küçük ölçekte olması ve olaylar arasındaki mevcut bazı bağıntıların atlanmasına neden olmuş olabileceği, üçüncüsü kontrol grubumuzun çoğunluğunun hastane personelinden seçilmiş olması toplumu yansıtmaması nedeniyle hatalı değerlendirmeye neden olmuş olabilir. Bu nedenle D vitamini normal bireylerin de dahil edilerek yapılacak çalışma daha doğru sonuçlar verecektir.

Sonuç olarak; Tip 2 diyabetik bireylerde osteoprotegerin düzeyleri yüksektir ve Osteoprotegerin düzeyleri karotis intima medya kalınlıkları ile koreledir. Daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmakla birlikte osteoprotegerin düzeyleri kardiovasküler hastalarda risk belirteci olarak kullanımı söz konusu olabilir.

6. ÖZET

Amaç: Tip 2 diyabetiklerde (Tip 2 DM) D vitamini (25OHD3) düzeylerinin endotel fonksiyonu ve osteoprotegerin (OPG) düzeyleri ile ilişkisi

Materyal ve Metod: Çalışmaya 49 Tip 2 DM (49,33 + 10,09 yıl, kadın/erkek 26/23), 45 kontrol (48,3 + 7,47 yıl, kadın/erkek 26/19) olmak üzere toplam 98 kişi dahil edildi. Endotel fonksiyonu dopler ultrasonografi kullanılarak akıma bağlı dilatasyon (ABD) ve karotis intima medya kalınlığı (KİMK) ile ölçüldü. Sekiz saatlik açlık sonrasında alınan kanda OPG, 25OHD3 ve parathyroid hormon (PTH) bakıldı

Sonuçlar: Çalışma gruplarında ABD, KİMK ve biokimyasal parametreler tablo 1 de özetlenmiştir. Osteoprotegerin düzeyleri tip 2 diyabetiklerde yüksek saptandı. Akıma bağlı dilatasyon ile OPG arasında ilişki saptanmazken, sistolik kan basıncı (SKB) ($r=0,34$, $p=0,004$) ve diyastolik kan basıncı (DKB) ($r=0,38$, $p=0,001$) ile pozitif korele idi. D vitamini ile OPG düzeyleri arasında anlamlılık sınırında ilişki saptandı ($r=0,24$, $p=0,06$). Kontrol grubuna göre KİMK düzeyleri tip 2 diyabetiklerde yüksek saptandı. Çalışmamızda KİMK'nın ($r^2=0,52$, $p=0,011$) ve SKB'nın ($r^2=0,44$, $p=0,022$) diğer risk faktörlerine göre ayarlama yapıldığında OPG üzerine etkili faktörler olarak saptadık. KİMK ile beden kitle indeksi (BKİ) ($r=0,28$, $p=0,014$), SKB ($r=0,30$, $p=0,004$) ve nabız basıncı (NB) ($r=0,27$, $p=0,011$) arasında pozitif korelasyon saptandı. Yaş ($r=0,44$, $p<0,001$, $r^2=0,33$, $p=0,003$) ve Bel çevresi ($r=0,40$, $p=0,001$, $r^2=0,64$, $p=0,001$) diğer risk faktörlerine göre ayarlama yapıldığında KİMK üzerine etkili bağımsız faktörler olduğu gösterildi. Diyabetiklerde ve kontrol grubunda VitD3 düzeyleri yetmezlik sınırının altındaydı.

Tablo. 1 Çalışma gruplarında ABD, KİMK ve biokimyasal parametreler

	Tip 2 DM Grubu (n=49)	Kontrol Grubu (n=45)	p
ABD (%)	% 4,2 ± 3,1	% 7,6 ± 4,1	0,01
KİMK (mm)	0,65 ± 0,13	0,54 ± 0,10	<0,001
25OHD3 (ng/ml)	15,1 ± 11,0	18,8 ± 11,0	0,22
OPG (pg/ml)	617,0 ± 111,69 pg/ml	481,0 ± 96,0 pg/ml	<0,001
iPTH (pg/ml)	30,9 ± 14,4	37,0 ± 12,6	0,05

Sonuç: Tip 2 diyabetik bireylerde OPG düzeyleri yüksektir. Osteoprotegerin düzeyleri KİMK ile korelidir, ayrıca OPG düzeyleri klasik risk faktörleri ile de korele olduğunu saptadık. Bu bulgu önceki çalışmalardakilerle paralellik göstermektedir.

7. İNGİLİZCE ÖZET

Aim of Study: To investigate vitamin D (25OHD3) effect on endothelium function and correlation with osteoprotegrin (OPG) level among type 2 diabetic patients.

Materials and Methods: 49 type 2 diabetic patients (age 49,33 +10,09 years, female/male 26/23) and 45 people in control group (48,3 + 7,47 years, female/male 26/19), totally 98 patients included in the study. Endothelium function asses as flow-mediated vasodilation (FMD) was measure done by doppler ultrasonography. Carotid intima media thickness (CIMT) was measure. After eight hours of fasting OPG, 25OHD3 and parathyroid (PTH) hormone levels were measured in blood samples.

Results: CIMT and biochemical parameters given in table 1. Osteoprotegerin level was found higher in type 2 diabetic patients compare in healty control. There was no correlation between flow mediated vasodilation and OPG, however, flow mediated vasodilation was positively correalted with systolic blood pressure (SBP) ($r=0,34$, $p=0,004$) and diastolic blood pressure (DBP) ($r=0,38$, $p=0,001$). Between vitamin D and OPG correlation was detected at significant level ($r=0,24$, $p=0,06$).

Table. 1 Ultrasonographic and biochemical parameters in the study groups.

	Type 2 DM Group (n=49)	Control Group (n=45)	p
ABD (%)	% 4,2 ± 3,1	% 7,6 ± 4,1	0,01
KIMK (mm)	0,65 ± 0,13	0,54 ± 0,10	<0,001
25OHD3 (ng/ml)	15,1 ± 11,0	18,8 ± 11,0	0,22
OPG (pg/ml)	617,0 ± 111,69	481,0 ± 96,0	<0,001
iPTH (pg/ml)	30,9 ± 14,4	37,0 ± 12,6	0,05

KIMK levels were higher in type 2 diabetic patients compared to the control group. In our research, we established that KIMK ($r^2=0,52$, $p=0,011$) and SKB ($r^2=0,44$, $p=0,022$) are independent factor OPG when adjusted according to other risk factors. Positive correlation was found between KIMK, body mass index (BMI) ($r=0,28$, $p=0,014$), SBP ($r=0,30$, $p=0,004$) and pulse pressure (PP) ($r=0,27$, $p=0,011$). Age ($r=0,44$, $p<0,001$, $r^2=0,33$, $p=0,003$) and waist circumference ($r=0,40$, $p=0,001$, $r^2=0,64$, $p=0,001$) were shown to be independent factors on

KIMK when adjusted according to other risk factors. Both in diabetic patients and in control group vitamin D3 levels were under the deficiency level.

Conclusion: In type 2 diabetic patients OPG level is elevated. Osteoprotegrin levels are correlated with KIMK, also we found that OPG levels are correlated with classic risk factors. This finding is consistent with previous research results.

8. KAYNAKLAR

1. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveiras-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999 Jan 28;315- 23
2. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998 Apr 17;165-176
3. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997 Apr 18;309-319.
4. Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, Rattazzi M, Varon RM, Averill M, Schwartz SM, Giachelli CM, Rosenfeld ME. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Sep;2117-2124.
5. Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2006 Nov;801-811. Review.
6. Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med*. 2000 Aug 21;463-474.
7. Orita Y, Yamamoto H, Kohno N, Sugihara M, Honda H, Kawamata S, Mito S, Soe NN, Yoshizumi M. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Sep;2058-2064.
8. Morony S, Tintut Y, Zhang Z, Cattley RC, Van G, Dwyer D, Stolina M, Kostenuik PJ, Demer LL. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr*^(-/-) mice. *Circulation*. 2008 Jan 22 411-420.
9. Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, Hou J, Yue L, Xu L. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients 2007 May 15 1234-1237. Chinese.
10. Xiang GD, Xu L, Zhao LS, Yue L, Hou J. The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2006 Jul 2126-2131
11. Olesen P, Ledet T & Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF- α . *Diabetologia* 2005 48 561-568.

12. Schoppet M, Al-Fakhri N, Franke FE, Katz N, Barth PJ, Maisch B, Preissner KT & Hofbauer LC. Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in Mönckeberg's sclerosis and atherosclerosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004 89 4104–4112.
13. Martins D, Wolf M, Pan D, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2007;167:1159–65.
14. Elamin MB, Elnour NOA, Elamin KB, Vitamin D and cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis *J Clin Endocrinol Metab* July :1931-1942, 2011
15. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011
16. G.W. John C Pickup. *Textbook of Diabetes*. pp. 56.1-56.24, Massachusetts, USA, 2003
17. Satman İ, Yılmaz T, Şengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar İ, Tütüncü Y, Sargın M, Dınc N, Karsıdag K, Kalac S, Özcan C, King H, Population-based study of diabetes and Risk Characteristics in Turkey , Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP 1) *Diabetes Care* 2002 25:1551–1556,
18. Otuz ikinci ulusal endokrinoloji ve metabolizma hastalıkları kongresi sözel sunum, Satman İ ve TURDEP-II Çalışma Grubu
19. Grant PJ. Cardiovascular diseases and diabetes. Ed: G.W. John C Pickup. *Textbook of Diabetes*. pp. 56.1-56.24, Massachusetts, USA, 2003
20. Krolewski AS, Kosinski EJ, Warram JH, Leland OS, Busick EJ, Asmal AC, Rand LI, Christlieb AR, Bradley RF, Kahn CR. Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin-dependent diabetes mellitus *Am J Cardiol*. 1987 Apr 59 :750-755.
21. Stengard JH, et al. Diabetes mellitus, impaired glucose tolerance and mortality among elderly men: the Finnish cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetologia* 1992;35(8): 760-5.
22. Haffner SM, et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine* 1998;339(4): 229-34.
23. Yamasaki Y., et al. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetic subjects: predictors of progression and relationship with incident coronary heart disease. *Diabetes Care* 2000;23(9): 1310-5.
24. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R Intimal plus medial thickness of the arterial wall a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986 Dec 74 1399-406.
25. Jerold Brett, Ann Marie Schmidt, Shi Du Yan, Yu Shan Zou, Elliott Weidman, David Pinsky, Roman Nowygrod, Michael Neeper, Craig Przysiecki, Alan Shaw, Antonio Migheli, and David Stern Survey of the Distribution of a Newly Characterized Receptor

- for Advanced Glycation End Products in Tissues *Am J Pathol.* 1993 December; 143(6): 1699–1712.
26. Park L, Raman KG, Lee KJ, Lu Y, Ferran LJ Jr, Chow WS, Stern D, Schmidt AM. Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycation endproducts. *Nat Med.* 1998 Sep;4(9):1025-31.
 27. Bierhaus A, Illmer T, Kasper M, Luther T, Quehenberger P, Tritschler H, Wahl P, Ziegler R, Müller M, Nawroth PP. Advanced glycation end product (AGE)-mediated induction of tissue factor in cultured endothelial cells is dependent on RAGE. *Circulation.* 1997 Oct 7;96(7):2262-71.
 28. Reusch şekil: Reusch JE, Wang CC. Cardiovascular disease in diabetes: where does glucose fit in? *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug :2367-2376.
 29. Stehouwer CD, et al. Urinary albumin excretion, cardiovascular disease, and endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1992 : 319-323.
 30. Shimokawa H. Primary endothelial dysfunction atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol.* 1999 Jan:23-37. Review.
 31. Watts GF, O'Brien SF, Silvester W, Millar JA. *Clin Sci (Lond)*. Impaired endothelium-dependent and independent dilatation of forearm resistance arteries in men with diet-treated non-insulin-dependent diabetes: role of dyslipidaemia.
 32. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation.* 2000 Apr:1899-906.
 33. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest.* 1996 Jun :2601-10.
 34. Gokce N, Keaney JF, Jr., Hunter LM, Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO and Vita JA: Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1769-1775.
 35. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK and Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115.
 36. Schroeder S, Enderle MD, Ossen R et al Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging. *Am Heart J* 1999 138:731–739
 37. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J and Vogel R: Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-265.

38. A.Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, Yamamoto Y, Yamamoto H. Advanced glycation endproducts inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells *Diabetologia*. 1998 Dec;1435-1441.
39. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, Cao R, Yan SD, Brett J, Stern D. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest*. 1995 Sep ;1395-1403.
40. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD (1995) Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 26:1235–1241
41. Enderle M-D, Schroeder S, Ossen R, Meisner C, Baumbach A, Haering HU, Karsch KR, Pfohl M Comparison of peripheral endothelial dysfunction and intimal media thickness in patients with suspected coronary artery disease *Heart* 1998;80:349–354
42. Fathi R, Haluska B, Isbel N, Short L, Marwick TH (2004) The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol* 43:616–623
43. Burke GL, Evans GW, Riley WA et al Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke* (1995) 26 386–391
44. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999 340:14–22
45. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR et al Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol* 1997 146:483–494
46. Lim SC, Caballero AE, Arora S, Smakowski P, Bashoff EM, Brown FM, Logerfo FW, Horton ES, Veves A. The effect of hormonal replacement therapy on the vascular reactivity and endothelial function of healthy individuals and individuals with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Nov;84(11):4159-64.
47. Djaberri R.E. D. Beishuizen A. M. Pereira T. J. Rabelink J. W. Smit J. T. Tamsma M. V. Huisman J. W. Jukema Non-invasive cardiac imaging techniques and vascular tools or the assessment of cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus *Diabetologia* (2008) 51 1581–1593
48. Niskanen L, Rauramaa R, Miettinen H, Haffner SM, Mercuri M, Uusitupa M Carotid artery intima–media thickness in elderly patients with NIDDM and in nondiabetic subjects. *Stroke* 1996 27 1986–1992
49. Lee CD, Folsom AR, Pankow JS, Brancati FL, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators Cardiovascular events in diabetic and nondiabetic adults with or without history of myocardial infarction. *Circulation* 2004 109:855–860

50. Folsom AR, Chambless LE, Duncan BB, Gilbert AC, Pankow JS, Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators Prediction of coronary heart disease in middle-aged adults with diabetes. *Diabetes Care* 2003 26 2777–2784
51. Williams Textbook Of Endocrinology - 11th Edition Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen P. R, Lorenzo JA, Canalis E and Raisz LG Metabolic bone disease chapter 28
52. Eastell R, Newman C, Crossman DC. Cardiovascular disease and bone. *Arch Biochem Biophys.* 2010 Nov :78-83.
53. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A, Kutilek S, Adami S, Zanchetta J, Libanati C, Siddhanti S, Christiansen C, FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2009 Aug :756-765.
54. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998 May :1260-1268.
55. Browner WS, Lui LY & Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001 86 631–637.
56. Mikhaylova L, Malmquist J, Nurminskaya M. Regulation of in vitro vascular calcification by BMP4, VEGF and Wnt3a. *Calcif Tissue Int.* 2007 Nov :372-381.
57. Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, Mani A, Mani MA, Nelson-Williams C, Carew KS, Mane S, Najmabadi H, Wu D, Lifton RP. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science.* 2007 Mar :1278-1282.
58. Singh M, Ananthula S, Milhorn DM, Krishnaswamy G, Singh K, .Front Biosci. Osteopontin: a novel inflammatory mediator of cardiovascular disease .2007 Jan :214-221.
59. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, Karsenty Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *G.Cell.* 2007 Aug :456-469.
60. Mads Nybo and Lars M Rasmussen The capability of plasma osteoprotegerin as a predictor of cardiovascular disease: a systematic literature review *European Journal of Endocrinology* (2008) 159 603–608
61. Rasmussen LM, Tarnow L, Hansen TK, Parving HH & Flyvbjerg A. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *European Journal of Endocrinology* 2006 154 75–81.
62. Nybo M & Rasmussen LM. Heparin releases osteoprotegerin from vascular cells in vitro and in vivo. *Atherosclerosis*, 2008
63. Ueland T, Brixen K, Mosekilde L, Mosekilde L, Flyvbjerg A & Bollerslev J. Age-related changes in cortical bone content of insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-3,

- IGFBP-5, osteoprotegerin, and calcium in postmenopausal osteoporosis: a cross-sectional study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 1014–1018.
64. Olesen P, Ledet T & Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin: increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF- α . *Diabetologia* 2005 48 561–568.
 65. Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A, Santer P, Smolen J, Poewe W & Willeit J. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004 109 2175–2180.
 66. Omland T, Ueland T, Jansson AM, Persson A, Karlsson T, Smith C, Herlitz J, Aukrust P, Hartford M & Caidahl K. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology* 2008 51 627–633.
 67. Vega D, Maalouf NM, Sakhae K. Review the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Dec;45:14-4521.
 68. Anand DV, Lahiri A, Lim E, Hopkins D & Corder R. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects. *Journal of the American College of Cardiology* 2006 47 1850–1857.
 69. Anand DV, Lim E, Darko D, Bassett P, Hopkins D, Lipkin D, Corder R, Lahiri A. Determinants of progression of coronary artery calcification in type 2 diabetes: role of glycemic control and inflammatory/vascular calcification markers. *Journal of the American College of Cardiology* 2007 50 2218–2225.
 70. Rasmussen LM, Tarnow L, Hansen TK, Parving HH & Flyvbjerg A. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *European Journal of Endocrinology* 2006 154 75–81.
 71. Golledge J, Leicht AS, Crowther RG, Glanville S, Clancy P, Sangla KS, Spinks WL, Quigley F. Determinants of endothelial function in a cohort of patients with peripheral artery disease. *Cardiology.* 2008 :51-56.
 72. Siepi D, Marchesi S, Vaudo G, Lupattelli G, Bagaglia F, Pirro M, Brozzetti M, Roscini AR, Mannarino E. *Metabolism*. Preclinical vascular damage in white postmenopausal women: the relevance of osteoprotegerin. 2008 Mar :321-325.
 73. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–81.
 74. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:39–48.
 75. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18–28.
 76. Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med* 2002;112:659–62. Matsuoka LY, Ide L,

- Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1165– 8.
77. John H. Lee, MD, James H. O’Keefe, MD, David Bell, MD, Donald D. Hensrud, MD, MPH, Michael F. Holick, MD, Vitamin D Deficiency An Important, Common, and Easily Treatable Cardiovascular Risk Factor? *Journal of the American College of Cardiology* Vol. 52, No. 24, 2008
 78. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA ,Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP , Murad MH, Weaver CM, Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline *J Clin Endocrinol Metab* 96: 1911–1930
 79. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503–11.
 80. Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol* 1990;19:559–63
 81. Poole KE, Loveridge N, Barker PJ, et al. Reduced vitamin D in acute stroke. *Stroke* 2006;37:243–5.
 82. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galiotto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2006;29:722– 4.
 83. Melamed ML, Muntner P, Michos ED, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and the prevalence of peripheral arterial disease. Results from NHANES 2001 to 2004. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1179–85.
 84. Li YC. Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. *Biochem* 2003;88:327–31.
 85. Vestergaard P, Mosekilde L. Cohort study on effects of parathyroid surgery on multiple outcomes in primary hyperparathyroidism. *BMJ* 2003;327:530–4.
 86. Sugden JA, Davies JI, Witham MD, Morris AD, Struthers AD. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet Med.* 2008 Mar :320-325.
 87. Tarcin O, Yavuz DG, Ozben B, Telli A, Ogunc AV, Yuksel M, Toprak A , Yazici D , Sancak S , Deyneli O, Akalin S, Effect of Vitamin D Deficiency and Replacement on Endothelial Function in Asymptomatic Subjects *J Clin Endocrinol Metab*, October 2009, 94(10):4023–4030
 88. Riachy R, Vandewalle B, Moerman E, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 protects human pancreatic islets against cytokine-induced apoptosis via down-regulation of the Fas receptor. *Apoptosis* 2006;11:151–9.
 89. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79:820 –5.

90. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens* 2007;20:713–9.
91. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care* 2004;27:2813–8.
92. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006;29:650–6.
93. Pittas AG, Sun Q, Manson JE, Hughes BD, Hu FB, Plasma 25-Hydroxyvitamin D concentration and risk of incident type 2 Diabetes in women *Diabetes Care* 2010 Sep;2021-2023
94. Zipitis CS, Akobeng AK, Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child* 2008;93:512–7.
95. Jorgensen GM, Vind B, Nybo M, Rasmussen LM, Hojlund K Acute hyperinsulinemia decreases plasma osteoprotegerin with diminished effect in type 2 diabetes and obesity *European Journal of Endocrinology* (2009) 161 95–101
96. Reinhard H, Lajer M, Gall MA, Tarnow L, Parving HH, Rasmussen LM, Rossing P, Osteoprotegerin and Mortality in Type 2 Diabetic Patients *Diabetes Care* December 2010 vol. 33 no. 12 2561-2566
97. Nybo M, Johnsen SP, Dethlefsen C, Overvad K, Tjønneland A, Jorgensen OL, Rasmussen LM Lack of Observed Association between High Plasma Osteoprotegerin Concentrations and Ischemic Stroke Risk in a Healthy Population *Clinical Chemistry* 2008 54:12 1969–1974
98. Deb DK, Chen Y, Zhang Z, Zhang Y, Szeto FL, Wong KE, Kong J and Li YC 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ suppresses high glucose-induced angiotensinogen expression in kidney cells pathway by blocking the NFκB 296:F1212-F1218, 2009. *Am J Physiol Renal Physiol*
99. Pittas AG, Sun Q, Manson JE, Hughes BD, Hu FB, Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Risk of Incident Type 2 Diabetes in Women *Diabetes Care*. 2010 Sep;33(9):2021-3
100. Gedik O, Akalin S. Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man. *Diabetologia*. 1986 Mar: 1420-1425.
101. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, Lappé DL, Muhlestein JB; Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol*. 2010 Oct: 963-968.
102. Shen H, Bielak LF, Ferguson JF, Streeten EA, Yerges-Armstrong LM, Liu J, Post W, O'Connell JR, Hixson JE, Kardina SL, Sun YV, Jhun MA, Wang X, Mehta NN, Li M, Koller DL, Hakonarson H, Keating BJ, Rader DJ, Shuldiner AR, Peyser PA, Reilly MP, Mitchell BD. Association of the vitamin D metabolism gene CYP24A1 with coronary artery calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Dec: 2648-2654.

103. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Oct : 1610-1616.
104. Bernard S, Sérusclat A, Targe F, Charrière S, Roth O, Beaune J, Berthezène F, Moulin P. Incremental predictive value of carotid ultrasonography in the assessment of coronary risk in a cohort of asymptomatic type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2005 May;28(5):1158-62.
105. Vik A, Mathiesen EB, Brox J, Wilsgaard T, Njølstad I, Jorgensen L, Hansen JB. Relation between serum osteoprotegerin and carotid intima media thickness in a general population - the Tromsø Study. *J Thromb Haemost.* 2010 Oct:2133-2139
106. Meyer MF, Lieps D, Schatz H, Pfohl M. Impaired flow-mediated vasodilation in type 2 diabetes: lack of relation to microvascular dysfunction. *Microvasc Res.* 2008 May;76
107. Henry RM, Ferreira I, Kostense PJ, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Kamp O, Bouter LM, Stehouwer CD. Type 2 diabetes is associated with impaired endothelium-dependent, flow-mediated dilation, but impaired glucose metabolism is not; The Hoorn Study. *Atherosclerosis.* 2004 May:49-56
108. Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2006 Jul :1664-1666.
109. Yuen-Fung Yiu, Yap-Hang Chan, Kai-Hang Yiu, Chung-Wah Siu, Sheung-Wai Li, Lai-Yung Wong, Stephen W. L. Lee, Sidney Tam, Eric W. K. Wong, Bernard M. Y. Cheung, and Hung-Fat Tse Vitamin D Deficiency Is Associated with Depletion of Circulating Endothelial Progenitor Cells and Endothelial Dysfunction in Patients with Type 2 Diabetes *J Clin Endocrinol Metab* 96: E830–E835, 2011