

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİABETES MELLİTUSLU HASTALARDA
BİYOAKTİF D VİTAMİNİ İLE REMNANT
KOLESTEROL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. GÜLSÜM FEYZA ALTAŞ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2018

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

TİP 2 DİABETES MELLİTUSLU HASTALARDA BİYOAKTİF D VİTAMİNİ İLE REMNANT KOLESTEROL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. GÜLSÜM FEYZA ALTAŞ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

Prof. Dr. Sezer Uysal

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin
2016.KB.SAG.015 sayılı proje desteği ile gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMALAR.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ÖZET	1
SUMMARY.....	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ	5
2 GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 DİABETES MELLİTUS.....	6
2.1.1 Epidemiyoloji.....	6
2.1.2 Diyabetin Tanısı ve Sınıflandırılması	7
2.1.3 Diyabet Riskinin Arttığı Kategoriler (Prediyabet)	10
2.1.4 Tip 2 Diabetes Mellitus	11
2.1.4.1 T2DM Patogenezi	12
2.1.4.2 DM Komplikasyonları	12
2.1.4.2.1 DM ve Kardiyovasküler Hastalıklar	13
2.2 LİPOPROTEİNLER	15
2.2.1 Apolipoproteinler.....	16
2.2.2 Şilomikronlar	17
2.2.3 Şilomikron Kalıntıları	18
2.2.4 VLDL.....	18
2.2.5 IDL (VLDL kalıntısı)	18
2.2.6 LDL	18
2.2.7 HDL	19

2.2.8	Lipoprotein (a).....	19
2.2.9	Lipoprotein Metabolizması	20
2.2.9.1	Eksojen Lipoprotein Metabolizma Yolağı	20
2.2.9.2	Endojen Lipoprotein Metabolizma Yolağı	21
2.2.10	Dislipidemiler Ve Diabetes Mellitusta Lipoprotein Metabolizma Bozuklukları.....	22
2.3	D VİTAMİNİ	24
2.3.1	D Vitamininin Yapısal Özellikleri	24
2.3.2	D Vitamini Kaynağı	24
2.3.3	D Vitamini Sentezi ve Metabolizması.....	25
2.3.4	D Vitamininin Fonksiyonları	27
2.3.5	D Vitamini Eksikliği	29
2.3.6	D Vitamini Bağlayan Protein (VDBP) ve Biyoaktif D vitamini	31
2.4	Remnant Kolesterol.....	35
3	GEREÇ VE YÖNTEMLER	39
3.1	ARAŞTIRMANIN TİPİ	39
3.2	ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI	39
3.3	ETİK KURUL ONAYI.....	39
3.4	ARAÇ VE GEREÇLER.....	39
3.5	ARAŞTIRMANIN DEĞİŞKENLERİ.....	41
3.6	OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI ...	42
3.7	BİYOKİMYASAL ANALİZLER	42
3.7.1	25(OH)D ÖLÇÜM YÖNTEMİ	43
3.7.2	VDBP ÖLÇÜM YÖNTEMİ.....	46
3.7.3	HESAPLAMALI DEĞİŞKENLERİN BELİRLENMESİ	47
3.7.3.1	Biyoaktif D Vitamini	47

3.7.3.2	Remnant Kolesterol.....	49
3.7.3.3	LDL	49
3.7.3.4	nonHDL.....	49
3.8	İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	49
4	BULGULAR.....	51
4.1	ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR.....	51
4.1.1	Yaş	51
4.1.2	Cinsiyet.....	51
4.1.3	Biyokimyasal Testlerin Sonuçları	51
4.2	KORELASYON ANALİZLERİ SONUÇLARI	54
4.3	TEK DEĞİŞKENLİ ANALİZLER	60
4.4	LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ	67
5	TARTIŞMA	70
6	KAYNAKLAR.....	83
7	EKLER	98

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Diabetes Mellitus Tipleri	9
Tablo 2. Diyabet ve Prediyabet Tanı Kriterleri (ADA 2017)	10
Tablo 3. İnsan Plazmasında Lipoproteinlerin Komponentleri	16
Tablo 4. Apolipoproteinler	17
Tablo 5. HDL Sınıflandırması	19
Tablo 6. Lipid ve Lipoprotein Düzeyi Sınıflaması (NCEP ATP III)	22
Tablo 7. Dislipidemiler	23
Tablo 8. D Vitamini Düzeyleri.	29
Tablo 9. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde Kullanılan Cihazlar	39
Tablo 10. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Cihazlar	40
Tablo 11. İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Cihazlar	40
Tablo 12. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde Kullanılan Kitler	40
Tablo 13. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Kitler	41
Tablo 14. İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Kitler ...	41
Tablo 15. 25(OH)D Kit İçeriği	44
Tablo 16. VDBP Kit İçeriği	46
Tablo 17. Biyoaktif D Vitamini Hesaplama Tablosu	48
Tablo 18. Çalışma Grubunun Yaş Özellikleri	51
Tablo 19. Biyokimyasal Testlerin Sonuçları	52
Tablo 20. Tüm Grupta Remnant Kolesterol ile Cinsiyet İlişkisi	53
Tablo 21. Bağımsız Değişkenler ile Remnant Kolesterolün Korelasyon Analizi Sonuçları	54
Tablo 22. Korelasyon Analizi Sonuçları	56
Tablo 23. Lipid Profili ve VDBP Arasındaki Korelasyon Katsayıları	58
Tablo 24. Lipid Profili ve CRP Arasındaki Korelasyonlar	59
Tablo 25. NDM'li Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile İlişkisi	60
Tablo 26. DM'li Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile İlişkisi	62

Tablo 27. Tüm Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile İlişkisi .64	
Tablo 28. Biyoaktif D Vitamini ile Remnant Kolesterol Arasındaki Kikare Analizleri66	
Tablo 29. Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları67	
Tablo 30. Biyoaktif D Vitamininin Diyabetten Bağımsız Olarak Kendi Başına Remnant Kolesterolle Etkisi68	
Tablo 31. 25(OH)D Yeterli Düzeylerinin Altında Remnant Kolesterolle Etkisi69	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Eksojen ve endojen lipoprotein metabolizma yolağı (37).....21	
Şekil 2: D vitamini öncüllerinin biyokimyasal yapısı (51).....24	
Şekil 3: D vitamininin metabolizması (58)26	
Şekil 4: D vitamini ve pankreas β hücresi (72)30	
Şekil 5: 25(OH)D'nin proksimal tübül hücrelerinde aktif hale gelmesi (79)32	
Şekil 6: 25(OH)D kalibratörünün kromatogram görüntüsü45	
Şekil 7: 25(OH)D gönüllü bireyin sonucunun kromatogram görüntüsü46	

KISALTMALAR

1,25(OH) ₂ D	1,25-dihidroksivitamin D
25(OH)D	25-hidroksivitamin D
ACAT	Kolesterol Açıl Koenzim A: Kolesterol Açıl Transferaz
ADA	American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Cemiyeti)
AHA	American Heart Association (Amerikan Kalp Cemiyeti)
CETP	Kolesterol Ester Transferaz Proteini
DM	Diabetes Mellitus
DSÖ	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
DCCT	The Diabetes Control and Complications Trial
FGF	Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)
Gc-Globulin	Group Component Globulin
GDM	Gestasyonel Diabete Mellitus
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Dansiteli Lipoprotein)
IDL	Intermediated Density Lipoprotein (Orta Dansiteli Lipoprotein)
IDF	International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry (Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu)
IFG	Impaired Fasting Glucose (Bozulmuş Açlık Glukozu)
IGT	Impaired Glucose Tolerance (Bozulmuş Glukoz Toleransı)
JNC	Joint National Commite (Birleşik Ulusal Komite)
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
LCAT	Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
Lp(a)	Lipoprotein (a)
LPL	Lipoprotein Lipaz
LXR	Liver X Reseptör
MAF	Makrofaj Activated Factor (Makrofaj Aktive Eden Faktör)
MTP	Mikrozomal Transfer Protein
NCEP, ATP	National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel (Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, Erişkin Tedavi Paneli)
NDM	Non Diabetes Mellitus
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PCOS	Polycystic Ovarian Sendrome (Polikistik Over Sendromu)
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Receptor

PTH	Paratiroid Hormon
RANKL	Receptor Activator for Nuclear Factor kB Ligand
RXR	Retinoid X Reseptör
TURDEP	Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu
VDBP	Vitamin D-Binding Protein (D Vitamini Bağlayıcı Protein)
VDR	Vitamin D Reseptör
VDRE	Vitamin D Response Element (D Vitamini Yanıt Elementleri)
VKİ	Vücut Kütle İndeksi
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu (dansiteli) Lipoprotein



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel birikimlerini ve manevi desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimimde emeği geçen başta Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Canan ÇOKER olmak üzere tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine;

Tez çalışmamın en başından sonuna kadar her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bilimsel birikimleriyle bana her konuda destek olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Sezer UYSAL'a;

Tezin planlama aşamasından sonuç aşamasına kadar her konuda bilgi birikiminden yararlandığım Endokrinoloji Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Tevfik DEMİR, Doç. Dr. Barış PAMUK, Doç. Dr. Gonca ÖRÜK, Uzm. Dr. Mehmet ÇALAN, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Yard. Doç. Dr. Leyla ARGUN DEMİR, Doç. Dr. Giray BOZKAYA, Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Yücel DEMİRAL'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca arkadaşlık ve dostluklarını esirgemeyen uzman ve asistan arkadaşlarım Dr. Ferhat DEMİRCİ, Dr. Barış SAĞLAM, Dr. Burcu ÜNLÜ, Dr. Özge FENERCİOĞLU, Dr. Müge Gül GÜLEÇOĞLU ÖNEM, Dr. Mehmet Oğuz ERBAĞCI, Dr. Zeynep KORKMAZ, Dr. Dilara KARACAN'a

Uzmanlık eğitimimiz boyunca tüm işlerimizi kolaylaştıran anabilim dalı sekreterimiz Sayın Eda OLUM'a;

Laboratuvar çalışmaları sırasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Tuncer HACIOĞLU ve Emin ÇAVUŞLU'ya;

Beni bugünlere getiren ve her daim arkamda duran sevgili annem, babam ve abime; ayrıca TUS'ta tıbbi biyokimya tercih etmem için desteğini esirgemeyen ve yine her daim arkamda duran Elif ablama;

Bu zor süreci benim için kolaylaştıran ve hayatın her basamağında desteğini hissettiğim sevgili nişanım Volkan TÜRKEŞ'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

ÖZET

Diyabet hastalarında trigliseridden zengin lipoprotein oranı artmaktadır. Trigliseridden zengin lipoproteinlerin kolesterol içeriğine remnant kolesterol (açlıkta VLDL, IDL; toklukta bunlara ek olarak şilomikron ve kalıntıları) adı verilmektedir. D vitamini eksikliği ile insülin direnci, aterosjenik lipid profili ve koroner arter hastalığı gelişme riski arasında ilişki gözlenmiştir. D vitamininin dolaşımında %99'u VDBP ve albümine bağlı olarak taşınır ve albümine bağlı ve serbest formu biyoaktif D vitamini olarak tanımlanmaktadır. Çalışmamızın amacı Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) hastalarında biyoaktif D vitamini ve remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

Araştırmamız kesitsel bir çalışma olarak tasarlanarak Kasım 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma grubumuz T2DM ve diyabet olmayan toplam 406 gönüllüden iki ayrı grup halinde oluşturuldu. Gönüllülerden açlıkta kanlar alındı. Çalışma grubunun demografik özellikleri ve ilaç kullanımı sorgulanarak lipid düşürücü tedavi alanlar çalışmaya dahil edilmedi. T2DM tanısı ADA 2016 kriterlerine göre konuldu. D vitamini düzeylerinin sınıflandırılması Endocrine Society'ye göre yapıldı.

Diyabet hastalarında diyabet olmayan bireylere göre trigliserid, remnant kolesterol ve CRP düzeylerinde anlamlı derecede yükseklik bulunurken HDL, 25(OH)D, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri anlamlı olarak düşük saptandı. Diyabet olmayan bireylerde remnant kolesterol ile D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında negatif yönde korelasyon saptanırken T2DM varlığında bu ilişki bozuldu. Ayrıca diyabetli olmayan bireylerde CRP ile trigliserid, remnant kolesterol ve nonHDL arasında pozitif yönde korelasyon bulunurken bu ilişki Diabetes Mellitus'lu hastalarda belirlenmedi. Diyabetli hastalarda ise VDBP ile CRP ve remnant kolesterol arasında pozitif yönde korelasyon gözlenirken diyabet olmayan bireylerde bu ilişki saptanmadı.

Diyabet olmayan gönüllülerden belirlenen eşik değerler; biyoaktif D vitamini için 3,56 ng/mL ve remnant kolesterol için 26,56 mg/dL bulundu. Diyabet olmayan grupta; biyoaktif D vitamini düzeyi düşük olan bireylerin %41,2'si, biyoaktif D vitamini düzeyi

yüksek olan bireylerin ise %24,3'ünde remnant kolesterol düzeyleri eşik değerin üzerinde saptandı. Diabetes Mellitus'lu grupta ise anlamlı bir ilişki saptanmadı. Yapılan lojistik regresyon analizinde diyabet olmayan bireylerde; biyoaktif D vitamini düşüklüğü biyoaktif D vitamini yüksekliğine göre remnant kolesterolü eşik değerinin üstüne çıkarmada 2 kat, CRP düzeylerinin artışı ise 1,1 kat riskli bulundu. Diyabetli grupta hiçbir değişken riskli bulunmadı. Tüm bireylerde biyoaktif D vitamininin diyabetten bağımsız olarak kendi başına remnant kolesterol eşik değerini artırmada 2,19 kat riskli gözlemlendi. 25(OH)D yeterli olmadığında hiçbir grupta anlamlı risk artışı saptanmadı.

Sonuç olarak; biyoaktif D vitamini düşüklüğü remnant kolesterol yüksekliği için risk faktörü olarak belirlenmiştir. Ancak bu ilişki Diabetes Mellitus hastalarında saptanamamıştır. Diabetes Mellitus'ta gözlenen inflamasyonun VDBP düzeylerini artırarak biyoaktif D vitamini düşüklüğüne neden olabileceği düşüncesindeyiz. Bu yüzden VDBP ölçülerek biyoaktif D vitamini hesaplanması, gerçek D vitamini durumunu açıklayabilmek için fayda sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 Diabetes Mellitus, vitamin D, biyoaktif D vitamini, remnant kolesterol, vitamin D bağlayan protein

SUMMARY

The rate of triglyceride-rich lipoprotein increases in diabetic patients. The cholesterol content of triglyceride-rich lipoproteins is called remnant cholesterol (fasting VLDL, IDL, additionally nonfasting chylomicron and their remnants). Vitamin D deficiency associated with insulin resistance, atherogenic lipid profile and the risk of developing coronary artery disease. 99% of the vitamin D in circulation is transported in dependence on VDBP and albumin and bioavailable vitamin D is defined as albumin-bound and free-form. The aim of our study was to determine the association between bioavailable vitamin D and remnant cholesterol in Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) patients.

Our study was designed as a cross-sectional study and was carried out between November 2015 and December 2017. Our study group consisted of two groups of 406 volunteers with T2DM and control group. Samples were taken in the fasting state. By questioning the demographic characteristics and drug use, subjects using lipid-lowering treatment were not included in the study. The diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus was made according to ADA 2016 criteria. Classification of vitamin D levels was done according to the Endocrine Society.

HDL, 25(OH)D, free vitamin D and bioavailable vitamin D levels were significantly lower in diabetic patients than in non-diabetic patients while triglyceride, remnant cholesterol and CRP levels were found to be significantly higher. Remnant cholesterol was negatively correlated with vitamin D, free vitamin D and bioavailable vitamin D in non-diabetic patients and this relationship was impaired in the presence of T2DM. Furthermore, in non-diabetic individuals, CRP was positively correlated with triglyceride, remnant cholesterol, and nonHDL. But this relationship has not been established in patients with Diabetes Mellitus. VDBP was positively correlated with CRP and remnant cholesterol in diabetic patients, but not in non-diabetic patients.

Cut-off values were determined from non-diabetic volunteers: 3,56 ng / mL for bioavailable vitamin D and 26,56 mg / dL for remnant cholesterol. In the control group, remnant cholesterol concentrations were found above the cut-off value at 41,2% of individuals with low bioavailable vitamin D and 24,3% with high bioavailable vitamin D. But there was no significant relationship was found in DM group. Logistic regression

analysis showed that for increasing remnant cholesterol above the cut-off value, the odds ratio was determined as 2 for bioavailable vitamin D and 1,1 for CRP. But in T2DM, there was no significant relationship for variables. It was observed that in all subjects, bioavailable vitamin D increased the remnant cholesterol cut-off by 2,19 fold; independent of diabetes. However, there was no significant risk for 25(OH)D insufficiency.

As a result; low bioavailable vitamin D was found to be a risk factor for elevated remnant cholesterol. However, this relationship was not detected in patients with Diabetes Mellitus. We believe that the inflammation observed in Diabetes Mellitus may increase the concentrations of VDBP and a decrease bioavailable vitamin D levels. Therefore, the bioavailable vitamin D calculated by VDBP, can be useful for clarifying the true vitamin D status.

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, vitamin D, bioavailable vitamin D, remnant cholesterol, vitamin D-binding protein

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM); β hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci veya karaciğerde glukoz üretiminin baskılanamaması sonucu oluşan metabolik bir hastalıktır. T2DM'li hastalar anormal postabsorbtif lipid metabolizmasına sahiptir. Çoğu lipid parametrelerinin (trigliserid ve şilomikronlar dahil) açlık düzeyleri normal olmasına rağmen postprandial klirensinde gecikme mevcuttur. Bu yüzden diyabet hastalarında trigliseridden zengin lipoprotein oranı artmaktadır.

Remnant kolesterol trigliseridden zengin lipoproteinlerin (açlıkta VLDL, IDL; toklukta bunlara ek olarak şilomikron ve kalıntıları) kolesterol içeriği olarak tanımlanmaktadır. Remnant lipoproteinlerin kolesterol içeriklerinden dolayı LDL'ler ile benzer şekilde arterlerin intimasını infiltre ederek ateroskleroza neden oldukları bilinen bir durumdur. Remnant kolesterolün ve LDL'nin yüksek ve HDL'nin düşük plazma düzeylerinde D vitamini eksikliği gözlenmiştir. D vitamini eksikliğinin ise iskemik kalp hastalığı riskini artırdığı bilinmektedir.

D vitamini eksikliğinde DM hastalığının insidansı artmıştır. İnsülin direnci gelişiminde iskelet kasına glukoz alımının azalması, pankreasta D vitamini reseptörünün ve 1 alfa hidroksilaz aktivitesinin gösterilmesi gibi kanıtlar öne sürülmüştür.

D vitamininin albümine bağlı olan ve serbest dolaşan biyoaktif kısmı ile Vitamin D Bağlayan Protein (VDBP)'e bağlı dolaşan inaktif kısımları vardır. VDBP, D vitamininin hedef hücrelere etkisini engellemektedir. Bireyler arasındaki VDBP ve dolayısıyla biyoaktif D vitamini düzeylerindeki farklılıklar, D vitamini ile kardiyovasküler hastalık arasında ilişki olabileceği hipotezini akla getirmektedir.

Bu bilgiler doğrultusunda yaptığımız literatür taramasında, biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulamadık ve çalışmamızda Tip 2 Diabetes Mellituslu hastalarda biyoaktif D vitamini seviyelerinin remnant kolesterolle ilişkisini araştırmayı amaçladık. Ayrıca bu etkinin T2DM olan olguların kontrol grubuna göre olası farkını saptamayı amaçladık.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbohidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, hiperglisemi ile seyreden, zamanla mikrovasküler ve/veya makrovasküler komplikasyonların eşlik edebildiği kronik bir metabolizma hastalığıdır (1,2).

Diyabet ilk olarak Milattan önce 1500 yılında Ebers Papirüslerinde bol miktarda idrar atılımı ve kilo kaybı olarak belirti veren nadir bir durum olarak yazılmıştır (3,4). İdrar atılımına atfederek yunanca fiilden gelen Diyabet terimi ilk olarak 2.yy'da yaşamış olan Kapadokya'lı Arateus tarafından kullanılmıştır (4). Thomas Willis 17.yy'da idrarın şeker tatmasından dolayı Mellitus terimini eklemiştir (4).

Diyabete bağlı görme kaybı, son dönem böbrek yetmezliği, nöropati ve travma dışı ekstremiteler amputasyonları tüm dünyada yaygın olarak görülen ciddi komplikasyonlardır. Yine kalp hastalıkları ve serebrovasküler olaylar diyabeti olan kişilerde sıklıkla gözlemlenmektedir (1).

Hiperglisemiye bağlı olarak gelişen semptomlar arasında poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bazen polifaji, görmede bulanıklık, çocuklarda büyüme geriliği ve enfeksiyonlara yatkınlık sayılabilir. Bunların dışında keto-asidoz veya non-ketotik hiperosmolar koma gibi akut, hayatı tehdit eden durumlar gelişebilir. Diyabetin uzun dönemde ortaya çıkan komplikasyonları arasında görme kaybına kadar gidebilen retinopati, böbrek yetmezliğine neden olabilen nefropati, ayak yaraları ve amputasyonlara yol açabilen nöropati ve damar hastalığı, kardiyovasküler, genitoüriner ve gastrointestinal sistem bozukluklarına yol açabilen otonom nöropati, cinsel fonksiyon bozuklukları sayılabilir. Diyabetli hastalarda ateroskleroza bağlı kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik damar hastalıkları diyabeti olmayanlara göre oldukça sık olarak karşımıza çıkar. Diyabetli hastalar arasında hipertansiyon ve hiperlipidemi sıklığı da artmıştır (1).

2.1.1 Epidemiyoloji

Diyabet günümüzde tüm dünyada pandemi şeklini alan bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2017 yılında güncellenmiş verilerine göre, tüm dünyada 425 milyon üzerinde kişi diyabetlidir (2).

Yaşlı nüfusun gittikçe artması ve obezitenin yaygınlaşması sebebiyle tüm ülkelerde diyabet sıklığı her geçen gün artmaktadır ve 2045 yılında diyabetli hasta sayısının 693 milyon düzeyinde olacağı tahmin edilmektedir. Yine 2045 yılında bozulmuş glukoz toleranslı insan sayısının 352 milyon olacağı tahminler arasındadır (2).

IDF tarafından 2017 yılında tüm dünyada diyabet prevalansı %8,8 olarak açıklanmıştır. Avrupa kıtasında yaklaşık 58 milyon erişkinin diyabetli olduğu bilinirken, erişkin yaşta diyabet prevalansı %6,8 olarak belirtilmiştir. Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu (TURDEP) 2 çalışmasında Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının %13,7 'ye ulaştığı saptanmıştır (5).

Dünya çapındaki diyabet hastalarının %87-91'inin Tip 2 DM (T2DM), %7-12'lik kısmının Tip 1 DM (T1DM), %1-3'ünün diğer tiplerden oluştuğu tahmin edilmektedir (2). Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) sıklığı ise %6,2 olarak saptanmıştır (2). Diyabet 21. yüzyılın zorlu sağlık sorunlarından biridir. Diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlar nedeniyle 2017 yılında tüm dünyada yaklaşık 20-79 yaş arası 4 milyon insan hayatını kaybetmiştir. Yine 2017 yılında tüm dünyada diyabetten korunmak için 727 milyar dolar harcanmıştır (2).

2.1.2 Diyabetin Tanısı ve Sınıflandırılması

Tarihte farklı diyabet formları, ilk olarak Harley tarafından 1866'da "Farklı tedavi şekilleri gerektiren, en az iki farklı diyabet formu bulunmaktadır" sözleriyle dile getirilmiştir. Etienne Lancereaux ise şişman (diabete gras) ve zayıf (diabete maigre) diyabet olarak bu ayrımı yapmıştır. Himswolt; insülin duyarlı olan diyabetiklerde hastalığa insülin yokluğunun sebep olduğu, fakat insülin duyarlı olmayan hastalarda insüline duyarsız hale getiren bilinmeyen başka bir sebebin olabileceği çıkarımında bulunmuştur. 1951 yılında tip 1 diyabet olarak genç, zayıf, aterosklerotik olmayan, normal kan basıncına sahip, akut başlangıçlı olan hastalar ve tip 2 diyabet olarak yaşlı, obez, aterosklerotik, hipertansiyonu olan ve sinsi başlangıçlı hastalar gruplandırılmıştır (6). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırması, 1985 yılında iki diyabet formu olduğunu kabul eden ilk uluslararası sınıflama olmuştur. Bu sınıflandırmada insülin bağımlı (IDDM) ve insülin bağımlı olmayan (NIDDM) iki tipten bahsedilmiştir ve T1DM ve T2DM olarak tanımlanmıştır (7).

Temmuz 1997’de DSÖ tarafından tanı ve sınıflama kriterleri oluşturulmuş ve bu kriterler 2003 ve 2005 yıllarında revize edilmiştir (8,9) Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflamasında son 15 yılda değişiklikler yapılmıştır. Önce 1997 yılında, Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamış ve hemen ardından 1999’da DSÖ bu kriterleri küçük revizyonlarla kabul etmiştir.

Daha sonra 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu tanısı için ADA tarafından küçük bir revizyon yapılmıştır. Buna karşılık DSÖ ve IDF tarafından 2006 yılında yayınlanan raporda ise 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir.

Diabetes Mellitusun T1DM, T2DM, GDM ve diğer diyabet tipleri olmak üzere dört ana formu vardır (Tablo 1). Diyabet vakalarının büyük çoğunluğu iki etiyopatogenetik kategori içerisinde bulunur. T1DM’nin bulunduğu ilk kategoride insülin sekresyonunda mutlak eksiklik vardır. Prevalansı çok daha yüksek olan T2DM’nin bulunduğu grupta ise hastalığın nedeni insülin etkisine direnç gelişmesi ve pankreas beta hücrelerinin yetersiz insülin salgılamasının kombinasyonudur. İkinci kategoride diyabet tanısı konulana kadar ki süreçte gelişmiş olan hiperglisemi, klinik semptom vermeden, hedef organlarda patolojik ve fonksiyonel değişikliklere sebep olabilmektedir. T2DM ve prediyabet tanısı için ADA kriterlerine göre 2017 yılında belirlenen sınıflamada; açlık plazma glukozu (APG), oral glukoz tolerans testi (OGTT) ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) kullanılmaktadır (10) (Tablo 2).

T1DM gelişiminde ağırlıklı olarak pankreas adacık hücrelerinin otoimmün olarak harabiyeti rol oynar. Hem insülin direnci hem de insülin salınımında yetersizlik ile birlikte görülen T2DM’de genetik ve çevresel faktörlerin de hastalığın patogenezeine katkıda bulunduğu inanılmaktadır. Diyabet ve komplikasyonları açısından risk altındaki bireyleri belirlemek, diyabetik kişilerin ve tedavilerinin takibi için duyarlı ve özgül testlerin geliştirilmesi önemini korumaktadır (3).

Tablo 1. Diabetes Mellitus Tipleri

1- T1DM (Genellikle mutlak insülin yokluğuna sebep olan β hücre yıkımı vardır.) • İmmün aracılıklı (%90) • İdiyopatik (%10)	
2- T2DM	
3- Diğer Spesifik Diyabet Tipleri A-Beta hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları) • MODY 3 (Kromozom 12, HNF -1α) • MODY 1 (Kromozom 20, HNF -4α) • MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz) • Diğer nadir görülen MODY'ler (MODY 4: Kromozom 13, insülin promoter faktör -1; MODY 6: Kromozom 2, NÖRO D1; MODY 7: Kromozom 9, karboksil esteraz lipaz) • Transient neonatal diyabet (6q24'te ZAC/HYAMİ imprints defekti) • Kalıcı neonatal diyabet (β-cell K_{ATP} kanal) • Mitokondriyal DNA • Diğer B- İnsülinin etkisindeki genetik defektler • Tip A insülin direnci • Leprechaunism • Rabson-Mendenhall sendromu • Lipoatrofik diyabet • Diğer C- Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları • Pankreatit • Travma/pankreatektomi • Neoplazi • Kistik fibroz • Hemokromatoz • Fibrokalkülöz pankreatopati • Diğer D- Endokrinopatiler • Akromegali • Cushing sendromu • Glukagonoma • Feokromositoma • Hipertiroidi • Somatostatinoma	E- İlaç veya kimyasal ajanlar • Vacor • Pentamidin • Nikotik asit • Glukokortikoidler • Tiroid hormonu • Diazoksit • beta-adrenerjik agonistler • Tiyazid grubu diüretikler • Dilantin • Y- İnterferon • Diğer F- Enfeksiyonlar • Konjenital rubella • Sitomegalovirüs • Diğerleri G- İmmün aracılıklı nadir diyabet formları • Stiff-man sendromu • Anti-insülin reseptör antikorları • Diğerleri H- Diyabetle ilişkili genetik sendromlar • Down sendromu • Klinefelter sendromu • Alström sendromu • Turner sendromu • Wolfram (DIDMOAD) sendromu. • Friedreich tipi ataksi • Huntington korea • Laurence-Moon-BiedL sendromu • Miyotonik distrofi • Porfiria • Prader-Willi sendromu
4- Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) (Gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde tanı konulan ve aşikar (overt) diyabet olmayan bir diyabet tipidir.)	
HNF-1 α : Hepatosit nükleer faktör-1 α , MODY1 -10: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1 - 10(maturity onset diabetes of the young 1 -10), HNF-4 α : Hepatosit nükleer faktör-4 α , IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1 β : Hepatosit nükleer faktör-1 β , NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, DNA: Deoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksiklik virusu, DIDMOAD sendr.: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardLy-rectifying channel J11, INS: İnsülin.	

Tablo 2. Diyabet ve Prediyabet Tanı Kriterleri (ADA 2017)

	Aşkar DM	İzole IFG	İzole IGT	IFG+IGT	DM Riski Yüksek
*APG (≥8 sa açlık)	≥ 126 mg/dL	100-125 mg/dL	<100 mg/dL	100-125 mg/dL	
**OGTT 2.sa PG	≥200 mg/dL	<140 mg/dL	140-199 mg/dL	140-199 mg/dL	
***Rastgele PG	≥200 mg/dL				
****HbA1C	≥ %6,5				%5,7-6,4
DM: Diabetes Mellitus, APG: Açlık Plazma Glukozu, 2.sa PG: 2. saat Plazma Glukozu, OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi, HbA1C: Glikozillenmiş Hemoglobin, IFG: Bozulmuş Açlık Glukozu (Impaired Fasting Glucose), IGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı (Impaired Glucose Tolerance) *En az 8 saatlik açlık sonrası ölçüm yapılmalıdır. **Test DSÖ'nün önerdiği şekilde suda çözünmüş 75 g anhidroz glukoz eş değeri kullanılarak yapılmış olmalıdır. ***Hiperglisemi krizi veya klasik hiperglisemi semptomları bulunmalıdır. **** "National Glycohemoglobin Standardization Program" (NGSP) sertifikası olan ve "The Diabetes Control and Complications Trial"e (DCCT) göre standardize edilmiş bir metod ile çalışılmış olmalıdır.					

2.1.3 Diyabet Riskinin Arttığı Kategoriler (Prediyabet)

Prediyabet T2DM ve kardiyovasküler hastalıklar (KVH) için artmış risk olarak tanımlanır (2). ADA 1997 ve 2003 yılında, diyabet kriterlerini karşılamayan, ancak normale göre yüksek glukoz değerleri olan bireyleri tanımlamıştır (9–11). Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose, IFG) ve bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerans, IGT) olan kişiler 'Prediyabet' olarak adlandırılmıştır. Bu gruptaki kişilerde ileride diyabet gelişme riskinin arttığı belirtilmektedir. IFG ve IGT; obezite, hipertansiyon, yüksek trigliserid ve/veya düşük HDL kolesterol ile birlikte olan dislipidemi ile ilişkilidir (10).

ADA, IGT'yi 75 g OGTT'nin 2. saat glukoz değerinin 140-199 mg/dL; IFG'yi açlık glukozunun 100-125 mg/dL arası olarak tanımlamaktadır. DSÖ ve çeşitli diğer diyabet komiteleri IFG alt eşik değeri için 110 mg/dL'yi önermektedir (10).

Çeşitli prospektif çalışmalarda kan glukozu gibi, HbA1c'nin de diyabet gelişimi ile güçlü ve sürekli bir ilişkisinin olduğu ve diyabetin bir habercisi olabileceği gösterilmiştir. Dolayısıyla HbA1c düzeyleri de prediyabeti belirlemede kullanılmaya başlanmıştır. HbA1c düzeylerinin %5,7 – 6,4 arasında olması prediyabet olarak kabul edilmektedir (Tablo 2) (10).

2.1.4 Tip 2 Diabetes Mellitus

Daha önceleri insülin bağımlı olmayan diyabet, erişkin başlangıçlı diyabet olarak ifade edilmiş olan bu grup, tüm diyabetli olguların yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Diyabetin bu tipinde insülin direnci ve göreceli olarak daha az insülin eksikliği vardır. Diyabetin bu formunun muhtemelen birçok farklı nedeni vardır. Spesifik etiyoloji aydınlatılamazken, beta hücrelerinin immün aracılıklı yıkımı yoktur. Genetik yatkınlık bu tipte, T1DM'ye göre daha güçlü olsa da, kompleks olduğu için tamamıyla aydınlatılamamıştır (10).

T2DM gelişimi açısından çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında; 45 yaş üstü, vücut kitle indeksi (VKİ) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$, sedanter yaşam tarzı, birinci derece akrabada DM öyküsü, polikistik over sendromu (PCOS) varlığı, GDM öyküsü, hipertansiyon, dislipidemi (HDL $< 35 \text{ mg/dL}$ ve/veya trigliserid $> 250 \text{ mg/dL}$), insülin direncini gösteren durumlar (akantozis nigrikans mevcudiyeti, obezite), prediyabet tanısı ve etnik köken (Afrika kökenli Amerikalılar, Latin, Asya-Amerikan, Amerikan yerlisi ve Pasifik Ada) sayılabilir (10).

Diyabetin bu formunda hastaların çoğunluğu obezdir. Obezite insülin direncinden bir dereceye kadar sorumludur. Geleneksel vücut ağırlığı kriterlerine göre obez olmayan kişilerde ise özellikle abdominal bölgedeki vücut yağı oranında artış olabileceği bildirilmektedir. Genellikle stres ve enfeksiyona sekonder olarak bu hastalarda gözlenen ketoasidoz tablosu nadiren kendiliğinden de ortaya çıkabilir. Hipergliseminin kademeli olarak artış göstermesi ve hastalığın başlangıcında klasik semptomların hasta tarafından hissedilecek kadar şiddetli olmaması nedeniyle hastalar uzun yıllar tanı almayabilirler. Bu nedenle T2DM'liler tanı anında makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişmesi açısından artmış risk altındadırlar. Bu yüzden yüksek risk grubunda tanımlanan kişilerin rutin olarak taranması önerilmektedir. Özellikle $\text{VKİ} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ yanında diğer risk faktörlerinden en

az birisi mevcut olan 45 yaştan büyük bireylerin her 3 yılda bir taranması önerilmektedir (10).

T2DM'li kişilerde, kilo kaybı ve/veya hipergliseminin farmakolojik tedavisi ile insülin direncinde iyileşme olsa da, tam olarak normale dönüş nadiren olur (10).

2.1.4.1 T2DM Patogenezi

T2DM'nin patogenezi komplekstir. Beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve karaciğerde glukoz üretiminin artışı gibi üç ana metabolik bozukluk rol oynar. T2DM'de primer patolojinin beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci olmasında yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir (12). Triglicerid sentez prekürsörü olan diaçilgliseriollerdeki artışın insülin direnci gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu patogeneizde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz açık değildir (12).

T2DM'li bireylerde oral glukoz yüklemesinde dokulara glukoz alımı azalması ve karaciğer glukoz üretiminin baskılanamaması sonucu glukoz metabolizması bozulmaktadır (12).

Son yıllarda bunlara eklenen dördüncü bir görüş ise primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu hipotezidir (12). Hiperinsülineminin nonoksidatif glukoz kullanımını veya glikojen sentezini bozarak insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir.

2.1.4.2 DM Komplikasyonları

Tüm diyabet türleri komplikasyonlara neden olabilir ve erken ölüm riskini artırabilir. Gebelikte kontrolsüz diyabet; fetal ölüm ve diğer komplikasyonların riskini artırır (14).

Akut ve kronik komplikasyonlar olmak üzere iki tip komplikasyon vardır (2):

Akut Komplikasyonlar:

Hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz, hiperglisemik hiperosmolar durum, hiperglisemik diyabetik koma, nöbet veya bilinç kaybı, enfeksiyonlar

Kronik Komplikasyonlar:

- 1) Mikrovasküler Komplikasyonlar: Nefropati, nöropati, retinopati (hiperglisemi süresi ve şiddeti ile yakından ilişkilidir.)(15)
- 2) Makrovasküler Komplikasyonlar: Koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, diyabetik ensefalopati, diyabetik ayak

2.1.4.2.1 DM ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Ateroskleroz; dislipidemi, diyabet, hipertansiyon, obezite ve sigaranın neden olduğu arteriyel duvarın kronik inflamasyonu olarak tanımlanır (16).

Diyabetik hastalarda aterosklerotik makrovasküler hastalık sıklığı artmıştır. Koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı, kardiyomyopati, konjestif kalp yetmezliği yaygın hastalıklardandır. Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalıklar yüksek morbiditeye neden olurlar ve ölümlerin üçte birinden sorumludurlar (16). Özellikle T2DM olmak üzere diyabette mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmından makrovasküler komplikasyonlar sorumludur. (17,18).

Framingham kalp çalışmasında, periferik arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, miyokard infarktüsü ve ani ölüm gibi kardiyovasküler patolojilerin diyabette belirgin olarak arttığı gözlenmiştir (19,20).

Ayrıca Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) tarafından diyabetlilerde sigara içme, hipertansiyon, hiperlipidemi ve hipoglisemi (hiperinsülinemi) kardiyovasküler hastalık risk faktörü olarak belirlenmiştir. (21,22).

İnsülin Direnci:

İnsülin direnci insülinin normal etkilerine fizyolojik cevabın bozulmasıyla karakterize olan metabolik bir durumdur. Santral obezite, fiziksel inaktivite, ileri yaş ve genetik faktörler insülin direncinin başlamasında etkindir. İnsülin direnci, bozulmuş insülin toleransına sahip T2DM hastalarının birinci derece akrabalarında, gestasyonel diyabet öyküsü olanlarda ve PCOS olanlarda sık gözlenmektedir. Genellikle glukoz metabolizmasındaki değişimler ortaya çıkmadan yani diyabet olmadan yıllar önce mevcuttur (23,24).

Hiperglisemiye belirleyen asıl faktör beta hücresinin yeterliliğidir. Periferik insülin direnci, eğer beta hücresinde defekt yoksa hiperinsülinemi ile aşılabilecek ve hiperglisemi gelişmesi engellenebilecektir. Ancak beta hücresinde bozulmanın başlaması ile düzensizlik ve yetersizliğe bağlı olarak glukoz intoleransı gelişecektir. Yani insülin direnci, T2DM'de beta hücre düzeyinde insülin sekresyonunun bozulmasına katkıda bulunmaktadır (25). İnsülin direnci, diyabet hastalarında ateroskleroz gelişeceğini öngören önemli bir belirleyicidir (26).

Hipertansiyon:

Klinik çalışmalar diyabeti olan hastalarda hipertansiyon ile birlikteliğinin KVVH gelişme riskini artırdığını ortaya koymuştur (27). Birleşik Ulusal Komite'nin (JNC) 7. raporuna göre sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üstü ve/veya diyastolik kan basıncının 90 mmHg ve üstü olması hipertansiyon olarak kabul edilmektedir. JNC 8. raporu da JNC 7'nin kullanılmasını kabul etmektedir. (28,29).

Prehipertansiyon ise sistolik kan basıncının 120-139 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının 80-89 mmHg olduğu başlangıç hipertansiyonu olarak tanımlanmaktadır (28). Yalnız hipertansiyon değil, artık aşırı hipertansiyon için önemli bir risk faktörü olan prehipertansiyonun da KVVH riski oluşturduğuna ve KVVH morbiditesinde artışa neden olduğuna işaret eden bir çok çalışma vardır. Grotto ve arkadaşları 10 yıl içinde prehipertansiyonun KVVH gelişme riskini ikiye katladığını belirtmişlerdir (27).

Hiperlipidemi:

Plazma lipidlerinin anormal konsantrasyonu lipoprotein partiküllerinin üretimi, dönüşümü ya da katabolizmasında değişikliklere neden olabilir. Karotis intima kalınlığının artması hiperlipidemisinin prediyabet veya diyabetteki olumsuz etkilerine işaret eder (16).

Çocukluk çağı ve genç erişkinlerde aterosklerotik lezyonlar ile kardiyovasküler hastalık risk faktörü arasında güçlü ilişki saptanmıştır (30). Yapılan otopsilerde bu durumu kanıtlayacak veriler gösterilmiştir (31,32).

2.2 LİPOPROTEİNLER

Organizmanın temel enerji kaynağı olan lipidler; eter, kloroform gibi polar olmayan çözücüler tarafından dokulardan ekstrakte edilebilen, suda çözünmeyen (hidrofobik) organik moleküllerin heterojen bir grubudur (33,34). Genel olarak lipidler, içerdikleri çok sayıda polar olmayan hidrokarbon grubu nedeniyle suda çözünmezler. Ancak yağ asitleri, fosfolipidler, sfingolipidler, safra tuzları ve daha az oranda da kolesterolde polar gruplar bulunur. Bu nedenle molekülün bir kısmı hidrofobik ya da suda çözünmez özellik gösterirken bir kısmı hidrofilik ya da suda çözünür özellik gösterir. Bu tip moleküller amfipatik olarak bilinir. (34).

Diyetle alınan yağ ile karaciğer ve yağ dokusunda sentez edilen lipidler kullanılmak ve depolanmak üzere çeşitli dokular ve organlar arasında taşınmalıdır. Lipidlerin sulu bir ortam olan kanda taşınmaları sorunu nonpolar lipidlerin (triaçilgliserol ve kolesterol esterleri), amfipatik lipidler (fosfolipidler ve kolesterol) ve proteinlerin bir araya getirilerek suda çözünebilir lipoproteinlerin oluşturulmasıyla çözülmüştür (34).

Lipoproteinler bir nonpolar çekirdek ve amfipatik lipidlerin yer aldığı tek bir yüzey tabakasından oluşur. Nonpolar lipid çekirdek başlıca triaçilgliserol ve kolesterol esterlerinden oluşur ve amfipatik fosfolipid ve kolesterol moleküllerinden oluşan tek bir yüzey tabakası ile çevrelenmiştir. Bu amfipatik moleküller polar grupları sulu ortama bakacak şekilde yerleşmişlerdir. Lipoproteinin yüzeyinde ayrıca apolipoprotein (Apo) veya apoprotein olarak adlandırılan protein kısmı da yer alır (34).

Tablo 3'te belirtildiği gibi fizyolojik olarak ve klinik tanı açısından önem taşıyan beş ana lipoprotein grubu tanımlanmıştır (34,35). Bunlar:

1. Şilomikronlar
2. Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL veya pre- β -lipoproteinler)
3. Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL veya β -lipoproteinler)
4. Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL veya α -lipoproteinler)
5. Lipoprotein (a)

2.2.1 Apolipoproteinler

Apolipoproteinlerin dağılımı lipoproteinin özelliğini belirler. Her lipoproteinde bir ya da daha fazla apolipoprotein mevcuttur (Tablo 4). Apolipoproteinler birkaç rolü üstlenirler:

1. Lipoprotein yapısının bir kısmını oluştururlar.
2. Enzimlerin kofaktörleridir veya enzim inhibitörleridir.
3. Dokulardaki lipoprotein reseptörleri için ligand görevi yaparlar (34).

Tablo 3. İnsan Plazmasında Lipoproteinlerin Komponentleri

Lipoprotein	Kaynak	Çap (mm)	Dansite (g/mL)	Kompozisyon		Temel Lipid Bileşenleri	Apolipoproteinler
				Protein (%)	Lipid (%)		
Şilomikron	Barsak	90-1000	<0,95	1-2	98-99	Trigliserid	A-I, A-II, A-IV, B-48, C-I, C-II, C-III, E
Şilomikron Kalıntıları	Şilomikronlar	45-150	<1,006	6-8	92-94	Trigliserid, fosfolipid, kolesterol	B-48, E
VLDL (pre-β)	Karaciğer (barsak)	30-90	0,95-1,006	7-10	90-93	Trigliserid	B-100, C-I, C-II, C-III, E
IDL (β veya pre-β)	VLDL	25-35	1,006-1,019	11	89	Trigliserid, kolesterol	B-100, E
LDL (β)	VLDL	20-25	1,019-1,063	21	79	Kolesterol	B-100
HDL (α)	Karaciğer, barsak, VLDL, şilomikronlar					Fosfolipidler, Kolesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D, E
HDL ₁		20-25	1,019-1,063	32	68		
HDL ₂ (α)		10-20	1,063-1,125	33	67		
HDL ₃ (α)		5-10	1,125-1,210	57	43		
Preβ-HDL		<5	>1,210				A-I
Lipoprotein(a) (pre-β)		50-120	1,045-1,080			Kolesterol	

Tablo 4. Apolipoproteinler

Apolipoprotein	Lipoproteinler	Fonksiyon	Sentez yerleri
Apo A-I	HDL, Şilomikronlar	HDL'nin yapısal proteini, LCAT aktivatörü	Karaciğer, Barsak
Apo A-II	HDL, Şilomikronlar	HDL'nin yapısal proteini, Hepatik Lipaz aktivatörü	Karaciğer
Apo A-IV	HDL, Şilomikronlar	LPL ve LCAT'ın aktivatörüdür.	Barsak
Apo A-V	VLDL, Şilomikronlar, HDL	LPL aracılı TG lipolizini düzenler.	Karaciğer
Apo B-48	Şilomikronlar	Şilomikronların yapısal proteini, Şilomikronların oluşumu ve salınımı için gereklidir.	Barsak
Apo B-100	VLDL, IDL, LDL, Lp(a)	Yapısal protein, LDL reseptörü için ligand, VLDL oluşumu ve salınımı için gereklidir.	Karaciğer
Apo C-I	Şilomikronlar, VLDL, HDL	LCAT aktivatörü	Karaciğer
Apo C-II	Şilomikronlar, VLDL, HDL	LPL esansiyel kofaktörü	Karaciğer
Apo C-III	Şilomikronlar, VLDL, HDL	Karaciğerde trigliseritten zengin lipoprotein ve kalıntıların Apo E aracılı klirensini azaltmaktadır, LPL ve hepatik lipaz aracılı trigliserid hidrolizini engellemektedir, Normal endotel fonksiyonlarını bozmak aracılığıyla arter duvarında ciddi proaterojenik etki	Karaciğer
Apo D	HDL	CETP' ye ait kofaktör olabileceği düşünülmektedir.	
Apo E	Şilomikron kalıntıları, IDL, HDL	LDL reseptörü için ligand	Karaciğer
Apo(a)	Lp(a)	Plazminojen aktivasyon inhibitörü	Karaciğer

LCAT=lesitin kolesterol açıl transferaz, LPL=lipoprotein lipaz, CETP=kolesterol ester transfer protein

Tablo 3'te gösterildiği gibi şilomikronlar ve VLDL'de başlıca lipid triaçilgliserol iken LDL ve HDL' de başlıca lipidler sırasıyla kolesterol ve fosfolipiddir. Yağ sudan daha az yoğun olduğundan, bir lipoproteinde lipidin proteine oranı arttıkça dansite azalır (34).

2.2.2 Şilomikronlar

Şilomikronlar eksojen (besin yolu ile alınan) trigliseridler ve kolesterolün karaciğer ve periferik dokulara taşınmasında rol alan, ince bağırsak tarafından üretilen trigliseridden zengin büyük partiküllerdir. Eksojen kaynaklı trigliseridlerce çok zengin olup nispeten düşük oranda serbest kolesterol, fosfolipid ve protein içerir (35).

Apo A-I, A-II, A-IV, B-48, C-I, C-II, C-III ve E gibi çok sayıda apolipoproteini taşımaktadırlar. Apo B-48 ana yapısal apolipoproteindir ve her bir şilomikron Apo-B48 içermektedir. Şilomikronların büyüklüğü alınan yağ miktarına göre değişir. Yüksek miktarda yağ alımı trigliserid taşıyan şilomikronların büyüklüğünü artırırken açlıkta trigliserid taşınımı azalacağı için şilomikron partikül boyutu da küçülmektedir (35,36).

2.2.3 Şilomikron Kalıntıları

Trigliseridin şilomikrondan uzaklaştırılması, şilomikron kalıntıları adı verilen daha küçük partikülle sonuçlanır. Şilomikronlara kıyasla, bu partiküller kolesterol bakımından zengin olup pro-aterojeniktir (35).

2.2.4 VLDL

VLDL partikülleri endojen trigliserid, görece olarak daha az kolesterol taşıyan karaciğer tarafından üretilen trigliseridden zengin partiküllerdir (35,36).

Başlıca apolipoproteinleri; Apo B-100, C-I, C-II, C-III ve E'dir. Apo B-100 ana yapısal apolipoproteindir ve her bir VLDL bir adet Apo B-100 içermektedir. Şilomikronlar gibi; VLDL partiküllerinin boyutu, taşınan trigliserid miktarına bağlı olarak değişebilir. Karaciğerde trigliserid üretimi arttıkça, salgılanan VLDL partikülleri büyümektedir (35).

2.2.5 IDL (VLDL kalıntısı)

Trigliseridlerin VLDL'den uzaklaştırılması, kolesterol bakımından zenginleştirilmiş IDL partiküllerinin oluşumuyla sonuçlanır. Başlıca apolipoproteinleri; Apo B-100 ve E'dir. Oldukça pro-aterojeniktir (35).

2.2.6 LDL

VLDL ve IDL partiküllerinden oluşan kolesterolden zengin partiküllerdir. Dolaşımdaki kolesterolün çoğunu taşımaktadır (35).

Başlıca apolipoproteini Apo B-100'dür ve her bir LDL bir adet Apo B-100 içermektedir. LDL, boyut ve dansite bakımından değişen spektrumda partiküllerden oluşmaktadır. Küçük yoğun LDL daha çok hipertrigliseridemi, düşük HDL düzeyi, obezite ve T2DM ile ilişkili olarak görülür. Küçük yoğun LDL partikülleri, birçok nedenden dolayı büyük LDL partikülünden daha pro-aterojenik olarak kabul edilir. Başlıca nedenler: (35)

1. Küçük yoğun LDL partiküllerinin LDL reseptörlerine afiniteleri daha düşük olduğu için dolaşımda daha uzun süreli kalmaktadırlar.
2. Arteryel duvara daha kolay girerler ve duvarda onları tutan intra-arteryel proteoglikanlara daha fazla bağlanırlar.
3. Oksidasyona daha duyarlıdırlar. Bu da makrofajlar tarafından daha çok hapsedilmeye neden olur.

2.2.7 HDL

HDL partikülleri kolesterol ve fosfolipidden zengin partiküllerdir. Periferik dokulardan karaciğere ters kolesterol taşınmasında büyük rol oynarlar. Bu nedenle anti-aterojenik olarak söylenebilirler. HDL partikülleri; anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-trombotik, anti-apoptotik özellikleri bulunan küçük boyutta partiküllerdir. Böylece ateroskleroza inhibe etme yeteneğine sahiptirler. (35).

Başlıca apolipoproteinleri; Apo A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D ve E'dir. Apo A-I ana yapısal apolipoproteindir ve her bir HDL Apo A-I içermektedir (35,36).

HDL partikülleri çok heterojen bir yapıya sahiptir. Tablo 5'te belirtildiği gibi dansite, büyüklük, yük ve apolipoprotein kompozisyonuna göre çok farklı sınıflandırılabilirler (35).

Tablo 5. HDL Sınıflandırması

Sınıflama Metodu	HDL Tipleri
Ultrasantrifüj (Dansite)	HDL ₂ , HDL ₃ , Çok yoğun HDL
Nükleer Manyetik Rezonans (Büyüklük)	büyük, orta ve küçük
Jel Elektroforez (Yük)	HDL 2a, 2b, 3a, 3b, 3c
2-Dimensional Jel Elektroforez (Yük)	pre-beta 1 ve 2; alfa 1, 2, 3 ve 4
Apolipoprotein kompozisyonu	A-I partikülleri, A-I: A-II partikülleri, A-I: E partikülleri

2.2.8 Lipoprotein (a)

Apolipoprotein(a) ve LDL'den meydana gelen özelleşmiş LDL tipidir. Apo(a) LDL yüzeyindeki Apo B-100'e disülfid bağları ile bağlanmaktadır. LDL'nin yapısal bütünlüğü ve lipoprotein(a) (Lp(a)) oluşumu lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) tarafından düzenlenmektedir (35,36).

Apo(a) zinciri beş kısımdan oluşmaktadır. Dördüncü kısım, plazminojenin fibrin baylayıcı kısımları ile aynı bölgelere sahiptir. Bu yapısal benzerlikten dolayı Lp(a) fibrinoliz esnasında plazminojenin reseptörleri, fibrinojen ve fibrine bağlanması ile yarışabilmektedir. Ortaya çıkan net etki, bozulmuş plazminojen aktivasyonu ile plazmin üretimine bağlı azalmış trombolizdir. Lp(a) aynı zamanda düz kas hücre proliferasyonunu uyarması, köpük hücre oluşumunu artırması ve subendotelyal yüzeyde monosit kemotaktik aktiviteyi indüklemesi ile aterogeneizde önemli rol oynar (36).

2.2.9 Lipoprotein Metabolizması

Eksojen ve endojen yollar şeklinde iki kısımda incelenir:

2.2.9.1 Eksojen Lipoprotein Metabolizma Yolu

Besinlerdeki kolesterol ve yağ asitlerinin barsakta emilimi ile başlamaktadır. Barsak hücrelerinde serbest yağ asitleri gliserol ile bir araya gelerek trigliseridleri meydana getirmekte, kolesterol açıl koenzim A: kolesterol açıl transferaz (ACAT) enzimi ile kolesterol esterlerini oluşturmaktadır (36).

Endoplazmik retikulumda trigliseridler ve kolesterol esterleri şilomikronlar içinde paketlenmektedir. Mikrozoal trigliserid transfer proteini (MTP), endoplazmik retikulum içinde bulunan hücre içi lipid transfer proteinidir. Başta trigliseridler olmak üzere lipid moleküllerinin Apo B-48'e aktarımından sorumludur (35). Temel olarak Apo B-48 olmak üzere Apo C-II ve E'nin şilomikronların dolaşıma girmeleri için gerekli olduğu bilinmektedir. Apo B-48; şilomikronların lipidlere bağlanmasına izin verirken LDL reseptörüne bağlanmasına izin vermemektedir. Böylelikle şilomikronların lipoprotein lipaza (LPL) bağlanması engellenerek, dolaşımdan erken temizlenmesinin önüne geçilmektedir (36).

Apo C-II LPL için bir kofaktördür. LPL; şilomikronlardaki trigliseridleri serbest yağ asitlerine ayrıştırarak onları daha küçük parçalara ayırmaktadır. Açığa çıkan serbest yağ asitleri enerji kaynağı olarak kullanılabilir ya da trigliseride çevrilerek adipoz dokuda depolanmaktadırlar. Şilomikron metabolizmasının son ürünü olan şilomikron kalıntıları Apo E'ye yüksek afinite gösteren bir ligand olan hepatik şilomikron kalıntı reseptörleri aracılığıyla temizlenmektedir. Şilomikron kalıntıları fazlaca yüzey

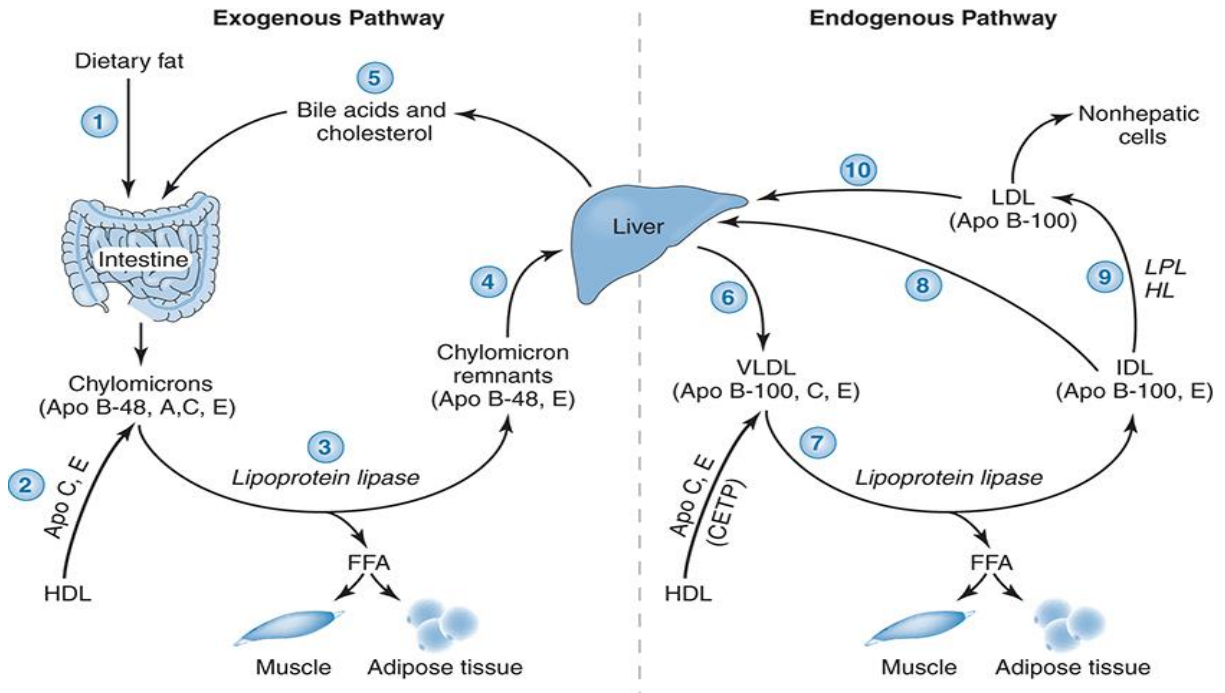
bileşenine sahip görece daha küçük bir lipid çekirdeğe sahiptir. Bu yüzey bileşenleri HDL partiküllerine aktarılmaktadır (36).

2.2.9.2 Endojen Lipoprotein Metabolizma Yolağı

Karaciğerde VLDL sentezi ile başlamaktadır. VLDL, trigliserid (%60) ve kolesterol esterlerinden (%20) oluşan çekirdeğe sahiptir. MTP, karaciğerde başta trigliseridler olmak üzere lipid moleküllerinin Apo B-100'e aktarımından sorumludur. VLDL üzerinde LPL'nin kofaktörü Apo C-II, LPL inhibitörü Apo C-III, LDL reseptörü için ligand görevi gösteren Apo B-100 ve E bulunmaktadır (36).

Dolaşıma çıkan VLDL partiküllerinin trigliserid çekirdeği LPL tarafından hidrolize uğramaktadır. Lipoliz esnasında VLDL'nin çekirdek kısmı küçülmekte ve VLDL kalıntıları açığa çıkmaktadır. IDL adı da verilen bu partiküller şilomikron kalıntıları da olduğu gibi trigliseridlerden fakirdir. Kalıntı partikül üzerinde bulunan fosfolipid; esterifiye olmamış kolesterol; Apo A, C ve E gibi artık bileşenler HDL'ye transfer edilmektedir (36).

IDL; dolaşımdan LDL reseptörü veya kalıntı reseptörleri aracılığıyla temizlenmekte ve karaciğerde hepatik lipaz enzimi aracılığıyla LDL partiküllerine dönüştürülmektedir (36).



Şekil 1: Eksojen ve endojen lipoprotein metabolizma yolağı (37)

2.2.10 Dislipidemiler ve Diabetes Mellitusta Lipoprotein Metabolizma Bozuklukları

Primer veya altta yatan hastalığa sekonder olarak ortaya çıkan çok çeşitli lipid metabolizma bozukluğu mevcuttur. Dislipidemi; genel toplumda total kolesterol, LDL-K, Trigliserid, Apo B veya Lp(a) konsantrasyonlarının 90. persentil üzerinde olması ya da HDL-K veya Apo A-I konsantrasyonunun 10. persentil altında olması şeklinde tanımlanmaktadır (36) (Tablo 7).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, Erişkin Tedavi Paneli (NCEP ATP) III kılavuzuna göre lipid ve lipoprotein düzeylerinin sınıflandırılması Tablo 6'da özetlenmiştir (38):

Tablo 6. Lipid ve Lipoprotein Düzeyi Sınıflaması (NCEP ATP III)

LDL kolesterol (mg/dl)	<100	Optimal
	100-129	İstenen
	130-159	Sınırdan yüksek
	160-189	Yüksek
	≥ 190	Çok yüksek
Total kolesterol (mg/dl)	<200	İstenen
	200-239	Sınırdan yüksek
	≥ 240	Yüksek
Trigliserid (mg/dl)	<150	Normal
	150-199	Sınırdan yüksek
	200-499	Yüksek
	≥ 500	Çok yüksek
HDL kolesterol (mg/dl)	<40	Düşük
	≥ 60	Optimal

Tablo 7. Dislipidemiler

Primer Dislipidemiler	Sekonder Dislipidemiler
1. LPL aktivite eksikliği 2. Apo C-II eksikliği 3. Familial kombine hiperlipidemi 4. Hiperapobetalipoproteinemi 5. Familial hipertrigliseridemi 6. TipV hiperlipoproteinemi 7. Disbetalipoproteinemi (TipIII) 8. Familial hiperkolesterolemi 9. Familial defektif ApoB-100 10. Familial hipoalfalipoproteinemi a. Apo A-I sentezinde defekt b. Apo A-I katabolizmasında defekt (Tangier hst)	• Eksojen (ilaçlar, alkol, obezite) • Endokrin ve metabolik (Diyabet, hipotiroidi, gebelik) • Depo hastalıkları (Gaucher, Niemann Pick, Glikojen depo hast.) • Renal (KBY, Nefrotik sendrom) • Hepatik (Konjenital bilier atrezi, benign rekürren intrahepatik kolestaz) • Akut ve geçici (yanıklar, cerrahi travma, AMI) • Diğer (açlık, anoreksia nervroza, SLE)

Diyabetli hastalarda, sağlıklı kişilere göre trigliserid düzeyinin anlamlı olarak yüksek, HDL-K düzeyinin daha düşük ve ortalama LDL-K boyutunun daha küçük olduğu belirtilmektedir (39). LDL-K düzeyinin değişikliği sağlıklı kişilerden pek farklı olmamakla birlikte Apo B ve nonHDL düzeyleri sağlıklı bireylere göre artmıştır. Bu yüzden ateroskleroza neden olan sorumlu mekanizmaları tanımlamak için ApoB içeren lipoproteinler (LDL ve VLDL) araştırılmıştır. Sonuçta VLDL aşırı üretimi ve LDL ve LDL'nin prekürsörü IDL'nin katabolizmasının azaldığı gösterilmiştir. VLDL aşırı üretimi özellikle diyabetli hastalarda belirgindir ve trigliserid düzeyinin artışı ile ilişkilidir. Bu durum plazma glukoz seviyesi ve insülin duyarlılığı indeksi (HOMA) ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca HDL-K düzeyinin düşüklüğü trigliserid düzeyinin yükselmesiyle ilişkili bulunmuştur (40–42). TG/HDL-K oranının yüksekliği, kardiyovasküler hastalık varlığı için bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur (43).

2.3 D VİTAMİNİ

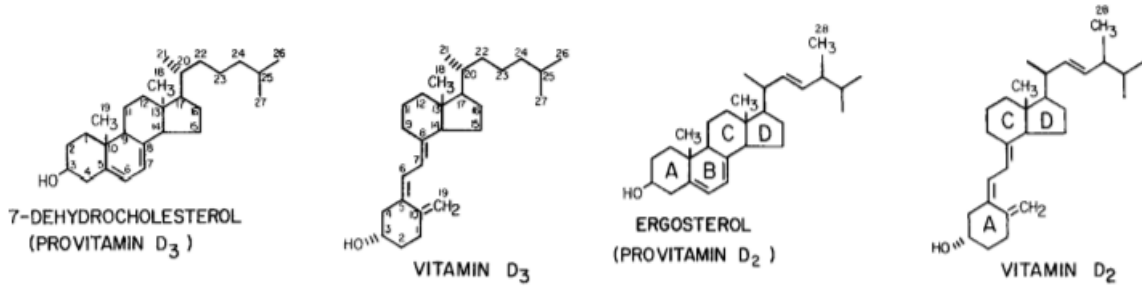
D vitamini hormon benzeri fonksiyonları olan sterollerdendir. Yağda çözünen vitaminler arasındadır ve en önemli etkisi kalsiyum homeostazı ve kemik sağlığı üzerinedir (44,45).

D vitamini ilk olarak 1919 yılında vitaminler içinde sınıflandırılmıştır (46). Goldblatt ve Soames, D vitamini prekürsörünün deride keşfedilmesi üzerine güneş ışığından burada üretildiğini saptamışlardır (47). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada güneş ışığı verildiğinde riketsin önlendiği gözlenmiştir (48). Windous ve arkadaşları 1932 yılında güneş ışığındaki ultraviyole (UV) ışınları ile derideki ilk sentez basamağını açıklamışlardır (49).

2.3.1 D Vitamininin Yapısal Özellikleri

D vitamini siklopentanofenantren halkası türevidir (50). D₂ vitamini ve D₃ vitamini olmak üzere iki kaynağı vardır. Her ikisine birden D vitamini de denmektedir (51).

D₂ vitamininin karbon 22 (C22) ile karbon 24 (C24) arasında çift bağa sahip olması ve karbon 24'te (C24) metil grubu içermesiyle D₃ vitamininden farklıdır. Bu durum D₂ vitamininin biyolojik etkinliğinin D₃ vitaminine göre 3-10 kat daha az olmasına neden olur (52).



Şekil 2: D vitamini öncüllerinin biyokimyasal yapısı (51)

2.3.2 D Vitaminini Kaynağı

D vitaminin kaynakları; güneş ışığı, gıdalar ve suplementasyondur. Güneş ışığından (UVB) deride D₃ Vitaminini üretilmektedir (53). D₂ vitamini bitkisel kaynaklı iken D₃ vitamini hayvansal gıdalardan alınmaktadır (54). Somon balığı, uskumru, ton balığı, sardalya gibi yağlı balıklar, mantar, yumurta sarısı, takviyeli gıdalar, brokoli, maydanoz vb. gıdalar D vitamini kaynağı gıdalardır. Ancak bu doğal gıdalar yeterli miktarda D vitamini içermemektedirler. Ana kaynak güneş ışığı tarafından sentezdir (53).

Deride D vitamini üretimi güneş ışığının geliş açısı yani zenith açısı ile ilişkilidir. Bu yüzden enlem derecesi, mevsimler ve günün belli zaman dilimlerinden etkilenmektedir (53). Zenith açısı ne kadar büyürse UVB ışınları o kadar yol katetmektedir ve bu durum 33° enlem ve üstünde D vitamini sentezinin azalmasını açıklar. Ayrıca kış mevsiminde, sabahın erken saatleri ve akşama doğru olan zaman diliminde D vitamini düzeylerinin düşük olması da bu açının daha büyük olması ile açıklanmaktadır (55).

Ülkemiz 36-42° kuzey enlemlerinde olduğu için D vitamini sentezi Mayıs-Kasım ayları arasında gerçekleşmektedir (56). Saat 10:00-15:00 arasında vücudun %70'i 1 minimal eritem dozunda (ciltte pembeleşme) ~10000-25000 IU D vitamini sentezleyebilir. Kol ve bacakların 0,5 eritem dozunda güneşlenmesi ~3000 IU D vitamini sentezini sağlar (53). Cilt rengi açık olan bir insanda minimal eritem dozuna 15 dakikada ulaşılabilirken, koyu ciltli bir kişide süre 3-4 katı olabilir (56).

2.3.3 D Vitamini Sentezi ve Metabolizması

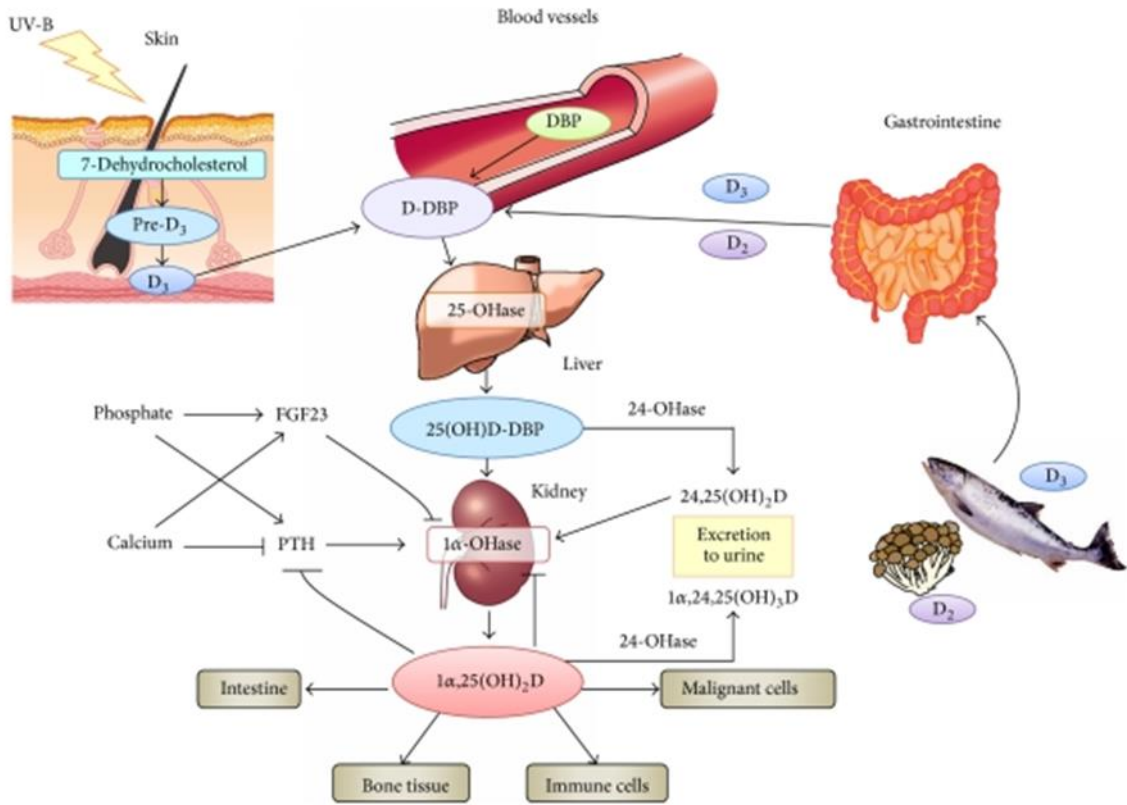
UVB ışık etkisiyle; D₂ vitamini (ergokalsiferol), maya ve mantarlarda provitamin D₂'den (ergosterol) üretilirken D₃ vitamini (kolekalsiferol), hayvanlarda deri altındaki yağ dokuda provitamin D₃'ten (7-dehidrokolesterol) üretilir (51).

Şekil 3'de belirtildiği gibi gıdalar ve ilaçlar aracılığıyla diyetle alınıp ince barsaktan absorbe edilen D₂ ve D₃ vitamini şilomikronlar aracılığıyla lenf dolaşımına geçtikten sonra venöz dolaşıma salınır. Güneş ışığı ile deride sentezlenen D₃ vitamini ise keratinosit hücrelerinin plazma membranından dışarı salınır ve daha sonra D vitamini bağlayıcı protein (VDBP) aracılığıyla dermal kapiller yatağa geçer ve venöz dolaşıma ulaşır (57). D₂ ve D₃ vitamini; VDBP'ye bağlı şekilde karaciğere taşınmaktadırlar (58). Karaciğerde 25-hidroksilaz enzimi (CYP2R1) tarafından hidroksillenerek insan vücudundaki D vitamini düzeyini yansıtan 25-hidroksivitamin D'ye (25(OH)D) metabolize olmaktadır (59).

D vitamini metaboliti olan 25(OH)D, VDBP'ye bağlanarak 480 saat yarılanma ömrü olan 25(OH)D-DBP kompleksini oluşturmaktadır (58). Bu kompleks yapı böbreğe ulaşarak ekskrete edilir ve daha sonra renal proksimal tübül hücrelerindeki LDL reseptör süper ailesinin bir üyesi olan megalin ve kübilin reseptörleri aracılığıyla reabsorbe edilir (58–60). Daha sonra böbrekte 25(OH)D; 1α-hidroksilaz enzimi

(CYP27B) aracılığıyla aktif form olan 1,25-dihidroksivitamin D'ye ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) dönüşmektedir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ile $25(\text{OH})\text{D}$ karşılaştırıldığında; $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'in VDBP'ye afinitesinin daha az olduğu ve 1α -hidroksilaz enziminin paratiroid hormon (PTH) ve fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF-23) gibi çeşitli faktörlerle regülasyonu olduğu için yarılanma ömrü daha kısadır ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$ yarı ömrü 7 saat) (58,61). Bu yüzden, $25(\text{OH})\text{D}$; D vitamini düzeyini yansıtmak için $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'den daha değerli bir analittir (58).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ böbrekte 24-hidroksilaz (CYP24A1) enzim aktivitesini artırarak kendi metabolizmasını indüklemektedir. 24-hidroksilaz enzimi; $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'yi $1,24,25-(\text{OH})_3\text{D}$ 'ye, $25(\text{OH})\text{D}$ 'yi $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'ye dönüştürerek D vitamini inaktivasyonundan sorumludur (59).



Şekil 3: D vitamininin metabolizması (58)

2.3.4 D Vitamininin Fonksiyonları

1,25(OH)₂D biyolojik etkilerini nükleer reseptör süperailisinin (transkripsiyon faktörü) bir üyesi olan D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanarak gerçekleştirir (62). VDR'nin 1,25(OH)₂D'ye afinitesi diğer metabolitlere göre yaklaşık üç kat daha fazladır. VDR'ye 1,25(OH)₂D bağlanması ile D vitamini kontrolündeki genlerin transkripsiyonu gerçekleşir. Çeşitli biyolojik fonksiyona sahip olan bu genlerin transkripsiyonu sonucu D vitamininin hedef dokulardaki etkileri gerçekleşmektedir (59). VDR'ler osteoblastlar, mononükleer hücreler, lenfositler, kanser hücreleri, kalp kası, kolon, beyin, hipofiz, tiroid, meme, karaciğer, böbrek, deri, prostat bezi, gonadlar ve pankreas adacık hücreleri gibi birçok dokuda yer alır (63,64).

Aktif D vitamini böbrek, barsak ve kemiklerde esas etkilerini göstermektedir. Genel fonksiyonu plazma kalsiyum düzeyini stabil tutmaktır. Ancak son yıllarda VDR'nin birçok dokuda keşfi üzerine D vitamini eksikliği ile kanser, otoimmün hastalıklar, diyabet gibi birçok hastalıkla ilişkisi üzerine çalışmalar yapılmaktadır (64).

D vitamininin fonksiyonlarından başlıcaları;

1. 1,25(OH)₂D duodenumdan kalsiyum absorpsiyonunu artırmaktadır.

D vitamini reseptöre bağlandıktan sonra VDR, retinoik asit reseptör (RXR) ile heterodimer yapı oluşturabilir. Bu heterodimer kompleks spesifik DNA dizilerine (D vitamini yanıt elementleri-VDRE) bağlanarak gen transkripsiyonu gerçekleştirir (65). Sonuçta VDR-RXR ile etkileşerek epitelyal kalsiyum kanal, kalbindin 9K ve kalsiyum bağlayıcı proteinin (CaBP) ekspresyonunu artırmaktadır. Bu sayede enterositlerden kalsiyumun aktif transportu gerçekleştirilir (45).

2. 1,25(OH)₂D ileumdan fosfor absorpsiyonunu artırmaktadır.

D vitamini olmadığında diyetdeki kalsiyumun %10-15'i, fosforun %60'ı emilebilmektedir. VDR aktivasyonu olduğunda ise kalsiyum emilimi %30-40, fosfor emilimi ise %80 oranında olmaktadır (45).

3. 1,25(OH)₂D böbrekten kalsiyum kaybını azaltmaktadır (45).
4. 1,25(OH)₂D kemik rezorpsiyonunu artırmaktadır.

VDR, nükleer faktör-kB ligand aktivatörü (RANKL) ekspresyonunu artırmaktadır. RANKL preosteoklastlarda nükleer faktör-kB (RANK) ile etkileşime girerek preosteoklastların matür osteoklastlara dönüşmesini sağlamaktadır. Böylece kemik rezorpsiyonu artmaktadır (45,66).

5. 1,25(OH)₂D paratiroid glandlardan PTH sentezini ve salınımını azaltmaktadır (45).

Paratiroid bez CYP27B1 enzim aktivitesine sahiptir ve 25(OH)D'yi substrat olarak kullanıp 1,25(OH)₂D'nin lokal üretimini sağlar. Böylece PTH sentezi, artmış aktif D vitamini düzeylerinde inhibe olabilir. Ancak VDR aktif olduğunda direkt PTH sentezi de inhibe olabilir. PTH sentezinin regülasyonu kalsiyum ve fosfor düzeylerini indirekt yollarla etkilemektedir (53).

6. 1,25(OH)₂D 200'den fazla geni kontrol etmektedir.

Bu genler hücre proliferasyonu, diferansiasyonu, apoptozis ve anjiogenezi üzerine odaklanmaktadır (45).

7. 1,25(OH)₂D iyi bir immunomodülatördür.

Aktive edilmiş T hücrelerinde VDR mevcudiyetinin keşfi ile D vitamininin immunomodülatör olduğu düşünülmüştür. Bu görevini monosit, makrofaj, T lenfosit ve B lenfosit gibi immun hücreler aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Bu immun hücrelerde 1- α hidroksilaz enziminin bulunmasıyla aktif D vitamini oluşumu gözlenir (67). Son çalışmalarda 1,25(OH)₂D'nin hem doğal hem adaptif bağışıklıkta rolü olduğu gösterilmiştir (68,69). Doğal bağışıklık cevabını desteklerken adaptif immün cevabı inhibe eder. Kemotaksis ve makrofaj aktivasyonunu artırarak doğal bağışıklıkta rol oynar. 1,25(OH)₂D makrofajların nukleusuna girerek antimikrobiyal protein olan katelisin salınımını artırmakta ve doğal bağışıklık cevabını desteklemektedir. İmmünsüpresif etki ile Thelper1 (Th1) inhibisyonu aracılığıyla interlekin-2 (IL-2) ve interferon (IFN)-gama'yı azaltır, Th17 inhibisyonu yaparak IL-17 ve IL-21 sitokinlerini baskılar ve Th2 hücrelerini uyararak IL-4 stümülasyonunu sağlar (69). Ayrıca 1,25(OH)₂D B lenfositlerin proliferasyonunu inhibe ederek immunglobulin sentezini azaltmaktadır (45,67).

2.3.5 D Vitamini Eksikliği

D vitamini düzeylerini tanımlamak için 25(OH)D ölçülmektedir ve D vitamini düzeyini yansıtmak için yarı ömrünün daha uzun olması ile 1,25(OH)₂D'den daha değerli bir analittir (58).

Tablo 8'de belirtildiği gibi Endokrin Topluluğu (Endocrine Society) 2011 yılında D vitamini düzeylerini tanımlamıştır (57,70).

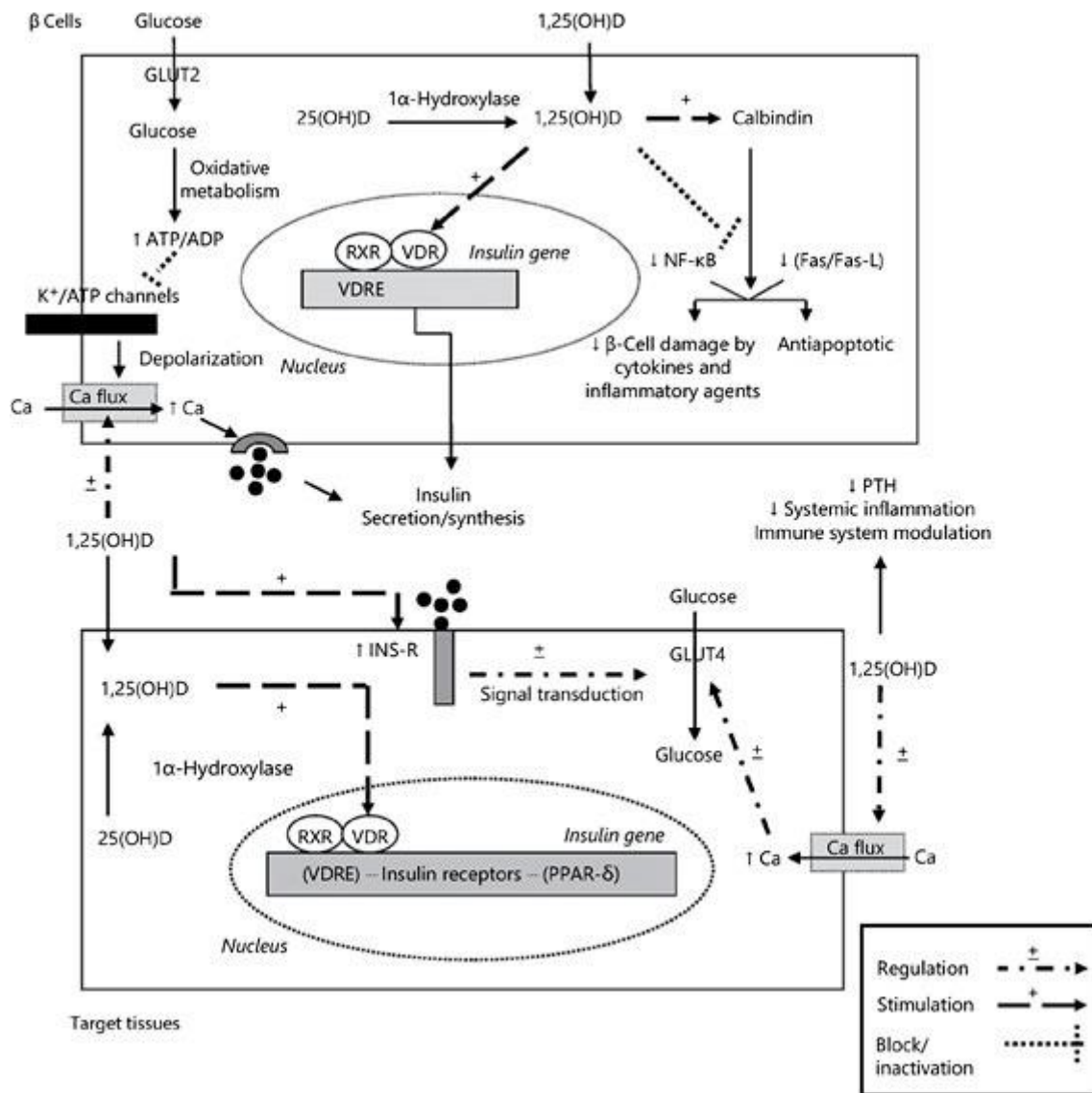
Tablo 8. D Vitamini Düzeyleri.

25(OH)D Düzeyi	Tanım
0-19 ng/mL	Eksiklik
20-29 ng/mL	Yetmezlik
30-100 ng/mL	Yeterli

D Vitamini Eksikliği Nedenleri:

1. Deride sentezin azalması
 - a. Güneş koruyucu kremler
 - b. Melanin pigmentinin yoğun olduğu koyu renkli kişiler
 - c. Hava kirliliği
 - d. 70 yaş üstü
 - e. Güneş ışığına az maruziyet
2. Biyoyararlanımın azalması
 - a. Obezite
 - b. Malabsorbsiyon
3. Katabolizma artıran ilaçlar
 - a. Antikonvulzan
 - b. Glukokortikoid
4. 25(OH)D sentezi azalması (karaciğer yetmezliği)
5. 25(OH)D atılımının artması (nefrotik sendrom)
6. 1,25(OH)₂D sentezi azalması (böbrek yetmezliği, hiperfosfatemi)
7. Genetik hastalıklar
 - a. D Vitamini bağımlı rikets
 - b. Otozomal dominant hipofosfatemik rikets

- D vitamini eksikliği ile otoimmün hastalık insidansı ve şiddetinin arttığı bildirilmektedir. DM, multipl skleroz, romatoid artrit, Sjögren sendromu, sistemik lupus eritematozis, Chron hastalığı ve primer bilier siroz gibi hastalıklarla D vitamini düşüklüğü arasında ilişki saptanmıştır (71).



Şekil 4: D vitamini ve pankreas β hücresi (72)

Normal insulin salgılanmasının gerçekleşebilmesi için D vitamininin olumlu etkileri hem in vitro hem in vivo çalışmalar ile gösterilmiştir. D vitamini β hücrelerindeki VDR'yi uyarır. VDR-RXR heterodimerik yapısı VDRE aracılığıyla insan insulin gen promoter bölgesine bağlanarak insulin sentezini sağlar (73,74). D vitamininin pankreas β hücreleri üzerine bir diğer etkisi de kalsiyumun hücre içine girişini sağlayıp insülin sekresyonunu dolaylı bir şekilde regüle etmek ve pankreas β hücrelerinin apoptozisine engel olmaktır (73). D vitamini eksikliği PTH düzeyini artırarak sürekli olarak hücre içine kalsiyum girişini artırır. Bu durumda β hücresi insülin sekresyonu ve hedef hücrelerine etkisi için gerekli olan ani hücre içi kalsiyum artışlarını algılayamayabilir (73) (Şekil 4).

D vitamini insülin fonksiyonunu renin anjiyotensin aldosteron sistemi üzerinden de etkiler. D vitamini eksikliğinde renal renin üretimindeki artışa bağlı aktive olan anjiyotensin II vasküler ve iskelet kas dokusunda insülinin etkisini inhibe ederek glukoz alımını bozar (75).

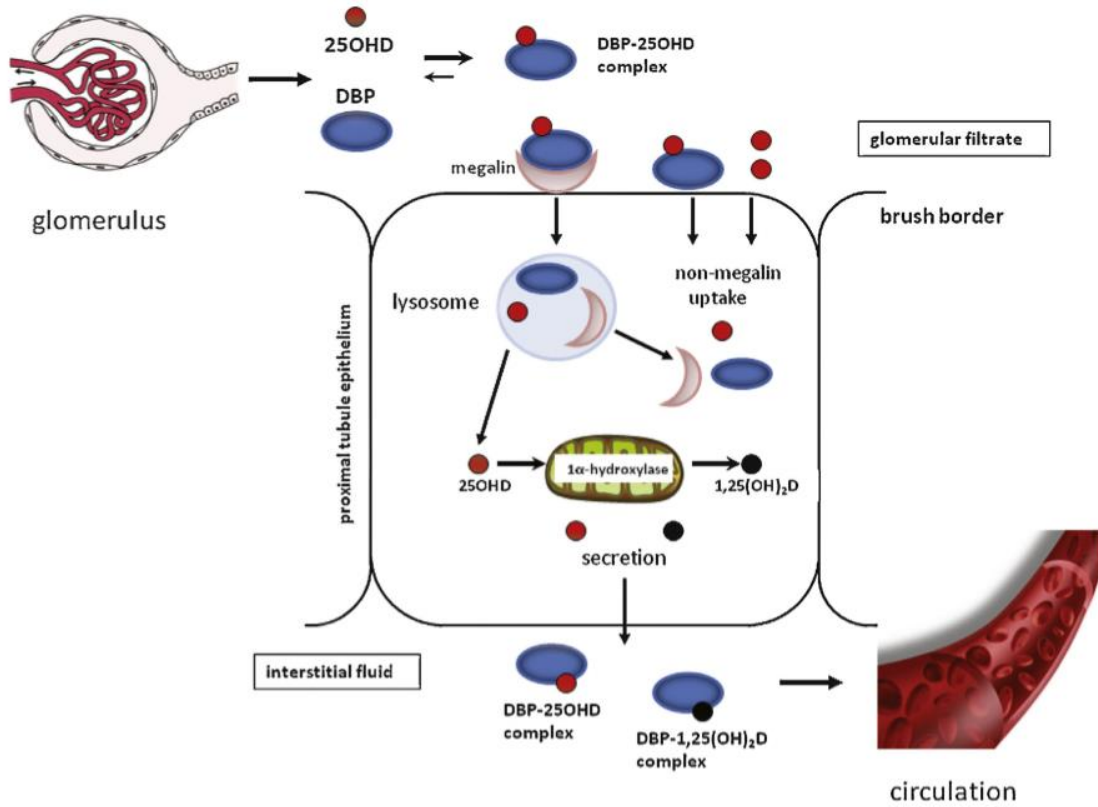
D vitamini eksikliği vücut kitlesinden bağımsız olarak iskelet kasında yağ dokusunun artışı ile ilişkili bulunmuştur ve insülin etkisinin azalmasına neden olduğu düşünülür (74). Ayrıca inflamatuvar sitokinlerde artış sonucu sistemik inflamasyon da insülin direnci gelişimine neden olur (75).

2.3.6 D Vitamini Bağlayan Protein (VDBP) ve Biyoaktif D vitamini

VDBP; karaciğer tarafından üretilen, ağırlığı 52-59 kDa olan ve ilk yıllarda grup spesifik komponent globulin (Gc-globulin) olarak adlandırılan polimorfik tek zincirli serum glikoproteinidir (76). 25(OH)D, VDBP'ye sıkı şekilde bağlanır. Daha küçük miktarda (%10-15) albumine bağlanırken %1'den azı dolaşımda serbest olarak bulunmaktadır (77). 25(OH)D'nin aksine VDBP mevsimsel değişikliklerden etkilenmemektedir (78). Biyoaktif D vitamini VDBP'ye bağlı olmayan kısımdır. Yani D vitamininin albumine bağlı ve serbest formu aktiviteden sorumludur (79).

Serbest hormon hipotezi; proteine bağlı hormonların biyolojik olarak inaktif olduklarını, proteine bağlı olmayan hormonların ise fizyolojik olarak görevlerini yaptıklarını ve bunların aktif olduklarını varsaymaktadır. Bu hipotez renal proksimal tübül hücrelerinde megalin/kübülin transporta sahip olan 25(OH)D vitamini gibi lipofilik moleküller için geçerlidir. Bu durumda VDBP bağlı 25(OH)D'nin hedef hücredeki 1α -

hidroksilaz enzimine bağlanıp aktif D vitamini olabilmesi güçleşir. Proksimal tübül hücrelerinde hem megalin hem de kübülün hücreleri 25(OH)D-DBP kompleksinin girişini kolaylaştırmaktadır. 25(OH)D, megalin aracılı endositoz ile hücreye alındıktan sonra VDBP'den ayrımı gerçekleştirilir. Daha sonra 25(OH)D aktif forma metabolize edilir (77) (Şekil 5).



Şekil 5: 25(OH)D'nin proksimal tübül hücrelerinde aktif hale gelmesi (79)

25(OH)D'nin serbest kısmı ve 25(OH)D ile albumin ve VDBP arasındaki afinite katsayısı ölçülmüştür. Bu verilere dayanarak total 25(OH)D, albumin ve VDBP ölçümleri yapılarak serbest 25(OH)D hesaplanması için formüller geliştirilmiştir. Direkt olarak ölçülen serbest 25(OH)D ile hesaplanan serbest 25(OH)D arasında yüksek derecede korelasyon bulunmuştur (80,81). Yapılan bir çalışmada serbest ve biyoaktif D vitamininin kemik mineral dansitesi ile korelasyonunun total 25(OH)D'den daha güçlü olduğu gösterilmiştir (82).

VDBP'nin ana görevi total 25(OH)D ve serbest D vitamini konsantrasyonunu korumaktır (83). D vitaminini biyodegradasyondan korur, hedef hücrelere erişimini sınırlar ve böbrekte reabsorbsiyonunu sağlar (77). VDBP, bağlı D vitamininin hedef

hücrelere hareketini engellediği için D vitamini fonksiyonlarının inhibisyonuna neden olabilir (79). Bu durum D vitamini intoksikasyonundan koruyucu bir mekanizmadır (76).

VDBP östrojen tarafından up-regüle olmaktadır. Düşük östrojen düzeylerinde VDBP düzeyleri düşük olmaktadır (77). Yapılan bir çalışmada premenapozal kadınlarda postmenapozal kadınlara göre daha yüksek düzeyde östradiol, 25(OH)D ve VDBP bulunmuştur (84). Hesaplanan serbest D vitamini düzeyleri ise premenapozal kadınlarda postmenapozal kadınlara göre daha düşük saptanmıştır (85). PCOS hastası olan bireylerde ortaya çıkan insülin direnci, obezite, dislipidemi ve kronik subakut inflamasyon ile D vitamini eksikliği arasında ilişki gözlenmiştir (86–88). Bunun üzerine Naderpoor ve arkadaşları (83) PCOS'lu hastalarda olmayanlara göre VDBP konsantrasyonu daha düşük bulurken total, serbest ve biyoaktif D vitamini düzeylerinde farklılık saptamamışlardır. Aynı çalışmada insülin direnci ile VDBP düzeyleri arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Son dönem karaciğer hastalarında düşük 25(OH)D düzeyleri yaygın bir bulgudur. Karaciğer hastalarında yapılan çalışmalarda karaciğer hastalarında daha düşük düzeyde albümin, VDBP ve total 25(OH)D düzeyleri saptanmıştır. Ancak hesaplanan serbest 25(OH)D düzeyleri kontrol grubuna göre eşdeğer düzeyde bulunmuştur (77,89). Bikle ve arkadaşları (90) tarafından D vitamini düzeyini doğru yansıtabilmek için VDBP ölçümü ve hesaplanan serbest D vitamini önerilmiştir. Diğer bir çalışmada son dönem karaciğer hastalarında kalsiyum ve PTH düzeyleri ile total kemik sağlığı değerlendirilmiştir (91). Primer hiperparatiroidiye sahip hastalarda total 25(OH)D düzeyleri düşüktür. Yapılan bir çalışmada primer hiperparatiroidili hastalarda kontrol grubuna göre total 25(OH)D ve VDBP düzeyleri daha düşük bulunurken hesaplanan serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeyleri benzer saptanmıştır (92). Bu nedenle primer hiperparatiroidili hastalarda total 25(OH)D analizinin uygun olmayacağı düşünülmüştür.

Abdominal obezite, T2DM ve dislipidemide D vitamini eksikliğinden bahsedilmektedir. Metabolik sendromlu hastalarda T2DM ve ateroskleroz gelişimi riski bulunmaktadır ve bu kişilerde bel çevresi geniş saptanmıştır. Ayrıca metabolik sendromlu hastalarda olmayanlara göre 25(OH)D, serbest ve biyoaktif D vitamini düzeyleri daha düşüktür ve VDBP düzeylerinde benzerlik saptanmıştır (78). 25(OH)D

düşüklüğünün nedenleri arasında deri altındaki yağ dokusunda eksprese edilen 25-hidroksilaz ve 1α -hidroksilaz enzim genlerinin obez kişilerde ekspresyonunun azalması sayılabilir. Ayrıca D vitamininin yağ dokusuna sekestrasyonu, orada hapsedilmesi ve dolaşıma geçişinin zorluğu D vitamini düşüklüğünü açıklayabilir (78).

Nefrotik sendromda proteinüri olmaktadır. Bu yüzden VDBP böbrekten daha çok ekskrete edilmektedir (77). Aggarwal ve arkadaşları (93) bu durumun serum VDBP düzeyini değiştirecek anlamlılıkta olmadığını saptamışlardır. Ayrıca hesaplanan biyoaktif D vitamini ile kemik sağlığı arasında zıt ilişki bulmuşlardır.

VDBP'nin D vitamininin hedef hücreye taşınmasından bağımsız olarak aktin bağlayıcı madde, yağ asidi taşıyıcı, kemotaksis ve makrofaj aktive eden faktör (MAF) olarak fonksiyonları bulunmaktadır (94).

Aktin hücre iskeletini oluşturan ve hareketini sağlayan önemli bir moleküldür. Globuler olarak monomerik (G-aktin), filamentöz olarak polimerik (F-aktin) yapıda bulunur. Doku hasarı ve hücre ölümü gibi durumlarda aktin hücre içinden dolaşıma geçer. Daha sonra G-aktinden F-aktin formuna dönüşür. VDBP ise dolaşıma geçen G-aktini bağlayarak polimerizasyonunu inhibe etmekte ve komplikasyonlarından korumaktadır (76).

VDBP, albumine yardımcı olarak monoansatüre ve poliansatüre yağ asitlerini taşıyabilir. Böylelikle $25(\text{OH})\text{D}$ ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin VDBP'ye afinitesi doymuş yağ asitlerinden etkilenmezken monoansatüre ve poliansatüre yağ asitlerinin VDBP'ye bağlanması ile azalmaktadır (76).

VDBP, inflamasyon esnasında CD44'e bağlanarak kemotaksiste önemli rol oynar (76). VDBP'nin D vitamini durumundan bağımsız olarak farklı glikozilasyon paternleri olması ve VDBP-MAF oluşumunda azalma gibi mekanizmalarla kanser patogeneğinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (76).

2.4 Remnant Kolesterol

Remnant kolesterol, trigliseridden zengin lipoproteinlerin (Kalıntılar açlıkta VLDL ve IDL; toklukta ek olarak şilomikron ve şilomikron kalıntısından oluşur) kolesterol içeriğidir. Plazmada şilomikronlar ve VLDL'nin LPL tarafından hidrolizi ile üretilirler (95).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda remnant lipoproteinler de LDL kadar yüksek derecede aterojenik olarak tanınmaktadırlar. Epidemiyolojik alışmalar, hipertrigliserideminin LDL'den bağımsız olarak ateroskleroz ile ilişkili olduğunu göstermiştir (96). Bu durumun nedeninin trigliseridden zengin lipoproteinlerin içeriğı olduğu düşünölür. Çünkü lipoprotein lipazla trigliserid hidroliz olunca oluşan remnantlarda kolesterol içeriğı oransal olarak artar (97). Bu yüzden de remnant kolesterol olarak tanımlanmışlardır.

Endotel hücre disfonksiyonu aterosklerotik lezyon oluşumundaki ilk adımdır. Düşük kan akımının olduğu arteryel kıvrımlar ve arteryel dallanmalarda aterosklerotik lezyon oluşma eğilimi daha fazladır. Bu mekanik uyarılar protrombotik ve proinflatuar yolları aktive ederek bariyer görevi gören endotelin disfonksiyonuna neden olur. Aterosklerotik eğilimi daha az olan endotel hücrelerinde nitrik oksit (NO) sentezinin artışı endotel hücresinin yaşam süresini uzatarak, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile oksidatif stresi azaltarak ateroskleroza korunma sağlanır. Ayrıca NO üretimi, nükleer faktör kappa B (NF-κB) yolağının aktivasyonunu inhibe eder. Ateroskleroz eğilimi daha fazla olan bölgelerde NO sentezi ve SOD düzeyi azalma ile seyreder ve subendotelyal bölgede ApoB içeren lipoproteinlerin (VLDL remnantları, şilomikron remnantları ve LDL-K) birikmesi ve bunların alıkonulmasına neden olur. Ateroskleroza duyarlı olan bölgelerde NF-κB aktivasyonu endotelyal hücre aktivasyonuna neden olarak monosit aderans proteinlerinin (VCAM-1, ICAM-1 ve P-selektin), sitokinlerin (MCP-1 ve IL-8) ve proinflatuvar reseptörlerin (toll-like reseptör 2-TLR2) ekspresyonunun artmasına neden olur. Endotel hücre aktivasyonu, ApoB içeren lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonuna neden olabilecek reaktif oksijen türlerinin üretiminde artışa neden olur. Bu mekanik uyarılara ek olarak okside LDL, sitokinler, ileri glikozilasyon son ürünleri ve patojen ilişkili moleküller dahil olmak üzere moleküler uyarılarla da endotel hücre aktivasyonu gerçekleşir (98).

Endotel hücre aktivasyonu monosit hücrelerinin rolling, adezyon, aktivasyon ve transendotelyal migrasyonuna neden olur. Hiperkolesterolemiye yanıt olarak kemik iliği ve dalakta proinflamatuvar monositlerin üretimi artmaktadır (99). Bu monositler ise daha sonra makrofajlara dönüşmektedir. Aterosklerozun yağlı çizgilenmesi sırasında makrofajlar ApoB içeren lipoproteinleri içine alır (98,100). Bu lipoproteinler lizozomda parçalanarak kolesterol serbestleşir ve daha sonra endoplazmik retikulum üzerinde bulunan ACAT ile esterleşerek kolesterol esterleri oluşur. Kolesterol esterleri sitoplazmik lipid damlacıkları halinde paketlenerek köpük hücrelerini oluşturur (98).

İlerlemiş aterosklerotik lezyon düzelmeyen bir inflamatuvar süreçtir ve kırılğan plak oluşumuna yol açarak plak rüptürü riskini artırır. Yapılan bir çalışmada kırılğan plakla karakterize nekrotik çekirdek yüzdesinin artışı ve fibröz şapkanın inceliği ile remnant kolesterol artışı arasında ilişki saptanmıştır. Ayrıca remnant kolesterol düzeyleri ne kadar artarsa o kadar plak rüptürü meydana gelmektedir (42,98).

Plak rüptürü sonucunda nekrotik çekirdekten salınan prokoagulan ve protrombotik faktörlerin damar lümenindeki trombositlerle karşılaşması sonucunda trombüs formasyonu oluşur. Bu trombüs formasyonları unstabil anjina, myokard enfarktüsü, ani kalp ölümü ve stroke gibi okluzif olayların birçoğuna neden olmaktadır (98,101).

LDL-K'nın koroner arterde aterosklerotik plağın oluşması ve ilerlemesinde bir neden olduğu bilinmektedir. Ancak LDL-K ilaç tedavisi ile optimal düzeylerine düşürülse bile hala risk devam etmektedir. Bu yüzden trigliseridden zengin lipoproteinlerin de aterosklerotik plağın progresyonunda önemli olduğu gözlenmiştir (101).

Serum remnant kolesterol seviyelerinin kardiyovasküler hastalık risk faktörleri (Tip 2 diyabet, insülin direnci, hiperkolesterolemi vb.) ile güçlü şekilde ilişkili olduğu ve kardiyovasküler hastalıklarda yüksek düzeylerde olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden yüksek remnant kolesterol düzeylerinin gelecekte kardiyovasküler hastalıklar için prediktif belirteç olabileceği düşünülmektedir (42). Ayrıca yakın zamanda yayımlanan çalışmalarda LDL-K inflamasyon olmadan ateroskleroza neden olurken remnant kolesterolün düşük derecede inflamasyon ve bütün nedenlere bağlı mortalite ile ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (96,102,103).

T2DM'lilerde insülin direnci ve kardiyovasküler olayların gelişiminde sistemik inflamasyon önemli bir yer tutar. D vitamini antiinflamatuvar sitokinlerin aktivitesini uyararak B hücreleri sitokin aracılı apoptozdan korur. Bu direkt etkinin yanı sıra sitokin aracılı Fas ekspresyonuna karşıt etki ile de antiapoptotiktir. Ayrıca $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin dentritik hücre diferansiyasyonunun, lenfosit proliferasyonu ve köpük hücre oluşumunun inhibisyonu ve makrofajlara kolesterol alımı gibi birçok immün düzenleyici etkileri de bulunmaktadır (74).

Epidemiyolojik çalışmalar ve metaanalizlerde D vitamini eksikliği ile iskemik kalp hastalığı ve strok riskinde artış saptanmıştır (104,105). Bazı kesitsel çalışmalarda aterojenik lipoprotein yüksekliği ile plazma $25(\text{OH})\text{D}$ düzeyinin eksikliği arasında ilişki gözlenmiştir (106). Mendelyan randomize bir çalışmada HDL'den bağımsız genetik olarak artmış remnant kolesterol ile $25(\text{OH})\text{D}$ düzeyinin azalışı saptanmıştır (107). Bu durum kolesterol ve D vitaminin aynı biyosentetik yolağı paylaşmasından kaynaklı olabilir. Kolesterol biyosentezi upregüle olursa D vitamini sentezi baskılanabilir. İn vitro yapılan çalışmalarda D vitamininin intestinal absorpsiyonu sadece pasif difüzyonla değil safra tuzlarına bağlı olarak lipid taşıyıcı ile de olmaktadır ve kolesterol düzeylerinin kademeli artışına bağlı olarak D vitamini düzeyleri azalabilir (107).

Mekanizma tam açıklanamasa da D vitamininin lipid düşürücü etkisinin olabileceği de düşünülmektedir. Preklinik çalışmalarda D vitamininin lipid metabolizması ve adipogenez üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde glukoz homeostazı üzerine de olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler "peroxisome proliferator-activated receptor" (PPAR) reseptörleri üzerinden açıklanabilir. Hücre kültür çalışmalarında D vitamininin adipogenez üzerine zıt etkileri olduğu gösterilmiştir. PPAR gama ile preadipositlerde diferansiyasyonun azaldığı ancak PPAR alfa ve delta üzerine etkilerle yağ asidi oksidasyonu ve sentezinde artış ve adipogenik etki gözlenmiştir (108,109). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin "liver X receptors" (LXR)'ı modüle ederek kolesterolün safra asitlerine dönüşümünü ve safraya atılımını artırdığı da saptanmıştır. Ayrıca ratlara $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ verilmesi ile SIRT1/AMPK aktivasyonu ve antiinflamatuvar etki gözlenmiştir (109).

Klasik bilgiler doğrultusunda lipoprotein lipaz aktivitesi insülin tarafından artmaktadır. T2DM'li hastalarda düşük glisemik kontrol; LPL aktivitesinin azalmasına

neden olup trigliseridden zengin lipoproteinlerin klirensinde gecikmeye neden olmaktadır (41). Ayrıca anormal postabsorbtif lipid metabolizmasına sahiptirler. Çoğu lipid parametrelerinin (trigliserid ve şilomikronlar dahil) açlık düzeyleri normal olmasına rağmen postprandial klirensinde gecikme mevcuttur (40). Bu durum diyabetli hastalarda kardiyovasküler riski artırmaktadır (41).

Son yıllardaki makalelerde ise klasik bilgiden farklı olarak insülinin trigliserid hidrolizinden sorumlu olan LPL enzimini baskıladığı bildirilmektedir (13). DM hastalarında insülin direnci lipolizin artışına neden olur. Barsaklardan kolesterol absorpsiyonu artarken kolesterolün safra yoluyla vücuttan atılımı azalır. Karaciğerde VLDL oluşumu ile birlikte barsaklarda da MTP upregülasyonu sonucu ApoB48 sentezi ve şilomikron paketlenmesinde artış olur (13).

Trigliserid metabolizması, D vitamini ve diyabet patogenezi arasındaki bu karmaşık ilişkiler nedeniyle remnant kolesterol düzeylerinin D vitamininden etkilenip etkilenmediğini ve bu durumda diyabetin ilişkisini inceledik.

3 GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 ARAŞTIRMANIN TİPİ

Bu tez çalışması, kesitsel bir araştırmadır.

3.2 ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI

Bu çalışma Kasım 2015 – Ağustos 2016 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği, İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Polikliniğine tanı veya takip için başvuran 471 gönüllüde yapılmıştır.

3.3 ETİK KURUL ONAYI

Çalışma öncesinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışmanın yapılmasında tıbbi etik açıdan sakınca olmadığına dair onay alındı (Ek-1). İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesinde çalışma yapabilmek için İzmir Güney Kamu Hastaneleri Birliğinden izin alındı. Çalışmamızın klinik araştırma numarası (clinical trial numberı) ChiCTR-ROC-16008613. Çalışmaya katılmak isteyen bireylere “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” (Ek-2) okutuldu; çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı.

3.4 ARAÇ VE GEREÇLER

Çalışmamız esnasında kullanılan cihaz ve kitlelere Tablo 9-14'te yer verilmiştir.

Tablo 9. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde Kullanılan Cihazlar

Cihaz adı	Marka	Model
Otoanalizör	Beckman Coulter, ABD	AU5800
Otoanalizör	Beckman Coulter, ABD	DXI800
HPLC	Tosoh, Japonya	G8
HPLC	Shimadzu, Japonya	Prominence

Tablo 10. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Cihazlar

Cihaz adı	Marka	Model
Otoanalizör	Abott Architect	C16000
Otoanalizör	Siemens	Advia Centaur XP
HPLC	Biorad	Variant Turbo 2

Tablo 11. İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Cihazlar

Cihaz adı	Marka	Model
Otoanalizör	Beckman Coulter Olympus	AU2700
Otoanalizör	Beckman Coulter	DXI
HPLC	Biorad	Variant Turbo 2

Tablo 12. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde Kullanılan Kitler

Kit Adı	Yöntem	Katalog Numarası	Firma
Glukoz	Enzimatik kolorimetrik	OSR6121	Beckman Coulter, ABD
Albumin	Kolorimetrik	OSR6102	Beckman Coulter, ABD
AST	Enzimatik kolorimetrik	OSR6009	Beckman Coulter, ABD
ALT	Enzimatik kolorimetrik	OSR6007	Beckman Coulter, ABD
Total kolesterol	Kolorimetrik	OSR6186	Beckman Coulter, ABD
HDL	Kolorimetrik	OSR61205	Beckman Coulter, ABD
LDL	Kolorimetrik	OSR6098	Beckman Coulter, ABD
Trigliserid	Kolorimetrik	OSR60118	Beckman Coulter, ABD
BUN	Enzimatik kolorimetrik	OSR6134	Beckman Coulter, ABD
Kreatinin	Kolorimetrik	OSR6178	Beckman Coulter, ABD
CRP	İmmunotürbidimetrik	OSR6199	Beckman Coulter, ABD
TSH	Kemilüminesans immunoassay	33020	Beckman Coulter, ABD
HbA1c	HPLC	0021849	Tosoh, Japonya
VDBP	Kolorimetrik	E-EL-H1604	Elabscience, ABD
25(OH)D	HPLC	IC3401	Shimadzu, Japonya

Tablo 13. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Kitler

Kit Adı	Yöntem	Katalog Numarası	Firma
Glukoz	Enzimatik kolorimetrik	3LS2	Abbott, ABD
Albumin	Kolorimetrik	7D53	Abbott, ABD
AST	Enzimatik kolorimetrik	7D81	Abbott, ABD
ALT	Enzimatik kolorimetrik	7D56	Abbott, ABD
Total kolesterol	Kolorimetrik	7D62	Abbott, ABD
HDL	Kolorimetrik	3K33	Abbott, ABD
LDL	Kolorimetrik	1E31	Abbott, ABD
Trigliserid	Kolorimetrik	7D74	Abbott, ABD
BUN	Enzimatik kolorimetrik	7D75	Abbott, ABD
Kreatinin	Kolorimetrik	3L81	Abbott, ABD
CRP	İmmunotübidimetrik	6K26	Sentinel, İtalya
TSH	Kemilüminesans immunoassay	08700387	Siemens, ABD
HbA1c	HPLC	270-2456	Bio-Rad, ABD

Tablo 14. İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kullanılan Kitler

Kit Adı	Yöntem	Katalog Numarası	Firma
Glukoz	Enzimatik kolorimetrik	OSR6521	Beckman Coulter, ABD
Albumin	Kolorimetrik	OSR6102	Beckman Coulter, ABD
AST	Enzimatik kolorimetrik	OSR6009	Beckman Coulter, ABD
ALT	Enzimatik kolorimetrik	OSR6007	Beckman Coulter, ABD
Total kolesterol	Kolorimetrik	OSR6186	Beckman Coulter, ABD
HDL	Kolorimetrik	OSR61205	Beckman Coulter, ABD
LDL	Kolorimetrik	OSR6098	Beckman Coulter, ABD
Trigliserid	Kolorimetrik	OSR60118	Beckman Coulter, ABD
BUN	Enzimatik kolorimetrik	OSR6134	Beckman Coulter, ABD
Kreatinin	Kolorimetrik	OSR6178	Beckman Coulter, ABD
CRP	İmmunotübidimetrik	OSR6199	Beckman Coulter, ABD
TSH	Kemilüminesans immunoassay	33820	Beckman Coulter, ABD
HbA1c	HPLC	270-2458	Bio-Rad, ABD

3.5 ARAŞTIRMANIN DEĞİŞKENLERİ

Bağımlı değişken; remnant kolesterol

Bağımsız değişken; T2DM varlığı, biyoaktif D vitamini, yaş, cinsiyet, albumin, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserid ve CRP

3.6 OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

Örnek sayımızı XV. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresinde sunduğumuz “D Vitamini Yetmezliğinde Remnant Kolesterol Yüksekliği” adlı poster bildirimimize göre OpenEpi programında belirledik. Sonuçlarımıza göre D vitamini yetmezliğinde yeterlilik düzeylerine göre remnant kolesterol düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı. OpenEpi programında %95 güven aralığı ve %80 güce göre iki grup arasındaki bu farklılıktan yola çıkarak 209 hasta, 209 kontrol grubuna ihtiyaç görüldü.

On sekiz yaşından büyük 70 yaşından küçük bireyler çalışmamıza dahil edildi. Lipid metabolizmasına etkili ilaç tedavisi almayan (statinler, fibratlar, niacin, retinoik asit, siklosporin...) 471 gönüllüden örnekler alındı. Tiroid, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu olan olgular dışlandıktan sonra araştırmaya dahil edilen gönüllü sayısı;

1. 198 (%49) kişi Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniğine başvuran ADA kriterlerine göre tanı konulan T2DM’li gönüllü hasta grubunu (119 kadın, %60 / 79 erkek, %40)

2. 208 (%51) Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniğine başvuran diyabet olmayan (NDM) gönüllü birey kontrol grubunu oluşturdu (161 kadın, %77 / 47 erkek, %23).

Tanı ve takip için 8-12 saat aç olarak Endokrinoloji ve Metabolizma polikliniğine gelen hastalardan rutinde alınacak HbA1C için EDTA’lı tüp (mor kapaklı) ve rutin biyokimyasal testler için (Açlık glukozu, albumin, AST, ALT, BUN, kreatinin, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserid, TSH) jelli tüpe (sarı kapaklı) kan alınacağı sırada eksik kalan rutin biyokimyasal testler, 25(OH)D, VDBP, CRP için ekstra katkı maddesi olmayan bir tüp (kırmızı kapaklı) daha (10 mL) kan alındı. Alınan ekstra tüpten serum elde edilerek analiz edilinceye kadar -80°C’de saklanmıştır.

3.7 BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Numune toplama işlemi sonlandıktan sonra, -80°C’de saklanan serum örneklerinden DEÜ ML’den hizmet alımı yapılan testler (albumin, ALT, kreatinin, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserid, CRP, TSH), 25(OH)D ve VDBP çalışıldı. Elde edilen tüm sonuçlar Microsoft Excel programına kaydedildi.

Rutin biyokimyasal testlerinden Açlık glukozu (mg/dL), diyabet tanı veya takip amacıyla; albumin, biyoaktif D vitamini hesaplamasında; CRP, inflamatuvar belirteç olarak; AST ve ALT, karaciğer fonksiyon bozukluğu; BUN ve kreatinin, böbrek fonksiyon bozukluğu; TSH, tiroid fonksiyon bozukluğu; total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid lipid profil değerlendirilmesinde kullanılmıştır. HbA1c, diyabet tanı veya takip amacıyla kullanılmıştır. 25(OH)D, insan serumundaki D vitamini düzeyini kantitatif tespit etmek amacıyla değerlendirilmiştir. VDBP, biyoaktif D vitamini hesaplamasında kullanılmıştır.

3.7.1 25(OH)D ÖLÇÜM YÖNTEMİ

Testin amacı; insan serum veya plazmasındaki 25(OH)D düzeyini kantitatif olarak tespit etmek.

Testin prensibi; Yüksek performans likit kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılmaktadır. Ters faz kromatografi yöntemi ile interfere edici ajanlardan uzaklaştırılır, elue edilen numune içindeki 25(OH)D₂ ve 25(OH)D₃ UV dedektör ile eş zamanlı olarak ölçülür.

Gerekli Cihaz ve Reaktif / Kimyasal Malzeme

Cihaz / Ekipman:

İsokratik HPLC sistemi (Shimadzu Prominence)

UV Dedektör

Kromatogram kaydedicisi

Otomatik örnekleyici

Kolon (C18)

Vorteks

2 mL vial ve insertleri

2 mL eppendorf tüpleri

Reaktifler: Kullanıma hazırdır.

Tablo 15. 25(OH)D Kit İçeriği

Katalog No	Komponent	Ad	Miktar
IC3401lm	ELU	Mobil faz	1*1000 mL
IC3401ka	CAL	Kalibratör	1*6 mL
IC3401is	IS	İnternal Standart	1*40 mL
IC3401fr	PREC	Presipitasyon reaktifi	1*50 mL
IC3401ko	CTRL1	Kontrol 1	1*5 mL
IC3401ko	CTRL2	Kontrol 2	1*5 mL

Örnekler

Serum kullanılmış ve analiz edilinceye kadar -80°C’de saklanmıştır. Çalışılmadan önce oda ısısına getirilmiştir.

Testin Yapılışı

Presipitasyon basamağı ekstraksiyonla kombine edilir. Ardından santrifüj sonrası üst kısım HPLC sistemine enjekte edilir. HPLC ayırma işlemi izokratik metod ve 30°C’de ters faz kolonla sağlanır. Kolon kullanımına bağlı olarak her bir ölçüm süresi 15 dakikadır. Elde edilen sinyaller UV dedektör (264 nm dalga boyu) tarafından çizilir.

Ependorf tüpünün içine;

1. 400 µL örnek, kalibratör veya kontrol konuldu.
2. 400 µL IS -20°C’den çıkarılır çıkarılmaz konuldu (iyi presipitasyon için soğuk olmalıdır).
3. Kısa süre vortekslendi.
4. 500 µL PREC konuldu.
5. 2 dakika vortekslendi.
6. 15 dakika 2-8°C’de buzdolabında bekletildi.
7. 10000 g’de 10 dakika santrifüj edildi.
8. Santrifüj sonrası 2 likit faz ve bir solid disk oluşur (presipite olan proteinler). Cihaz için sadece en üstteki likit faz pipetlenerek insert viallere konuldu.

Kromatografik Ayarlar

Kolon materyali: C18

Kolon boyutu: 4,6 X 150 mm

Akış hızı: 1.0 mL/dakika

UV deteksiyon: 264 nm

Enjeksiyon volümü: 50 µL

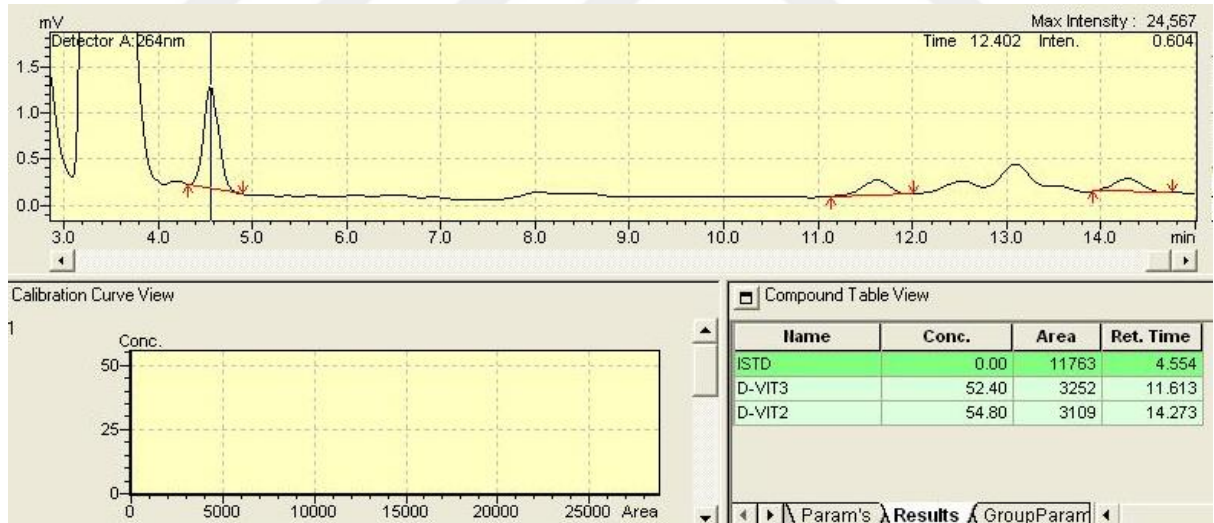
Çalışma süresi: 15 dakika

Isı: 30 °C

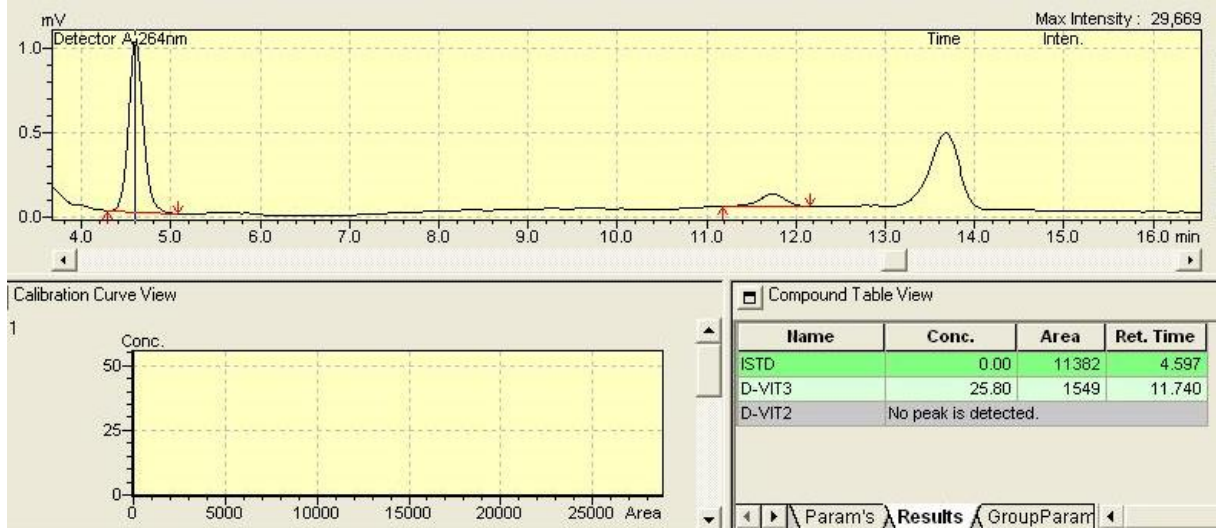
Hesaplama

$$\text{Hasta örnek konsantrasyonu} = \frac{\text{Hasta pik alanı} * \text{kalibratör konsantrasyonu}}{\text{Hasta IS pik alanı}} * F$$

$$F = \frac{\text{Kalibratör IS pik alanı}}{\text{Kalibratör pik alanı}}$$



Şekil 6: 25(OH)D kalibratörünün kromatogram görüntüsü



Şekil 7: 25(OH)D gönüllü bireyin sonucunun kromatogram görüntüsü

3.7.2 VDBP ÖLÇÜM YÖNTEMİ

Testin amacı; insan serum, plazma veya diğer biyolojik sıvılardaki VDBP düzeyini kantitatif olarak tespit etmek.

Test prensibi; “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” (ELISA) metoduna dayanır.

Reaktif / Kimyasal Malzeme

Tablo 16. VDBP Kit İçeriği

Katalog no: E-EL-H1604

Komponent	Miktar
Referans Standart	2 vial
Referans Standart ve Numune Dilüenti	1*20 mL
Konsantre biyotinlenmiş antikor	1*120 µL
biyotinlenmiş algılayan antikor dilüenti	1*10 mL
Konsantre HRP konjugat	1*120 µL
HRP konjugat dilüenti	1*10 mL
Konsantre wash buffer	1*30 mL
Substrat	1*10 mL
Stop solüsyon	1*10 mL

Örnekler

Serum kullanılmış ve analiz edilinceye kadar -80°C 'de saklanmıştır. Çalışılmadan önce oda ısısına getirilmiştir.

Testin Yapılışı

Mikro ELISA plate'ler VDBP'ye spesifik antikorla kaplanmıştır. Standartlar veya örnekler bu mikro ELISA plate'lere eklenerek spesifik antikorla bağlanır. Sonra VDBP ve Avidin-Horseradish peroksidaz (HRP) konjugat için spesifik biyotinlenmiş antikor her bir mikro plate kuyucuğuna eklenir ve inkübe edilir. Antikora bağlanmamış serbest kısımlar yıkanır. Substrat her bir kuyucuğa eklenerek tekrar inkübe edilir. Sadece VDBP, biyotinlenmiş antikor ve Avidin-HRP konjugat içeriği her bir kuyucukta mavi renk oluşturur. Son olarak substrat-enzim reaksiyonunu durdurmak için stop solüsyonun katılması ile mavi renk sarı renge dönüşecektir. Bu renkli kompleksin spektrofotometrik ($450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ dalga boyu) olarak optik dansitesi (OD) ölçülür.

Hesaplama

VDBP konsantrasyonu örneklerin OD'sinin standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplanmasından elde edilir.

3.7.3 HESAPLAMALI DEĞİŞKENLERİN BELİRLENMESİ

3.7.3.1 Biyoaktif D Vitamini

Tablo 17'ye göre hesaplama yapılırken önce ikinci derecede polinomial denklem kullanıldı. 8. denkleme göre serbest D vitamini konsantrasyonu hesaplanıp 9. denklemin ikinci eşitliği ile biyoaktif D vitamini konsantrasyonu bulundu.

Tablo 17. Biyoaktif D Vitamini Hesaplama Tablosu

Numara	Eşitlik
1	$[D_{DBP}] = [D_{total}] - [D_{Alb}] - [D_{serbest}]$
2	$[D_{Alb}] = K_{alb} \cdot [Alb] \cdot [D_{serbest}]$
3	$[D_{serbest}] = [D_{DBP}] \div K_{DBP} \div [DBP_{serbest}]$
4	$[DBP_{serbest}] = [DBP_{total}] - [D_{DBP}]$
	3 ve 4. Eşitlikten
5	$[D_{serbest}] = [D_{DBP}] \div K_{DBP} \div ([DBP] - [D_{DBP}])$
	1 ve 2. Eşitlikten
6	$[D_{DBP}] = [D_{total}] - (K_{alb} \cdot [Alb] + 1) \cdot [D_{serbest}]$
7	$[D_{serbest}] = \{[D_{total}] - (K_{alb} \cdot [Alb] + 1) \cdot [D_{serbest}]\} \div K_{DBP} \div ([DBP] - \{[D_{total}] - (K_{alb} \cdot [Alb] + 1) \cdot [D_{serbest}]\})$
	<i>Bu eşitlikleri basitleştirip 2. derecede polinomial denklem meydana getirilmiştir; $(ax^2 + bx + c = 0)$, $x=[D_{serbest}]$:</i> $a = K_{DBP} \cdot K_{alb} \cdot [Alb] + K_{DBP}$ $b = K_{DBP} \cdot [DBP] - K_{DBP} \cdot [D_{total}] + K_{alb} \cdot [Alb] + 1$ $c = -[D_{total}]$
8	$[D_{serbest}] = [-b + \sqrt{b^2 - 4ac}] \div 2a$
9	$[D_{biyoaktif}] = [D_{serbest}] + [D_{Alb}] = (K_{alb} \cdot [Alb] + 1) \cdot [D_{serbest}]$

$[D_{total}]$ = Total D vitamini konsantrasyonu

$[Alb]$ = Albumin konsantrasyonu

$[DBP]$ = D vitamini bağlayıcı protein konsantrasyonu

$[D_{Alb}]$ = Albumine bağlı D vitamini konsantrasyonu

$[D_{DBP}]$ = DBP'ye bağlı D vitamini konsantrasyonu

$[D_{serbest}]$ = Serbest (bağlı olmayan) D vitamini konsantrasyonu

$[D_{biyoaktif}]$ = Biyoaktif D vitamini konsantrasyonu = $[D_{serbest}] + [D_{Alb}]$

K_{alb} = D vitamini albümin arasındaki afinite katsayısı = $6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$

K_{DBP} = D vitamini ve DBP arasında afinite katsayısı = $7 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$

NDM grubundaki D vitamini yeterli düzeyde olan (30 ve üstü) kişilerin, 5. persentil değeri alındığında biyoaktif D vitamini eşik değeri 3,56 bulunmuştur. Bu değerden üst değerler yüksek, altındaki değerler düşük olarak tanımlanmıştır.

3.7.3.2 Remnant Kolesterol

Remnant Kolesterol = Total Kolesterol – (HDL Kolesterol + LDL Kolesterol) (110)

NDM grubundaki trigliserid <150 mg/dL, total kolesterol <200 mg/dL olan kişilerin 95. persentil değeri alındığında remnant kolesterol eşik değeri 26,56 bulunmuştur. Bu değerden üst değerler yüksek, altındaki değerler düşük olarak tanımlanmıştır.

3.7.3.3 LDL

Trigliserid 400 mg/dL ve üstündeki hastalarda LDL direkt ölçümü yapıldı. Trigliserid 400 mg/dL altındaki değerlerde Friedewald formülü kullanıldı. Bu formül şu şekildedir:

LDL Kolesterol = Total Kolesterol – (HDL Kolesterol + Trigliserid/5)

3.7.3.4 nonHDL

nonHDL = Total kolesterol – HDL Kolesterol

3.8 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS for Windows 23.0” programı ile yapıldı. 18-70 yaş arası bireyler diyabet tanısı olup olmamasına göre sınıflandırıldı.

Ölçümlerin normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov-Smirnov testi” ile değerlendirildi. Ölçümle belirlenen değişkenlerin dağılım ölçütleri (ortalama, standart sapma, medyan, minimum değer, maksimum değer) hesaplandı.

Tek değişkenli analizlerde sürekli verilerin ortalamalarının karşılaştırılmasında “Mann-Whitney U” testi uygulandı. Korelasyon analizleri “Spearman testi” ile yapıldı. Sayımla belirlenen değişkenlerin karşılaştırılmasında “ki-kare analizleri” kullanıldı. Ki-kare analiz sonuçları süreklilik düzeltmesi (continuity correction) ile sunuldu.

Hipotezimiz olan biyoaktif D vitamininin remnant kolesterol için risk faktörü olduğunu gösterebilmek amacıyla lojistik regresyon analizi yapıldı. Lojistik regresyon analizlerinde tek değişkenli analizlerdeki remnant kolesterolü etkileyen değişkenler ve olası karıştırıcı değişkenler alınarak NDM, DM ve tüm grup için modeller oluşturuldu. Model 1’de NDM’li grupta bağımsız değişken olarak yaş, cinsiyet, CRP, biyoaktif D vitamini alındı. Model 2’de DM’li hastalarda yaş, cinsiyet, CRP, biyoaktif D vitamini bağımsız değişken olarak analize dahil edilirken model 3’te tüm bireylerde bağımsız değişken olarak yaş, cinsiyet, CRP, biyoaktif D vitamini, T2DM varlığı alındı. Model 4’te

ise model 3'teki değişkenlere ek olarak biyoaktif D vitamini ve T2DM'nin remnant kolesterol için etkileşim (interaction) durumu incelendi. Bunun için model 3'te belirtilen değişkenlere ek olarak "biyoaktif D vitamini X T2DM" çarpım (multiplicative) değişkeni ayrı bir değişken olarak modele eklendi. Sonuçlar odds ratio (OR) ve %95 güven aralığı şeklinde verildi.

Tüm testlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4 BULGULAR

4.1 ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR

Çalışma grubu 208 NDM olan kişi ve 198 T2DM olan olgu olmak üzere toplam 406 erişkinden oluşmaktadır.

4.1.1 Yaş

Çalışma grubunun yaş özellikleri tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18. Çalışma Grubunun Yaş Özellikleri

Grup	n	Ortalama $\pm$ SS	Medyan	Minimum	Maksimum	p
NDM	208	44,6 $\pm$ 12,4	44	19	69	<0,001*
DM	198	53,8 $\pm$ 9,4	55	21	66	

Grupların yaşları karşılaştırıldığında, DM’li grubun yaşının, NDM olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p<0,001$).

4.1.2 Cinsiyet

Grupların cinsiyet dağılımları incelendiğinde diyabetlilerde 79 (%39,9), NDM grubunda ise 47 (%22,6) erkek saptandı. DM’li grupta erkek hasta oranının anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$).

4.1.3 Biyokimyasal Testlerin Sonuçları

Ölçülen ve hesaplanan biyokimyasal testlerin sonuçları Tablo 19’da yer almaktadır.

Tablo 19. Biyokimyasal Testlerin Sonuçları

	NDM (n=208)			DM (n=198)			p
	Ortalama± SS	Medyan	Minimum- Maksimum	Ortalama± SS	Medyan	Minimum- Maksimum	
Glukoz (mg/dL)	93,4 ± 10	92	68-127	159 ± 66	139	45-429	<0.001*
Kreatinin (mg/dL)	0,76 ± 0,14	0,75	0,47-1,22	0,8 ± 0,16	0,79	0,44-1,4	0.002**
AST (U/L)	20 ± 7,9	18	11-81	19 ± 6,8	18	9-46	0,345
ALT (U/L)	21 ± 11,9	17	6-76	24 ± 12,1	21	5-64	0,002**
Trigliserid (mg/dL)	127 ± 62	112	30-422	175 ± 112	144	42-981	<0.001*
Total Kolesterol (mg/dL)	212 ± 39	211	85-311	216 ± 44	209	106-418	0,833
HDL (mg/dL)	55 ± 11,8	54	30-98	49 ± 11,8	48	21-86	<0.001*
LDL (mg/dL)	132 ± 34	129	19-225	134 ± 37	128	42-291	0,885
TSH (m[IU]/L)	1,91 ± 1,11	1,64	0,03-5,59	1,92 ± 1,07	1,64	0,35-5,97	0,490
CRP (mg/mL)	4 ± 3,9	2,15	0,02-26,7	7,3 ± 17,1	3,7	0,05-205,8	<0.001*
HbA1c (%)	5,5 ± 0,4	5,5	4,5-6,7	7,4 ± 1,6	6,9	5,2-13,3	<0.001*
Albumin (g/dL)	4,4 ± 0,28	4,41	3,7-5,1	4,4 ± 0,27	4,4	3,2-5	0,488
VDBP (ng/mL)	136 ± 53	129	49-420	145 ± 61	133	49-514	0,346
D vitamini (ng/mL)	20,6 ± 12	19	2,1-82,3	19,4 ± 15	15	1,3-96,7	0,003**
nonHDL (mg/dL)	157 ± 37	158	25-261	166 ± 42	160	71-354	0,125
Remnant Kolesterol (mg/dL)	25 ± 12	22	6-69	32 ± 15	28	8-76	<0.001*
Serbest D vitamini (pg/mL)	11,4 ± 8,4	9,8	0,9-48	10,2 ± 9,5	8	0,7-71,3	0,005**
BiyoDvit (ng/mL)	4,5 ± 3,3	3,9	0,38-18,66	4 ± 3,6	3,1	0,27-26,83	0,005**
* p <0.001, ** p <0.05							

DM'li hastalarda NDM'li gruba göre glukoz, trigliserid, CRP, HbA1c, remnant kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Yine DM'li hastalarda NDM'li gruba göre Kreatinin ve ALT istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0,05$).

DM'li hastalarda NDM'li gruba göre HDL düzeyi ($p<0,001$), D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini ($p<0,05$) anlamlı derecede düşük bulundu. Diğer testler açısından diyabetli hastalar ve diyabetli olmayan bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Cinsiyete göre biyokimya analizi sonuçları incelendiğinde kadınlarda erkeklere göre HDL düzeyleri daha yüksek (sırasıyla; ortalama $\pm$ ss = $55 \pm 11,8$, ortalama $\pm$ ss = 46 ± 11 ve $p<0,001$), trigliserid (sırasıyla; ortalama $\pm$ ss = 140 ± 76 , ortalama $\pm$ ss = 167 ± 118 ve $p=0,035$) ve albümin düzeyleri daha düşük (sırasıyla; ortalama $\pm$ ss = $4,4 \pm 0,24$, ortalama $\pm$ ss = $4,5 \pm 0,31$ ve $p=0,02$) bulundu. Diğer biyokimyasal parametreler anlamlı değildi.

Tablo 20. Tüm Grupta Remnant Kolesterol ile Cinsiyet İlişkisi

	Kadın (n=280)			Erkek (n=126)			p
	Ortalama $\pm$ SS	Medyan	Minimum-Maksimum	Ortalama $\pm$ SS	Medyan	Minimum-Maksimum	
Remnant Kolesterol (mg/dL)	27 ± 14	24,5	6-76	31 ± 16	25,5	8-74	0,024*
* p <0.05							

Tüm grupta remnant kolesterol düzeylerinin cinsiyete göre karşılaştırılması yapıldığında erkeklerde kadınlardan anlamlı daha yüksek bulundu ($p=0,024$)

NDM'li ve DM'li grupta remnant kolesterol düzeyleri cinsiyete göre anlamlı olarak farklı değildi ($p=0,081$; $p=0,745$).

4.2 KORELASYON ANALİZLERİ SONUÇLARI

Remnant kolesterol ile diğer değişkenler arasındaki korelasyon analizleri çalışma grubuna dahil edilen tüm bireylerde ve NDM ve DM'li gruplarda ayrı ayrı yapıldı. Elde edilen veriler Tablo 21'de görülmektedir.

Tablo 21. Bağımsız Değişkenler ile Remnant Kolesterolün Korelasyon Analizi Sonuçları

	NDM (n=208)		DM (n=198)		Total (n=406)	
	Remnant Kolesterol		Remnant Kolesterol		Remnant Kolesterol	
	r	p	r	p	r	p
Yaş	0,226	0,001**	0,019	0,795	0,218	<0,001*
TG (mg/dL)	0,970	<0,001*	0,964	<0,001*	0,969	<0,001*
Total Kolesterol (mg/dL)	0,439	<0,001*	0,418	<0,001*	0,414	<0,001*
HDL (mg/dL)	-0,293	<0,001*	-0,364	<0,001*	-0,370	<0,001*
LDL (mg/dL)	0,279	<0,001*	0,242	0,001**	0,245	<0,001*
CRP (mg/mL)	0,277	<0,001*	0,054	0,452	0,236	<0,001*
Albumin (g/dL)	-0,019	0,783	0,131	0,066	0,033	0,501
VDBP (ng/mL)	0,208	0,003**	0,048	0,505	0,136	0,006**
D Vitamini (ng/mL)	-0,146	0,035**	-0,133	0,061	-0,165	0,001**
nonHDL (mg/dL)	0,528	<0,001*	0,540	<0,001*	0,541	<0,001*
Serbest D vit (pg/mL)	-0,210	0,002**	-0,113	0,112	-0,186	<0,001*
BiyoDvit (ng/mL)	-0,208	0,003**	-0,100	0,160	-0,181	<0,001*
*p <0,001 ** p <0,05						

NDM'li bireylerde; remnant kolesterolün D vitamini ile çok zayıf, serbest D vitamini, biyoaktif D vitamini ve HDL ile zayıf olmak üzere negatif; yaş, LDL, CRP ve VDBP ile zayıf olmak üzere pozitif; total kolesterol ve nonHDL ile orta düzeyde olmak üzere pozitif; trigliserid ile çok kuvvetli olmak üzere pozitif yönde korelasyonu bulundu.

DM'li hastalarda; remnant kolesterolün HDL ile zayıf olmak üzere negatif; LDL ile zayıf olmak üzere pozitif; total kolesterol ve nonHDL ile orta düzeyde olmak üzere pozitif; trigliserid ile çok kuvvetli olmak üzere pozitif yönde korelasyonu gözlendi.

Tüm bireylerde; remnant kolesterolün D vitamini, Serbest D vitamini ve BioDvit ile çok zayıf olmak üzere negatif; HDL ile zayıf olmak üzere negatif; VDBP ile çok zayıf olmak üzere pozitif; yaş, LDL, CRP ile zayıf olmak üzere pozitif; total kolesterol ve nonHDL ile orta düzeyde olmak üzere pozitif; trigliserid ile çok kuvvetli olmak üzere pozitif yönde korelasyonu saptandı.

Lipid profili dışındaki değişkenler NDM, DM ve tüm bireyler ayrı ayrı gruplar halinde korelasyon analizi yapılarak elde edilen veriler Tablo 22'de gösterilmiştir.

Tablo 22. Korelasyon Analizi Sonuçları

A. NDM		Yaş	CRP	VDBP	D vitamini	Serbest D vitamini	BiyoDvit
Yaş	r		0,124	0,070	0,060	0,031	0,012
	p		0,074	0,313	0,389	0,655	0,867
CRP	r			0,095	-0,083	-0,094	-0,110
	p			0,170	0,235	0,176	0,112
VDBP	r				-0,045	-0,447	-0,453
	p				0,520	<0,001*	<0,001*
D vitamini	r					0,876	0,871
	p					<0,001*	<0,001*
Serbest D vitamini	r						0,995
	p						<0,001*
B. DM		Yaş	CRP	VDBP	D vitamini	Serbest D vitamini	BiyoDvit
Yaş	r		0,084	-0,073	0,199	0,186	0,173
	p		0,242	0,309	0,005**	0,009**	0,015**
CRP	r			0,158	-0,129	-0,205	-0,219
	p			0,028**	0,073	0,004**	0,002**
VDBP	r				-0,032	-0,427	-0,453
	p				0,659	<0,001*	<0,001*
D vitamini	r					0,876	0,871
	p					<0,001*	<0,001*
Serbest D vitamini	r						0,995
	p						<0,001*
C. Tüm Grup		Yaş	CRP	VDBP	D vitamini	Serbest D vitamini	BiyoDvit
Yaş	r		0,176	0,011	0,053	0,031	0,019
	p		<0,001*	0,825	0,283	0,531	0,705
CRP	r			0,129	-0,128	-0,169	-0,184
	p			0,01**	0,01**	0,01**	<0,001*
VDBP	r				-0,045	-0,442	-0,442
	p				0,368	<0,001*	<0,001*
D vitamini	r					0,880	0,878
	p					<0,001*	<0,001*
Serbest D vitamini	r						0,996
	p						<0,001*
*p <0,001 ** p <0,05							

NDM'li bireylerde VDBP ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında orta derecede olmak üzere negatif; D vitamini ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini, serbest D vitamini ile biyoaktif D vitamini arasında çok güçlü olmak üzere pozitif yönde korelasyon gözlemlendi.

DM'li hasta grubunda VDBP ile CRP çok zayıf olmak üzere pozitif; VDBP ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında orta derecede olmak üzere negatif korelasyon saptandı. D vitamini ile yaş arasında zayıf olmak üzere pozitif; D vitamini ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında çok güçlü olmak üzere pozitif yönde korelasyon bulundu. Serbest D vitamini ile yaş arasında çok zayıf olmak üzere pozitif; serbest D vitamini ile CRP arasında zayıf olmak üzere negatif; serbest D vitamini ile biyoaktif D vitamini arasında çok güçlü olmak üzere pozitif yönde korelasyon gözlemlendi. Biyoaktif D vitamini ile yaş arasında pozitif yönde çok zayıf; biyoaktif D vitamini ile CRP arasında negatif yönde zayıf korelasyon saptandı.

Tüm bireylerde VDBP ile CRP çok zayıf olmak üzere pozitif; VDBP ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında orta derecede olmak üzere negatif korelasyon bulundu. D vitamini ile CRP arasında çok zayıf olmak üzere negatif; D vitamini ile serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini arasında çok güçlü olmak üzere pozitif yönde korelasyon gözlemlendi. Serbest D vitamini ile CRP arasında çok zayıf olmak üzere negatif; serbest D vitamini ile biyoaktif D vitamini arasında çok güçlü olmak üzere pozitif yönde korelasyon saptandı. Biyoaktif D vitamini ile CRP arasında negatif yönde çok zayıf korelasyon bulundu.

VDBP ile albumin arasında hiçbir grupta korelasyon saptanmadı.

Tablo 23. Lipid Profili ve VDBP Arasındaki Korelasyon Katsayıları

	NDM (n=208)		DM (n=198)		Total (n=406)	
	VDBP (ng/mL)		VDBP (ng/mL)		VDBP (ng/mL)	
	r	p	r	p	r	p
TG (mg/dL)	0,213	0,002*	0,063	0,375	0,143	0,004*
Total Kolesterol (mg/dL)	0,144	0,038*	0,197	0,005*	0,172	0,001*
HDL (mg/dL)	0,054	0,441	0,058	0,415	0,046	0,354
LDL (mg/dL)	0,090	0,194	0,196	0,006*	0,142	0,004*
Remnant Kolesterol (mg/dL)	0,208	0,003*	0,048	0,505	0,136	0,006*
nonHDL (mg/dL)	0,132	0,058	0,185	0,009*	0,159	0,001*
*p<0,05						

NDM'li bireylerde VDBP ile trigliserid ve remnant kolesterol arasında zayıf derecede olmak üzere pozitif; total kolesterol arasında çok zayıf olmak üzere pozitif yönde korelasyon gözlendi.

DM'li hasta grubunda VDBP ile total kolesterol, LDL ve nonHDL arasında çok zayıf olmak üzere pozitif yönde korelasyon bulundu.

Tüm bireylerde VDBP ile trigliserid, total kolesterol, LDL, remnant kolesterol ve nonHDL arasında çok zayıf olmak üzere pozitif yönde korelasyon saptandı.

Tablo 24. Lipid Profili ve CRP Arasındaki Korelasyonlar

	NDM (n=208)		DM (n=198)		Total (n=406)	
	CRP (mg/mL)		CRP (mg/mL)		CRP (mg/mL)	
	r	p	r	p	r	p
TG (mg/dL)	0,278	<0,001*	0,075	0,299	0,245	<0,001*
Total Kolesterol (mg/dL)	0,151	0,029**	-0,001	0,987	0,086	0,086
HDL (mg/dL)	-0,205	0,003**	-0,068	0,343	-0,187	<0,001*
LDL (mg/dL)	0,139	0,045**	0,024	0,736	0,081	0,106
Remnant Kolesterol (mg/dL)	0,277	<0,001*	0,054	0,452	0,236	<0,001*
nonHDL (mg/dL)	0,223	0,001**	0,012	0,867	0,141	0,005**
*P<0,001, **p<0,05						

NDM'li bireylerde CRP ile trigliserid, remnant kolesterol ve nonHDL arasında zayıf derecede, total kolesterol ve LDL arasında çok zayıf olmak üzere pozitif; HDL arasında zayıf derecede negatif yönde korelasyon gözlendi.

Tüm bireylerde CRP ile trigliserid ve remnant kolesterol arasında zayıf derecede, nonHDL arasında çok zayıf olmak üzere pozitif; HDL arasında çok zayıf derecede negatif yönde korelasyon saptandı.

DM'li hastalarda CRP ile lipid profili arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı.

4.3 TEK DEĞİŞKENLİ ANALİZLER

NDM, DM ve tüm grupta bağımsız değişkenlerin remnant kolesterol eşik değerine (26,56 mg/dL) göre karşılaştırılması yapıldı. Elde edilen veriler tablo 24-26'da gösterilmiştir.

Tablo 25. NDM'li Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile İlişkisi

	Remnant Kolesterol Düşük (n=141)			Remnant Kolesterol Yüksek (n=67)			p
	Ortalama±SS	Medyan	Minimum-Maksimum	Ortalama±SS	Medyan	Minimum-Maksimum	
Yaş	44 ± 12,7	42	20-69	46,6 ± 11,5	48	19-67	0,085
Trigliserid (mg/dL)	94 ± 40	94	30-422	197 ± 54	186	133-346	<0,001*
Total Kolesterol (mg/dL)	201 ± 39	198	85-304	229 ± 36	227	153-311	<0,001*
HDL (mg/dL)	57 ± 12	56	30-96	51 ± 12	49	30-98	<0,001*
LDL (mg/dL)	126 ± 34	121	19-216	139 ± 32	141	73-225	0,012**
CRP (mg/mL)	3,1 ± 4,3	1,6	0,02-26,6	5,3 ± 5	4,1	0,2-26,7	<0,001*
Albumin (g/dL)	4,4 ± 0,26	4,4	3,7-5,1	4,4 ± 0,3	4,4	3,7-5,1	0,441
VDBP (ng/mL)	134 ± 61	121	49-420	153 ± 53	145	71-367	0,001**
D vitamini (ng/mL)	22,3 ± 14,4	19,2	2,14-82,28	20,1 ± 11,1	18,6	3,1-60,76	0,454
nonHDL (mg/dL)	144 ± 36	143	25-237	178 ± 31	176	109-261	<0,001*
Remnant Kolesterol (mg/dL)	18 ± 5	19	5-27	39 ± 11	37	27-69	<0,001*
Serbest D vitamini (pg/mL)	12,5 ± 8,9	11,3	0,9-48	9,7 ± 6,5	8,3	1,5-41	0,031**
BiyoDvit (ng/mL)	4,9 ± 3,44	4,61	0,38-18,66	3,81 ± 2,58	3	0,61-16,82	0,031**
* p <0.001							
** p <0.05							

NDM'li grupta remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre trigliserid, total kolesterol, CRP ve non-HDL düzeyleri istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,001$). Yine NDM'li grupta remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre LDL ve VDBP düzeyleri istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,05$).

Ayrıca NDM'li grupta remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre HDL düzeyleri anlamlı olarak düşüktü ($p<0,001$). Yine NDM'li grupta remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). NDM'li grupta remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre yaş, albumin ve D vitamini düzeyleri anlamlı değildi.

Tablo 26. DM'li Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile İlişkisi

	Remnant Kolesterol Düşük (n=90)			Remnant Kolesterol Yüksek (n=108)			p
	Ortalama±SS	Medyan	Minimum- Maksimum	Ortalama±SS	Medyan	Minimum- Maksimum	
Yaş	53 ± 10	55	21-66	54 ± 8,5	55	32-66	0,793
Trigliserid (mg/dL)	102 ± 40	103	42-402	230 ± 112	197	133-981	<0,001*
Total Kolesterol (mg/dL)	194 ± 36	190	106-280	228 ± 45	225	125-418	<0,001*
HDL (mg/dL)	53 ± 12	53	23-86	46 ± 11	46	21-83	<0,001*
LDL (mg/dL)	121 ± 32	117	60-202	139 ± 40	135	42-291	<0,001*
CRP (mg/mL)	9,8 ± 24	4,2	0,05-205,8	5,6 ± 6,5	3,6	0,13-56	0,969
Albumin (g/dL)	4,4 ± 0,25	4,4	3,8-5,1	4,4 ± 0,28	4,4	3,2-5	0,141
VDBP (ng/mL)	144 ± 67	130	52-514	14 ± 50	137	49-299	0,587
D vitamini (ng/mL)	20,73 ±16,1	16,86	1,32-96,71	17,57 ± 12,95	13,95	2,55-83,49	0,094
nonHDL (mg/dL)	141 ± 33	137	71-227	181 ± 41	177	91-354	<0.001*
Remnant Kolesterol (mg/dL)	20 ± 5	21	8-26	43 ± 13	39	27-76	<0.001*
Serbest D vitamini (pg/mL)	11,2 ± 10,9	8,6	0,7-71,3	9,2 ± 7,7	7,6	1,1-44,8	0,154
BiyoDvit (ng/mL)	4,38 ± 4,15	3,26	0,27-26,83	3,66 ± 3,05	2,93	0,33-18,07	0,199
* p <0.001							
** p <0.05							

DM'li hastalarda remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre trigliserid, total kolesterol, LDL ve non-HDL düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Ayrıca DM'li hastalarda remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre HDL düzeyleri anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,001$). DM'li hastalarda remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre yaş, CRP, albümin, VDBP, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini anlamlı değildi.



Tablo 27. Tüm Grupta Bağımsız Değişkenlerin Remnant Kolesterol ile ilişkisi

	Remnant Kolesterol Düşük (n=231)			Remnant Kolesterol Yüksek (n=175)			p
	Ortalama±SS	Medyan	Minimum- Maksimum	Ortalama±SS	Medyan	Minimum- Maksimum	
Yaş	47 ±12,7	49	20-69	51 ± 10,4	53	19-67	0,003**
Trigliserid (mg/dL)	97 ± 40	97	30-422	217 ± 96	192	133-981	<0,001*
Total Kolesterol (mg/dL)	198 ± 38	197	85-304	228 ± 41	225	125-418	<0,001*
HDL (mg/dL)	55,5± 12	56	23-96	48 ± 11	47	21-98	<0,001*
LDL (mg/dL)	124 ± 33	120	19-216	139 ± 36	137	42-291	<0,001*
CRP (mg/mL)	5,7 ± 15,6	2,1	0,02-205,8	5,5 ± 6	3,7	0,13-56	<0,001*
Albumin (g/dL)	4,4 ± 0,26	4,4	3,7-5,1	4,4 ± 0,08	4,4	3,2-5	0,736
VDBP (ng/mL)	138 ± 64	124	49-514	147 ± 52	140	49-367	0,005**
D vitamini (ng/mL)	21,7 ± 15,1	19	1,32-96,71	18,53 ± 12,3	14,7	2,55-83,49	0,024**
nonHDL (mg/dL)	143 ± 35	143	25-237	180 ± 38	175	91-354	<0,001*
Remnant Kolesterol (mg/dL)	19 ± 5	19	6-26	41 ± 12	39	27-76	<0,001*
Serbest D vitamini (pg/mL)	12 ± 9,7	9,9	0,7-71,3	9,4 ± 7,2	7,8	1,1-44,8	0,003**
BiyoDvit (ng/mL)	4,7 ± 3,73	3,98	0,27-26,83	3,72 ± 2,87	3	0,33-18,07	0,003**
* p <0.001							
** p <0.05							

Tüm bireylerde remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre trigliserid, total kolesterol, LDL, CRP ve non-HDL düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Yine tüm bireylerde remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre yaş ve VDBP düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0,05$).

Ayrıca tüm bireylerde remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre HDL anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$). Tüm bireylerde remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,05$). Tüm bireylerde remnant kolesterolü yüksek kişilerde remnant kolesterolü düşük kişilere göre sadece albumin düzeyi anlamlı değildi.

Biyoaktif D Vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi açıklamak üzere kıkare analizleri; çalışma grubuna dahil edilen tüm bireylerde ve NDM ve DM'li gruplarda ayrı ayrı yapıldı. Remnant kolesterol için saptadığımız 26,56 mg/dL, biyoaktif D vitamini için 3,56 ng/mL eşik değer olarak kullanılmıştır. Analiz sonuçları Tablo 27'de gösterilmiştir.

Tablo 28. Biyoaktif D Vitamini ile Remnant Kolesterol Arasındaki Kikare Analizleri

A. NDM’li Grup, B. DM’li Grup, C. Tüm Grup

A. NDM		Remnant Kolesterol			p
		Düşük (n,%*)	Yüksek (n,%*)	Total (n,%*)	0,014**
BioDvit	Düşük	57 %58,8	40 %41,2	97 %100	
	Yüksek	84 %75,7	27 %24,3	111 %100	
	Total	146 %67,8	62 %32,2	208 %100	
B. DM		Remnant Kolesterol			p
		Düşük (n,%*)	Yüksek (n,%*)	Total (n,%*)	0,591
BioDvit	Düşük	49 %43,4	64 %56,6	113 %100	
	Yüksek	41 %48,2	44 %51,8	85 %100	
	Total	94 %47,5	104 %52,5	198 %100	
C. Tüm Grup		Remnant Kolesterol			p
		Düşük (n,%*)	Yüksek (n,%*)	Total (n,%*)	0,009**
BioDvit	Düşük	106 %50,5	104 %49,5	210 %100	
	Yüksek	125 %63,8	71 %36,2	196 %100	
	Total	231 %56,9	175 %43,1	406 %100	
*satır yüzde, **p<0,05					

NDM grubunda; biyoaktif D vitamini düzeyi düşük olan bireylerin %41,2’si, biyoaktif D vitamini düzeyi yüksek olan bireylerin %24,3’ünde remnant kolesterol düzeyleri eşik değerin üzerinde saptandı (p=0,014).

Tüm grupta; biyoaktif D vitamini düzeyi düşük olan bireylerin %49,5’u, bioDvit düzeyi yüksek olan bireylerin %33,7’sinin remnant kolesterol düzeyleri yüksek bulundu (p=0,006).

DM’li grupta; biyoaktif D vitamini ve remnant kolesterol düzeyleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı.

4.4 LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ

Biyoaktif D Vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi açıklamak için lojistik regresyon analizleri; çalışma grubuna dahil edilen tüm bireylerde ve NDM ve DM'li gruplarda ayrı ayrı yapıldı.

Tablo 29. Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları

A. NDM, B. DM, C. Tüm grup

A. NDM	Bağımlı Değişken - Remnant Kolesterol		
Bağımsız Değişkenler	OR	p	%95 Güven Aralığı
Cinsiyet	1,165	0,677	0,567-2,395
Yaş	1,021	0,098	0,996-1,047
CRP	1,100	0,004**	1,031-1,173
BiyoDvit	2,011	0,029**	1,075-3,760
B. DM	Bağımlı Değişken - Remnant Kolesterol		
Bağımsız Değişkenler	OR	p	%95 Güven Aralığı
Cinsiyet	0,705	0,247	0,390-1,274
Yaş	1,016	0,316	0,985-1,048
CRP	0,970	0,117	0,933-1,008
BiyoDvit	1,351	0,315	0,751-2,431
C. Tüm Grup	Bağımlı Değişken - Remnant Kolesterol		
Bağımsız Değişkenler	OR	p	%95 Güven Aralığı
Cinsiyet	0,847	0,472	0,539-1,332
Yaş	1,018	0,059	0,999-1,038
CRP	0,992	0,411	0,972-1,012
BiyoDvit	1,688	0,013*	1,117-2,552
T2DM varlığı	2,215	0,001*	1,413-3,473
*p<0,05			

Model 1; NDM'li grupta biyoaktif D vitamini düşüklüğü biyoaktif D vitamini yüksekliğine göre remnant kolesterolü eşik değerinin üstüne çıkarmada 2 kat riskli bulundu ($p=0,029$). Yine NDM'li grupta CRP düzeylerinin artışı remnant kolesterolü eşik değerinin üstüne çıkarmada 1,1 kat riskli saptandı ($p=0,004$).

Model 2; DM'li grupta hiçbir değişken remnant kolesterol eşik değeri açısından riskli bulunmadı.

Model 3; tüm bireylerde biyoaktif D vitamini düşüklüğü biyoaktif D vitamini yüksekliğine göre remnant kolesterolü eşik değerinin üstüne çıkarmada 1,7 kat riskli bulundu ($p=0,013$). Yine tüm bireylerde T2DM varlığı remnant kolesterol için 2,2 kat risk faktörü olarak saptandı ($p<0,001$).

Tablo 30. Biyoaktif D Vitamininin Diyabetten Bağımsız Olarak Kendi Başına Remnant Kolesterol Etkisi

Tüm Grup	Bağımlı Değişken - Remnant Kolesterol		
Bağımsız Değişkenler	OR	p	%95 Güven Aralığı
Cinsiyet	0,850	0,412	0,542-1,337
Yaş	1,018	0,070	0,999-1,037
CRP	0,991	0,389	0,972-1,011
BiyoDvit	2,185	0,010*	1,204-3,967
T2DM varlığı	2,925	0,001*	1,533-5,579
BiyoDvit X T2DM	0,605	0,235	0,264-1,386
* $p<0,05$			

Model 4; tüm bireylerde biyoaktif D vitamininin diyabetten bağımsız olarak kendi başına remnant kolesterol eşik değerini 2,19 kat artırdığı gözlemlendi ($p=0,010$).

25(OH)D vitamininin yetersiz ve eksik düzeylerde olmasının remnant kolesterol üzerine etkisi olup olmadığını incelemek amacıyla lojistik regresyon analizleri yapıldı.

Tablo 31. 25(OH)D Yeterli Düzeylerinin Altında Remnant Kolesterol Etkisi

	Bağımlı Değişken - Remnant Kolesterol		
	OR	p	%95 Güven Aralığı
NDM	1,656	0,236	0,719-3,816
DM	1,179	0,692	0,522-2,664
Tüm grup	1,542	0,130	0,880-2,703

NDM, DM ve tüm grupta riskin anlamlı derecede olmadığı saptandı.

5 TARTIŞMA

Tip 2 Diabetes Mellitus; β hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci veya karaciğerde glukoz üretiminin baskılanamaması sonucu oluşan metabolik bir hastalıktır (12). Diyabetli hastalarda ek olarak trigliserid metabolizmasında bozukluklar ve aterojenik lipid profili varlığı gösterilmiştir (39).

Özellikle 45 yaş üstü riskli grup olarak kabul görmekle birlikte yaşla T2DM gelişme riski artmaktadır (10,14). Yaşlanmaya bağlı mitokondride değişiklikler meydana gelmesi ve buna bağlı olarak hücresel fonksiyonların azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (111). Hücre içi reaktif oksijen radikallerinin üretimi yaşam süresinin başlıca belirleyicisidir (112). Yaşlanmanın karakteristik bir özelliği de kronik inflamasyon olarak belirtilmiştir (111). Yapılan bir çalışmada tümör nekrozis faktör (TNF) - alfa üretiminin baskılanması ile insülin fonksiyonunun olumlu yönde etkilendiği saptanmıştır (113). Yaşlılarda TNF-alfa üretiminin baskılanamaması insülin duyarlılığının azalmasına neden olabilir. Amerika Birleşik Devletlerinde 2015 yılında yapılan prevalans çalışmasında yaşla birlikte T2DM prevalansının arttığı gözlemlenmiştir (114). Biz de çalışmamızda, DM'li hasta grubunda diyabet olmayan gruba göre yaş ortalamasını daha yüksek saptadık.

Dünyada erkekler ve kadınlarda obezite prevalansı benzerdir. Her iki cinsiyette de obezite T2DM ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Kadınlarda vücut yağ oranı daha fazla olmakla birlikte periferik kısımda fazladır, erkeklerde ise abdominal bölgede yağ dokusu daha fazladır (android obezite) (115). Dünyada diyabetli hastalar üzerinde yapılan prevalans araştırmalarında cinsiyet dağılımına bakıldığında 70 yaşına kadar olan bireylerde erkek dağılımı kadınlara göre daha fazla saptanmıştır (2). Bizim çalışmamızda da 70 yaş altı bireyler çalışmaya dahil edildi ve DM'li hasta grubunda erkeklerin oranı kadınlara göre daha yüksekti.

Epidemiyolojik çalışmalarda D vitamini eksikliği ile aterojenik lipid profili ve koroner arter hastalığı (KAH) gelişme riski arasında ilişki gözlenmiştir (39). Ancak D vitamini takviyesi ile bu riskin azalmadığı bulunmuştur. Benzer durum D vitamini insülin direnci ilişkisi için de geçerlidir. D vitamini eksikliği ile insülin direnci arasındaki ilişki metaanaliz çalışmalarında gösterilmiştir (116). Bu ilişkilerin mekanizmaları arasında iskelet kasına glukoz alımının azalması, pankreasta D vitamini reseptörünün ve 1-alfa hidroksilaz

aktivitesinin gösterilmesi gibi kanıtlar bildirilmiştir (117–120). Bizim sonuçlarımızda da diyabetli hastalarda D vitamini düzeyleri diyabet olmayan gruba göre düşük bulundu.

D vitamini takviyesi ile aterojenik lipid profili ve insülin direncinde iyileşme görülmemesi üzerine çeşitli teoriler ortaya atılmıştır (116). Bu teoriler arasındaki ölçülen 25(OH)D konsantrasyonlarının gerçek aktiviteyi yansıtmadığı, biyoaktif D vitamini düzeylerinin göz önüne alınması gerektiği hipotezi son yıllarda öne sürülmüştür (77). D vitamini dolaşımında başlıca VDBP ile kompleks halinde bulunur. 25(OH)D-VDBP kompleksi dolaşımında VLDL aracılığıyla taşınmaktadır ve D vitamini düzeyleri trigliserid metabolizması ile yakından ilişkilidir (121). Bu nedenle trigliserid metabolizmasının etkilendiği DM’li hastalarda biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi inceledik.

Koroner arter hastalığı tedavisi ve önlenmesinde en çok LDL-K düşürücü ilaçlar üzerinde durulmuştur. Son yıllarda statin kullanımı ile LDL-K öngörülen düzeylere düşürülse de KAH günümüzde başlıca mortalite ve morbidite nedenlerindendir. Benzer şekilde HDL-K düşüklüğü ile KAH riski arasında epidemiyolojik çalışmalarda ilişki gösterilmişse de HDL-K’nın tedavi ile yükseltilmesi riski azaltmada başarılı olamamıştır (96,122). Günümüzde HDL’nin kolesterol konsantrasyonundan çok fonksiyonelliği, partikül sayısı, subfraksiyonu gibi özelliklerinin aterojenite ile ilgili olduğu düşünülmektedir (13). Apo B ve nonHDL kolesterolün LDL kolesterolden daha fazla risk oluşturduğunun gösterilmesi üzerine trigliseridden zengin lipoproteinlerle ilgili araştırmalar yaygınlaşmıştır (123).

Trigliseridden zengin lipoproteinlerin modifiye edilebilir KAH risk faktörü olduğu düşünülmektedir ve bu yüzden olası terapötik hedeflerdendir. Randomize kontrollü çalışmalarda trigliserid düşürücü etkinin KVH gelişimini önlediği gözlenmiştir (122). Dolaşımında başlıca trigliserid taşıyıcısı VLDL’dir. VLDL’nin lipoprotein lipazla metabolizması sonucu trigliserid hidrolizi olmakta ve kolesterol yükü fazla olan IDL ve başlıca aterojenik lipoprotein olan LDL oluşmaktadır. VLDL ve IDL’nin içerdikleri kolesterol, metabolizma sırasında oluştukları için remnant (kalıntı) kolesterol olarak adlandırılmıştır. Toklukta bunlara şilomikron ve şilomikron kalıntıları eklenir. Remnant kolesterol olarak tanımlanan bu aterojenik lipoproteinlerden şilomikronlar ve çapı 75 nm’den büyük VLDL partikülleri damar içinde kalırken küçük VLDL, IDL ve şilomikron

kalıntıları LDL ile birlikte basitçe konsantrasyon bağımlı olarak filtrasyonla arteriyel intimaı geçebilir. Ancak arteriyel media'nın elastik laminasına penetre olamazlar. Küçük partiküller kan basıncı gradiyentine karşı arter lümenine geri dönebilirken trigliseridden zengin lipoproteinler (VLDL, IDL ve şilomikran remnantları) geri dönemez ve intimada kapana kısırlılar (124). Damar duvarında makrofaj infiltrasyonu ile köpük hücrelerini oluşturmaları kolaylaşır (96).

Nakajima ve arkadaşları (125) açlıkta remnantları içeriğine göre remnant lipoprotein trigliserid ve remnant lipoprotein kolesterol olarak ayırmışlar ve iki ayrı analiti direkt yöntemle immunoaffinite jel ile fraksiyonlara ayırarak ölçmüşlerdir. Kontrol grubunda trigliserid 400 mg/dL altındaki değerlerde remnant lipoprotein trigliserid için 95. persentilde eşik değeri 20 mg/dL ve remnant lipoprotein kolesterol için ise 7,5 mg/dL olarak belirlemişlerdir. VLDL4 çalışmasında (43) ise VLDL ve IDL fraksiyonlarını izole ederek hesapladıkları remnant kolesterol eşik değerini 75. persentilde 32, 90. persentilde 41 mg/dL olarak bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda remnant kolesterol için diyabet olmayan kişilerde NCEP önerisi olan trigliserid 150 mg/dL ve total kolesterol 200 mg/dL altındaki kişilerde eşik değeri 26,56 mg/dL olarak saptadık.

Remnant kolesterolün direkt ölçüm yöntemleri zahmetli ve pahalı olduğu için pratikte trigliserid 400 mg/dL'nin altında olan kişilerde total kolesterolden HDL-K ve LDL-K çıkarılarak hesaplanmaktadır. Fraksiyonlamadan remnant kolesterolün direkt ölçümü ve hesaplanan remnant kolesterolün çok iyi korele olduğu saptanmıştır (96). Bu çalışmada 6000'den fazla denekte ölçülen ve hesaplanan remnant kolesterol düzeyleri karşılaştırılmış ve bizim hesaplama bulduğumuz değerlere yakın sonuçlar bildirilmiştir. Yazarlar ölçülen remnant kolesterol sonuçlarının hesaplama bulunandan 19,3 mg/dL başına 5 mg/dL daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenlerden ötürü çalışmamızda hesaplanan remnant kolesterol değerleri kullanılmıştır. Birçok çalışmada olduğu gibi bir Mendelyan randomizasyon çalışmasında da remnant kolesterol hesabı kullanılmıştır (107).

Lipoproteinler her ne kadar dansiteleri ile sınıflandırılıp içerdikleri lipidler ile adlandırılırsalar da esas metabolizmaları taşıdıkları apolipoproteinler aracılığı ile olur. Apolipoproteinler doğal olarak kardiyovasküler hastalık gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Yakın zamanda yayımlanan prospektif bir çalışmada

apolipoproteinler arasında Apo C-II, C-III ve E'nin koroner arter hastalığı gelişiminde güçlü ilişkileri saptanmıştır (122). Bu proteinler trigliseridden zengin lipoproteinlerde bol miktarda bulunur ve bu lipoproteinlerin metabolizmalarını etkileyerek remnant kolesterol oluşumunda rol oynarlar. Bruneck çalışmasına göre Apo C-II, C-III ve E obezite, hipertansiyon, inflamasyon, bozulmuş glukoz metabolizması, lipid parametrelerinden denovo lipogenez göstergesi olan kısa ve doymuş yağ asidi içeren kolesterol esteri ve trigliserid ile kuvvetli ilişkilidir (126). Ayrıca bu apolipoproteinler HDL-K'dan bağımsız olarak KVVH'larla ilişkili bulunmuştur (122,126).

Bizim çalışmamızda olduğu gibi Pechlaner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da (122) açlıkta ölçümler yapılmış ve VLDL daha baskın olarak gözlenmiştir. Apo C-II ve CIII'ün plazma trigliserid düzeylerine zıt etkileri vardır. Apo C-II, LPL aktivitesini artırarak küçük-yoğun VLDL ve remnantlarının oluşumunu sağlar. Apo C-III ise bu enzimin aktivitesini inhibe ederek hipertrigliseridemiye tetikler. Apo C-III, LPL'den bağımsız olarak da trigliseridden zengin lipoproteinlerin klirensini bozmaktadır. Bu durumun trigliseridden zengin lipoproteinlerin hepatik LDL reseptör (LDLR) ve LDL reseptör ilişkili protein 1 (LRP-1) aracılığıyla olan hepatik klirensinin inhibe olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (122). Framingham çalışmasında Apo C-III ile MI ve anjina pectoris arasında ilişki saptanmıştır (123). Sonuçta Apo C-III hem LPL üzerinden hem de LPL'den bağımsız olarak trigliseridden zengin lipoproteinlerin metabolizmasını düzenlemektedir. Apo E ise remnantların karaciğer tarafından alınması için ApoB ile birlikte LDLR ve LDLRP için ligand görevi görür. Apo E inhibisyonu sonucu net etki olarak remnantların klirensinin azalması gözlenir (122).

Apo C-III fonksiyon kaybı mutasyonlarına sahip kişilerde trigliserid düşüklüğü ile birlikte KAH ve strok riskinde azalma görülmüştür (127). Bu gözlemler sonucu trigliserid ve Apo C-III kardiyovasküler risk azaltılması için terapotik hedef olarak düşünülmüştür. Trigliserid düzeylerinin düşürülmesi amacıyla Apo C-III mRNA farmakolojik inhibitörü (volanesorsen) faz 3 çalışmaları devam etmektedir. İlk sonuçlarda trigliserid düzeylerini %60-70 oranında düşürdüğü saptanmıştır (128). Ayrıca iki tane geniş katılımlı omega3 tedavi çalışması devam etmektedir (Reduce it, Strenght) (96).

Gözlemsel çalışmalar genelde açlık kanında yapılmaktadır. Açlık hipertrigliseridemi KVVH ve mortalite ile güçlü şekilde ilişkilidir (13). Günün büyük bir kısmında tok durumda olmamız ve trigliseridden zengin lipoproteinlerin toklukta baskın olması bu lipoproteinlere daha fazla önem verilmesine neden olmuştur. Son 10 yılda EFLM de dahil olmak üzere Avrupa, Amerika ve Kanada'daki birçok cemiyet, yayınladıkları kılavuzlar ve rehberlerde tokluk kanında lipid profili ölçümünü önermektedirler. Tokluk trigliserid düzeylerinin KAH riskini öngörmeye daha faydalı olabileceği düşünülmektedir (124). Nagata ve arkadaşları (97) ise açlıktaki trigliseridden zengin lipoproteinlerin postprandiyal hiperlipidemisinin göstergesi olabileceğini saptamışlardır. Postprandiyal dönemde başlıca trigliserid içeren lipoprotein Apo B-48 bağlı şilomikron kalıntıları değil Apo B-100 içeren VLDL remnantları olduğu gösterilmiştir (125). Bu lipoproteinler ve hidrolizi sonucu oluşan IDL aterosklerozun belirleyicilerindendir (123). Postprandiyal dönemde Apo B-100 içeren remnant kolesterolün direkt ölçümü ile trigliseridin yüksek derecede korele olduğu gösterilmiştir (125). DM'de özellikle postprandiyal lipid metabolizmasında bozukluk olması nedeniyle çalışmamızda açlık kanı kullanılmıştır.

Son yıllarda diyabetin glukoz metabolizması ile ilişkili hastalık olmasının yanı sıra lipid metabolizması ile ilişkili hastalık olması düşünülmeye başlanmıştır. Küçük damar hastalığı hiperglisemi ile güçlü şekilde ilişkili iken büyük damar hastalığında glisemik bozukluk ile ilişki kurmak zordur. Çoğu çalışmada glisemik kontrolün KVVH riskini azaltmada başarısız kaldığı gösterilmiştir (13). Diyabetli hastalarda yapılan statin çalışmasında ise kolesterol düşürücü etkinin KVVH riskini azalttığı gösterilmiştir (129).

Diyabette dislipidemisinin karakteristik özelliği yüksek trigliserid ve düşük HDL-K düzeyidir (13). Çalışmamızda diyabetli hastalarda diyabetli olmayanlara göre trigliserid ve remnant kolesterol düzeyi daha yüksek iken, HDL-K düzeyleri daha düşüktü. LDL-K düzeylerinin farklı olmaması ise literatürle uyumlu bulundu.

Diaçilgliserol (DAG), trigliserid biyosentezinin öncülüdür. Serbest yağ asitleri digliserid açıl transferaz (DGAT)-1 ile DAG'a, daha sonra DGAT2 aracılığıyla triaçilgliserole (trigliserid) dönüşmektedir. Preklinik çalışmalarda DGAT1 inhibisyonu ile insülin direncinin iyileştiği gözlenmiştir (130). T2DM'li hastalarda da insülin

direncinin gelişimi ile DAG artışı arasında ilişki saptanmıştır (131). Çalışmamızda da DM'li hastalarda trigliserid düzeyinin artmış olduğu saptandı.

İnsülin direnci varlığında gözlenen hipertrigliseridemi VLDL'nin hepatik sekresyonunun artışı ve trigliseridden zengin lipoproteinlerin lipolizinin bozulması ile ortaya çıkar (43). LPL insülin ile baskılanan bir enzimdir ve insülin etkisinin olmadığı durumlarda LPL baskılanamadığı için yüksek glukoz konsantrasyonu olsa bile lipoliz artmıştır. Böylece daha fazla remnant kolesterol oluşumu gözlenecektir (13). Ayrıca hipertrigliseridemi CETP'nin aktivitesini uyarır, HDL ve LDL'deki kolesterol esterleri trigliseridden zengin lipoproteinlerdeki trigliserid ile yer değiştirir (43).

Diyabette barsaktan absorbe edilen kolesterolü taşıyan transporter proteinini (NPC1L1) kodlayan gen upregüle olmaktadır ve kolesterol absorpsiyonu artmaktadır. Trigliserid içeren lipoproteinlerin aterojenitesinin mekanizması oldukça karmaşıktır. DM'de DAG'dan trigliserid sentezinin artışı, diyetle alınan kolesterol emiliminin artışı ve bu iki duruma bağlı olarak trigliserid ve kolesterolün absorpsiyonunu ve dolaşımda taşınmasını sağlayan çözünebilir protein olan Apo B-48'in barsakta sentezi artmaktadır. Trigliserid ve kolesterol MTP aracılığıyla Apo B-48'e bağlanarak şilomikron şeklinde paketlenirler. Diyabette MTP upregüle olur ve şilomikron düzeyi oluşumu artar. Kolesterol oranı düşük olsa bile bu lipoprotein partikülünün büyüklüğü ve hızlı turnovera uğraması aterojenitesini artırır ve gerçek yük LDL'ye benzer (13).

DM ayrıca trigliseridden zengin lipoproteinlerin sentez ve metabolizmasını bozmakta ve onların aterojenitesinin artmasına neden olmaktadır. Karaciğerde NPC1L1, kolesterolün VLDL içine hapsedilmesini de sağlar. Metabolizma sonucu hem trigliserid hem de kolesterolün fazla olması karaciğerde VLDL üretimini artırmaktadır. Diyabetteki bu trigliserid içeriği artan VLDL'nin metabolizması sonucu oluşan LDL partiküllerinde de yağ asidi oranı artmaktadır. Oluşan LDL'lerdeki fazla olan doymamış yağ asitleri daha fazla okside olarak makrofajlara alınması artar. Ayrıca trigliseridden zengin VLDL artışı ile küçük yoğun LDL partikülleri artar. Bunlar da daha aterojeniktir (13).

Metabolik sendromlu hastalarda T2DM ve ateroskleroz gelişimi riski bulunmaktadır (132). Pelczyńska ve arkadaşları (78) metabolik sendromlu hastalarda olmayanlara göre 25(OH)D, serbest ve biyoaktif D vitamini düzeylerini daha düşük ve VDBP düzeylerinde benzerlik saptamıştır.

Bizim çalışmamızda T2DM varlığında diyabet olmayanlara göre VDBP konsantrasyonlarında farklılık yokken D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini düzeylerinde düşüklük bulundu. Ülkemizde yapılan bir çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde DM ve kontrol grubu arasında VDBP düzeyleri farklı bulunmamıştır (133). Ayrıca çalışmamızda T2DM hastalarında CRP düzeyleri diyabetli olmayanlara göre yüksekti. “Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease” (MONICA) ve “Cooperative Health Research in the Region of Augsburg” (KORA) çalışmalarından elde edilen veriler ışığında D vitamini eksikliğinde T2DM insidansının artışının altta yatan inflamasyona bağlı olduğu belirtilmiştir (134). Preklinik ve insan çalışmalarında D vitamini eksikliği ile insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığının azalması arasında bir ilişki saptanmıştır (135,136). Gözlemsel çalışmalar ve randomize kontrollü çalışmalarda 25(OH)D konsantrasyonu yüksekliği ve D vitamini alımının artışı ile T2DM riskinin azaldığı gösterilmiştir (85,137). Yapılan bir metaanalizde yeterli 25(OH)D düzeyinin T2DM gelişme riskini azalttığı desteklenmiştir (116). β hücrelerinde 1α hidroksilaz enziminin varlığı ile 25(OH)D’nin aktif forma döndüğü bilinmektedir (117,118). Preklinik çalışmalarda VDR baskılanması veya D vitamini eksikliğinde glukozu bağımlı insülin sekresyonunun bozulduğu gösterilmiştir (119). Hayvan ve insan çalışmalarının bazılarında D vitamini takviyesi sonucu insülin sekresyonuna cevap gözlenirken bazı randomize çalışmalarda bu ilişki bulunamamıştır (116,119,120). Bu durum alınan D vitamini dozunun hala tam olarak ne kadar olması gerektiğinin aydınlatılamamasından ve çalışmalar arasındaki doz farklılıklarından kaynaklı olabilir.

Bizim çalışmamızda diyabetli olmayan bireylerde D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasında zıt bir ilişki vardı. Epidemiyolojik çalışmalarda da D vitamini düşüklüğü ile lipid profili, remnant kolesterol ve buna bağlı olarak KAH gelişimi arasında ilişki saptanmıştır (39,116). Diyabet, lipid profili ve D vitamini arasında epidemiyolojik çalışmalar ve metaanalizlerde gösterilen ilişki

kesindir, ancak nedensellik henüz açıklanmış değildir (138). D vitamini takviyesi ile KAH riskinin azalmadığı ve insülin duyarlılığında iyileşme olmadığı gözlenmiştir (116). Bunun nedenleri olarak aşağıdaki hipotezler ileri sürülmektedir (108,109,138,139):

1. Kişisel metabolik profil ve hormonal denge farklılıkları
2. Obez kişilerde D vitamininin yağ dokuda sekestrasyonu
3. Diyetteki kalsiyum içeriği
4. D vitamini sentez-hidroksilasyon enzimlerindeki polimorfizmler
5. VDBP polimorfizmleri
6. Ağızdan alınıp barsaktan emilen D vitamininin deride sentezlenen formun etkisini gösterememesi
7. Biyoaktif D vitamini düzeylerindeki farklılık
8. İlişki terstir; lipid profili D vitaminini etkiler.
9. D vitamininin lipid profiline etkisi yoktur, sağlıklı halin göstergesidir.

D vitamininin albumine bağlı ve serbest formu aktiviteden sorumlu olan biyoaktif formudur. Serbest hormon hipotezine göre total 25(OH)D değil biyoaktif D vitamini metabolizmadaki etkileri göstermektedir (77). Yukarıdaki hipotezlerden biyoaktif D vitamini düzey farklılıklarını açıklamak amacıyla çalışmamızda biyoaktif D vitamini düzeylerini hesapladık.

Biyoaktif D vitamini düzeylerinin farklılıklarında kişilerin VDBP düzeyleri etkili olabilir. Genetik varyasyonlar, cinsiyet ve karaciğer yetmezliği gibi durumlar VDBP düzeylerini etkilemektedir. Çalışmamızda kadın ve erkekte VDBP düzeylerinde anlamlı farklılık yoktu.

Epidemiyolojik çalışmalarda 25(OH)D düzeyinin düşüklüğü ile kolorektal kanser gelişme açısından risk bulunmuştur. Ying ve arkadaşları (140) total 25(OH)D, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini yüksekliği ile kolorektal kanser riskinin azaldığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda diyabetli olmayan bireylerde saptanan D vitamini, serbest D vitamini ve biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki zıt ilişki T2DM varlığında bozulmaktadır. Bu durumun diyabette oluşan inflamasyona bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Çünkü, çalışmamızda T2DM hastalarında VDBP ve CRP düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon saptadık. NDM grubunda görülmeyip diyabetli hastalarda saptadığımız bu korelasyon diyabette bulunan inflamatuvar sürece bağlı VDBP artışını destekleyebilir. VDBP transkripsiyonu proinflamatuvar sitokinler tarafından artırılır ve lenfosit kaynaklı enzimler tarafından makrofaj aktive eden faktöre dönüştürülür. Makrofaj aktivasyonu ve C5a etkisini artırarak nötrofil kemotaksisinde rol oynar (141).

Çeşitli çalışmalarda makrofaj aktivasyonunun azalması, T2DM gelişimi ve insülin direncinin ortaya çıkması ile VDBP polimorfizmi arasında bir ilişki gösterilmiştir. VDBP polimorfizmleri; GC1F, 1S ve 2 olarak adlandırılmışlardır. Bu polimorfizmler çeşitli varyantlardan sorumludur ve protein fonksiyonunu etkilerler. GC2 polimorfizmlerinde makrofaj fonksiyonları azalmıştır (141). Japonlarda yapılan bir kohort çalışmasında GC1S ile açlıkta yüksek insülin konsantrasyonları ve insülin direnci arasında ilişki gözlenmiştir (142). 25(OH)D ve 1,25(OH)₂D'nin VDBP'ye afinite kat sayısı VDBP polimorfizmine bağlı olarak değişmektedir. GC1F'nin afinite kat sayısı daha fazladır. D vitamini metabolitlerinin VDBP'ye bağlanma afinite katsayıları farklı olduğu için fonksiyonlarını düzenleyerek glukoz metabolizmasını etkilemektedir. (76).

VDBP polimorfizmi ile coğrafi bölge ve etnik kökenlerde de farklılıklar gözlenmiştir. GC1F koyu renk ciltli ve daha güneşli bölgelerde baskındır ve serbest D vitamininin daha düşük olmasına neden olduğu düşünülmüştür (141). VDBP ölçüm yöntemlerinin farklı olması VDBP düzeylerinin ırklar arası farklı olduğu konusunda kafa karışıklığına neden olmuştur. Yapılan bir çalışmada monoklonal ELISA yöntemi ile ölçülen VDBP düzeylerinin Afrika kökenli Amerikalılarda beyazlara göre %65 daha düşük olmasına neden olurken poliklonal antikorlar ile yapılan başka çalışmalarda bu farklılık gözlenmemiştir (79,143,144). Son yıllardaki kütle spektrometri ile yapılan proteomik çalışmalarında da VDBP düzeylerinde ırklar arasında farklılık olmadığı belirtilmiştir (145). Sollid ve arkadaşları (146) poliklonal ELISA ile VDBP ölçümlerini yaparak çalışmalarına yön vermişlerdir. VDBP konsantrasyonunun D vitamini takviyesi ile değişmediği ve 25(OH)D düzeylerinin VDBP fenotipine bağlı olarak değiştiğini

gözlemlemişlerdir. GC2 fenotipine sahip bireylerde GC1'e karşın 25(OH)D düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca GC2 fenotipinde hesaplanan serbest D vitamini, direkt ölçülen serbest D vitamini, hesaplanan biyoaktif D vitamini ve VDBP düzeylerini en düşük bulmuşlardır. Farklı VDBP ölçüm yöntemi kullanan diğer çalışmalarda farklı bulgular söz konusudur (146). Sonuç olarak; VDBP polimorfizmleri VDBP düzeylerini etkilemektedir ancak bu etkiler etnik kökenler arasında farklı VDBP düzeylerine yol açacak düzeyde olmayabilir.

25(OH)D düzeyleri ile serbest D vitamini arasındaki korelasyonlar poliklonal antikolar aracılığıyla ölçülen VDBP'den hesaplandığında monoklonal antikolarla ölçülene göre daha güçlü bulunmuştur. Ayrıca direkt ölçülen serbest D vitamini ile hesaplanan serbest D vitamini arasındaki korelasyonlar poliklonal antikolar aracılığıyla ölçülen VDBP kullanıldığında daha güçlü bulunmuştur (145). Biz de çalışmamızda serbest D vitamini düzeyi ile 25(OH)D düzeyi arasındaki korelasyon kat sayısını literatürle uyumlu saptadık.

VDBP ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkide altta yatan mekanizma olarak KVK'da myokardial genler üzerindeki değişiklikler ve VDBP protein ekspresyonu artışı sayılabilir. Primer anjioplasti sırasında elde edilen taze trombotik plaklarda VDBP ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (147). Aynı çalışmada VDBP'nin ex vivo ortamda trombosit agregasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada MI sonrası etkilenen koroner arter sayısı ile VDBP düzeyi arasında negatif yönde korelasyon saptanmıştır (148). VDBP'nin koruyucu etkisinden dolayı multipl travma hastalarında da pozitif prognostik değer olarak bildirilmiştir. Hücre ölümü sonucu oluşan aktin temizleyici VDBP-G-aktin makromoleküler kompleksi primer olarak karaciğer tarafından temizlenmektedir ve taşınması VLDL tarafından sağlanmaktadır (76).

Remnant kolesterolün ateroskleroz oluşumunu artıran etkileri arasında endotelde proinflatuar sitokinlerin upregülasyonu, monosit göç ve aktivasyonu ve protrombotik faktörlerin artmış üretimi sayılabilir (123). Bu faktörlerin VDBP üretimini artırdığı bilinmektedir. Bir çalışmada total kolesterol, LDL-K, albümin ve 1,25(OH)₂D'nin artışı ile VDBP düzeylerinin arttığı saptanmıştır (121). Gerçekten remnant kolesterol VDBP düzeylerini artırıp biyoaktif D vitaminini azaltıyor olabilir mi? Bu durumda D vitamini

takviyesinin faydalı olmaması beklenen sonuçtur. Çalışmamızda remnant kolesterolü yüksek olan kişilerde VDBP ve CRP düzeylerinin yüksek, biyoaktif D vitamininin düşük olması ve bu ilişkinin diyabet varlığında bozulması bahsedilen mekanizmaları destekler niteliktedir. LDL-K'nın inflamatuvar komponenti olmadan aterosklerozla bağlantılı olduğu, aterosklerozun inflamatuvar komponentinin remnant kolesterol artışına bağlı olduğu bildirilmiştir (96).

Bu hipotezi destekleyen, 85000'in üzerinde gönüllüde gerçekleştirilen bir Mendelyan randomizasyon çalışmasında, genetik olarak artmış remnant kolesterolün 25(OH)D düzeylerinde düşüklüğe neden olduğu gösterilmiştir (107). Aynı çalışmada genetik olarak 25(OH)D düzeyi düşüklüğünün remnant kolesterol seviyelerini artırmadığı gözlenmiştir. İn vitro çalışmalarda D vitamini ve kolesterolün aynı biyosentetik yolağı paylaştığı ve emilimlerinin safra tuzlarına bağlı olduğu ve kolesterol düzeylerinin artışında D vitamini düzeyinin azaldığı gözlenmiştir (107). Bu durum safra tuzlarına bağlanmak için yarışmalarından kaynaklanabilir. Ne kadar çok kolesterol bağlanırsa o kadar az D vitamini bağlanacak ve D vitamini emiliminde azalma gözlenebilecektir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda D vitamini takviyesi ile lipoprotein düzeylerinde azalma klinik olarak gösterilememiştir. Yapılan ilaç çalışmaları daha çok etnik çeşitliliğin fazla olduğu Amerika'da ve Avrupa'da yapılmıştır. VDBP'nin coğrafi bölgeler arası farklı polimorfizme sahip olması ticari olarak üretilen 25(OH)D preparatının emiliminde farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir. Statin çalışmalarında ise statin kullananlarda D vitamini biyosentezinin arttığı gösterilmiştir (107).

Çalışmamızda, nondiyabetli grupta CRP yüksekliği ve biyoaktif D vitamini yetersizliğinin remnant kolesterol düzeylerini anlamlı bir şekilde yükselttiği bulundu. Bu ilişkinin mekanizması henüz insanlarda kanıtlanamamış olsa da D vitamininin nükleer reseptörler (PPAR ve LXR) üzerinden lipid katabolizmasını artırdığı prelinik çalışmalarda bulunmuştur (108,109). Bu ilişkinin 25(OHD) için geçerli olmayıp biyoaktif D vitamini için bulunmasının nedenleri arasında VDBP polimorfizmleri ve D vitamini kullanımı sayılabilir. Biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkinin

diyabetli hastalarda bozulmasının nedeninin ise diyabetle ilişkili inflamasyon olabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızdaki başlıca kısıtlılığımız gönüllülerin herhangi bir D vitamini takviyesi alıp almadığını sorgulayamamaktı. Lipid düşürücü tedaviyi dışladık ve yeterli sayıda gönüllü sağlayabilmek için bu durumu gözardı ettik. Çünkü artık D vitamini takviyesi almayan kişi sayısı ülkemizde azalmıştır. Bizim amacımız kesitsel olarak biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi saptamak ve D vitamini takviyesi alsın ya da almasın toplumumuzu değerlendirmektir. Ayrıca mevsimsel olarak ayırarak istatistik analiz yapamadık.

Çalışmamızın kısıtlılıkları arasında örnekleri açlıkta almamız sayılabilir. Birçok yayında olduğu gibi toklukta ölçüm yapsaydık trigliseridden zengin lipoproteinlerin artışı nedeniyle daha kuvvetli ilişki saptanabilirdi, ancak standardizasyon sağlayabilmek için açlıkta örnek almayı tercih ettik. Direkt ölçümle hesap arasındaki korelasyonun yüksek bulunması ve trigliserid düzeyleri 400 mg/dL'nin üstünde olan olgu sayımızın sadece yedi kişi olması nedeniyle hesaplamanın sonuçları etkilemediğini düşünüyoruz.

Diğer kısıtlılıklar hastaların vücut kütle indeksi, menapoz durumu, PCOS ve sigara/alkol kullanımı gibi demografik verilerinin bulunmamasıdır. Ancak amacımız DM, biyoaktif D vitamini ve remnant kolesterol arasında bir ilişki olup olmadığını açıklamaktır. Diyabet varlığından bağımsız olarak saptadığımız ilişkinin nedeninin açıklanabilmesi için yapılacak daha ileri çalışmalarda belirttiğimiz faktörler değerlendirilebilir.

Çalışmamızın güçlü yönü olarak olgu sayısının yeterli olması ve hastaların üç merkezden toplanması sayılabilir. Bu sayede sonuçlarımız İzmir için genellenebilir. D vitamini ile lipid profili arasında ilişkinin varlığını kanıtlayan birçok çalışma bulunmaktadır ancak literatürü taradığımızda biyoaktif D vitamini ile remnant kolesterol düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir yayına rastlanmamıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak önerilerimizin başlıcaları:

- Hastaların kardiyovasküler risk açısından değerlendirilmesi amacıyla standart lipid profilinin yanı sıra remnant kolesterol ve nonHDL hesaplanıp genişletilmiş lipid paneli kullanımı
- Riskli kişilerde trigliserid düzeylerini yükselten ilaç ve gıda tüketiminin sınırlandırılması (östrojenler, glukokortikoidler, alkol, yağlı diet vb.)
- Diyabetlilerde trigliserid düzeylerinin optimizasyonu

Sonuç olarak, çalışmamızda lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre; 25(OH)D vitamini için remnant kolesterol düzeylerini belirlemede anlamlı bir ilişki saptamadık. Biyoaktif D vitamini düşüklüğü için ise T2DM varlığından bağımsız olarak remnant kolesterol yüksekliği için 2,19 kat anlamlı risk artışı saptadık.

Bu bulgularla ilişkinin yönünü kesin olarak söyleyemesek de remnant kolesterol ile biyoaktif D vitamini arasında bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz. Mekanizma iki yönlü de olabilir:

- Total D vitamini yeterli olsa da biyoaktif D vitamini düşüklüğü remnant kolesterol oluşumunu artırıyor olabilir.
- Remnant kolesterol artışı düşük-derecede inflamasyon ve VDBP sentez artışına neden olup sonucunda biyoaktif D vitamini düzeylerini düşürüyor olabilir.

Trigliserid düşürmeye ve D vitamini yükseltmeye yönelik süren ilaç çalışmalarının sonuçlanması hangi mekanizmanın geçerli olduğunu anlamamızı sağlayacaktır. Her iki durumda da VDBP ölçümü ve biyoaktif D vitamini tahmininin gerçek D vitamini durumunu belirlemek için faydalı olacağını düşünüyoruz.

6 KAYNAKLAR

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2014;37(Supplement 1):81-90.
2. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 8th Ed. 2017.
3. Sacks DB, Fonseca V, Goldfine AB. Diabetes: advances and controversies. Clin Chem. 2011;57(2):147–9.
4. Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G et al. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. World J Diabetes. 2016;7(71):1–7.
5. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus Ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi Ve İzlem Kılavuzu. 2015.
6. Gale EAM. Perspectives in Diabetes The Discovery of Type 1 Diabetes. Diabetes. 2001;50(2):217-26.
7. World Health Organization. Diabetes Mellitus. Report of a WHO Study Group. Geneva. WHO - Technical Report Series; 1985;727.1–113.
8. Gómez-Pérez FJ, Aguilar-Salinas CA, López-Alvarenga JC, Perez-Jauregui J et al. Lack of agreement between the World Health Organization Category of impaired glucose tolerance and the American Diabetes Association category of impaired fasting glucose. Diabetes Care. 1998;21(11):1886–8.
9. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2003;26(suppl 1):5-20.
10. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care. 2017;40:11–24.
11. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1997;20(7):1183–97.
12. Cersosimo E, Triplitt C, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. Endotext. MDTText.com, Inc.; 2015:1-77

13. Tomkin GH, Owens D. Diabetes and dyslipidemia: Characterizing lipoprotein metabolism. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2017;10:333–43.
14. World Health Organization. *Global Report On Diabetes.* 2016;978:92–4.
15. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR et al. Type 2 diabetes mellitus. 2015;1:1-22
16. Brohall G, Oden A, Fagerberg B. Carotid artery intima-media thickness in patients with Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabet Med.* 2006;23(6):609–16.
17. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2016;133(4):38-48.
18. Adler AI, Neil HAW, Manley SE, Holman RR, et al. Hyperglycemia and hyperinsulinemia at diagnosis of diabetes and their association with subsequent cardiovascular disease in the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 47). *Am Hear J.* 1999;138:353-9.
19. Wilson PWF, Meigs JB, Sullivan L, Fox CS, et al. Prediction of Incident Diabetes Mellitus in Middle-aged Adults. *Arch Intern Med.* 2007;167(10):1068-74.
20. Tsao CW, Vasan RS. Cohort Profile: The Framingham Heart Study (FHS): overview of milestones in cardiovascular epidemiology. *Int J Epidemiol.* 2015;44(6):1800–13.
21. Disease C. Diabetes mellitus: A major risk factor for cardiovascular disease. *Circulation.* 1999;100(10):1132–3.
22. American Heart Association and the American Diabetes Association. Scientific Statement prevention of cardiovascular disease in adults with type 2 diabetes mellitus in light of recent evidence: a scientific statement from the Update on Prevention of Cardiovascular Disease in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus. *Circ.* 2015;132:1-29.
23. Haffner SM, D'Agostino R, Saad MF, Rewers M, et al. Increased insulin

- resistance and insulin secretion in nondiabetic African-Americans and Hispanics compared with non-Hispanic whites. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes*. 1996;45(6):742–8.
24. Ortega-González C, Luna S, Hernández L, Crespo G, et al. Responses of Serum Androgen and Insulin Resistance to Metformin and Pioglitazone in Obese, Insulin-Resistant Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1360–5.
 25. Ahren B, Pacini G. Islet adaptation to insulin resistance: mechanisms and implications for intervention. *Diabetes, Obes Metab*. 2005;7(1):2–8.
 26. Bonora E, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, et al. HOMA-estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2002;25(7):1135–41.
 27. Xie X, Atkins E, Lv J, Bennett A, et al. Effects of intensive blood pressure lowering on cardiovascular and renal outcomes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2016;387(10017):435–43.
 28. National Institutes of Health National Heart, Lung, and Blood Institute. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC7). 2004:1-86.
 29. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, et al. Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults. *JAMA*. 2014;311(5):507-20.
 30. Erland G, Erenson SB, Athanur S, Riniwasan RS, et al. Association Between Multiple Cardiovascular Risk Factors And Atherosclerosis In Children And Young Adults. *The New England Journal of Medicine*. 1998;338(23):1650-6.
 31. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP, et al. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*. 1992;70(9):851–8.

32. McGill HC, McMahan CA, Malcom GT, Oalmann MC, et al. Relation of glycohemoglobin and adiposity to atherosclerosis in youth. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(4):431–40.
33. Harvey R, Ferrier D, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's Illustrated Reviews Biochemistry 5th edition Lippincott's Illustrated Reviews.
34. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Harper's illustrated biochemistry.
35. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext. MDText.com, Inc.; 2015;1-21.
36. Koçyiğit D, Özer N. Plazma Lipoproteinleri: Metabolizması ve Bozuklukları. *Türkiye Klin Kardiyol Özel Derg.* 2016;9(4):1–17.
37. Chapter 5: Atherosclerosis Essay. Medicine and Health Articles. <https://healtheappointments.com/chapter-5-atherosclerosis-essays/>
38. National Heart, Lung and Bl. ATP III Report on High Blood Cholesterol. 2002
39. Lupton JR, Faridi KF, Martin SS, Sharma S, Kulkarni K, Jones SR, et al. Deficient serum 25-hydroxyvitamin D is associated with an atherogenic lipid profile: The Very Large Database of Lipids (VLDL-3) study. *J Clin Lipidol.* 2015;10(1):72–81.
40. Arca M. Alterations of intestinal lipoprotein metabolism in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Atheroscler Suppl.* 2015;17:12–6.
41. Feingold KR, Grunfeld C. Diabetes and Dyslipidemia. Endotext. MDText.com, Inc.; 2015;1-33.
42. Matsuo N, Matsuoka T, Onishi S, Yamamoto H, Kato A, Makino Y, et al. Impact of Remnant Lipoprotein on Coronary Plaque Components. *J Atheroscler Thromb.* 2015;22(8):738-95.
43. Quispe R, Manalac RJ, Faridi KF, Blaha MJ, Toth PP, Kulkarni KR, et al. Relationship of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C) ratio to the remainder of the lipid profile: The Very Large Database of Lipids-

- 4 (VLDL-4) study. *Atherosclerosis*. 2015;242(1):243–50.
44. Harvey, Richard A; Ferrier DR. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*, 5th Ed. Biochemical Education. 2011.
 45. Öngen B, Kabaro C, Par Z. D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi *Biochemical and Laboratory Evaluation of*. 2008;6(1):23–31.
 46. DeLuca HF. The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. *FASEB J*. 1988;2(3):224–36.
 47. Goldblatt H, Soames KM. A Study of Rats on a Normal Diet Irradiated daily by the Mercury Vapour Quartz Lamp or kept in Darkness. *Biochem J*. 1923;17(2):294–7.
 48. Hess AF, Unger LJ, Pappenheimer AM. Experimental Rickets In Rats : VII. The Prevention Of Rickets By Sunlight, By The Rays Of The Mercury Vapor Lamp, And By The Carbon Arc Lamp. *J Exp Med*. 1922;36(4):427–46.
 49. Windaus A, Linser O, Lüttringhaus A, Weidlich G. Über das krystallisierte Vitamin D₂. *Justus Liebig's Ann der Chemie*. 1932;492(1):226–41.
 50. Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr*. 1994;60(4):619–30.
 51. Holick MF. Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem*. 2003;88(2):296–307.
 52. Bikle DD. What is new in vitamin D: 2006-2007. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19(4):383–8.
 53. Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013;5(1):111–48.
 54. Holick MF, Garabedian M. Vitamin D photobiology, metabolism, mechanism of action and clinical application. In: Favus MJ, editor. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research. 2006;106–14.
 55. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune

- diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1678–88.
56. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı Ve Tedavi Kılavuzu. 2015.
 57. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(7):720–55.
 58. Obi Y, Hamano T, Isaka Y. Prevalence and prognostic implications of vitamin D deficiency in chronic kidney disease. *Dis Markers.* 2015;2015:1-9.
 59. Holick MF. Vitamin D Global Perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(7):720–55.
 60. Nykjaer A, Dragun D, Walther D, Vorum H, Jacobsen C, Herz J, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell.* 1999;96(4):507–15.
 61. Lips P. Relative Value of 25(OH)D and 1,25(OH)2D Measurements. *J Bone Miner Res.* 2007;22(11):1668–71.
 62. Carlberg C, Seuter S, Heikkinen S. The first genome-wide view of vitamin D receptor locations and their mechanistic implications. *Anticancer Res.* 2012;32(1):271–82.
 63. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta.* 2006;371(1–2):1–12.
 64. Wranicz J, Szostak-Węgierek D. Health outcomes of vitamin D. Part I. characteristics and classic role. *Rocz Państwowego Zakładu Hig.* 2014;65(3):179–84.
 65. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):255–69.
 66. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to

- TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(7):3597–602.
67. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10(4):482–96.
 68. White JH. Vitamin D as an inducer of cathelicidin antimicrobial peptide expression: Past, present and future. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121(1–2):234–8.
 69. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365–408.
 70. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–30.
 71. Agmon-Levin N, Theodor E, Segal RM, Shoenfeld Y. Vitamin D in Systemic and Organ-Specific Autoimmune Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013;45(2):256–66.
 72. El-Fakhri N, McDevitt H, Shaikh MG, Halsey C, Ahmed SF. Vitamin D and Its Effects on Glucose Homeostasis, Cardiovascular Function and Immune Function. *Horm Res Paediatr*. 2014;81(6):363–78.
 73. Alvarez JA, Ashraf A. Role of vitamin d in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis. *Int J Endocrinol*. 2010;2010:1-18.
 74. Mitri J, Pittas AG. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014;43(1):205–32.
 75. Nakashima A, Yokoyama K, Yokoo T, Urashima M. Role of vitamin D in diabetes mellitus and chronic kidney disease. *World J Diabetes*. 2016;7(5):89–100.
 76. Speeckaert MM, Speeckaert R, van Geel N, Delanghe JR. Vitamin D Binding Protein: A Multifunctional Protein of Clinical Importance. *Adv Clin Chem*. 2014;63:1–57.

77. Jassil NK, Sharma A, Bikle D, Wang X. Vitamin D Binding Protein and 25-Hydroxyvitamin D Levels: Emerging Clinical Applications. *Endocr Pract.* 2017;23(5):605–13.
78. Pelczyńska M, Grzelak T, Sperling M, Bogdański P, et al. Impact of 25-hydroxyvitamin D, free and bioavailable fractions of vitamin D, and vitamin D binding protein levels on metabolic syndrome components. *Arch Med Sci.* 2017;4(4):745–52.
79. Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, et al. Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *N Engl J Med.* 2013;369(21):1991–2000.
80. Bikle DD, Gee E, Halloran B, Kowalski MA, et al. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63(4):954–9.
81. Powe CE, Ricciardi C, Berg AH, Erdenesanaa D, et al. Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *J Bone Miner Res.* 2011;26(7):1609–16.
82. Johnsen MS, Grimnes G, Figenschau Y, Torjesen PA, et al. Serum free and bio-available 25-hydroxyvitamin D correlate better with bone density than serum total 25-hydroxyvitamin D. *Scand J Clin Lab Invest.* 2014;74(3):177–83.
83. Naderpoor N, Shorakae S, Abell SK, Mousa A, et al. Bioavailable and free 25-hydroxyvitamin D and vitamin D binding protein in polycystic ovary syndrome: Relationships with obesity and insulin resistance. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;1-7.
84. Pop LC, Shapses SA, Chang B, Sun W, Wang X. Vitamin D-Binding Protein In Healthy Pre- And Postmenopausal Women: Relationship With Estradiol Concentrations. *Endocr Pract.* 2015;21(8):936–42.
85. Angellotti E, Pittas AG. The Role of Vitamin D in the Prevention of Type 2 Diabetes: To D or Not to D? *Endocrinology.* 2017;158(7):2013–21.
86. Thomson RL, Spedding S, Buckley JD. Vitamin D in the aetiology and

- management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;77(3):343–50.
87. He C, Lin Z, Robb S, Ezeamama A. Serum Vitamin D Levels and Polycystic Ovary syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2015;7(6):4555–77.
 88. Joham AE, Teede HJ, Cassar S, Stepto NK, Strauss BJ, Harrison CL, et al. Vitamin D in polycystic ovary syndrome: Relationship to obesity and insulin resistance. *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(1):110–8.
 89. Lai JC, Bikle DD, Lizaola B, Hayssen H, Terrault NA, Schwartz JB. Total 25(OH) vitamin D, free 25(OH) vitamin D and markers of bone turnover in cirrhotics with and without synthetic dysfunction. *Liver Int*. 2015;35(10):2294–300.
 90. Bikle DD, Halloran BP, Gee E, Ryzen E, Haddad JG. Free 25-hydroxyvitamin D levels are normal in subjects with liver disease and reduced total 25-hydroxyvitamin D levels. *J Clin Invest*. 1986;78(3):748–52.
 91. Corey RL, Whitaker MD, Crowell MD, Keddis MT, Aqel B, Balan V, et al. Vitamin D deficiency, parathyroid hormone levels, and bone disease among patients with end-stage liver disease and normal serum creatinine awaiting liver transplantation. *Clin Transplant*. 2014;28(5):579–84.
 92. Wang X, Shapses SA, Al-Hraishawi H. Free And Bioavailable 25-Hydroxyvitamin D Levels In Patients With Primary Hyperparathyroidism. *Endocr Pract*. 2017;23(1):66–71.
 93. Aggarwal A, Yadav AK, Ramachandran R, Kumar V, et al. Bioavailable Vitamin D levels are reduced and correlate with bone mineral density and markers of mineral metabolism in adults with nephrotic syndrome. *Nephrology*. 2016;21(6):483–9.
 94. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, Nielson CM, et al. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;144:132–7.
 95. Varbo A, Benn M, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol as a cause of ischemic heart disease: evidence, definition, measurement, atherogenicity, high

- risk patients, and present and future treatment. *Pharmacol Ther.* 2014;141(3):358–67.
96. Varbo A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Extreme Nonfasting Remnant Cholesterol vs Extreme LDL Cholesterol as Contributors to Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in 90000 Individuals from the General Population. *Clin Chem.* 2015;61(3):533-43.
 97. Nagata T, Sugiyama D, Kise T, Tsuji S, Ohira H, Sato I, et al. Fasting remnant lipoproteins can predict postprandial hyperlipidemia. *Lipids Health Dis [Internet].* 2012;11(146):1-11.
 98. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG (Jay), et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. *Endotext. MDText.com, Inc.;* 2015;1-146.
 99. Swirski FK, Libby P, Aikawa E, Alcaide P, et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. *J Clin Invest.* 2007;117(1):195–205.
 100. Wakita K, Morita S-Y, Okamoto N, Takata E, et al. Chylomicron remnant model emulsions induce intracellular cholesterol accumulation and cell death due to lysosomal destabilization. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1851(5):598–604.
 101. Nakamura A, Monma Y, Kajitani S, Kozu K, et al. Different postprandial lipid metabolism and insulin resistance between non-diabetic patients with and without coronary artery disease. *J Cardiol.* 2015;66(5):435-44.
 102. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated remnant cholesterol causes both low-grade inflammation and ischemic heart disease, whereas elevated low-density lipoprotein cholesterol causes ischemic heart disease without inflammation. *Circulation.* 2013;128(12):1298–309.
 103. Jepsen A-MK, Langsted A, Varbo A, Bang LE, et al. Increased Remnant Cholesterol Explains Part of Residual Risk of All-Cause Mortality in 5414 Patients with Ischemic Heart Disease. *Clin Chem.* 2016;62(4):593-604.
 104. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-Hydroxyvitamin D and Risk of Myocardial Infarction in Men: A Prospective Study. *Arch Intern Med.*

2008;168(11):1174-80.

105. Brondum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Ischemic Heart Disease, Myocardial Infarction, and Early Death: Population-Based Study and Meta-Analyses of 18 and 17 Studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(11):2794–802.
106. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, et al. Prevalence of Cardiovascular Risk Factors and the Serum Levels of 25-Hydroxyvitamin D in the United States. *Arch Intern Med.* 2007;167(11):1159-65.
107. Ooi EM, Afzal S, Nordestgaard BG. Elevated remnant cholesterol in 25-hydroxyvitamin D deficiency in the general population: Mendelian randomization study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014;7(5):650–8.
108. Silvagno F, Pescarmona G. Spotlight on vitamin D receptor, lipid metabolism and mitochondria: Some preliminary emerging issues. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;450:24–31.
109. Chang E, Kim Y. Vitamin D insufficiency exacerbates adipose tissue macrophage infiltration and decreases AMPK/SIRT1 activity in obese rats. *Nutrients.* 2017;9(4):1–15.
110. Hermans MP, Ahn SA, Rousseau MF. Novel unbiased equations to calculate triglyceride-rich lipoprotein cholesterol from routine non-fasting lipids. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13(56):1-8.
111. Suastika K, Dwipayana P. Age is an Important Risk Factor for Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Diseases. 2012.
112. Dai D-F, Rabinovitch PS, Ungvari Z. Mitochondria and cardiovascular aging. *Circ Res.* 2012;110(8):1109–24.
113. Kirwan JP, Krishnan RK, Weaver JA, Del Aguila LF, Evans WJ. Human aging is associated with altered TNF- α production during hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Am J Physiol Metab.* 2001;281(6):1137–43.
114. Centers for Disease Control and Prevention. National Diabetes Statistics Report,

- 2017 Estimates of Diabetes and Its Burden in the United States Background. 2017;1-20.
115. Arnetz L, Rajamand Ekberg N, Alvarsson M. Sex differences in type 2 diabetes: focus on disease course and outcomes. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2014;7:409-20.
 116. Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low 25-hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: A prospective cohort study and metaanalysis. *Clin Chem.* 2013;59(2):381–91.
 117. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol Metab.* 1994;267(3):356–60.
 118. Bland R, Markovic D, Hills CE, Hughes SV, et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in pancreatic islets. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89–90(1–5):121–5.
 119. Zert U, Weber K, Soegiarto Dw, Wolf E, et al. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB J.* 2003;17(3):509–11.
 120. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):486–94.
 121. Speeckaert MM, Taes YE, De Buyzere ML, Christophe AB, et al. Investigation of the potential association of vitamin D binding protein with lipoproteins. *Ann Clin Biochem.* 2010;47(Pt 2):143–50.
 122. Pechlaner R, Tsimikas S, Yin X, Willeit P, et al. Very-Low-Density Lipoprotein-Associated Apolipoproteins Predict Cardiovascular Events and Are Lowered by Inhibition of APOC-III. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69(7):789–800.
 123. Joshi PH, Khokhar AA, Massaro JM, Lirio ST, et al. Remnant Lipoprotein Cholesterol and Incident Coronary Heart Disease: The Jackson Heart and

- Framingham Offspring Cohort Studies. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(5):1-10.
124. Nordestgaard BG. A Test in Context: Lipid Profile, Fasting Versus Nonfasting. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(13):1637–46.
 125. Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, et al. The characteristics of remnant lipoproteins in the fasting and postprandial plasma. *Clin Chim Acta.* 2012;413(13–14):1077–86.
 126. Paige E, Masconi KL, Tsimikas S, Kronenberg F, et al. Lipoprotein(a) and incident type-2 diabetes: results from the prospective Bruneck study and a meta-analysis of published literature. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16(1):38.
 127. Libby P. Triglycerides on the rise: should we swap seats on the seesaw? *Eur Heart J.* 2015;36(13):774–6.
 128. Rocha NA, East C, Zhang J, McCullough PA. ApoCIII as a Cardiovascular Risk Factor and Modulation by the Novel Lipid-Lowering Agent Volanesorsen. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19(12):62.
 129. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, W Neil HA, Livingstone SJ, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004;364(9435):685–96.
 130. Tomimoto D, Okuma C, Ishii Y, Kobayashi A, et al. JTT-553, a novel Acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 1 inhibitor, improves glucose metabolism in diet-induced obesity and genetic T2DM mice. *J Pharmacol Sci.* 2015;129(1):51–8.
 131. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. *Cell.* 2012;148(5):852–71.
 132. Pacholczyk M, Ferenc T, Kowalski J. [The metabolic syndrome. Part II: its mechanisms of development and its complications]. *Postepy Hig Med Dosw.* 2008;62:543–58.

133. Celikbilek A, Gocmen AY, Tanik N, Borekci E, et al. Decreased serum vitamin D levels are associated with diabetic peripheral neuropathy in a rural area of Turkey. *Acta Neurol Belg.* 2015;115(1):47–52.
134. Thorand B, Zierer A, Huth C, Linseisen J, et al. Effect of serum 25-hydroxyvitamin D on risk for type 2 diabetes may be partially mediated by subclinical inflammation: results from the MONICA/KORA Augsburg study. *Diabetes Care.* 2011;34(10):2320–2.
135. Cade C, Norman AW. Vitamin D₃ Improves Impaired Glucose Tolerance and Insulin Secretion in the Vitamin D-Deficient Rat in Vivo. *Endocrinology.* 1986;119(1):84–90.
136. Kayaniyl S, Retnakaran R, Harris SB, Vieth R, et al. Prospective Associations of Vitamin D With β -Cell Function and Glycemia. *Diabetes.* 2011;60(11):2947–53.
137. Sun X, Cao Z-B, Tanisawa K, Ito T, et al. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in Japanese adults: a secondary analysis of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Nutr Res.* 2016;36(10):1121–9.
138. Ponda MP, Huang X, Odeh MA, Breslow JL, Kaufman HW. Vitamin D may not improve lipid levels: A serial clinical laboratory data study. *Circulation.* 2012;126(3):270–7.
139. Riek AE, Oh J, Darwech I, Worthy V, et al. Vitamin D₃ supplementation decreases a unique circulating monocyte cholesterol pool in patients with type 2 diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;1-6.
140. Ying H-Q, Sun H-L, He B-S, Pan Y-Q, et al. Circulating vitamin D binding protein, total, free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D and risk of colorectal cancer. *Sci Rep.* 2015;5:7956.
141. Chishimba L, Thickett DR, Stockley RA, Wood AM. The vitamin D axis in the lung: A key role for vitamin D-binding protein. *Thorax.* 2010;65(5):456–62.
142. Hirai M, Suzuki S, Hinokio Y, Hirai A, Chiba M, Akai H, et al. Variations in Vitamin D-Binding Protein (Group-Specific Component Protein) Are Associated with

- Fasting Plasma Insulin Levels in Japanese with Normal Glucose Tolerance ¹. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(5):1951–3.
143. Bouillon R, Jones K SI. Vitamin D–Binding Protein and Vitamin D in Blacks and Whites. *N Engl J Med*. 2014;370(9):878–81.
144. Bikle D, Bouillon R, Thadhani R, Schoenmakers I. Vitamin D metabolites in captivity? Should we measure free or total 25(OH)D to assess vitamin D status? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;173:105-16.
145. Nielson CM, Jones KS, Chun RF, Jacobs J, et al. Role of Assay Type in Determining Free 25-Hydroxyvitamin D Levels in Diverse Populations. *N Engl J Med*. 2016;374(17):1695-6.
146. Sollid ST, Hutchinson MYS, Berg V, Fuskevå OM, et al. Effects of vitamin D binding protein phenotypes and vitamin D supplementation on serum total 25(OH)D and directly measured free 25(OH)D. *Eur J Endocrinol*. 2016;174:445–52.
147. Gasparri C, Curcio A, Torella D, Gaspari M, et al. Proteomics reveals high levels of vitamin D binding protein in myocardial infarction. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2010;2:796–804.
148. Rocchiccioli S, G. Andreassi M, Cecchetti A, Carpeggiani C, L' Abbate A, Citti L. Correlation between vitamin D binding protein expression and angiographic-proven coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2012;23(7):426–31.

7 EKLER

EK 1: ETİK KURUL ONAYI

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2015/23-24	Tarih: 15.10.2015				
Prof.Dr.Sezer UYSAL'ın sorumlusu olduğu "Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Biyoaktif D Vitamini ile Remnant Kolesterol Arasındaki İlişkinin Araştırılması" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.						
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Ş.Reyhan UÇKU (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Vesile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Sevinç ERASLAN	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Mukaddes GÜMÜŞTEKİN	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Doç.Dr.Müge KIRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Doç.Dr.Şeyda Seren İNTEPELER	Hemşirelik Yönetimi	DEU Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Yönetimi A.D	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D	Erkek	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEU Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐	H ☒	katılmadı
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	katılmadı

EK 2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Remnant kolesterol trigliseridden zengin lipoproteinlerin kolesterol içeriğidir. Halk arasında kötü kolesterol denilen düşük dansiteli lipoprotein (LDL) gibi remnant kolesterolün de kalp hastalığı riskini artırdığı bilinmektedir. Ayrıca D vitamini düşük düzeylerinin de kalp hastalığı riskini artırdığı düşünülmektedir. Bu yüzden D vitamini ile remnant kolesterol arasındaki ilişkiyi araştırmayı planlıyoruz.

Bundan dolayı rahatsızlığınız nedeniyle yapılması gereken rutin incelemeler için **sizden alınacak kanların bir bölümünü** bu araştırmaya yardımcı olmak üzere kullanabilmemiz için müsaadenizi istiyoruz. Araştırmamızın ileride bu hastalığın tanı ve tedavisine katkı sağlayacağını düşünüyoruz. Yapılacak olan araştırmalar tanı ve tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir. Çalışmamız sonuçlandığında size bilgilendirme yapılacaktır.

Bu çalışma için kontrolleriniz esnasında rutin olarak sizden alınacak iki tüp kana ek olarak yaklaşık bir tüp (10 ml-2 çorba kaşığı) kan alınacaktır. Bu örnekler sizin izniniz dışında başka bir çalışma için kullanılmayacak, çalışma sonrası imha edilecektir.

Bu çalışma sırasında uygulanacak testlerin ve araştırma ile ilgili gerçekleştirilecek diğer işlemlerin masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşu ödetilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddetme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahipsiniz. **Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir.** Araştırmacı da gönüllünün kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir.

Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığına açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılamayacaktır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın;

Adı Soyadı:

Tarih:

Tel:

Adres:

İmza:

Olur Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin;

Adı:

Soyadı:

Tarih:

Görevi :

İmza:

Araştırma Yapan Araştırmacının;

Adı-Soyadı: GÜLSÜM FEYZA ALTAŞ

Tarih:

Tel:

İmza: