

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**VİTAMİN D EKSİKLİĞİ OLAN MENOPOZ ÖNCESİ KADINLARDA**  
**SUBKLİNİK ATEROSKLEROZ BELİRTEÇLERİNİN İNCELENMESİ VE**  
**VİTAMİN D REPLASMANININ BU BELİRTEÇLER ÜZERİNDEKİ**  
**ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. KADRİ MURAT GÜRSES**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. S. LALE TOKGÖZOĞLU**

**ANKARA**

**2014**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca danışmanlığımı yürüten, gerekli bilimsel zemini hazırlaması yanında tecrübeleri ve fikirleriyle bana bu konuda yol gösteren, değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. S. Lale Tokgözoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Bu uzun çalışma sürecinde ve uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bana ve arkadaşlarıma rahat bir çalışma ortamı sunan Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Kudret Aytemir'e ve tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Bu tezin her aşamasında beraber çalıştığım, benden desteğini, sabrını ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Muhammet Dural, Dr. Muhammet Ulvi Yalçın ve Dr. Duygu Koçyiğit'e teşekkürü borç bilirim.

Çalışmanın planlanması ve yürütülmesi süresince desteklerini esirgemeyen Hacettepe Üniversitesi Temel Onkoloji Bilim dalından Sayın Prof. Dr. Dicle Güç'e ve Sayın Dr. Hande Canpınar'a; Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim dalından Sayın Prof. Dr. Alper Gürlek'e teşekkür ederim.

Çalışmanın analiz aşamasında büyük katkıları olan Biyoistatistik Anabilim dalından Sayın Sevilay Karahan'a içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında kayıtsız ve şartsız bana destek olan aileme ve sevgili eşime en içten sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Gürses K.M., Vitamin D eksikliği olan menopoz öncesi kadınlarda subklinik ateroskleroz belirteçlerinin incelenmesi ve vitamin D replasmanının bu belirteçler üzerindeki etkisinin araştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Tezi. Ankara, 2014.**

Son yıllarda yapılan çalışmalar vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar, özellikle de ateroskleroz arasında bir ilişki olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Türkiye'nin de içinde bulunduğu coğrafyada genç kadınlarda çok yaygın olarak görülen vitamin D eksikliğinin, bu kadınlarda ateroskleroz gelişimi üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada vitamin D eksikliği olan menopoz öncesi sağlıklı kadınlarda subklinik ateroskleroz belirteçlerinin incelenmesi ve 6 aylık vitamin D replasmanının bu belirteçler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 31'i hasta grubu, 27'si kontrol grubu olmak üzere 58 kadın alınmıştır. Çalışmaya alınan tüm kadınlarda çalışma başlangıcında, hasta grubundaki kadınlarda ilave olarak 6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında karotis arter intima media kalınlıkları (kİMK), FMD yöntemi ile endotel fonksiyonları, endotel progenitör hücre sayıları ve serum IL-10, IL-13, IL-17 ve IFN $\gamma$  düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışma başlangıcında yapılan ölçümler sonucunda kİMK'nın hasta ve kontrol gruplarında benzer olduğu görülmüştür ( $0.45 \pm 0.02$  vs  $0.44 \pm 0.02$  mm,  $p=0.275$ ). Buna karşın; FMD değerlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır ( $9.9 \pm 1.3$  vs.  $13.8 \pm 1.7$  %,  $p<0.001$ ). Hasta grubunda endotel progenitör hücre sayılarının ve IL-10 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu; IL-17 düzeyinin ise daha yüksek olduğu da görülmüştür. 6 aylık vitamin D replasmanı sonrası hasta grubunda kİMK değerlerinde anlamlı değişiklik olmadığı ( $0.45 \pm 0.02$  vs.  $0.44 \pm 0.02$ ,  $p=0.157$ ); FMD değerlerinin ise anlamlı şekilde yükseldiği izlenmiştir ( $9.9 \pm 1.3$  vs.  $11.4 \pm 1.4$  %,  $p<0.001$ ). Vitamin D replasmanı sonrası hasta grubunda IL-10, IL-13 düzeylerinde ve endotel progenitör hücre sayılarında anlamlı oranda artış; IL-17 düzeyinde ise düşüş görülmüştür. FMD değerindeki değişimin 25(OH)D, IL-10, IL-13 ve endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimlerle pozitif; IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon

gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak; vitamin D eksikliğinin sağlıklı, genç kadınlarda anti-inflamatuvar sitokin düzeylerinde ve endotel progenitör hücre sayılarında azalma ve pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinde artış ile birlikte endotel fonksiyonlarında göreceli bozulmaya yol açtığı ve 6 aylık vitamin D replasmanının tüm bu değişkenler üzerinde olumlu etki sağladığı bulunmuştur. Bu veriler, vitamin D eksikliği bulunan menopoz öncesi kadınlarda vitamin D replasmanının kardiyovasküler olaylardan birincil korunma açısından da yararlı olabileceğini ortaya koymuştur.

**Anahtar kelimeler:** vitamin D, subklinik ateroskleroz, endotel fonksiyonları, endotel progenitör hücreler, inflamasyon.

## ABSTRACT

**Gurses K. M., Markers of subclinical atherosclerosis in premenopausal women with vitamin D deficiency and effect of vitamin D replacement, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Thesis of Cardiology, Ankara, 2014.**

Recent studies have demonstrated that a relationship might exist between vitamin D deficiency and cardiovascular diseases, especially atherosclerosis. Vitamin D deficiency is prevalent among young women who are inhabitants of a region including Turkey and its role on development of atherosclerosis in this population has not been elucidated yet. The aim of this study is to evaluate the markers of subclinical atherosclerosis and the impact of vitamin D replacement in a cohort of vitamin D deficient premenopausal women. 31 patients and 27 control subjects were included in the study. Baseline carotid intima media thickness (cIMT), endothelial functions determined by flow-mediated dilatation (FMD), endothelial progenitor cell count and serum IL-10, IL-13, IL-17 and IFN $\gamma$  levels of the study population were measured. In patients who were given vitamin D replacement therapy, measurements were repeated at the sixth month. Baseline cIMT measurements were similar in the patient and control groups ( $0.45 \pm 0.02$  vs  $0.44 \pm 0.02$  mm,  $p=0.275$ ). However, baseline FMD were found to be lower in the patient group ( $9.9 \pm 1.3$  vs.  $13.8 \pm 1.7$  %,  $p<0.001$ ). In the patient group endothelial progenitor cell count and IL-10 levels were also found to be lower and IL-17 levels were found to be higher when compared with the control group. Following 6 months-lasting vitamin D replacement therapy, no significant difference in cIMT ( $0.45 \pm 0.02$  vs.  $0.44 \pm 0.02$ ,  $p=0.157$ ); but a significant increase in FMD ( $9.9 \pm 1.3$  vs.  $11.4 \pm 1.4$  %,  $p<0.001$ ) was observed. After replacement therapy, a significant increase in IL-10, IL-13 levels and endothelial progenitor cell count and a significant decrease in IL-17 levels were observed. Change in FMD was positively correlated with changes in 25(OH)D, IL-10, IL-13 levels and endothelial progenitor cell count; where it was negatively correlated with changes in IL-17 levels. As a result, this study shows that vitamin D deficiency leads to a decrease in anti-inflammatory cytokine levels and endothelial progenitor cell count with increase in pro-inflammatory cytokine levels along with impairment in endothelial functions in otherwise healthy, premenopausal women. It

is demonstrated that 6-month lasting vitamin D replacement therapy has positive impact on these parameters. These data suggest that vitamin D replacement in vitamin D deficient premenopausal women may provide a benefit for primary prevention of cardiovascular diseases.

**Keywords:** vitamin D, subclinical atherosclerosis, endothelial functions, endothelial progenitor cells, inflammation

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No:

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>5</b>
2.1 Ateroskleroz gelişimi .....	5
2.2 Kardiyovasküler risk kavramı .....	8
2.3 Subklinik ateroskleroz.....	13
2.4 Subklinik ateroskleroz ölçümü.....	13
2.4.1 İnvaziv Yöntemler .....	14
2.4.1.1 Konvansiyonel koroner anjiyografi.....	14
2.4.1.2 IVUS ve OCT .....	14
2.4.2 İnvaziv olmayan yöntemler .....	15
2.4.2.1 Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme.....	15
2.4.2.2 Koroner kalsiyum skorlama .....	15
2.4.2.3 Karotis arter ultrasonografisi.....	16
2.4.2.4 Ayak bileği-kol indeksi .....	17
2.4.2.5 Akım aracılı dilatasyon .....	17
2.4.2.6 Endotel progenitör hücre sayısı.....	18
2.4.2.7 Arteriyel sertlik .....	20
2.5 Vitamin D fizyolojisi.....	21
2.5.1 Vitamin D sentezi ve metabolizması.....	21
2.5.2 Vitamin D eksikliği .....	23
2.5.3 Vitamin D reseptörü .....	27
2.5.4 Vitamin D'nin klasik etkileri.....	28
2.5.5 Vitamin D'nin kalsiyum metabolizması dışındaki etkileri .....	29

2.5.5.1 Enfeksiyon hastalıkları .....	29
2.5.5.2 Kanser.....	30
2.5.5.3 Otoimmün hastalıklar .....	30
2.5.5.4 Şizofreni ve depresyon .....	31
2.5.5.5 Kardiyovasküler hastalıklar.....	31
2.6 Vitamin D ve Ateroskleroz .....	31
2.6.1 Vitamin D ve kardiyovasküler risk faktörleri .....	32
2.6.1.1 Obezite .....	32
2.6.1.2 Hipertansiyon .....	33
2.6.1.3 İnsülin direnci/diabetes mellitus.....	33
2.6.1.4 Lipid profili .....	34
2.6.2 Vitamin D ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi.....	35
2.6.3 Vitamin D'nin aterosklerotik sürece direkt etkileri.....	36
2.6.3.1 Vitamin D ve endotel hücreleri .....	37
2.6.3.2 Vitamin D ve vasküler düz kas hücreleri .....	38
2.6.3.3 Vitamin D ve immün sistem hücreleri .....	39
<b>3. HASTALAR VE YÖNTEM.....</b>	<b>42</b>
3.1. Hastalar .....	42
3.2 Yöntem.....	43
3.2.1 Vitamin D eksikliği tanısı ve vitamin D replasmanı .....	43
3.2.2 FMD yöntemi ile endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi .....	43
3.2.3 Karotis intima media kalınlığı ölçümü.....	44
3.2.4 Endotel progenitör hücre sayılarının belirlenmesi .....	45
3.2.5 Sitokin düzeylerinin ölçümü .....	46
3.3 İstatistiksel analiz .....	46
3.4 Etik .....	47
3.5 Araştırma desteği .....	47
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>48</b>
4.1.Hasta ve kontrol gruplarının bazal özellikleri.....	48
4.2 Karotis arter intima media kalınlığı (kİMK).....	53
4.3 FMD yöntemi ile değerlendirilen endotel fonksiyonları.....	56



4.4 Endotel progenitör hücre sayıları .....	63
4.5 Sitokin düzeyleri .....	73
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>84</b>
<b>6. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI.....</b>	<b>103</b>
<b>7. SONUÇLAR .....</b>	<b>105</b>
<b>8. KAYNAKLAR .....</b>	<b>106</b>

## KISALTMALAR

ACEi	:	Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
AKS	:	Akut koroner sendrom
ARB	:	Anjiyotensin reseptör blokörü
BUN	:	Kan üre azotu
CABG	:	Koroner arter bypass greftleme
DM	:	Diabetes mellitus
EPC	:	Endotel progenitör hücre
FMD	:	Akım aracılı dilatasyon
GFH	:	Glomerüler filtrasyon hızı
HDL	:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IFN	:	İnterferon
IL	:	İnterlökin
IVUS	:	Intravasküler ultrason
KAH	:	Koroner arter hastalığı
KBH	:	Kronik böbrek hastalığı
kİMK	:	Karotis arter intima media kalınlığı
KKB	:	Kalsiyum kanal blokörü
KVH	:	kardiyovasküler hastalık
LDL	:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MI	:	Myokard İnfarktüsü
MRG	:	Manyetik rezonans görüntüleme
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
PAH	:	Periferik arter hastalığı
PKG	:	Perkütan koroner girişim

PTH : Paratiroid hormon  
RAAS : Renin anjiyotensin aldosteron sistemi  
TNF : Tümör nekroz faktörü  
TSH : Tiroid stimüle edici hormon  
UVB : Ultraviyole B  
VDR : Vitamin D reseptörü  
VKİ : Vücut kitle indeksi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

<b>Şekil 2.1.</b> Hassas plak oluşumunu etkileyen faktörler.....	7
<b>Şekil 2.2.</b> SCORE risk tablosu: Yüksek kardiyovasküler hastalık riskli toplumlarda 10 yıllık ölümcül kardiyovasküler olay riski. ....	10
<b>Şekil 2.3.</b> 10 yıllık mortalite için göreceli risk tablosu. ....	12
<b>Şekil 2.4.</b> Risk yaşı kavramının açıklaması. ....	12
<b>Şekil 2.5.</b> Endotel Progenitör Hücrelerin Vasküler Biyolojideki Rollerini ....	20
<b>Şekil 2.6.</b> Vitamin D metabolizması ve etkileri.....	22
<b>Şekil 2.7.</b> 1,25(OH) <sub>2</sub> D'nin kardiyovasküler sistem ve immün sistem hücreleri üzerindeki VDR aracılı etkileri .....	36
<b>Şekil 2.8.</b> Vitamin D metabolitlerinin immün sistem hücreleri üzerindeki endokrin, parakrin ve otokrin etkileri.....	40
<b>Şekil 4.1.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında 25(OH)D düzeyleri.....	48
<b>Şekil 4.2.</b> Hasta grubunda replasman tedavisi sonucu 25(OH)D düzeylerindeki değişim .....	50
<b>Şekil 4.3.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında kİMK değerleri.....	53
<b>Şekil 4.4.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında FMD değerleri .....	56
<b>Şekil 4.5.</b> Hasta grubunda replasman tedavisi sonucu FMD değerlerindeki değişim .....	57
<b>Şekil 4.6.</b> FMD değerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	60
<b>Şekil 4.7.</b> FMD değerindeki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile Korelasyonu .....	60
<b>Şekil 4.8.</b> FMD değerindeki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile Korelasyonu .....	61
<b>Şekil 4.9.</b> FMD değerindeki değişimin CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu.....	61

<b>Şekil 4.10.</b> FMD değerindeki değişimin CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu.....	62
<b>Şekil 4.11.</b> FMD değerindeki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile Korelasyonu .....	62
<b>Şekil 4.12.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayıları .....	63
<b>Şekil 4.13.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayıları .....	64
<b>Şekil 4.14.</b> CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.....	67
<b>Şekil 4.15.</b> CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	67
<b>Şekil 4.16.</b> CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	68
<b>Şekil 4.17.</b> CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu .....	68
<b>Şekil 4.18.</b> CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	69
<b>Şekil 4.19.</b> CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.....	71
<b>Şekil 4.20.</b> CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	71
<b>Şekil 4.21.</b> CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	72
<b>Şekil 4.22.</b> CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	72
<b>Şekil 4.23.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-10 düzeyleri.....	74
<b>Şekil 4.24.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-17 düzeyleri.....	74

<b>Şekil 4.24.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-13 düzeyleri.....	75
<b>Şekil 4.26.</b> Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IFN $\gamma$ düzeyleri.....	75
<b>Şekil 4.27.</b> IL-10 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	77
<b>Şekil 4.28.</b> IL-13 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	79
<b>Şekil 4.29.</b> IL-17 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	79
<b>Şekil 4.30.</b> IFN $\gamma$ düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu .....	83

## TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

<b>Tablo 2.1.</b> Kardiyovasküler risk grupları .....	11
<b>Tablo 2.2.</b> Vitamin D eksikliğinin nedenleri .....	24
<b>Tablo 4.1.</b> Hasta ve kontrol gruplarının bazal özelliklerinin karşılaştırması .....	49
<b>Tablo 4.2.</b> Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası bazal özelliklerinin karşılaştırması .....	52
<b>Tablo 4.3.</b> Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun bazal özelliklerinin karşılaştırması .....	52
<b>Tablo 4.4.</b> Hasta ve kontrol grubu kİMK karşılaştırması .....	53
<b>Tablo 4.5.</b> Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası kİMK karşılaştırması .....	54
<b>Tablo 4.6.</b> Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun kİMK karşılaştırması .....	54
<b>Tablo 4.7.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan kİMK değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.....	55
<b>Tablo 4.8.</b> Hasta ve kontrol grubu FMD ölçümlerinin karşılaştırması.....	56
<b>Tablo 4.9.</b> Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası FMD ölçümlerinin karşılaştırması .....	57
<b>Tablo 4.10.</b> Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun FMD ölçümlerinin karşılaştırması .....	58
<b>Tablo 4.11.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan FMD değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.....	58
<b>Tablo 4.12.</b> Hasta ve kontrol grubu endotel progenitör hücre sayılarının karşılaştırması .....	63
<b>Tablo 4.13.</b> Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası endotel progenitör sayılarının karşılaştırması.....	64
<b>Tablo 4.14.</b> Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun endotel progenitör hücre sayılarının karşılaştırması .....	65
<b>Tablo 4.15.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPC sayısı değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	66
<b>Tablo 4.16.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPC sayısı değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	70

<b>Tablo 4.17.</b> Hasta ve kontrol grubu sitokin düzeylerinin karşılaştırması.....	73
<b>Tablo 4.18.</b> Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası sitokin düzeylerinin karşılaştırması .....	76
<b>Tablo 4.19.</b> Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun sitokin düzeylerinin karşılaştırması .....	76
<b>Tablo 4.20.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-10 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	78
<b>Tablo 4.21.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-13 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	80
<b>Tablo 4.22.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-17 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	81
<b>Tablo 4.23.</b> Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IFN $\gamma$ düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu .....	82
<b>Tablo 5.1.</b> Vitamin D eksikliği olan hastalarda kardiyovasküler hastalık riskini değerlendiren önemli prospektif toplum bazlı çalışmalar.....	85
<b>Tablo 5.2.</b> 25(OH)D düzeyleri ile kİMK ilişkisini inceleyen önemli toplum bazlı çalışmalar.....	89
<b>Tablo 5.3.</b> 25(OH)D düzeyleri ile FMD ilişkisini inceleyen önemli toplum bazlı çalışmalar.....	93
<b>Tablo 5.4.</b> Vitamin D replasman tedavisi ile FMD ilişkisini inceleyen önemli prospektif çalışmalar .....	95



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar hemen tüm toplumlarda her iki cinsiyeti de etkileyen, dünya çapında yıllık 16.7 milyon ölüme neden olan, en yüksek mortalite ve morbiditeye sahip hastalık grubudur (1). İskemik kalp hastalığı, inme, periferik arter hastalığı, hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği gibi birçok önemli hastalığı kapsayan bu grubun, geleneksel olarak ileri yaşı ilgilendirdiği düşünülse de; bahsi geçen hastalıklar genç nüfusta, hatta genç kadınlarda da önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (1). Bu hastalıkların önemli bir alt grubu olan iskemik kalp hastalığı ise çoğunlukla aterosklerotik sürecin sonunda gelişen, akut koroner sendromlar ya da ani kardiyak ölümlerle ortaya çıkarak, tüm dünyada en yüksek mortalite ve morbiditeye neden olan hastalıktır (2,3).

Kadınların genel olarak iskemik kalp hastalığı açısından düşük risk grubunda kabul edilmesine ve hastalığın kadınlarda erkeklere göre bir dekat daha geç ortaya çıkmasına karşın; iskemik kalp hastalığı 2006 yılında A.B.D’de 430.000 ölüme neden olarak kadınlarda mortalitenin en önemli sebebi olmuştur (1). A.B.D’de 1980 yılından bu yana iskemik kalp hastalığına bağlı mortalite oranları azalmakla birlikte, 2000-2002 yılları arasında genç kadınlarda(35-44 yaş arası) iskemik kalp hastalığına bağlı ölüm oranlarında hafif bir artış görülmüştür (4). Genç kadınlarda iskemik kalp hastalığı gelişiminde diyabet, obezite, dislipidemi, sedanter yaşam tarzı, hipertansiyon gibi bilinen risk faktörlerinin yanısıra; kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi olduğu öne sürülen ve bu yaş grubunda sık rastlanan vitamin D eksikliği gibi faktörlerin de rolü olup olmadığını belirlemek için çalışmalara ihtiyaç vardır.

Vitamin D, esas olarak kalsiyum metabolizmasında ve kemik mineralizasyonunda görev yaptığı düşünülen; ancak son dönemde yapılan çalışmalarla birlikte kardiyovasküler sistem de dahil olmak üzere birçok organ ve sistemin normal fonksiyonunun devamında rol oynadığı anlaşılan bir sekosteroid hormondur (5). Vitamin D reseptörleri(VDR); miyositler, kardiyomyositler, vasküler endotel hücreleri, immün sistem hücreleri gibi pek çok hücrede tanımlanmıştır ve vitamin D’nin bu sistemler üzerindeki olası etkisini göstermektedir (6).

Vitamin D eksikliği, dolaşımdaki majör metaboliti olan 25-(OH) vitamin D3 düzeyinin 20ng/ml'nin altında olması şeklinde tanımlanmakla birlikte; 10ng/ml altındaki değerler şiddetli yetersizlik, 21-29ng/ml arasındaki değerler ise göreceli yetersizlik olarak tanımlanmaktadır (6). Bu tanımlamalar baz alındığında, dünya çapında yaklaşık 1 milyar insanda ve A.B.D'de yaşayan sağlıklı genç erişkinlerin yaklaşık %36'sında vitamin D eksikliği veya göreceli yetersizliğinin bulunduğu tahmin edilmektedir (7). Bu oranlar geleneksel giyinme alışkanlıkları nedeniyle güneş ışığına maruziyetin daha az olduğu Ortadoğu toplumlarında ve özellikle de bu toplumlarda yaşayan kadınlarda daha yüksektir (7). 2009 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'de üreme çağındaki kadınlarda vitamin D eksikliği sıklığı %54.3, şiddetli vitamin D eksikliği sıklığı ise %27 olarak saptanmıştır (8).

Vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki, 1990'lı yılların başında miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda vitamin D düzeylerinin düşük olduğunun gösterilmesi ile öne sürülmüştür(9). Takip eden dönemde yapılan geniş çaplı araştırmalarda da, düşük vitamin D düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık riski ve istenmeyen kardiyovasküler olay sıklığı arasında ilişki olduğu gösterilmiştir(10,11). Epidemiyolojik çalışmalarda da vitamin D düzeyleri ile hipertansiyon, diabetes mellitus, hipertrigliseridemi ve obezite gibi kardiyovasküler risk faktörleri arasında ters bir ilişkinin varlığı ortaya konulmuştur(12). Bunlara ek olarak, vitamin D eksikliğinin renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi aktivitesinde artışa ve sonuç olarak da sol ventrikül hipertrofisine ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir(5,13). Başlangıçta vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki, risk faktörlerinin sıklığında ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivitesindeki artışla sınırlı gibi görülse de; gerek vitamin D'nin immün sistem üzerindeki düzenleyici etkisinin daha iyi anlaşılması, gerekse immünite ile ilişkili mekanizmaların ateroskleroz sürecindeki etkisinin ortaya çıkarılması; vitamin D ile kardiyovasküler hastalıklar arasında daha direkt bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir.

Vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki ve genç kadınlardaki vitamin D eksikliği sıklığı bir arada ele alındığında; kadınlarda erken yaşlardaki vitamin D eksikliğinin gelecekte ateroskleroz gelişimine yatkınlık yaratıp yaratmayacağı sorusu akla gelmektedir. Bu sorunun cevabını bulmak, menapoz

öncesi kadınlarda, vitamin D eksikliği olsun ya da olmasın, klinik olarak aşikar kardiyovasküler hastalık sıklığının çok düşük olması nedeniyle pek de kolay değildir. Buna karşın, ateroskleroz varlığının ve gelişiminin erken göstergeleri olarak kabul edilen endotel fonksiyonu, endotel progenitör hücre sayısı ve karotis intima-media kalınlığı gibi ölçümler kullanılarak; vitamin D eksikliği olan kadınlarla, vitamin D düzeyleri normal olan kadınlar arasındaki farklılıklar belirlenebilir(14,15,16,17,18,19,20,21). Bunlara ek olarak, bu hasta grubunda inflamatuvar aktiviteyi belirlemeye yönelik olarak proinflamatuvar sitokinler olan IFN- $\gamma$  ve IL-17 ile antiinflamatuvar sitokinler olan IL-10 ve IL-13 düzeylerinin saptanması; hastalarda vitamin D eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkabilecek ve ateroskleroz gelişimine yatkınlık oluşturabilecek proinflamatuvar ortamın belirlenmesi açısından faydalı olacaktır. Böylece genç yaşlardaki vitamin D eksikliğinin kadınlarda menopoza sonrası dönemde aterosklerotik hastalık gelişimi açısından risk yaratıp yaratmadığına dair ipuçları elde edilebilecektir. Bunun yanı sıra, bu hasta grubunda vitamin D replasmanı sonrası da aynı ölçümlerin tekrarlanarak bazal değerlerle karşılaştırılması; vitamin D replasmanının bu kadınlarda kardiyovasküler hastalık riski üzerine kısa vadeli etkisini ortaya koymak açısından faydalı olacaktır.

Bu çalışmada menopoza öncesi dönemde vitamin D eksikliği tanısı almış ve vitamin D replasmanı planlanan kadınlarda, tedavi öncesi ve sonrasında subklinik ateroskleroz belirteçleri olarak kabul edilen endotel fonksiyonu, endotel progenitör hücre sayıları ve karotis intima media kalınlığının ölçülerek; bu değerlerin vitamin D düzeyleri normal olan kadınlarda yapılan ölçümlerle karşılaştırılması; böylece vitamin D eksikliğinin menopoza öncesi kadınlarda ateroskleroz gelişimine olası etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Aynı zamanda, bu hasta grubunda IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-13 ve IL-17 düzeylerinin ölçülerek, vitamin D eksikliğine bağlı olarak proinflamatuvar-antiinflamatuvar sitokin aktiviteleri arasındaki dengenin ateroskleroza eğilim yaratacak bir yönde değişip değişmediğinin belirlenmesi planlanmaktadır. Bunlara ek olarak, tedavi öncesi ve sonrası değerlerin karşılaştırılması ile vitamin D replasmanının, vitamin D eksikliği olan kadınlardaki kardiyovasküler hastalık riski üzerine kısa vadedeki etkilerinin ortaya konulması hedeflenmektedir.

Çalışma sonucunda elde edilecek veriler ile kadınlarda ateroskleroz gelişimi açısından sorun oluşturabilecek, sık karşılaşılan ve kolay tedavi edilebilen bir risk faktörünün ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır. Bu çalışma ile kadınlarda kalp sağlığının korunması ve geliştirilmesi konusuna katkı sağlamak hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ateroskleroz Gelişimi

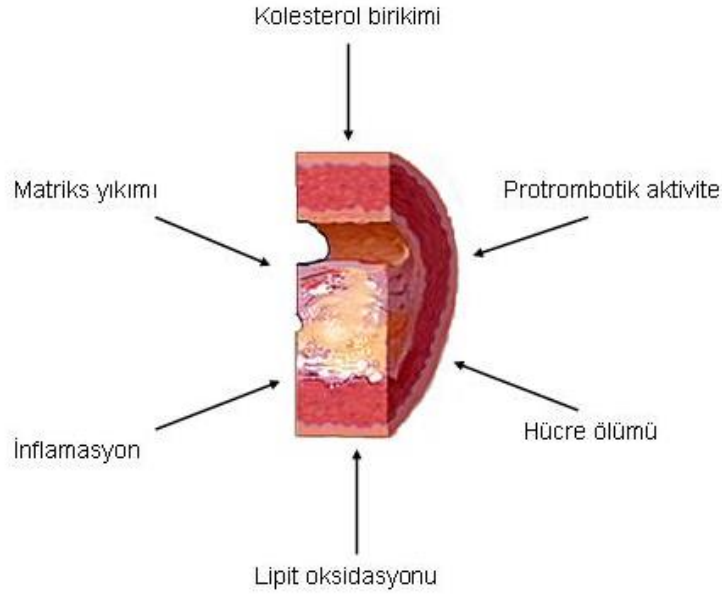
Tüm dünyada morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni olan KAH'ın temelinde aterosklerotik mekanizmalar rol oynamaktadır. Aterosklerotik damar hastalığı, büyük ve orta boy arterlerde intima ve altında lipid birikimi ve inflamasyonla seyreden kronik ve ilerleyici bir hastalıktır. Koroner arterlerin intima tabakasının altında makrofajlardan oluşan yağ yüklü hücrelerin birikimiyle oluşmaya başlayan yağlı çizgilenmeler aterosklerozun en erken belirtilerini oluşturmaktadır. Aterosklerozun ilerlemesi ile ilişkili son teorilerde, basit bir lipit depolanmasının oluşturduğu klinik olaydan öte, birçok genetik ve çevresel faktörün etkileşimi sonucunda ortaya çıkan ve progresyonun her safhasında kronik bir inflamasyonun bulunduğu bir süreç olarak kabul edilmektedir (22). Birçok çalışmada kardiyovasküler risk faktörleri olarak bilinen diyabetes mellitus, hipertansiyon, sigara ve hiperlipideminin inflamatuvar yanıt oluşumunu tetikleyerek kronik sürecin devamına katkıda buldukları gösterilmiştir.

Günümüzde aterosklerotik sürecin başlangıcı, ilerlemesi ve hassas plak yırtılması ile sonuçlanan patofizyolojik mekanizmalar önemli oranda ortaya çıkarılmıştır. Buna göre uzun süre kardiyovasküler risk faktörlerine maruz kalan ilk organ endoteldir (23,24). Sonrasında endotel hücrelerinden adhezyon molekülleri (VCAM-1, ICAM), büyüme faktörleri (PDGF,  $\beta$ FGF, TGF- $\beta$ , IL-1, TNF  $\alpha$ ) ve sitokinler (M-CSF, GM-CSF) salınmaya başlamakta, okside LDL ile yüklü monositlerin diapedez yoluyla subendotelyal bölgeye geçmesi ile intima altındaki alanda biriken lipit yüklü makrofajlar inflamatuvar yanıtın daha da artmasını sağlamaktadır (25,26). Bu dönemde endotel hücrelerinden salınan makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF) bir yandan bölgeye makrofaj yığılmasını artırırken, T lenfositleri hem inflamatuvar cevabı artırmakta hem de makrofajları aktive ederek kollajen, metalloproteinaz ve sitokin salınımını sağlamaktadır (27,28). İntima tabakası altında biriken düz kas hücreleri ise ekstraselüler matriks yapımına katkıda bulunarak plağın güçlenmesini sağlamaktadır.

Plak büyümesi önce dışa doğru olarak "pozitif yeniden şekillenme" olarak tanımlanmakta, sonra ise içe doğru büyüyerek "negatif yeniden şekillenme" olarak

adlandırılan ve damar lümeninde daralmanın olduğu süreci başlatmaktadır. Plağın büyümesiyle koroner damar lümeni ile aterosklerotik plak arasındaki mesafe artmakta, böylece plağın kanlanması bozukluk meydana gelerek hipoksi oluşmaktadır (29,30) Aterom plağındaki hipoksi fragil hücrelerden oluşan ve yırtılmaya meyilli yeniden damarlanma oluşumuna yol açmaktadır (31). Yeniden damarlanmanın bu kararsız yapısı plak içine kanamaya yol açıp, kan ve demir birikimine yol açarak plağın kararsız hale dönüşmesinde rol oynamaktadır (32,33). Ancak aterosklerotik sürecin sonucunda gelişen akut koroner sendromlar plak progresyonu sonucunda oluşan damar lümenindeki daralmadan çok, kritik olmayan plakların yırtılması sonucunda üzerinde oluşan trombus sonucunda gerçekleşmektedir (34). Plağın yırtılması ile sonuçlanan stabilizasyonunun bozulması süreci ise “hassas plak” kavramında açıklanmaktadır.

Aterosklerotik plak esas olarak lipid çekirdek ve etrafındaki fibröz kılıftan oluşmaktadır. Hücre dışı lipid ve nekrotik hücre artıklarından zengin olan çekirdeğinin lipid içeriği %40'dan fazla ise yırtılmaya aday olduğu bildirilmiştir (35). Düz kas hücre miktarının azalması, plak içine kanama, lipitten zengin bir içerik ve ince fibröz kılıf hassas plağın özellikleridir. Plağın yırtılmaya olan eğilimini belirlemede lipid içeriğinin yanında fibröz kılıfın da özellikleri de önemli rol oynamaktadır. Fibröz çatının kalınlık, hücre içeriği ve matriks yapısı stabilitesini belirleyen önemli özellikleridir (36). Fibröz çatının ince ve dayanıksız olduğu omuz bölgesinin incilmesi plak yırtılması ve akut koroner sendromla sonuçlanan süreci başlatabilmektedir. İnflamatuvar hücrelerden salınan çeşitli mediatörler, plazminojen ve matriks metaloproteazları (MMP) fibröz çatıyı zayıflatarak yırtılmasına zemin hazırlamaktadır (Şekil 1) (37). İnflamasyon plağı hassas hale getirirken tromboz riskini de artırmakta, oluşan trombositlerden salınan PDGF, TGF-B gibi mediatörler de inflamasyon artışına neden olan döngüyü yaratmaktadır.



**Şekil 2.1.** Hassas plak oluşumunu etkileyen faktörler

Hassas plağın komplike olmasıyla gelişen akut koroner sendrom oluşumunda aterosklerotik plak özelliklerine ek olarak, çeşitli sistemik etkenlerin plak yırtılmasına veya erozyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Sempatik sinir sistemi aktivitesi, kan basıncındaki yükselmeler ile koroner akımdaki ani artışlar plak yırtılmasını tetiklemektedir (38). Bunlara ek olarak hastada sistemik inflamasyon, tromboza eğilim, hiperkoagülabilité, trombosit kümelenmesine eğilim, fibrinolizde azalma ile vazokonstriksiyon plak yırtılmasını tetiklemektedir (39). Kararlı KAH olanlarla karşılaştırıldığında akut koroner sendromda inflamasyon düzeyinin yüksek oluşu, hassas plağın yırtılmasına neden olacak sistemik inflamasyonun belirgin olduğu “hassas hasta” kavramının gündeme gelmesine neden olmuştur. Dolayısıyla günümüzde KAH’a yaklaşımın esasını akut koroner sendroma neden olabilecek tek bir hassas plağın stabilize edilmesinden öte, tüm hassas plakların stabilizasyonunu hedef alan genel bir kardiyovasküler risk faktör yönetimi kavramı oluşturmaktadır.

Genel bir yaklaşımla hastanın kardiyovasküler risk faktörlerini kontrol altına almaya çalışmak inflamasyonu yatıştırdığı gibi, hassas plak gelişimini veya oluşmuş plağın yırtılmasını önlemektedir. Risk faktörlerini yönetimini yaşam tarzı

değişiklikleri ve medikal tedaviler olarak iki grupta incelenebilmekte, Akdeniz diyeti, doymuş yağdan fakir diyetler, obezite ile savaş ve ideal kiloya gelme, sigaranın bırakılması, egzersiz gibi yaşam tarzı modifikasyonlarının yanı sıra statinler, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, beta blokerler, fibratlar ve klopidogrel plak stabilizasyonu ile ilişkili bulunmuştur (40,41). Plak stabilizasyonu konusunda en güçlü kanıtlar statinlerle ilişkili bulunmuştur. Statinler esas etkilerini plazma kolesterol düzeyini düşürerek ve plağın lipid içeriğini azaltarak gerçekleştirmektedir. Statinlerin koroner plak yapısına etkisinin IVUS ile araştırıldığı REVERSAL çalışmasında, koroner arter hastalığı olanlara yüksek doz statin tedavisi verilmesinin etkin LDL düşüşü yanında aterom hacminde de belirgin küçülme sağladığı bildirilmiştir (42). Bu sonuçlar statin tedavisi ile inflamasyonu baskılamanın çok kısa sürede kardiyovasküler son noktalara olumlu etki yaptığının göstergesidir.

## **2.2. Kardiyovasküler Risk Kavramı**

Ateroskleroz, uzun bir asemptomatik döneme sahip kronik, ilerleyici ve inflamatuvar bir hastalıktır. Koroner arter hastalığı ve neden olduğu akut koroner sendromlar ise aterosklerozun klinik belirtilerini oluşturmaktadır. Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık yaşamın erken dönemlerinde başlayıp uzunca bir süre sessiz şekilde ilerler ve belli bir dönemde semptomatik hale gelerek ileri bir aşamaya geçer (43). Avrupa'da 75 yaş altında ölen kadınların %42'si, erkeklerin ise %38'i aterosklerotik kardiyovasküler hastalık zemininde ortaya çıkan akut koroner sendromlar nedeniyle ölmektedir (44). Akut koroner sendromların neden olduğu mortalite ve morbiditenin azaltılabilmesi için ateroskleroza yönelik önleyici tedbirlerin erken dönemde alınması önem taşımaktadır.

Kardiyovasküler hastalıklardan korunma, ideal olarak intrauterin dönemde başlayıp yaşamın sonuna kadar devam eden bir süreci kapsar. Klasik olarak, kardiyovasküler hastalıkları önlemeye yönelik yaklaşımlar orta yaş ve üzerinde, bilinen koroner arter hastalığı olan ya da koroner arter hastalığı için yüksek risk grubundaki bireyleri hedef almaktadır. Buna karşın; gençlerde ve kardiyovasküler hastalıklar açısından düşük ya da orta risk grubundaki bireylerde, alınacak önlemlerin oluşturacağı etkinin büyüklüğü sıklıkla göz ardı edilmektedir (45).

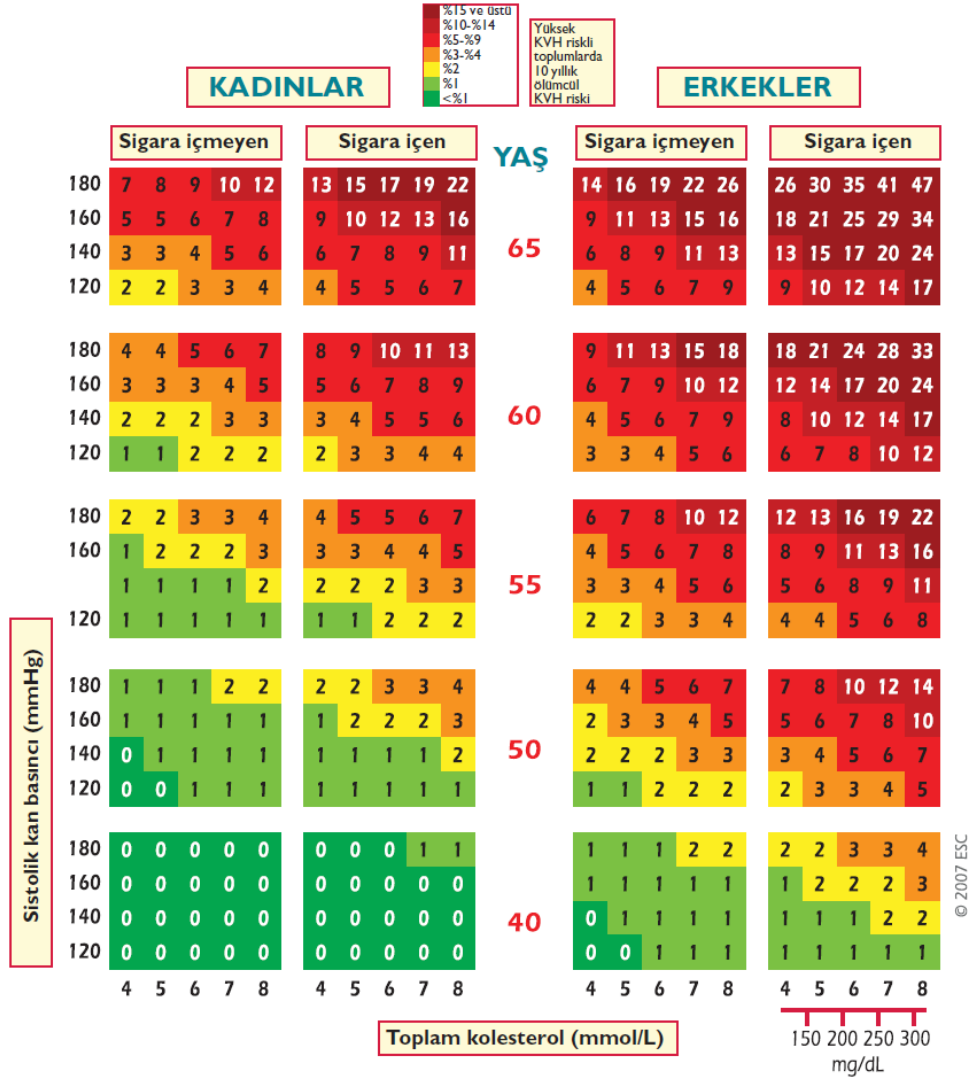


Gençler ve çocuklar mutlak kardiyovasküler hastalık gelişimi açısından düşük riskli grupta yer almalarına karşın, kendi yaşlıları içerisinde göreceli olarak artmış riske sahip gençlerin ileride de yüksek risk grubunda kalmaya devam ettiği ve yaşamlarının sonraki döneminde kardiyovasküler olay yaşama olasılıklarının yaşlılarına göre daha fazla olduğu bilinmektedir (46). Bu nedenle, kardiyovasküler hastalıklardan korunmaya yönelik önlemlerin yaşamın erken dönemlerinden itibaren uygulamaya konulması gerekmektedir.

Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi açısından; sigara kullanılmaması, haftada en az 5 kez 30 dakika süreyle fiziksel aktivitede bulunulması, sağlıklı beslenme alışkanlıklarının geliştirilmesi, aşırı kilolu olmamak, kan basıncının 140/90 mmHg'nin altında tutulması, kan kolesterol düzeyinin 190 mg/dL'nin altında tutulması, normal glukoz metabolizmasının idame ettirilmesi ve aşırı stresin önlenmesi tüm bireyler açısından büyük önem taşımaktadır (45). Bununla birlikte, hangi bireylerin korunma açısından daha detaylı değerlendirilmesi ve daha etkin biçimde tedavi edilmesi gerektiğini anlama ihtiyacı da ortaya çıkmıştır. Avrupa Kardiyoloji Derneği 2012 yılında yayınladığı kardiyovasküler hastalıklardan korunma kılavuzunda bu amaçla; kişilerin yaşını, cinsiyetini, kan basıncını, total kolesterol düzeylerini ve sigara alışkanlıklarını esas alarak 10 yıllık ölümcül aterosklerotik olay riskini tahmin etmeyi hedefleyen SCORE risk tahmin sisteminin (Şekil 2.2) kullanılmasını önermiştir (45).

2012 yılında yayınlanan kılavuzda bireyler SCORE risk tahmin sistemi esas alınarak çok yüksek, yüksek, orta ve düşük risk kategorilerine ayrılmıştır (Tablo 2.1) (45). SCORE risk tahmin sisteminin bazı özel gruplarda dikkatli yorumlanması gerektiği de aynı kılavuzda vurgulanmıştır. Bu grupların başında mutlak riskin düşük olarak saptandığı genç bireyler gelmektedir. Gençlerde mutlak riskin düşük çıkmasının, yüksek göreceli riskleri gizleyebileceği belirtilerek; bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla göreceli risk tablolarının (Şekil 2.3) ve 'risk yaşı' hesaplamasının (Şekil 2.4) kullanılması önerilmiştir (45). Böylece genç bireyler arasında da göreceli olarak yüksek riske sahip olanların belirlenmesi ve bu kişilerde de koruyucu önlemlerin etkin biçimde alınabilmesi amaçlanmıştır. Gençlere ek olarak; santral obezitesi olanlarda, sedanter bireylerde, psikososyal risk faktörlerine sahip bireylerde, diyabetiklerde, düşük HDL kolesterol düzeyi olanlarda, yüksek

trigliserit, fibrinojen, apolipoprotein B ve lipoprotein(a) düzeyi olanlarda, orta-ciddi kronik böbrek hastalığı olanlarda (glomerüler filtrasyon hızı <60 mL/dk/1.73m<sup>2</sup>), ailesinde erken yaşta kardiyovasküler hastalık öyküsü olanlarda ve subklinik ateroskleroz bulguları olan asemptomatik bireylerde de gerçek riskin tablolarıda gösterilenden daha yüksek olabileceği belirtilmiştir (45).

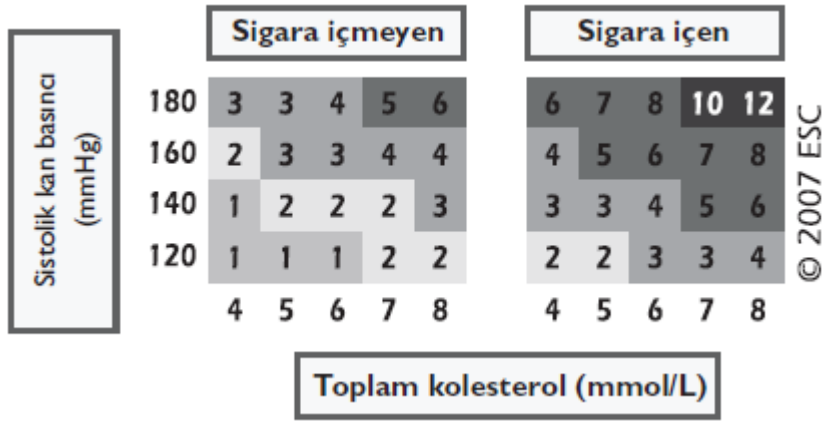


**Şekil 2.2.** SCORE risk tablosu: Yüksek kardiyovasküler hastalık riskli toplumlarda 10 yıllık ölümcül kardiyovasküler olay riski.

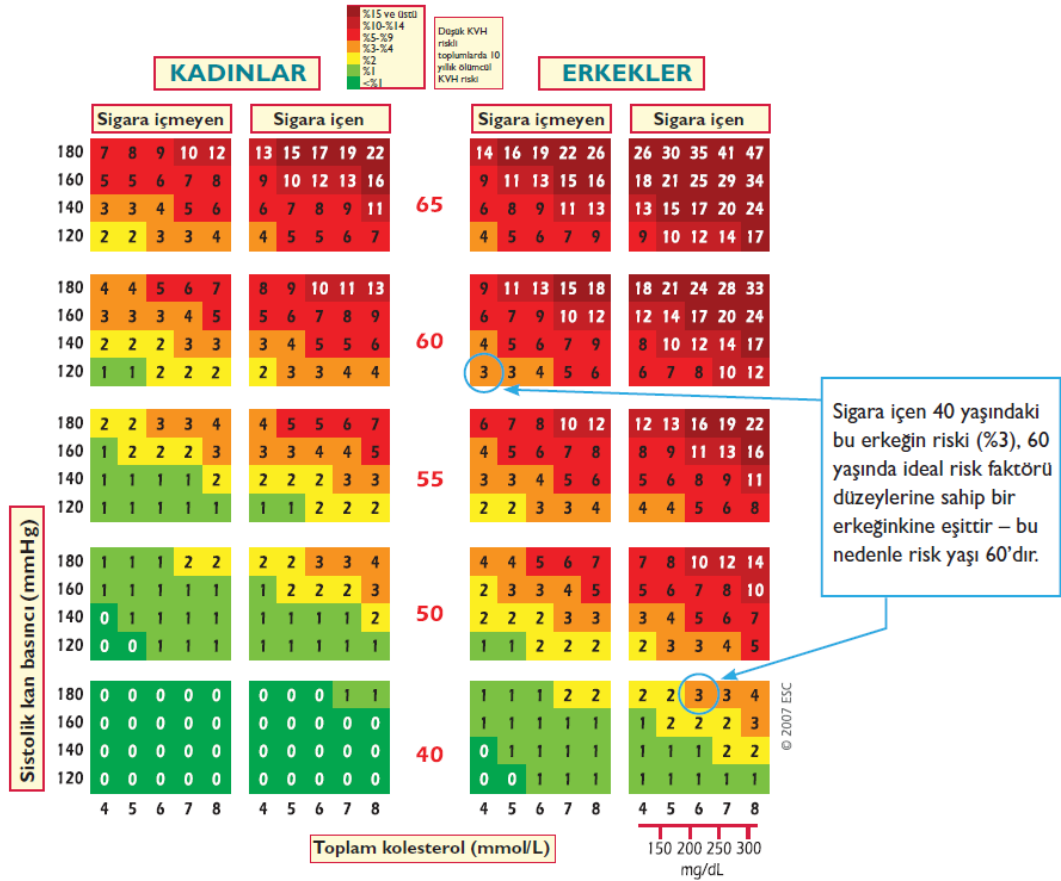
**Tablo 2.1.** Kardiyovasküler risk grupları

<p><b>ÇOK YÜKSEK RİSK GRUBU</b></p> <p>Aşağıdakilerden herhangi biri olan bireyler:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• İnvaziv veya non-invaziv testler (koroner anjiyografi, nükleer görüntüleme, stres ekokardiyografi, ultrasonda karotis yerleşimli plaklar gibi) ile kanıtlanmış KVH, geçirilmiş myokard enfarktüsü, AKS, koroner revaskülarizasyon (PKG, CABG) ve diğer arteriyal revaskülarizasyon işlemleri, iskemik inme, periferik arter hastalığı (PAH).</li><li>• Bir veya daha fazla KV risk faktörü ve/veya hedef organ hasarının (mikroalbuminüri: 30-300 mg/24 saat) eşlik ettiği diabetes mellitus (tip 1 veya tip 2)</li><li>• Ciddi kronik böbrek hastalığı (KBH) (GFH &lt; 30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>)</li><li>• Hesaplanmış SCORE <math>\geq</math> %10</li></ul>
<p><b>YÜKSEK RİSK GRUBU</b></p> <p>Aşağıdakilerden herhangi biri olan bireyler:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Ailesel dislipidemi ve ciddi hipertansiyon gibi risk faktörlerinin bulunması</li><li>• KV risk faktörleri veya hedef organ hasarının eşlik etmediği diabetes mellitus (tip 1 veya tip 2)</li><li>• Orta ciddiyette kronik böbrek hastalığı (GFH 30-59 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>)</li><li>• Hesaplanmış SCORE <math>\geq</math> %5-10</li></ul>
<p><b>ORTA RİSK GRUBU</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hesaplanmış SCORE <math>\geq</math> %1-5</li></ul>
<p><b>DÜŞÜK RİSK GRUBU</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hesaplanmış SCORE &lt; %1</li></ul>

AKS, akut koroner sendrom; CABG, koroner arter bypass greftleme; KBH, kronik böbrek hastalığı; KV, kardiyovasküler; KVH, kardiyovasküler hastalık; PAH, periferik arter hastalığı; PKG, perkütan koroner girişim.



Şekil 2.3. 10 yıllık mortalite için göreceli risk tablosu. Kolesterol düzeylerinin mmol/L'den, mg/dL'ye dönüştürülmesi için: 8=310, 7=270, 6=230, 5=190, 4=155.



Şekil 2.4. Risk yaşı kavramının açıklaması.

### **2.3. Subklinik Ateroskleroz**

Koroner aterosklerozun neden olduğu iskemik, eforlu elektrokardiyografi, stres ekokardiyografi ve radyonüklid sintigrafi gibi yöntemlerle belirlenebilmektedir. Buna karşın, ani kardiyak ölüm gelişen kadınların %64'ünde, erkeklerin ise %50'sinde koroner ateroskleroz iskemik bulgulara neden olmadan ani ölüm ile ortaya çıkmaktadır ve bu ölümlerin önemli bir kısmı risk tahmin sistemlerine göre yüksek risk grubunda olmayan bireylerde görülmektedir (47). Bu nedenle, asemptomatik ancak koroner ateroskleroza olan bireylerin belirlenmesi kardiyovasküler risk tahmin sistemlerine katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte, bu kişilerin etkin biçimde tedavi edilmesi kardiyovasküler olaylardan korunma açısından da önemlidir.

Subklinik ateroskleroz prevalansı kesin olarak bilinmemekle birlikte; 65 yaş ve üzerinde 5000'den fazla erişkinin incelendiği Cardiovascular Health çalışmasında kadınların %36'sında, erkeklerin ise %38.7'sinde subklinik aterosklerotik hastalık saptanmış ve hastalık sıklığının artan yaşla birlikte yükseldiği bildirilmiştir (48). Framingham Offspring çalışması kohortundan rastgele seçilen bir grupta ise kardiyovasküler MRG ile belirlenen aortik ateroskleroz sıklığı kadınlarda %38, erkeklerde ise %41 olarak saptanmış ve plak yükünün artan yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir (49). Bunlara ek olarak farklı toplum gruplarında subklinik ateroskleroz varlığını inceleyen çalışmalar sonucunda; postmenopozal kadınlarda ve ailesinde erken KAH öyküsü olanlarda subklinik ateroskleroz sıklığının yüksek olduğu bildirilmiştir (47). Bunlara ek olarak bozulmuş açlık glukozu, metabolik sendrom ve diyabet gibi birçok metabolik bozukluğun da subklinik ateroskleroz sıklığı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (47).

### **2.4. Subklinik Ateroskleroz Ölçümü**

Subklinik aterosklerozun ölçümü, özellikle düşük ve orta kardiyovasküler riske sahip asemptomatik bireylerde, kardiyovasküler risk değerlendirilmesinin iyileştirilmesi açısından yararlı olabilmektedir (45). Subklinik aterosklerozun değerlendirilmesi için invaziv ve invaziv olmayan yöntemler uygulanabilir. Bu yöntemlerin bir kısmı, arter duvarındaki düz kas hipertrofi/hiperplazisi ve aterosklerotik oluşumlar gibi yapısal değişikliklerin saptanmasına yöneliktir. Diğer yöntemlerde ise, arter duvarında aterosklerotik yapısal değişikliklerin ortaya

çıkmasına neden olabilecek ve yapısal değişiklikler ortaya çıkmadan çok daha erken dönemlerde saptanabilir olan bir takım fonksiyonel değişikliklerin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. İlk gruptaki yöntemler arasında konvansiyonel koroner anjiyografi, IVUS ve OCT gibi invaziv yöntemlerin yanısıra; kardiyak manyetik rezonans görüntüleme, koroner kalsiyum skorlama, karotis arter ultrasonografisi, oftalmoskopi ve ayak bileği-kol indeksi ölçümü gibi invaziv olmayan tetkikler de yer almaktadır. İkinci grupta ise endotel fonksiyonlarını değerlendirmeye yönelik akım aracılı dilatasyon (FMD) ölçümü ve endotel progenitör hücre sayılarının belirlenmesinin yanısıra arteriyel sertliğin değerlendirilmesinde kullanılan bir takım invaziv olmayan teknikler yer almaktadır.

#### **2.4.1 İnvaziv Yöntemler**

##### **2.4.1.1. Konvansiyonel Koroner Anjiyografi**

Subklinik aterosklerozun ölçümü amacıyla kullanılabilen invaziv tekniklerin başında KAH ciddiyetini belirlemeye yarayan lüminografik yöntemlerin altın standardı olan konvansiyonel koroner anjiyografi gelmektedir. Koroner anjiyografi ileri evreye ulaşmış plak varlığını ve ciddiyetini belirlemek açısından önemli bir tetkik olmakla birlikte; erken aterosklerozu, damar duvarındaki aterosklerotik plak yükünü ve plak morfolojisini yeterince gösterememektedir. Akut koroner sendrom oluşumunda rol alan aterosklerotik plakların çoğunluğunun kritik olmayan plaklardan kaynaklandığı ve plak yırtılmasındaki esas faktörün plak ciddiyetinden öte plak içeriği olduğu da göz önüne alındığında, konvansiyonel koroner anjiyografinin subklinik ateroskleroz ölçümü ve kardiyovasküler risk değerlendirilmesine yaptığı katkı çok sınırlı kalmaktadır (50).

##### **2.4.1.2. IVUS ve OCT**

Subklinik ateroskleroz ölçümünde kullanılabilen bir diğer invaziv yöntem ise IVUS'tur. Lüminografik bir yöntem olan konvansiyonel koroner anjiyografinin aksine, IVUS yönteminde damar duvarı tam kat olarak incelenebilmektedir. IVUS ile koroner plak alanı ve yükü güvenilir bir biçimde ölçülmekte, tedavi ile plak regresyonu da takip edilebilmektedir. IVUS ile saptanan plak ekojenitesi plağın içeriği hakkında dolaylı olarak bilgi vermekte, hassas plağı saptama şansını artırmak için sanal histoloji ve palpografi yöntemleriyle plak içeriği ve plak yüzeyinin deformabilitesi hesaplanmaya çalışılmaktadır. IVUS'un plak içeriğini saptamada

yetersiz kaldığı durumlarda, plak stabilitesinin belirlenmesinde daha etkin bir yöntem olarak değerlendirilen OCT de kullanılabilir. Ancak koroner damar içinde uygulanan bu ultrasonografik yöntemlerin hem pahalı hem de invaziv işlemler oluşu, bu yöntemlerin plak karakterizasyonunda kullanımının günlük klinik uygulamalarda yeterince yer bulamamasına neden olarak, yöntemin uygulanmasını yalnızca bilinen aterosklerotik hastalığı olanlara kısıtlamıştır (51, 52).

## **2.4.2. İnvaziv Olmayan Yöntemler**

### **2.4.2.1. Kardiyak Manyetik Rezonans Görüntüleme**

Manyetik rezonans görüntülemenin (MRG) asemptomatik bireylerde ateroskleroz görüntülenmesinde kullanımı ile ilgili çalışmalar son dönemlerde hız kazanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda kardiyak MRG'nin koroner aterosklerozun ilk bulgularından birisi olan koroner arter duvarındaki pozitif yeniden şekillenmeyi etkin bir biçimde saptayabildiği bildirilmiştir (53). Buna karşın, kardiyak MRG'nin asemptomatik bireylerde ateroskleroz taramasında duyarlılık ve özgüllüğü yeterince iyi bilinmemektedir (45). Bu nedenle de gelecek için umut verici bir yöntem olan MRG'nin subklinik ateroskleroz değerlendirilmesindeki yeri bugün için net değildir.

### **2.4.2.2. Koroner Kalsiyum Skorlama**

Koroner aterosklerotik lezyonların gelişim sürecinde, aktif kemik oluşumundakine benzer mekanizmalarla plak içerisinde kalsiyum apatit kristalleri birikmektedir ve bu birikim 20'li yaşlardan itibaren tespit edilebilmektedir (54). Koroner kalsiyum skorlama, koroner arterlerdeki kalsifikasyonların spiral ya da helikal bilgisayarlı tomografik görüntüleme ile ölçümü esasına dayanmaktadır. Koroner arter kalsifikasyonları, koroner arterlerde ateroskleroz varlığının göstergesidir ve kalsifikasyonun derecesi koroner arterlerdeki toplam plak yükü ile ilişkilidir. Buna karşın, ateroskleroz bulunan koroner arterlerde kalsifikasyon olması zorunlu değildir (55). Koroner kalsifikasyonların varlığı aterosklerotik plakların stabilitesi hakkında kesin bir bilgi verememektedir (56). Koroner kalsifikasyonlar anlamlı koroner stenoz varlığı için de zayıf bir öngördürücüdür ve %50'nin üzerinde koroner darlık için özgüllüğü %50 olarak bildirilmiştir. Koroner kalsifikasyonlarla ilişkili ateroskleroz varlığının ve yaygınlığının değerlendirilmesi amacıyla sıklıkla 'Agatston Skoru' kullanılmaktadır ve Agatston skorunun '0' olmasının negatif prediktif değeri %100'e yakın olarak saptanmıştır (57). Öte yandan, son dönemde

yapılan çalışmalarda özellikle yumuşak plak varlığının ağır bastığı genç akut koroner sendrom hastaları açısından bu negatif prediktif değerin sorgulanmaya açık olduğu da belirtilmektedir (58).

Agatston skoru, koroner ateroskleroz yaygınlığını yansıtmaya açısından önemli bir prognostik göstergedir. Rotterdam Kalsifikasyon çalışması, Agatston skoru üst persentilde yer alan bireylerin, klasik risk faktörlerinden bağımsız olarak, 12 kat daha fazla miyokard enfarktüsü riskine sahip olduğunu göstermiştir (59). Uygun teknikle yapıldığında ~1 mSv radyasyon maruziyetine neden olan koroner kalsiyum skorlaması, Avrupa Kardiyoloji Derneği tarafından 2012 yılında yayınlanan kardiyovasküler hastalıklardan korunma kılavuzunda, orta risk grubundaki asemptomatik bireylerde sınıf IIa olarak önerilmektedir (45).

#### **2.4.2.3. Karotis Arter Ultrasonografisi**

Toplum tabanlı çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, bir arter alanında aterosklerotik değişiklikler bulunmasının, diğer arter alanlarında da ateroskleroz varlığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (60). Bu bilgi, subklinik aterosklerozun belirlenebilmesi amacıyla periferik arterlerin görüntülenmesi imkanını ortaya çıkarmıştır. Yüksek çözünürlüklü B mod ultrasonografi ile karotis arter intima-media kalınlığının (İMK) ölçülmesi, plak varlığı ve özelliklerinin değerlendirilmesi 1990'lı yılların başlarından itibaren subklinik ateroskleroz ölçümü amacıyla kullanılmaya başlanılmıştır (61).

Yetişkinlerde karotis arter İMK'nın artışı ile kardiyovasküler risk arasında kademeli bir ilişki mevcut olmakla birlikte, karotis arter İMK'nın >0.9mm olması anormal olarak nitelendirilmiştir. Karotis arter İMK'nın >1.5mm olarak ölçüldüğü alanlar ise aterosklerotik plak olarak kabul edilmektedir (60). Bilinen kardiyovasküler hastalığı olmayan bireylerde, karotis arter İMK arttıkça, inme ve miyokard enfarktüsü riski de artmaktadır. İnme riski için bu artış lineer olmayıp, düşük İMK değerlerinde risk artışı daha hızlı olmaktadır. Karotis arter ultrasonografisinde aterosklerotik plak saptanmasının ve saptanan plakların morfolojik özelliklerinin de kardiyovasküler olay riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (60). Bununla birlikte; yaş, erkek cinsiyet, diabetes mellitus, total kolesterol ve sigara gibi birçok kardiyovasküler risk faktörünün de karotis arter İMK ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (62).



Karotis arter İMK'nın zaman içerisindeki değişiminin güvenli bir biçimde izlenebilir olması, bu ölçümün antihipertansifler ve lipid düşürücüsü ilaçların kardiyovasküler risk üzerine etkilerini inceleyen klinik çalışmalarda sonlanım noktası olarak kullanılmasına da olanak vermiştir (16). Sonuç olarak, karotis arter İMK ölçümü, özellikle deneyimli laboratuvarlarda yapıldığında aterosklerotik yükün güvenilir bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (16).

#### **2.4.2.4. Ayak Bileği-Kol İndeksi**

Ayak bileği-kol indeksi, alt ekstremiteden ölçülen kan basıncının koldan ölçülen kan basıncına oranlanmasıyla elde edilen ve asemptomatik periferik vasküler hastalığın tanısı amacıyla kullanılan basit ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Ayak bileği-kol indeksinin  $<0.9$  olması, periferik arterlerde hemodinamik olarak anlamlı darlık varlığını %90 duyarlılık ve %98 özgüllükle öngördürebilmektedir (65). Ayak bileği-kol indeksinin kardiyovasküler hastalık riski ile ters orantılı olduğu ve anjina, miyokard enfarktüsü, konjestif kalp yetmezliği ve inme için öngördürücü olduğu da bildirilmiştir (66).

#### **2.4.2.5. Akım Aracılı Dilatasyon (FMD)**

Arterlerin endotel fonksiyonları, endotel hücreleri üzerine etkili vazodilatör ve vazokonstriktör maddeler arasındaki dengenin bir göstergesidir (67). Endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla kullanılan yöntemler arasında etkinliği en iyi anlaşılmış olanı, ultrason aracılı brakial arter reaktivitesinin ölçümüne dayanan akım aracılı dilatasyon (FMD) tekniğidir (16). Bu teknikte, kısa süreli iskemi sonrasında arteriyel yatakta kan akımını arttırmayı hedefleyen ve nitrik oksit aracılı olarak ortaya çıkan vazodilatasyonun ölçülmesi hedeflenmektedir (16). Yapılan çalışmalar erişkinlerde FMD'nin normal değerinin  $\%8.23 \pm 4.51$ 'den  $\%11.98 \pm 0.6$ 'ya kadar değişen bir aralıkta olabileceğini göstermiştir (68, 69).

Düşük FMD düzeyi, koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerde kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerinden ve Framingham risk skorundan bağımsız olarak öngördürmektedir (70, 71). Düşük FMD düzeylerinin asemptomatik bireylerde; düşük HDL düzeyi, hipertansiyon, artmış aterojenik LDL parçacıkları, insülin direnci, sigara kullanımı, sedanter yaşam tarzı ve inflamasyon gibi kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (16). Buna ek olarak; aerobik egzersizler, akdeniz tipi diyet

ve antioksidan madde tüketimi gibi kardiyovasküler riskin azaltılmasına yönelik yaşam tarzı değişikliklerinin endotel fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyerek FMD düzeylerini yükselttiği de bildirilmiştir (16).

Kardiyovasküler hastalıkların ve risk faktörlerinin tedavisinde kullanılan ilaçların endotel fonksiyonları ve dolayısıyla FMD üzerine etkileri de birçok araştırmada incelenmiştir. Bu ilaçlar arasında belki de en çok araştırılan grup olan statinlerin, birçok farklı grupta pleiotropik etkileri aracılığıyla LDL düşürücü etkilerinden bağımsız olarak endotel fonksiyonlarını iyileştirdiği ve FMD düzeyini yükselttiği bildirilmiştir (72). Antihipertansif ilaçlar ile endotel fonksiyonları arasındaki ilişki incelendiğinde ise özellikle anjiyotensin II reseptör blokörleri ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyonlarında belirgin bir iyileşme sağladıkları bildirilmiştir (73). Bunlara ek olarak, metabolik sendromlu hastalarda metformin tedavisinin ve menopoz sonrası kadınlarda östrojen replasman tedavisinin de endotel fonksiyonlarında iyileşmeye neden olduğu öne sürülmüştür (74, 75).

Sonuç olarak brakiyal arter FMD düzeyleri endotel fonksiyonlarının göstergesi olarak, kardiyovasküler risk belirlenmesinde ve subklinik ateroskleroz ölçümünde kabul edilmiş yöntemler arasında yer almaktadır. Bununla birlikte; yöntemin çevresel faktörlerden çok fazla etkilenmesi nedeniyle teknik detaylara uyulması ve tecrübeli bir ekip tarafından gerçekleştirilmesi doğru sonuç elde edilebilmesi için son derece önemlidir.

#### **2.4.2.6. Endotel Progenitör Hücre Sayısı**

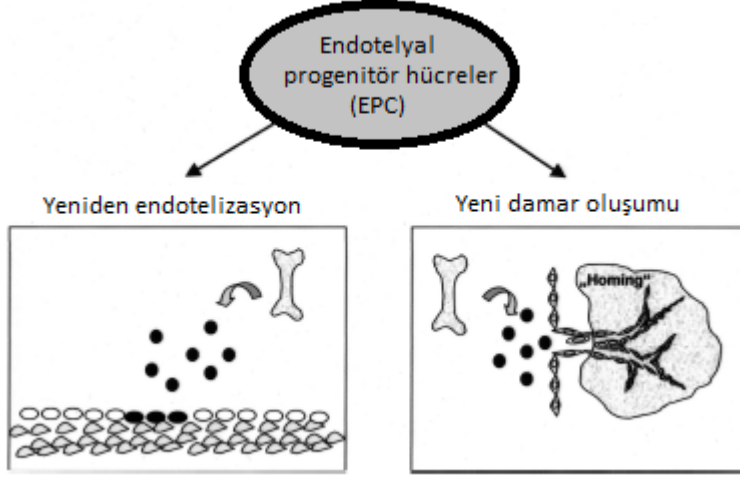
Bilim dünyasında uzunca bir süre geçerliliğini koruyan mezodermal hücrelerin endotel hücrelerine farklılaşmasının sadece embriyonik hayatta gerçekleştiği düşüncesi; 1997 yılında Asahara ve arkadaşlarının yetişkinlerden elde edilen hematopoetik progenitör hücrelerin ex vivo olarak endotel hücrelerine farklılaşabildiğini göstermeleriyle ortadan kalkmıştır (76). Endotel progenitör hücre olarak adlandırılan bu hücrelerin bazı endotelial belirteçler eksprese ettiği, iskemik bölgelerde kan damarı oluşumuna katıldığı ve yetişkinlerin kan dolaşımında halihazırda bulunduğu da daha sonra yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (76, 77). Endotel progenitör hücreler hem CD34 gibi hematopoetik kök hücre belirteçleri hem de VEGFR2 gibi endotelial belirteçler açısından pozitif hücreler olarak

tanımlanmışlardır. CD34'ün olgun endotel hücrelerinde de eksprese edilebilmesi nedeniyle daha sonra yapılan çalışmalarda olgun hücrelerde eksprese edilmeyen bir hematopoetik hücre belirteci olan CD133'ün de endotel progenitör hücrelerin daha immatür bir alt grubunda eksprese edildiği bildirilmiştir (78). Sonuç olarak, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücrelerin immatür endotel progenitör hücreleri, CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücrelerin ise daha ileri farklılaşma aşamasındaki endotel progenitör hücreleri ve bazen de endotelden sistemik dolaşıma dökülen olgun endotel hücrelerini temsil ettiği kabul edilmiştir (79).

Endotel progenitör hücrelerin iskemik dokulardaki neovaskülarizasyon dışında, hasarlı endotelin rejenerasyonunda da rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 3.1) (79). Geçmişte endotelin hasarlı bölgelerinin onarımında komşu endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunun rol oynadığı düşünülürken; günümüzde bu onarımda dolaşımdaki endotel progenitör hücrelerin de katkısı olduğu bildirilmiştir (79). Yapılan çalışmalar, dolaşımdaki endotel progenitör hücrelerin, endotel tabakasının bütünlüğünü korumaya yönelik endojen onarım mekanizmasının önemli bir parçası olduğunu ve endotel hücrelerinde kardiyovasküler risk faktörlerine bağlı olarak devamlı şekilde indüklenen apoptozise bağlı hasarın ortadan kaldırılarak endotel fonksiyonlarının korunmasına katkı sağladığını göstermiştir (80). Bu yolla endotel bütünlüğü ve fonksiyonlarının korunması, ateroskleroz ve trombotik komplikasyonların önlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır (80).

Endotel progenitör hücrelerin kardiyovasküler risk faktörleri ve kardiyovasküler olay riski ile ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Endotel progenitör hücre sayısı ve fonksiyonlarının, hem sağlıklı bireylerde hem de koroner arter hastalığı olanlarda serum kolesterol düzeyi, hipertansiyon, diabetes mellitus ve sigara kullanımı gibi kardiyovasküler risk faktörleri ile ters orantılı olarak değiştiği bildirilmiştir (81, 82). Endotel progenitör hücre sayısının, endotel fonksiyonları ile korelasyon gösterdiği ve endotel fonksiyonlarını Framingham risk skorundan daha iyi öngördüğü de gösterilmiştir (82). Koroner arter hastalarının uzun dönem takibinde de düşük CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısına sahip hastalarda kardiyovasküler olay ve kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (82). Asemptomatik bireylerde yapılan bir çalışmada da düşük CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısının subklinik

ateroskleroz varlığının bağımsız bir öngördürücüsü olduğu ve kardiyovasküler risk hakkında klasik risk faktörlerine ve inflamatuvar belirteçlere ek olarak bilgi sağladığı öne sürülmüştür (19).



**Şekil 2.5.** Endotel Progenitör Hücrelerin Vasküler Biyolojideki Rollerini. Urbich C ve Dimmeler S<sup>79</sup>’den uyarlanmıştır.

#### 2.4.2.7. Arteriyel Sertlik

Arter duvarının kompliyans, distansibilite ve sertlik ölçümleri arter duvarındaki yapısal değişikliklerin göstergesi olarak kullanılabilir. Distansibilite arter duvarının elastik özelliklerini yansıtan bir ölçümken; arteriyel sertlik bunun tam karşıtıdır. Kompliyans ise bir arterin kan hacmindeki değişikliklere yanıt verme kapasitesinin ölçümüdür (83). Arteriyel sertlik, vasküler yapı ve fonksiyon ile birlikte arteriyel kan basıncına bağlı olarak değişebilmektedir. Arteriyel kan basıncının yükselmesi arteriyel sertliği de arttırmaktadır (84). Arteriyel sertliğin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan yöntemler arasında; arteriyel basınç dalga formlarının analizi, arter duvarındaki gerilim basıncına bağlı olarak arter çapındaki değişimin hesaplanması ve yetişkinlerde ‘altın standart’ olarak kabul edilen nabız dalga hızının ölçülmesi yer almaktadır (16).

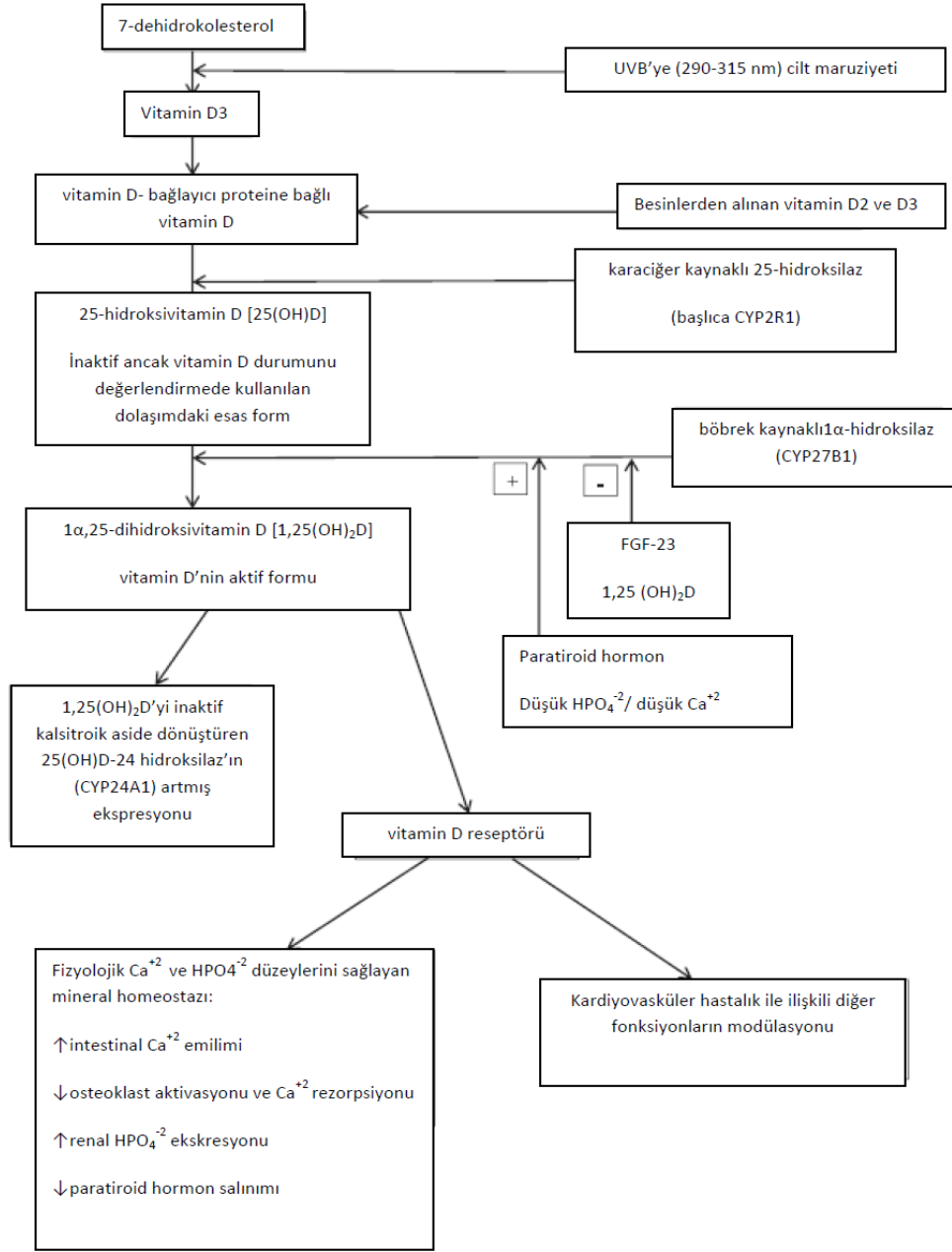
Arteriyel sertlikteki artış; ventriküler hipertrofi, kalp yetmezliği ve aterosklerotik süreç gibi kardiyovasküler olaylarda önemli rol oynayan sistolik kan basıncı ve nabız basıncındaki yükselmenin öncül bulgusu olarak kabul edilmektedir (16). Sistolik hipertansiyon koroner arter hastalığı, inme, kardiyovasküler ve toplam mortalite açısından da önemli bir risk faktörüdür ve arteriyel sertlikteki artış da

kardiyovasküler olaylar için öngördürücü değere sahiptir (85). Arteriyel sertlik ölçümleri arasında erişkinlerde altın standart olarak kabul edilen nabız dalga hızındaki artışın, ateroskleroz varlığı ve yaygınlığı ile güçlü bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (85). Bununla birlikte, nabız dalga hızının; hipertansiyon, diabetes mellitus, son dönem böbrek hastalığı, hiperlipidemi, ileri yaş ve sedanter yaşam tarzı gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığında da yükseldiği bildirilmiştir (16).

## **2.5 Vitamin D Fizyolojisi**

### **2.5.1. Vitamin D Sentezi ve Metabolizması**

Vitamin D sekosteroid yapılı bir hormondur ve yan zincirleri bakımından farklılık gösteren iki majör formu bulunmaktadır: vitamin D<sub>2</sub> (ergokalsiferol) ve vitamin D<sub>3</sub> (kolekalsiferol). Vitamin D endojen olarak vücutta üretilebildiği gibi besinlerle dışarıdan da alınabilmektedir (6). Endojen vitamin D üretimi, derinin ultraviyole-B ışınlarına maruziyeti sonucunda karaciğer kaynaklı 7-dehidrokolesterolün öncelikle previtamin D<sub>3</sub>'e ve sonra da vitamin D<sub>3</sub>'e dönüşümüyle olmaktadır (Şekil 2.6) (88). Deride üretilen vitamin D<sub>3</sub> insan vücudundaki vitamin D'nin yaklaşık olarak %80'ini sağlayan esas kaynağıdır. Bununla birlikte doğal besinler yoluyla da vitamin D<sub>3</sub> (hayvansal besinler) ve vitamin D<sub>2</sub> (bitkisel besinler) vücuda dışarıdan alınabilmektedir (89). Endojen üretilen ve besinlerle alınan vitamin D başlangıçta inaktif formdadır ve aktif metabolitlerine dönüşebilmesi için iki adet hidroksilasyon işlemine ihtiyaç vardır (6). İlk hidroksilasyon işlemi karaciğerde 25-hidroksilaz enzimi tarafından katalize edilir ve sonuçta 25(OH)D oluşur. İkinci hidroksilasyon işlemi ise esas olarak renal proksimal tübül hücrelerinde gerçekleşir ve 1-alfa hidroksilaz enzimi tarafından katalize edilen bu reaksiyon sonrası vitamin D'nin aktif formu olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D oluşur. İkinci hidroksilasyon reaksiyonu 1-alfa hidroksilaz enziminin eksprese edildiği böbrek dışı doku ve hücrelerde de gerçekleşebilmektedir (90). Bununla birlikte, dolaşımda bulunan ve vitamin D'nin endokrin etkilerinden sorumlu olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin büyük bir kısmı böbrek kaynaklıdır. Böbrek dışı dokularda lokal olarak üretilen 1,25(OH)<sub>2</sub>D ise sıklıkla otokrin ve parakrin olarak etkili olmaktadır (90).



**Şekil 2.6.** Vitamin D metabolizması ve etkileri. Norman PE<sup>88</sup>,den uyarlanmıştır. FGF, fibroblast büyüme faktörü; UVB, ultraviyole B.

Böbrekte gerçekleşen ikinci hidroksilasyon reaksiyonları serum kalsiyum, fosfat, parathormon ve FGF-23 düzeylerine bağlı olarak düzenlenen sıkı bir geri bildirim mekanizmasıyla kontrol edilmektedir (91). Bu nedenle de, 1-alfa hidroksilaz aktivitesi ile kuvvetli bir ilişki içinde olan dolaşımdaki 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyleri tüm vücuttaki vitamin D düzeyinin güvenilir bir göstergesi değildir (91). Bunun aksine, 25-hidroksilaz aktivitesi esas olarak dolaşımdaki vitamin D düzeyine göre

ayarlanmaktadır ve 25(OH)D sistemik dolaşımında en yüksek düzeyde bulunan vitamin D metabolitidir. Dolaşımdaki 25(OH)D düzeyi, 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyinin yaklaşık 1000 katıdır ve yarı ömrü (yaklaşık 3 hafta) de 1,25(OH)<sub>2</sub>D'den (birkaç saat) daha uzundur (92). Tüm bu nedenlerden ötürü, vücuttaki vitamin D durumunun belirlenebilmesi için en uygun yöntemin 25(OH)D düzeylerinin ölçümü olduğu konusunda genel bir konsensus oluşmuştur (6, 92).

Diğer steroid hormonlara benzer şekilde, vitamin D ve metabolitleri de dolaşımda büyük oranda taşıyıcı proteinlere, özellikle de vitamin D-bağlayıcı proteine (DBP) bağlı olarak taşınmaktadırlar. Vitamin D metabolitlerinin çok küçük bir kısmı dolaşımda serbest halde ya da lipoproteinler gibi diğer taşıyıcı proteinlere bağlı olarak bulunabilmektedir (6). Vitamin D metabolitleri dolaşımdan uzaklaştırılacakları zaman öncelikle 24-hidroksilasyon yoluyla daha az aktif formlar olan 24,25(OH)<sub>2</sub>D ve 1,24,25(OH)<sub>3</sub>D'ye dönüştürülmektedir. Bu formlar daha sonra kalsitrik aside metabolize edilerek idrarla vücuttan atılmaktadır (93). 24-hidroksilaz aktivitesi dolaşımdaki 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyleri ve vitamin D reseptör aktivasyonu tarafından kontrol edilmektedir (94).

### **2.5.2. Vitamin D Eksikliği**

Vitamin D eksikliğinin tanımı, uygun serum 25(OH)D düzeyi ve diyetle alınması gereken vitamin D miktarı konusunda tartışmalar mevcuttur (95). Endocrine Society klinik uygulama kılavuzunda 25(OH)D düzeyinin 20 ng/mL ve altında olması vitamin D eksikliği, 21-29 ng/mL arasında olması ise yetersiz vitamin D düzeyi olarak tanımlanmıştır (92). Uluslar arası Osteoporoz Vakfı ise 25(OH)D düzeyinin 10 ng/mL altında olmasını vitamin D eksikliği, 20 ng/mL altında olmasını ise yetersiz vitamin D düzeyi olarak tanımlayarak; hedef değer 30 ng/mL olması gerektiğini belirtmiştir (96). Vitamin D düzeylerindeki mevsimsel değişiklikler ve serum 25(OH)D düzeylerini ölçmede kullanılan yöntemler arası farklılıklar da ideal düzeylerin ve tanımların belirlenmesi konusunda konsensus oluşmasını zorlaştırmıştır (97).

Vitamin D eksikliği günümüzde global bir sağlık problemi haline gelmiştir ve bunun en önemli nedeni olarak da çevresel faktörlere ve yaşlanmaya bağlı olarak endojen vitamin D sentezinin azalması gösterilmektedir (6). Endocrine Society tanımları baz alındığında, dünya çapında yaklaşık 1 milyar insanda ve A.B.D'de

yaşayan sağlıklı genç erişkinlerin yaklaşık %36'sında vitamin D eksikliği veya göreceli yetersizliğinin bulunduğu tahmin edilmektedir (7). Bu oranlar geleneksel giyinme alışkanlıkları nedeniyle güneş ışığına maruziyetin daha az olduğu Ortadoğu toplumlarında ve özellikle de bu toplumlarda yaşayan kadınlarda daha yüksektir (7). 2009 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'de üreme çağındaki kadınlarda vitamin D eksikliği sıklığı %54.3, 25(OH)D düzeyinin 10 ng/mL altında olması olarak tanımlanan şiddetli vitamin D eksikliği sıklığı ise %27 olarak saptanmıştır (8).

Vitamin D eksikliğinin birçok nedeni bulunmaktadır. Bu nedenler arasında derideki vitamin D sentezinin ve intestinal sistemden vitamin D emiliminin azalmasının yanısıra vitamin D metabolizmasının kalıtılabilir ya da kazanılmış defektleri de yer almaktadır. (Tablo 2.2)

**Tablo 2.2.** Vitamin D eksikliğinin nedenleri.

<b>Neden</b>	<b>Sonuç</b>
<b>Azalmış deri sentezi</b>	
Güneş koruyucu kullanımı (güneş koruyucu tarafından UVB radyasyon emilimi)	Azalmış vitamin D <sub>3</sub> sentezi- GKF 8 ile %92.5, GKF 15 ile %99 oranında
Cilt pigmenti (melanin tarafından UVB radyasyon emilimi)	%99 oranında azalmış vitamin D <sub>3</sub> sentezi
Yaşlanma (deride 7-dehidrokolesterolde azalma)	70 yaşındaki bireyde vitamin D <sub>3</sub> sentezinde %75'e varan azalma
Mevsim, enlem ve günün zaman dilimi (güneşin tepe açısına bağlı olarak yeryüzüne ulaşan UVB fotonların sayısı- açı ne kadar eğik ise, yeryüzüne ulaşan foton sayısı o kadar az olacaktır)	35 derece kuzey enleminin üzerinde, Kasım'dan Şubat'a kadar vitamin D <sub>3</sub> üretimi gerçekleştirilememekte ya da az olmaktadır
Yanık nedeniyle deri greftleri yerleştirilmiş hastalar (deride 7-dehidrokolesterol düzeyinde belirgin azalma)	Derinin üretebileceği vitamin D <sub>3</sub> miktarında azalmaya neden olur



<p><b>Azalmış biyoyararlanım</b></p> <p>Malabsorpsiyon (kistik fibrozis, çölyak hastalığı, Whipple hastalığı, Crohn hastalığı, bypass cerrahisi, kolesterol emilimini azaltan ilaçlar ve diğer nedenlere bağlı bozulmuş yağ emilimi)</p> <p>Obezite (vitamin D'nin vücut yağı içinde sekestrasyona uğraması)</p>	<p>Vitamin D emilimini olumsuz etkilemektedir</p> <p>Vitamin D'nin kullanılabilirliğini azaltır</p>
<p><b>Artmış katabolizma</b></p> <p>Antikonvülzanlar, glukokortikoidler, HAART (AIDS tedavisi) ve rejeksiyon karşıtı tedavi rejimleri (steroid ve ksenobiyotik reseptörüne ya da pregnan X reseptörüne bağlanarak)</p>	<p>25(OH)D ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin inaktif kalsitroik asite yıkımını aktive eder</p>
<p><b>Emzirme</b></p> <p>İnsan sütünün yetersiz vitamin D içeriği</p>	<p>Tek besin kaynağının anne sütü olduğu durumlarda, bebekte vitamin D eksikliği riskini artırır</p>
<p><b>Azalmış 25-hidroksivitamin D sentezi</b></p> <p>Karaciğer yetmezliği</p> <p>Hafif- orta şiddette disfonksiyon</p> <p>≥ %90 disfonksiyon</p>	<p>Vitamin D malabsorpsiyonuna yol açar; ancak 25(OH)D üretimi mümkündür</p> <p>25(OH)D üretiminde yetersizlikle sonuçlanır</p>
<p><b>25(OH)D'nin idrarla artmış kaybı</b></p> <p>Nefrotik sendrom (idrara ile vitamin D-bağlayıcı protein'e bağlı 25(OH)D'nin kaybı)</p>	<p>İdrar ile azımsanmayacak miktarda 25(OH)D kaybına yol açar</p>

<p><b>Azalmış 1,25(OH)<sub>2</sub>D sentezi</b></p> <p>Kronik böbrek hastalığı</p> <p>Evre 2-3 (tahmini GFH 31-89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>)</p> <p>Hiperfosfatemi 25(OH)D-1<math>\alpha</math>-hidroksilaz aktivitesini azaltan FGF-23 miktarını artırır</p> <p>Evre 4-5 (tahmini GFH &lt;30ml/min/1.73 m<sup>2</sup>)</p> <p>Yeterli miktarda 1,25-dihidroksivitamin D üretiminin gerçekleştirilememesi</p>	<p>Fraksiyonel fosfor ekskresyonu ve serum 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeylerinde azalmaya yol açar</p> <p>Hipokalsemi, sekonder hiperparatiroidizm ve renal kemik hastalığına neden olur</p>
<p><b>Kalıtılabilir bozukluklar- raşitizm</b></p> <p>Psödovitamin D eksikliği raşitizmi (vitamin D- bağımlı raşitizm tip 1) (renal 25(OH)D-1<math>\alpha</math>-hidroksilaz geninde [CYP27B1] mutasyona bağlı)</p> <p>Vitamin D-dirençli raşitizm (vitamin D-bağımlı raşitizm tip 2) (vitamin D reseptör geninde mutasyona bağlı)</p> <p>Vitamin D-bağımlı raşitizm tip 3 (hormona yanıt veren bağlayıcı proteinlerin aşırı üretimi)</p> <p>Otozomal dominant hipofosfatemik raşitizm (FGF-23 geninin mutasyonu sonucu FGF-23 yıkımı azalır veya engellenir)</p> <p>X-ilişkili hipofosfatemik raşitizm (PHEX geni mutasyonuna bağlı FGF-23 ve diğer fosfatoninlerin düzeyinde artış)</p>	<p>1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin renal sentezinde azalmaya veya sentezlenememesine yol açar</p> <p>1,25(OH)<sub>2</sub>D etkisine kısmen veya tam dirence neden olur; buna bağlı olarak 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyleri artar</p> <p>1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin etkisine transkripsiyon düzeyinde engel olur, hedef hücre direncine yol açar; buna bağlı olarak 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyleri artar</p> <p>Fosfatüri, barsaklardan azalmış fosfor emilimi, hipofosfatemi ve azalmış renal 25(OH)D-1<math>\alpha</math>-hidroksilaz aktivitesine yol açar; sonuçta düşük-normal ya da düşük 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyine neden olur</p> <p>Fosfatüri, barsaklardan azalmış fosfor emilimi, hipofosfatemi ve azalmış renal 25(OH)D-1<math>\alpha</math>-hidroksilaz aktivitesine yol</p>

	açar; sonuçta düşük-normal ya da düşük 1,25(OH) <sub>2</sub> D düzeyine neden olur
<p><b>Kazanılmış bozukluklar</b></p> <p>Tümör ile tetiklenen osteomalazi (tümörden FGF-23 ve olasılıkla diğer fosfatoninlerin salınımına bağlı)</p> <p>Primer hiperparatiroidizm (paratiroid hormon düzeyinde artış, 25(OH)D'nin 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye artmış metabolizması ile sonuçlanır)</p> <p>Granümatöz bozukluklar, sarkoidoz, tüberküloz ve bazı lenfomalar dahil diğer durumlar (makrofajlar tarafından 25(OH)D'den 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye dönüşüm)</p> <p>Hipertirodizm (25(OH)D'nin artmış metabolizması)</p>	<p>Fosfatüri, barsaklardan azalmış fosfor emilimi, hipofosfatemi ve azalmış renal 25(OH)D-1<math>\alpha</math>-hidroksilaz aktivitesine yol açar; sonuçta düşük-normal ya da düşük 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyine neden olur</p> <p>Azalmış 25(OH)D düzeyi ve yüksek-normal yada artmış 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyine yol açar</p> <p>Azalmış 25(OH)D düzeyi ve artmış 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyine yol açar</p> <p>Azalmış 25(OH)D düzeyine yol açar</p>

FGF-23, fibroblast büyüme faktörü 23; GFH, glomerüler filtrasyon hızı; GKF, güneş koruyucu faktör; HAART, yüksek düzeyde aktif antiretroviral terapi; UVB, ultraviyole B.

### 2.5.3. Vitamin D Reseptörü

Vitamin D reseptörü (VDR), nükleer reseptörler ailesinin bir üyesidir ve promoter bölgesinde vitamin D yanıt elemanları barındıran birçok genin ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alır (88). VDR; vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kardiyomiyositler, plateletler ve immün sistem hücreleri gibi kardiyovasküler sistem ile ilişkili hücrelerin neredeyse tamamında bulunmaktadır (88). VDR tarafından kontrol edilen genler bu hücrelerde, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynayan hücre çoğalması ve farklılaşması, apoptozis,

oksidatif stres, membran transportu, matriks homeostazisi, doku mineralizasyonu ve hücre adhezyonu gibi süreçlerin düzenlenmesinde görev almaktadır (98).

VDR yapısal olarak kısa bir amino terminalinin hemen öncesinde iki adet çinko parmaktan oluşan DNA bağlayıcı bölge içermektedir. Bu bölgelerden ilki vitamin D yanıt elemanlarının bağlanması için ikincisi ise heterodimerizasyon için alan oluşturmaktadır (99). Molekülün geri kalanı ise lipofilik 1,25(OH)<sub>2</sub>D bağlayıcı alan ve karboksi terminaldeki ko-aktivatör bağlayıcı alandan meydana gelmektedir (99). VDR, 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye yüksek afinite ve özgüllük ile bağlanır ve sonra retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerize olur (88). Heterodimerizasyon sonrası VDR-RXR kompleksi hücre çekirdeğine taşınır ve burada DNA üzerindeki vitamin D yanıt elemanlarına bağlanır. VDR-RXR kompleksi, ortamdaki dokuya özgü ko-aktivatör ve ko-repressör moleküllerle etkileşim içerisinde birçok genin ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alır (98). Bu klasik mekanizma VDR'nin genomik etkilerinin ortaya çıkışını sağlamaktadır. Bununla birlikte, klasik steroid hormon reseptörlerinin aksine, VDR'nin hücre membranına bağlı olarak da bulunabileceği bildirilmiştir (100). Hücre membranına bağlı VDR'nin transmembran kalsiyum transportu ve bazı ikincil mesajcı moleküllerin modifikasyonu gibi hızlı ve non-genomik bir takım etkilerden sorumlu olduğu da gösterilmiştir (98).

#### **2.5.4. Vitamin D'nin Klasik Etkileri**

Vitamin D klasik olarak, kemik ve mineral metabolizmasında düzenleyici rolleri olan bir hormon olarak bilinmektedir. Vitamin D'nin kalsiyum metabolizmasındaki esas rolü, sindirim sisteminde kalsiyum ve fosfor emilimini uyararak fizyolojik kemik mineralizasyonu için gerekli kalsiyum kaynağını sağlamaktadır (6). Vitamin D yokluğunda, diyetdeki kalsiyumun ancak %10-15'i, fosforun ise %60'ı sindirim sisteminden emilebilmektedir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D-VDR etkileşimi sonrası ise intestinal kalsiyum emilimi %30-40'a, fosfor emilimi ise %80'e yükselmektedir (101).

Yapılan çalışmalar, serum 25(OH)D düzeylerinin kemik mineral yoğunluğu ile direkt ilişkili olduğunu ve maksimum yoğunluğa serum 25(OH)D düzeylerinin 40 ng/mL ve üzerinde olduğu durumda ulaşıldığını göstermiştir (102). Vitamin D düzeyinin 30 ng/mL ve altında olması durumunda intestinal kalsiyum emilinde önemli bir düşüş olmakta ve paratiroid bezinden PTH salınımı uyarılmaktadır (101).

PTH, proosteoklastların olgun osteoklastlara dönüşümünü uyararak osteoblastları aktive etmektedir (6). Osteoklastlar ise kemikteki mineralize kollajen matriksi yıkarak osteopeniye sebep olmaktadır (6). Bu nedenle, PTH artışına yol açan aşikar vitamin D eksikliği çocuklarda raşitizme, erişkinlerde ise osteomalaziye neden olmaktadır (6). Bu hastalıklar kemik mineralizasyon defektlerinin yanısıra proksimal kas güçsüzlüğü ve kemik ağrısı gibi klinik semptomlarla da karakterizedir (103).

### **2.5.5. Vitamin D'nin Kalsiyum Metabolizması Dışındaki Etkileri**

Vücuttaki dokuların birçoğunda hücreler VDR eksprese etmektedir ve dolayısıyla vitamin D'ye yanıt oluşturabilmektedir (104). Buna ek olarak bu dokuların bir kısmında hücreler 1-alfa hidroksilaz enzimini de eksprese edebilmekte ve dolayısıyla vitamin D'nin aktif formu olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D sentezleyebilmektedir (6). Vitamin D, direkt ya da indirekt olarak, 200'ün üzerinde genin ekspresyonunu kontrol edebilmektedir. Bu genler arasında hücrelerin çoğalması ve farklılaşması, apoptozis ve anjiyogenezi kontrol eden genler de bulunmaktadır (105). 1,25(OH)<sub>2</sub>D hem normal hücrelerin hem de kanser hücrelerinin çoğalmasını baskılayarak, farklılaşmasını uyarabilmektedir (105). Bu bulgular vitamin D'nin kemik ve kalsiyum metabolizması dışında birçok farklı organ ve sistem üzerinde de etkileri olduğunu ve bazı kronik hastalıkların seyrinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur.

#### **2.5.5.1. Enfeksiyon Hastalıkları**

1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin güçlü immünomodülatuar etkileri bulunmaktadır (104). Bu etkilerin enfeksiyon hastalıkları açısından önemi en çok Mycobacterium tuberculosis enfeksiyonunda incelenmiştir. Monosit ve makrofajların lipopolisakkaritlerle ve M. tuberculosis ile karşılaşması sonrası bu hücrelerde VDR ve 25(OH)D-1 $\alpha$ -hidroksilaz genlerinin ekspresyonunda artış meydana gelmektedir (106). 1,25(OH)<sub>2</sub>D üretimindeki artış, M.tuberculosis ve diğer mikroorganizmaların imha edilmesini sağlayan ve katelisidin olarak isimlendirilen bir proteinin sentezine neden olmaktadır. Serum 25(OH)D düzeyinin 20 ng/mL'nin altına düştüğü dönemlerde monosit ve makrofajlarda bu immün yanıtın oluşturulması mümkün olmamaktadır (106). Bu durum, vitamin D yetmezliğinin oldukça yaygın olduğu siyah Amerikalılarda M.tuberculosis enfeksiyonlarının agresif seyretmesinin önemli açıklamalarından birisidir.

### 2.5.5.2. Kanser

Hem prospektif hem de retrospektif epidemiyolojik çalışmalar 20 ng/mL'nin altındaki 25(OH)D düzeylerinin kolon, prostat ve meme kanseri riskinde %30-50 artış ve bu kanserlere bağlı yüksek mortalite ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (107). Nurses' Health Study'de kolorektal kanser riskinin, ortalama serum 25(OH)D seviyesi ile ilişkili olduğu; ancak 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyleri ile ilişkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (108). Yine başka bir prospektif çalışmada, günlük vitamin D alımı ile kolorektal kanser gelişim riski arasında direkt bir ilişki olduğu gösterilmiştir (109). Yine, güneş ışığına daha fazla maruz kalan çocuklarda ve gençlerde non-Hodgkin lenfoma gelişim riskinin %40 daha düşük olduğu da bildirilmiştir (110). Bu ilişkinin temelinde esas olarak böbrek dışı dokularda lokal olarak üretilen 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin bu dokulardaki otokrin ve parakrin etkilerinin rol oynadığı öne sürülmüştür. Bu hipoteze göre lokal olarak üretilen 1,25(OH)<sub>2</sub>D, hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını etkileyen genlerin aktivitesini kontrol ederek kanser gelişimini önlediği gibi; kanser gelişmesi durumunda da kanserli hücrelerin apoptozisini uyararak yok edilmesini ve kanserli dokuda anjiyogenezisi baskılayarak kanserli hücrelerin yayılımının önlenmesini sağlamaktadır (6). Lokal olarak üretilen 1,25(OH)<sub>2</sub>D, görevini tamamladıktan sonra CYP24 gen ekspresyonunu uyararak inaktif kalsitroik aside dönüşümünü de sağlamakta ve böylece sistemik dolaşıma geçmeden ortadan kaldırılmaktadır (104).

### 2.5.5.3. Otoimmün Hastalıklar

Vitamin D'nin immünomodülatuar etkilerinin bir diğer yansıması da otoimmünite ile ilişkilidir. Güneş ışığına maruziyeti azaltan etmenlerin başında gelen yüksek enlemlerde yaşamın; tip 1 diyabet, multipl skleroz ve Chron hastalığı gibi otoimmün hastalıkların riskini arttırdığı bildirilmiştir (111). Yaşamın ilk 10 yılında 35 derecenin altındaki enlemlerde yaşamın multipl skleroz riskini %50 oranında azalttığı da gösterilmiştir (111). Bunlara ek olarak, günde 400 IU'den fazla vitamin D alan kadınlarda multipl skleroz gelişme riskinin diğer gruba göre %42 daha az olduğu da saptanmıştır (112). Benzer bulgular romatoid artrit ve osteoartrit için de bildirilmiştir (113).

Çocukluk dönemindeki vitamin D alımının gelecekteki tip 1 diyabet gelişim riski ile ilişkili olması da vitamin D ile otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi

gösteren bir diğer kanıttır. 10,366 çocuğun 31 yıl boyunca takip edildiği bir çalışmada, yaşamın ilk yılında 2000 IU vitamin D verilen çocuklarda tip 1 diyabet gelişim riskinin %80 oranında azaldığı, vitamin D eksikliği olan çocuklarda ise riskin %200 oranında arttığı gözlemlenmiştir (114).

#### **2.5.5.4. Şizofreni ve Depresyon**

Vitamin D eksikliğinin, şizofreni ve depresyon sıklığında artış ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar güneş ışığına maruziyetin azalması ile şizofreni sıklığındaki artış ve kış mevsiminde ortaya çıkan mevsimsel affektif bozukluk arasındaki ilişkinin yeterli vitamin D sentezlenememesine bağlı olarak ortaya çıktığını öne sürmektedir (115, 116). Bunlara ek olarak, doğum öncesinde ve çocukluk döneminde yeterli vitamin D düzeyinin sağlanmasının beyin gelişimi ve yaşamın sonraki dönemlerinde normal mental fonksiyonların sürdürülebilmesi açısından gerekli olduğu da bildirilmiştir (117).

#### **2.5.5.5. Kardiyovasküler Hastalıklar**

Yüksek enlemlerde yaşayan ve güneş ışığına maruziyeti kısıtlı bireyleri kapsayan epidemiyolojik çalışmalarda bu kişilerde hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir (7). Bu durumun vitamin D eksikliği ile ilişkili olduğu düşünülerek bu konuda çok sayıda epidemiyolojik ve klinik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda da vitamin D eksikliğinin miyokard enfarktüsü ve kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm riskinde anlamlı bir artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (90). Deneysel çalışmalarda da vitamin D reseptörlerinin kardiyovasküler sistem ile ilişkili hücrelerin neredeyse tamamında ekspresyonunun gösterilmiş ve vitamin D eksikliğinin endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, miyokard kontraktilesinin bozulması ve ventriküler hipertrofi gibi birçok kardiyovasküler patoloji ile ilişkisi olduğu öne sürülmüştür (88).

#### **2.6. Vitamin D ve Ateroskleroz**

Vitamin D eksikliği dünya çapında tüm insanların yaklaşık %50'sini etkileyen bir global bir sağlık sorunudur ve bu pandeminin kardiyovasküler hastalıklarda özellikle de aterosklerotik kalp hastalığı sıklığında artışla bir ilişkisinin olabileceği öne sürülmektedir (118). Vitamin D'nin ateroskleroz gelişimindeki etkisine yönelik ilk ipuçları kış mevsiminde ve yüksek enlemlerde artmış

kardiyovasküler olay sıklığını ortaya koyan epidemiyolojik çalışmalara dayanmaktadır ve sonrasında da yapılan hayvan çalışmaları ile desteklenmiştir (9, 119, 120).

İlk bulguları takiben yapılan geniş çaplı epidemiyolojik çalışmaların sonuçları da vitamin D ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi desteklemiştir. 13,000'den fazla yetişkinin verilerinin incelendiği NHANES III çalışmasında vitamin D eksikliği ile ateroslerotik risk faktörleri arasında diğer değişkenlerden bağımsız bir ilişki bulunmuştur (12). Framingham Offspring ve Health Professionals Follow-up çalışmalarında da vitamin D eksikliği olan bireylerde kardiyovasküler olay riskinin yaklaşık olarak iki misli yüksek olduğu bildirilmiştir (11, 121).

Vitamin D ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik olarak birçok mekanizma ileri sürülmüştür. Bu mekanizmalardan bir kısmı Vitamin D eksikliğinin kardiyovasküler risk faktörleri ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi üzerinden indirekt bir etkiye sahip olduğunu öne sürerken, bir kısmı da kardiyovasküler sistem hücreleri ve immün sistem hücreleri üzerinden direkt bir etkiye işaret etmiştir (87).

### **2.6.1 Vitamin D ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri**

Birçok gözlemsel çalışmada vitamin D düzeyleri ile kardiyovasküler risk faktörleri arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaların büyük bölümünde düşük vitamin D düzeylerinin daha kötü kardiyovasküler risk profili ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (91). Buna karşın, bu çalışmaların gözlemsel oluşu, vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler risk faktörleri arasında bir nedensellik ilişkisinin kurulmasına olanak vermemektedir. Ayrıca, bu tür çalışmalarda, karışıklığa neden olarak vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler risk faktörleri arasında yanlış ilişkilerin kurulmasına neden olabilecek bir takım değişkenlerin elimine edilmesi de mümkün olmamaktadır. Bu açıdan gözlemsel çalışmalar değerlendirilirken dikkatli olunması gerekmektedir.

#### **2.6.1.1. Obezite**

Beden kitle indeksi arttıkça serum 25(OH)D düzeyleri azalmaktadır (122). Bu ilişki, vitamin D'nin yağda çözünen bir vitamin olması ve yağ dokusu miktarındaki artışla birlikte yağ dokusunda tutulan vitamin D düzeyinin artmasıyla açıklanmaktadır (122). Bununla birlikte, obez bireylerin sosyal anksiyeteleri



nedeniyle evden dışarıya çok az çıkmaları ve güneş ışığına daha az maruz kalmaları da başka bir neden olarak öne sürülmüştür (122). Güncel kanıtlar, obezitenin vitamin D eksikliğine neden olduğuna, tersi bir durumun söz konusu olmadığına işaret etmektedir. Buna ek olarak, kilo vermenin serum 25(OH)D düzeylerinde yükselmeye neden olduğu da bildirilmiştir (123).

#### **2.6.1.2. Arteriyel Hipertansiyon**

Kesitsel çalışmaların meta-analizleri vitamin D eksikliğinin arteriyel hipertansiyon için bir risk faktörü olabileceğini göstermiştir (124, 125). 283,578 kişinin verilerinin incelendiği bir meta-analizde, en yüksek 25(OH)D tertilinde yer alanlarda, en düşük tertilde yer alanlarla karşılaştırıldığında arteriyel hipertansiyon için rölatif riskin 0.70 olduğu bildirilmiştir (125). Buna karşın, hipertansiyon hastalarında vitamin D replasmanının etkilerini araştıran randomize kontrollü çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur. Bu alanda yapılan ve en geniş hasta grubuna sahip çalışmada, serum 25(OH)D düzeylerindeki her 1 ng/mL artışın sistolik kan basıncında 0.2 mmHg azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (126). Tüm veriler bir arada ele alındığında vitamin D replasmanının sistolik kan basıncının düşürülmesinde düşük-orta dereceli bir etkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (91).

#### **2.6.1.3. İnsülin Direnci/Diabetes Mellitus**

Vitamin D eksikliğinin  $\beta$ -hücre fonksiyonları ve insülin duyarlılığı üzerine negatif etkileri olduğu ve tip 2 diabetes mellitus gelişiminde rol oynayabileceği öne sürülmektedir (127). Böyle bir ilişkiye yönelik kesin bir patofizyolojik mekanizma ortaya konulamamış olsa da; insülin geninin promoter bölgelerinin vitamin D yanıt elemanları içermesi, 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin insülin geninin transkripsiyonu üzerinde direkt etkisi olabileceğini düşündürmektedir (128). Ayrıca, insülin sekresyonu kalsiyum bağımlı bir olaydır ve vitamin D'nin pankreatik  $\beta$ -hücrelerinde sitozolik kalsiyum havuzunun düzenlenmesinde etkin rol oynadığı bilinmektedir (129). Tüm bunlara ek olarak, pankreatik  $\beta$ -hücreleri 1-alfa hidroksilaz enzimi eksprese edebilmektedir ve bu da vitamin D düzeyleri ile pankreas fonksiyonları arasında muhtemel bir otokrin ilişkiyi işaret etmektedir (128).

$\beta$ -hücre fonksiyonuna ek olarak, deneysel çalışmalar vitamin D'nin insülin direnci ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Periferik insülin duyarlılığının belirlenmesinde en önemli dokular olan kas ve yağ dokusu hücreleri yoğun biçimde

VDR eksprese etmektedir. Ayrıca yağ dokusu hücrelerinde 1-alfa hidroksilaz da eksprese edilmektedir (130). Vitamin D, kas ve yağ dokusunda yağ asidi metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan ve yağ dokusundaki inflamatuvar aktiviteyi azaltarak insülin duyarlılığını arttırdığı bilinen peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptör gammanın (PPAR- $\gamma$ ) transkripsiyon faktörünü aktive etmektedir (131). Buna ek olarak, vitamin D kas ve yağ doku hücrelerinde insülin reseptörünün fosforilasyonu ve glukoz taşıyıcı protein-4'ün (GLUT-4) translokasyonu gibi insülin aracılı hücre içi süreçlerin gerçekleşebilmesi için gerekli hücre içi kalsiyum havuzunun sağlanmasına da katkıda bulunmaktadır (132).

Kesitsel ve prospektif klinik çalışmalar da bahsedilen verilere uygun olarak düşük 25(OH)D düzeyleri ile insülin direnci ve tip 2 diabetes mellitus gelişim riski arasında ilişki olduğunu göstermektedir (133, 134, 135). Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen meta-analizlerde de vitamin D eksikliğin tip 2 diabetes mellitus gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (136, 137). Buna karşın; vitamin D replasmanının glukoz metabolizmasına ve diabetes mellitus gelişimine etkilerini inceleyen randomize kontrollü çalışmalarda belirgin bir etki gösterilememiştir (135). Bu çalışmaların en önemlilerinden birisinde, 25(OH)D seviyesi 30 ng/mL altında olan 109 prediyabetik hastaya 1 yıl süreyle yüksek doz vitamin D replasmanı yapılmasının glukoz metabolizması üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (138).

#### **2.6.1.4. Lipid Profili**

Vitamin D eksikliğinin aterojenik dislipidemi ile ilişkili olabileceğine ilişkin en büyük kanıt, 107,811 hastanın incelendiği kesitsel bir çalışmanın sonuçlarına dayanmaktadır. Bu çalışmada düşük 25(OH)D düzeylerinin, yüksek trigliserit ve total kolesterol, düşük HDL kolesterol ve apolipoprotein A-1 düzeyleri ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (139). Benzer şekilde, başka bir kesitsel çalışmada da incelenen bireylerin vitamin D düzeylerinin iki katına çıkmasıyla, HDL kolesterol seviyesinde %23,8 artış, trigliserit seviyesinde ise %30,5'lik bir azalma görüldüğü bildirilmiştir (140).

Vitamin D'nin lipid metabolizmasını etkileyebileceği mekanizmalar henüz net olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, in vitro çalışmalarda kalsitriolün adiposit hücre kültüründe lipoprotein lipaz ekspresyonunu ve aktivitesini arttırdığı

saptanmıştır (141). Yakın dönemde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda insanlarda da 25(OH)D düzeyleri ile lipoprotein lipaz konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve bu korelasyonun vitamin D ile lipid metabolizması arasındaki ilişkiden sorumlu olabileceği bildirilmiştir (142).

Vitamin D replasmanının lipid profili üzerine etkilerini inceleyen randomize kontrollü çalışmalarda ise genellikle anlamlı bir etki saptanamamıştır (143, 144). 1,346 hastanın incelendiği bir meta-analizde de vitamin D replasmanının total kolesterol, HDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (145).

### **2.6.2. Vitamin D ve Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi**

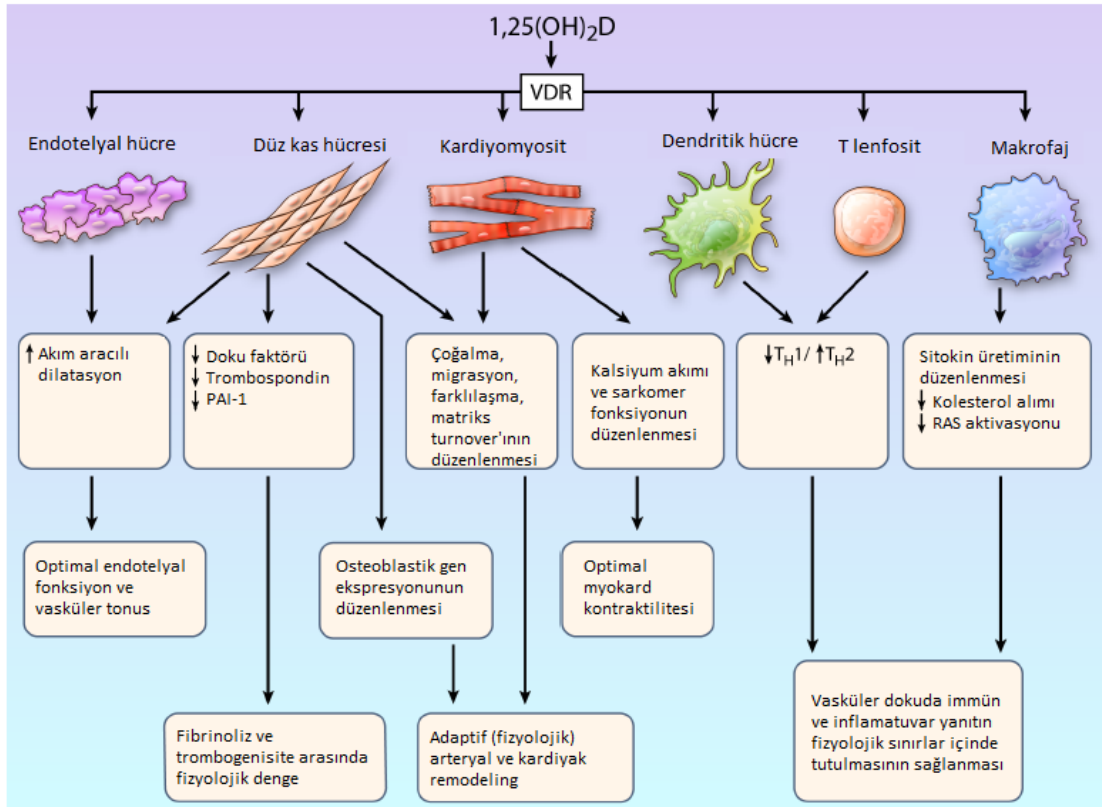
Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi (RAAS), kan basıncının en önemli düzenleyicilerinden birisidir. Bununla birlikte RAAS komponentleri olan anjiyotensin II ve aldosteron ateroskleroz patogenezinde önemli rollere sahiptir (146).

Vitamin D'nin RAAS aktivitesinin potent bir baskılayıcısı olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (147). Jukstaglomerüler hücre modelinde yapılan çalışmalarda vitamin D'nin renin geninin promoter bölgesinde bulunan vitamin D yanıt elemanları aracılığıyla renin gen ekspresyonunu; NF-κB sinyalizasyon yolağını inhibe ederek de anjiyotensin gen ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (148, 149). VDR knock-out hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da makrofajlarda VDR sinyalizasyonunun kaybı nedeniyle lokal RAAS aktivitesinde artış ve sonuç olarak hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve ateroskleroz gelişiminde hızlanma saptanmıştır (150, 151).

İn vitro bulgularla uyumlu olarak, klinik gözlemsel çalışmalar da vitamin D'nin RAAS üzerindeki düzenleyici etkisini destekleyici sonuçlar ortaya koymuştur (152). Koroner anjiyografi hastalarını kapsayan geniş bir kohortta 25(OH)D ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeylerinin plazma renin ve anjiyotensin düzeylerinin bağımsız öngördürücüsü olduğu bulunmuştur (153). Vitamin D'nin RAAS üzerindeki etkileri, vasküler tonusun ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolüne ve aterosklerozdan korunmaya yönelik olası yararlarını işaret etmiştir.

### 2.6.3. Vitamin D'nin Aterosklerotik Sürece Direkt Etkileri

Kardiyovasküler hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıkların temel nedenlerinden birisi olan ateroskleroz gelişimi birçok farklı molekülün ve hücrenin kompleks etkileşimleri sonucunda ortaya çıkmaktadır (87). Ateroskleroz, endotel disfonksiyonu ve damar duvarında artmış inflamatuvar aktivite ile başlayarak, aterosklerotik plak oluşumu, plak instabilitesi ve aterotromboz gelişimi ile sonuçlanabilen uzun süreli ve çok basamaklı bir süreçtir (86). Bu süreçte endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri gibi damar duvarı hücrelerinin yanı sıra; monosit/makrofajlar, dendritik hücreler, T lenfositler, B lenfositler ve doğal öldürücü hücreler gibi immün sistem hücreleri de rol oynamaktadır (86). Bu hücrelerin tamamında VDR eksprese edilmektedir ve vitamin D'nin bu hücrelerde hücre büyümesi, göçü, farklılaşması ve apoptozisi; immün yanıtın düzenlenmesi ve sitokin ekspresyonu gibi fizyolojik ve patolojik süreçlerin düzenlenmesinde direkt etkili olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.7) (87).



Şekil 2.7. 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin kardiyovasküler sistem ve immün sistem hücreleri üzerindeki VDR aracılı etkileri. Norman PE<sup>88</sup>'den uyarlanmıştır. PAI-1, plazminojen aktivatör inhibitörü-1; RAS, renin anjiyotensin sistemi; VDR, vitamin D reseptörü.

### 2.6.3.1. Vitamin D ve Endotel Hücreleri

Endotel tabakası, aterosklerotik sürecin başlamasında ve devam etmesinde anahtar rol oynamaktadır (154). Endotel tabakasını oluşturan endotel hücrelerinin VDR ve 1-alfa hidroksilaz eksprese etmesi, endotel fonksiyonlarının düzenlenmesinde vitamin D'nin otokrin/parakrin etkileri olabileceğini düşündürmüştür (155).

Endotel disfonksiyonuna neden olan değişikliklerin başında endotel tabakasında nitrik oksit (NO) oluşumunun azalması ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı gelmektedir (154). Vitamin D'nin endotel hücre kültürlerinde endotelial NO sentaz aktivitesini uyararak NO oluşumunu arttırdığı ve bu etkinin VDR aracılı olarak doza bağımlı şekilde ortaya çıktığı gösterilmiştir (156). Endotel tabakasında oluşan reaktif oksijen türlerinin en önemli kaynağı NADPH oksidaz enzim kompleksidir. Vitamin D analoglarının endotel hücrelerinde NADPH enzim kompleksi alt birimlerinin ekspresyonunu baskılayarak reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasını engellediği ve endotel tabakasındaki oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (157).

Vitamin D'nin endotel fonksiyonları üzerindeki bir diğer etkisi de endotel kaynaklı kasıcı faktörler gibi araşidonik asit metabolitlerinin salınımını düzenleyerek vasküler tonusun modülasyonunu sağlamaktır (158). Endotel kaynaklı kasıcı faktörlerin salınımı kalsiyum bağımlı bir süreçtir ve vitamin D'nin endotel hücresi içine kalsiyum akışını azaltarak bu faktörlerin salınımını azalttığı gösterilmiştir (159). Buna ek olarak, vitamin D endotel hücrelerinde endotel kaynaklı kasıcı faktörlerin temel kaynağı olan siklooksijenaz-1 enziminin ekspresyonunu da baskılamaktadır (160).

Aterosklerotik sürecin başlangıcında dolaşımdaki monositlerin subendotelial bölgeye geçerek köpüksü hücrelere dönüşebilmesi için endotel hücrelerinin yüzeyinde ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonu gerekmektedir (161). İnsan endotel hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, vitamin D'nin endotel hücrelerinde TNF- $\alpha$  aracılı ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu anlamlı oranda azalttığını göstermiştir (162, 163). Benzer şekilde insan koroner arter endotel hücrelerinde yapılan çalışmalar da vitamin D'nin VCAM-1, E-selektin ve IL-8 ekspresyonunu baskıladığını ortaya koymuştur (164, 165).

Vitamin D'nin endotel hücreleri üzerindeki in vitro etkileri klinik çalışmalarla da desteklenmiştir. Yapılan çalışmalar vitamin D düzeyleri ile endotel fonksiyonlarının ilişkili olduğunu ve vitamin D replasmanının endotel fonksiyonlarında iyileşme sağladığını göstermiştir (166, 167, 168).

### **2.6.3.2. Vitamin D ve Vasküler Düz Kas Hücreleri**

Vasküler düz kas hücreleri, arter duvarının media tabakasında en fazla bulunan hücre çeşididir. Normalde 'kontraktıl' durumda olan bu hücreler aterosklerotik süreçte farklılaşp 'sekretuvar' hale gelerek media tabakasından intima tabakasına göç eder. İntima tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri inflamatuvar sitokinleri ve ekstraselüler matriks proteinlerini sentezleyip salgılayarak aterosklerotik sürecin ilerlemesine neden olur (169).

Vasküler düz kas hücreleri de endotel hücreleri gibi VDR ve 1-alfa hidroksilaz eksprese edebilmektedir (170). Bu nedenle de vasküler düz kas hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde vitamin D'nin otokrin/parakrin etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda yapılan araştırmalar 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin epidermal büyüme faktörü ve endotelinin vasküler düz kas hücreleri üzerindeki proliferatif etkisini inhibe ettiğini göstermiştir (171, 172). Buna ek olarak fizyolojik dozlarda kalsitriolün vasküler düz kas hücrelerinin intima tabakasına göçünü ve burada çoğalmasını inhibe ettiği de bildirilmiştir (173).

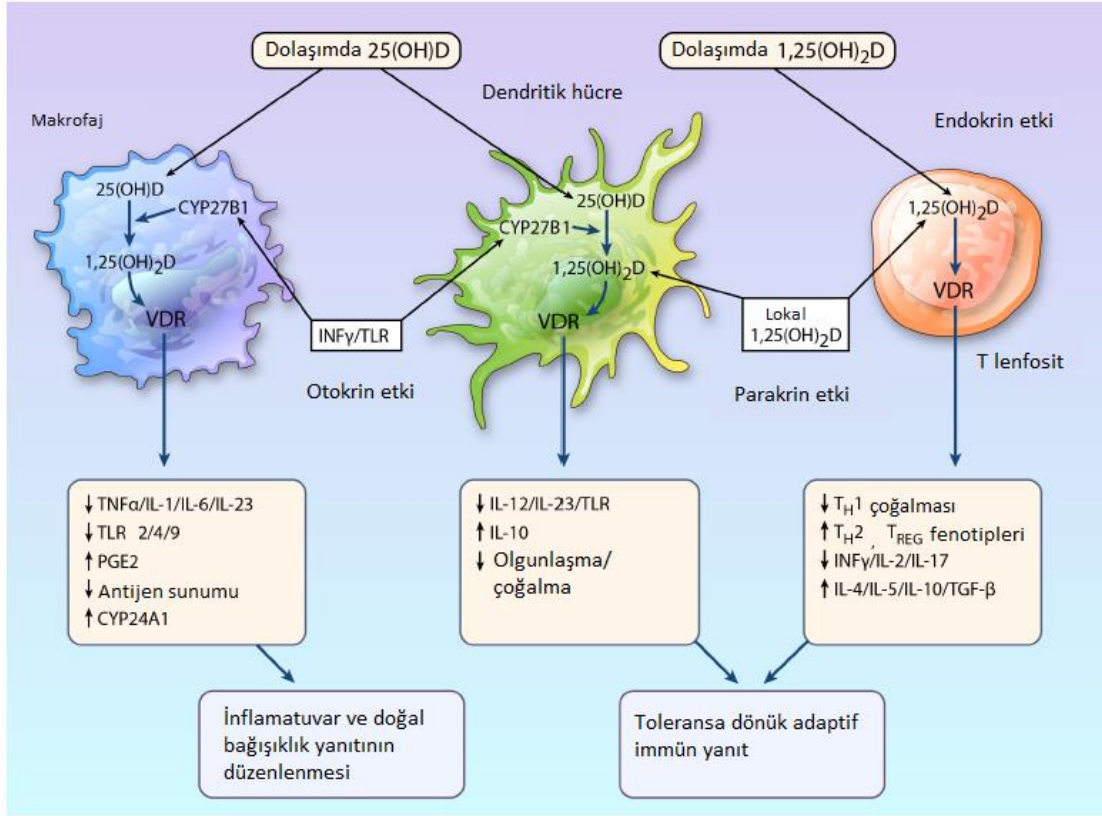
Vitamin D'nin vasküler düz kas hücreleri üzerindeki etkileri hücrelerin çoğalma ve göç yetenekleri ile sınırlı değildir. Vitamin D'nin vasküler düz kas hücrelerinde antiaterojenik özelliklere sahip bir prostanoid olan prostasiklin üretimini uyardığı da gösterilmiştir (174). Buna ek olarak, vitamin D'nin vasküler düz kas hücrelerinde proaterojenik ve protrombotik özelliklere sahip bir molekül olan plazminojen aktivatör inhibitörü-I'in (PAI-I) üretimini ise baskıladığı bildirilmiştir (175).

İn vitro çalışmalarla uyumlu olarak, vitamin D'nin vasküler düz kas hücre fonksiyonları üzerindeki düzenleyici etkisi klinik çalışmalarla da desteklenmiştir. 16 hafta süreyle günde 2000 IU vitamin D<sub>3</sub> desteği verilen genç hastalarda arteriyel sertlik ölçütlerinde başlangıca göre iyileşme saptanmıştır (176). Geniş çaplı bir kesitsel çalışmada da vitamin D düzeyleri ile nabız dalga hızı arasında ters bir ilişki olduğu bildirilmiştir (177).

### 2.6.3.3. Vitamin D ve İmmün Sistem Hücreleri

İmmün sistem hücreleri ateroskleroz da dahil olmak üzere birçok kardiyovasküler sistem hastalığının oluşumunda rol oynamaktadır. Aterosklerotik lezyonlarda varlığı gösterilen T hücre alt tipleri, B hücreler, monosit/makrofajlar ve dendritik hücrelerin tümü VDR ekspresyone edebilmektedir ve vitamin D'nin bu hücreler tarafından oluşturulan inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.8) (88).

Aterosklerotik plaklarda yer alan T hücrelerden Th1 alt tipinin esas olarak IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinleri üreterek inflamatuvar yanıtı arttırdığı ve proaterojenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (178, 179). Buna karşılık; Th2 alt tipinin ise IL-5, IL-10 ve IL-13 gibi antiinflamatuvar sitokinleri salgılayarak Th1 etkisini nötralize ettiği ve antiaterojenik özellikte olduğu gösterilmiştir (180). Düzenleyici T hücrelerin ( $T_{reg}$ ) ise aterosklerotik lezyonlarda IL-10 ve TGF- $\beta$  salınımı ve ya hücre-hücre etkileşimleri aracılığıyla Th1 aktivitesinin baskılanarak immün tolerans gelişimini ve inflamatuvar aktivitenin azaltılmasını sağladığı öne sürülmüştür (181). T hücrelerin başka bir alt tipi olan Th17 hücrelerin ve bunlar tarafından üretilen IL-17'nin ise Th1 hücre benzeri bir etkiyle aterosklerotik plakta inflamatuvar aktiviteyi tetiklediği ve proaterojenik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (182). Vitamin D'nin T hücreler ve ateroskleroz üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar, vitamin D etkisi ile Th1 aktivitesinin baskılanarak Th2 ve  $T_{reg}$  aktivitesinin ön plana çıktığını ve damar duvarında antiaterojenik bir immün profil oluştuğunu ortaya koymuştur (183, 184). Vitamin D'nin Th17 hücreler üzerine etkisinin değerlendirildiği in vitro çalışmalarda ise 1,25(OH) $_2$ D'nin Th17 hücre gelişimini baskıladığı ve IL-17 üretimini posttranskripsiyonel mekanizmalar aracılığıyla inhibe ettiği bildirilmiştir (185).



**Şekil 2.8.** Vitamin D metabolitlerinin immün sistem hücreleri üzerindeki endokrin, parakrin ve otokrin etkileri, Norman PE<sup>88</sup>'den uyarlanmıştır. IL, interlökin; INF $\gamma$ , interferon- $\gamma$ ; PGE2, prostaglandin E2; TGF- $\beta$ , transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ ; TLR, toll-like reseptör; TNF $\alpha$ , tümör nekroz faktörü- $\alpha$ ; VDR, vitamin D reseptörü.

Vitamin D'nin 25(OH)D ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D formlarında LDL partikülleri tarafından taşınabildiği ve monositler de dahil olmak üzere bazı hücreler tarafından LDL reseptörü aracılığıyla hücre içerisine alınabildiği gösterilmiştir (186). Monositler tarafından hücre içerisine alınan 25(OH)D monositlerin subendotelyal bölgeye geçerek köpüksü hücrelere dönüşümü sonucu bu bölgede birikmektedir (186). Subendotelyal bölgede biriken 25(OH)D, yine monosit kökenli hücreler tarafından eksprese edilen 1-alfa hidroksilaz aracılığıyla 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye dönüştürülerek bu bölgede parakrin ve otokrin etki gösterebilmektedir (187). 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin subendotelyal makrofajların okside LDL alımını kısıtlayarak köpüksü hücre oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (188). Aynı çalışmada, 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin kolesteril esterlerinin oluşumunu baskılayarak makrofajlardan dışarıya kolesterol çıkışını da kolaylaştırdığı bildirilmiştir (188). Bunlara ek olarak,



1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin monositlerde endoplazmik retikulum stresini hafifleterek antiaterojenik bir monosit/makrofaj fenotipi olan M1 gelişimini uyardığı ve monositlerde adezyon molekülü ekspresyonunu baskıladığı da gösterilmiştir (189). 1,25(OH)<sub>2</sub>D monositlerde IL-6 ve TNF- $\alpha$  üretimini doza bağımlı şekilde inhibe ederek, proaterojenik Th1 hücre gelişimini de baskılamıştır (190).

Arter duvarında yer alan immün sistem hücreleri arasında antijen sunucu özelliği nedeniyle inflamatuvar yanıtın başlatılmasında kilit rol oynayan dendritik hücreler de bulunmaktadır (191). Hem aterosklerotik hem de normal arter duvarında yerleşik olarak bulunan immatür dendritik hücreler sürekli olarak içinde buldukları mikroçevreyi 'tehlike' moleküllerinin varlığı açısından test ederler (192). Çevrede tehlike moleküllerinin saptanması durumunda, dendritik hücreler bu antijeni hücre içine alarak antijen sunucu ve kostimulatuvar molekülleri eksprese etmeye başlar. Böylece olgunlaşmaya başlayan dendritik hücreler bölgesel lenf nodlarına geçerek ve ya buldukları çevrede lokal olarak sundukları antijenlerle T hücreleri aktive edip inflamatuvar yanıtın başlatılmasını sağlar (192). Aterosklerotik fare modelinde yapılan bir çalışmada oral yolla verilen kalsitriolün aterosklerotik plaklarda dendritik hücre olgunlaşmasını ve T hücre aktivasyonunu baskılayarak plak regresyonunu sağladığı bildirilmiştir (184).

### 3. HASTALAR VE YÖNTEM

#### 3.1. Hastalar

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğinde Haziran 2012-Ocak 2013 tarihleri arasında 2011 yılında yayınlanan Endocrine Society kılavuzundaki tanımlara uygun olarak vitamin D eksikliği tanısı konulan ve vitamin D replasmanı yapılması planlanan, ortalama yaşın  $33.1 \pm 5.7$  olduğu 31 premenopozal kadın hasta grubu; normal vitamin D düzeylerine sahip ortalama yaşın  $34.1 \pm 7.6$  olduğu 27 premenopozal kadın da kontrol grubu olarak alınmıştır. Tüm hastalar semptomları yanında öykülerindeki kardiyovasküler risk faktörleri açısından değerlendirilmiş, fizik muayene bulgularıyla birlikte kaydedilmiştir. Tanı almış aterosklerotik damar hastalığı olan, aterosklerotik hastalıklar için tanımlanmış majör risk faktörlerinden herhangi birisine sahip olan hastalar (diabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi, sigara kullanımı, obezite), kronik inflamatuvar hastalığı olan, kemoterapi almış ya da almakta olan, endotel progenitör hücre sayılarını ya da endotel fonksiyonlarını etkileyebilecek ilaç(statin, ACEi, ARB, nitrat, KKB vb.) kullanmakta olan, akut ya da kronik enfeksiyonu olan hastalar çalışmaya alınmamıştır. Çalışmaya kabul edilen tüm hastalardan aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

Çalışmaya alınan hastaların tümünün bilgilerine hastanın kendisinden, hastane dosyalarından ve hastane bilgi işlem sisteminde kayıtlı bulunan laboratuvar bilgilerinden elde edilmiştir. Hastaların yaşı, cinsiyeti, semptomları, kardiyovasküler risk faktörleri (hipertansiyon, diyabetes mellitus, dislipidemi, ailede erken yaşta koroner arter hastalığı öyküsü, obezite, sigara kullanımı), eşlik eden hastalıkları, kullanmakta olduğu ilaçlar sorgulanmıştır. Hastaya yapılan kardiyovasküler değerlendirme tetkikleri ve tam kan sayımı, serum biyokimyası ve lipit profiline hastane bilgi işlem sisteminden veya kendi tetkiklerinden ulaşılmış, hastaların tümünün boy ve kilo ölçümleri yapılarak, vücut kitle indeksi hesaplanmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastalarda ve kontrol grubundaki bireylerde rutin kan sayımı ve biyokimyasal tetkiklere ek olarak FMD yöntemi ile endotel fonksiyonları değerlendirilmiş, ultrasonografi ile karotis intima media kalınlıkları ölçülmüş ve ekokardiyografi ile sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonları, kalp

boşluklarının çapları ve kapak fonksiyonları değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak, hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden alınan venöz kan örneklerinde, Temel Onkoloji Bilim Dalınca akım sitometrisi yöntemi ile endotel progenitör hücreler(CD34+KDR+) sayılmış, ELISA yöntemi ile de IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-13 ve IL-17 düzeyleri belirlenmiştir. Vitamin D replasmanı yapılan hasta grubunda aynı ölçümler bazal ölçümlerden 6 ay sonra tekrar yapılmıştır.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Vitamin D Eksikliği Tanısı ve Vitamin D Replasmanı**

Çalışmaya katılan bireylerden alınan 2 mL venöz kan örnekleri EDTA'lı tüplere konularak 25(OH)D<sub>3</sub> düzeyi çalışılması amacıyla 2000xg devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma örnekleri ayrıldı. Örnekler, Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında Immuchrom 25-OH Vitamin D<sub>3</sub> kiti ile Shimadzu LC-20AT yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) cihazında, kromatografik yöntem ile çalışıldı. Serum 25(OH)D<sub>3</sub> düzeyleri ng/mL cinsinden verildi. Kitin üretici firması tarafından yöntemin referans aralığı kışın 10-60 ng/mL, yazın 20-120 ng/mL, analitik saptama sınırı 2,3 ng/mL ve doğrusal olduğu aralık 0-1250 ng/mL olarak verilmiştir. 2011 yılında yayınlanan Endocrine Society kılavuzunda yapılan tanıma uygun olarak 25(OH)D düzeyinin 20 ng/mL'nin altında olması vitamin D eksikliği olarak kabul edilmiştir (92).

Vitamin D eksikliği tanısı konulan hastalara aynı kılavuzun önerileri doğrultusunda 8 hafta süre ile haftada bir kez 50000 IU vitamin D<sub>3</sub> verilerek 25(OH) vitamin D<sub>3</sub> kan düzeylerinin 30ng/ml'nin üzerine çıkartılması amaçlanmış ve takiben 1500-2000 IU/gün idame tedavisi verilmiştir (92).

#### **3.2.2. FMD Yöntemi ile Endotel Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi**

Çalışmaya katılan bireylerde endotel fonksiyonlarının değerlendirilebilmesi amacıyla brakial arter FMD yöntemi kullanılmıştır. FMD ölçümü için Hacettepe Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı ekokardiyografi laboratuvarında bulunan GE Vivid S6 model ekokardiyografi cihazı (GE Healthcare, Horten, Norway) ve 10 Mhz'lik transdüser kullanılmıştır. Tüm ölçümler 8-12 saatlik açlık sonrasında sabah saatlerinde, 20-25°C'lik oda sıcaklığında, hastaların tanısından ve klinik bilgilerinden habersiz deneyimli bir kardiyolog tarafından gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesinde hastaların son 8-12 saat içerisinde vasküler fonksiyonları etkileyebilecek egzersiz,

kafein alımı gibi aktivitelerde bulunmadıkları ve son 1 hafta içerisinde dekonjestanlar, C vitamini ve oral kontraseptifler gibi ilaçları kullanmadıkları teyit edilmiştir. Çalışmaya alınan hasta grubunun tamamının kadın olması ve hormonların vasküler fonksiyonu etkileyebileceği göz önünde bulundurularak tüm ölçümler menstrüel siklusun folliküler fazında gerçekleştirilmiştir.

Brakial arter FMD ölçümü amacıyla EKG monitörizasyonu eşliğinde transdüser sağ brakial arter trasesi üzerine konularak, brakial arter, trase boyunca tortüozitenin olmadığı ve en iyi görüntünün alındığı bölgede longitudinal olarak görüntülenmiş ve ultrasonografi aletinin büyütme ve odaklama özellikleri kullanılarak görüntü büyütülmüştür. Lümen ve damar duvarı arasında ön ve arka intimal yüzeyleri net olarak ayırt edilebildiği bir segment ölçümlerin yapılması için seçilmiştir. Brakial arter çapı diyastol sonunda üç kez ölçülerek ve bu üç ölçümün ortalaması bazal çap olarak kaydedilmiştir. Endotel bağımlı dilatasyon sağlamak amacıyla tansiyon aletinin manşonu sağ antekübital fossanın üst kısmına yerleştirilmiş, FMD ölçüm kılavuzlarında önerildiği şekilde hastanın sistolik kan basıncının 50 mmHg üzerine çıkartılarak manşon 5 dakika bu pozisyonda tutulmuş ve antegrad kan akımı kesilerek iskemi oluşturulmuştur (193). Manşon indirildikten sonra, 5 dakika boyunca ve 1 dakika aralıklarla brakial arterin longitudinal planda 2D görüntüleri alınmış ve ölçülen en geniş diyastol sonu çap FMD hesaplanması için kullanılmıştır. FMD, diyastol sonu brakial arter çapında hiperemiye bağlı olarak ortaya çıkan değişikliğin bazal damar çapına göre % (yüzde) oranı olarak ifade edilmiş ve  $FMD = \left[ \frac{\text{Hiperemi Sonrası Brakial Arter Çapı} - \text{Brakial Arter Bazal Çapı}}{\text{Brakial Arter Bazal Çapı}} \times 100 \right]$  formülü ile hesaplanmıştır.

### **3.2.3. Karotis İntima Media Kalınlığı Ölçümü**

Çalışmaya katılan bireylerde karotis intima media kalınlığının (İMK) ölçümü için Hacettepe Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı ekokardiyografi laboratuvarında bulunan GE Vivid S6 model ekokardiyografi cihazı (GE Healthcare, Horten, Norway) ve 10 Mhz'lik transdüser kullanılmıştır. Tüm ölçümler 8-12 saatlik açlık sonrasında sabah saatlerinde, 20-25°C'lik oda sıcaklığında, hastaların tanısından ve klinik bilgilerinden habersiz deneyimli bir kardiyolog tarafından gerçekleştirilmiştir. Ölçümler hastalar sırt üstü yatar pozisyonda, baş hafif hiperekstansiyonda ve boyun değerlendirilen tarafın tersine 30-45° açı verilmiş

durumdayken yapılmıştır. Tüm hastalarda öncelikle B mod gri skala görüntüleme ile ana karotis arter ve karotis bifurkasyon sonrası internal karotis arter proksimal segmentlerinin aksiyel ve longitudinal planda genel morfolojik değerlendirilmesi yapılmıştır. İnternal ve eksternal karotis arterler arasındaki akım ayırıcı belirlendikten sonra akım ayırıcının 1 cm altından itibaren her iki tarafta ana karotis arterlerin distal 1 cm'lik kesimlerinde arka duvarda farklı noktalarda intima media kalınlıklarının ölçümü yapılmıştır (Şekil 3.1). Ölçümler lümen ve intima tabakası arasındaki hiperekojen yansıma ile media ve adventisya tabakaları arasındaki hiperekojen yansımalar arasından yapılarak, her iki tarafta ölçülen maksimum kalınlıkların ortalaması o hastanın karotis intima media kalınlığı olarak kabul edilmiştir.

#### **3.2.4. Endotel Progenitör Hücre Sayılarının Belirlenmesi**

Endotel progenitör hücre sayılarının belirlenebilmesi amacıyla hastalardan EDTA'lı tüp içine 2-3 ml periferik venöz kan örneği alındı. Alınan kan PBS (Phosphate Buffer Saline) ile 1:1 oranında dilüe edildi ve 2 ml ficoll (Sigma ficoll histopaque 1077) üzerine yayıldı. 20 dakika 1800 RPM'de +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası mononükleer hücreler ayrı bir yıkama tüpüne alındı ve üzerine PBS ilave edilerek 5 dakika 1800 RPM'de +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı ve bu işlem bir kez daha tekrarlandı. Daha sonra hücreler her bir tüpte  $1 \times 10^6$ /ml hücre olacak şekilde tüplere bölündü. Her bir tüpe izotipik antikor olarak Mouse IgG1 PerCP (MCPC-21, Biolegend), Mouse IgGαFITC (MOPc-173, Biolegend) ve Mouse IgG2α PE (MOPC-173, Biolegend); özgül antikor olarak da CD34FITC (Clone 561, Biolegend), CD133PE (AC133, mACS, Miltenyl Biotec) ve CD309 PerCP (Clone HICDR-1, Biolegend) antikorları 5 µl olarak ilave edildi ve +4°C'de karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler PBS ile yıkandı, yıkama sonrası süpernatant atıldı ve hücreler 1 ml PBS ile süspanse edildi. Daha sonra akım sitometri cihazında (Beckman Coulter EPICS XL MCL; USA) 500.000 hücre sayılarak analiz edildi. Hücreler, akım sitometri cihazının bilgisayar programında önce büyüklük ve granülaritesine göre dağılım gösteren histogramda belirlendi. Daha sonra hücreler, floresan yoğunluğu ve hücre sayımını gösteren histogramda spesifik olmayan bağlanmayı gösteren izotipik kontroller çıkarıldıktan sonra yüzde olarak değerlendirildi. Hastaların toplam beyaz küre sayıları kullanılarak

CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> ve CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarının mutlak değerleri hesaplandı.

### 3.2.5. Sitokin Düzeylerinin Ölçümü

Hastalardan alınan venöz kan örneklerinde sitokin düzeylerinin ölçümü amacıyla IFN $\gamma$  (Aviva Systems Biology, USA), IL-10 (Aviva Systems Biology, USA), IL-13 (e Bioscience), IL-17 (Aviva Systems Biology, USA) ELISA kitleri kullanıldı. Periferik venöz kandan serum örnekleri ayrıldıktan sonra örnekler -80°C'de saklandı ve çalışma, kitlerin kullanma kılavuzunda tarif edilen yönteme uygun olarak yapıldı. Kısaca; IFN $\gamma$ , IL-10, IL-13 ve IL-17 antikorları ile kaplanmış olan kuyulara standart ve hasta örnekleri duplike olarak konuldu ve inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kuyular otomatik plate yıkayıcısında yıkandı ve her bir kuyuya, horseradishperoksidaz (HRP) işaretli enzim ilave edildi. Daha sonra substrat eklendi ve renk oluşumuna göre absorbans değerleri ELISA okuyucusunda (Molecular Devices, Spectra Lab USA) ölçüldü. Standart kuyularının absorbans değerleri  $x$  ekseninde, standartların pg/ml'de bulunan değerleri  $y$  ekseninde belirtilerek standart eğri oluşturuldu ve bu eğri üzerinden hastaların serumunda bulunan IFN $\gamma$ , IL-10, IL-13 ve IL-17 düzeyleri pg/mL olarak belirlendi.

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdaki sayısal değişkenlerden normal dağılım sergileyenler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak, normal dağılım göstermeyenler ise ortanca (median) ile yanında minimum ve maksimum değerleri verilerek belirtilmiştir. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak belirtildi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenlerde ortalama değerlerin karşılaştırılması için bağımsız gruplarda T testi, normal dağılım sergilemeyen sayısal değişkenlerde ortanca değerlerin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası sayısal değerlerinin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren veriler için bağımlı gruplarda t testi, göstermeyenlerde ise Wilcoxon testi kullanıldı. Gruplar arasındaki kategorik değişkenlerin karşılaştırılması için Ki kare testi kullanılmıştır.

Tedavi öncesi – Tedavi sonrası farklarının ilişkisi Pearson korelasyon katsayısı ile verildi.  $\Delta$ FMD,  $\Delta$  CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> EPCs ve  $\Delta$  CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> EPCs değerlerini etkileyen faktörler çoklu doğrusal regresyon analizi ile belirlendi.

Bu çalışmamızın istatistiksel analizinde SPSS istatistik programı (versiyon 21.0; SPSS Inc., Chicago, Illinois) kullanılmıştır. Analizlerde p değeri < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

#### **3.4. Etik**

Çalışmamız, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiştir. Çalışma protokolü, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 03.08.2012 tarih ve 12/118 sayılı kararınca onaylanmıştır (Proje No: KA 12/159).

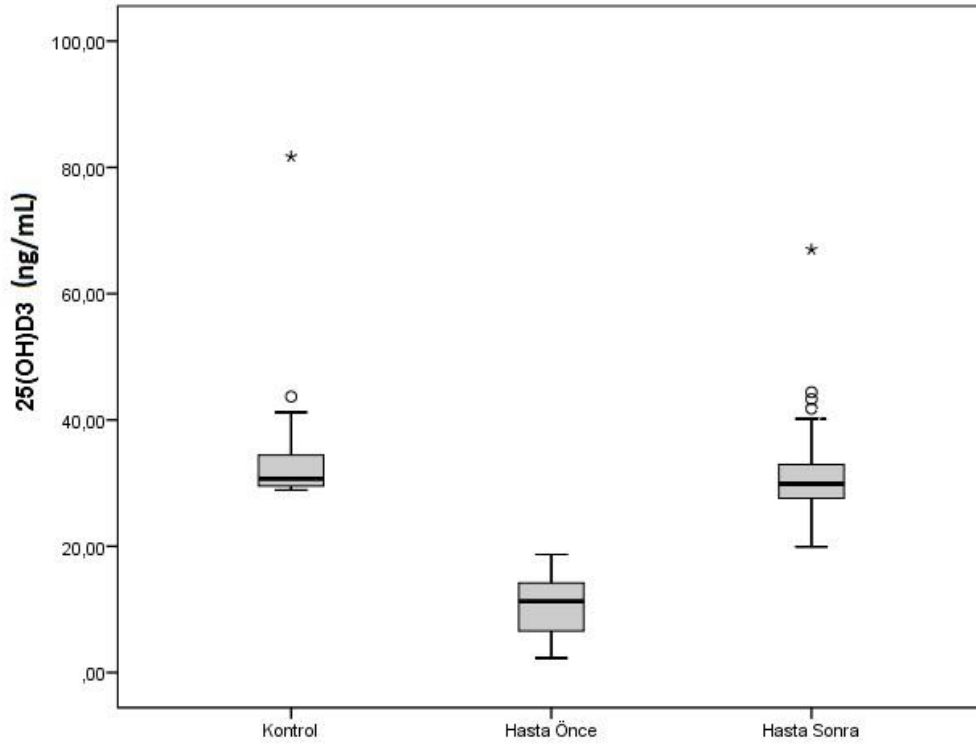
#### **3.5. Araştırma Desteği**

Çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli araştırma desteği Türk Kardiyoloji Derneği tarafından sağlanmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Bazal Özellikleri

Çalışmaya hasta grubu olarak 31 vitamin D eksikliği bulunan, kontrol grubu olarak da 27 normal vitamin D düzeylerine sahip, majör kardiyovasküler risk faktörü bulunmayan kadın alınmıştır. Hasta grubunun yaş ortalaması  $34.1 \pm 7.6$  yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $33.1 \pm 5.7$  yıl olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunun 25(OH)D düzeyi  $10.6 \pm 4.7$  ng/mL olarak ölçülürken, kontrol grubunun 25(OH)D düzeyi  $34.4 \pm 10.3$  ng/mL olarak ölçülmüştür ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.1). 25(OH)D düzeyleri dışında kalan klinik, biyokimyasal ve ekokardiyografik değişkenler hasta ve kontrol gruplarında benzer olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).



Şekil 4.1. Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında 25(OH)D düzeyleri.

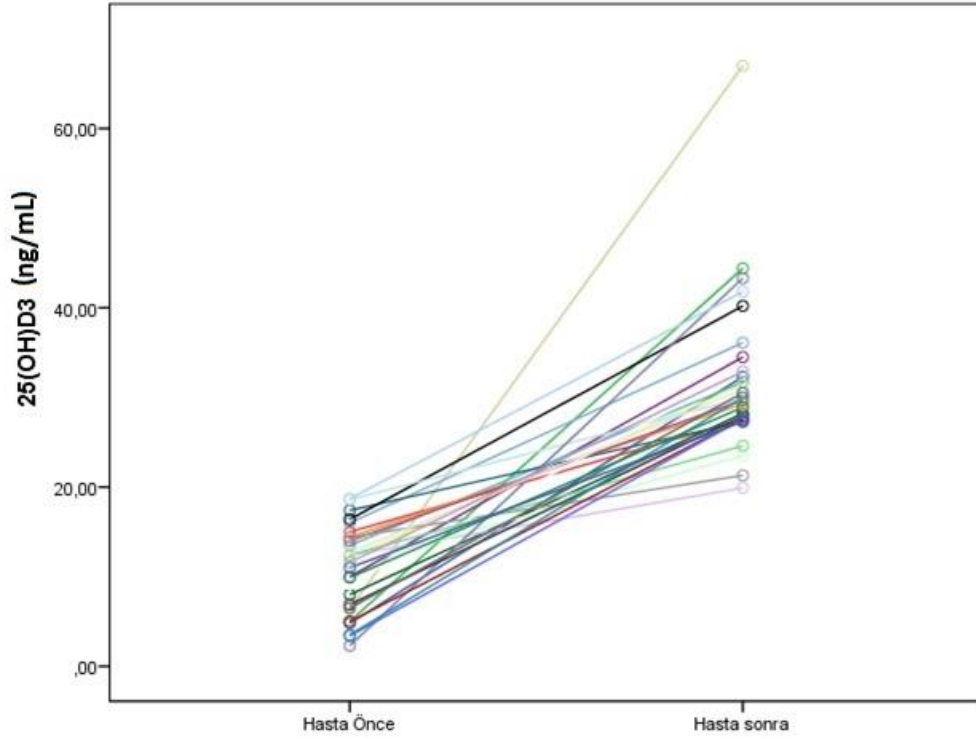


**Tablo 4.1.** Hasta ve kontrol gruplarının bazal özelliklerinin karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Kontrol grubu (n=27)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)</b>	<b>p</b>
<b>Klinik değişkenler</b>			
Yaş (yıl)	34.1± 7.6	33.1± 5.7	0.597
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	23.5± 2.3	22.8± 3.1	0.280
Bel çevresi (cm)	77.8± 7.1	77.0± 8.6	0.686
<b>Biyokimyasal değişkenler</b>			
Total kolesterol (mg/dL)	187.3± 26.3	184.9± 36.1	0.774
LDL kolesterol (mg/dL)	108.4± 22.8	106.4± 33.7	0.785
HDL kolesterol (mg/dL)	62.4± 11.4	63.4± 13.6	0.757
Trigliserit (mg/dL)	83.9± 45.7	81.6± 46.4	0.623
Açlık kan şekeri (mg/dL)	84.2± 8.8	85.5± 10.5	0.596
TSH (mIU/mL)	1.78± 0.75	1.93± 1.0	0.936
BUN (mg/dL)	10.3± 3.0	11.2± 2.3	0.239
Kreatinin (mg/dL)	0.67± 0.06	0.65± 0.11	0.495
Albumin (mg/dL)	4.4± 0.28	4.5± 0.22	0.152
Kalsiyum (mg/dL)	9.6± 0.38	9.5± 0.16	0.140
Fosfor (mg/dL)	3.57± 0.32	3.46± 0.61	0.398
Beyaz küre sayısı (/µL)	6511.1± 1112.6	6296.8± 1119.1	0.469
Hemoglobin (gr/dL)	13.2± 1.0	12.9± 1.6	0.456
25(OH)D düzeyi (ng/mL)	34.4± 10.3	10.6± 4.7	<0.001*
<b>Ekokardiyografik değişkenler</b>			
Diyastol sonu çap (cm)	4.53± 0.24	4.46± 0.29	0.294
Ejeksiyon fraksiyonu	68.1± 3.0	68.4± 3.2	0.774

BUN, kan üre nitrojeni; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; KAH, koroner arter hastalığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.

Hasta grubundaki bireylerin 6 aylık vitamin D replasmanı sonrası yapılan kontrollerinde 25(OH)D düzeylerinin  $10,6 \pm 4,7$  ng/mL'den  $31,4 \pm 8,6$  ng/mL'ye yükseldiği görüldü ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.2). Hasta grubunda 25(OH)D düzeyleri dışında kalan klinik, biyokimyasal ve ekokardiyografik değişkenlerin replasman tedavisiyle anlamlı oranda değişiklik göstermediği bulundu (Tablo 4.2).



**Şekil 4.2.** Hasta grubunda replasman tedavisi sonucu 25(OH)D düzeylerindeki değişim.

Hasta grubunun tedavi sonrası 25(OH)D düzeylerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında halen anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ( $34,4 \pm 10,3$  vs.  $31,4 \pm 8,6$  ng/mL,  $p=0.036$ ). Bu iki grup arasında da 25(OH)D düzeyleri dışında kalan klinik, biyokimyasal ve ekokardiyografik değişkenler açısından anlamlı fark olmadığı saptandı (Tablo 4.3)

**Tablo 4.2.** Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası bazal özelliklerinin karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)</b>	<b>p</b>
<b>Klinik değişkenler</b>			
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	22,8± 3,1	22,7± 3,0	0,778
Bel çevresi (cm)	77,0± 8,6	76,7± 8,8	0,756
<b>Biyokimyasal değişkenler</b>			
Total kolesterol (mg/dL)	184,9± 36,1	184,2± 29,9	0,981
LDL kolesterol (mg/dL)	106,4± 33,7	104,9± 26,9	0,842
HDL kolesterol (mg/dL)	63,4± 13,6	64,6± 12,4	0,632
Trigliserit (mg/dL)	81,6± 46,4	80,6± 47,6	0,732
Açlık kan şekeri (mg/dL)	85,5± 10,5	85,0± 8,0	0,687
TSH (mIU/mL)	1,93± 1,0	1,97±0,65	0,501
BUN (mg/dL)	11,2± 2,3	10,9± 2,3	0,349
Kreatinin (mg/dL)	0,65± 0,11	0,64± 0,10	0,344
Albumin (mg/dL)	4,5± 0,22	4,5± 0,23	0,518
Kalsiyum (mg/dL)	9,5± 0,16	9,6± 0,35	0,334
Fosfor (mg/dL)	3,46± 0,61	3,56± 0,47	0,222
Beyaz küre sayısı (/µL)	6296,8± 1119,1	6467,7± 1022,2	0,359
Hemoglobin (gr/dL)	12,9± 1,6	12,9± 1,0	0,830
25(OH)D düzeyi (ng/mL)	10,6± 4,7	31,4± 8,6	<0,001*
<b>Ekokardiyografik değişkenler</b>			
Diyastol sonu çap (cm)	4,46± 0,29	4,47± 0,29	0,784
Ejeksiyon fraksiyonu	68,4± 3,2	68,4± 2,8	0,827

BUN, kan üre nitrojeni; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.

**Tablo 4.3.** Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun bazal özelliklerinin karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)	p
<b>Klinik değişkenler</b>			
Yaş (yıl)	34,1± 7,6	33,1± 5,7	0,597
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	23,5± 2,3	22,7± 3,0	0,197
Bel çevresi (cm)	77,8± 7,1	76,7± 8,8	0,345
<b>Biyokimyasal değişkenler</b>			
Total kolesterol (mg/dL)	187,3± 26,3	184,2± 29,9	0,682
LDL kolesterol (mg/dL)	108,4± 22,8	104,9± 26,9	0,493
HDL kolesterol (mg/dL)	62,4± 11,4	64,6± 12,4	0,504
Trigliserit (mg/dL)	83,9± 45,7	80,6± 47,6	0,711
Açlık kan şekeri (mg/dL)	84,2± 8,8	85,0± 8,0	0,703
TSH (mIU/mL)	1,78± 0,75	1,97±0,65	0,094
BUN (mg/dL)	10,3± 3,0	10,9± 2,3	0,386
Kreatinin (mg/dL)	0,67± 0,06	0,64± 0,10	0,285
Albumin (mg/dL)	4,4± 0,28	4,5± 0,23	0,080
Kalsiyum (mg/dL)	9,6± 0,38	9,6± 0,35	0,609
Fosfor (mg/dL)	3,57± 0,32	3,56± 0,47	0,930
Beyaz küre sayısı (/µL)	6511,1± 1112,6	6467,7± 1022,2	0,878
Hemoglobin (gr/dL)	13,2± 1,0	12,9± 1,0	0,393
25(OH)D düzeyi (ng/mL)	34,4± 10,3	31,4± 8,6	0,036*
<b>Ekokardiyografik değişkenler</b>			
Diyastol sonu çap (cm)	4,53± 0,24	4,47± 0,29	0,409
Ejeksiyon fraksiyonu	68,1± 3,0	68,4± 2,8	0,696

BUN, kan üre nitrojeni; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; KAH, koroner arter hastalığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.

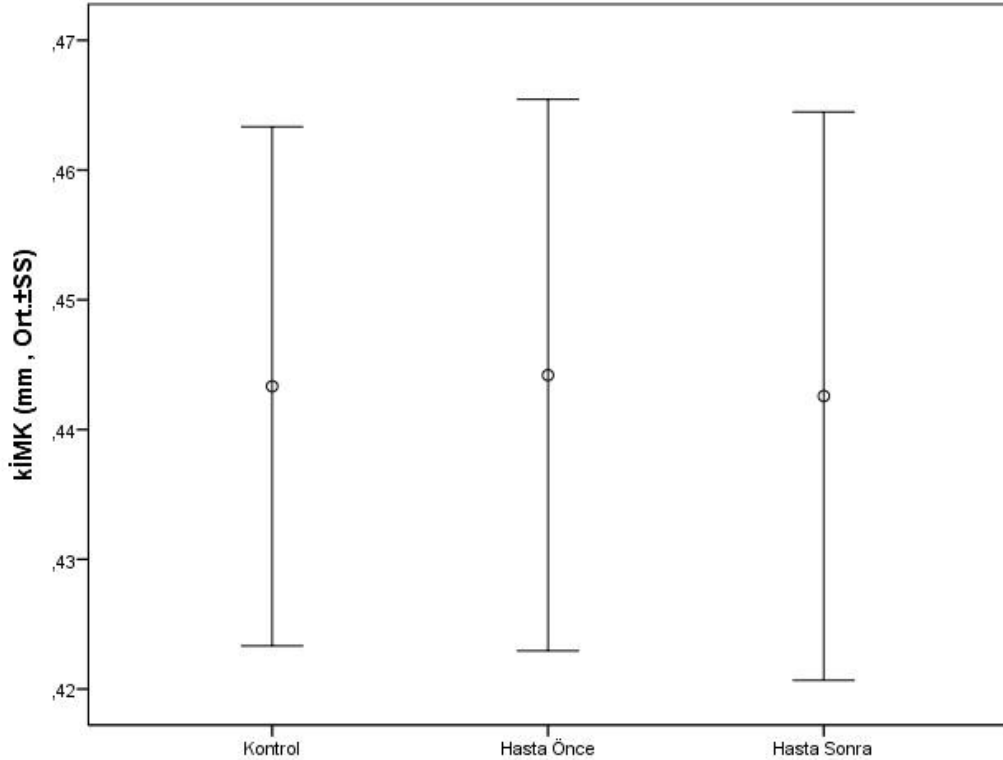
## 4.2. Karotis Arter İntima Media Kalınlığı (kİMK)

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin kİMK değerleri sırasıyla  $0.45 \pm 0.02$  ve  $0.44 \pm 0.02$  mm olarak ölçüldü ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.275$ ) (Tablo 4.4) (Şekil 4.3). 6 aylık vitamin D replasmanı sonrası hasta grubunun bazal kİMK değerinde çok küçük bir azalma olduğu görüldü; ancak bu değişiklik anlamlılığa ulaşamadı (Tablo 4.5). Hasta grubunun tedavi sonrası kİMK değerinin kontrol grubunun kİMK değeri ile de benzer olduğu görüldü (Tablo 4.6).

**Tablo 4.4.** Hasta ve kontrol grubu kİMK karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	p
kİMK (mm)	$0.44 \pm 0.02$	$0.45 \pm 0.02$	0,275

kİMK, karotis arter intima media kalınlığı.



**Şekil 4.3.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında kİMK değerleri.

**Tablo 4.5.** Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası kİMK karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)</b>	<b>p</b>
kİMK (mm)	0.45± 0.02	0.44± 0.02	0,157

kİMK, karotis arter intima media kalınlığı.

**Tablo 4.6.** Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun kİMK karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Kontrol grubu (n=27)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)</b>	<b>p</b>
kİMK (mm)	0.44± 0.02	0.44± 0.02	0,892

kİMK, karotis arter intima media kalınlığı.

Yapılan korelasyon analizi sonucunda, hasta grubunda tedavi sonrası kİMK değerinde meydana gelen değişikliğin bazal özelliklerde oluşan değişikliklerden hiçbirisi ile korele olmadığı belirlendi (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan kİMK değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	<i>r</i>	p
ΔkİMK		
Δ25(OH)D	-0.195	0.292
ΔTotal kolesterol	0.028	0.882
ΔLDL	0.020	0.914
ΔHDL	-0.046	0.806
ΔTrigliserit	0.278	0.130
ΔAçlık kan şekeri	0.188	0.312
ΔTSH	-0.090	0.630
ΔBUN	0.347	0.056
ΔAlbumin	0.273	0.137
ΔKreatinin	0.019	0.920
ΔKalsiyum	-0.159	0.394
ΔFosfor	0.058	0.757
Δ Beyaz küre sayısı	0.208	0.261
ΔFMD	-0.173	0.351
ΔIL-13	-0.105	0.573
Δ IL-10	-0.169	0.303
Δ IL-17	0.270	0.142
ΔIFN $\gamma$	0.243	0.169
Δ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	-0.247	0.180
Δ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	-0.133	0.477

BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.

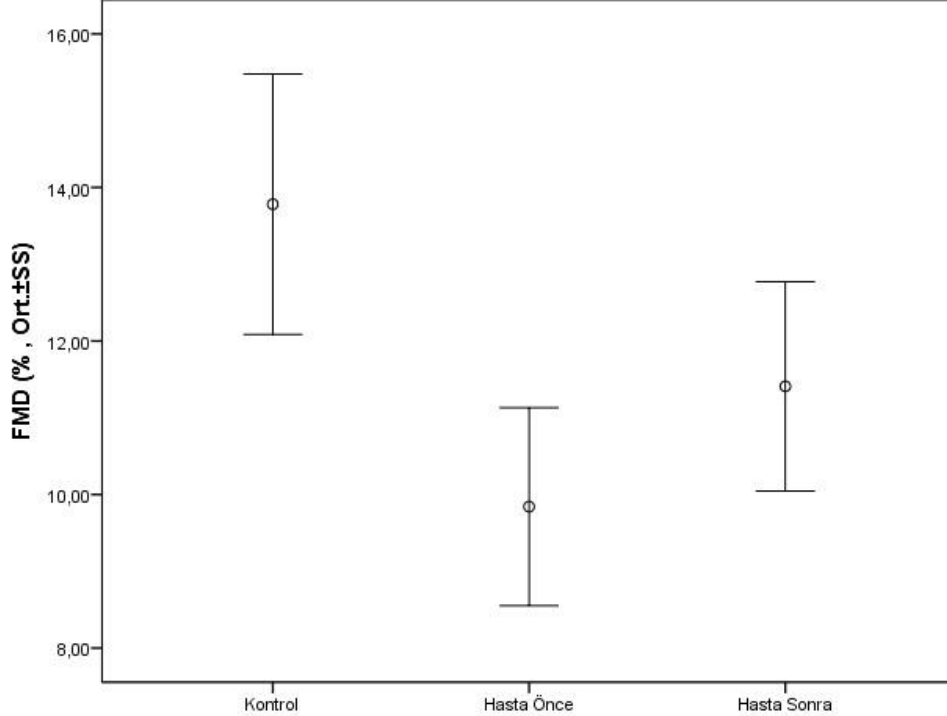
### 4.3. FMD Yöntemi ile Değerlendirilen Endotel Fonksiyonları

Kontrol ve hasta grubundaki bireylerin brakiyal arter FMD ölçümü öncesinde, FMD ölçümlerini etkileyebileceğinden dolayı brakiyal arter çapları karşılaştırıldı ve brakiyal arter çaplarının her iki grupta da benzer olduğu görüldü ( $3.4 \pm 0.3$  vs.  $3.4 \pm 0.4$  mm,  $p=0.887$ ) (Tablo 4.8). Kontrol grubunda ortalama FMD değeri  $\%13.8 \pm 1.7$  olarak ölçülürken; hasta grubunun tedavi öncesi ölçümlerinde bu değer  $\%9.9 \pm 1.3$  olarak bulundu ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptandı ( $p<0.001$ ) (Tablo 4.8) (Şekil 4.4).

**Tablo 4.8.** Hasta ve kontrol grubu FMD ölçümlerinin karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	p
Brakiyal arter çapı (mm)	$3.4 \pm 0.3$	$3.4 \pm 0.4$	0.887
FMD (%)	$13.8 \pm 1.7$	$9.9 \pm 1.3$	$<0,001^*$

FMD, akım aracılı dilatasyon.



**Şekil 4.4.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında FMD değerleri.

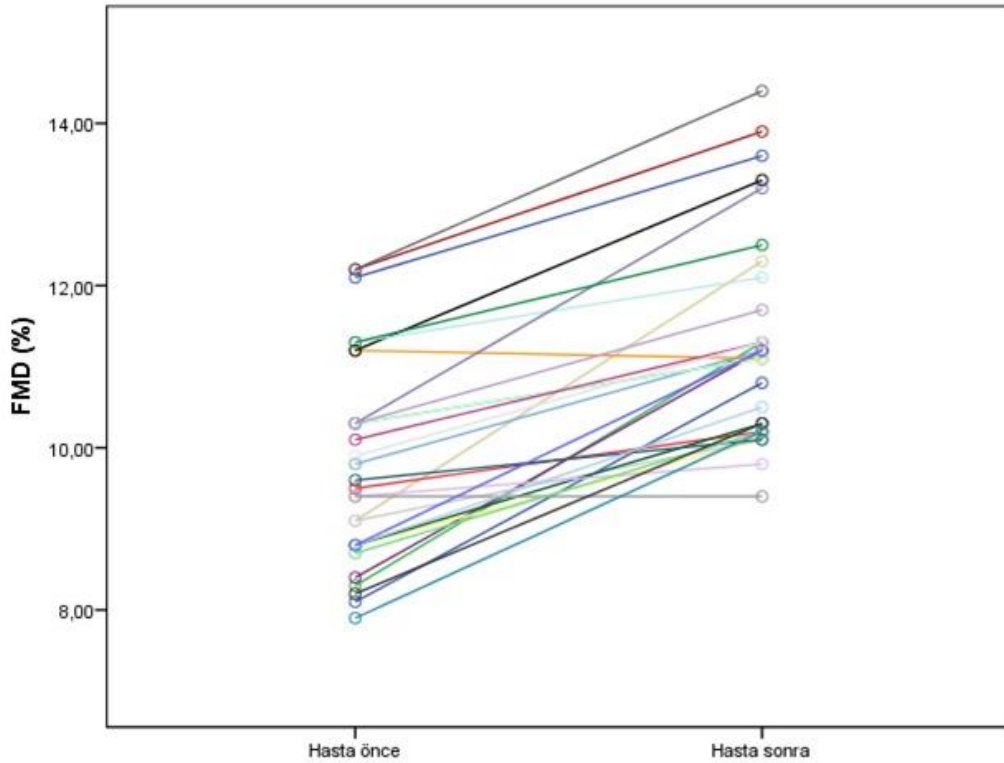


6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında hasta grubunun ortalama FMD değerinin  $9.9 \pm 1.3$ 'ten  $11.4 \pm 1.4$ 'e yükseldiği ve bu yükselişin istatistiksel olarak anlamlı olduğu hesaplandı ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4.9)(Şekil 4.5). Hasta grubunun tedavi sonrası FMD değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise; tedavi sonrası yapılan ölçümlerin, tedavi öncesindeki ölçümlere göre daha yüksek olmasına rağmen, kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü (Tablo 4.10).

**Tablo 4.9.** Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası FMD ölçümlerinin karşılaştırması.

Değişken	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)	p
Brakiyal arter çapı (mm)	$3.4 \pm 0.4$	$3.4 \pm 0.4$	0.965
FMD (%)	$9.9 \pm 1.3$	$11.4 \pm 1.4$	$<0,001^*$

FMD, akım aracılı dilatasyon.



**Şekil 4.5.** Hasta grubunda replasman tedavisi sonucu FMD değerlerindeki değişim.

**Tablo 4.10.** Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun FMD ölçümlerinin karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Kontrol grubu (n=27)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)</b>	<b>p</b>
Brakiyal arter çapı (mm)	3.4± 0.3	3.4± 0.4	0.854
FMD (%)	13.8± 1.7	11.4± 1.4	<0,001*

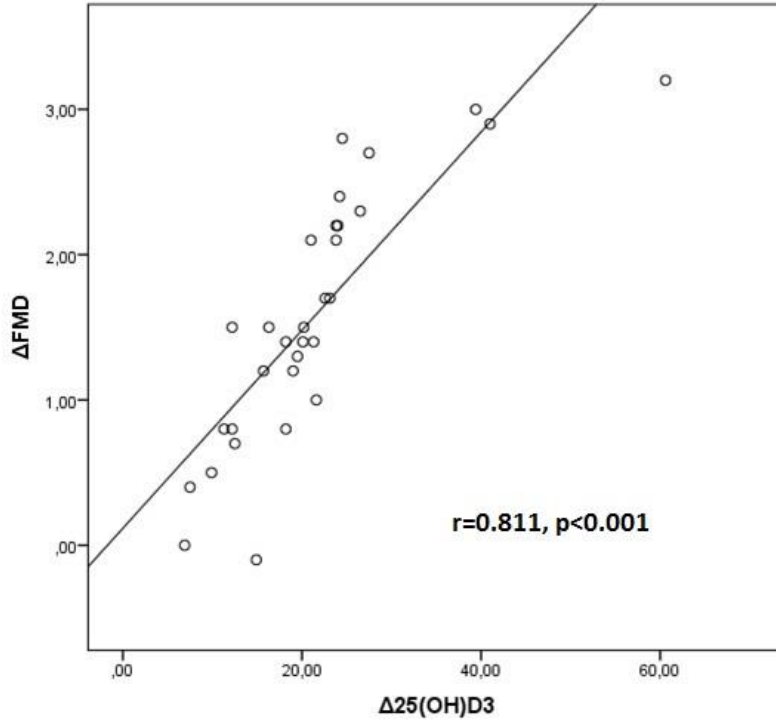
FMD, akım aracılı dilatasyon.

Hasta grubunda vitamin D replasmanı sonrası FMD ölçümündeki farkın korele olduğu faktörler incelendiğinde ise FMD değerindeki değişimin 25(OH)D, fosfor, IL-13 ve IL-10 düzeylerindeki değişimlerle pozitif korelasyon gösterdiği belirlendi (Tablo 4.11)(Şekil 4.6, 4.7, 4.8). Ayrıca, FMD değerindeki değişimin CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> ve CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle de pozitif korelasyon gösterdiği saptandı (Şekil 4.9, 4.10). Diğer değişkenlerden farklı olarak; FMD değerindeki değişimin, IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon gösterdiği görüldü (Tablo 4.11) (Şekil 4.11). Çoklu doğrusal regresyon analizi sonucunda ise 25(OH)D ve IL-17 düzeylerindeki değişimlerin, FMD değerindeki değişimin bağımsız öngördürücüsü oldukları belirlendi (Tablo 4.11).

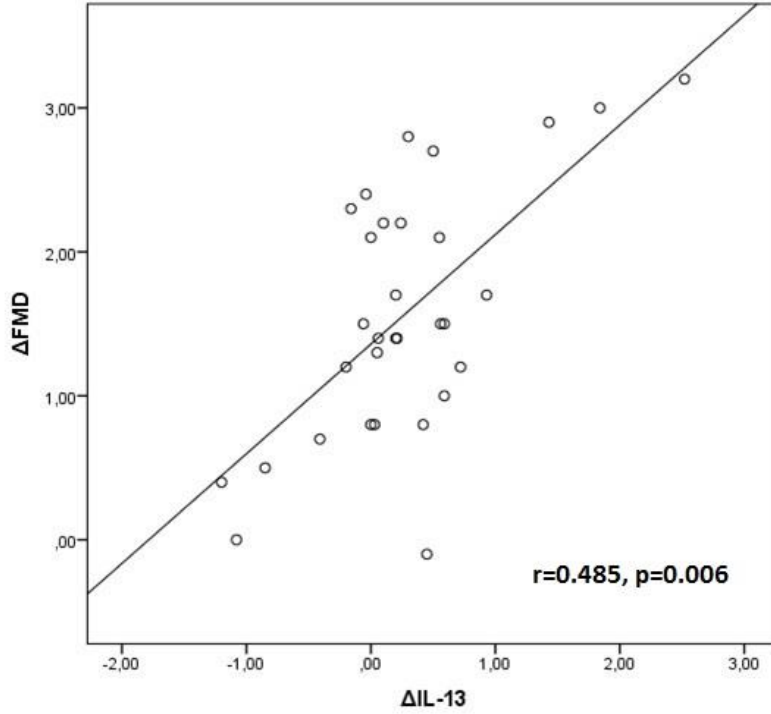
**Tablo 4.11.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan FMD değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	Tekli doğrusal regresyon analizi		Çoklu doğrusal regresyon analizi	
	<i>r</i>	<i>p</i>	$\beta$	<i>p</i>
$\Delta$ FMD	0.811	<0.001*	0.024	0.016*
$\Delta$ 25(OH)D	-0.047	0.803		
$\Delta$ Total kolesterol	-0.087	0.642		
$\Delta$ LDL	0.063	0.736		
$\Delta$ HDL	-0.277	0.132	0.076	0.300
$\Delta$ Trigliserit	-0.206	0.266		
$\Delta$ Açlık kan şekeri	-0.025	0.894		
$\Delta$ TSH	0.068	0.715		
$\Delta$ BUN	0.258	0.161	0.021	0.784
$\Delta$ Albumin	0.087	0.643		
$\Delta$ Kreatinin	-0.086	0.646		
$\Delta$ Kalsiyum	0.361	0.046*	0.066	0.399
$\Delta$ Fosfor	0.125	0.503		
$\Delta$ Beyaz küre sayısı	-0.173	0.351		
$\Delta$ kİMK	0.485	0.006*	0.034	0.802
$\Delta$ IL-13	0.645	<0.001*	0.030	0.792
$\Delta$ IL-10	-0.793	<0.001*	-0.122	<0.001*
$\Delta$ IL-17	0.290	0.114	0.023	0.746
$\Delta$ IFN $\gamma$	0.801	<0.001*	0.077	0.601
$\Delta$ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.631	<0.001*	0.017	0.931
$\Delta$ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs				

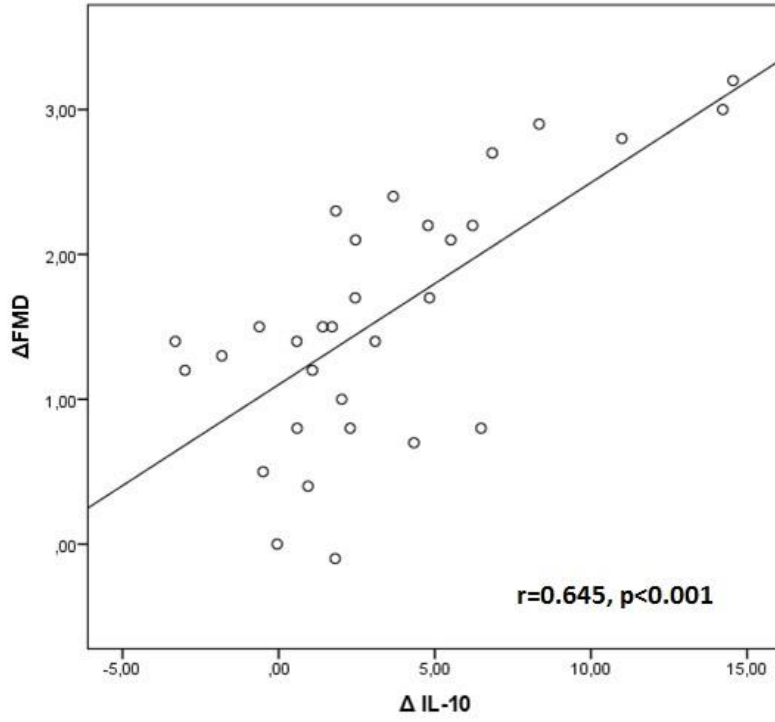
BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



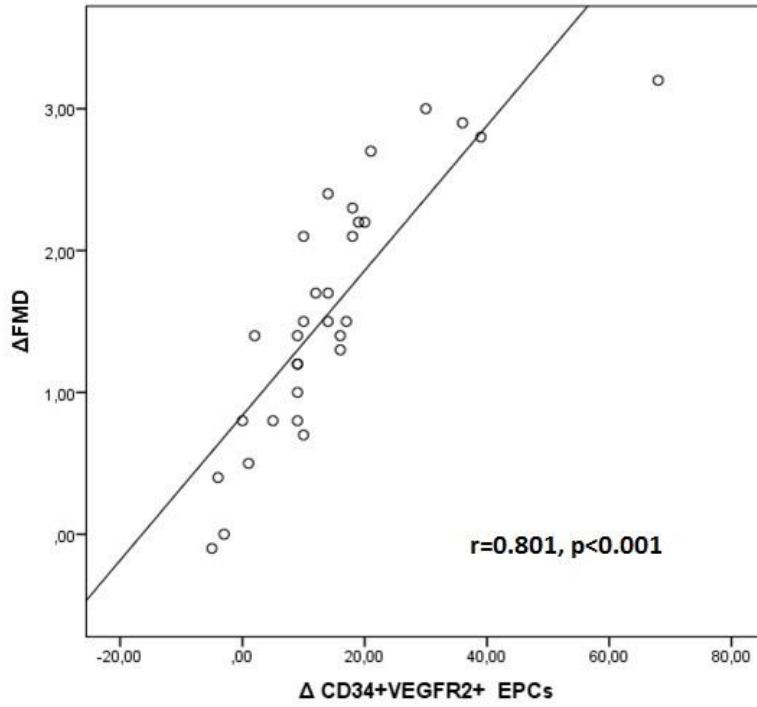
**Şekil 4.6.** FMD değerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



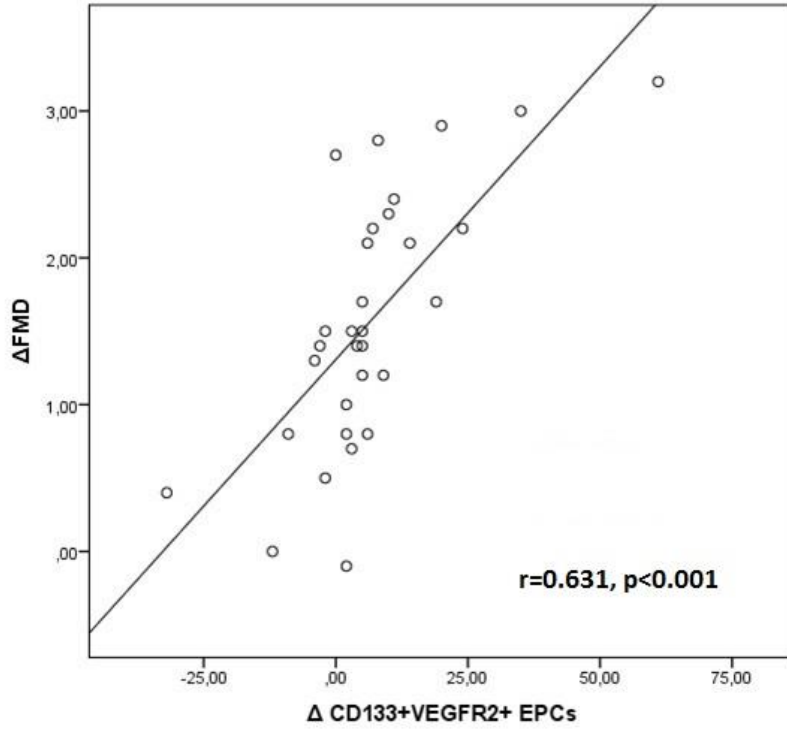
**Şekil 4.7.** FMD değerindeki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



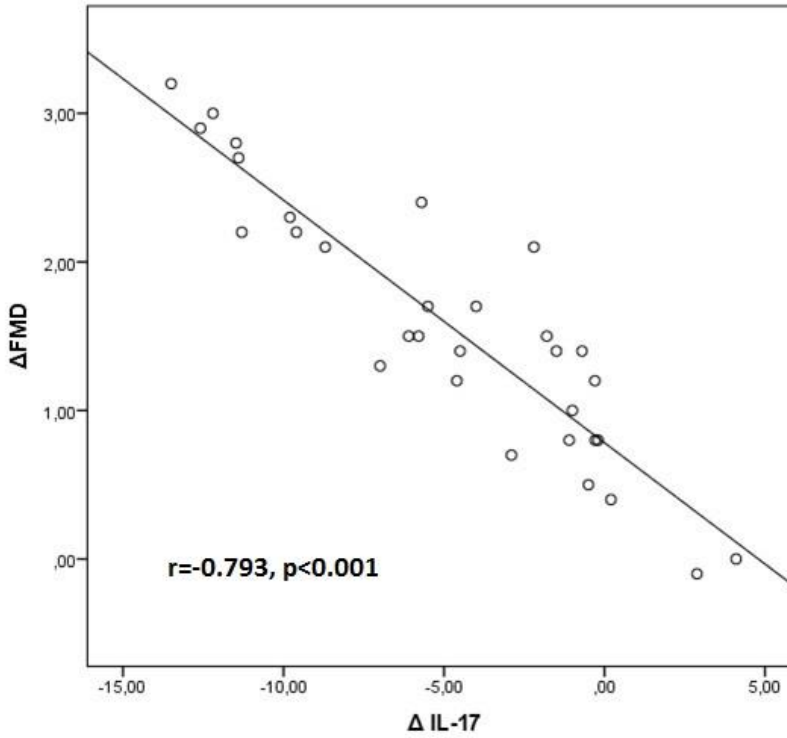
**Şekil 4.8.** FMD değerindeki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.9.** FMD değerindeki değişimin CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitor hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.10.** FMD değerindeki değişimin CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitor hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.11.** FMD değerindeki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.

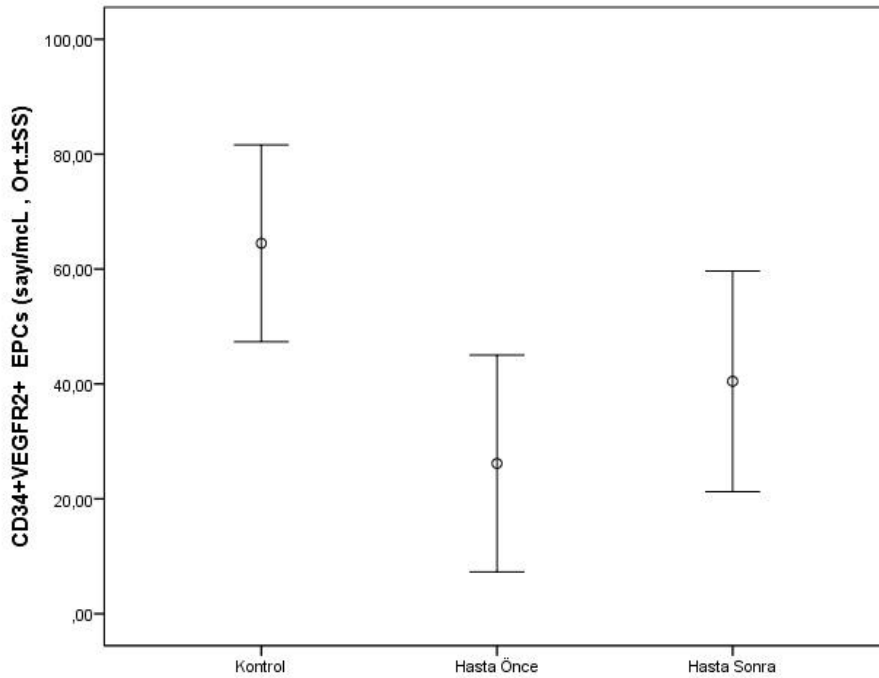
#### 4.4. Endotel Progenitör Hücre Sayıları

Kontrol grubundaki bireylerde ortalama  $CD34^{+}VEGFR2^{+}$  endotel progenitör hücre sayıları hasta grubunun tedavi öncesi değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı biçimde yüksek olarak bulundu ( $64.5 \pm 17.1$  vs  $26.2 \pm 20.5$  / $\mu$ L,  $p < 0.001$ ) (Tablo 4.12) (Şekil 4.12). benzer şekilde  $CD133^{+}VEGFR2^{+}$  endotel progenitör hücre sayıları da kontrol grubunda anlamlı biçimde yüksek olarak saptandı ( $49.4 \pm 23.1$  vs  $27.4 \pm 18.5$  / $\mu$ L,  $p < 0.001$ ) (Tablo 4.12) (Şekil 4.13).

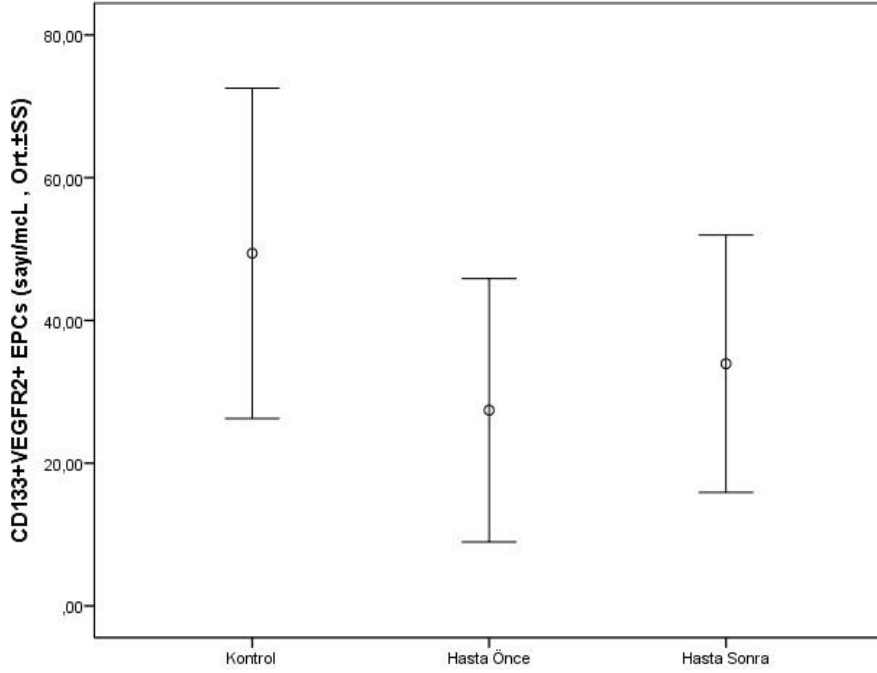
**Tablo 4.12.** Hasta ve kontrol grubu endotel progenitör hücre sayılarının karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	p
$CD34^{+}VEGFR2^{+}$ EPCs (/ $\mu$ L)	$64.5 \pm 17.1$	$26.2 \pm 20.5$	$< 0.001^*$
$CD133^{+}VEGFR2^{+}$ EPCs (/ $\mu$ L)	$49.4 \pm 23.1$	$27.4 \pm 18.5$	$< 0,001^*$

EPC, endotel progenitör hücre.



**Şekil 4.12.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında  $CD34^{+}VEGFR2^{+}$  endotel progenitör hücre sayıları.



**Şekil 4.13.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayıları.

6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında hasta grubunda hem CD34<sup>+</sup> VEGFR2<sup>+</sup> (26.2± 20.5 vs. 40.5± 19.2 /µL, p<0.001); hem de CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> (27.4± 18.5 vs. 33.9± 18.2 /µL, p=0.025) endotel progenitör hücre sayılarının anlamlı şekilde yükseldiği görüldü (Tablo 4.13). Hasta grubunun tedavi sonrası endotel progenitör hücre sayıları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise; tedavi sonrası endotel progenitör hücre sayılarındaki yükselmeye rağmen, kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü (Tablo 4.14).

**Tablo 4.13.** Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası endotel progenitör sayılarının karşılaştırması.

Değişken	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)	p
CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs (/µL)	26.2± 20.5	40.5± 19.2	<0.001*
CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs (/µL)	27.4± 18.5	33.9± 18.2	0,025*

EPC, endotel progenitör hücre.



**Tablo 4.14.** Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun endotel progenitör hücre sayılarının karşılaştırması.

<b>Değişken</b>	<b>Kontrol grubu (n=27)</b>	<b>Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)</b>	<b>p</b>
CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs (/μL)	64.5± 17.1	40.5± 19.2	<0.001*
CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs (/μL)	49.4± 23.1	33.9± 18.2	0,006*

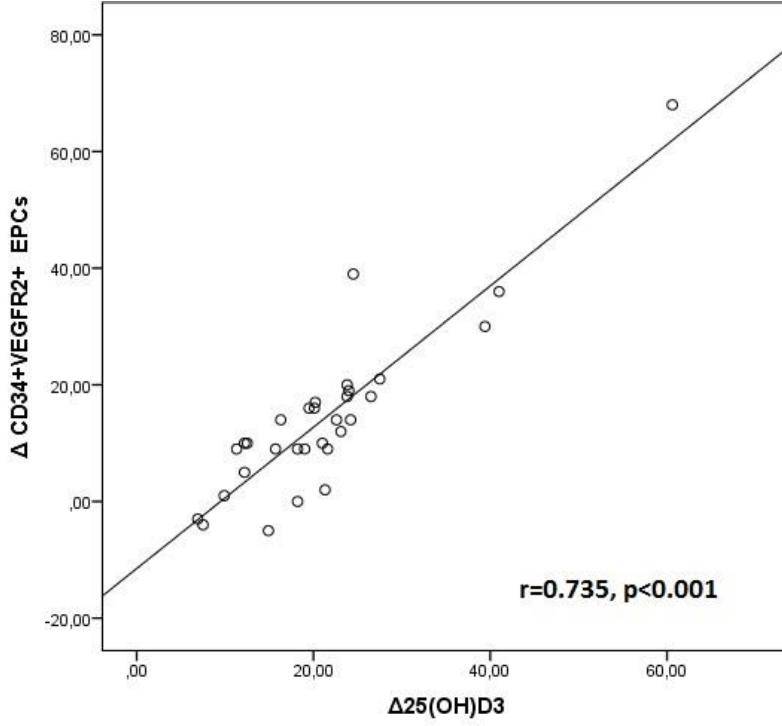
EPC, endotel progenitör hücre.

Hasta grubunda vitamin D replasmanı sonrası CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki artışın korele olduğu faktörler incelendiğinde; CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayılarındaki değişimin 25(OH)D, FMD, IL-13 ve IL-10 düzeylerindeki değişimlerle pozitif korelasyon gösterdiği belirlendi (Tablo 4.15)(Şekil 4.14, 4.15, 4.16). Ayrıca, CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayısındaki değişimin, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimle de pozitif korelasyon gösterdiği saptandı (Şekil 4.17). Diğer değişkenlerden farklı olarak; CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayılarındaki değişimin, IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon gösterdiği görüldü (Tablo 4.15) (Şekil 4.18). Çoklu doğrusal regresyon analizi sonucunda ise 25(OH)D ve IL-17 düzeylerindeki değişimlerin, CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin bağımsız öngördürücüsü oldukları belirlendi (Tablo 4.15).

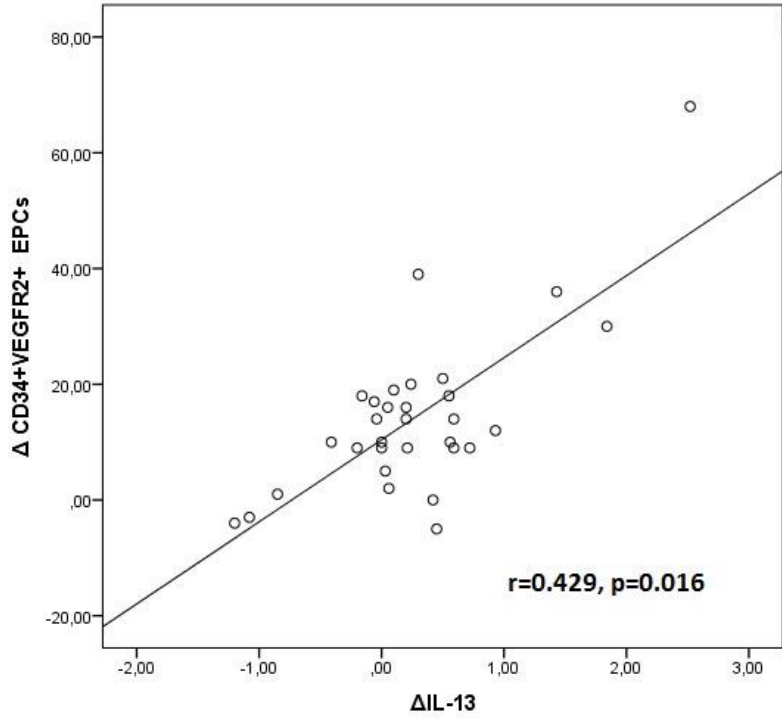
**Tablo 4.15.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> EPC sayısı değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	Tekli doğrusal regresyon analizi		Çoklu doğrusal regresyon analizi	
	<i>r</i>	<i>p</i>	$\beta$	<i>p</i>
$\Delta$ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs				
$\Delta$ 25(OH)D	0.735	<0.001*	0.801	<0.001*
$\Delta$ Total kolesterol	-0.116	0.533		
$\Delta$ LDL	-0.134	0.473		
$\Delta$ HDL	0.212	0.253		
$\Delta$ Trigliserit	-0.231	0.210		
$\Delta$ Açlık kan şekeri	-0.040	0.830		
$\Delta$ TSH	-0.069	0.712		
$\Delta$ BUN	0.033	0.867		
$\Delta$ Albumin	0.333	0.067	-0.052	0.882
$\Delta$ Kreatinin	0.087	0.643		
$\Delta$ Kalsiyum	-0.030	0.874		
$\Delta$ Fosfor	0.345	0.058	0.047	0.489
$\Delta$ Beyaz küre sayısı	0.092	0.623		
$\Delta$ kİMK	-0.247	0.180		
$\Delta$ IL-13	0.429	0.016*	0.011	0.934
$\Delta$ IL-10	0.573	0.001*	0.050	0.659
$\Delta$ IL-17	-0.772	<0.001*	-1.139	0.002*
$\Delta$ IFN $\gamma$	0.224	0.226		
$\Delta$ FMD	0.801	<0.001*		
$\Delta$ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.642	<0.001*	0.152	0.306

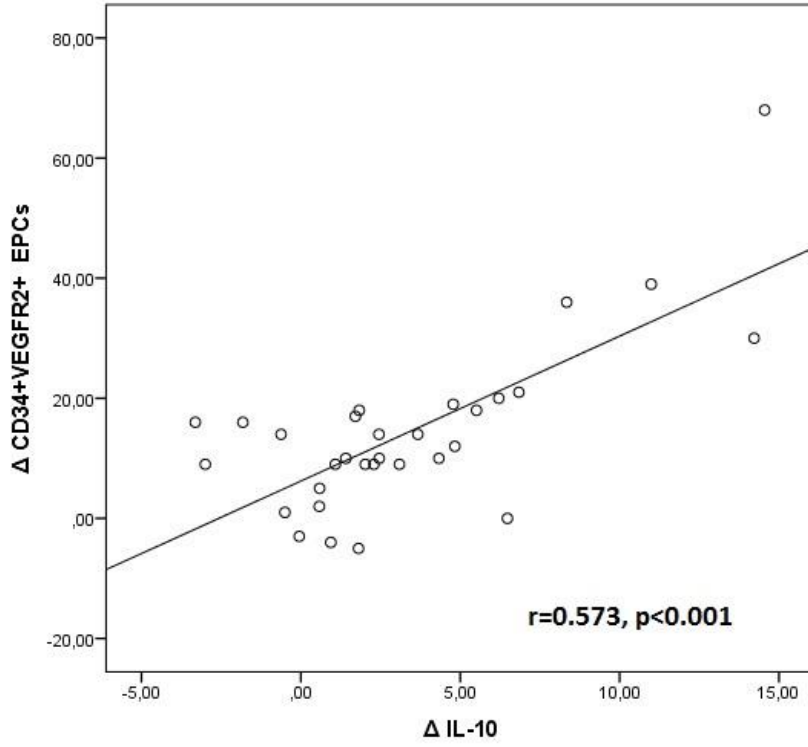
BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



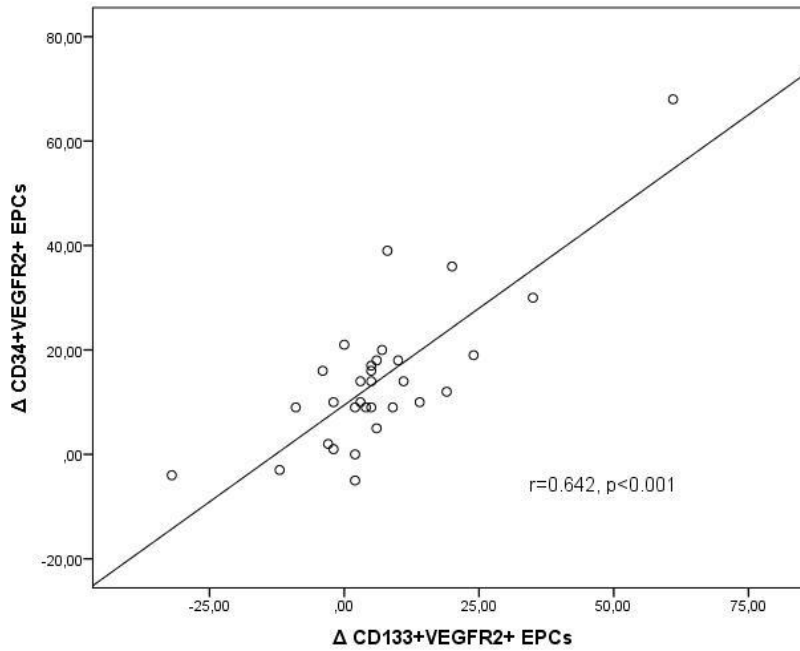
**Şekil 4.14.** CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



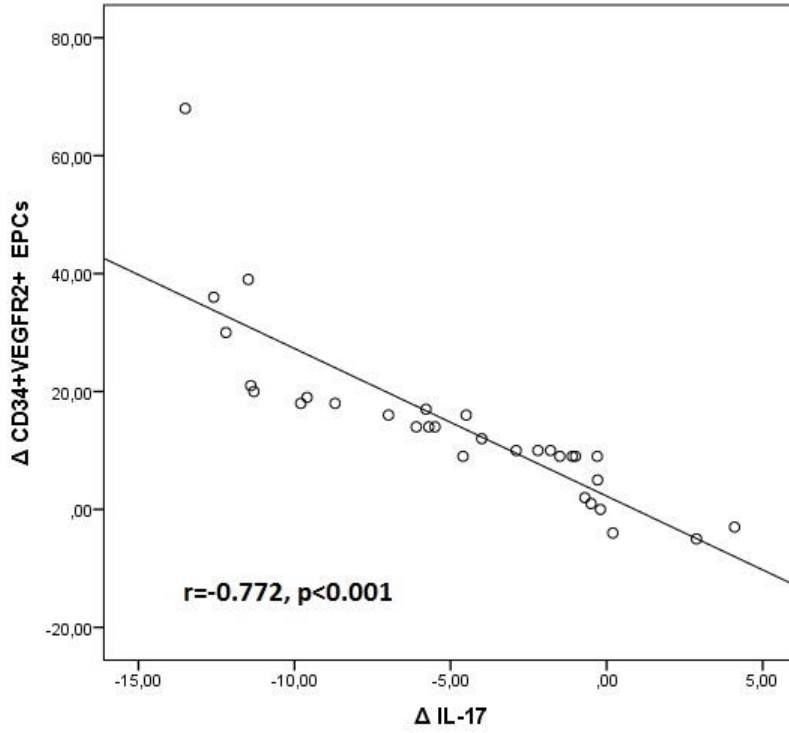
**Şekil 4.15.** CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.16.** CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.17.** CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişim ile korelasyonu.



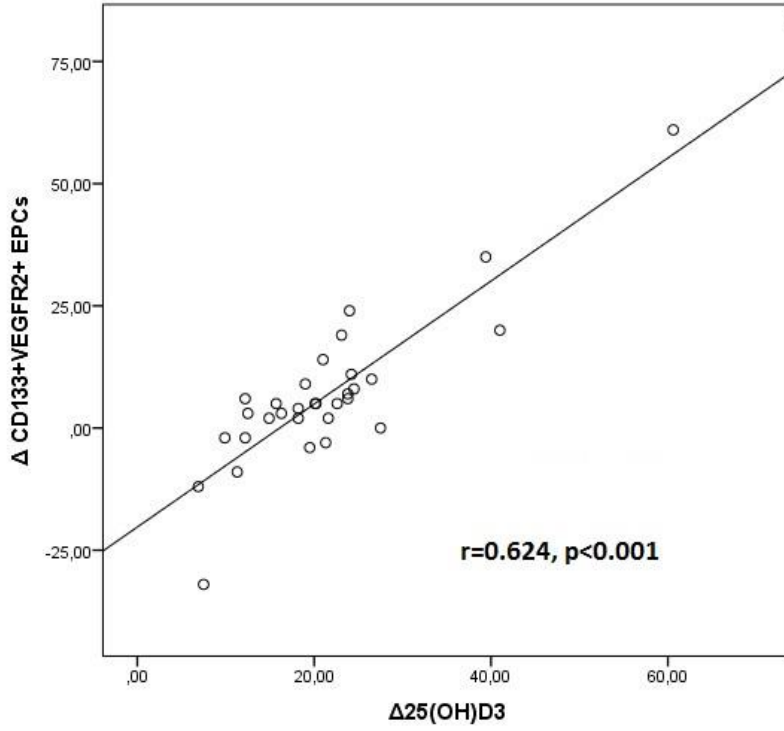
**Şekil 4.18.** CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.

Hasta grubunda vitamin D replasmanı sonrası CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki artışın korele olduğu faktörler incelendiğinde ise CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayılarındaki değişimin 25(OH)D, FMD, IL-13 ve IL-10 düzeylerindeki değişimlerle pozitif korelasyon gösterdiği belirlendi (Tablo 4.16)(Şekil 4.19, 4.20, 4.21). Ayrıca, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayısındaki değişimin, CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimle de pozitif korelasyon gösterdiği saptandı (Şekil 4.17). Diğer değişkenlerden farklı olarak; CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> hücre sayılarındaki değişimin, IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon gösterdiği görüldü (Tablo 4.16) (Şekil 4.22). Çoklu doğrusal regresyon analizi sonucunda ise 25(OH)D düzeylerindeki değişimin, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin tek bağımsız öngördürücüsü olduğu belirlendi (Tablo 4.16).

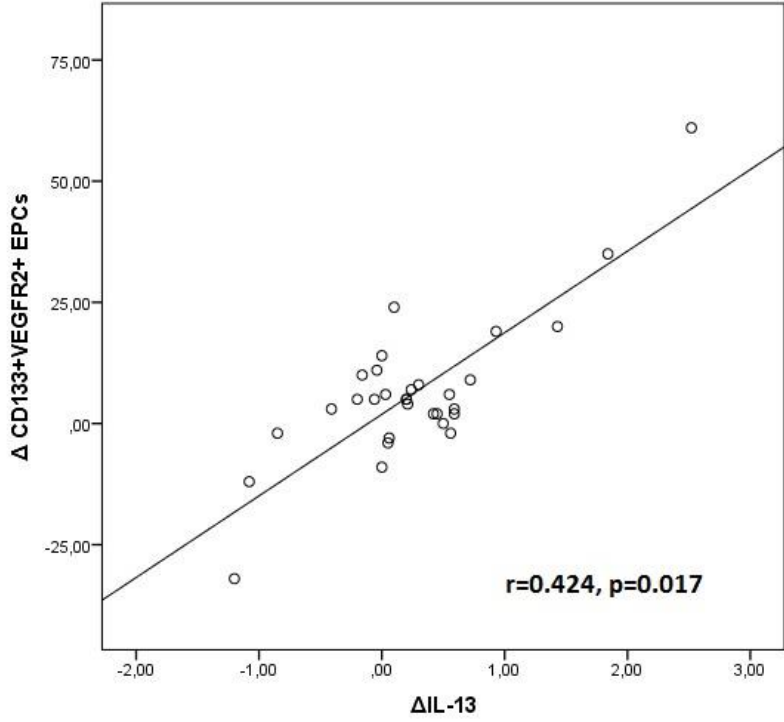
**Tablo 4.16.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> EPC sayısı değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	Tekli doğrusal regresyon analizi		Çoklu doğrusal regresyon analizi	
	<i>r</i>	<b>P</b>	<b>β</b>	<b>p</b>
Δ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs				
Δ25(OH)D	0.624	<0.001*	1.259	<0.001*
ΔTotal kolesterol	-0.172	0.355		
ΔLDL	-0.012	0.947		
ΔHDL	0.093	0.619		
ΔTrigliserit	-0.296	0.110	-0.127	0.179
ΔAçlık kan şekeri	-0.112	0.548		
ΔTSH	-0.032	0.863		
ΔBUN	0.231	0.211		
ΔAlbumin	0.348	0.055	0.104	0.278
ΔKreatinin	0.293	0.110		
ΔKalsiyum	-0.082	0.659		
ΔFosfor	0.261	0.158	-0.037	0.714
Δ Beyaz küre sayısı	0.143	0.444		
ΔkİMK	-0.133	0.477		
ΔIL-13	0.424	0.017*	0.290	0.091
Δ IL-10	0.554	0.001*	0.032	0.827
Δ IL-17	-0.639	<0.001*	0.130	0.390
ΔIFN $\gamma$	0.021	0.911		
Δ FMD	0.631	<0.001*		
Δ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.642	<0.001*	0.085	0.688

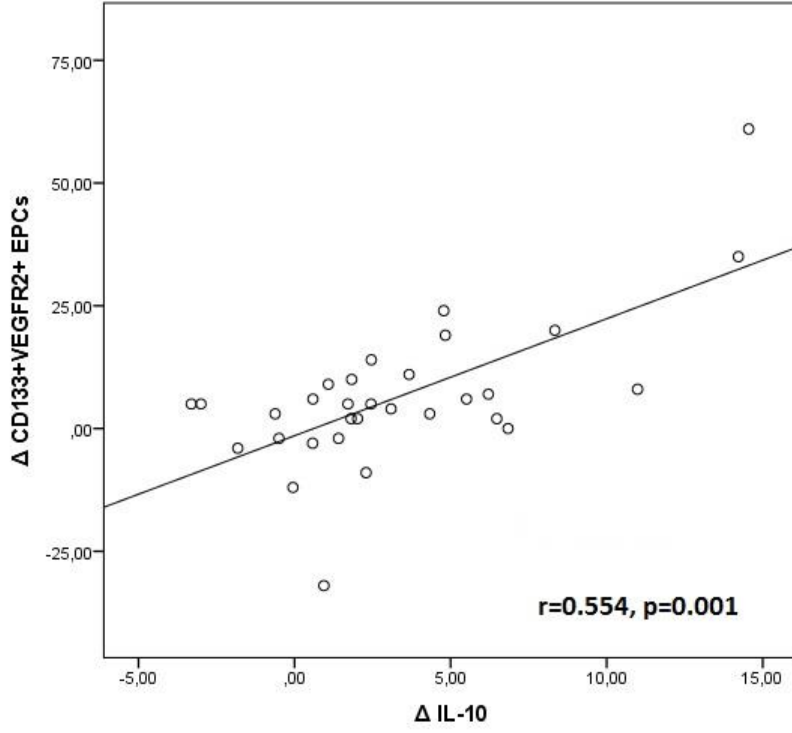
BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



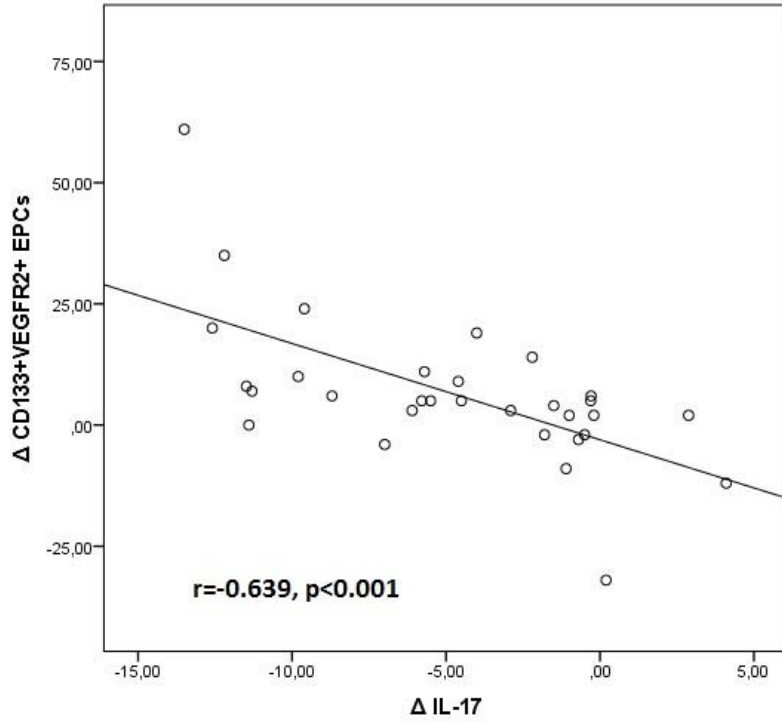
**Şekil 4.19.** CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitor hücre sayısındaki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.20.** CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitor hücre sayısındaki değişimin IL-13 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.21.** CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-10 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.22.** CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin IL-17 düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



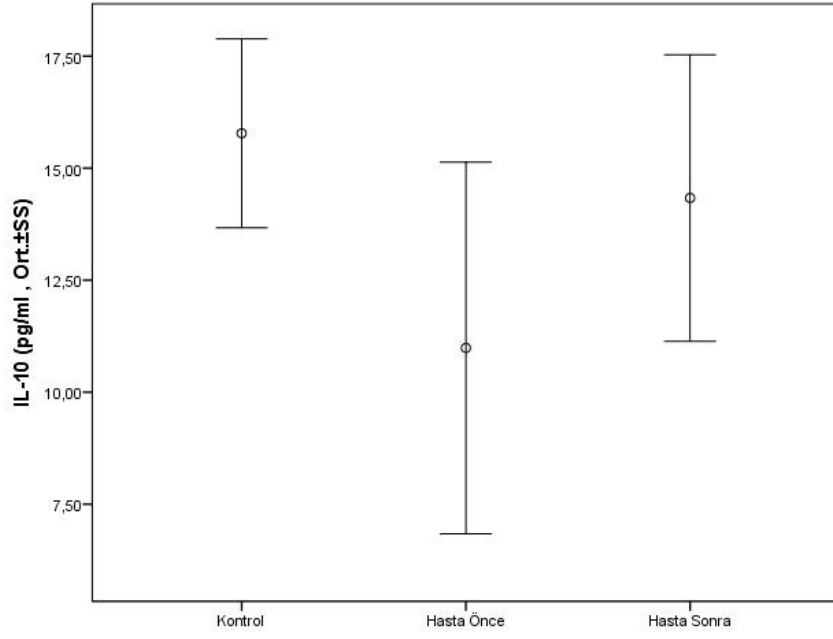
#### 4.5. Sitokin Düzeyleri

Hasta ve kontrol gruplarının bazal sitokin düzeyleri düzeyleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda anti-inflamatuvar özelliklere sahip bir sitokin olan IL-10 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı miktarda düşük olduğu görüldü ( $10.99 \pm 4.15$  vs.  $15.78 \pm 2.10$  pg/mL,  $p < 0.001$ ) (Tablo 4.17)(Şekil 4.23). Hasta grubunda pro-inflamatuvar özelliklere sahip bir sitokin olan IL-17 düzeyinin ise kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek olduğu bulundu ( $11.76 \pm 4.99$  vs.  $5.64 \pm 2.99$  pg/mL,  $p < 0.001$ ) (Tablo 4.17) (Şekil 4.24). IL-13 ve IFN $\gamma$  düzeyleri ise hasta ve kontrol gruplarında benzer olarak bulunmuştur (Tablo 4.17)(Şekil 4.25, 4.26).

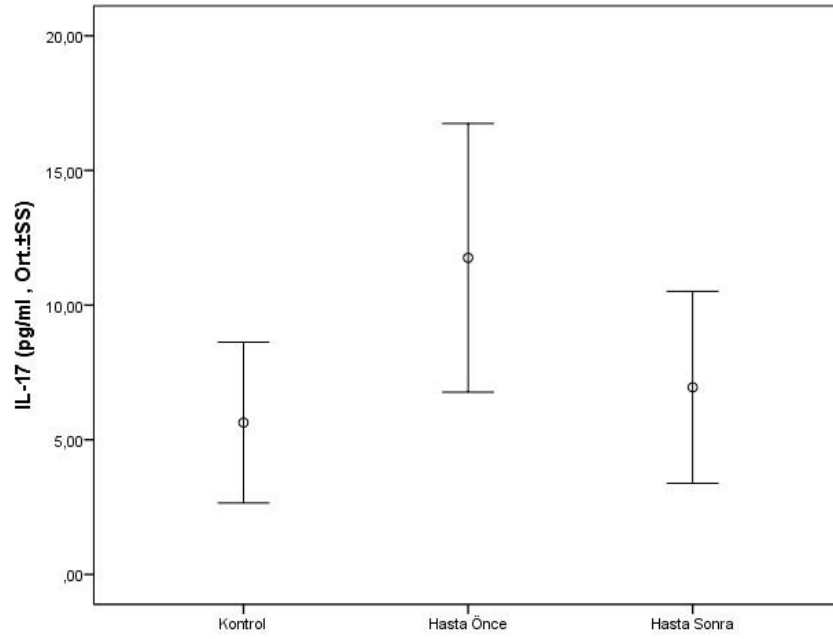
**Tablo 4.17.** Hasta ve kontrol grubu sitokin düzeylerinin karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	p
IL-10 (pg/mL)	$15.78 \pm 2.10$	$10.99 \pm 4.15$	$< 0.001^*$
IL-13 (pg/mL)	1.40 (0.10-4.56)	1.40 (0.08-3.45)	0,258
IL-17 (pg/mL)	$5.64 \pm 2.99$	$11.76 \pm 4.99$	$< 0.001^*$
IFN $\gamma$ (pg/mL)	3.39 (1.10-13.31)	3.93 (1.70-14.30)	0.307

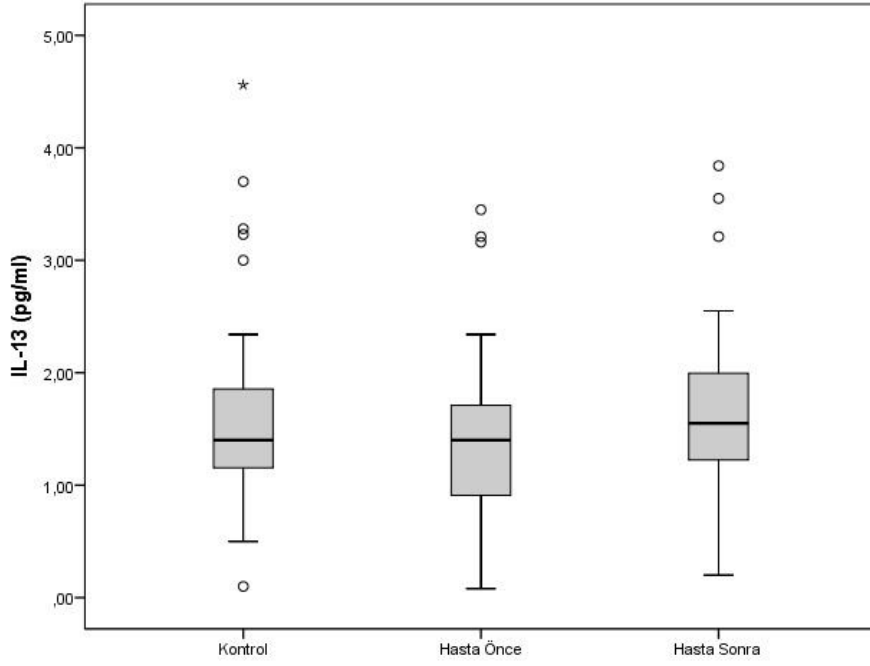
IFN, interferon; IL, interlökin.



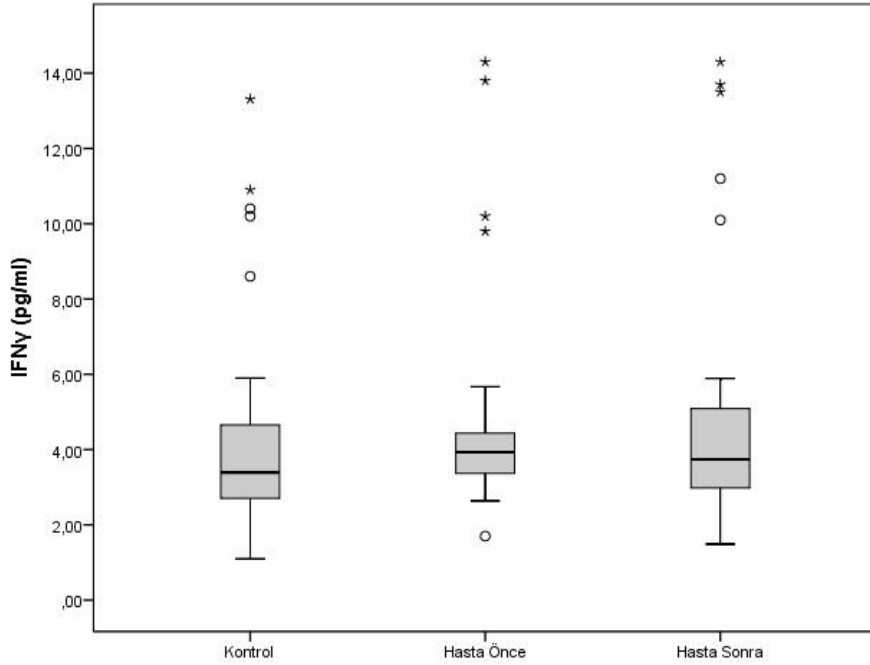
**Şekil 4.23.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-10 düzeyleri.



**Şekil 4.24.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-17 düzeyleri.



**Şekil 4.25.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IL-13 düzeyleri.



**Şekil 4.26.** Kontrol grubunda ve hasta grubunda tedavi öncesinde ve sonrasında IFN $\gamma$  düzeyleri.

Hasta grubunda 6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında yapılan kontrollerde IL-10 ( $10.99 \pm 4.15$  vs.  $14.33 \pm 3.20$  pg/mL,  $p < 0.001$ ) ve IL-13 [ $1.40$  ( $0.08-3.45$ ) vs.  $1.55$  ( $0.30-3.84$ ) pg/mL,  $p = 0.022$ ] düzeylerinin bazal ölçümlerle karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yükseldiği; IL-17 ( $11.76 \pm 4.99$  vs.  $6.95 \pm 3.56$  pg/mL,  $p < 0.001$ ) düzeylerinin ise anlamlı şekilde düştüğü belirlendi (Tablo 4.18) (Şekil 4.23, 4.24, 4.25). Vitamin D replasmanı sonrası IFN $\gamma$  düzeylerinde ise anlamlı değişiklik saptanmadı [ $3.93$  ( $1.70-14.30$ ) vs.  $3.74$  ( $1.49-14.30$ ) pg/mL,  $p = 0.383$ ] (Tablo 4.18) (Şekil 4.26). Hasta grubunun tedavi sonrası sitokin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise sadece IL-10 düzeylerinin kontrol grubundan daha düşük olduğu ( $14.33 \pm 3.20$  vs.  $15.78 \pm 2.10$  pg/mL,  $p = 0.045$ ); diğer sitokin düzeylerinin ise benzer olduğu görüldü (Tablo 4.19).

**Tablo 4.18.** Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası sitokin düzeylerinin karşılaştırması.

Değişken	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=31)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)	p
IL-10 (pg/mL)	$10.99 \pm 4.15$	$14.33 \pm 3.20$	$< 0.001^*$
IL-13 (pg/mL)	$1.40$ ( $0.08-3.45$ )	$1.55$ ( $0.30-3.84$ )	$0,022^*$
IL-17 (pg/mL)	$11.76 \pm 4.99$	$6.95 \pm 3.56$	$< 0.001^*$
IFN $\gamma$ (pg/mL)	$3.93$ ( $1.70-14.30$ )	$3.74$ ( $1.49-14.30$ )	$0.383$

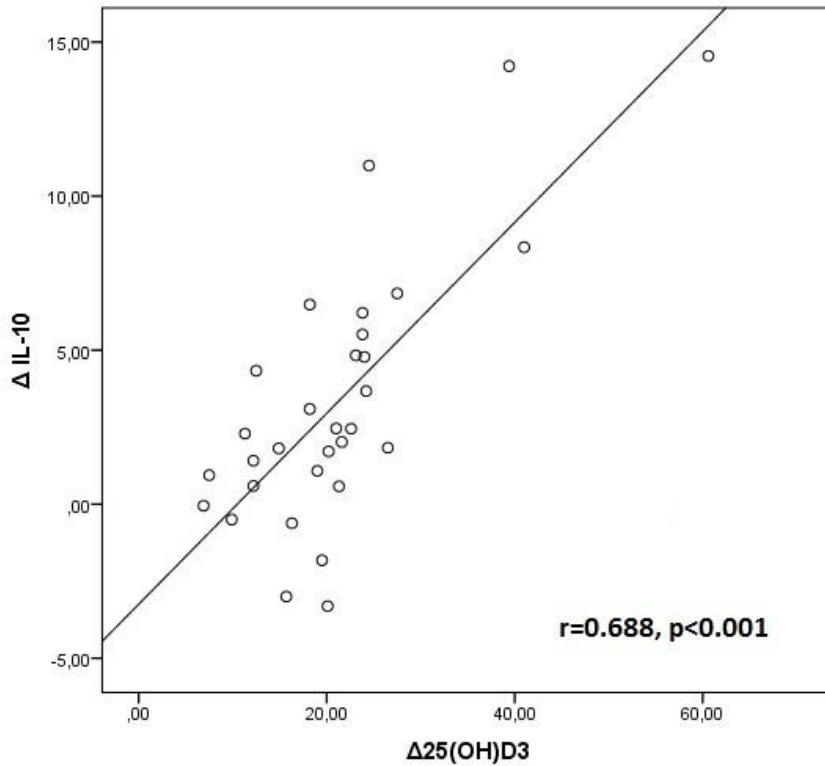
IFN, interferon; IL, interlökin.

**Tablo 4.19.** Kontrol grubu ve tedavi sonrası hasta grubunun sitokin düzeylerinin karşılaştırması.

Değişken	Kontrol grubu (n=27)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=31)	p
IL-10 (pg/mL)	$15.78 \pm 2.10$	$14.33 \pm 3.20$	$0.045^*$
IL-13 (pg/mL)	$1.40$ ( $0.10-4.56$ )	$1.55$ ( $0.30-3.84$ )	$0,750$
IL-17 (pg/mL)	$5.64 \pm 2.99$	$6.95 \pm 3.56$	$0.139$
IFN $\gamma$ (pg/mL)	$3.39$ ( $1.10-13.31$ )	$3.74$ ( $1.49-14.30$ )	$0.543$

IFN, interferon; IL, interlökin.

Hasta grubunda vitamin D replasmanı sonrası sitokin düzeylerindeki değişimin korele olduğu faktörler incelendiğinde ise IL-10 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D, FMD, IL-13, albumin, fosfor, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> ve CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle pozitif korelasyon gösterdiği; IL-17 düzeyindeki değişimle ise negatif korelasyon gösterdiği saptandı (Tablo 4.20) (Şekil 4.8, 4.16, 4.21, 4.27). IL-13 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D, FMD, IL-13, fosfor, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> ve CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle pozitif korelasyon gösterdiği; IL-17 düzeyindeki değişimle ise negatif korelasyon gösterdiği saptandı (Tablo 4.21) (Şekil 4.7, 4.15, 4.20, 4.28). IL-17 düzeylerindeki değişimin ise 25(OH)D, FMD, IL-13, IL-10, CD133<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> ve CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle negatif korelasyon gösterdiği belirlendi (Tablo 4.22) (Şekil 4.11, 4.18, 4.22, 4.29). IFN $\gamma$  düzeylerindeki değişimin ise bazal özelliklerde oluşan değişikliklerden hiçbirisi ile korele olmadığı belirlendi (Tablo 4.23) (Şekil 4.30).

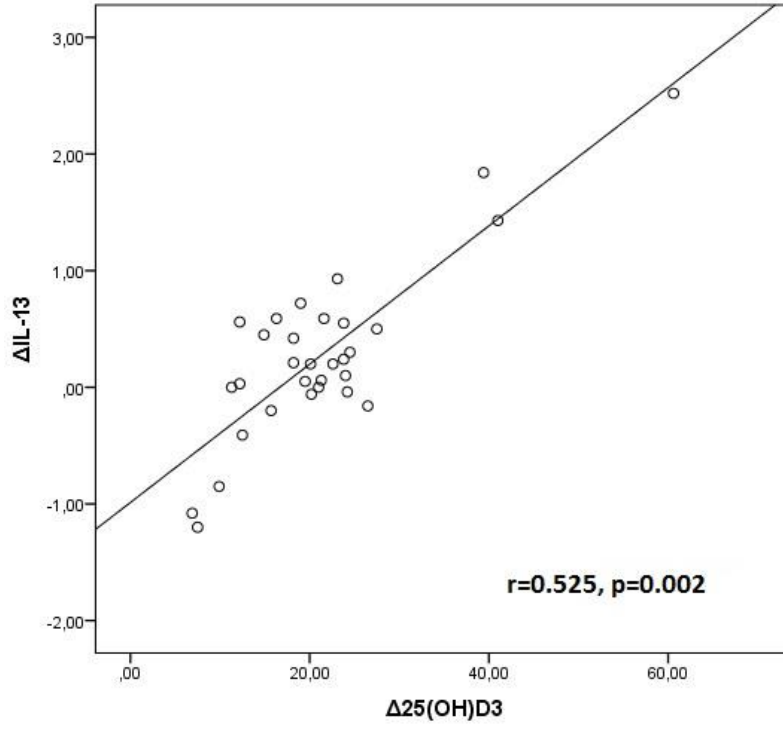


**Şekil 4.27.** IL-10 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.

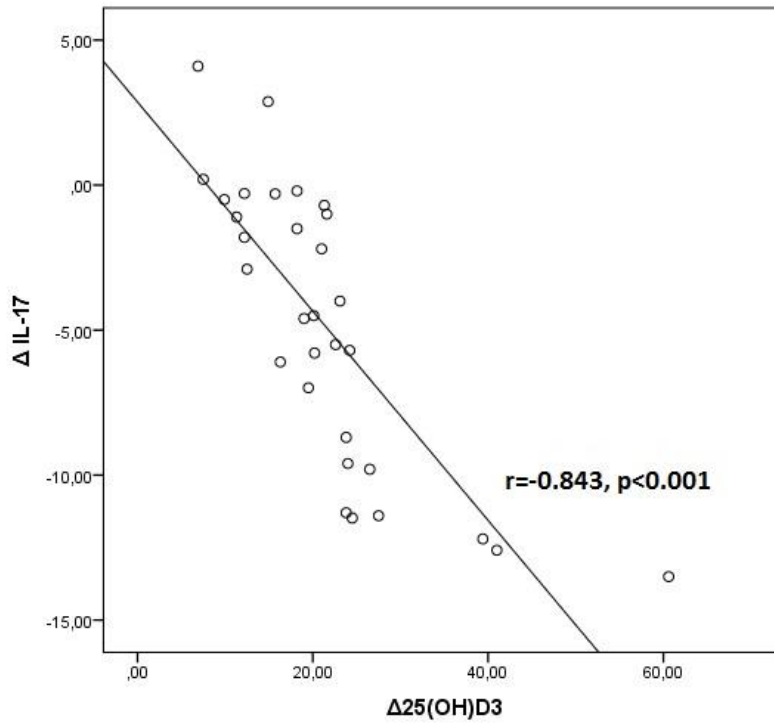
**Tablo 4.20.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-10 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	r	p
<b>ΔIL-10</b>		
Δ25(OH)D	0.688	<0.001*
ΔTotal kolesterol	-0.086	0.646
ΔLDL	0.198	0.285
ΔHDL	-0.116	0.535
ΔTrigliserit	0.252	0.172
ΔAçlık kan şekeri	0.066	0.724
ΔTSH	-0.078	0.676
ΔBUN	-0.032	0.762
ΔAlbumin	0.407	0.023*
ΔKreatinin	-0.101	0.588
ΔKalsiyum	0.007	0.970
ΔFosfor	0.370	0.041*
Δ Beyaz küre sayısı	0.052	0.781
ΔFMD	0.645	<0.001*
ΔkİMK	-0.169	0.363
Δ IL-13	0.502	0.004*
Δ IL-17	-0.578	0.001
ΔIFN $\gamma$	-0.178	0.337
Δ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.573	0.001*
Δ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.554	0.001*

BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



**Şekil 4.28.** IL-13 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.



**Şekil 4.29.** IL-17 düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.

**Tablo 4.21.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-13 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	<i>r</i>	<b>p</b>
<b>ΔIL-13</b>		
Δ25(OH)D	0.525	0.002*
ΔTotal kolesterol	-0.097	0.603
ΔLDL	-0.030	0.873
ΔHDL	-0.051	0.787
ΔTrigliserit	0.112	0.550
ΔAçlık kan şekeri	-0.097	0.607
ΔTSH	-0.203	0.274
ΔBUN	0.203	0.273
ΔAlbumin	0.060	0.748
ΔKreatinin	-0.094	0.616
ΔKalsiyum	-0.020	0.916
ΔFosfor	0.361	0.046*
Δ Beyaz küre sayısı	0.027	0.884
ΔFMD	0.485	0.006*
ΔkİMK	-0.105	0.573
Δ IL-10	0.502	0.004*
Δ IL-17	-0.479	0.006*
ΔIFN $\gamma$	-0.127	0.497
Δ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.429	0.016*
Δ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.424	0.017*

BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



**Tablo 4.22.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IL-17 düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

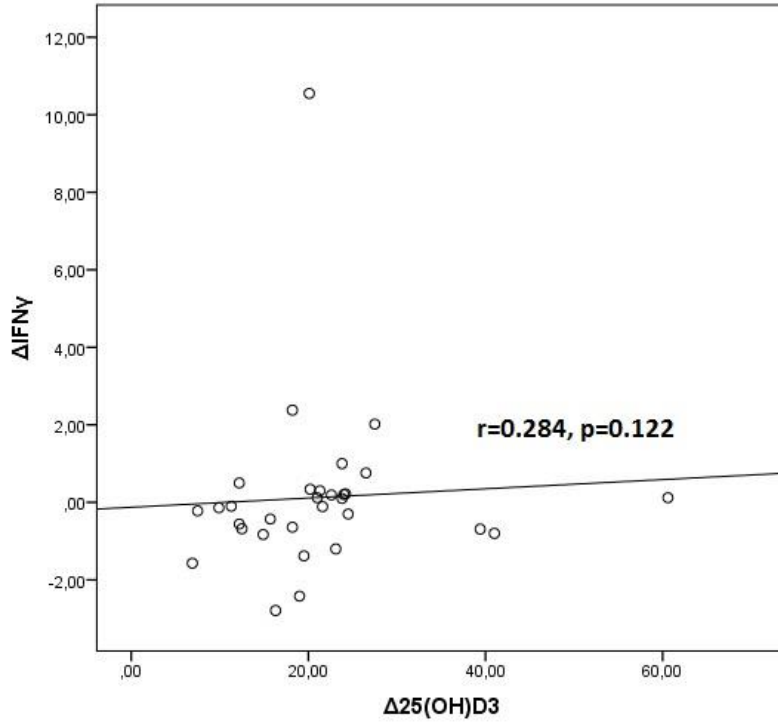
Değişken	R	P
<b>ΔIL-17</b>		
Δ25(OH)D	-0.843	<0.001*
ΔTotal kolesterol	-0.134	0.471
ΔLDL	-0.189	0.309
ΔHDL	-0.214	0.247
ΔTrigliserit	-0.252	0.171
ΔAçlık kan şekeri	-0.013	0.946
ΔTSH	0.058	0.755
ΔBUN	-0.054	0.773
ΔAlbumin	-0.267	0.146
ΔKreatinin	-0.003	0.986
ΔKalsiyum	0.042	0.824
ΔFosfor	-0.350	0.053
Δ Beyaz küre sayısı	-0.154	0.409
ΔFMD	-0.793	<0.001*
ΔkİMK	0.270	0.142
Δ IL-10	-0.578	0.001*
Δ IL-13	-0.479	0.006*
ΔIFN $\gamma$	0.140	0.451
Δ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	-0.772	<0.001*
Δ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	-0.639	<0.001*

BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.

**Tablo 4.23.** Hasta grubunda tedavi sonrası oluşan IFN $\gamma$  düzeyindeki değişiminin bazal özelliklerdeki değişimle korelasyonu.

Değişken	R	P
$\Delta$ IFN $\gamma$		
$\Delta$ 25(OH)D	0.284	0.122
$\Delta$ Total kolesterol	-0.006	0.975
$\Delta$ LDL	0.076	0.684
$\Delta$ HDL	-0.142	0.446
$\Delta$ Trigliserit	-0.080	0.671
$\Delta$ Açlık kan şekeri	0.280	0.126
$\Delta$ TSH	0.031	0.867
$\Delta$ BUN	-0.248	0.179
$\Delta$ Albumin	0.222	0.229
$\Delta$ Kreatinin	-0.005	0.981
$\Delta$ Kalsiyum	0.118	0.527
$\Delta$ Fosfor	0.129	0.490
$\Delta$ Beyaz küre sayısı	-0.184	0.323
$\Delta$ FMD	0.290	0.114
$\Delta$ kİMK	0.243	0.169
$\Delta$ IL-10	-0.178	0.337
$\Delta$ IL-13	-0.127	0.497
$\Delta$ IL-17	0.140	0.451
$\Delta$ CD34 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.224	0.226
$\Delta$ CD133 <sup>+</sup> VEGFR2 <sup>+</sup> EPCs	0.021	0.911

BUN, kan üre nitrojeni; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; IFN, interferon; IL, interlökin; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH, tiroid stimüle edici hormon.



**Şekil 4.30.** IFN $\gamma$  düzeylerindeki değişimin 25(OH)D düzeyindeki değişim ile korelasyonu.

## 5. TARTIŞMA

Vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki ilk olarak 1990'lı yılların başında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda 25(OH)D düzeyi düşük olan bireylerde miyokard enfarktüsü sıklığının yüksek olduğunun ortaya çıkarılması sonucunda ileri sürülmüştür (9). Vitamin D düzeyleri ile kardiyovasküler hastalıklar özellikle de koroner arter hastalığı ve akut koroner sendromlar arasındaki ilişki sonraki yıllarda da birçok prospektif çalışmada incelenmiştir (Tablo 5.1). Bu çalışmaların önemli bir kısmında istenmeyen kardiyovasküler olaylar ile düşük 25(OH)D düzeyleri arasında ilişki saptanmıştır. Karakaş ve arkadaşlarının yaptığı, 35-74 yaş arası 964 erkek ve 869 kadının 11 yıl takip edildiği çalışmada 25(OH)D düzeylerinin özellikle kadınlarda geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak akut koroner sendrom riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (194).

Vitamin D eksikliği günümüzde dünyanın her bölgesinde oldukça sık karşılaşılan ve dünya nüfusunun yaklaşık yarısını etkileyen bir pandemi haline gelmiştir (6). Vitamin D eksikliği Türkiye'nin de içinde bulunduğu coğrafyada geleneksel giyinme alışkanlıkları nedeniyle özellikle genç kadınlarda çok sık görülmektedir. 2009 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'de üreme çağındaki kadınlarda vitamin D eksikliği sıklığı %54.3, şiddetli vitamin D eksikliği sıklığı ise %27 olarak saptanmıştır (9). Bu kadınlarda menopoz öncesi dönemdeki vitamin D eksikliğinin, menopoz sonrası kardiyovasküler olay riski açısından yaratacağı etki bilinmemektedir. Menopoz öncesi dönemde kadınlarda klinik olarak bulgu veren aterosklerotik damar hastalığı nadir olduğu için; bu riskin saptanabilmesi ancak subklinik ateroskleroz belirteçleri olan karotis arter intima media kalınlığı ve endotel fonksiyonlarının ölçülmesi aracılığıyla mümkün olabilir. Bu nedenle bu çalışmada, kardiyovasküler hastalıklar için tanımlanmış geleneksel risk faktörlerinin bulunmadığı, sağlıklı, menopoz öncesi kadınlarda vitamin D eksikliğinin ve replasman tedavisinin karotis arter intima media kalınlığı ve endotel fonksiyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bunlara ek olarak, bu değişkenler üzerinde etkili olması muhtemel endotel progenitör hücre sayıları, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin düzeyleri de araştırılmıştır.

**Tablo 5.1.** Vitamin D eksikliği olan hastalarda kardiyovasküler hastalık riskini değerlendiren önemli prospektif toplum bazlı çalışmalar.

Yazar	Toplam (vakalar), n	Ortalama yaş, yıl	Takip süresi, yıl	Cinsiyet (Erkek, %)	Sonlanım tipi	Rölatif risk (%95 CI) 25(OH)D düzeylerine göre (dağılım ya da median) ng/mL
Giovanucci ve ark. <sup>121</sup>	1354 (454)	63.8	10	100	Fatal KKH ve fatal olmayan MI	≥30 1.00 22.6- 29.9 1.60 (1.1-2.32) 15.1- 22.5 1.43 (0.96-2.13) ≤15 2.09 (1.24- 3.54)
Wang ve ark. <sup>11</sup>	1739 (120)	59	7.6 (maks.), 5.4 (ort.)	45	Kardiyovasküler olay (MI, inme, anjina, TIA, periferik klodikasyon)	≥15 1.00 <15 1.59 (1.03-2.45) <10 1.81 (1.03-3.18)
Dobnig ve ark. <sup>195</sup>	3217 (463)	62	7.7 (medyan)	70	Fatal kardiyovasküler olaylar	Q4: 28.4 1.00 Q3: 18.9 1.4 (0.9-2.1) Q2: 13.3 1.82 (1.29-2.58) Q1: 7.6 2.22 (1.57-3.13)
Melamed ve ark. <sup>196</sup>	13331 (777)	44.8	8.7 (medyan)	45	Fatal kardiyovasküler olaylar	Q4: >32.1 1.00 Q3: 24.4-32.1 0.83 (0.65-1.07) Q2: 17.8-24.3 0.88 (0.69-1.14) Q1: <17.8 1.2 (0.87-1.64)

Zhao ve ark. <sup>197</sup>	2609 (68)	57.5	3.7 (ortalama)	49	Fatal kardiyovasküler olaylar	Q4: >29 Q3: 23-28 Q2: 17-22 Q1: <17	1.00 2.33 (0.88-6.12) 2.42 (0.85-6.9) 3.2 (1.14-8.99)
Semba ve ark. <sup>198</sup>	1006 (107)	74 (medyan) ≥65	6.5	75	Fatal kardiyovasküler olaylar	Q4: >25.6 Q3: 16.1-25.6 Q2: 10.5-16 Q1: <10.5	1.00 2.19 (1.05-4.6) 1.68 (0.76-3.62) 2.64 (1.14-4.79)
De Boer ve ark. <sup>199</sup>	647 (135)	45-84 (dağılım)	3 (medyan)	37	Koroner arter kalsifikasyonu	≥15 <15	1.00 1.38 (0.95-1.99)
Karakas ve ark. <sup>194</sup>	964 (225)  819 (73)	35-74  35-74	11	100  0	Fatal ve fatal olmayan MI, SCD	T1: 10.81 T2: 17.42 T3: 26.80  T1: 10.57 T2: 15.86 T3: 23.43	1.00 0.66 (0.43-1.02) 0.84 (0.52-1.35)  1.00 0.67 (0.35-1.29) 0.42 (0.19-0.93)

KKH, koroner kalp hastalığı; MI, myokard enfarktüsü; SCD, ani kardiyak ölüm; TIA, geçici iskemik atak.

Subklinik aterosklerozun değerlendirilebilmesi amacıyla en sık kullanılan yöntemlerin başında ultrasonografik karotis arter intima media kalınlığı (kİMK) ölçümü gelmektedir. Bilinen kardiyovasküler hastalığı olmayan bireylerde kİMK değerinin 0.9 mm ve üzerinde olmasının anormal olduğu ve kİMK artışının akut koroner sendrom riski ile doğrusal bir ilişki gösterdiği bildirilmiştir (60). Bizim çalışmamızda kontrol ve hasta gruplarında incelenen bireylerin kİMK değerleri normal sınırlarda saptanmıştır. Her iki gruptaki bireylerin de genç olması ve geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunmaması bu sonucun en önemli nedenleri olarak görünmektedir. Hasta ve kontrol gruplarının kİMK değerleri karşılaştırıldığında da iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bunlara ek olarak hasta grubunda 6 aylık vitamin d replasmanı sonrasında da kİMK değerlerinde anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir. Bugüne kadar yayımlanmış olan çalışmalar incelendiğinde; bazı çalışmalarda 25(OH)D düzeyleri ve kİMK değerleri arasında bir ilişki olduğu bildirilmişken; bazılarında böyle bir ilişki gösterilememiştir (Tablo 5.2).

Targher ve arkadaşları 390 tip 2 DM hastasını inceledikleri çalışmada 25(OH)D düzeyinin 15 ng/mL ve altında olmasının kİMK'de artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (200). Reis ve arkadaşları da 654 ileri yaştaki bireyi inceledikleri çalışmada 25(OH)D düzeyleri ile kİMK arasında zıt bir ilişki olduğunu saptamıştır (201). Bu iki çalışmaya ek olarak yaşları 50-93 arasında değişen 203 bireyin incelendiği The Northern Manhattan çalışmasında da düşük 25(OH)D düzeylerinin kİMK'de artışla ilişkili olduğu bildirilmiştir (202).

Bilinen kardiyovasküler hastalığı bulunmayan 3,251 katılımcının 9.4 yıl boyunca takip edildiği Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis çalışmasında ise ne kesitsel ne de prospektif analizlerde 25(OH)D düzeyleri ile kİMK arasında bir ilişki gösterilememiştir (203). Benzer şekilde, Sachs ve arkadaşlarının 1,193 tip 1 DM hastasını inceledikleri çalışmada da 25(OH)D düzeyleri ile kİMK arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (204). Bunlara ek olarak, Deleskog ve arkadaşlarının bilinen kardiyovasküler hastalığı olmayan; ancak kardiyovasküler hastalıklar açısından yüksek risk grubunda yer alan 3,430 bireyi inceledikleri çalışmada da 25(OH)D düzeyleri ile kİMK arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (205). Bizim çalışmamızda da 25(OH)D düzeyleri ve 6 aylık vitamin D replasmanı ile kİMK

değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmaması, son dönemde yapılan ve geniş katılımlı bu çalışmaların sonuçları ile uyumlu görünmektedir.

Ateroskleroz gelişiminde en erken ve önemli basamaklardan birisi endotel fonksiyonlarının bozulmasıdır (154). Endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla en yaygın olarak kullanılan yöntemlerin başında ultrasonografik olarak akım aracılı dilatasyonun ölçülmesi (FMD) gelmektedir (16). Bizim çalışmamızda da vitamin D eksikliğinin ve vitamin D replasman tedavisinin endotel fonksiyonları üzerindeki etkisinin incelenmesi amacıyla brakial arter FMD yöntemi kullanılmıştır. Vitamin D eksikliği bulunan hasta grubunun FMD değerleri, normal vitamin D düzeylerine sahip kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Bugüne kadar farklı hasta gruplarında 25(OH)D düzeyleri ile endotel fonksiyonları arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır (Tablo 5.3).

Tarçın ve arkadaşları 46 genç ve sağlıklı erişkini inceledikleri çalışmada, vitamin D eksikliği olan grupta FMD düzeyinin anlamlı şekilde düşük olduğunu ve 25(OH)D düzeyleri ile FMD değeri arasında pozitif korelasyon bulunduğunu bildirmiştir (167). Al Mheid ve arkadaşları da 20-79 yaş arası 554 yetişkini inceledikleri çalışma sonucunda 25(OH)D düzeyinin FMD değerinin bağımsız bir öngörücüsü olduğunu saptamıştır (208). Jablonski ve arkadaşları ise 75 orta ve ileri yaşlı erişkini inceledikleri çalışma sonucunda düşük 25(OH)D düzeyinin endotel fonksiyonlarında bozulmayla ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin kısmen NF- $\kappa$ B aracılı inflamasyon kaynaklı olduğunu bildirmiştir (166). Yiu ve arkadaşlarının 280 tip 2 DM hastasını inceledikleri çalışmada düşük 25(OH)D düzeylerinin FMD değerinde ve CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitor hücre sayısında azalma ile ilişkili olduğu görülmüştür (209). Chitalia ve arkadaşlarının 50 kronik böbrek yetmezlikli hastada endotel fonksiyonlarını değerlendirdikleri çalışmada 25(OH)D düzeyleri ile FMD değeri arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (210). Gepner ve arkadaşlarının 114 menopoz sonrası kadını inceledikleri çalışmada da diğer çalışmalara benzer şekilde düşük 25(OH)D düzeyleri düşük FMD değerleri ile ilişkili olarak bulunmuştur (211). Farklı özelliklerde ve sayılarda hastanın dahil edildiği ve 25(OH)D düzeylerinin endotel fonksiyonları ile ilişkisini inceleyen çalışmaların büyük çoğunluğunda bizim çalışmamıza benzer şekilde düşük 25(OH)D seviyelerinin endotel fonksiyonlarında azalma ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur.



**Tablo 5.2.** 25(OH)D düzeyleri ile kİMK ilişkisini inceleyen önemli toplum bazlı çalışmalar.

Yazar	Çalışma tasarımı	Hasta sayısı	Hasta grubu	Takip süresi	Sonlanım	Sonuç
Blondon ve ark. <sup>203</sup>	Kesitsel Prospektif	3251	Kardiyovasküler hastalık tanısı almamış; ortalama yaş: 60.4 yıl olan, çoklu etnik kökenli bireyler	9.4 (8-11.1) yıl	kİMK ve karotis yerleşimli plak	25(OH)D <sub>3</sub> ve iPTH düzeyleri; artmış bazal kİMK ve ya yeni gelişen karotis yerleşimli plaklar ile ilişkili değildir.
Carrelli ve ark. <sup>202</sup>	Kesitsel	203	50-93 yaş arası yetişkinler	-	kİMK; plak varlığı, sayısı, maksimal plak kalınlığı.	Düşük 25(OH)D <sub>3</sub> düzeyi artmış kİMK ve plağı olanlarda maksimal plak kalınlığı ile ilişkilidir.
Deleskog ve ark. <sup>205</sup>	Prospektif	3430	Bilinen KVH olmayan; ancak KVH açısından yüksek risk grubundaki bireyler	30 ay	kİMK	25(OH)D <sub>3</sub> düzeyi, bazal kİMK ve kİMK'de artışla ilişkili değildir.
Knox ve ark. <sup>206</sup>	Kesitsel	625	35-64 yaşları arasında, sosyo-ekonomik durum bakımından kötü durumdaki bireyler	-	kİMK ve karotis yerleşimli plak varlığı	25(OH)D <sub>3</sub> düzeyi, kİMK ve karotis yerleşimli plak varlığı ile ilişkili bulunmamıştır.

Luijgaarden ve ark. <sup>207</sup>	Kesitsel	490	Semptomatik PAH ya da aortik anevrizması olan bireyler	-	kİMK	Düşük 25(OH)D <sub>3</sub> düzeyi, artmış kİMK ile ilişkilidir.
Reis ve ark. <sup>201</sup>	Kesitsel	654	KVH öyküsü olmayan 55-96 yaş arası bireyler	-	kİMK	Internal kİMK, diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak, 25(OH)D <sub>3</sub> düzeyleri ile zıt ilişkilidir.
Targher ve ark. <sup>200</sup>	Kesitsel	390	Ortalama yaşı 58±7 yıl olan, tip 2 DM hastaları	-	kİMK	25(OH)D <sub>3</sub> düzeyi ≤15 ng/mL olan hastalarda kİMK anlamlı biçimde yüksek saptanmıştır.

DM, diabetes mellitus; kİMK, karotis arter intima media kalınlığı; KVH, kardiyovasküler hastalık; iPTH, intakt paratiroid hormonu; PAH, periferik arter hastalığı.

Çalışmamızda vitamin D eksikliği bulunan hasta grubuna 6 ay süreyle Endocrine Society kılavuzlarının önerilerine uygun olarak vitamin D replasmanı yapılmıştır. 6 aylık replasman sonrası hastaların 25(OH)D düzeylerinde anlamlı bir yükselme izlenmiştir. Replasman sonrası yapılan ölçümlerde FMD değerlerinin de bazal ölçümlere göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. FMD değerindeki değişimin korele olduğu değişkenler incelendiğinde ise; değişimin 25(OH)D, fosfor, IL-13, IL-10, CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> ve CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle pozitif korelasyon gösterdiği, IL-17 düzeyindeki değişimle de negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Çoklu doğrusal regresyon analizi sonucunda ise 25(OH)D ve IL-17 düzeylerindeki değişimin, FMD değerlerindeki değişimin bağımsız öngörücüleri olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, vitamin D eksikliği bulunan menopoz öncesi sağlıklı kadınlarda vitamin D replasmanı sonrası 25(OH)D düzeylerinde görülen yükselmenin, inflamatuvar aktivitede ve endotel progenitör hücre sayılarında meydana gelen değişiklikler aracılığıyla endotel fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediğini düşündürmüştür.

Vitamin D replasmanının endotel fonksiyonları üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (Tablo 5.4). Tarçın ve arkadaşları, vitamin D eksikliği bulunan 23 genç ve sağlıklı bireyde 3 aylık vitamin D replasmanının endotel fonksiyonlarını belirgin biçimde iyileştirdiğini ve oksidatif stresteki azalmanın bu etkide önemli olduğunu göstermiştir (167). Harris ve arkadaşları da 57 aşırı kilolu Afrikalı Amerikalı inceledikleri çalışmada, 16 haftalık vitamin D replasman tedavisinin FMD değerinde anlamlı bir artış sağladığını bildirmiştir (168). Chitalia ve arkadaşlarının 26 kronik böbrek hastasını inceledikleri çalışmada da 16 haftalık vitamin D replasman tedavisinin endotel fonksiyonlarında iyileşme sağladığı gösterilmiştir (212). Witham ve arkadaşlarının inme öyküsü olan 58 hastayı tek doz 100,000 IU oral vitamin D<sub>2</sub> ve plasebo gruplarına ayırarak 16 hafta süreyle takip ettikleri çalışma sonucunda, vitamin D replasmanı yapılan grupta 8. haftada yapılan FMD ölçümlerinin plasebo grubuna göre anlamlı biçimde yüksek olduğu; ancak 16. haftada bu farkın ortadan kalktığı bildirilmiştir (213).

Bu çalışmaların aksine, Gepner ve arkadaşları 4 ay boyunca günde 2500 IU vitamin D<sub>3</sub> tedavisi alan menopoz sonrası kadınlarda endotel fonksiyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmiştir (211). Witham ve arkadaşları da 61 tip

2 DM hastasını ve 50 sağlıklı orta yaş grubunda Güney Asyalı kadını inceledikleri iki ayrı çalışmada tek doz 100,000 IU vitamin D<sub>3</sub> uygulaması sonrası endotel fonksiyonlarında belirgin bir değişiklik olmadığını göstermiştir (218, 219). Yiu ve arkadaşları da 100 tip 2 DM hastasında 12 hafta süreyle günde 5000 IU vitamin D<sub>3</sub> replasmanının endotel fonksiyonlarını ve endotel progenitör hücre sayılarını etkilemediğini bildirmiştir (220).

**Tablo 5.3.** 25(OH)D düzeyleri ile FMD ilişkisini inceleyen önemli toplum bazlı çalışmalar.

Yazar	Çalışma tasarımı	Hasta sayısı	Hasta grubu	Takip süresi	Sonlanım	Sonuç
Al Mheid ve ark. <sup>208</sup>	Prospektif	554	20-79 yaş arası sağlıklı bireyler	6 ay	FMD	25(OH)D düzeyi, KAH risk faktörlerinden bağımsız olarak FMD ile ilişkili bulunmuştur.
Chitalia ve ark. <sup>210</sup>	Kesitsel	50	Diyalize girmeyen KBH hastaları	-	FMD	Azalmış 25(OH)D düzeyleri, azalmış FMD ile ilişkili bulunmuştur
Gepner ve ark. <sup>211</sup>	Prospektif	114	Menopoz sonrası kadınlar	4 ay	FMD	Düşük vitamin D düzeyinin (<30 ng/mL), azalmış FMD ile ilişkili olduğu saptanmıştır
Jablonksi ve ark. <sup>166</sup>	Kesitsel	75	Bilinen klinik hastalığı olmayan 50-79 yaş aralığındaki erkekler ve menopoz sonrası kadınlar	-	FMD, vasküler endotelial hücrelerde eksprese edilen NF-κB ve IL-6 düzeyleri ile belirlenen vasküler inflamasyon	FMD, serum 25(OH)D ile pozitif ilişki göstermiş; ancak 1,25(OH) <sub>2</sub> D ile göstermemiştir Vitamin D eksikliği olan bireylerde NF-κB ve IL-6 ekspresyonu daha yüksek saptanmıştır.

Oz ve ark. <sup>214</sup>	Kesitsel	222	KAH şüphesi ile koroner anjiyografi yapılan ve ciddi lezyon saptanmayan bireyler	-	FMD	Vitamin D yetersizliğinin FMD ile bağımsız olarak ilişkisi olduğu gösterilmiştir.
Pacifico ve ark. <sup>215</sup>	Kesitsel	452	452 çocuk ve adolesan.	-	FMD	25(OH)D düzeyi ile FMD arasında ilişki saptanmamıştır.
Tarcin ve ark. <sup>167</sup>	Prospektif	23	Bilinen sistemik hastalık tanısı olmayan sağlıklı asemptomatik vitamin D eksikliği olan bireyler [25(OH)D<25 nmol/L]	3 ay	FMD	25(OH)D eksikliği olan bireylerde bazal FMD ölçümleri daha düşük saptanmıştır.
Yiu ve ark. <sup>209</sup>	Kesitsel	280	Tip 2 DM tanısı almış, yaş ortalaması 68±10 yıl olan bireyler	-	FMD, dolaşımdaki endotel progenitör hücre sayısı	Vitamin D eksikliği olan bireylerde FMD düzeyi ve CD133 <sup>+</sup> VEGFR <sup>+</sup> EPC sayısı, KAH risk faktörlerinden bağımsız olarak daha düşük saptanmıştır.

DM, diabetes mellitus; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; IL, interlökin; KAH, koroner arter hastalığı; KBH, kronik böbrek hastalığı.

**Tablo 5.4.** Vitamin D replasman tedavisi ile FMD ilişkisini inceleyen önemli prospektif çalışmalar.

Yazar	Çalışma tasarımı	Hasta sayısı	Hasta grubu	Takip süresi	Sonlanım	Sonuç
Chitalia ve ark. <sup>212</sup>	Prospektif	26	Yaş ortalaması 50±14 yıl olan; evre 3/4 KBH'lı, diyabet tanısı olmayan ve serum 25(OH)D düzeyi <30 ng/mL olan bireyler	4 ay	FMD, E-Selektin, ICAM-1, VCAM-1	Başlangıç ve 8. haftada verilen oral 300.000 IU kolekalsiferol sonrası, FMD ölçümünde yükselme ve E-Selektin, ICAM-1, VCAM-1 düzeylerinde azalma.
Gepner ve ark. <sup>211</sup>	Prospektif	114	Yaş ortalaması 63.9±3.0 yıl olan, serum 25(OH)D düzeyi: 10-60 ng/mL olan postmenopozal kadınlar	4 ay	FMD	Her gün 2500 IU vitamin D3 verilen grupta, tedavi sonrası FMD ölçümünde anlamlı değişiklik meydana gelmediği görülmüştür.
Harris ve ark. <sup>168</sup>	Prospektif	57	19-50 yaş aralığında, bilinen kardiyovasküler hastalık tanısı olmayan Afrikalı Amerikalı bireyler	4 ay	FMD	16 hafta boyunca aylık 60.000 IU oral vitamin D3 tedavisi sonrası, tedavi alan grupta FMD ölçümünde iyileşme saptanmıştır.

Longenecker ve ark. <sup>216</sup>	Prospektif	45	Stabil antiretroviral tedavi altındaki, bazal serum 25(OH)D düzeyi $\leq 20$ ng/mL olan HIV+ hastalar	3 ay	FMD	3 ay boyunca günlük 4000 IU vitamin D3 verilmesini takiben FMD'de anlamlı değişiklik saptanmamıştır.
Sugden ve ark. <sup>217</sup>	Prospektif	34	Tip 2 DM tanılı ve bazal 25(OH)D düzeyi $< 20$ ng/mL olan bireyler	2 ay	FMD	Tek sefer verilen 100.000 IU vitamin D2 sonrası, FMD'de düzelme meydana gelmiştir.
Tarcin ve ark. <sup>167</sup>	Prospektif	23	Bilinen sistemik hastalık tanısı olmayan sağlıklı asemptomatik vitamin D eksikliği olan bireyler (25OHD $< 25$ nmol/L)	3 ay	FMD	3 ay boyunca aylık 300.000 IU IM vitamin D3 replasman tedavisi sonrası FMD değerlerinde düzelme görülmüştür.
Witham ve ark. <sup>218</sup>	Prospektif	61	Tip 2 DM tanılı, 25(OH)D düzeyi $< 40$ ng/mL olan bireyler	4 ay	FMD	Tek doz 100.000 veya 200.000 IU IM vitamin D3 uygulanması sonrası 8. veya 16. haftalarda endotel fonksiyonlarında değişim gözlenmemiştir.



Witham ve ark. <sup>213</sup>	Prospektif	58	İnme öyküsü ve bazal 25(OH)D düzeyi <30 ng/mL olan bireyler	4 ay	FMD	100.000 IU oral vitamin D2 verilmesini takiben FMD değerleri 8. haftada yüksek olmasına rağmen, 16. haftada bazale göre farklılık saptanmamıştır.
Witham ve ark. <sup>219</sup>	Prospektif	50	Serum 25(OH)D düzeyi <30 ng/mL, bilinen semptomatik kardiyovasküler hastalığı olmayan, en az 10 senedir Birleşik Krallık'ta yaşayan Güney Asyalı kadınlar	2 ay	FMD, dolaşımdaki inflamasyon belirteçleri	Tek doz 100.000 IU oral vitamin D3 tedavisi sonrası FMD'de 4. veya 8. haftada anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. inflamasyon belirteçlerinde de anlamlı farklılık gözlenmemiştir.
Yiu ve ark. <sup>220</sup>	Prospektif	100	Tip 2 DM tanısı almış, serum 25(OH)D düzeyi <30 ng/mL, yaş ortalaması 65±8 yıl olan bireyler	3 ay	FMD, dolaşımdaki endotel progenitör hücre sayısı	5000 IU/gün vitamin D3 tedavisi sonrası FMD ve dolaşımdaki EPC sayısı üzerinde herhangi bir etki görülmemiştir.

DM, diabetes mellitus; EPC, endotel progenitör hücre; FMD, akım aracılı dilatasyon; KBH, kronik böbrek hastalığı.

Bizim çalışmamızda vitamin D replasmanı, vitamin D eksikliği bulunan hastaların endotel fonksiyonlarında belirgin bir düzelme ile ilişkili olarak bulunmuştur. Daha önce yapılmış çalışmalar arasında yaş ve genel sağlık durumu açısından bizim hasta grubumuza en benzer hasta grubuna sahip olan Tarçın ve arkadaşlarının çalışmasında da vitamin D replasmanının endotel fonksiyonları üzerindeki olumlu etkileri bildirilmiştir (167). Bunun dışında kalan ve vitamin D replasmanının endotel fonksiyonları üzerinde herhangi bir etkisinin gösterilemediği çalışmalar incelenecek olursa; bu çalışmaların hasta grupları ve vitamin D replasman protokollerinde önemli farklılıklar göze çarpmaktadır. Witham ve arkadaşlarının sağlıklı Güney Asyalı kadınlarda vitamin D replasmanının endotel fonksiyonlarını etkilemediğini öne sürdükleri çalışmada hastalara tek doz 100,000 IU vitamin D<sub>3</sub> çalışma başlangıcında verilerek, endotel fonksiyonları 4. ve 8. haftalarda değerlendirilmiştir (219). Güncel vitamin D kılavuzlarında bu şekilde bir uygulama vitamin D eksikliğin tedavisi için ön planda önerilmemekte; ancak bakım evlerinde kalan hastalar için uygulanabilecek alternatif bir yöntem olarak belirtilmektedir (92). Yine Witham ve arkadaşlarının yaptığı; tip 2 DM hastalarında vitamin D replasmanının endotel fonksiyonlarına etkisinin araştırıldığı çalışmada, vitamin D replasmanı verilen hastaların yaklaşık %90'ının statin ve/veya renin-angiotensin-aldosteron sistem (RAAS) blokajı yapan bir ilaç kullandığı görülmektedir (218). Vitamin D'nin endotel fonksiyonları üzerindeki etkilerinin önemli bir kısmı nitrik oksit oluşumunu arttırıcı, anti-inflamatuvar ve oksidatif stresi baskılayıcı özelliklerinden kaynaklanmaktadır (156, 157). Statinlerin ve RAAS blokörlerinin de vitamin D ile benzer mekanizmalar aracılığıyla endotel fonksiyonları üzerine etkili oldukları bilinmektedir (221, 222). Bununla birlikte, Ott ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada vitamin D eksikliğin renal vasküler yatakta endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğunu ve bu disfonksiyonun 6 haftalık rosuvastatin tedavisi ile düzeldiğini göstermiştir (223). Bu nedenlerle, halihazırda bu iki ilaç grubundan birisini ya da her ikisini kullanan hastalarda vitamin D replasmanının bu ilaçlara ek bir etkisini görmek zorlaşmaktadır. Yüksek riskli ve ya bilinen aterosklerotik hastalığı olan hastaların incelendiği birçok çalışmada benzer bir sorun söz konusudur ve vitamin D replasmanı etkisiz olarak değerlendirilebilmektedir. Sonuç olarak; vitamin D replasmanının endotel fonksiyonları üzerindeki direkt etkisi bizim çalışmamızda

olduğu gibi birincil korunma kapsamında ele alındığında daha açık şekilde ortaya konulabilecektir.

Çalışmamızda hem CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> hem de CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarının vitamin D eksikliği bulunan hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür. 6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında hem CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> hem de CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayıları belirgin biçimde yükselmiştir. Endotel progenitör hücre sayılarındaki değişim 25(OH)D düzeyleri dışında IL-10 ve IL-13 düzeylerindeki değişimle pozitif, IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon göstermiştir. Endotel progenitör hücre sayısının 25(OH)D düzeyleri ile ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Mikirova ve arkadaşları 41 sağlıklı erişkini inceledikleri çalışmada 25(OH)D düzeyleri ile CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayıları arasında pozitif bir ilişki saptamışlardır (224). Yiu ve arkadaşları ise 280 tip 2 DM hastasını inceledikleri çalışmada vitamin D eksikliği olan hastalarda CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayılarının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (209). Cinaciolo ve arkadaşları ise diyaliz hastalarında yaptıkları çalışmada endotel progenitör hücrelerin VDR eksprese ettiklerini ve bu ekspresyonun ortamdaki inflamatuvar faktörlere bağlı olarak değişebildiğini göstermiştir (225). Grundmann ve arkadaşları ise vitamin D'nin endotel progenitör hücrelerin anjiyogenetik özelliklerini arttırdığını öne sürmüştür (226). Vitamin D replasmanının endotel progenitör hücre sayıları üzerindeki etkisini inceleyen tek çalışmada ise Yiu ve arkadaşları tip 2 DM hastalarında 12 hafta süreyle yapılan 5000 IU/gün vitamin D<sub>3</sub> replasmanının endotel progenitör hücre sayılarını etkilemediğini bildirmiştir (220). Bu çalışmaya alınan hasta grubu dikkatli incelendiğinde hastaların yaklaşık %70'inin endotel progenitör hücre sayı ve fonksiyonunu etkilediği bilinen statin ve/veya RAAS bloke edici ilaç kullandığı görülmektedir (227). Bu nedenle vitamin D replasmanının endotel progenitör hücre sayısı üzerine olası bir etkisinin bu ilaçlar nedeniyle maskelenmesi olası görünmektedir. Bizim çalışmamız endotel progenitör hücre sayılarını etkileyebilecek bir kardiyovasküler risk faktörüne ya da ilaç kullanım öyküsüne sahip olmayan sağlıklı bir toplulukta vitamin D replasmanının endotel progenitör hücre sayısı üzerine etkilerinin araştıran ilk çalışmadır.

Çalışmamızın ilginç sonuçlarından birisi de vitamin D replasmanı sonrası sitokin düzeylerinde meydana gelen değişikliklerin endotel fonksiyonları ve endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle anlamlı bir korelasyon göstermesidir. Vitamin D eksikliği bulunan hasta grubunda IL-10 düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük; IL-17 düzeyi ise daha yüksek olarak bulunmuştur. IL-13 ve IFN $\gamma$  düzeyleri arasında iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 6 aylık vitamin D replasmanı sonrasında 25(OH)D düzeylerindeki değişimle korele olarak IL-10 ve IL-13 düzeylerinde artış; IL-17 düzeyinde ise düşüş görülmüştür. IL-10, IL-13 ve IL-17 düzeylerindeki bu değişikliklerin endotel fonksiyonları ve endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle korele olduğu; IL-17 düzeyindeki değişimin de FMD değerlerindeki ve CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücre sayısındaki değişimin bağımsız öngörücüsü olduğu belirlenmiştir.

IL-10'un esas kaynağı monositler olmakla birlikte; Th2 ve Treg gibi T hücre alt tipleri ve birçok farklı hücre de IL-10 üretebilmektedir (228). IL-10; dendritik hücreler ve makrofajlarca antijen sunumunu inhibe ederek Th1 hücre aktivasyonunu baskılayan anti-inflamatuvar özelliklere sahip bir sitokindir (228). Daha önce yapılan çalışmalarda vitamin D analoglarının dendritik hücrelerde ve T lenfositlerde IL-10 ekspresyonunu arttırdığı ve vitamin D replasmanının in vivo olarak serum IL-10 düzeyini yükselttiği gösterilmiştir (229, 230). Bunlara ek olarak; vitamin D ve ateroskleroz ilişkisini inceleyen başka bir çalışmada; vitamin D replasmanının IL-10'un önemli kaynaklarından birisi olan Treg hücre aktivitesini belirgin şekilde artırarak aterosklerotik plaklarda gerileme sağladığı da bildirilmiştir (184). Çalışmamızda vitamin D replasmanı sonrası IL-10 düzeylerindeki artış, endotel fonksiyonlarında iyileşme ve endotel progenitör hücre sayılarında artışla da korele olarak bulunmuştur. Gunnett ve arkadaşları in vitro olarak IL-10'un akut inflamatuvar uyarım sonrası endotelde reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu sınırladığını ve endotel fonksiyonlarının korunmasını sağladığını bildirmiştir (231). Fichtlscherer ve arkadaşları da koroner arter hastalığı olan bireylerde yüksek serum IL-10 düzeylerinin daha iyi endotel fonksiyonları ile ilişkili olduğunu saptamıştır (232). Yapılan diğer çalışmalarda da IL-10'un anjiyotensin-II, endotelin-I ve yaşlanmaya bağlı endotel fonksiyon bozukluklarından korunma sağladığı; bu etkiden de kısmen NADPH oksidaz aktivitesini baskımlarken, eNOS aktivitesini normale

döndürmesinin sorumlu olduğu belirtilmiştir (233, 234, 235). Krishnamurthy ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada IL-10 knock out farelerde miyokard enfarktüsü sonrası kemik iliğinden endotel progenitör hücre mobilizasyonunun belirgin şekilde azaldığını; IL-10'un endotel progenitör hücrelerin sağ kalımını ve fonksiyonelliğini arttırdığını göstermişlerdir (236). Bu çalışmadan elde edilen veriler; bizim çalışmamızda vitamin D replasmanı sonrası IL-10 düzeyinde görülen artışın, kemik iliğinden artmış endotel progenitör hücre mobilizasyonunu arttırarak immatür CD133<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücrelerin sayısındaki artışta ve endotel progenitör hücrelerin sağ kalımını uzatarak olgun CD34<sup>+</sup>VEGFR<sup>+</sup> endotel progenitör hücrelerin sayısındaki artışta rol oynuyor olabileceğini göstermektedir.

IL-17'nin esas kaynağı bir T lenfosit alt tipi olan Th17 hücreler olmakla birlikte; makrofajlar ve dendritik hücrelerin de aralarında bulunduğu birçok hücre IL-17 üretebilmektedir (237). Patojenlere karşı vücudun bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynamasının yanısıra; yakın dönemde yapılan çalışmalar, IL-17'nin romatoid artrit, psöriazis ve ateroskleroz gibi inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların gelişiminde de rol oynayan pro-inflamatuvar bir sitokin olduğunu ortaya koymuştur (238, 239). Bizim çalışmamızda vitamin D eksikliği bulunan sağlıklı genç kadınlarda vitamin D replasmanının serum IL-17 düzeylerinde anlamlı bir düşüşe yol açtığı ve bu düşüşün endotel fonksiyonlarındaki ve endotel progenitör hücre sayılarındaki artışla negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Vitamin D ile IL-17 arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmalardan birisi olan Ikeda ve arkadaşlarının çalışmasında da 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin Th17 hücre gelişimini bloke ettiği; ayrıca diğer CD4<sup>+</sup> T lenfositlerde de IL-17 ekspresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (240). Milovanovic ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada vitamin D eksikliği olan kalp yetmezliği hastalarında IL-17 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (241). Sonraki dönemde yapılan çalışmalarda da astım, romatoid artrit, psöriazis ve Behçet hastalığında da serum 25(OH)D düzeylerinin Th17 aktivitesi ve IL-17 düzeyi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (242, 243, 244, 245).

IL-17 endotel fonksiyonları üzerinde negatif etkileri olduğu bilinen IL-6, TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi diğer proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyararak indirekt olarak endotel fonksiyonlarını etkileyebilmektedir (246). Bununla birlikte; Nguyen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IL-17'nin Rho-kinaz aktivitesini arttırıp, eNOS

inhibisyonuna yol açarak endotel fonksiyonlarını direkt olarak negatif yönde etkilediği de gösterilmiştir (247). Marder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise IL-17'nin romatoid artrit hastalarında endotel fonksiyonunun bağımsız öngörücüsü olduğu bildirilmiştir (248). Ranganathan ve arkadaşları da romatoid artrit hastalarını inceledikleri çalışma sonucunda, bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde, D vitamini eksikliğine bağlı olarak artan Th17 aktivitesinin romatoid artrit hastalarında endotel fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğunu saptamıştır (244). IL-17 düzeylerinin endotel progenitör hücre sayıları üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma ise henüz bulunmamaktadır ve bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu konuyla ilgili ilk verilerdir.

Sonuçta tüm bu veriler bir arada ele alındığında; vitamin D eksikliği bulunan sağlıklı genç kadınlarda endotel fonksiyonlarının benzer yaş grubundaki sağlıklı ve normal vitamin D düzeylerine sahip kadınlara göre daha kötü olduğu ve 6 aylık vitamin D replasman tedavisi sonrasında anlamlı şekilde düzeldiği görülmektedir. Vitamin D eksikliği bulunan kadınlarda endotel fonksiyonlarındaki bu göreceli bozulmayı açıklayabilecek nedenler olarak; bu kadınlarda pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinin diğer gruba göre daha yüksek, anti-inflamatuvar sitokin düzeylerinin ve endotel progenitör hücre sayılarının ise daha düşük olması gösterilebilir. 6 aylık vitamin D replasman tedavisi sonrası endotel fonksiyonlarının daha iyi olması ve pozitif yöndeki bu değişimin, pro-inflamatuvar sitokin düzeylerindeki düşüşle birlikte anti-inflamatuvar sitokin düzeylerindeki yükselme ve endotel progenitör hücre sayılarındaki artışla korele olması da yukarıdaki önermeyi doğrular niteliktedir.

## 6.ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Bu çalışmamızda sağlıklı menopoz öncesi kadınlarda vitamin D eksikliğinin ve vitamin D replasman tedavisinin subklinik ateroskleroz belirteçleri olan karotis arter intima media kalınlığı ve endotel fonksiyonları üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmamızla ilgili vurgulanması gereken en önemli kısıtlılık randomize kontrollü bir çalışma olmamasıdır. Buna ek olarak çalışmaya alınan hastaların tek bir merkezden ve üçüncü basamak bir hastaneden elde edilmiş olması, hastalardan elde edilen verilerin tüm topluma genellenmesi açısından olumsuz etki yaratmaktadır. Çalışmada kullanılan akım sitometri ve ELISA kitlerinin sınırlı sayıda olması nedeniyle çalışmaya kabul edilebilen hasta sayısının az olması da çalışmanın önemli bir kısıtlılığıdır ve istatistiksel analizlerin uygulanması noktasında sorun oluşturabilmektedir. Buna karşın, daha önce yapılan benzer çalışmalarda alınan hasta sayılarının da bizim çalışmamız ile yakın olması ve çalışmamızın sonunda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılması nedeniyle hasta sayısı çalışmamız için büyük bir sorun oluşturmamış görünmektedir.

Çalışmanın bir diğer kısıtlılığı da vitamin D replasman tedavisi verilen hasta grubunun önerilen tedaviyi uygun bir şekilde kullanıp kullanmadığının hastalardan alınan anamnezlere dayanılarak belirlenmesidir. Bununla birlikte; 6. ayda ölçülen 25(OH)D düzeylerinde anlamlı yükselme saptanması, hastaların büyük kısmının uygun vitamin D replasmanını aldığı yönünde önemli bir gösterge olarak kabul edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan akım aracılı dilatasyon ve karotis arter intima media kalınlığı ölçümleri, tetkiki yapan operatörün deneyiminden ve tetkikin yapıldığı ortamın çevresel koşullarından ciddi şekilde etkilenmektedir. Bu noktada tüm hastaların tetkikleri bu yöntemlerde deneyimli, hastaların klinik bilgisinden habersiz tek bir operatör tarafından gerçekleştirilmiş ve tetkikler için kılavuzlarca önerilen en uygun çevre koşulları sağlanmaya çalışılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen klinik veriler birbiriyle korelasyonu gösterilen değişkenler arasında bir ilişki olabileceğini öne sürse de kesin bir neden-sonuç ilişkisini ortaya koyamamaktadır. Bu noktada özellikle sitokin ve endotel progenitör hücre sayıları arasındaki ilişkilerin kanıtlanmasını sağlayacak in vitro hücre kültürü

alışmalarının yapılamamış olması, çalışma sonunda kesin neden-sonuç ilişkilerinin kurulamamasına yol açan en önemli kısıtlılıktır.



## 7. SONUÇLAR

1. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınların karotis intima media kalınlıkları, normal vitamin D düzeylerine sahip kadınlardan farklı değildir.
2. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınların endotel fonksiyonları, normal vitamin D düzeylerine sahip kadınlarla karşılaştırıldığında daha kötüdür.
3. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınların serum IL-10 düzeyleri, vitamin D düzeyleri normal olan kadınlara göre daha düşük; IL-17 düzeyleri ise daha yüksektir.
4. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınların endotel progenitör hücre sayıları vitamin D düzeyleri normal olan kadınlardan daha düşüktür.
5. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınlarda 6 aylık vitamin D replasmanı karotis intima media kalınlığını değiştirmezken, endotel fonksiyonlarını anlamlı oranda iyileştirmektedir.
6. Vitamin D eksikliği olan sağlıklı, genç kadınlarda 6 aylık vitamin D replasmanı IL-10 düzeyinde ve endotel progenitör hücre sayılarında anlamlı artışa; IL-17 düzeyinde anlamlı düşüşe neden olmaktadır.
7. 6 aylık vitamin D replasmanı sonrası endotel fonksiyonlarında görülen değişim; IL-10 düzeylerindeki ve endotel progenitör hücre sayılarındaki değişimle pozitif; IL-17 düzeyindeki değişimle negatif korelasyon göstermektedir.
8. 25(OH)D ve IL-17 düzeyindeki değişimler, 6 aylık vitamin D replasmanı sonrası endotel fonksiyonlarında meydana gelen değişimin bağımsız öngörücüsüdür.

## KAYNAKLAR

- 1) Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010;121:e46–e215.
- 2) Reeder GS, Gersh BJ. Modern management of acute myocardial infarction. *Curr Probl Cardiol* 2000;25:677-782
- 3) World Health Organization. Preventing chronic disease: a vital investment. WHO Press. Available at: [http://www.who.int/chp/chronic\\_disease\\_report/contents/en/index.html](http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/contents/en/index.html).
- 4) Ford ES, Capewell S. Coronary heart disease mortality among young adults in the U.S. from 1980 through 2002: concealed leveling of mortality rates. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:2128–2132.
- 5) Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:39–48.
- 6) Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–81
- 7) Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81:353-73.
- 8) Ergür AT, Berberoğlu M, Atasay B et al. Vitamin D deficiency in Turkish mothers and their neonates and in women of reproductive age. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2009;6:266-9.
- 9) Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, et al. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol*. 1990;19:559–563.
- 10) Kendrick J, Targher G, Smits G, et al. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2009;205(1):255-60.
- 11) Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503–11.
- 12) Martins D, Wolf M, Pan D, et al. Prevalence of cardiovascular riskfactors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from

- the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2007;167:1159–65.
- 13) Simpson RU, Hershey SH, Nibbelink KA. Characterization of heart size and blood pressure in the vitamin D receptor knockout mouse. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:521–4.
  - 14) Cohn JN, Quyyumi AA, Hollenberg NK, et al.. Surrogate markers for cardiovascular disease: functional markers. *Circulation* 2004;109:31–46.
  - 15) Mancini GBJ, Dahlöf B, Diez J. Surrogate markers for cardiovascular disease: structural markers. *Circulation* 2004;109:22–30.
  - 16) Urbina EM, Williams RV, Alpert BS, et al. Noninvasive Assessment of Subclinical Atherosclerosis in Children and Adolescents: Recommendations for Standard Assessment for Clinical Research: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension* 2009;54:919-950.
  - 17) Nelson MR, Mookadam F, Thota V, et al. Epicardial Fat: An Additional Measurement for Subclinical Atherosclerosis and Cardiovascular Risk Stratification? *J Am Soc Echocardiogr* 2011;24:339-45.
  - 18) Eroglu S, Sade LE, Yildirim A, et al. Epicardial adipose tissue thickness by echocardiography is a marker for the presence and severity of coronary artery disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009 Mar;19(3):211-7.
  - 19) Fadini GP, Coracina A, Baesso I, et al. Peripheral Blood CD34+ KDR+ Endothelial Progenitor Cells Are Determinants of Subclinical Atherosclerosis in a Middle-Aged General Population. *Stroke.* 2006;37:2277-2282.
  - 20) Bielak LF, Horenstein RB, Ryan KA, et al. Circulating CD34+ Cell Count is Associated with Extent of Subclinical Atherosclerosis in Asymptomatic Amish Men, Independent of 10-Year Framingham Risk. *Clinical Medicine:Cardiology* 2009;3:53–60.
  - 21) Lau KK, Chan YH, Yiu KH, et al. Burden of carotid atherosclerosis in patients with stroke: relationships with circulating endothelial progenitor cells and hypertension. *J Hum Hypertens.* 2007 Jun;21(6):445-51.

- 22) Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology* 2007;58:513-22.
- 23) Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res* 2009;335:191-203.
- 24) Virani SS, Polsani VR, Nambi V. Novel markers of inflammation in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2008;10:164-70.
- 25) Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007;65:S140-6.
- 26) Eriksson EE, Xie X, Werr J, Thoren P, Lindbom L. Importance of primary capture and L-selectin-dependent secondary capture in leukocyte accumulation in inflammation and atherosclerosis in vivo. *J Exp Med* 2001;194:205-18.
- 27) Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:3893-7.
- 28) Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:8264-8.
- 29) Bjornheden T, Evaldsson M, Wiklund O. A method for the assessment of hypoxia in the arterial wall, with potential application in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:178-85.
- 30) Kantor B, Mohlenkamp S. Imaging of myocardial microvasculature using fast computed tomography and three-dimensional microscopic computed tomography. *Cardiol Clin* 2003;21:587-605, ix.
- 31) Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:C13-8.
- 32) Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation* 2004;110:2032-8.
- 33) Langheinrich AC, Kampschulte M, Buch T, Bohle RM. Vasa vasorum and atherosclerosis - Quid novi? *Thromb Haemost* 2007;97:873-9.

- 34)** Chen L, Chester MR, Redwood S, Huang J, Leatham E, Kaski JC. Angiographic stenosis progression and coronary events in patients with 'stabilized' unstable angina. *Circulation* 1995;91:2319-24.
- 35)** Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276-82.
- 36)** Richardson PD, Davies MJ, Born GV. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1989;2:941-4.
- 37)** Segers D, Helderma F, Cheng C, et al. Gelatinolytic activity in atherosclerotic plaques is highly localized and is associated with both macrophages and smooth muscle cells in vivo. *Circulation* 2007;115:609-16.
- 38)** Muller JE, Abela GS, Nesto RW, Tofler GH. Triggers, acute risk factors and vulnerable plaques: the lexicon of a new frontier. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:809-13.
- 39)** Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995;332:635-41.
- 40)** Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res* 1999;85:394-402.
- 41)** Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998;98:839-44.
- 42)** Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:1071-80.
- 43)** Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111: 3481-8.

- 44) European Heart Network. European Cardiovascular Disease Statistics. 2008 edition.
- 45) Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012;33(13):1635-701.
- 46) Vos LE, Oren A, Uiterwaal C, et al. Adolescent blood pressure and blood pressure tracking into young adulthood are related to subclinical atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Young Adults (ARYA) study. *Am J Hypertens* 2003;16:549–555.
- 47) Toth PP. Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it. *Int J Clin Pract* 2008;62(8):1246–1254.
- 48) Kuller L, Borhani N, Furberg C et al. Prevalence of subclinical atherosclerosis and cardiovascular disease and association with risk factors in the Cardiovascular Health Study. *Am J Epidemiol* 1994;139: 1164–79.
- 49) Jaffer FA, O'Donnell CJ, Larson MG et al. Age and sex distribution of subclinical aortic atherosclerosis: a magnetic resonance imaging examination of the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 849–54.
- 50) Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
- 51) DeMaria AN, Narula J, Mahmud E et al. Imaging vulnerable plaque by ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: C32–9.
- 52) McCabe JM, Croce KJ. Optical coherence tomography. *Circulation* 2012;126(17):2140-3.
- 53) Miao C, Chen S, Macedo R, et al. Positive remodeling of the coronary arteries detected by magnetic resonance imaging in an asymptomatic population: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1708–1715.

- 54) Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis*. 1989;9(suppl):I-19 –I-32.
- 55) Tinana A, Mintz GS, Weissman NJ. Volumetric intravascular ultrasound quantification of the amount of atherosclerosis and calcium in nonstenotic arterial segments. *Am J Cardiol* 2002;89:757–760.
- 56) Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, et al. Morphological predictors of arterial remodeling in coronary atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:297–303.
- 57) Haberl R, Becker A, Leber A, et al. Correlation of coronary calcification and angiographically documented stenoses in patients with suspected coronary artery disease: results of 1,764 patients. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:451–457.
- 58) Marwan M, Ropers D, Pflederer T, et al. Clinical characteristics of patients with obstructive coronary lesions in the absence of coronary calcification: an evaluation by coronary CT angiography. *Heart* 2009;95:1056–1060.
- 59) Vliegenthart R, Oudkerk M, Song B, et al. Coronary calcification detected by electron-beam computed tomography and myocardial infarction. The Rotterdam Coronary Calcification Study. *Eur Heart J* 2002;23:1596–1603.
- 60) O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:14–22.
- 61) Bots ML, Dijk JM, Oren A, et al. Carotid intima-media thickness, arterial stiffness and risk of cardiovascular disease: current evidence. *J Hypertens*. 2002;20:2317–2325.
- 62) Urbina EM, Srinivasan SR, Tang R, et al. Bogalusa Heart Study. Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (the Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*. 2002;90:953–958.
- 63) Klein R, Klein BEK, Moss SE. The relation of systemic hypertension to changes in the retinal vasculature: the Beaver Dam Eye Study. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1997;95:329–350.

- 64) Tedeschi-Reiner E, Reiner Z, Sonicki Z. Atherosclerosis of retinal arteries in men: role of serum lipoproteins and apoproteins. *Croat Med J* 2004;45:333–337.
- 65) McDermott MM, Criqui MH, Liu K, et al. Lower ankle/brachial index, as calculated by averaging the dorsalis pedis and posterior tibial arterial pressures, and association with leg functioning in peripheral arterial disease. *J Vasc Surg.* 2000;32(6):1164-71.
- 66) Fowkes FG, Price JF, Stewart MC, et al. Aspirin for prevention of cardiovascular events in a general population screened for a low ankle brachial index: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010;303:841–848.
- 67) Deanfield J, Donald A, Ferri C, et al. Endothelial function and dysfunction: part I: methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23:7–17.
- 68) Ryliskyte L, Ghiadoni L, Plantinga Y, et al. High-frequency ultrasonographic imaging of the endothelium-dependent flow-mediated dilatation (FMD) in a brachial artery: normative ranges in a group of low CV risk subjects of different ages. *Proc West Pharmacol Soc.* 2004;47:67– 68.
- 69) Accini JL, Sotomayor A, Trujillo F, et al. Colombian study to assess the use of noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilatation (CANDEV): normal values and factors associated. *Endothelium.* 2001;8:157–166.
- 70) Chan SY, Mancini GB, Kuramoto L, et al. The prognostic importance of endothelial dysfunction and carotid atheroma burden in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:1037–1043.
- 71) Modena MG, Bonetti L, Coppi F, et al. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:505–10.
- 72) Li M, Losordo DW. Statins and the endothelium. *Vascul Pharmacol* 2007;46(1):1-9.



- 73) Miyamoto M, Kotani K, Ishibashi S, et al. The effect of antihypertensive drugs on endothelial function as assessed by flow-mediated vasodilation in hypertensive patients. *Int J Vasc Med.* 2012;2012:453264.
- 74) Vitale C, Mercurio G, Cornoldi A, et al. Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J Intern Med.* 2005;258:250 – 256.
- 75) Lee SJ, Lee DW, Kim KS, et al. Effect of estrogen on endothelial dysfunction in postmenopausal women with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2001;54(suppl 2):S81–S92.
- 76) Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275:964–967.
- 77) Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood.* 1998;92:362–367.
- 78) Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood.* 2000;95:952–958.
- 79) Urbich C, Dimmeler S. Endothelial Progenitor Cells: Characterization and Role in Vascular Biology. *Circ Res.* 2004;95:343-353.
- 80) Rossig L, Dimmeler S, Zeiher AM. Apoptosis in the vascular wall and atherosclerosis. *Basic Res Cardiol.* 2001;96:11–22.
- 81) Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001;89:E1–7.
- 82) Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348:593–600.
- 83) O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, et al. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens* 2002;15:426–444.
- 84) Laurent S, Hayoz D, Trazzi S, et al. Isobaric compliance of the radial artery is increased in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1993;11:89 – 98.

- 85)** Blacher J, Asmar R, Djane S, et al. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension*. 1999;33:1111–1117.
- 86)** Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:508–519.
- 87)** Kassi E, Adamopoulos C, Basdra EK, et al. Role of Vitamin D in atherosclerosis. *Circulation*. 2013;128:2517-2531.
- 88)** Norman PE, Powell JT. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2014;114:379-393.
- 89)** Macdonald HM, Mavroei A, Fraser WD, et al. Sunlight and dietary contributions to the seasonal vitamin D status of cohorts of healthy postmenopausal women living at northerly latitudes: a major cause for concern? *Osteoporos Int*. 2011;22:2461–2472.
- 90)** Peterlik M, Cross HS. Vitamin D and calcium insufficiency related chronic diseases: molecular and cellular pathophysiology. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:1377–1386.
- 91)** Pilz S, Gaksch M, O’Hartaigh B, et al. The role of vitamin D deficiency in cardiovascular disease: where do we stand in 2013? *Arch Toxicol*. 2013;87:2083–2103.
- 92)** Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1911–1930.
- 93)** Reddy GS, Tserng KY. Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> through C-24 oxidation pathway. *Biochemistry* 1989;28:1763–1769.
- 94)** Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): its important role in the degradation of vitamin D. *Arch Biochem Biophys* 2012;523:9–18.
- 95)** Brouwer-Brolsma EM, Bischoff-Ferrari HA, Bouillon R, et al. Vitamin D: do we get enough? A discussion between vitamin D experts in order to make a

- step towards the harmonisation of dietary reference intakes for vitamin D across Europe. *Osteoporos Int.* 2013;24:1567–1577.
- 96)** Dawson-Hughes B. Racial/ethnic considerations in making recommendations for vitamin D for adult and elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1763S–1766S.
- 97)** Lai JK, Lucas RM, Banks E, et al; Ausimmune Investigator Group. Variability in vitamin D assays impairs clinical assessment of vitamin D status. *Intern Med J.* 2012;42:43–50.
- 98)** Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008;29:726–776.
- 99)** Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, et al. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society Scientific statement. *Endocr Rev.* 2011;33:456–492.
- 100)** Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, et al. The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ -vitamin D $_3$  in vivo and in vitro. *Mol Endocrinol.* 2004;18:2660–2671.
- 101)** Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, et al. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr* 2003;22:142-6.
- 102)** Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18-28. [Erratum, *Am J Clin Nutr*2006;84:1253.]
- 103)** Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001;22:477–501.
- 104)** DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80:Suppl:1689S-1696S.
- 105)** Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005;26:662-87.
- 106)** Liu PT, Stenger S, Li H, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006;311:1770-3.

- 107)** Garland CF, Garland FC, Gorham ED, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 2006;96:252-61.
- 108)** Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, et al. Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1502-8.
- 109)** Holick MF. Calcium plus vitamin D and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2006;354:2287-8.
- 110)** Chang ET, Smedby KE, Hjalgrim H, et al. Family history of hematopoietic malignancy and risk of lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1466-74.
- 111)** Ponsonby A-L, McMichael A, van der Mei I. Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology* 2002;181-182:71-8.
- 112)** Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62:60-5.
- 113)** Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, et al. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50:72-7.
- 114)** Hypponen E, Laara E, Reunanen A, et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth cohort study. *Lancet* 2001;358:1500-3.
- 115)** McGrath J, Selten JP, Chant D. Longterm trends in sunshine duration and its association with schizophrenia birth rates and age at first registration — data from Australia and the Netherlands. *Schizophr Res* 2002;54:199-212.
- 116)** Gloth FM III, Alam W, Hollis B. Vitamin D vs. broad spectrum phototherapy in the treatment of seasonal affective disorder. *J Nutr Health Aging* 1999;3:5-7.
- 117)** Eyles DW, Smith S, Kinobe R, et al. Distribution of the vitamin D receptor and 1 $\alpha$ -hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat* 2005;29:21-30.
- 118)** Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. *Br J Nutr.* 2005;94:483-492.
- 119)** Scragg R. Seasonality of cardiovascular disease mortality and the possible protective effect of ultra-violet radiation. *Int J Epidemiol.* 1981;10:337-341.

- 120)** Weishaar RE, Simpson RU. Vitamin D3 and cardiovascular function in rats. *J Clin Invest.* 1987;79:1706–1712.
- 121)** Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, et al. 25-Hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med.* 2008;168:1174–1180.
- 122)** Earthman CP, Beckman LM, et al. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)* 2012;36:387–396.
- 123)** Rock CL, Emond JA, Flatt SW, et al. Weight loss is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D in overweight or obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:2296–2301.
- 124)** Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, et al. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens* 2011;29:636–645.
- 125)** Kunutsor SK, Apekey TA, Steur M. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol* 2013;28:205–221.
- 126)** Forman JP, Scott JB, Ng K, et al. Effect of vitamin D supplementation on blood pressure in blacks. *Hypertension* 2013;61:779–785.
- 127)** Pittas AG, Nelson J, Mitri J, et al; Diabetes Prevention Program Research Group. Plasma 25-hydroxyvitamin D and progression to diabetes in patients at risk for diabetes: an ancillary analysis in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care.* 2012;35:565–573.
- 128)** Bland R, Markovic D, Hills CE, et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 $\alpha$ hydroxylase in pancreatic islets. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90:121–125.
- 129)** Chiu KC, Chu A, Go VL, et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:820–825.
- 130)** Ding C, Gao D, Wilding J, et al. Vitamin D signalling in adipose tissue. *Br J Nutr.* 2012;108:1915–1923.

- 131)** Dunlop TW, Vaisanen S, Frank C, et al. The human peroxisome proliferator-activated receptor delta gene is a primary target of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its nuclear receptor. *J Mol Biol.* 2005;349:248–260.
- 132)** Reusch JE, Begum N, Sussman KE, et al. Regulation of GLUT-4 phosphorylation by intracellular calcium in adipocytes. *Endocrinology.* 1991;129:3269–3273.
- 133)** O’Hartaigh B, Neil Thomas G, Silbernagel G, et al. Association of 25-hydroxyvitamin D with type 2 diabetes among patients undergoing coronary angiography: cross-sectional findings from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;79:192–198.
- 134)** Pilz S, van den Hurk K, Nijpels G, et al. Vitamin D status, incident diabetes and prospective changes in glucose metabolism in older subjects: the Hoorn study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:883–889.
- 135)** Pilz S, Kienreich K, Rutters F, et al. Role of vitamin D in the development of insulin resistance and type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 2013;13:261–270.
- 136)** Song Y, Wang L, Pittas AG, et al. Blood 25-hydroxy vitamin D levels and incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care* 2013;36:1422–1428.
- 137)** 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;59:381–391.
- 138)** Davidson MB, Duran P, Lee ML, et al. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. *Diabetes Care* 2013;36:260–266.
- 139)** Ponda MP, Huang X, Odeh MA, et al. Vitamin D may not improve lipid levels: a serial clinical laboratory data study. *Circulation* 2012;126:270–277.
- 140)** Skaaby T, Husemoen LL, Martinussen T, et al. Vitamin D status, filaggrin genotype, and cardiovascular risk factors: a mendelian randomization approach. *PLoS One.* 2013;8:e57647.

- 141)** Querfeld U, Hoffmann MM, Klaus G, et al. Antagonistic effects of vitamin D and parathyroid hormone on lipoprotein lipase in cultured adipocytes. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:2158–2164.
- 142)** Huang Y, Li X, Wang M, et al. Lipoprotein lipase links vitamin D, insulin resistance, and type 2 diabetes: a cross-sectional epidemiological study. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:17.
- 143)** Wood AD, Secombes KR, Thies F, et al. Vitamin D3 supplementation has no effect on conventional cardiovascular risk factors: a parallel-group, double-blind, placebo-controlled RCT. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3557–3568.
- 144)** Zittermann A, Gummert JF, Börgermann J. The role of vitamin D in dyslipidemia and cardiovascular disease. *Curr Pharm Des* 2011;17:933–942.
- 145)** Wang H, Xia N, Yang Y, et al. Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis* 2012;11:42.
- 146)** Werner C, Poss J, Bohm M. Optimal antagonism of the renin-angiotensin-aldosterone system: do we need dual or triple therapy? *Drugs.* 2010;70:1215–1230.
- 147)** Vaidya A, Forman JP. Vitamin D and hypertension: current evidence and future directions. *Hypertension.* 2010;56:774–779.
- 148)** Li YC, Kong J, Wei M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest.* 2002;110:229–238.
- 149)** Deb DK, Chen Y, Zhang Z, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses high glucose-induced angiotensinogen expression in kidney cells by blocking the NF- $\kappa$ B pathway. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;296:F1212–F1218.
- 150)** Szeto FL, Reardon CA, Yoon D, et al. Vitamin D receptor signaling inhibits atherosclerosis in mice. *Mol Endocrinol.* 2012 Jul;26(7):1091-101.
- 151)** Li YC, Kong J, Wei M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest.* 2002;110:229–238.

- 152)** Li YC, Qiao G, Uskokovic M, et al. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90:387–392.
- 153)** Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, et al. Independent association between 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and the renin-angiotensin system: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chim Acta.* 2010;411:1354–1360.
- 154)** Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Eur Heart J.* 1997;18(suppl E):E19–E29.
- 155)** Merke J, Milde P, Lewicka S, et al. Identification and regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor activity and biosynthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: studies in cultured bovine aortic endothelial cells and human dermal capillaries. *J Clin Invest.* 1989;83:1903–1915.
- 156)** Molinari C, Uberti F, Grossini E, et al. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell Physiol Biochem.* 2011;27:661–668.
- 157)** Hirata M, Serizawa K, Aizawa K, et al. 22-Oxacalcitriol prevents progression of endothelial dysfunction through antioxidative effects in rats with type 2 diabetes and early-stage nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28:1166–1174.
- 158)** Vanhoutte PM, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension. *Br J Pharmacol.* 2005;144:449–458.
- 159)** Wong MS, Delansorne R, Man RY, et al. Vitamin D derivatives acutely reduce endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295:H289–H296.
- 160)** Wong MS, Man RY, Vanhoutte PM. Calcium-independent phospholipase A(2) plays a key role in the endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;298:H1260–H1266.
- 161)** Collins T, Read MA, Neish AS, et al. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J.* 1995;9:899–909.



- 162)** Martinesi M, Bruni S, Stio M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced adhesion molecule expression in endothelial cells. *Cell Biol Int.* 2006;30:365–375.
- 163)** Stach K, Kalsch AI, Nguyen XD, et al. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D3 attenuates platelet activation and the expression of VCAM-1 and MT1-MMP in human endothelial cells. *Cardiology.* 2011;118:107–115.
- 164)** Suzuki Y, Ichiyama T, Ohsaki A, et al. Anti-inflammatory effect of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D(3) in human coronary arterial endothelial cells: implication for the treatment of Kawasaki disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009;113:134–138.
- 165)** Kudo K, Hasegawa S, Suzuki Y, et al. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D(3) inhibits vascular cellular adhesion molecule-1 expression and interleukin-8 production in human coronary arterial endothelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2012;132:290–294.
- 166)** Jablonski KL, Chonchol M, Pierce GL, Walker AE, Seals DR. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults. *Hypertension.* 2011;57:63–69.
- 167)** Tarcin O, Yavuz DG, Ozben B, et al. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:4023–4030.
- 168)** Harris RA, Pedersen-White J, Guo DH, et al. Vitamin D3 supplementation for 16 weeks improves flow-mediated dilation in overweight African-American adults. *Am J Hypertens.* 2011;24:557–562.
- 169)** Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:812–819.
- 170)** Somjen D, Weisman Y, Kohen F, et al. 25-hydroxyvitamin D3-1 $\alpha$ -hydroxylase is expressed in human vascular smooth muscle cells and is upregulated by parathyroid hormone and estrogenic compounds. *Circulation.* 2005;111:1666–1671.

- 171)** Carthy EP, Yamashita W, Hsu A, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and rat vascular smooth muscle cell growth. *Hypertension*. 1989;13(pt 2):954–959.
- 172)** Mitsuhashi T, Morris RC Jr, Ives HE. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> modulates growth of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1991;87:1889–1895.
- 173)** Raymond MA, Desormeaux A, Labelle A, et al. Endothelial stress induces the release of vitamin D-binding protein, a novel growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338:1374–1382.
- 174)** Wakasugi M, Noguchi T, Inoue M, et al. Vitamin D<sub>3</sub> stimulates the production of prostacyclin by vascular smooth muscle cells. *Prostaglandins*. 1991;42:127–136.
- 175)** Wu-Wong JR, Nakane M, Ma J. Effects of vitamin D analogs on the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human vascular cells. *Thromb Res*. 2006;118:709–714.
- 176)** Dong Y, Stallmann-Jorgensen IS, Pollock NK, et al. A 16-week randomized clinical trial of 2000 international units daily vitamin D<sub>3</sub> supplementation in black youth: 25-hydroxyvitamin D, adiposity, and arterial stiffness. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:4584–4591.
- 177)** Giallauria F, Milaneschi Y, Tanaka T, et al. Arterial stiffness and vitamin D levels: the Baltimore longitudinal study of aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Oct;97(10):3717-23.
- 178)** Robertson AK, Hansson GK. T cells in atherogenesis: for better or for worse? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:2421–2432.
- 179)** Stemme S, Faber B, Holm J, et al. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92:3893–3897.
- 180)** Young JL, Libby P, Schonbeck U. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2002;88:554–567.
- 181)** Sasaki N, Yamashita T, Takeda M, et al. Regulatory T cells in atherogenesis. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(6):503-15.
- 182)** Smith E, Prasad KM, Butcher M, et al. Blockade of interleukin-17A results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2010;121:1746–1755.

- 183)** Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, et al. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol.* 2001;167:4974–4980.
- 184)** Takeda M, Yamashita T, Sasaki N, et al. Oral administration of an active form of vitamin D3 (calcitriol) decreases atherosclerosis in mice by inducing regulatory T cells and immature dendritic cells with tolerogenic functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:2495–2503.
- 185)** Chang SH, Chung Y, Dong C. Vitamin D suppresses Th17 cytokine production by inducing C/EBP homologous protein (CHOP) expression. *J Biol Chem.* 2010;285:38751–38755.
- 186)** Teramoto T, Endo K, Ikeda K, et al. Binding of vitamin D to low-density-lipoprotein (LDL) and LDL receptor-mediated pathway into cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;215:199–204.
- 187)** Gottfried E, Rehli M, Hahn J, et al. Monocyte-derived cells express CYP27A1 and convert vitamin D3 into its active metabolite. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;349:209–213.
- 188)** Riek AE, Oh J, Bernal-Mizrachi C. 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D suppresses macrophage migration and reverses atherogenic cholesterol metabolism in type 2 diabetic patients. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:309–312.
- 189)** Riek AE, Oh J, Sprague JE, et al. Vitamin D suppression of endoplasmic reticulum stress promotes an antiatherogenic monocyte/ macrophage phenotype in type 2 diabetic patients. *J Biol Chem.* 2012;287:38482–38494.
- 190)** Muller K, Haahr PM, Diamant M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits cytokine production by human blood monocytes at the post-transcriptional level. *Cytokine.* 1992;4:506–512.
- 191)** Choi JH, Do Y, Cheong C, et al. Identification of antigen-presenting dendritic cells in mouse aorta and cardiac valves. *J Exp Med.* 2009;206:497–505.
- 192)** Bobryshev YV. Dendritic cells and their role in atherogenesis. *Lab Invest.* 2010;90:970–984.
- 193)** Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of

endothelialdependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force [published correction appears in *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:1082]. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:257–265.

- 194)** Karakas M, Thorand B, Zierer A, et al. Low levels of serum 25-hydroxyvitamin D are associated with increased risk of myocardial infarction, especially in women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:272–280.
- 195)** Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*. 2008;168:1340–1349.
- 196)** Melamed ML, Michos ED, Post W, et al. 25-Hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med*. 2008;168:1629–1637.
- 197)** Zhao G, Ford ES, Li C, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and all-cause and cardiovascular disease mortality among US adults with hypertension: the NHANES linked mortality study. *J Hypertens*. 2012;30:284–289.
- 198)** Semba RD, Houston DK, Bandinelli S, et al. Relationship of 25-hydroxyvitamin D with all-cause and cardiovascular disease mortality in older communitydwelling adults. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64:203–209.
- 199)** de Boer IH, Kestenbaum B, Shoben AB, et al. 25-Hydroxyvitamin D levels inversely associate with risk for developing coronary artery calcification. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:1805–1812.
- 200)** Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and carotid artery intima-media thickness among type 2 diabetic patients. *Clinical Endocrinology*. 2006; 65, 593–597.
- 201)** Reis JP, von Mühlen D, Michos ED, et al. Serum vitamin D, parathyroid hormone levels, and carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009;207:585–590.

- 202)** Carrelli AL, Walker MD, Lowe H, et al. Vitamin D Deficiency Is Associated With Subclinical Carotid Atherosclerosis: The Northern Manhattan Study. *Stroke*. 2011;42:2240-2245.
- 203)** Blondon M, Sachs M, Hoofnagle AN, et al. 25-Hydroxyvitamin D and parathyroid hormone are not associated with carotid intima-media thickness or plaque in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(11):2639–2645.
- 204)** Sachs MC, Brunzell JD, Cleary PA, et al, Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study (DCCT/EDIC) Research Group. Circulating vitamin d metabolites and subclinical atherosclerosis in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2013;36:2423–2429.
- 205)** Deleskog A, Piksasova O, Silveira A, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration in subclinical carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(11):2633-8.
- 206)** Knox S, Welsh P, Bezlyak V, et al. 25-Hydroxyvitamin D is lower in deprived groups, but is not associated with carotid intima media thickness or plaques: results from pSoBid. *Atherosclerosis*. 2012;223(2):437-41.
- 207)** van de Luijngaarden KM, Voûte MT, Hoeks SE, et al. Vitamin D deficiency may be an independent risk factor for arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012;44(3):301-6.
- 208)** Al Mheid I, Patel R, Murrow J, et al. Vitamin D status is associated with arterial stiffness and vascular dysfunction in healthy humans. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:186–192.
- 209)** Yiu YF, Chan YH, Yiu KH, et al. Vitamin D deficiency is associated with depletion of circulating endothelial progenitor cells and endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5):E830-5.
- 210)** Chitalia N, Recio-Mayoral A, Kaski JC, et al. Vitamin D deficiency and endothelial dysfunction in non-dialysis chronic kidney disease patients. *Atherosclerosis*. 2012;220(1):265-8.

- 211)** Gepner AD, Ramamurthy R, Krueger DC, et al. A prospective randomized controlled trial of the effects of vitamin D supplementation on cardiovascular disease risk. *PLoS One*. 2012;7(5):e36617.
- 212)** Chitalia N, Ismail T, Tooth L, et al. Impact of vitamin D supplementation on arterial vasomotion, stiffness and endothelial biomarkers in chronic kidney disease patients. *PLoS One*. 2014;19;9(3):e91363.
- 213)** Witham MD, Dove FJ, Sugden JA, et al. The effect of vitamin D replacement on markers of vascular health in stroke patients - a randomised controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22(10):864-70.
- 214)** Oz F, Cizgici AY, Oflaz H, et al. Impact of vitamin D insufficiency on the epicardial coronary flow velocity and endothelial function. *Coron Artery Dis*. 2013;24(5):392-7.
- 215)** Pacifico L, Anania C, Osborn JF, et al. Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur J Endocrinol*. 2011;165(4):603-11.
- 216)** Longenecker CT, Hileman CO, Carman TL, et al. Vitamin D supplementation and endothelial function in vitamin D deficient HIV-infected patients: a randomized placebo-controlled trial. *Antivir Ther*. 2012;17(4):613-21.
- 217)** Sugden JA, Davies JI, Witham MD, et al. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet Med*. 2008;25(3):320-5.
- 218)** Witham MD, Dove FJ, Dryburgh M, et al. The effect of different doses of vitamin D(3) on markers of vascular health in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2010;53(10):2112-9.
- 219)** Witham MD, Adams F, Kabir G, et al. Effect of short-term vitamin D supplementation on markers of vascular health in South Asian women living in the UK--a randomised controlled trial. *Atherosclerosis*. 2013;230(2):293-9.
- 220)** Yiu YF, Yiu KH, Siu CW, et al. Randomized controlled trial of vitamin D supplement on endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2013;227(1):140-6.

- 221)** Antonopoulos AS, Margaritis M, Shirodaria C, et al. Translating the effects of statins: from redox regulation to suppression of vascular wall inflammation. *Thromb Haemost.* 2012;108(5):840-8.
- 222)** Ferrario C. Effect of angiotensin receptor blockade on endothelial function: focus on olmesartan medoxomil. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5(1):301-14.
- 223)** Ott C, Raff U, Schneider MP, et al. 25-hydroxyvitamin D insufficiency is associated with impaired renal endothelial function and both are improved with rosuvastatin treatment. *Clin Res Cardiol.* 2013;102(4):299-304.
- 224)** Mikirova NA, Belcaro G, Jackson JA, et al. Vitamin D concentrations, endothelial progenitor cells, and cardiovascular risk factors. *Panminerva Med.* 2010 Jun;52(2 Suppl 1):81-7.
- 225)** Cianciolo G, La Manna G, Cappuccilli ML, et al. VDR expression on circulating endothelial progenitor cells in dialysis patients is modulated by 25(OH)D serum levels and calcitriol therapy. *Blood Purif.* 2011;32(3):161-73.
- 226)** Grundmann M, Haidar M, Placzko S, et al. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(9):C954-62.
- 227)** Desouza CV. Does drug therapy reverse endothelial progenitor cell dysfunction in diabetes? *J Diabetes Complications.* 2013;27(5):519-25.
- 228)** Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683–765.
- 229)** Adorini L, Intervention in autoimmunity: the potential of vitamin D receptor agonists. *Cell. Immunol.* 2005. 233: 115–124.
- 230)** Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, et al. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: A double-blind, randomized, placebo controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006;83:754–759.
- 231)** Gunnnett CA, Heistad DD, Berg DJ, et al. IL-10 deficiency increases superoxide and endothelial dysfunction during inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;279(4):H1555-62.

- 232)** Fichtlscherer S, Breuer S, Heeschen C, et al. Interleukin-10 serum levels and systemic endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(1):44-9.
- 233)** Zemse SM, Hilgers RH, Webb RC. Interleukin-10 counteracts impaired endothelium-dependent relaxation induced by ANG II in murine aortic rings. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292(6):H3103-8.
- 234)** Zemse SM, Hilgers RH, Simkins GB, et al. Restoration of endothelin-1-induced impairment in endothelium-dependent relaxation by interleukin-10 in murine aortic rings. *Can J Physiol Pharmacol.* 2008;86(8):557-65.
- 235)** Kinzenbaw DA, Chu Y, Peña Silva RA, et al. Interleukin-10 protects against aging-induced endothelial dysfunction. *Physiol Rep.* 2013 Nov;1(6):e00149.
- 236)** Krishnamurthy P, Thal M, Verma S, et al. Interleukin-10 deficiency impairs bone marrow-derived endothelial progenitor cell survival and function in ischemic myocardium. *Circ Res.* 2011;109(11):1280-9.
- 237)** Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology* 2010;129:311–321.
- 238)** Kirkham BW, Kavanaugh A, Reich K. Interleukin-17A: a unique pathway in immune-mediated diseases: psoriasis, psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Immunology.* 2014;141(2):133-42.
- 239)** Liang J, Zheng Z, Wang M, et al. Myeloperoxidase (MPO) and interleukin-17 (IL-17) plasma levels are increased in patients with acute coronary syndromes. *J Int Med Res* 2009;37:862–866.
- 240)** Ikeda U, Wakita D, Ohkuri T, et al. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and all-trans retinoic acid synergistically inhibit the differentiation and expansion of Th17 cells. *Immunol Lett.* 2010;134(1):7-16.
- 241)** Milovanovic M, Pesic G, Nikolic V, et al. Vitamin D deficiency is associated with increased IL-17 and TNF $\alpha$  levels in patients with chronic heart failure. *Arq Bras Cardiol.* 2012;98(3):259-65.
- 242)** Tian Y, Wang C, Ye Z, et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on Th17 and Th1 response in patients with Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(10):6434-41.



- 243)** Nanzer AM, Chambers ES, Ryanna K, et al. Enhanced production of IL-17A in patients with severe asthma is inhibited by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 in a glucocorticoid-independent fashion. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(2):297-304.
- 244)** Ranganathan P, Khalatbari S, Yalavarthi S, et al. Vitamin D deficiency, interleukin 17, and vascular function in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2013;40(9):1529-34.
- 245)** El-Moaty Zaher HA, El-Komy MH, Hegazy RA, et al. Assessment of interleukin-17 and vitamin D serum levels in psoriatic patients. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(5):840-2.
- 246)** Gaffen SL. An overview of IL-17 function and signaling. *Cytokine* 2008;43:402– 407.
- 247)** Nguyen H, Chiasson VL, Chatterjee P, et al. Interleukin-17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension. *Cardiovasc Res.* 2013;97(4):696-704.
- 248)** Marder W, Khalatbari S, Myles JD, et al. Interleukin 17 as a novel predictor of vascular function in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(9):1550-5.