

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

1,25-DİHİDROKSİKOLEKALSİFEROL VERİLEN TİP 1
DİYABETLİ SIÇANLARDA VASKÜLER YANITIN
DEĞERLENDİRİLMESİ

MEHMET ALİ ZORLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hümevra Ünsal

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-19008 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mehmet Ali Zorlu tarafından hazırlanan “1,25-Dihidroksikolekalsiferol Verilen Tip 1 Diyabetli Sıçanlarda Vasküler Yanıtın Değerlendirilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/08/2019

Üye (T.D.): Prof. Dr. Hümeysra Ünsal Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Aziz Bülbül Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Cengiz Ünsal Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit Kum
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi ve becerilerini benimle paylaşan, her türlü desteği sağlayan danışmanım Prof. Dr. Hümeysra ÜNSAL'a, tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan deneyimlerinden önemli ölçüde yararlandığım Doç. Dr. Cengiz Ünsal'a, araştırma laboratuvarlarında uzun uğraşlarda destek olan Dr. Arş. Gör. Ece Koç Yıldırım ve Yüksek Lisans Öğrencisi Yusuf Demiryürek'e çok teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Muharrem Balkaya ve Prof. Dr. Ferda Belge'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim sevgili aileme, eşim Demet'e ve değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diyabetin Tanımı.....	3
2.1.1. Diyabet Patofizyolojisi	4
2.1.2. Tip 1 Diyabet.....	5
2.1.2.1. Tip 1 diyabette genetik ve çevresel faktörlerin etkisi.....	7
2.1.2.2. Tip1 diyabette damar yapısı ve fonksiyonları	8
2.1.2.2.1. Diyabetin makrovasküler komplikasyonları.....	9
2.1.2.2.2. Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları	10
2.2. Vasküler Homeostazisin Kontrolünde Endotelin Kilit Rolü	12
2.2.1. Endotel Kaynaklı Gevşetici Maddeler.....	12
2.2.1.1. Nitrik oksit.....	13
2.2.1.2. Prostaglandin	14
2.2.1.3. Endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktörü.....	14
2.2.2. Endotel Kaynaklı Kontraksiyon Faktörleri	15
2.2.3. Endotel Disfonksiyonu ve Diyabet.....	16
2.2.4. Vasküler İnsülin Direnci.....	18
2.3. D Vitamini	19
2.3.1. D Vitamini Sentezi ve Metabolizması.....	19
2.3.2. Vitamin D Reseptörü ve Etki mekanizması	22
2.3.3. D Vitamininin Klasik Fonksiyonu: Kemik Mineralizasyonu.....	24
2.3.4. D Vitaminin Kemik ve Kalsiyum Metabolizması Dışındaki İşlevleri	24

2.3.5. D Vitamininin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri.....	25
2.3.6. D Vitamini, Diyabet ve Kalp-Damar Sağlığı	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Gereç.....	31
3.1.1. İlaçlar ve Kimyasallar.....	31
3.1.2. Hayvanlar ve Deney Dizaynı.....	31
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Vücut Ağırlığı ve Kan Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi	33
3.2.2. Kan Basıncı Ölçümleri	33
3.2.3. İn Vitro Organ Banyosu Deneyleri.....	34
3.2.4. 25(OH)Vitamin D ve Kalsiyum Düzeyinin Belirlenmesi	35
3.2.5. İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR	37
4.1. Vücut Ağırlığı.....	37
4.2. Kan Glikoz Değerleri	38
4.3. Kan Basıncı	39
4.3.1. Sistolik Kan Basıncı	39
4.3.2. Diyastolik Kan Basıncı.....	41
4.3.3. Ortalama Kan Basıncı.....	42
4.4. 25(OH)Vitamin D ve Kalsiyum Düzeyleri.....	44
4.5. Damar Yanıtları	44
4.5.1. Potasyum Klorür.....	44
4.5.2. Fenilefrin	44
4.5.3. Asetilkolin	46
4.5.4. Sodyum Nitroprussid.....	46
5. TARTIŞMA.....	48
5.1. Vücut Ağırlığı ve Glikoz Değerleri	48
5.2. Kan Basıncı	50
5.3. Damar Yanıtları	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR.....	62
Ek1. (ADÜ-HADYEK Kararı)	86
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

1,25(OH)₂D	: 1, 25-dihidroksivitamin D
25(OH)D	: 25-hidroksivitamin D
Ach	: Asetilkolin
AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
AT-II	: Anjiyotensin 1
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cIMP	: Siklik inozin monofosfat
COX	: Siklooksijenaz
D	: Diyabet
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
DKB	: Diyastolik kan basımcı
DM	: Diyabetes mellitus
DVD	: Diyabet + vitamin D
EDCF	: Endotel kaynaklı kontraksiyon faktörleri
EDH	: Endotel kaynaklı hiperpolarizasyon
EDHF	: Endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktörü
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktörler
eNOS	: Endoteliyal nitrik oksit sentaz
ET-1	: Endotelin 1
GPCR	: G protein bağlı reseptörler
HLA	: İnsan lökosit antijeni
IKCa	: Endotel aracılı potasyum kanalları
K	: Kontrol
KCl	: Potasyum klorür
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
MLC	: Miyozin hafif zincir
MLCK	: Miyozin hafif zincir kinaz
MLCP	: Miyozin hafif zincir fosfataz
NO	: Nitrik oksit

NOD	: Non-obez-diyabetik
OKB	: Ortalama kan basıncı
PGI₂	: Prostatiklin
PKC	: Protein kinaz C
RAS	: Renin anjiyotensin sistemi
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROCK	: rhoa Kinaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SKB	: Sistolik kan basıncı
SKCa	: Zayıf iletken kalsiyumla aktive edilmiş potasyum kanalları
SNP	: Sodyum nitroprusid
STZ	: Streptozotosin
T1D	: Tip 1 diyabet
T2D	: Tip 2 diyabet
TX-2	: Tromboksan
VDR	: Vitamin D reseptörü
mVDR	: Membran vitamin D reseptörü
nVDR	: Nükleer vitamin D reseptörü
VitD	: Vitamin D
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. D vitamini sentezi	21
Şekil 2. Vitamin D ve reseptör etkileşimi	23
Şekil 3. 1,25(OH) ₂ D'nin arteriyel duvar ve kardiyak hücrelerdeki etkileri	27
Şekil 4. Kan basıncı kayıt örneği.....	34
Şekil 5. KCl kasılma yanıtları	45
Şekil 6. Fenilefrin kasılma yanıtları	45
Şekil 7. Asetilkolin gevşeme yanıtları.....	46
Şekil 8. Sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deney aşamaları.	32
Tablo 2. Vücut ağırlığı.....	38
Tablo 3. Kan glikoz değerleri	39
Tablo 4. Sistolik kan basınçları.....	40
Tablo 5. Diyastolik kan basınçları	42
Tablo 6. Ortalama kan basınçları.....	43
Tablo 7. 25(OH)vitamin D ve kalsiyum düzeyleri	44



ÖZET

1,25-DİHİDROKSİKOLEKALSİFEROL VERİLEN TİP 1 DİYABETLİ SIÇANLARDA VASKÜLER YANITIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zorlu MA. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019

Bu çalışmada, kardiyovasküler sağlığın sürdürülmesinde, ayrıca diyabete bağlı gelişen çeşitli komplikasyonların önlenmesinde ve iyileştirilmesinde önemli rolleri olan 1,25-dihidroksikolekalsiferolün, kan glikoz değerleri ve vasküler yanıtta etkilerini değerlendirmek amaçlandı. Bu amaçla, 28 adet Sprague Dawley erkek sıçan; kontrol (K), vitamin D (VitD), diyabet (D) ve Diyabet+Vitamin D (DVD) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Diyabet oluşturmak için D ve DVD gruplarına streptozotosin tek doz 50 mg/kg dozunda, K ve D grubuna ise eş hacimde sitrat tampon solüsyonu intraperitoneal olarak verildi. Diyabet tanımlaması yapıldıktan sonra VitD ve DVD grubundaki sıçanlara 1,25-dihidroksikolekalsiferol 120 ng/100 g haftada bir kez subkutan yolla 6 hafta boyunca uygulandı. Kan glikoz düzeyleri, vücut ağırlığı ve kan basıncı ölçümleri haftalık olarak kaydedildi. Deney sonunda torasik aort halkalarında kasılma ve gevşeme yanıtları *in vitro* organ banyosunda değerlendirildi. Diyabet, 1. haftadan itibaren vücut ağırlığında azalmaya neden oldu ($P<0,001$). DVD grubu ortalama kan glikoz düzeyleri D grubuyla karşılaştırıldığında 5. ve 6. haftalarda azaldı (sırasıyla $P<0,05$ ve $P=0,069$). Diyabet gruplarında 2. haftadan itibaren ortalama kan basıncı değerleri düştü ($P<0,01$). KCl kasılma yanıtı VitD grubunda diğer gruplardan daha yüksek iken ($P<0,01$), fenilefrin kasılma yanıtının VitD ve DVD gruplarında daha düşük olduğu belirlendi ($P=0,076$). Ayrıca diyabet gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtlarının diyabet olmayan gruplara göre daha yüksek olduğu ($P=0,082$) dikkati çekti.

Araştırma sonuçları; 1,25-dihidroksikolekalsiferolün tip 1 diyabetik sıçanlarda kan glikoz düzeylerini düşürebileceğini, buna karşın kan basıncı ile aort kasılma ve gevşeme yanıtlarına önemli bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: 1,25 dihidroksikolekalsiferol, aort, asetilkolin, kan basıncı, tip 1 diyabet.

ABSTRACT

THE EVALUATION OF VASCULAR RESPONSE IN TYPE 1 DIABETIC RATS TREATED WITH 1,25-DIHYDROXYCHOLECALCIFEROL

**Zorlu MA. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Physiology
(Veterinary) Program, Master Thesis, Aydın, 2019**

The aim of this study was to evaluate the effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on blood glucose levels and vascular response, which have an important role in maintaining cardiovascular health and in preventing and improving various complications related to diabetes. For this purpose, 28 male Sprague Dawley rats, were divided into four groups; control (K), vitamin D (VitD), diabetes (D) and Diabetes+Vitamin D (DVD). Group D and DVD were injected single dose of 50 mg/kg streptozotocin to induce diabetes, while K and D groups was administered an equal volume of citrate buffer solution intraperitoneally. After the diagnosis of diabetes, VitD and DVD groups were administered 1,25-dihydroxycholecalciferol 120 ng/100 g/once a week, subcutaneously for 6 weeks. Blood glucose levels, body weight and blood pressure measurements were recorded weekly. At the end of experiment, contraction and relaxation responses of thoracic aorta rings were evaluated in *in-vitro* organ bath. Diabetes decreased the body weights from week 1 ($P<0.001$). The mean blood glucose levels decreased in DVD group compared with D group at 5 and 6 weeks ($P<0.05$ and $P=0.069$, respectively). Diabetes decreased mean blood pressure values from the 2nd week ($P<0.01$). While the KCl contraction response was higher in the VitD group than the other groups ($P<0.01$), the phenylephrine contraction response was lower in the VitD and DVD groups ($P=0.076$). In addition, the acetylcholine relaxation responses of the diabetic groups were higher than the non-diabetic groups ($P=0.082$).

Experimental results showed that 1,25-dihydroxycholecalciferol in type 1 diabetic rats could lower blood glucose levels, but had no significant effect on blood pressure and aortic contraction and relaxation responses.

Keywords: 1,25 dihydroxycholecalciferol, acetylcholine, aorta, blood pressure, type 1 diabetes.

1. GİRİŞ

Günümüzde, diabetes mellitus (DM) giderek artan bir sağlık sorunudur. 2012-2015 yılları arasında, dünya genelinde diyabet vakalarının her yıl 1,5-5,0 milyonunun ölümle sonuçlandığı ya da her yedi saniyede bir kişinin diyabet hastalığı nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre, dünyada 2015 yılında 415 milyon diyabetli insan bulunmaktadır ve 2040 yılına kadar bu sayının 642 milyona yükseleceği düşünülmektedir. Avrupa'da diyabetli kişilerin sayısı 23,5 milyon ve tanısı yapılmamış vakalar da dahil 59,8 milyon (20-79 yaş arası nüfusun %9'u) olarak tahmin edilmektedir. Ayrıca, Avrupa'daki toplam sağlık harcamalarının %9'u diyabet için kullanılmaktadır. Diyabetin küresel yükünü ve yaşam ve ekonomi üzerindeki etkisini azaltmak için; etiyolojisi, patogenezi, patofizyolojisi ve tedavisine ilişkin araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (Petersmann ve ark, 2018).

Diyabet gelişiminde genetik yatkınlığın ve etki düzeyi gittikçe artan çevresel faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir (Rewers ve Ludvigsson 2016). Diyabetin vasküler komplikasyonları hastalığın erken evrelerinde ortaya çıkmakta ve diyabete bağlı mortalitenin önemli nedenleri arasında yer almaktadır (De Vriese ve ark, 2000). Vasküler komplikasyonlar; kalp-damar hastalıkları, körlük, böbrek yetmezliği ve alt ekstremitte amputasyonu gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Diyabetin vasküler komplikasyonları için geliştirilen terapötik yaklaşımlar; endotel hücrelerinde insülinle düzenlenen genlerin etkisini artırmak, antioksidan veya anti-oksidan üretimini artıran gen ekspresyonlarını uyarmak gibi koruyucu veya yenileyici faktörleri uyarmanın yanı sıra, hasar mekanizmalarının bloke edilmesini kapsamaktadır. Bu tür stratejiler, suboptimal metabolik kontrole rağmen komplikasyonları önlemeye yardımcı olmaktadır (Beckman ve ark, 2002).

Diyabet etiyolojisi ve etyopatogeneziyle mücadele stratejisinde vitamin D de yer almaktadır. D vitamini eksikliği, DM'nin başlaması ve ilerlemesi ile ilişkilendirilmekte ve D vitamini eksikliğinin DM için bir risk faktörü olabileceğine dair kanıtlar artmaktadır (Mathieu, 2015). D vitamini yetersizliği ve eksikliği dünya çapında küresel sağlık sorunu olarak kabul edilmekte, insanların yaklaşık %30-%50'sinin düşük D vitamini seviyesine sahip olduğu bildirilmektedir. Kalsiyum ve kemik metabolizmasındaki rolü iyi bilinen vitamin D'nin diğer dokularda da (immün sistem hücreleri, pankreas, damar endoteli vb) reseptörlerinin bulunması vitamin D'nin farklı fonksiyonları olabileceğini göstermiştir

(Bouillon ve ark, 2008; Christakos ve ark, 2015). Pankreatik beta hücreleri, vitamin D reseptörünü (VDR), vitamin D sinyalizasyonu ile ilgili diğer proteinleri ve vitamin D aktiveleştirici enzimleri eksprese etmektedir (Mathieu 2015). Hipovitamin D'nin varlığı raşitizm ve kırık riskini arttırmakla birlikte, düşük D vitamini düzeyleri hipertansiyon, kanser ve kardiyovasküler hastalıklarla da ilişkilendirilmektedir. Vitamin D eksikliğinde veya VDR yokluğunda damar yapı ve fonksiyonlarında bozulmalar şekillendiği, vitamin D düzeyi ve renin-anjiyotensin sistemi (RAS) arasında negatif korelasyon olduğu görülmektedir (Christakos ve ark, 2015). D vitamininin DM'li hastalarda, beta-hücrelerindeki koruyucu etkisi ile doğrudan ve immün yanıt üzerindeki etkisi ile dolaylı yoldan etkili olduğu düşünülmektedir. Tip 1 ve Tip 2 DM'nin önlenmesinde veya tedavisinde D vitamini takviyelerinin veya farmakolojik dozdaki tedavilerinin yararlı etkileri gösterilse de, buna ilişkin kanıtların çelişkili olduğu ve daha kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunduğu bildirilmekte, D vitamininin diyabetteki potansiyel faydalı etkileri tartışma konusu olmaya devam etmektedir (Bolluk ve Akbulut 2013; Mathieu, 2015).

Bu araştırmada, D vitamininin damar sağlığı ve diyabete ilişkin olumlu etkilerine dayanarak, tip 1 diyabetli sıçanlarda vasküler yanıt etkilerini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla vitamin D₃'ün aktif formu 1,25-dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol)'ün; kan glikoz düzeyi, kan basıncı ve aort kasılma ve gevşeme yanıtlarına etkileri sağlıklı sıçanlarda ve streptozotosin ile indüklenmiş 1 diyabet modelinde değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetin Tanımı

Diyabet, (diabetes mellitus) insülin üretiminin yetersiz olduğu ve/veya hücreler insüline tepki vermediği için kan şekerinin uzun süreli yüksekliğiyle ile karakterize metabolik bir hastalıktır. “Mellitus” kelimesi, bal gibi tatlı anlamına gelen latince bir kelimedenden türemiştir. Diyabetik hastaların kan şekerinin yüksekliği ve idrarının şekerli olmasından dolayı bu ifade kullanılmaktadır. Canlı hücreler için temel enerji kaynağı olan glikoz, vücutta üç besin maddesinden protein, yağ ve karbonhidratlardan sentezlenir, ancak en fazla karbonhidratlardan elde edilir. Glikoz metabolizması, normal fizyolojik işlevler için kritik öneme sahiptir ve çoğu hücre insülin yardımı olmadan glikozu kullanamaz (American Diabetes Association, 2013). İnsülin, pankreasın Langerhans adacıklarının β hücreleri tarafından salgılanan bir peptit hormonudur. İnsülin; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını düzenler, hücresel glikoz alımını hızlandırarak normal kan glikoz seviyelerini korur ve mitojenik etkileriyle hücre bölünmesini ve büyümeyi teşvik eder (Khan ve ark, 2018).

Tip 1 (tam insülin eksikliği), tip 2-(insülin direnci ya da insülin duyarlılığında azalma) ayrıca gebeliğin 2. ya da 3. döneminde ortaya çıkan gestasyonel diyabet olmak üzere üç farklı diyabet formu vardır (American Diabetes Association, 2014). Diyabetin en yaygın şekli Tip 1 (T1D) ve Tip 2 (T2D) diyabettir. T1D’de pankreas β -hücrelerinin yıkımına bağlı olarak insülin sekresyonu azalır. T1D’li hastalarda insülin salgısı azalmakta, bununla birlikte oluşan hiperglisemi glukagon sekresyonu ile baskılanmamaktadır. Sonuç olarak, T1D hastalarında bir takım metabolik bozukluklar ortaya çıkar (Labazi ve Trask, 2017).

İnsülin bağımlılığı olmayan veya erişkin başlangıçlı diyabet olarak adlandırılan T2D, diyabetin en yaygın formudur. Bu tipte, vücut insülin üretebilir, ancak hücreler insüline karşı direnç geliştirirler ve insülin etkisini gösteremez (American Diabetes Association, 2015). İnsülin direnci, normal veya yüksek insülin seviyelerinde zayıflamış bir biyolojik tepkinin sonucudur ve insülin aracılı glikoz alımına karşı duyarlılığın azalması anlamına gelir. İnsülin direnci durumunda normal kan glikoz düzeylerini korumak için insülin sekresyonu artar ve kompensatuvar hiperinsülinemi ortaya çıkar (Ansari ve ark, 2018). T1D’den farklı olarak, T2D hastalarında, dolaşımdaki insülin düzeyleri normal veya yüksek olmakla birlikte

genellikle insülin etkisine dirençlidirler. İnsülin direncinin T2D'nin birincil nedeni olduğu gerçeğinin yanı sıra, ileri T2D'li hastalarda insülin seviyesi de azalmıştır. Çoğu T2D hastası insülin direncine ve insülin eksikliğine sahiptir (Raju ve Raju, 2010). T2D yetişkinlerin bir hastalığı iken, günümüzde çocuklarda da görülmeye başlanmıştır. Aşırı kilo, fiziksel hareketsizlik ve kötü beslenmenin yanında etnisite, aile öyküsü, gestasyonel diyabet, ve ileri yaş gibi faktörler T2D diyabet gelişiminde önemli risk oluşturmaktadır. Diyabet yönetiminde erken tanı önemlidir. Günümüzde T1D önlenemese de, T2D egzersiz ve sağlıklı beslenme ile önlenabilmektedir (American Diabetes Association, 2014).

2.1.1. Diyabet Patofizyolojisi

Kan glikozunun yükselen seviyelerine yanıt olarak pankreas Langerhans adacıklarının β hücreleri tarafından insülin salgılanır.

İnsülin, periferik dokularda glikoz alımını uyarak kan glikoz seviyelerini düzenler, karaciğerde glikojenez yoluyla glikozun glikojen şeklinde depolanmasını artırır ve hepatik glikoz üretimini inhibe eder (Aronoff, 2017; Stumvoll ve ark, 2005).

Ayrıca insülin adipoz dokuda lipolizi inhibe eder (Bailey ve ark, 2010), protein sentez hızını artırır ve protein degradasyon oranını düşürür (Zha ve ark, 2018). İnsülin sekresyonu eksikliği ve insülin direnci nedeniyle, tüm besin maddelerinin metabolizması değişmektedir. İlk olarak, iskelet kası ve yağ dokusu gibi periferik dokularda glikoz alımı bozulur. Çevresel dokular tarafından glikoz alımının azalması glikoz metabolizma hızının düşmesine neden olur (Cersosimo ve ark, 2000).

İnsülin eksikliği veya insülin direnciyle karakterize diyabetik olgularda hepatositlerde glukokinaz ekspresyon düzeyi azalmaktadır (Haeusler ve ark, 2015). Glukokinaz enzimi, glikoz metabolizması sırasında karaciğer tarafından başlangıç olarak glikoz fosforilasyonunu katalize eder (Ferre ve ark, 1996). Bu nedenle, insülin eksikliğinde hepatositlerdeki düşük glikoz fosforilasyon hızı, kanda glikoz seviyesinin artmasına neden olur. İnsülin eksikliğinin diğer bir etkisi glikozun karaciğerde glikojen olarak depolanmasının azalması; sonuç olarak, kan glikoz seviyelerinin yükselmesidir (Guyton ve Hall, 2006).

İnsülin hepatositleri adipoz dokuda trigliseritleri sentezlemek ve depolamak için uyarır. İnsülin azlığında hepatositlerde, yağ yıkımındaki artışa bağlı ortaya çıkan asil-CoA'nın çoğunluğu keton cisimciklerine (asetoasetat ve β -hidroksibutirat) metabolize edilir. Keton

cisimciklerinin vücudun kullanabileceğinden fazla miktarda üretilmesi, T1D'li hastalarda daha belirgin olan ketoasidoza yol açar (Laffel 1999; Stojanovic ve Ihle 2011).

İnsülin eksikliği, proteoliz oranındaki artışa bağlı olarak plazmada yüksek amino asit konsantrasyonlarına neden olur. (Charlton ve Nair, 1998). Lizin ve lösin dışındaki tüm amino asitler, hiperglisemiye katkıda bulunan, karaciğer ve böbrek glikoneogenezisi için öncü olan glikoneojenik amino asitlerdir. Sonuç olarak glikoz konsantrasyonu böbrek geri emilim kapasitesini aştığında, ozmotik diürez, glikozüri ve dehidratasyon gelişir. Bunlar diyabetin karakteristik semptomları poliüri ve susuzluğa neden olur (Charlton ve Nair, 1998).

2.1.2. Tip 1 Diyabet

İnsüline bağımlı, çocuk veya çocukluk çağında başlayan diyabet olarak bilinir ve immün sistemin insülin üreten pankreatik beta hücrelerini istila ettiği bir otoimmün reaksiyon ile ortaya çıkar (American Diabetes Association, 2015).

T1D, vücutta yetersiz insülin üretimi ile ayırt edilir. Bu tip DM'de hastalar, kandaki glikoz seviyesini normalize etmek için günlük insülin uygulamasına ihtiyaç duyarlar. İnsülin alınmadığında hayatları tehlikeye girmekte ve ölümcül olabilmektedir. T1D'nin nedeni henüz tespit edilememiştir ve henüz önlenemez değildir (American Diabetes Association, 2015).

Çevresel risk faktörlerinin ve/veya viral enfeksiyonların DM şekillenmesinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Aşırı idrara çıkma ve susama, sürekli açlık, kilo kaybı, görme değişiklikleri ve yorgunluk bu tip DM'nin temel belirtileridir (American Diabetes Association, 2015).

Diyabetik hastalar, hastalıklarıyla ilişkili birçok soruna yatkındır. Bu komplikasyonlar akut veya kronik olarak sınıflandırılır. Akut komplikasyonlar arasında hipoglisemi, hiperglisemi ve diyabetik ketoasidoz (DKA) bulunur. Makrovasküler (ateroskleroz) ve mikrovasküler bozukluklar (nefropati, nöropati ve retinopati) ise diyabetin en sık görülen kronik komplikasyonlarıdır (Chiasson ve ark, 2003).

Akut komplikasyonlar öncelikle uygunsuz insülin replasman tedavisinden kaynaklanmaktadır. Hipoglisemi ve hiperglisemi, T1D için günlük bir olay olabilir. Klinik hipoglisemi, 60 mg/dl'nin altındaki kan glikoz seviyeleri olarak tanımlanır. Aşırı insülin, yetersiz veya gecikmiş karbonhidrat alımı ve aşırı fiziksel efor hipoglisemiye neden olabilir (Delaney ve ark, 2000). Aşırı miktarda insülin uygulandığında hipoglisemi oluşabilir. Bu, doğru insülin dozunun belirlenmesinde hasta tarafından yapılan bir yanlıştan kaynaklanıyor

olabilir. Yeme alışkanlıklarındaki değişiklikler yemeğin zamanı, miktarı ve içeriği bir hastayı hipoglisemiye yatkınlaştırabilir (Patton ve ark, 1999).

Azaltılmış veya gecikmiş karbonhidrat alımı (diyabetik gastroparezi, çölyak hastalığı veya kronik pankreatitten kaynaklanmaktadır), insülin biyoyararlanımı ve bağırsaktan glikoz Emilimi arasında uyumsuzluğa neden olabilir. İnsülin biyoyararlanımı ve insülin duyarlılığındaki dalgalanmalar da hipoglisemiye neden olabilir. Örneğin egzersiz, periferel kan akışını artırarak deri altı enjeksiyon bölgelerinden insülin emilimini artırır (artan insülin biyoyararlanımı). Egzersiz aynı zamanda hastanın insülin duyarlılığını artırır ve günlük insülin gereksinimlerini azaltır. İnsülin dozu belirlenmesinde dikkate alınmazsa, insülin biyoyararlanımı veya insülin duyarlılığındaki artış hipoglisemiye neden olacaktır (American Diabetes Association, 2014).

Hipogliseminin aksine, kan şekeri konsantrasyonlarını 130 mg/dl'nin altında tutmak için yeterli insülin bulunmadığında hiperglisemi ortaya çıkar. Hipoglisemiyi hızlandıran faktörlerin birçoğu (insülin tedavisinin yanlış yönetimi, yeme alışkanlıkları ve egzersiz rutinindeki dalgalanmalar) hiperglisemi ile de ilgilidir. Hipergliseminin semptomları arasında poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve yorgunluk sayılabilir. İnsanlarda kan glikozu belli bir eşiğin üstünde (180 mg/dl) olduğu zaman, böbreklerden filtre edilen glikozun tamamı geri emilemez ve glikozüri görülür (Feinkohl ve ark, 2014). Dehidrasyon, elektrolit dengesizliği ve bazı metabolitlerin fizyolojik olmayan birikimi yorgunluğa neden olur. DKA, diyabetik popülasyonda belirgin bir mortalite nedenidir (American Diabetes Association, 2014).

DKA'yı hiperglisemi ve hiperosmolar ketotik olmayan sendromdan ayıran, kanda keton vücutlarının birikmesidir. Hipoinsülinemi ve aşırı katabolik hormon kombinasyonu lipolizi teşvik eder. Karaciğerde, serbest yağ asitleri, keton cisimciklerinin (asetoasetat, aseton ve β -hidroksibutirat) oluşumuyla sonuçlanan ketogenezi besler. Keton cisimcikleri orta derecede güçlü organik asitlerdir ve birikimleri ketoasidoz ile sonuçlanır (Kitabchi ve ark, 2009).

Yeni tanı almış T1D hastalarının serumunda yüksek oranda adacık hücresi sitoplazmik antikorları (ICA) saptanmış ve bunların pankreas adacık hücreleri ile reaksiyona girdiği immüno Floresans çalışmalarında gösterilmiştir. Bu saptama, T1D hastalarında otoimmünite için ilk kanıt özelliği taşımaktadır. O zamandan beri, T1D'de insülin, glutamik asit dekarboksilaz (GAD65), protein tirozin fosfataz ile ilgili adacık antijeni 2 (IA-2) ve çinko taşıyıcı Slc30A8 dahil bir dizi otoantijen tanımlanmıştır (Honeyman ve ark, 1998).

Bazı çalışmalar, β hücre otoimmünitesinin yaşamın erken dönemlerinde indüklenebileceğini göstermiştir (Kan ve ark, 2000). Yaşamın ilk 2 yılında otoantikor gelişen çocuklar en sık çoklu adacık otoantikorları geliştiren çocuklardır (Kovacs ve ark, 1985).

Otoantikörler sadece 2 yaşından önce gelişmezler, fakat otoantikör geliştiren çocuklar daha sonra çoklu antikörlere ve tip 1 diyabete daha hızlı ilerlerler (Kovacs ve ark, 1985). Tip 1 D'de birincil otoantijen olup olmadığı konusunda fikir birliği yoktur. Pankreatik beta hücrelerine karşı otoimmünitenin başlangıcında üç veya daha fazla antijen olabildiği, ancak sonrasında hastalığı tetikleyen antijen miktarının artabileceği belirtilmektedir (Lehmann ve Deutsch, 1992).

2.1.2.1. Tip 1 diyabette genetik ve çevresel faktörlerin etkisi

Diabetes Mellitus'un metabolik özellikleri yanında kalıtsal olduğu eski zamanlardan beri araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Günümüzde anlaşıldığı gibi, diyabet sadece glikoz intoleransının görüldüğü basit bir hastalık değildir, ortaya çıkmasında çevresel faktörlerin etkilediği genetik heterojenite rol oynamaktadır. Beslenme, fiziksel aktivite azlığı gibi çeşitli çevresel faktörler diyabet insidansının artışında önemli yer tutmaktadır. Genetik yatkınlığı bulunan bireylerde bu genlerin çevresel faktörler tarafından modifikasyonu bireyi diyabetik yapabilmektedir (Kılıçlı ve Olmuşçelik, 2016).

İnsan ve hayvan çalışmalarında Tip 1 diyabetin çok sayıda genin kontrolünde gelişen bir bozukluk olduğu gösterilmiştir. Araştırma verileri, birinci derece akrabalarda T1D gelişme riskinin genel popülasyondaki alakasız bireylerden daha yüksek olduğunu göstermektedir (sırasıyla yaklaşık % 6 ve <% 1). Aile ve ikiz çalışmaları, T1D'de hem genetik hem de çevresel risk faktörlerinin etkili olduğu düşüncesini desteklemektedir. Monozigotik ikizlerin % 30-50 arasında bir hastalık uyum oranına sahip olduğu, dizigotik ikizlerin ise %6-%10 arasında bir uyumluluğa sahip olduğu görülmektedir (Redondo ve ark, 2008).

Tip 1 diyabette, normalde bağışıklık sisteminin çalışmasına yardımcı olan HLA genleri olarak adlandırılan genlerde farklılıklar görülür. Ek olarak, farklılıklarının Tip 1 diyabet riskini artırabileceği muhtemelen en az 16 tane daha DNA alanı vardır. Genomun 20'den fazla bölgesi, T1D'ye karşı genetik duyarlılığa dahil olabilmektedir. Diyabet gelişme riskiyle ilişkili genler içerisinde en önemlileri IDDM 1 ve IDDM 2'dir. IDDM 1 geni 6. kromozomun kısa kolu üzerinde (6p 21), IDDM2 ise 11p15.5 kromozom bölgesinde yer alır ve insülin geni olarak adlandırılır. IDDM1, HLA (Human Leucocyte Antijen) bölgesinde bulunan spesifik otoimmüniteden sorumlu Class II molekülleri ile ilişkilidir. Class II HLA genleri, antijen sunumuna katılan molekülleri kodlamaktadır. Class II molekülleriyle ilişkili genler immun aktiviteyi dengelemektedir; bir kısmı otoimmun aktivitenin başlamasında ve ilerlemesinde

etkiliyken, bir kısmı da bu aktiviteyi baskılamaktadır. HLA Class II genlerindeki alelik değişkenliği T1D için kalıtsal riskin yaklaşık% 40-50'sine katkıda bulunur. Bu genlerde herhangi bir sorun olmadığında çevresel faktörler tek başına Tip1 diyabet gelişimine neden olmamaktadır (Kumar ve ark, 2015; Dorman ve Bunker, 2000).

Çevresel faktörler, tip 1 diyabetin patogeneğinde, hem beta-hücre yıkımının tetikleyicileri hem de güçlendirici faktörleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Parker ve ark, 2001). Tip 1 diyabet insidansında hatırı sayılır bir artış, özellikle Avrupa'da, son on yılda küresel olarak belgelenmiştir. Dik artışın, yalnızca popülasyondaki genetik hastalık duyarlılığının artmasından dolayı değil, yaşam tarzı ve çevresel değişikliklerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Akasaka ve ark, 2017).

Göçmen çalışmalarından elde edilen veriler, tip 1 diyabetin görülme sıklığının, çevre koşullarının etkisine vurgu yaparak, düşük insidans bölgesinden yüksek insidans alanına taşınan popülasyon gruplarında arttığını göstermektedir. HLA genotipleri üzerine yapılan araştırmalar, yüksek riskli DR ve DQ allelleri olan bireylerin oranının, yeni tanı almış tip 1 diyabet hastaları arasında son on yılda azaldığını, düşük riskli ve hatta koruyucu HLA genotipleri olan kişilerin oranının arttığını göstermiştir (Chia ve ark, 2018).

Bazı diyeter faktörler ve virüsler gibi çeşitli dış tetikleyicilerin, geniş beta hücre yıkımına ve nihayetinde tip 1 diyabetin şekillenmesine yol açan bağışıklık aracılı işlemi başlattığı düşünülmektedir (Russell ve ark, 2016; Wei ve ark, 2017a). Son yarım yüzyılda değişen çevresel etkilere perinatal faktörler (Ismail ve ark, 2017), bebeklik döneminde kilo artışı (Rewers ve Ludvigsson, 2016), güneş ışığına yetersiz maruziyet ve D vitamini yetersizliği (Wimalawansa, 2016), farmasötik ürünlerin kullanımı (örneğin antibiyotikler), sosyoekonomik faktörler (Walker ve ark, 2015) ve psikolojik faktörler de (Martinez ve ark, 2018) dahil edilebilir.

Kısacası, genetik faktörlerden güçlü bir şekilde etkilenmesine rağmen, T1D basit bir kalıtım kalıbına uymamaktadır ve karmaşık, çok faktörlü bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Noble ve Erlich, 2012).

2.1.2.2. Tip 1 diyabette damar yapısı ve fonksiyonları

Diyabet, yalnızca metabolik bir hastalık değildir, aynı zamanda, yaygın vasküler komplikasyonlara yol açan, hücresel homeostazın değişimini indükleyen kronik hiperglisemi ile karakterize vasküler bir hastalık olarak kabul edilir (Giugliano ve ark, 1996). T1D'li

populasyonlarda, hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve sigara içme gibi risk faktörleri ile birlikte kardiyovasküler hastalığa bağlı ölüm oranlarında artışlar devam etmektedir. Yoğun insülin tedavisi uygulandığında kardiyovasküler hastalık geçirme riskinde % 42, miyokard enfarktüsü, inme veya ölüm riskinde %57 oranında bir azalma görülmektedir (Giugliano ve ark, 1996).

T1D'li populasyonlarda kardiyovasküler hastalık prevalansı büyük ölçüde mikro ve makro damar düzensizliğine bağlanabilir. Mikrovasküler bozukluklarda küçük direnç arterleri, arteriyoller ve kılcal damarlar etkilenir ve bu durum genellikle retinopati, nefropati ve nöropati ile sonuçlanır. Makrovasküler bozukluklarda ise daha çok periferik arterler, koroner arterler ve beyin arterleri etkilenir (Endemann ve Schiffrin, 2004).

T1D'deki vasküler disfonksiyon esas olarak kronik hiperglisemiye bağlanmıştır. Bununla birlikte, T1D'de insülin sinyalizasyonu ile ilişkili değişikliklerin vasküler disfonksiyona katkıda bulunabileceği bildirilmektedir. Vasküler insülin direnci olarak adlandırılan bu durum insülinin damarlar üzerindeki direkt vazodilatör etkileriyle ilişkilidir. (Feener ve King, 1997).

2.1.2.2.1 Diyabetin makrovasküler komplikasyonları

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar (inme) ve periferik arter hastalığı (PAD) şeklinde kendini gösterir. Makrovasküler komplikasyonların ana mekanizması aterosklerozdur. Kardiyovasküler hastalıklardan koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsü diyabetli hastalar arasında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Diyabete bağlı hiperglisemi, aterosklerotik süreci potansiyel olarak hızlandıran, hücresel seviyede çok sayıda değişikliğe neden olan önemli bir faktördür (Aronson ve Rayfield, 2002).

Diyabete eşlik eden anormal metabolik durum doğrudan ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur; proaterojenik değişiklikler vasküler inflamasyondaki artışları ve çoklu hücre tiplerindeki değişiklikleri içerir. Diyabetli kişilerde arteriyel hastalıkların prognozu diyabetik olmayan hastalara göre daha kötüdür (Jude ve ark, 2001). Diyabetli kişilerin, koroner arter hastalığı ve ilk miyokard enfarktüsü (MI) gelişmesi için 5 kat daha fazla riske sahip olduğu, 65 yaş ve üstü diyabetik bireylerin % 70'inin kalp hastalıklarından öldüğü bildirilmiştir (Haffner ve ark, 1998).

Ateroskleroz, endotelde yaralanmaya yanıt olarak başlatılan ve okside olmuş lipoproteinler, özellikle düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), T lenfositler, makrofajlar ve arteriyel duvarın diğer bileşenleri arasındaki etkileşimler yoluyla ilerleyen kronik yangısal bir durumdur (Atkinson ve Maclaren, 1994).

Endotelde okside olmuş LDL partiküllerinin birikmesinden sonra, monositler arter duvarına sızar ve okside olmuş lipidleri biriktiren makrofajlara farklılaşarak köpük hücrelerini oluşturur. Oluşan köpük hücreleri, makrofaj proliferasyonunu ve T lenfositleri uyarır (Lopes-Virella ve ark, 1999).

T-lenfositleri, sırayla, arter duvarlarında kollajen birikimini ve düz kas proliferasyonunu indükler. Sonuç olarak lipit bakımından zengin bir aterosklerotik plak oluşur. Aterosklerozun sonucu olarak ortaya çıkabilecek hastalıklardan en yaygın olanı koroner kalp hastalığıdır. Koroner arter hastalığında, aterosklerotik plaklar, koroner arterlerin çapının daralmasına ve sonuç olarak koroner arteriyel gerginliğin artmasına neden olur (Roberts, 1998; Ishida ve Sakuma, 2014).

Ayrıca, yüksek C-reaktif protein (CRP) seviyeleri ve PAD gelişimi arasında güçlü bir ilişki vardır ve vasküler tonda anormal düzenlemelere yol açar (Ridker ve ark, 1998). CRP, doku faktörü ekspresyonunu artırarak prokoagülan etki gösterir (Cermak ve ark, 1993). CRP, plazminojenden fibrinolitik plazmin oluşumunu engelleyen plazminojen aktivatör inhibitör-1 üretimini artırabilir (Devaraj, ve ark, 2003). Ek olarak, CRP ayrıca eNOS'u inhibe eder (Signorelli ve ark, 2014; Venugopal ve ark, 2002) Genel olarak, tüm bu faktörler, damar duvarının, diyabetik hastaların periferik arterlerinde ateroskleroz oluşumuna karşı duyarlılığı arttırmaktadır. Son yirmi yıl boyunca, endotel disfonksiyonunun ateroskleroz gelişiminde anahtar bir erken adım olduğu, aynı zamanda plak progresyonu ve aterosklerotik komplikasyonların oluşumunda rol oynadığı iyi bilinmektedir (Anderson ve ark, 1995).

2.1.2.2.2. Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları

Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları arasında; retina, böbrek ve nöronların mikro damar yapısının zarar görmesinden kaynaklanan diyabetik retinopati, nefropati ve nöropati bulunur. Hedef organlardaki farklılıklara rağmen, mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde temel patofizyolojik mekanizmalar benzerdir (Stratton ve ark, 2000).

Hiperglisemi, mitokondriyal süperoksit anyon üretimi yoluyla doku hasarına neden olur. Hiperglisemi; reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler)

retimi, protein kinaz C gibi sinyal kaskadlarının anormal aktivasyonu gibi metabolik ve yapısall düzensizliklerle birlikte diyabetik vasküler komplikasyonları başlatır (Brownlee, 2001). Hiperglisemiden zarar gören hücreler, retinadaki kapiller endotel hücrelerini, böbrek glomerlndeki mezengial hücreleri ve periferik sinirlerdeki nöron ve Schwann hücrelerini içerir (Fowler, 2008). Bu hücreler özellikle yüksek risk altındadır, çünkü hiperglisemi sırasında glikoz alımını etkili bir şekilde düzenleyemezler (Kaiser ve ark, 1993; Heilig ve ark, 1995).

Diyabetik retinopati, gözleri etkileyen diyabetik komplikasyondur. Mikrovasküler komplikasyonlar periferik retina, makula veya her ikisini de etkileyebildiği için insanlardaki körlüğün önde gelen nedenlerinden biridir. Klinik olarak, diyabetik retinopati, proliferatif olmayan ve proliferatif hastalık aşamalarına ayrılır. Erken evrelerde, hiperglisemi intramural perisit ölümüne ve bazal membran kalınlaşmasına neden olabilir, bu da retinadaki kan damarlarının bütünlüğünde değişikliklere katkıda bulunur, kan-retinal bariyeri ve damar geçirgenliğini değiştirir (Tchobroutsky, 1978). Ayrıca, kan damarları ve kapiller tıkanıklıkta artan inflamatuvar hücre yanıtı, retinada hipoksi ile sonuçlanabilir (Kohner ve ark, 1995). Gelişen olaylar makula ödemi olarak adlandırılan, retina içindeki neovaskülarizasyon ve sıvı birikiminin, görme bozukluğuna katkıda bulunduğu proliferatif faza doğru ilerler. Diyabetik retinopatinin gelişiminde ve ilerlemesinde en önemli faktör, zayıf glisemik kontroldür (Henricsson ve ark, 1997). Ayrıca, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet süresi ve sigara içme gibi diğer faktörler de diyabetik retinopati gelişiminde rol oynamaktadır. (Kempen ve ark, 2004).

Diyabetik nefropati, böbrekleri etkileyen diyabetik komplikasyondur. Diyabetik nefropatinin karakteristik özellikleri; glomerüler bazal membranların kalınlaşması, glomerüler hiperfiltrasyon ve podosit kaybı, mezanji (ekstraselüler matriks genişlemesi), mikro ve makroalbüminüri ile sonuçlanan idrar albümin miktarının artmasıdır. Diyabetik nefropatinin diğer özellikleri arasında artmış serum kreatinin, kan basıncı, glomerüler ve tübüler skleroz ile birlikte gelişen böbrek yetmezliği yer alır (Van Dijk ve Berl, 2004). Hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi, sigara ve genetik risk faktörleri, diyabetik nefropati gelişimi için başlıca risk faktörleri arasında bulunur (Molitch ve ark, 2004).

Diyabetik (periferik) nöropati, sinirleri besleyen mikro damar sisteminin işlevsizliği ile karakterizedir. Oksidatif stres artışı endotel disfonksiyona neden olarak nöronal fonksiyon bozukluğuna yol açar (Feldman, 2003). Endotel disfonksiyonu sonrasında azalan kılcak kan akışı, azalan sinir perfüzyonu ve nöronal hipoksi sonucunda nöronal disfonksiyon, demiyelinizasyon, aksonal dejenerasyon, bazal membran kalınlaşması, perisit kaybı, ve

mikrofilament kaybı (yani aktin ve miyozin içeren sitoskeletal filamanlar) ortaya çıkar (Dyck ve Giannini, 1996). Diyabetik nefropatide olduğu gibi, periferik nöropatide de; zayıf glisemik kontrol (yüksek glikasyonlu hemoglobin seviyeleri ve bozulmuş glikoz toleransı), yaş, diyabet süresi, tütün kullanımı, dislipidemi ve hipertansiyon (özellikle diastolik) önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır (Atkinson ve Maclaren, 1994).

2.2. Vasküler Homeostazisin Kontrolünde Endotelin Kilit Rolü

Arter duvarının üç katmanı vardır: intima, medya ve adventisya. İntima, lümen yüzeyini kaplayan endotelden oluşan en iç katmandır. Uzun yıllar boyunca, bu hücre katmanının dolaşımdaki kanla altta yatan dokular arasında fiziksel bir engel olduğu düşünülüyordu. Günümüzde ise, vasküler tonusu ve kan akışkanlığını düzenleyen, trombosit agregasyonunu, ayrıca inflamasyon ve anjiyogenezi düzenleyen bir dizi madde salgılayan önemli bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir (Dhalla ve ark, 2000).

Damar endotelinden vasküler tonusu ve kan akışını düzenlenmek için; nitrik oksit (NO), prostasiklin ve endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF) gibi vazodilatör etkili maddeler ve ayrıca endotelin-1 (ET-1) ve anjiyotensin II gibi vazokonstriktör etkili maddeler salgılanır (Rubanyi, 1993; Cai ve Harrison, 2000).

Endotel hücreleri ayrıca, protein ve lipidlerin oksidasyonu ve nitrolizasyonunda rol oynayan reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) oluşumunu ve hücre büyümesini teşvik eden büyüme faktörlerinin salınımını düzenler (Galley ve Webster, 2004).

Patolojik koşullarda, vazokonstriktörlere, proliferatif ve inflamatuvar maddelere doğru bir kayma vardır. Bu nedenle, endotel disfonksiyonu, endotel hücrelerinin bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon, protrombotik ve proinflamatuvar bir durumuyla karakterize edilir. Hipertansiyon, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, diyabet, sepsis, obezite ve yaşlanmada endotel fonksiyon değişiklikleri görülmektedir (Widlansky ve ark, 2003). Endotel disfonksiyonu çoğu kardiovasküler hastalık formunun erken ve bağımsız bir göstergesidir (Endemann ve Schiffrin, 2004).

2.2.1. Endotel Kaynaklı Gevşetici Maddeler

Endotel tarafından salgılanan en önemli endotel kaynaklı gevşetici faktörler (EDRF); nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI_2) ve endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktördür (EDHF). Üç madde her zaman eşit derecede önemli değildir. NO büyük arterlerde baskın olabilir, oysa EDHF daha küçük kan damarlarında veya NO salınımı kesildiğinde koroner arterler gibi bazı büyük arterlerde vazodilatör etkiyi üstlenebilir (Leung ve Vanhoutte, 2017).

2.2.1.1. Nitrik oksit

Endotel kaynaklı vazodilatörler arasında nitrik oksit (NO), merkezi bir pozisyonundadır çünkü endotel NO salınımındaki değişiklikler, vasküler homeostazın bozulmasında ve çeşitli kardiyovasküler bozukluklarla ilişkili endotel disfonksiyonunun gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Schmidt, 2012).

Furchgott ve Zawadzki (1980) damar endotelinin, endotelyum gevşetici faktör (EDRF) olarak tanımlanan, damar düz kasını gevşeten bir faktör salgıladığını keşfetmişlerdir ve bu faktör daha sonra NO olarak tanımlanmıştır. NO, endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi ile L-arginin'den sentezlenir. eNOS, kalsiyum-kalmodulin (Ca_2^+/CaM), flavin adenin dinükleotit (FAD) gerektiren NADPH'ye bağlı bir enzimdir (Forstermann ve Munzel, 2006).

NO, guanilat siklaz aktivasyonu ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimi sonucunda hücre içi kalsiyumu azaltarak damar düz kas hücreleri üzerinde vazodilatör etki oluşturur. Endotelde NO, vasküler tonusu ve kan basıncını kontrol etmede çok önemli bir rol oynar (Moncada ve Higgs 1993). NO, damar genişletici etkisinin yanı sıra, damar duvarı üzerinde trombosit ve lökosit etkileşiminin önlenmesi, düz kas hücresi çoğalmasının ve göçünün önlenmesi ve inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesi gibi sayısız koruyucu yararlar sağlar. Bu nedenle antiaterojenik ve antitrombotik bir molekül olarak kabul edilir (Lloyd-Jones ve Bloch, 1996; Davignon ve Ganz, 2004).

NO üretimi; eNOS mRNA ve protein ekspresyonuna, kaveolin, kalmodulin ve ısı şok proteini (HSP90) ile etkileşimine ve birkaç fosforilasyon (Rafikov gibi translasyonel modifikasyonlar) faktörüne bağlıdır (Garcia-Cardena ve ark, 1998).

NO üretimi ayrıca, arginini ornitine ve üreye katalize eden arginaz enzimi miktarına bağlıdır. Arginaz enzimi arginin için eNOS ile rekabet edebilir (Stuehr, 2004). Kofaktörlerin [tetrahidrobiopterin (BH_4), NADPH ve Ca^{+2}] mevcudiyeti de NO üretimini etkiler (Katusic,

2001). Dihidrobipterin (BH2)'nin oksidasyonu ile meydana gelen BH4 kaybı eNOS için BH4 biyoyararlanımında azalmaya yol açmaktadır (Laufs ve Liao, 1998).

2.1.1.2. Prostatiklin

Prostatiklin (PGI₂), endotel siklooksijenaz (COX) metabolitlerinin başlıcası kabul edilir (Bogatcheva ve ark, 2005). PGI₂, nörohumoral mediyatörlere ve akan kanın uyguladığı shear stress gibi fiziksel kuvvetlere cevap olarak endotel hücrelerinde COX tarafından araşidonik asitten üretilir (Furchgott ve Vanhoutte, 1989; Okahara ve ark, 1998). Sentezden sonra PGI₂, düz kasa yayılır, burada G-protein-bağlı reseptörler yoluyla adenilat siklazı aktive eder, bu da, kinaz A'yı aktive eden 3',5'-siklik adenosin monofosfat (cAMP) üretiminin artmasına neden olur (Bogatcheva ve ark, 2005).

Protein kinaz A'nın aktivasyonu, K⁺ kanallarının açılmasına ve düz kas hiperpolarizasyonuna neden olur (Parkington ve ark, 2004). Ek olarak, gerilime duyarlı Ca⁺² kanalları kapanır ve hücre içi serbest Ca⁺² konsantrasyonunun azalmasıyla damar düz kasında gevşeme meydana gelir. Ayrıca, PGI₂ trombosit agregasyonunu inhibe eder ve trombosit ve lökositlerin damar duvarına yapışmasını önler (Chia ve ark, 2018).

2.2.1.3. Endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktörü

Çeşitli kan damarlarında, endotel bağımlı gevşemelere endotel kaynaklı hiperpolarizasyon (EDH) eşlik eder. Endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktörü (EDHF) aracılı dilatasyon, bir NOS veya COX metabolitinden bağımsız olarak gerçekleşir (Feletou, 2011). EDH, endotelial kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarının (IKCa) açılmasıyla başlatılır; salınan potasyum iyonları daha sonra altta yatan düz kas hücrelerine yayılır ve hiperpolarizasyona ve dolayısıyla gevşemeye neden olur (Busse ve ark, 2002). EDH'ye dahil olan mekanizma, türlere ve kan damarı tiplerine göre değişir. Bununla birlikte, endotel aracılı potasyum kanalları (IKCa) ve zayıf iletken kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarının (SKCa) aktivasyonu EDH yolağının karakteristiğidir (Leung ve Vanhoutte, 2017).

EDHF aracılı mekanizmaların NO aracılı mekanizmalara göreceli önemi damar büyüklüğüyle ilişkilidir. NO, nispeten büyük arterlerde ve daha büyük arteriyollerde endotel bağımlı vasküler tonus mediyatörüdür. EDHF'ler küçük arterlerin vazodilatasyonunda rol

oyunar ve periferik direncin düzenlenmesine katkıda bulunur (Feletou ve Vanhoutte, 1988). IKCa ve SKCa-aracılı EDH, yaşlanma ve hipertansiyon ile gelişen endotel disfonksiyonu ile birlikte azalır. Bozulmuş EDH aracılı gevşeme, SKCa'da azalma ile ilişkilidir, böylece yanıt IKCa'ya daha bağımlı hale gelir (Leung ve Vanhoutte, 2017).

2.2.2. Endotel Kaynaklı Kontraksiyon Faktörleri

Damar endoteli, endotel kaynaklı kontraksiyon faktörleri (EDCF) olarak adlandırılan bazı maddeler salgılar ve bu maddeler altta bulunan damar düz kasının kasılmasına neden olurlar. Bunların başlıcaları prostaglandin $H_2(PGH_2)$, tromboksan 2 (TX_2), lökotrienler, endotelin 1 (ET-1) ve süperoksit anyonlarıdır. Damar tonusunun düzenlenmesinde endotel kaynaklı kontraksiyon faktörleri gevşetici faktörler kadar iyi tanımlanmış olmasa da özellikle hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite, diyabet ve yaşlanmada öne çıkan mediyatörlerdir (Furchgott ve Vanhoutte 1989; Gollasch, 2002). Bununla birlikte endotel kaynaklı kontraksiyonlar genç ve sağlıklı bireylerin arter ve venlerinde de meydana gelmektedir (Wong ve ark, 2009).

Endotel bağımlı gevşemeler ve kasılmalar arasındaki hassas denge vasküler homeostazisin sürdürülmesinde önemlidir. Gevşetici sinyallerin üretimindeki azalmayla birlikte EDCF'lerin artması endotel disfonksiyonunun temel özelliğidir. Endotel bağımlı kasılmalar; oksidatif stres, yaşlanma, spontan hipertansiyon ve diyabet gibi nitrik oksit üretiminin bozulduğu durumlarda şiddetlenir. Endotel bağımlı kasılmalardan sorumlu olan EDCF türü, büyük ölçüde hastalığın etiyolojisine, çalışılan hayvan türüne veya inceleme için seçilen spesifik vasküler yatağa bağlıdır (Vanhoutte ve ark, 2017).

EDCF'lerin bir kısmı PGH_2 , TX_2 , lökotrienler ve süperoksit anyonları siklooksijenaz (COX) yolağı ürünleridir. Çoğu endotel kaynaklı kontraksiyon non-spesifik COX inhibitörleri tarafından inhibe edilebilmektedir (Miller ve Vanhoutte, 1985). Vazokonstriktör prostenoidlerin damar düz kasından ziyade endoteliyal COX tarafından üretildiği belirtilmektedir (Yang ve ark, 2003). COX yolağının iki izoenziminden COX-1'in yapısal olarak endotelde bulunduğu ve kontraksiyon faktörlerinin üretiminde bu enzimin daha etkin olduğu bildirilmiştir. COX-2'nin de yapısal olarak eksprese edildiği ancak indüklenmiş durumlarda örneğin hipertansiyonda ve endotel disfonksiyonda major izoformun COX-2 olduğu belirtilmektedir (Virdis ve ark 2013, Vanhoutte ve ark 2017). Sonuç olarak her iki izoformun da aktivasyonu endotel kaynaklı kontraksiyona yol açmaktadır. Bununla birlikte

spesifik COX izoformlarının kontraksiyona olan katkısı, çalışılan belirli bir arter içindeki göreceli ifadelerine bağlıdır (Vanhoutte, 2013). Serbest radikaller EDCF salınımı için hem tetikleyici hem de güçlendirici olarak etki etmektedir (Vanhoutte ve ark, 2017). Süper oksid anyonları EDRF-NO'yu etkisiz hale getirerek endotel bağımlı kasılmaların oluşumunu kolaylaştırır (Rubanyi ve Vanhoutte 1986). Belirli koşullar altında örneğin hipoksik koşullarda nitrik oksidin kendisinin bile cGMP yerine siklik inosin monofosfat (cIMP) üretilmesine yol açarak vazodilatasyondan çok vazokonstrüksiyona yol açabileceği bildirilmiştir (Vanhoutte ve ark, 2017).

2.2.3. Endotel Disfonksiyonu ve Diyabet

Endotel disfonksiyonu, endotelium gevşetici ve büzücü faktörlerinde bir dengesizlik olması durumunda meydana gelir. Bu durum, vazodilatör NO'nun biyoyararlanımındaki bir azalmadan veya vazokonstriksiyon, yangı veya trombozda yer alan moleküler yolların tercih edilmesinden kaynaklanır. T1D, NO'nun azalmış üretimi ve biyoyararlanımı ile karakterize endotel disfonksiyonuyla ilişkilidir (De Vriese, 2000).

Endotelden salınan vazoaktif moleküllerin dengesizliği; vazokonstriksiyon, prooksidasyon, lökosit yapışması, trombosit aktivasyonu, tromboz, bozulmuş pıhtılaşma, vasküler inflamasyon, mitogenez, artmış geçirgenlik ve ateroskleroz ile kendini gösterir. Endotel disfonksiyonu sıklıkla diğer vasküler hastalık kanıtlarından önce gelir ve ateroskleroz, arteriyoskleroz, hipertansiyon, periferik nöropati ve metabolik fonksiyon bozukluğu gibi kardiyovasküler hastalığa eşlik eden ve hastalıklara katkıda bulunan birincil faktördür. Endotel disfonksiyonunun kardiyovasküler risk faktörlerine cevap olarak ortaya çıktığı ve ateroskleroz gelişiminden önce şekillendiği kabul edilmektedir (Ross, 1999; Shimokawa ve ark, 1999).

Kronik hipergliseminin vücuttaki çoğu hücrede, özellikle de glikoz alımı için insüline tamamen bağımlı olmayan bir hücre tipi olan vasküler endotel hücreleri üzerinde zararlı etkileri olabilmektedir (Halcox ve ark, 2002). Endotel hücrelerinde hücre içi glikoz konsantrasyonlarının, hücre dışı ortamdakine yansıdığı gösterilmiştir. Endotel hücreleri, T1D hastalarında olduğu gibi yüksek kan şekeri konsantrasyonlarına maruz kaldığında, reaktif oksijen türlerinde (ROS) artışa neden olan büyük bir glikoz akışı yaşar. Süperoksit anyonu gibi artmış ROS, NO'yu peroksitit oluşturarak etkisiz hale getirebilir; bu, eNOS'un ayrışmasına ve NO üretiminin azalmasına neden olabilir (Vanhoutte ve ark, 2009).

Hiperglisemiye cevap olarak mitokondri tarafından aşırı ROS üretilmesi, polyol yolağı, hücre içi ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu, protein kinaz C (PKC) aktivasyonu ve heksozamin yolu akısını artırarak endotel disfonksiyonunu güçlendirir. Bu nedenle, T1D'deki vasküler komplikasyonların patogenezinde önemli itici kuvvetin, hiperglisemi ile ilişkili endotel disfonksiyonu ve oksidatif stres olduğuna inanılmaktadır. Gerçekten de, T1D'deki endotel disfonksiyon derecesinin uzun süreli glisemik kontrolün bir göstergesi olan HbA1c ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Roberts, 1998).

Endotel disfonksiyonu, adezyon moleküllerinin düzenlenmesi, artmış kemokin salgılanması ve lökosit yapışması, artmış hücre geçirgenliği, artmış LDL oksidasyonu, trombosit aktivasyonu, düz kas hücre proliferasyonu ve göçü gibi aterosklerozun erken ve geç mekanizmalarını teşvik ederek aktif olarak lezyon oluşum sürecine katılır. Endotel disfonksiyonu bilinen tüm KVH'lerin patogenezi ve klinik seyri ile ilişkilidir (Schächinger ve Zeihe 2000; Verma ve Anderson, 2002).

Yukarıda açıklanan tüm bu fenomenlerin birleşimi endotel disfonksiyonuna yol açar ve mikro ve makro-vasküler hastalığın gelişimi için temel sağlar. Bu nedenle, diyabet, çok sayıda vasküler yatağın makro ve mikrosirkülasyonu üzerindeki etkisinden dolayı vasküler bir hastalık olarak kabul edilir. (Nitenberg ve ark, 1993; De Vriese ve ark, 2000).

T1D ve T2D'li hastalarda endotel disfonksiyonu kanıtlanmıştır (Hogikyan ve ark, 1998; Watts ve ark, 2002; Avogaro ve ark, 2001). Bu hastalarda endotel disfonksiyonun belirteçleri olan; NO üretiminde azalma, (Lin ve ark, 2002; Tessari ve ark, 2010), trombosit agregasyonunda artış (Kajita ve ark, 2001; Vinik ve ark, 2001; Angiolillo ve ark, 2007), adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artış (Bai ve ark, 2003; Nozaki ve ark, 2002), kemokinler, sitokinler (Alba ve ark, 2008; Cunha-Neto ve ark, 2009), ve endotelial ROS üretiminde artışlar görülmüştür (Kolluru ve ark, 2012).

Çeşitli risk faktörleri, diyabetik koşullar altında arter fonksiyonlarının değişimini indüklemek için birleşir. Bu faktörler insülin direnci, hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon, oksidatif stres ve genetik yatkınlığı içerir. Ek olarak, AGE ve serbest yağ asitleri artışı, dolaşımdaki proinflamatuvar ve protrombotik sitokinler endotel disfonksiyonunun artmasına katkıda bulunur (Kaur ve ark, 2018).

Ayrıca, fiziksel hareketsizlik, sigara içmek, kötü beslenme ve alkol tüketimi gibi çoklu yaşam tarzı davranışları endotel disfonksiyonunun indüklenmesine katkıda bulunur (Pilacinski ve Zozulinska-Ziolkiewicz, 2011; Patino-Alonso ve ark, 2014). Temel mekanizmalar olan hiperglisemi, insülin direnci, hiperinsülinemi ve artmış serbest yağ asitlerinin endotel disfonksiyonuna yol açabileceği gösterilmiştir (Beckman ve ark, 2002).

T1D ve T2D'li hastalarda, iskelet kasları glikoz ve serbest yağ asitlerinin kullanımını azaltır, hiperglisemiye ve dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin artmasına neden olur. Serbest yağ asitlerindeki bu fazlalık, trigliserit bakımından zengin lipoprotein parçacıklarının aşırı üretilmesine yol açacaktır. HDL'deki azalmaya hipertrigliseridemi eşlik eder. Son olarak, glikozillenmiş makromoleküllerden AGE oluşumu, farklı mekanizmalar yoluyla damara zarar verebilmektedir (Dorr ve ark, 2005).

2.2.4. Vasküler İnsülin Direnci

Metabolik etkilerine ikincil olarak, insülin önemli bir vazodilatör görevi görebilir. Endotel bağımlı vazodilatasyon, insülin molekülünün reseptörüne bağlanmasını ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt sinyal yolunun aktivasyonunu takiben meydana gelir. Daha sonra, eNOS'un fosforlanmış formu ile NO üretilir. İnsülin ayrıca Ca^{+2} kullanım ve duyarlılığını modüle ederek damar düz kas hücrelerinde doğrudan etkiyle vazodilatasyona neden olabilir (Celermajer, 1997).

İnsülin ile indüklenen vazodilatasyonun, iskelet kasına insülin ve glikozun verilmesine yardımcı olmak için gerçekleştiğine inanılmaktadır. İnsülin daha sonra ET-1'i serbest bırakan Ras/mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolunu aktive ederek endotel bağımlı vazokonstriksiyona neden olabilir. T1D'i olan popülasyonlarda insülinin vasküler etkileri azalabilir. Damardaki insülin direnci, azalmış PI3KAkt sinyali (vazodilatasyon) ve artmış MAPK sinyali (vazokonstriksiyon) ile karakterizedir (Drexler ve Hornig, 1999).

Damar üzerinde insülin eksikliğine bağlı işlev bozuklukları endotel disfonksiyonu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durum erken bir biyolojik belirteç olarak kendini göstermekte ve vasküler hastalık gelişiminin erken tedavisine olanak tanımaktadır. Vasküler insülin direnci; MAPK insülin sinyal yolağını aktifleştirerek adezyon moleküllerinin bağlanmasında, yangı ve net vazokonstriksiyonda bir artışa neden olarak damar sağlığı için zararlıdır. Ayrıca, direnç arterlerinde bozulmuş insülin kaynaklı dilatasyon, glikoz ve insülinin iskelet kasına daha az verilmesine neden olur, bu da glisemik kontrolün bozulmasına neden olabilir (Vanhoutte ve ark, 2009).

Makrovasküler yapılarda vasküler insülin direnci ateroskleroza yatkınlığa neden olabilir. İnsülin reseptör geninden yoksun olan aort hücreleri, yüksek plazma lipidleri veya hipertansiyon yokluğunda da aterosklerozun ilerlemesini hızlandırır. Vasküler insülin direnci

damarlara özgüdür, çünkü T1D'de bozulmuş insülin kaynaklı vazodilatasyon tüm vücutta insülin direnci olmadan da meydana gelebilir (Vanhoutte ve ark, 2009).

2.3. D Vitamini

1800'lerin sonlarında ve 1900'lerin başlarında epidemik bir hastalık olan raşitizmde, morina karaciğeri yağının ve cildin UV ışığına maruz kalmasının iyileştirici özellikleri, 1919 ve 1924 yılları arasında D vitaminin keşfine yol açmıştır (DeLuca, 1988). D Vitamini 1940'larda farmakolojik bir tedavi yöntemi olarak raşitizm gibi kemik mineral bozukluklarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. D vitaminin hormonal olarak aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D₃ [1,25(OH)₂D₃], kemik ve kemik dışı bir takım biyolojik etkilere sahiptir. Endokrin hormon 1,25-dihidroksivitamin D₃, böbrek, ince bağırsak ve kemik üzerindeki koordineli etkiler yoluyla serum kalsiyum ve fosfat homeostazını düzenlerken, hücre proliferasyonu ve diferensiyasyonu, kardiyovasküler sistem ve immün sistem fonksiyonlarının düzenlenmesinde de önemli rollere sahiptir (Hollick, 2008).

2.3.1. D Vitamini Sentezi ve Metabolizması

D Vitamini, ergokalsiferol (Vit D₂) ve kolekalsiferol (Vit D₃) olmak üzere iki ana formda bulunan yağda çözünebilen bir hormondur. Ergosterol ve 7-Dehidrokolesterol (7-DHC) D vitamininin gerçek öncüleri olarak kabul edilir ve ultraviyole ışınların etkisiyle sırasıyla Vitamin D₂ ve Vitamin D₃ oluştururlar. Kalsiferol, kalsidiol ve kalsitriol, D Vitamini tanımlanmasında kullanılan bileşiklerdir. Kalsiferol, D vitamini öncüsü anlamına gelir. D₂ ön formu ergokalsiferol ve D₃ ön formu olan kolekalsiferol, vitaminin biyolojik olarak inaktif formlarıdır. Kalsiferol aktive olmak için, önce kalsidiol 25(OH)D ve daha sonra kalsitriol 1,25(OH)₂D olmak üzere 2 hidroksilasyon aşamasından geçer (Holick 2008; Göring, 2018).

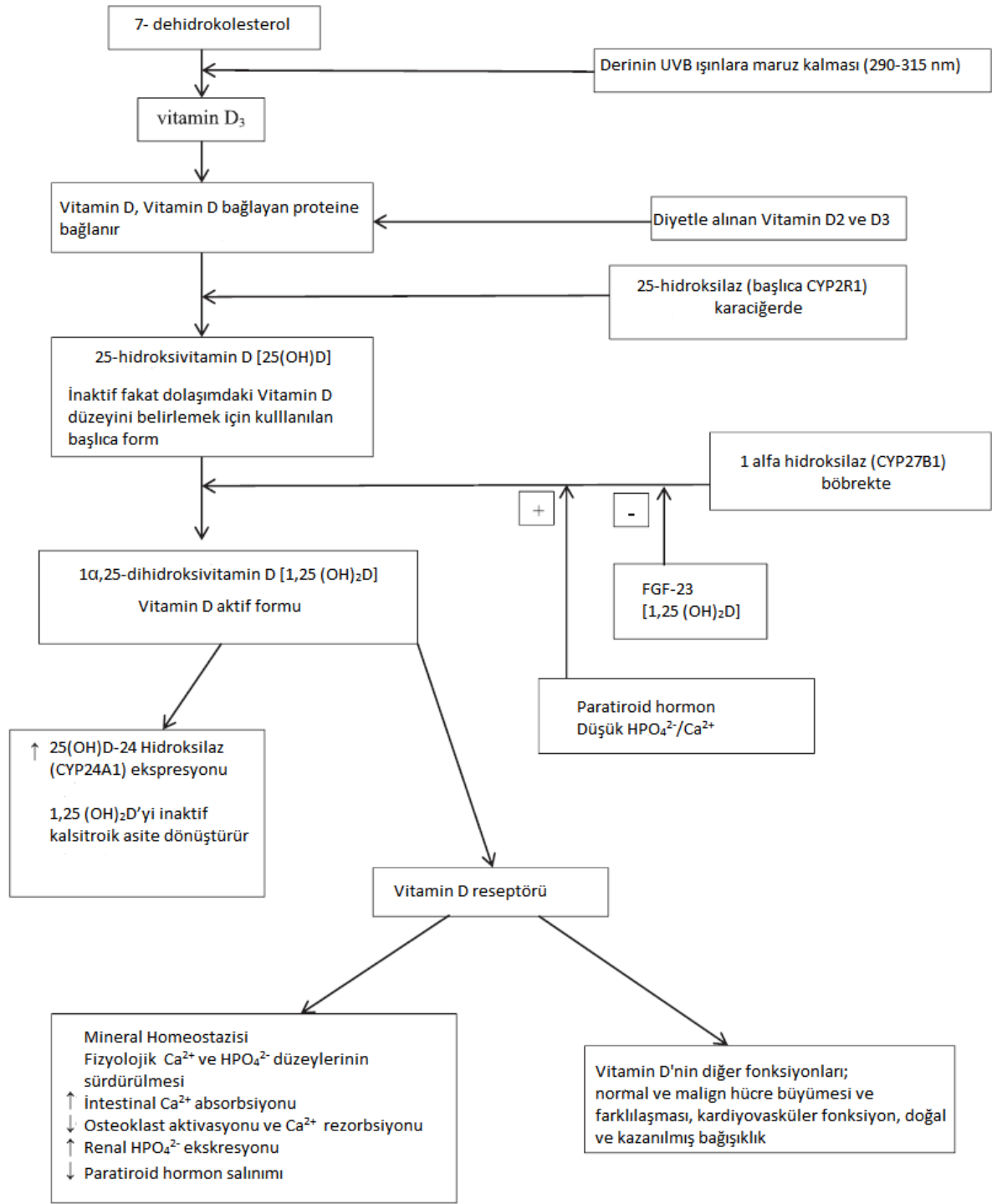
Vücudun ihtiyacı olan D vitaminin (>% 90) çoğunluğu güneş ışığından elde edilir. UV-B (290-315 nm) radyasyonuna maruz kalma, cilt pigmenti 7-dehidro kolesterolü vitamin D₃'e dönüştürür. Düşük seviyede D₂ ve D₃ vitaminleri yağlı balık gibi bazı yiyeceklerden de elde edilebilir. Ergokalsiferol ya da vitamin D₂, planktonda ve bazı mantarlarda bulunan ergosterolden UV ışınların etkisi ile oluşur ve insanlarda biyolojik aktivitenin sadece 1/3'ünden sorumludur (Göring, 2018).

Hem D₂ hem de D₃ vitamini, aktive olmak için iki hidroksilasyon aşamasından geçirilmelidir. D₃ vitamini diyetle alındığında veya cilt tarafından endojen olarak sentezlendiğinde, iki aşamalı bir hidroksilasyon işlemi ile biyolojik olarak aktif formuna dönüştürülür. İlk hidroksilasyon, karaciğerde 25-hidroksilaz (CYP2R1) enzimi ile metabolik olarak aktif olmayan 25-hidroksikolekalsiferolü (kalsidiol) üretmek üzere gerçekleşir. CYP2R1, CYP27A1 ve CYP2D25 dahil birçok sitokrom P-450 enzimi (CYP'ler), VitD'nin 25(OH)VitD₃'e dönüşümünden sorumlu olan enzim adayları olarak kabul edilmiştir. İkinci hidroksilasyon, böbrek ve bazı böbrek dışı dokularda 1- α -hidroksilaz (CYP27B1) enzimi tarafından gerçekleştirilir. Örneğin, immun hücreler ve pankreas ana dolaşım formu 25(OH)D'den lokal olarak 1,25(OH)₂D üretebilir, çünkü adacıklarda ve immun hücrelerde 1- α -hidroksilaz bulunur (Bland ve ark 2004, Mathieu 2015).

25(OH)D'nin kendisi de bir miktar biyolojik aktiviteye sahiptir, ancak 1,25(OH)₂D, Vit D reseptörü (VDR) için 25(OH)D'den yaklaşık 1000 kat daha fazla affiniteye sahiptir (Van Belle ve ark 2013). Vitamin D'nin biyolojik fonksiyonlarını aktif form kalsitriol yerine getirir. Kalsitriol, CYP27B1 aktivitesini inhibe eder ve 25(OH)D ve kalsitriol'ü biyolojik olarak aktif olmayan formlara katabolize eden 25-hidroksivitamin D-24-hidroksilaz (CYP24A1 veya 24OHaz) enziminin ekspresyonunu uyarır (Christakos ve ark 2015, Shinkyo ve ark, 2004). Bu enzim, D vitamini metabolitleri olan 24-25(OH)₂D₃ veya 1,24,25(OH)₃'ü oluşturur. Karbon hidroksilasyonunun ardından metabolitler, kalsitroik asit veya 23-karboksil türevleri olarak parçalanır ve atılır. Bu atılma yolu, 24OHaz ekspresyonunu uyaran ve böylece hormonun aşırı üretimini inhibe eden kalsitriol seviyeleri ile doğrudan denetlenir (Delvin ve ark, 1981) (Şekil 1).

Plazma D vitamini düzeyleri, dolaşımdaki birincil metabolit, 25-hidroksikolekalsiferol (kalsidiol) kullanılarak ölçülür. Kalsidiol, kalsitriolden daha uzun bir yarı ömre sahiptir ve plazma konsantrasyonu daha karardır (Christakos ve ark, 2015).

Sağlıklı bir bireydeki ortalama kalsidiol plazma konsantrasyonu 25-125 nmol/L, kalsitriol seviyeleri ise 0.1-10 nmol/L arasındadır. İnsanlarda dolaşımdaki D vitamini seviyeleri tartışma konusu olmaya devam etmekle birlikte, 20-30 ng/mL veya 50-75 nmol/L 25(OH)D₃ seviyeleri yeterliken, <20 ng/mL veya <50 nmol/L miktarları yetersiz olarak görülmektedir (Mathieu 2015). Kalsitriol, kanda D₃ vitamini bağlayıcı proteine bağlanarak hedef organlara taşınır. Kalsitriolün bir nükleer reseptöre veya plazma membran reseptörüne bağlanması biyolojik tepkilerinin oluşmasını sağlar (Shinkyo ve ark, 2004; Holick 2008).



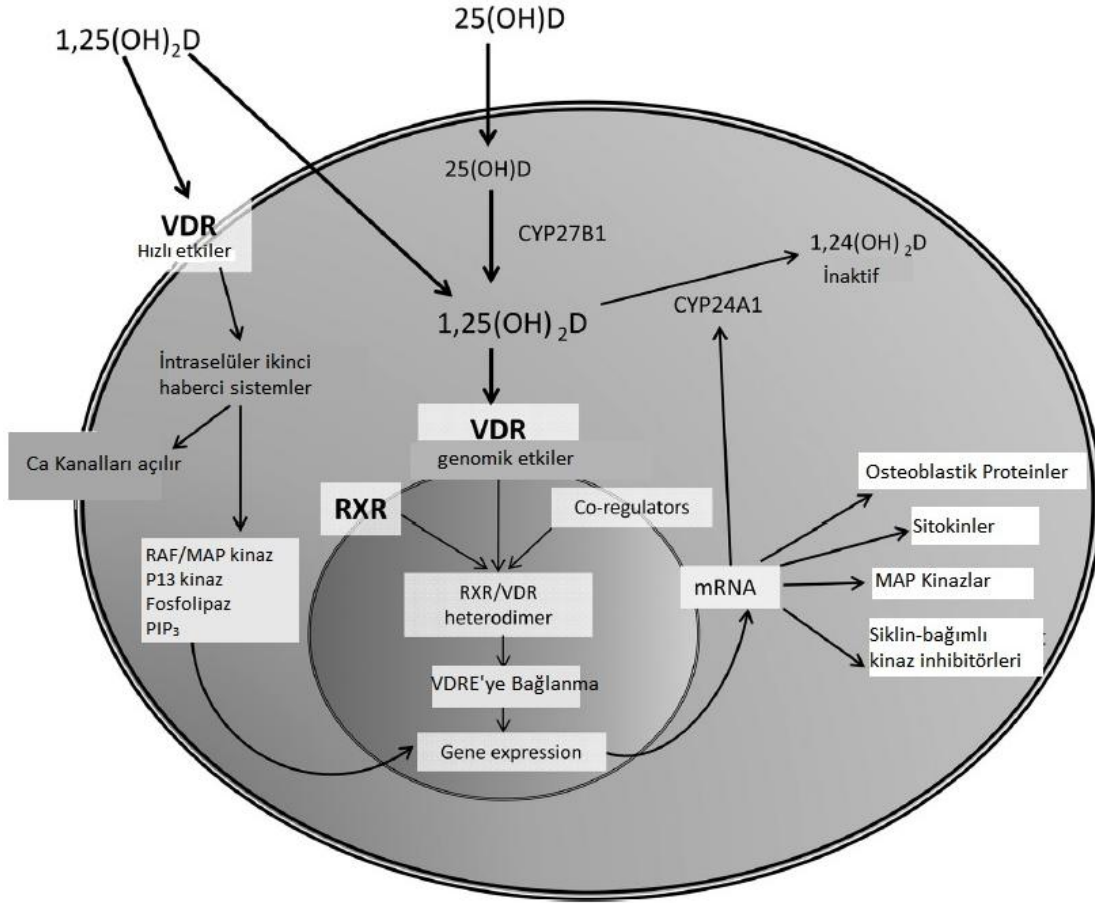
Şekil 1. D vitamini sentezi. FGF: fibroblast büyüme faktörü 23.

Kaynak: Norman ve Powell (2014)'dan modifiye edilmiştir.

2.3.2. Vitamin D Reseptörü ve Etki Mekanizması

1,25(OH)₂D, vitamin D reseptörü (VDR) yoluyla biyolojik etkilerini oluşturur. Neredeyse tüm çekirdekli hücrelerde bulunan VDR, bağırsak epitel hücrelerinde en yüksek konsantrasyondadır (Mathieu, 2015). VDR, nükleer hormon reseptör üst ailesinin bir parçasıdır ve çoklu genlerin transkripsiyonun düzenlemesini sağlayan steroid reseptör ailesine aittir (Haussler ve Norman, 1969). Kalsitriolün moleküler yapısı, klasik steroid hormonları östradiol, kortizol ve aldosteronunkine benzer. Yapısal olarak aynı kök halka yapıyı siklopentanoperhidrofenantreni taşırlar. Bununla birlikte, kalsitriol, bir kök halka yapısı kırılmış olan bir sekosteroid olması bakımından farklıdır. Steroid hormonları, genomik ve hızlı tepkiler üretmek için sinyal ileten kimyasal haberciler olarak işlev görür (Konety ve ark, 2001).

Hedef doku ve organlardaki konjuge D vitamini reseptörlerinin varlığı kalsitriolün biyolojik etkilerini oluşturmasını sağlar. 1969'da, nükleer D vitamini reseptörünün (nVDR)'nin keşfi, D vitaminin endokrin etkileri konusunda kapsamlı araştırmalara yol açmıştır. Kalsitriolün transkripsiyonel etkileri, kalsitriolün nVDR'nin retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerizasyonunu indükleyen nVDR'ye bağlanması üzerine meydana gelir. Ligandın VDR'ye bağlanması, C terminalinde RXR ile kuvvetli dimerizasyonu kolaylaştıran konformasyonel bir değişikliğe yol açar. Ligand bağlı VDR-RXR heterodimer, sitoplazmadan çekirdeğe geçer. Kalsitriol ile indüklenen nVDR-RXR heterodimerizasyonu, kalsitriol hedefli gen aktivasyonunda fonksiyonel olarak aktif transkripsiyon faktörüdür. D vitamini yanıt elemanlarına (VDRE) bağlanan heterodimer, hedef genlerin promoter bölgesinde spesifik bir sekansla etkileşime girerek transkripsiyonu düzenler (Haussler ve ark, 1998). Heterodimerin VDRE'ye bağlanması, genlerin transkripsiyonu veya baskılanmasına yol açan çok sayıda alanı tetikler (Şekil 2) (Crofts ve ark, 1998; Konety ve ark, 2001; Norman ve Powell, 2014).



Şekil 2. Vitamin D ve reseptör etkileşimi. MAP; Mitojenle aktive edilmiş kinaz, PIP3; Fosfotidilinozitol (3,4,5)-trifosfat, RAF; Proto-onkojen serin/treonin protein kinaz, RXR; Retinoid X reseptör, VDRE: Vitamin D yanıt elemanları.

Kaynak: Norman ve Powell (2014)'dan modifiye edilmiştir.

1980'lerin sonunda, kalsitriolün hızlı bir şekilde, saniyeler içinde bir plazma membran reseptörü aracılığıyla çok sayıda hücre tepki üretebileceğini gösteren kanıtlar ortaya çıkmıştır. Bu membran reseptörü daha sonra membran ilişkili hızlı yanıt steroid bağlayıcı protein (1,25D25-MARRS) olarak tanımlanmıştır. Membran vitamin D reseptörünün (mVDR) aktivasyonu, hücre içi kalsiyum akışına yol açan kalsiyum kanallarının uyarılmasına ilişkin sinyal iletim yolları ile ilişkilidir (Sambrook ve ark, 2003).

Kalsitriolün genomik olmayan etkilerinin çeşitli hücre tiplerindeki kanıtlarına ilişkin olarak; civciv enterositlerinden kalsiyumun hızlı transelüler hareketi, osteoblastlarda hücre içi depolardan ve iskelet kası hücrelerinin sarkoplazmik retikulumundan kalsiyum salınımı örnek olarak verilebilir. Plazma zarı üzerindeki yerleşimine ilaveten mVDR'nin varlığı, endoplazmik retikulum üzerinde de gösterilmiştir (Hewison, 1992).

2.3.3. D vitamininin Klasik Fonksiyonu: Kemik Mineralizasyonu

Kalsitriolün klasik fizyolojik fonksiyonu, kalsiyum homeostazisini ve iskelet mineralizasyonunu düzenlemektir. Hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu kesinlikle 5 mM'de tutulurken, hücre içi konsantrasyon 0.05-10 uM kadar olup, önemli ölçüde daha düşüktür. Kalsitriol, plazma kalsiyum seviyelerini üç farklı mekanizma yoluyla düzenler (Glorieux, ve ark, 1980).

İlk olarak kalsitriol hem kalsiyum hem de fosfatın bağırsaktan aktif Emilimini indükler. D vitamini, Ca kanalı TRPV6 ve kalbindinin transkripsiyonunu artırır ve Ca Emiliminin verimini % 10'dan 40'a çıkarır (Holick, 2007).

İkincisi, hipokalsemik plazma seviyelerine cevap olarak, paratiroid hücreleri üzerindeki kalsiyum duyarlı proteinler, paratiroid hormonun (PTH) salgılanmasını uyarır. Eşleşmiş bir mekanizmada PTH ve kalsitriol, osteoblastlarda RANKL (reseptör aktivatörü nükleer faktör kappa beta ligand) ekspresyonunu düzenler (Delvin ve ark, 1981). Kemik metabolizmasında kritik rol oynayan RANKL ekspresyonu, ön osteoklastların osteoklastlara olgunlaşmasını sağlar. Osteoklastların aktivasyonu kemikten kalsiyum mobilizasyonuna neden olarak serum kalsiyum seviyelerini yükseltir (Turner ve ark, 2014).

PTH ayrıca, kalsitriol sentezini uyaran distal renal tübül içindeki CYP27B1'i aktive eder. Kalsitriol ve PTH sinerjik olarak, filtrattaki son kalsiyum yükünün % 1'inin geri Emilimini uyarır. Plazma kalsiyum seviyelerindeki artış negatif geri bildirim ile PTH üretimini baskılar (Delvin ve ark, 1981).

Plazma kalsiyum seviyeleri artarsa, tiroid bezinin "C" hücreleri kalsitonin sentezler. Kalsitonin kemikten kalsiyum mobilizasyonunu ve böbreklerden kalsiyum Emilimini engeller. Normokalsemik koşullar altında kalsitonin, kalsitriol sentezi için renal CYP27B1'i düzenler. Kalsitriolün kritik bir işlevi normal bireylerde paratiroid durumunu korumaktır. Kalsitriol, preparatiroid genini baskılar ve böylece PTH üretimini düzenleyen paratiroid bezi hücrelerinin çoğalmasını önler (Konety ve ark, 2001).

2.3.4. D Vitaminin Kemik ve Kalsiyum Metabolizması Dışındaki İşlevleri

Son yıllarda, D vitamininin terapötik faydalarına, Ca homeostazı ve kemik mineralizasyonunu dışındaki işlevlerine büyük bir bilimsel ilgi olmuştur. 1,25(OH)₂D₃'ün etkilerinin kalsiyum ve fosfat homeostazının korunması ile sınırlı olmadığı giderek daha açık

bir şekilde ortaya çıkmıştır. Kemik mineral homeostazıyla ilişkili olmayan dokularda ve hücrelerde nVDR ve mVDR'nin gösterilmesi, D vitaminin endokrin fonksiyonu için ilave roller olduğunu göstermiştir. Aktif vitamin D; normal ve malign hücre büyümesi ve farklılaşması, kardiyovasküler fonksiyon, doğal ve kazanılmış bağışıklık üzerinde etkileri olan çoklu hücresel süreçleri düzenlemektedir. (Christakos ve ark, 2015).

2.3.5. D Vitamininin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Hayvan çalışmaları, *in-vitro* çalışmalar, epidemiyolojik ve randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen bulgular, D vitamini eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar (KVH) arasında bir ilişki olabileceğini, D vitamini eksikliğinin; hipertansiyon, koroner arter hastalığı, inme ve ateroskleroz gibi çeşitli kardiyak hastalıklara katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bazı çalışmalar düşük D Vitamini düzeyini KVH risk faktörü olarak belirlemeye yeterli kanıt olarak görmektedir. Genel olarak, artan gözlemsel kanıtların, düşük 25(OH)D₃ seviyeleri ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi desteklediği ancak bu gözlemlerin tümünde önemli ilişkiler bulunmadığı ve bu ilişkilerin bazen kafa karışıklığı oluşturabileceği belirtilmektedir (Christakos ve ark, 2015; Christie-David ve ark, 2015).

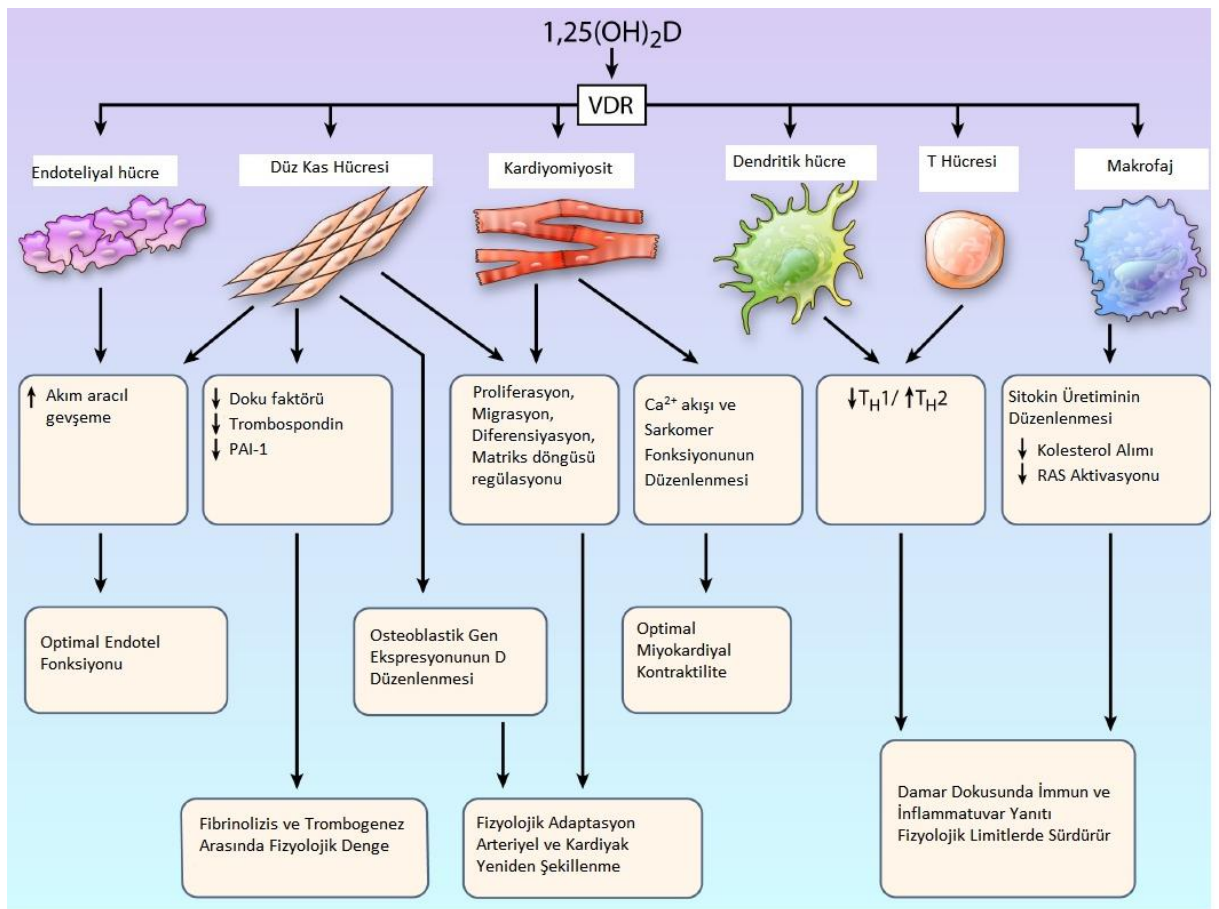
VDR'den sistemik veya doku spesifik olarak yoksun farelerde yapılan çalışmalar kardiyovasküler sistemde Vit-D'nin rolüne ilişkin önemli bilgiler sağlamıştır. VDR'den yoksun (Li ve ark, 2002) veya 25(OH)D 1- α -hidroksilaz silinmiş farelerde (Zhou ve ark, 2008) renin ve anjiyotensin II düzeylerinin arttığı ve kardiyak hipertrofi şekillendiği bildirilmiştir. Konvansiyonel farelerde de, 1,25-dihidroksivitamin D₃ sentezinin inhibisyonu renin ifadesinde bir artışa yol açarken, 1,25-dihidroksivitamin D₃ enjeksiyonu, renin baskılanmasına neden olmuştur (Li ve ark, 2002). Kardiyomiyosit spesifik VDR silinmiş farelerde, 1,25(OH)₂D₃'ün renin-anjiyotensin sisteminden (RAS) bağımsız olarak *in vivo* doğrudan antihipertrofik etki gösterdiği ve bu etkinin kısmen prohipertrofik kalsinörin/NFAT/MCIP1 yolunun baskılanmasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Chen ve ark, 2016).

Andrukhova ve ark (2014), VDR mutant farelerde 1,25(OH)₂D₃'ün endotel NO sentazın doğrudan transkripsiyonel regülatörü olduğunu göstermişlerdir. Bu farelerde, eNOS ve NO biyoyararlanımındaki azalmanın, ileri yaşlarda RAS'taki değişikliklerden bağımsız olarak arteriyel sertlik, aort empedansında artış, aort yapısında değişiklikler, sistolik ve diyastolik kalp fonksiyonlarında bozulmalar ile karakterize olduğu bildirilmiştir (Andrukhova ve ark,

2014). Benzer şekilde, VDR'nin spesifik olarak endotelial hücrelerden silinmesi, azalmış eNOS ekspresyonu ile ilişkili olarak, endotel disfonksiyonuna ve asetilkolinin indüklediği damar gevşeme yanıtında bozulmaya neden olmuş ve ayrıca anjiyotensin II'nin hipertansif etkilerine duyarlılığı artırmıştır (Ni ve ark, 2014). VDR sisteminin antitrombotik homeostazın korunmasında fizyolojik bir rol oynayabileceği, VDR'den yoksun farelerde, antitrombin ve trombomodulin azalması ile ilişkili bir protrombotik durum görüldüğü bildirilmiştir (Aihara ve ark, 2004). 1,25-dihidroksivitamin D₃ tedavisinin, tuzlu diyetle beslenen spontan hipertansif kalp yetmezliği eğilimli (cp/+) sıçanlarda kalp hipertrofisini ve sol ventrikül çapını azaltması Vitamin D'nin kardiyovasküler sağlığı iyileştirmedeki rolünü gösteren başka bir kanıttır (Mancuso ve ark, 2008). İnsanlarda yapılan çok sayıda meta analiz düşük 25(OH)D₃ seviyesine sahip bireylerde koroner kalp hastalığı, iskemik felç, serebrovasküler hastalık riskinin daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır (Chowdury ve ark, 2012; Wang ve ark, 2012; Brøndum-Jacobsen ve ark, 2013). Bununla birlikte, meta analiz çalışmaları düşük D vitamini seviyelerine yol açan ve KVH için risk oluşturan yaş, obezite, sigara ve fiziksel hareketsizlik gibi diğer risk faktörlerinden bağımsız etki ortaya koyamadığı için bazen karışıklık yaratabilmektedir (Christakos ve ark, 2015). Randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtların, D vitamini ile kardiyovasküler hastalık riski arasındaki ilişkiyi tanımlamak ve bu riski azaltmak için D vitamini takviyesi önerisinde bulunmaya yeterli olmadığı bildirilmektedir (Elamin ve ark, 2011). Kesitsel, prospektif ve meta analiz çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, insanlarda 25(OH)D₃ seviyeleri ile hipertansiyon riski arasında ters bir ilişki olduğu belirtilmektedir. Randomize kontrollü çalışma sonuçlarının çelişkili olduğu, hipertansiyonda D vitamini takviyesinin olumlu etkisi olduğu ya da olmadığı yönünde kanıtlar sunulmuştur. Hipertansiyon ile ilgili olarak, D vitamini replasmanı ile yapılan çalışmalar da çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (Geleijnse, 2011; Christakos ve ark, 2015).

Daha yüksek D vitamini düzeyleri, vasküler endotel sağlığın iyileştirilmesi, inflamasyonun azaltılması ve azaltılmış köpük hücresi oluşumu ile bağlantılıdır ve bunların tümü kardiyovasküler hastalıklar açısından önemli rol oynar. Kardiyovasküler hastalığı 3/4 evresinde olan bireylerde kolekalsiferol tedavisi ile; hem endotelial vazomotor hem de sekretuar fonksiyon düzelmiş, endotel disfonksiyonun göstergesi olan VCAM-1, ICAM-1 ve E-Selektin seviyelerinde azalmalar olmuş, arteriyel sertlikte ve başka bir endotelial disfonksiyon belirteci olan FGF-23'te herhangi bir değişim saptanmamıştır (Chitalia ve ark, 2014). D vitamini takviyesinin arter sertliği üzerindeki etkilerinin çelişkili olduğu; yararlı olduğu ya da olmadığı belirtilmektedir (Mozos ve ark, 2017).

D vitamini, bağışıklık sistemi üzerindeki pleiotropik etkilerinden dolayı kardiyovasküler sistemdeki düşük dereceli yangıyı baskılar, Th1 aktivitesini ve dendritik hücre olgunlaşmasını azaltır, sitokin üretimini inhibe eder ve Th17 ve makrofaj aktivitesini düzenler (Chitalia ve ark, 2014; Norman ve Powell, 2014). Hayvan modellerinden elde edilen kanıtlar, 1,25(OH)₂D'nin, kardiyovasküler hastalıklar için başka bir risk markırı olan plazminojen aktivatör inhibitörün inhibisyonu yoluyla inflamasyonun önemli bir baskılayıcısı olduğunu göstermektedir. İnsan makrofajları üzerine yapılan *in vitro* bir çalışmada, 1,25(OH)₂D, LDL kolesterolün makrofajlar tarafından alınımı önleyerek köpük hücre oluşumunu baskılamaktadır (Şekil 3) (Mozos ve ark, 2017).



Şekil 3. 1,25(OH)₂D'nin arteriyel duvar ve kardiyak hücrelerdeki etkileri. PAI-1; Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1, RAS; Renin-Anjiyotensin Sistemi.

Kaynak: Norman ve Powell (2014)'dan modifiye edilmiştir.

2.3.6. D Vitamini, Diyabet ve Kalp-Damar Sağlığı

Aktif D vitaminin immün modülatör özellikleri, D vitamini ve metabolitlerinin veya analoglarının, T1D'nin önlenmesi veya tedavisi için potansiyel terapötik ajanlar olabileceğini düşündürmektedir. D vitamini eksikliği, T1D'in yanında artrit, multipl skleroz gibi diğer otoimmün hastalıklarla da ilişkilendirilmektedir. İnsülin üreten beta hücrelerinde ve insülin hormonunun hedef organları olan karaciğer, iskelet kası, yağ dokusunda ve ayrıca immün sistemin tüm hücrelerinde $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ için reseptörler bulunmaktadır (Mathieu 2015). VDR, monosit ve dendritik hücrelerin yanı sıra aktive edilmiş T ve B lenfositlerinde eksprese edilir ayrıca, birçok immün hücre D vitamini metabolizmasında yer alan enzimleri eksprese eder. Bir patojen tehdidi ardından makrofajlar VDR ve CYP27A1 (D vitamini aktive edici enzim) ekspresyonunu artırmaktadır. Immün hücrelerde $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ için yüzlerce birincil hedef gen tanımlanmıştır. Bu nedenle D vitaminin, otoimmün bozuklukları önlemek için immün düzenleyici bir ajan olarak görev yaptığı düşünülmektedir (Chun ve ark, 2014; Peelen ve ark, 2011). Aktif D vitaminin, dendritik hücrelerin morfolojisini ve fonksiyonunu tolerojenik bir profile değiştirebileceğini gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Van Belle ve ark 2011). Bu değişim otoimmün diyabete eğilimli NOD farelerinde dahi gösterilmiştir (Ferreiria 2014). D vitamini ile modüle edilmiş dendritik hücreler, daha az pro-inflamatuar sitokin IL12 ve IL23 (sırasıyla T helper; Th1 ve Th17-sitokinleri) ve daha fazla anti-inflamatuar sitokin IL10 üretir (Mathieu 2015). Aktif D vitaminin immün modulator etkilerinin *in vitro* suprafizyolojik dozlarda ortaya çıktığı, kanda aktif D hormonu düzeyleri proksimal tubul hücrelerinin denetiminde sıkı bir şekilde kontrol edilirken, immün sistem hücrelerinde bu düzenlemenin farklı olduğu ancak, nasıl gerçekleştiğine ilişkin mekanizmaların bilinmediği belirtilmiştir (Mathieu, 2015).

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler açıkça D vitamini eksikliği ile her iki diyabet formunun prevalansı arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Genel olarak erken yaşamda düzenli D vitamini desteği ile azalan T1D ve diyabetle ilişkili otoantikor gelişimi arasında doza bağımlı pozitif bir korelasyon vardır. Erken yaşamda D vitamini eksikliğinin ileriki yaşamda T1D için daha yüksek risk oluşturduğu açık bir şekilde görülmektedir (Van Belle ve ark, 2013; Mathieu, 2015). Yetişkinlerde latent otoimmün diyabette (klinik belirtiler erişkin dönemde ortaya çıkar ve yavaş ilerler), $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ (0.5 mg/gün/yıl) ve deri altı insülin alan hastalarda beta hücre fonksiyonunun daha iyi korunabildiği gösterilmiştir (Li ve ark, 2009).

Vit-D düzeyi 37.5nmol/L'nin altındaki T1D'li adolesan bireylerde Vit D düzeyi normal seviyelere ulaşınca kadar 25(OH)VitD 1000-2000 IU/gün dozlarında 12-24 hafta süreyle uygulanmış ve tedavi sonrasında endotelial fonksiyon belirteci reaktif hiperemi indeksinin iyileştiği, idrarda yangısal sitokinlerin miktarının azaldığı gözlenmiştir (Deda ve ark, 2017). İnsanlarda Vit D düzeyi ile aort nabız dalgası hızı arasında negatif korelasyon saptanmıştır; Vit D düzeyi en düşük kişilerde aort sertliğinin en yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (Garrett-Mayer ve ark, 2012). Bununla birlikte, yeni başlayan T1D'li 70 çocuğu içeren bir çalışmada, kalsitriol takviyesi, pankreas beta hücrelerinin rezidüel fonksiyonu üzerinde ılımlı bir etki gösterirken, bir yıllık tedavi sonrasında glikozillenmiş hemoglobin miktarında istatistiksel önemde olmayan bir azalma tespit edilmiştir. 35 kontrollü çalışmayı kapsayan bir meta-analizde, sağlıklı, D vitamini yetersiz, obez, prediyabet ve diyabetli bireylerde D vitamini desteğinin etkisi değerlendirilmiştir. Plasebo ile karşılaştırıldığında, D vitamini; insülin direnci, insülin sekresyonu veya glikozillenmiş hemoglobin miktarı üzerinde etkili olmamıştır (Karamali ve ark, 2017). Klinik uygulama için, D vitamini bileşiği seçiminin, doza ve tedavi rejiminin daha fazla ince ayar gerektirdiği, çünkü yüksek aktif D vitamini dozunun istenmeyen kalsemik etkilerle ilişkili olduğu ve düşük D vitamini dozunun ise hastalık seyrine müdahale etmeye yetecek kadar güçlü olmayabileceği belirtilmiştir (Mathieu, 2015).

Diyabetin hayvan modellerinde de, D vitamini eksikliği, T1D ve T2D için predispozisyon yaratırken, yüksek dozlarda D vitamini veya aktif hormonal formu, 1,25-dihidroksivitamin D hastalığı önlemektedir (Mathieu, 2015). Vitamin D ilavesi, vitamin D yetersiz hayvanlardan elde edilen pankreatik adacıklarda insülin sekresyonunu iyileştirirken (Wolden-Kirk ve ark, 2011), 1,25 dihidroksivitamin D₃ (kalsitriol), sitokinlerin indüklediği fonksiyonel bozukluklara ve hücre ölümüne karşı beta hücrelerini korumaktadır (Wang ve ark, 2016; Wolden-Kirk ve ark, 2011). Erken dönem ve uzun süreli vitamin D₃ kullanımının diyabet riskini azalttığına ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (Wolden-Kirk ve ark, 2011; Van Belle ve ark, 2013). T1D modeli olan non obez diyabetik (NOD) farelerde yaşamın farklı dönemlerinde (gebelik+laktasyon; 3-14 hafta; 3-35 hafta) yeme yüksek doz Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ilavesi, 3-35 hafta boyunca vitamin D₃ alan dişi ve erkek farelerde hiperkalsemi ve kemik toksisitesine neden olmaksızın diyabet oluşumunu belirgin şekilde azaltmıştır. Vitamin D₃'ün bu koruyucu etkisi pankreatik insülin içeriği ve insülitis skorunun iyileşmesiyle korelasyon göstermiştir (Takiishi ve ark, 2014). Hatta, vitamin D₃ tedavisi pankreası drene eden lenf yumrularında interferon-g-pozitif CD8+ T hücrelerini azaltmış ve CD4+(CD25+)FoxP3+ T hücrelerini artırmıştır (Takiishi ve ark, 2014).

Streptozotosin ile T1D indüksiyonu yapılan Wistar sıçanlarında 10 hafta süreyle (500 IU/kg) dozda, gün aşırı oral yolla verilen kolekalsiferol endotel fonksiyonunda veya aort sertliğinde fonksiyonel bir iyileşme sağlamazken, aort media tabakasında elastik liflerin parçalanmasını önlemiştir (Salum ve ark, 2012), ayrıca damarda AGE birikimini azaltarak oksidatif stresin aracılık ettiği vasküler komplikasyonlar açısından önemli bir koruma sağlamıştır (Salum ve ark, 2013). Birçok çalışma diyabetin önlenmesi ya da tedavisinde Vitamin D kullanımının faydalı olduğunu bildirirken, VDR-knockout NOD farelerde, diyabet gelişiminde bir farklılık gözlenmemiştir. VDR (-/-) NOD farelerinde değişen immün fenotipe rağmen, VDR (+/+) NOD kardeşleri ile aynı oranda ve sıklıkta insülitis ve diyabet geliştirmişlerdir (Gysemans ve ark, 2008).

Sıçanlarda yüksek doz 1,25(OH)₂D₃'ün (0,3 µg/kg/gün), streptozotosin ile indüklenmiş diyabette aortik patolojik değişiklikleri ve kollagen birikimini önlediği TLR4, MyD88 ve NF-κB düzeylerini azalttığı saptanmıştır (Li ve ark, 2013).

Sprague Dawley sıçanlarında streptozotosin ile indüklenmiş T1D modelinin birinci ayında alınan torasik aort dokuları 24 saat süreyle *in vitro* 1,25-dihidroksikolekalsiferol (0.1µM) ile inkübe edilmiş ve diyabetli grupta endotel gevşeme yanıtı azalırken, 1,25-kolekalsiferol ile inkübe edilen damarlarda vasküler yanıtın düzeldiği saptanmıştır (Sturza ve ark, 2015).

Yukarıda özetlenen farklı çalışma dizaynları ve bulguları diyabetin vasküler komplikasyonlarının iyileştirilmesinde vitamin D₃ kullanımının potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. İlaçlar ve Kimyasallar

Diyabet indüksiyonu için streptozotosin (Sigma S0130), aktif vitamin D enjeksiyonu için 1 mcg/ml 1,25-dihidroksikolekalsiferol içeren Calderol (Pharmada) kullanıldı. Organ banyosu deneylerinde krebs-bikarbonat solusyonu için: sodyum klorür (Merck-1.06404), potasyum klorid (Merck), kalsiyum klorid (Merck-1.02378), magnezyum sülfat heptahidrat (Sigma M-1880), potasyum dihidrojen fosfat (Merck-1.04871), sodyum bikarbonat (Merck-1.06329), D-glikoz (Sigma G-8270) kullanıldı

Damar yanıtları için; L-fenilefrin (Santa Cruz Biotechnology sc- 295315A), asetilkolin klorid (Sigma-A6625) ve sodyum nitroprussid dihidrat (Merck-1.06541) kullanıldı.

3.1.2. Hayvanlar ve Deney Dizaynı

Bu araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)'in 64583101/2018/056 sayılı kararıyla etik izni almıştır. Araştırmada toplam 28 adet ortalama 500 g ağırlığında 6-8 aylık erkek Sprague Dawley ırkı sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar konvansiyonel yetiştirme koşullarında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda ısısı, % 60 nem oranı, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık uygulaması olan ünite şartlarında) tip 4 kafeslerde barındırıldı. Su ve yem *ad libitum* verildi. Hayvanlar deney boyunca (2.600 kcal/kg metabolize edilebilir enerji, % 23 ham protein, % 7 ham lif ve % 8 ham kül, %3 ham yağ) içeren standart fare-sıçan yemi (Bil-Yem, Ankara) ile beslendiler. Sıçanlar; eşit sayıda (n=7) olmak üzere; kontrol (K), Vitamin D (VitD), Diyabet (D) ve Diyabet+Vitamin D (DVD) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Diyabet oluşturmak için streptozotosin (STZ) 50 mg/kg dozunda bir kez intraperitoneal (İP) yol ile verildi. STZ, sitrat tamponu (pH 4.5) içerisinde taze olarak hazırlandı. Kontrol grubu hayvanlara ise eş zamanlı olarak aynı hacimde sitrat tampon solüsyonu İP olarak verildi. STZ uygulamasından sonraki 72. saatte açlık kan glikoz seviyeleri 250 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetli kabul edildi. Diyabet tanımlaması

yapıldıktan sonra D ve DVD gruplarına 1,25-dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol), haftada bir kez 120 ng/100g subkutan (SC) verildi (Masszi ve ark, 2013). K ve D gruplarına ise haftada bir kez eş hacimde serum fizyolojik SC olarak uygulandı. Subkutan uygulamalara 6 hafta boyunca devam edildi (Tablo 1).

Altı haftanın sonunda deney sonlandırıldı. Sıçanlar örnek alımları için ketamin (60 mg/kg) ksilazin (10 mg/kg) kombinasyonu ile anesteziye alındılar. Anestezi altındaki sıçanların kalbinden 8-10 ml kadar kan alındı. Daha sonra göğüs bölgesi orta hattan açılarak arkus aortadan başlamak üzere torasik aorta disseke edildi. Torasik aortadan elde edilen damar halkalarında *in vitro* organ banyosunda izometrik ölçümler yapıldı. Alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda kalsiyum ve 25 hidroksivitamin D düzeyleri belirlendi.

Tablo 1. Deney aşamaları

Zaman	Gruplar (n=7)			
	K	VitD	D	DVD
	Vücut ağırlığı, glikoz ve kan basıncı ölçümü, diyabet indüksiyonu			
0	Sitrat Tamponu İP	Sitrat Tamponu İP	STZ 50mg/kg İP	STZ 50mg/kg İP
3. gün	Glikoz ölçümü			
diyabet kontrolü	Serum fizyolojik SC	120 ng/100g kalsitriol SC	Serum fizyolojik SC	120 ng/100g kalsitriol SC
	Vücut ağırlığı, glikoz ve kan basıncı ölçümü			
1-5 hafta	Serum fizyolojik SC	120 ng/100g kalsitriol SC	Serum fizyolojik SC	120 ng/100g kalsitriol SC
Deney sonu	Vücut ağırlığı, glikoz ve kan basıncı ölçümü, deneyin sonlandırılması ve örnek alımı			

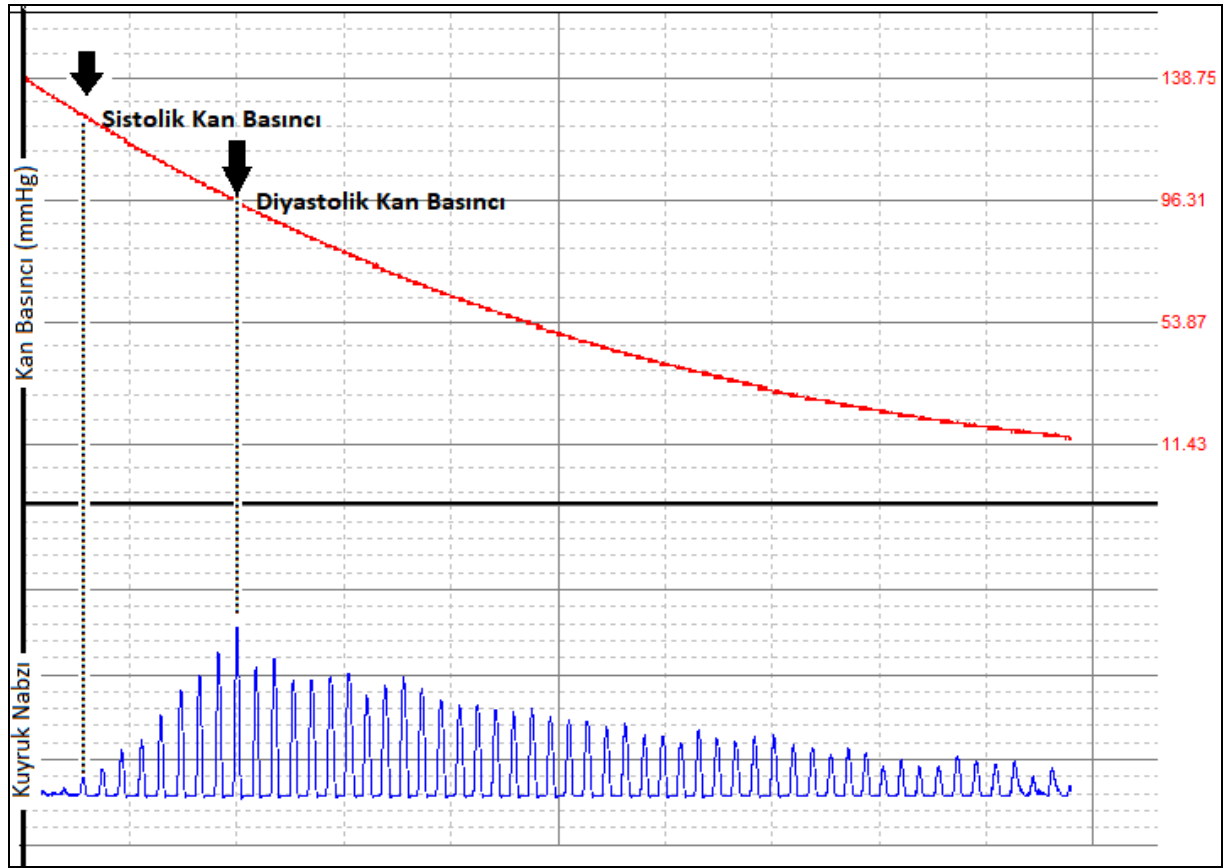
3.2. Yöntem

3.2.1. Vücut Ağırlığı ve Kan Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi

Vücut ağırlığı ve glikoz ölçümleri öncesinde sıçanlar 4-6 saat aç bırakıldılar. Ölçümler deney başlangıcından itibaren haftalık olarak yapıldı. Glikoz ölçümleri için kuyruk venine insülin enjektörü iğnesi ile punksiyon yapıldı ve alınan bir damla kanda glikometre (Bayer) ile glikoz konsantrasyonları belirlendi.

3.2.2. Kan Basıncı Ölçümleri

Kan basıncı ölçümleri deney başlangıcında (0. gün) ve deney süresince haftalık olarak toplamda 7 kez yapıldı. Ölçümler 09.⁰⁰-13.⁰⁰ saatleri arasında gerçekleştirildi. Zamana bağlı etkiyi azaltmak için ölçüm sıralamasında gruplar arasında eşitliğe dikkat edildi. Kan basıncı ölçümleri kuyruktan indirekt tail-cuff yöntemi ile yapıldı (NIBP200-tail-cuff indirect blood pressure recorder, Commat Ltd., Ankara, Türkiye). Kan basıncı ölçümleri kan almından önce gerçekleştirildi. Tail-cuff yöntemi gereğince basınç ölçümü öncesinde sıçanlar yaklaşık 30 dak süresince restrainer içerisinde hayvan ısıtma ünitesinde tutuldular. İlaveten ölçümün yapılacağı deney odası 28 °C'ye kadar ısıtıldı. Kuyruk ısındıktan sonra basınç sensörü kuyruğa yerleştirilerek kuyruk arterinden sistolik (SKB) ve diyastolik kan basınçları (DKB) kaydedildi (Şekil 4). Her sıçandan en az beş ölçüm alınarak bunların ortalaması alındı. Sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri kullanılarak $(SKB+2*DKB)/3$ formülüyle ortalama kan basıncı (OKB) değerleri hesaplandı.



Şekil 4. Kan basıncı kayıt örneği

3.2.3. *In Vitro* Organ Banyosu Deneyleri

Toraksik aorta hassas bir şekilde çıkarıldıktan sonra soğuk Krebs-bikarbonat solüsyonu [(pH 7.4) (mmol/L): 128 NaCl, 4.5 KCl, 2.5 CaCl₂, 118 MgSO₄, 1.18 KH₂PO₄, 125 NaHCO₃, 5.55 D-Glucose)] içerisine konuldu. Solüsyona CaCl₂ ilavesi diğer maddeler distile suda çözdürüldükten ve 10-15 dak %5 CO₂, %95 O₂ karışımı ile gazlandırıldıktan sonra yapıldı. Çevre dokulardan temizlenen damardan yaklaşık 3 mm uzunluğunda halkalar kesildi. Damar halkaları, Biopac® MP30 Ultimate Sistem (Biopac, Aero Camino, CA, ABD) düzeneğine bağlı izole organ banyosuna aktararak çelik aparatlarla izometrik kuvvet transduserine asıldı. 10 ml'lik organ banyosu kadehleri 37 °C de, %5 CO₂ ve %95 O₂ karışımı ile gazlandırılan Krebs-bikarbonat solüsyonu ile dolduruldu. Aort damar halkalarına 1 g gerim uygulandı ve bir saat süreyle dengeye gelmesi için beklendi. Bu bekleme süresi içerisinde banyo solüsyonu 15 dakika aralıklarla değiştirildi. Deneyin başlangıcında damar düz kas kontraktilitesini ve fenilefrin yanıtını değerlendirmek için organ banyosuna KCl (80 mM)

ilave edildi. Farklı ilaç uygulamaları arasında 30 dak dinlenme periyodu uygulandı. KCl yanıtından sonra fenilefrin (10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyonlarında kümülatif uygulandı ve kontraksiyon yanıtları kaydedildi. Endotel bağımlı gevşeme yanıtı için damar halkalarında öncelikle fenilefrin (10^{-5} M) ile prekontraksiyon oluşturuldu ve kasılma platoya ulaştıktan sonra asetilkolin (ACh) (10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyonlarında kümülatif verilerek gevşeme yanıtları kaydedildi. Düz kas bağımlı gevşeme yanıtını değerlendirmek için fenilefrin (10^{-5} M) ile prekontraksiyon sonrası sodyum nitroprussid (SNP) (10^{-12} - 10^{-6} M) kümülatif olarak banyo ortamına ilave edildi ve yanıtlar kaydedildi.

Kayıtlı veriler daha sonra Biopac B.S.L Pro 3.6.7 programı (Biopac, Aero Camino, CA, ABD) ile değerlendirildi. Kasılma yanıtları veri analizinde; madde verildikten sonra kasılma cevabının en yüksek olduğu ve plato yaptığı değer, ilgili konsantrasyona ilişkin kasılma değeri olarak kabul edildi ve kaydedildi. Gevşeme yanıtları veri analizinde ise madde verildikten sonra en düşük gerimin plato yaptığı değer gevşeme yanıtı olarak kaydedildi. Damar düz kasının KCl (80mM) cevabı için kasın ulaştığı gerim gram olarak kaydedildi ve değerlendirildi. Fenilefrin (10^{-10} - 10^{-4} M) ile elde edilen kas gerimleri, KCl ile elde edilen kas gerimine oranlandı ve kasılma değerleri (%KCl) olarak verildi. ACh (10^{-10} - 10^{-4} M) ve SNP (10^{-12} - 10^{-6} M) gevşeme yanıtları için, gevşemede elde edilen gerim fenilefrin prekontraksiyonunda elde edilen kas gerimine oranlandı ve gevşeme değeri (% fenilefrin) olarak gösterildi.

3.2.4. 25(OH)Vitamin D ve Kalsiyum Düzeyinin Belirlenmesi

-80 °C’de saklanan serum örnekleri çözündürüldükten hemen sonra analizler yapıldı. 25 (OH) Vitamin D düzeylerinin saptanmasında, Architect İ2000 SR İmmunotetik Analizörü (Abbott Diagnostics)[®] ve 5P02 kiti kullanıldı. 25(OH)vitamin D analizi, kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkik (CMIA) teknolojisini kullanan, kantitatif geciktirilmiş tek adımlı kompetitif bir immunotetik olarak tanımlanmaktadır.

Serum kalsiyum düzeyi Architect c8000 (Abbott Diagnostics)[®] klinik kimya analizörü ve 3L79 kiti kullanılarak kolorimetrik yöntemle belirlendi. Yöntem, asit çözeltisinde kalsiyum ile reaksiyona giren arsenazo III renklendiricisinin oluşturduğu mavi-mor rengin 660 nm’de belirlenmesi prensibine dayanmaktadır.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 22.0 (IBM Corp. Released 2013, IBM SPSS Statistics for Windows, version 22.0, Armonk, NY, USA) paket programı kullanıldı. Her değişken için grubun aritmetik ortalaması ($\bar{X}$) ve ortalamanın standart hatası ($S\bar{x}$) hesaplandı veriler ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) şeklinde sunuldu. Veri dağılımının normal olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Vücut ağırlığı, glikoz miktarı, kan basıncı gibi tekrarlı ölçümlerde ayrıca organ banyosu deneylerinde doz yanıt eğrileri ölçümlerinin değerlendirmesinde tekrarlayan ölçümler için varyans analizi ve *post hoc* Bonferroni testleri kullanıldı.

KCl yanıtı, Vitamin D ve kalsiyum için ortalamalar arası farkın önem kontrolleri tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) ve farkın önemli olduğu durumlarda farkın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için *post hoc* Duncan testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı

Tekrarlayan ölçümler için varyans analizi sonuçlarına göre, vücut ağırlığının zamana bağlı değiştiği ($P<0,001$) ve grup zaman etkileşiminin de önemli olduğu belirlendi ($P<0,001$). Diyabet (D) ve diyabet+vitamin D (DVD) grupları, diyabet olmayan kontrol (K) ve vitamin D (VitD) grupları ile karşılaştırıldığında; meydana gelen vücut ağırlığı kaybının, diyabetin 1. haftasından itibaren deney sonuna kadar istatistiksel önemde olduğu belirlendi. Sadece 1. haftada VitD ve D grubu arasındaki farklılık istatistiksel önemde değildi (Tablo 2).

Her bir grubun kendi içerisinde zamana bağlı vücut ağırlığı değişimlerinin istatistiksel değerlendirmesi karışıklık oluşturacağı için tabloda gösterilmemiştir. Bu sonuçlar özetlenecek olursa; kontrol grubunda 3. haftadan 4. haftaya geçişte vücut ağırlığı artışı önemli bulunmuş ($P<0,05$), bunun dışında istatistiksel önemde bir değişim saptanmamıştır. VitD grubunda enjeksiyon sonrası 1. haftada vücut ağırlığında önemli bir düşüş meydana gelmiş ($P<0,01$), sonrasında vücut ağırlığı tekrar başlangıç değerlerine doğru artış gösterdiği için 1. haftadaki bu düşüş 4. ve 5. hafta vücut ağırlığı değerleri ile de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Diyabete bağlı gelişen vücut ağırlığı kaybından dolayı D grubunda çıkış ve 1. hafta vücut ağırlığı ortalamalarının diğer ölçüm zamanlarına göre önemli düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,001$). 2. haftadan sonra 3 ve 4. haftalarda vücut ağırlığı kaybı azalmış ($P>0,05$), 5. ve 6. haftada tekrar önemli düşüşler şekillenmiştir ($P<0,05$). Deney sonu 6. hafta vücut ağırlığı ortalamasının 5. hafta dışındaki değerlerden önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir ($P\leq 0,01$).

Deney sonunda; D grubunun vücut ağırlığı başlangıç ortalamasına göre %23'lük bir azalma gösterirken, DVD grubunda bu oran %26 olarak belirlendi ($P<0,05$). DVD grubunda kademeli bir vücut ağırlığı kaybı olduğu; çıkış değerleri ve diyabetin ilk iki haftasındaki vücut ağırlığı ortalamalarının birbirleri ile ve diğer haftalar ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($P<0,01$). 3 ve 4. haftalarda D grubunda olduğu gibi vücut ağırlığı kaybı durmuş sonraki haftalarda başlangıçtaki kadar belirgin olmasa da düşmeye devam etmiştir. 3. hafta vücut ağırlığı ortalamalarının 4 ve 5. haftalardan istatistiksel olarak farklı olmadığı ancak, deney sonu yani 6. hafta vücut ağırlığı ortalamasının tüm haftalardan önemli ölçüde düşük olduğu görülmüştür ($P<0,01$).

Tablo 2. Vücut ağırlığı ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Zaman	Gruplar							
	K		VitD		D		DVD	
0	515,00	12,68	506,71	12,91	497,57	20,62	483,13	18,32
1	505,57	12,38 ^a	486,57	11,72 ^{ab}	443,00	17,46 ^{bc}	421,38	13,01 ^c
2	515,57	12,07 ^a	491,71	11,77 ^a	416,00	15,61 ^b	402,63	11,89 ^b
3	510,00	10,59 ^a	499,71	10,81 ^a	407,57	15,33 ^b	384,63	11,44 ^b
4	524,43	11,85 ^a	508,29	10,41 ^a	406,00	14,94 ^b	383,00	7,91 ^b
5	524,86	12,24 ^a	512,14	11,17 ^a	391,14	13,89 ^b	368,25	5,88 ^b
6	523,29	11,59 ^a	508,00	12,10 ^a	382,43	12,43 ^b	355,13	6,57 ^b

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D

a, b, c; Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır,

1. Hafta P<0,05, 2. Hafta P<0,01, 3-6. Hafta P<0,001.

4.2. Kan Glikoz Değerleri

Vücut ağırlığında olduğu gibi glikoz değerlerinde de zamana bağlı değişimler ve grup-zaman etkileşiminde istatistiksel önem belirlendi (P<0,001). Grupların glikoz çıkış değerleri birbirinden farklı değilken, diyabet indüksiyonu sonrasında beklenildiği gibi tüm haftalarda diyabet grupları glikoz değerlerinin diyabet olmayan gruplardan yüksek olduğu görüldü (P<0,001). Ayrıca *post hoc* sonuçlara göre deneyin 5. ve 6. haftasında glikoz değerlerinin DVD grubunda D grubuna göre düştüğü belirlendi (sırasıyla P<0,05 ve P=0,069) (Tablo 3). K ve VitD gruplarında glikoz ortalama değerinin 6 haftalık deney periyodunda değişmediği, diyabet grubunda ise 6. haftadaki glikoz değerinin 1. ve 2. hafta glikoz değerlerine göre arttığı (sırasıyla P<0,01 ve P<0,05), benzer şekilde 5. hafta glikoz değerinin de 1. haftaya göre yüksek olduğu görüldü (P<0,05). DVD grubunda ise diyabet indüksiyonundan sonraki 6 haftalık süreçte glikoz değerlerinde önemli bir farklılık saptanmadı. Sadece 2. ve 6. hafta glikoz değerleri arasında P=0,061 düzeyinde bir farklılık belirlendi.

Tablo 3. Kan glikoz değerleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Zaman	Gruplar							
	K		VitD		D		DVD	
0	98,14	2,82	97,57	2,92	88,57	2,70	93,00	2,04
1	83,29	2,77 ^a	85,71	2,16 ^a	446,00	38,38 ^b	495,63	33,18 ^b
2	88,57	1,41 ^a	80,57	2,13 ^a	496,00	30,57 ^b	449,38	35,41 ^b
3	100,71	4,59 ^a	97,86	3,76 ^a	522,29	26,25 ^b	473,88	22,54 ^b
4	113,57	7,82 ^a	100,71	1,34 ^a	511,57	25,90 ^b	471,75	22,88 ^b
5	122,57	5,43 ^a	96,29	0,68 ^a	528,43	22,81 ^b	472,25	10,51 ^c
6	92,86	4,96 ^a	107,29	4,34 ^a	561,00	12,14 ^b	508,13	21,97 ^b

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D
a, b, c; Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır,
Diyabet ve diyabet olmayan gruplar arasındaki fark $P<0,001$,
D-DVD arasındaki fark 5. Hafta $P<0,05$, 6. Hafta $P=0,069$.

4.3. Kan Basıncı

4.3.1. Sistolik Kan Basıncı

Sistolik kan basıncının deney sürecinde zamana bağlı değişimi onaylanmadı ancak deney sürecinde girişimin etkili olduğu zaman grup etkileşimindeki anlamlılık ile onaylandı ($P<0,01$).

Genel olarak kontrol ile diyabet grupları (D ve DVD) arasındaki ($P<0,01$), benzer şekilde VitD grubu ile DVD ve D grubu arasındaki farkın önemli olduğu ($P<0,01$) görüldü. Diyabet gruplarında sistolik kan basıncı değerleri diyabet olmayan gruplara göre daha düşüktü. Bununla birlikte, iki diyabet grubu arasında sistolik kan basıncı değerleri açısından önemli bir farklılığın olmadığı, dolayısıyla vitamin D'nin diyabette sistolik kan basıncını etkilemediği görüldü.

Post hoc sonuçlara göre; çıkış değerleri ve diyabetin birinci haftasında sistolik kan basıncı ortalama değerlerinin gruplar arasında farklı olmadığı, 2. haftada diyabet gruplarının

kan basıncının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ($P<0,05$), bu durumun 3, 4, 5 ve 6. haftalarda da (3. haftada kontrol ve DVD grubu arasındaki farklılık ortadan kalkmıştır) devam ettiği belirlendi. 3. hafta; K-D $P<0,05$, 4. Hafta; K-D $P<0,01$, K-DVD $P<0,05$, 5. hafta; K-D $P<0,05$, K-DVD $P<0,001$, 6. hafta K-D $P<0,01$, K-DVD $P<0,05$. VitD grubu ile kontrol grubunun sistolik kan basıncı ortalamaları arasında önemli bir farklılık belirlenmedi. VitD ve diyabet grupları arasında 2. ve 3. haftada önemli bir farklılık saptanmadı. VitD grubuna göre; 4. haftada D ve DVD grubunun ($P<0,05$), 5. haftada D ($P<0,05$) ve DVD ($P<0,001$) grubunun, 6. haftada ise D grubunun ($P<0,01$) ve DVD grubunun $P<0,05$ düzeyinde sistolik kan basıncı ortalamaları daha düşüktü (Tablo 4).

Tablo 4. Sistolik kan basınçları ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Zaman	Gruplar							
	K		VitD		D		DVD	
0	142,81	3,70	140,02	4,39	148,00	3,52	141,25	4,32
1	144,24	4,33	147,45	4,74	138,22	7,07	140,60	5,34
2	161,36	2,74 ^a	148,38	5,01 ^{ab}	130,62	5,41 ^b	131,13	5,15 ^b
3	146,38	6,58 ^a	141,00	4,84 ^{ab}	126,10	4,60 ^b	132,43	3,20 ^{ab}
4	163,38	4,79 ^a	151,05	4,37 ^{ac}	132,81	3,93 ^b	136,08	3,37 ^{bc}
5	156,62	5,91 ^a	156,95	5,00 ^a	134,14	4,14 ^b	120,90	5,43 ^b
6	149,83	5,64 ^a	148,00	3,49 ^a	124,05	4,72 ^b	127,38	4,47 ^b

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D,

a, b, c; Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır;

2. Hafta: $P<0,01$, 3. Hafta: $P<0,05$, 4. Hafta: K-D ve K-DVD $P<0,001$, VitD-D $P<0,05$,

5. Hafta: K-D ve VitD-D $P<0,05$, K-DVD ve VitD-DVD $P<0,001$,

6. Hafta K-D ve VitD-D $P<0,01$, K-DVD ve VitD-DVD $P<0,05$.

4.3.2. Diyastolik Kan Basıncı

Diyastolik kan basıncının zamana bağlı değişimi ve bu süreçte gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak onaylandı (sırasıyla $P<0,05$ ve $P<0,01$). *Post-hoc* sonuçlara göre, sistolik kan basıncında olduğu gibi çıkış değerleri ve deneyin 1. haftasındaki diyastolik kan basıncı ortalamalarının gruplar arasında farklı olmadığı görüldü. İkinci haftada diyabet grupları D ve DVD'nin kan basıncı değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı ve deney sonuna kadar bu farklılığın devam ettiği belirlendi (2-6. haftalar sırasıyla K-D için $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,01$, K-DVD için $P<0,01$, $P=0,087$, $P<0,01$, $P<0,001$, $P=0,077$). Benzer durum diyabet grupları ve VitD grubu arasında da saptandı. Diyabet gruplarının diyastolik kan basınçları VitD grubuyla karşılaştırıldığında, ikinci haftadan itibaren deney sonuna kadar haftalara göre değişen önem derecelerinde düşüktü (2-6. haftalar sırasıyla VitD-D için $P<0,05$, $P<0,05$, $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,01$, VitD-DVD için $P<0,05$, $P>0,05$, $P<0,01$, $P<0,001$, $P=0,051$) (Tablo 5). Zamana bağlı grup içi değişimler karışıklık oluşturacağı için tabloda gösterilmedi. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde; kontrol ve VitD grubunda zamana bağlı önemli bir değişim olmadığı görüldü. Diyabet grubunda diyastolik kan basıncının diyabetin 2.haftasından itibaren çıkış değerine göre azaldığı saptandı ($P<0,05$ ve $P<0,01$). DVD grubunda ise çıkış değerlerine göre 2, 4 ve 5. hafta kan basıncı ortalamalarının daha düşük olduğu belirlendi ($P<0,05$ ve $P<0,01$).

Tablo 5. Diyastolik kan basınçları

Zaman	Gruplar							
	K		VitD		D		DVD	
0	116,28	5,36	124,33	3,93	124,44	5,07	119,90	2,31
1	119,48	4,71	125,29	5,66	109,67	6,28	119,13	5,10
2	137,39	1,85 ^a	126,48	4,89 ^a	104,71	5,99 ^b	103,48	4,00 ^b
3	126,38	6,62 ^a	122,71	5,76 ^a	99,29	4,70 ^b	107,76	3,05 ^{ab}
4	127,45	3,66 ^a	123,76	5,24 ^{ab}	108,00	1,76 ^{bc}	103,21	4,13 ^c
5	129,55	4,99 ^a	128,61	4,97 ^a	103,67	4,27 ^b	94,75	4,39 ^b
6	119,56	4,50 ^a	120,57	3,03 ^a	98,14	4,83 ^b	104,17	3,92 ^{ab}

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D,

a, b, c; Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır.

2. hafta: K-D ve K-DVD $P<0,001$, VitD-D $P<0,05$, VitD-DVD $P<0,01$

3. Hafta: K-D $P<0,01$, VitD-D $P<0,05$, 4. Hafta: K-D $P<0,05$, K-DVD ve VitD-DVD $P<0,01$

5. Hafta: K-DVD ve VitD-DVD $P<0,001$, K-D ve VitD-D $P<0,01$,

6. Hafta K-D ve VitD-D $P<0,01$.

4.3.3. Ortalama Kan Basıncı

Tekrarlayan ölçümler için varyans analizi sonuçlarına göre, ortalama kan basıncı (OKB) için zamanın etkisi ($P=0,06$), zaman-grup interaksyonu ($P<0,01$) olarak belirlendi. *Post-hoc* sonuçlara göre, deneyin 1. haftasında ortalama basınç değerlerinin de gruplar arasında farklı olmadığı görüldü. İkinci haftada diyabet grupları D ve DVD'nin kan basıncı değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı ve deney sonuna kadar bu farklılığın devam ettiği belirlendi (2-6. haftalar sırasıyla K-D için $P<0,05$, $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,01$, $P<0,01$, K-DVD için $P<0,01$, $P>0,05$, $P<0,01$, $P<0,001$, $P<0,05$). Benzer durum diyabet grupları ve VitD grubu arasında da saptandı. Diyabet gruplarının ortalama kan basınçları VitD grubuyla karşılaştırıldığında, ikinci haftadan itibaren deney sonuna kadar, haftalara göre değişen önem derecelerinde düşüktü (2-6. haftalar sırasıyla VitD-D için $P<0,05$, $P<0,05$, $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,01$, VitD-DVD için $P<0,05$, $P>0,05$, $P<0,01$, $P<0,001$, $P<0,05$) (Tablo 6).

Tablo 6. Ortalama kan basınçları ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Gruplar									
Zaman	K		VitD		D		DVD		
0	125,12	4,71	129,56	4,00	132,30	4,02	127,01	2,63	
1	127,73	4,35	132,67	5,19	119,18	6,20	126,28	5,07	
2	136,46	3,71 ^a	133,78	4,89 ^a	113,35	5,59 ^b	112,69	4,19 ^b	
3	133,05	6,46 ^a	128,81	5,38 ^a	108,22	4,50 ^b	115,98	3,04 ^{ab}	
4	134,49	2,83 ^a	132,86	4,79 ^a	116,27	1,82 ^b	114,17	3,24 ^b	
5	138,57	4,83 ^a	138,06	4,83 ^a	113,83	4,01 ^b	103,47	4,67 ^b	
6	129,65	4,64 ^a	129,71	2,75 ^a	106,78	4,51 ^b	111,90	3,84 ^b	

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D,

a, b, c; Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır;

2. hafta: K-D $P<0,05$ ve K-DVD $P<0,01$, VitD-D ve VitD-DVD $P<0,05$

3. Hafta: K-D $P<0,05$, VitD-D $P<0,05$ 4. Hafta: K-D, K-DVD ve VitD-DVD $P<0,01$, VitD-D $P<0,05$

5. Hafta: K-DVD ve VitD-DVD $P<0,001$, K-D ve VitD-D $P<0,01$

6. Hafta K-D ve VitD-D $P<0,01$, K-DVD ve VitD-DVD $P<0,05$.

4.4. 25(OH)Vitamin D ve Kalsiyum Düzeyleri

Diyabet ve Vitamin D'nin kalsiyum düzeylerine önemli bir etkisi olmadı. Vitamin D düzeyinin ise girişimlerden etkilendiği, DVD grubunda Vitamin D düzeyinin diğer gruplara göre önemli düzeyde düştüğü belirlendi ($P<0.01$).

Tablo 7. 25(OH)Vitamin D ve kalsiyum düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Değişkenler	Gruplar							
	K		VitD		D		DVD	
25(OH)VitD (ng/mL)	42,03	2,79 ^a	46,80	1,01 ^a	45,90	2,66 ^a	33,32	1,73 ^b
Kalsiyum (mg/dL)	9,24	0,13	9,20	0,21	9,04	0,10	9,01	0,36

K; Kontrol, VitD; Vitamin D, D; Diyabet, DVD; Diyabet+Vitamin D.

a, b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır; $P<0,001$.

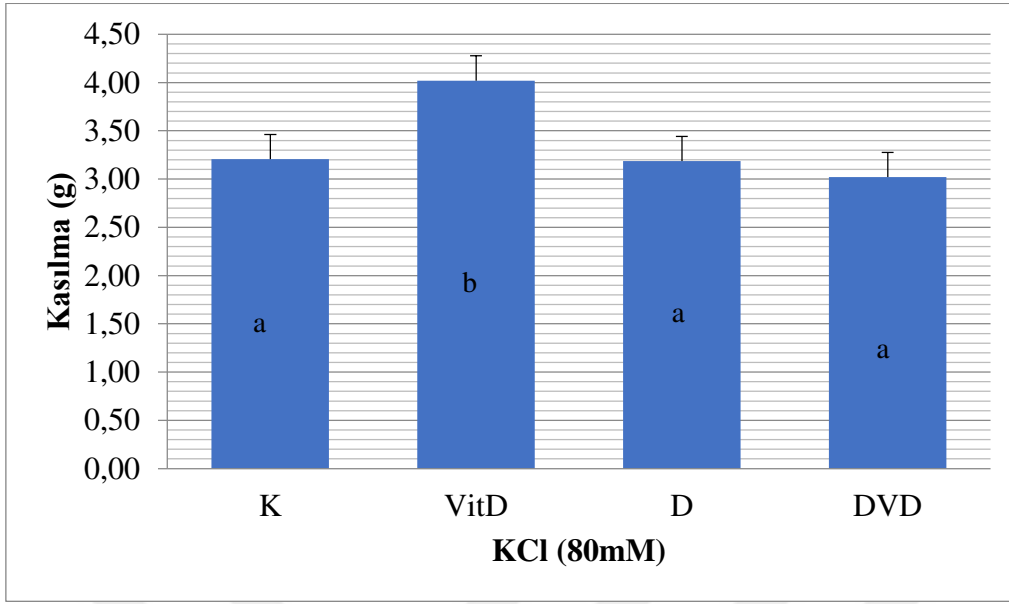
4.5. Damar Yanıtları

4.5.1. Potasyum Klorür

Tek yönlü varyans analizi sonuçları aort halkalarının KCl yanıtlarının gruplar arasında farklı olduğunu onayladı ($P<0,01$). VitD grubunun KCl'e verdiği kasılma yanıtı diğer gruplardan daha yüksekti (Şekil 5).

4.5.2. Fenilefrin

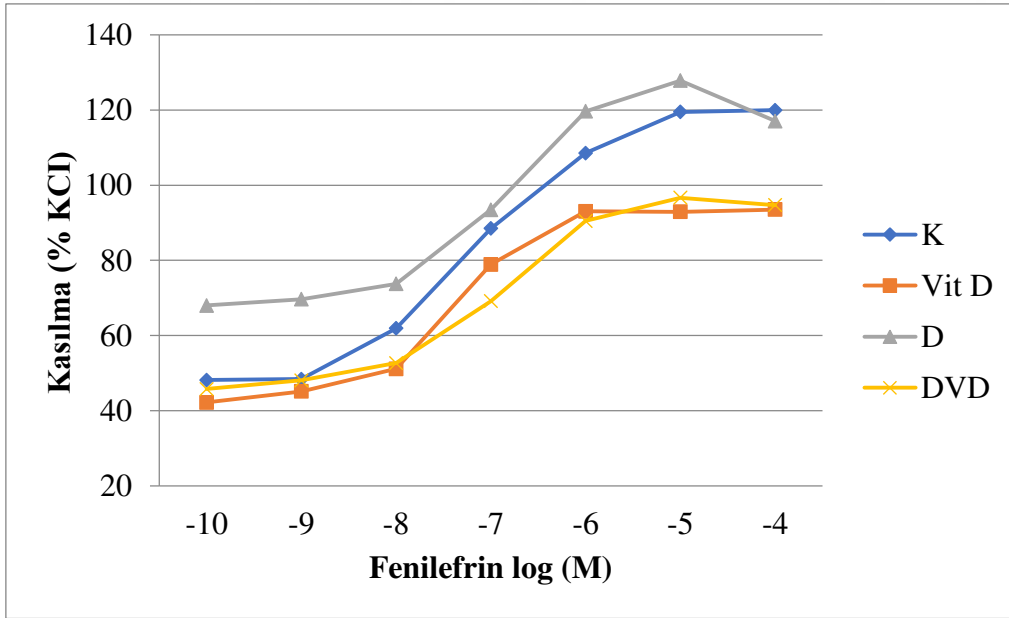
Tekrarlayan ölçümler için varyans analizi sonuçlarına göre konsantrasyona bağlı olarak aort halkalarının kasılma yanıtı arttı ($P<0,001$) ancak, deney gruplarının fenilefrine verdikleri kasılma cevabı istatistiksel öneme ulaşmadı ($P=0,076$). Diyabet grubunda kasılma yanıtı ortalamasının en yüksek olması, Vitamin D alan gruplarda ise kasılma yanıtının kontrol ve diyabet grubuna göre daha düşük olduğu dikkati çekti (Şekil 6).



Şekil 5. KCl kasılma yanıtları

K: Kontrol, VitD: Vitamin D, D: Diyabet, DVD: Diyabet+Vitamin D.

a, b: Farklı harf taşıyan gruplar birbiriyle anlamlıdır ($P < 0,01$).

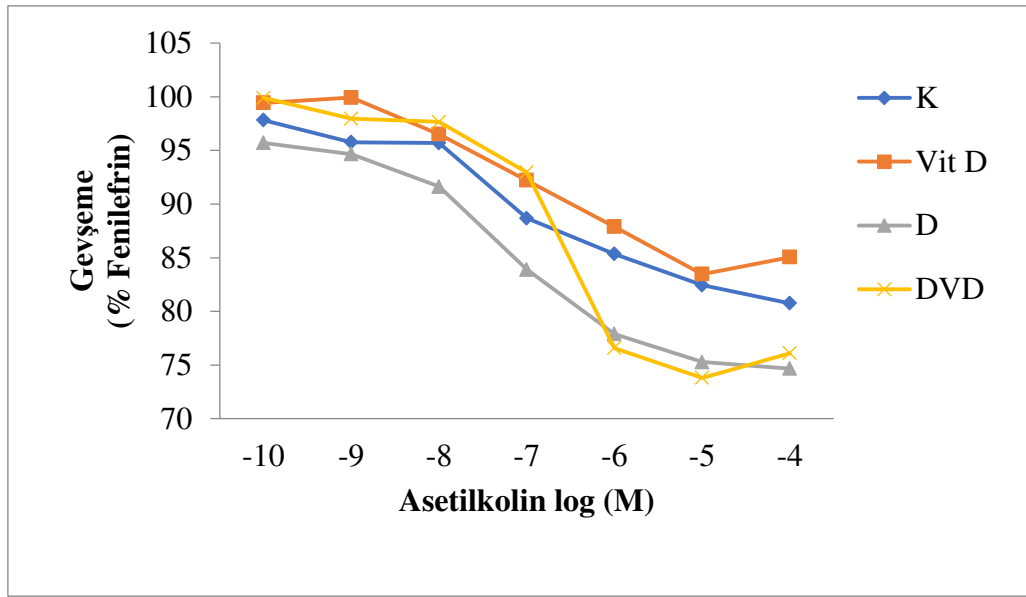


Şekil 6. Fenilefrin kasılma yanıtları

K: Kontrol, VitD: Vitamin D, D: Diyabet, DVD: Diyabet+Vitamin D

4.5.3. Asetilkolin

10⁻⁵ M fenilefrin ile prekontraksiyonu sağlanan aort halkalarının 10⁻¹⁰-10⁻⁴ M asetilkoline verdiği gevşeme yanıtlarının gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlendi (P=0,082). İstatistiksel öneme ulaşmasa da beklenmedik biçimde diyabet grupları gevşeme yanıtlarının kontrol ve VitD grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 7).

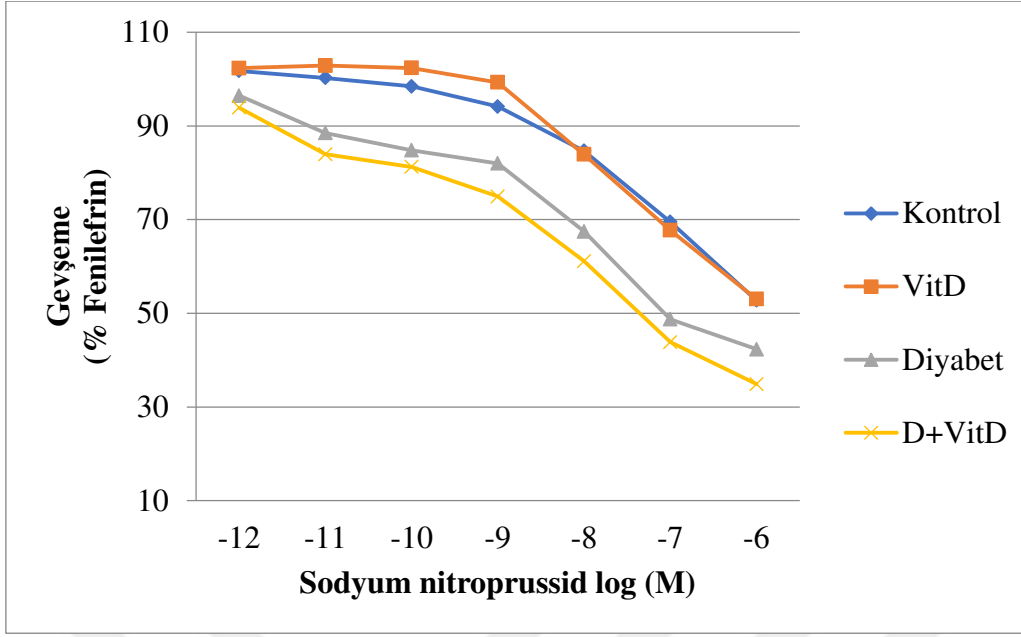


Şekil 7. Asetilkolin gevşeme yanıtları

K: Kontrol, VitD: Vitamin D, D: Diyabet, DVD: Diyabet+Vitamin D

4.5.4. Sodyum Nitroprussid

10⁻⁵ M fenilefrin ile prekontraksiyon sağlanan aort halkalarının 10⁻¹²-10⁻⁶ M SNP'ye verdiği gevşeme yanıtlarının gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlendi (P>0,05). Diyabet grupları gevşeme oranlarının daha iyi olduğu dikkati çekti (Şekil 8).



Şekil 8. Sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları

K: Kontrol, VitD: Vitamin D, D: Diyabet, DVD: Diyabet+Vitamin D

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, “kalp-damar sağlığı ve diyabette olumlu etkileri bildirilen vitamin D, sıçan T1D modelinde, kan basıncı ve aort kasılma-gevşeme yanıtlarını nasıl etkiler” sorusunun cevabı araştırıldı. Bulgular, vitamin D’nin diyabette glikoz düzeylerine olumlu etkilerinin olabileceğini ancak, kan basıncı ve damar yanıtlarında ortaya çıkan değişimlere önemli bir etkisinin olmadığını gösterdi.

5.1. Vücut Ağırlığı ve Glikoz Değerleri

Diyabetli gruplarda birinci haftadan itibaren diyabet olmayan gruplara göre vücut ağırlığında önemli azalmalar meydana geldi ($P<0,001$). Her iki diyabet grubunda 3-4. haftalarda ağırlık kaybı durdu, ancak daha sonra ağırlıklar düşmeye devam etti. Deneyde kullanılan sıçanlar erişkin sıçanlar olduğundan diyabet olmayan grupların vücut ağırlığı deney başlangıcına göre önemli bir değişim göstermedi. Diyabet gruplarının deney sonu ağırlıkları diyabet olmayan gruplarla karşılaştırıldığında ya da diyabet gruplarının deney sonu vücut ağırlığı ortalamaları başlangıç vücut ağırlığına oranlandığında yaklaşık %25-30’luk bir vücut ağırlığı kaybı şekillendi. Diğer taraftan vitamin D’nin ne sağlıklı ne de diyabetli sıçanlarda vücut ağırlığına önemli bir etkisi olmadı. Diyabetin vücut ağırlığında benzer oranlarda düşmeye neden olduğu diğer çalışmalar tarafından da bildirilmiştir (Vardı ve ark 2003; George ve ark 2012; Calgaroto ve ark 2014; Oktay 2015). Bununla birlikte vitamin D’nin diyabette şekillenen vücut ağırlığı kaybını düzelttiği (George ve ark, 2012) veya etkilemediği (Calgaroto ve ark, 2014) görülmektedir.

Çalışmada, STZ uygulamasından önce tüm sıçanların açlık kan şekeri konsantrasyonları normal sınırlardaydı. Diyabet indüksiyonundan sonra 1. haftadan itibaren diyabet gruplarının kan şekeri diyabet olmayan gruplara göre yükseldi ve deney sonuna kadar bu farklılık devam etti ($P<0,001$). Bununla birlikte vitamin D alan diyabet grubunda kan glikoz düzeyinin 5. ve 6. haftada diyabet grubundan daha düşük olduğu belirlendi (sırasıyla $P<0,05$; $P<0,069$). Ancak, DVD grubunda glikoz konsantrasyonunda meydana gelen bu düşüş glikoz değerlerini kontrol değerlerine yaklaştıracak kadar belirgin değildi. Sağlıklı sıçanlarda vitamin D’nin kan glikozuna önemli bir etkisi olmadı. STZ ile indüklenmiş T1D modelinde vitamin D’nin

sıçanların kognitif fonksiyonlara etkilerini araştıran Calgaroto ve ark (2014), 4 haftalık diyabet sürecinde 90 µg/kg dozda mısır yağı içerisinde oral yolla verilen vitamin D₃'ün kan glikoz düzeyini değiştirmedeğini bildirmişlerdir. Buna karşın 2 hafta süreyle 12 µg/kg dozda gavajla verilen Vitamin D₃ glikoz ve insülin miktarlarında kontrol değerlerine yakın bir iyileşme sağlamıştır (Peeyush ve ark 2010; Kumar ve ark 2011; George ve ark 2012). Diyabetli sıçanlarda vitamin D'nin glikoz düzeyini kontrole yaklaştırdığını bildiren bu çalışmalarda (Peeyush ve ark 2010; Kumar ve ark 2011; George ve ark 2012), kan glikoz düzeyi kontrol ya da diyabet öncesi değerlere göre yaklaşık 3 katlık bir artış göstermiştir. Ayrıca, bu çalışmalarda kullanılan sıçanlar ortalama 180-240 g vücut ağırlığında olan daha genç hayvanlardır. Çalışmamızda diyabetli grupların glikoz değerlerinde kontrol ya da başlangıç değerlerine göre yaklaşık 5 katlık bir artış şekillendi ve sıçanlar ortalama 500 g vücut ağırlığında olup erişkin dönemdediler. Vitamin D'nin diyabetli sıçanlarda glikoz düzeyine önemli bir etkisi olmadığını bildiren Calgaroto ve ark (2014)'nın çalışmasında da glikoz konsantrasyonunun kontrole göre 4-5 kat arttığı ve diyabet öncesi vücut ağırlıklarının ortalama 400 g kadar olduğu görülmektedir. Çalışmamızda glikoz düzeylerindeki iyileşmenin diğerlerine göre sınırlı olması ya da diğer çalışmalardaki kadar belirgin olmaması, hayvanların yaşı, vücut ağırlığı ve hipergliseminin şiddeti ile ilişkili olabilir. Ayrıca vitamin D'nin formu, veriliş şekli ve dozu da çalışmamızdakinden farklıdır. Calle ve ark (2008)'nin diyabetik sıçanlarda 1,25(OH)₂D₃ (3.75 µg/kg/gün) ile 15 gün uyguladığı tedavi, diyabetin neden olduğu hiperglisemi, hipoinsülinemi, glikozüri veya ketonemiye düzeltmemiş ancak, karaciğerde ve yağ dokusunda insülin reseptör geninin aşırı ekspresyonunu düzeltmiştir. Bu etki reseptör afinitesini değiştirmeden insülin reseptör sayısını normalleştirmiş ve adipositlere glikoz girişi için gerekli insülin yanıtını iyileştirmiştir. STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde, 8 hafta boyunca 250 ng/kg haftada üç kez oral 1,25(OH)₂D₃ uygulamasının, pankreas adacık hasarını ve insülin gereksinimlerini azaltarak diyabeti iyileştirdiği bildirilmiştir (Del Pino-Montes ve ark, 2004). Del Pino-Montes ve ark, (2004)'nin çalışmasında sıçanların glikoz düzeyleri, insülin uygulamasıyla 350 mg/dL'nin altında tutulmuştur. Deney sonunda insülin uygulanmaksızın geçen 7 gün sonunda kan glikoz düzeyi 200 mg/dl'nin altında olan sıçanların diyabetinin düzeldiği kabul edilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda 1,25(OH)₂D₃ tedavisi uygulanan diyabetik sıçanlarda diyabet oranı %45'e düşerken, tedavi uygulanmayanlarda bu oran %85'te kalmıştır (Del Pino-Montes ve ark, 2004).

Yukarıda da özetlendiği gibi deneysel hayvan modellerinde Vitamin D kullanımı oldukça farklılık göstermektedir (Del Pino-Montes ve ark, 1997; Calle ve ark, 2008; George

ve ark, 2012; Calgaroto ve ark, 2014). Vitamin D₃, (kolekalsiferol) ya da aktif Vitamin D₃ (1,25 dihidroksikolekalsiferol) formunda, oral ya da parenteral yolla, farklı dozlarda ve sürelerde uygulanmaktadır. Wong ve ark, (2014)'nın, farelerde 1,25(OH)₂D₃'ün karotid arter hasarı sonrasında endotel rejenerasyonuna etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında rejenerasyon etkisi düşük dozda ortaya çıkmamıştır. Araştırmayı planlarken etkili dozu ve verilme şeklini belirleyebilmek için yapılan literatür taramalarında; sıçanlarda 1,25(OH)₂D₃'ün oral 0,3µg/kg/gün (Li ve ark, 2013), 0,15µg/kg/gün (Dong ve ark, 2012), subkutan 0,18 µg/kg/gün (Przybylski ve ark, 2010), 0,15 µg/kg/gün (Wei ve ark, 2017b) veya intraperitoneal 0,5µg/kg/haftada 3 gün (Elattar ve ark, 2017), 5 µg/kg/gün aşırı (Wang ve ark, 2016) şeklinde farklı uygulamalarına rastlanmıştır. Çalışmada kullandığımız uygulama şekli “120 ng/100 g/haftada bir kez” daha önce sıçan polikistik over modelinde kullanılmış ve damar yanıtında etkili sonuçlar elde edilmiştir (Sara et al 2012; Masszi et al 2013). Ayrıca hayvanı daha az strese sokmak için günlük subkutan uygulama yerine bu uygulama şekli tercih edilmiştir.

5.2. Kan Basıncı

Bu çalışmayı daha önceki kanıtlara dayanarak (De Vriese ve ark 2000; Li ve ark 2013; Mota ve ark, 2014; Sturza ve ark 2015; Elham ve ark 2017; Deda ve ark, 2018) T1D'in; kan basıncını artıracak, endotel disfonksiyonuna bağlı olarak asetilkolinin indüklediği gevşeme yanıtını azaltacak ve vitamin D'nin bu durumu düzeltebileceği hipotezi üzerine kurmuştuk. Ancak, bulgularımız hipotezi desteklemedi.

Diyabet gruplarında, beklenenin tersine 2. haftadan itibaren ortalama kan basınçlarının diyabet olmayan gruplara göre düştüğü ve deney sonuna kadar bu farklılığın devam ettiği kaydedildi (P<0,01). Bununla birlikte, bulgularımızı destekleyen, deneysel T1D modelinde kan basıncının düştüğünü bildiren çalışmalar (Kusaka ve ark 1987; Yu ve Mc Neill 1991; 1992; Katovich ve ark, 1995) olduğu görülmektedir. Katovich ve ark (1995), sıçanlarda STZ ile indüklenmiş T1D modelinde farklı dozlarda insülin tedavisinin kan basıncı ve metabolik değişkenlere etkilerini araştırmışlardır. Kan basıncını hem indirekt yöntemle 2. haftadan itibaren kuyruktan, hem de 10-14. haftalarda direkt yöntemle karotid artere kalıcı kanül yerleştirerek anestezi olmaksızın sıçanlar kafes içerisindeyken ölçmüşlerdir. İndirekt yöntemle alınan kan basıncı değerlerinin gruplar arasında farklı olmadığını buna karşın direkt yöntemle kaydedilen kan basınçlarında insülin tedavisi uygulanmayan diyabetli grupta, kontrol grubuna göre sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncının daha düşük olduğunu

saptamışlardır. Ayrıca, insülin tedavisinden sonra düşük kan basıncı değerleri normale dönmüştür. Araştırmacılar STZ ile indüklenmiş diyabetin 10-14 haftalık süreçte hipertansif bir durum oluşturmadığını göstermişlerdir (Katovich ve ark, 1995). Direkt kan basıncı ölçümünün indirekt yöntemle göre daha güvenilir bir yöntem olduğunu ileri süren Kusaka ve ark (1987), normotansif Wistar Kyoto sıçanlarında (WKY) ve spontan hipertansif sıçanlarda (SHT), STZ indüksiyonu ile diyabet oluşturarak direkt ve indirekt yöntemle kan basıncını değerlendirmişlerdir. Diyabetli WKY ve SHR sıçanlarında abdominal aortaya yerleştirdikleri kanülden kaydettikleri direkt kan basıncının WKY sıçanlarında 2. haftadan, SHR sıçanlarında ise 1. haftadan itibaren kontrollere göre düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın indirekt yöntemle kaydedilen kan basıncının diyabetli WKY ve SHR sıçanlarında kontrole göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada diyabetin kan basıncını düşürdüğünü indirekt yöntemle saptadık. Direkt ve indirekt yöntem arasında fark bulan araştırmacılar kuyruktan basınç ölçümü sırasında kuyruğun ısıtılması, hayvanın restrainer içerisine konması gibi rutinde uygulanan faktörlerin hipertansif bir tablo oluşturabileceği olasılığını düşünerek direkt yöntemle kan basıncı ölçümünden önce hayvanları ısıtmışlar ve bu uygulamanın SHR sıçanlarında kan basıncını artırdığını, WKY sıçanlarında ise düşürdüğünü görmüşlerdir (Kusaka ve ark, 1987). Ayrıca kuyruk morfolojisinde diyabete bağlı şekillenen çaptaki küçülme, kemik ve kas kütlesindeki azalma ve fibroz doku artışının indirekt yöntemle elde edilen kan basınçlarının yüksek çıkmasında etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kuyruk morfolojisinde meydana gelen bu değişimin, kuyruk arterinde manşon basıncı maksimum seviyenin üzerine çıktığında bile arteriyel lümenin tamamen sıkışmasını engelleyebileceği bu nedenle indirekt kan basıncı ölçümlerinin daha yüksek kaydedildiğini iddia etmişlerdir (Kusaka ve ark, 1987). Bu çalışmada da indirekt kan basıncı ölçüm prosedüründe uygulanan tekniklerin stres faktörü olabileceği ve diyabetli sıçanlarda stres yanıtının azalabileceği (Yoshida ve ark, 1985) olasılığı düşünüldü ancak, stres faktörlerinin elimine edildiği direkt kan basıncı ölçümlerinde STZ ile indüklenmiş diyabetin kan basıncını düşürdüğüne ilişkin kanıtlar etkinin diyabetten kaynaklandığını desteklemektedir.

Diyabetin kan basıncını neden düşürdüğüne ilişkin olası mekanizmalar; basınç artışını sağlayan vazoaaktif mekanizmalara karşı duyarlılığının azalması (Yu ve McNeill, 1992; Hebden ve ark 1987), hiperglisemiye bağlı şekillenen ozmalarite artışının şekillendirdiği vazodilatasyon (Friedman 1989), sodyum ekskresyonun artması (Katovich ve ark, 1995) renin salgısının azalması (Katayama ve Lee, 1985) şeklinde açıklanmaktadır ve bu değişikliklerin insülin tedavisiyle düzeltildiği bildirilmektedir. Friedman ve ark (1989), hiperglisemiden kaynaklanan ozmalarite artışının vazodilatasyon mekanizmalarını şu kanıtlara

dayandırmışlardır. Ozmolarite artışı, damar düz kasının dehidrasyonuna ve damar duvar kalınlığının artması pahasına lumende genişlemeye neden olmaktadır (Gray, 1971) ayrıca, düz kas hücrelerinde meydana gelen dehidrasyon hücre içi K artışına ve hiperpolarizasyona neden olarak vazodilatasyon şekillendirmektedir (Brace ve Andersen, 1973). Bu çalışmada, buna ilişkin bir değerlendirme olmamakla birlikte diyabetli sıçanların damar lumenlerinin diyabet olmayanlara göre genişlediği gözlenmişti. Ayrıca diyabetin şekillendirdiği polifaji, poldipsi ve poliüri semptomları değerlendirilmemekle birlikte dikkat çekiciydi. Diyabetli sıçanlarda poliüri ve sodyum ekskresyonundaki artışın plazma volümüne etkilerine bakıldığında; STZ enjeksiyonundan sonraki ilk gün ve sonrasında su alımı ve idrar çıkışlarının arttığı, geçici bir negatif su dengesinden sonra su girişi ve çıkışının, aynı şekilde sodyum alım ve atımının eşit olduğu bildirilmiştir (Hebden ve ark, 1986). STZ enjeksiyonundan sonraki 21. günde diyabetli sıçanlarda kontrole göre hematokrit değerin düştüğü ve hiponatremi geliştiği, hiperglisemiye bağlı şekillenen ozmolarite artışı ve volüm genişlemesinin hiponatremi şekillendirdiği belirtilmiştir (Hebden ve ark, 1986).

Bu çalışmada vitamin D'nin ne sağlıklı sıçanlarda ne de diyabette ortalama kan basıncı üzerine önemli bir etkisi görülmedi. Bununla birlikte istatistiksel önemde olmasa da fenilefrin yanıtlarının vitamin D alan gruplarda kontrol ve diyabet grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ($P=0,076$). Epidemiyolojik çalışmalar, insanlarda vitamin D yetmezliği ile hipertansiyon, ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki bulunduğunu bildirmekle birlikte (Judd ve Tangpricha, 2008; Norman ve Powell, 2014), kardiyovasküler hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için rutin D vitamini takviyesini destekleyen kanıtlar eksiktir (Hiemstra ve ark, 2019). Vitamin D'nin kan basıncına etkilerinin de tutarsız olduğu görülmektedir (Judd ve Tangpricha, 2008). İnsanlarda vitamin D takviyelerinin kan basıncını düşürdüğü (Krause ve ark 1998) ya da etkilemediği (Myrup ve ark 1992; Pan ve ark1993) bildirilmektedir. Sıçanlarda da D vitamini uygulamasıyla kan basıncının arttığı (Bukoski ve Xue, 1993; Bukoski ve ark, 1993, Santos ve ark, 2014) veya değişmediği (Hatton ve ark,1994) görülmektedir. Vitamin D düzeyi yetersiz ve yeterli 18-25 arasındaki genç erkeklere uygulanan vitamin D tedavisi süresince, D vitamini yetersiz bireylerde yeterli bireylere göre birinci ayda kan basıncının yüksek olduğu, benzer şekilde kalp ritminin ve norepinefrin düzeylerinin de başlangıçta yüksek olduğu son değerlendirmelerde ise iki grup arasında fark olmadığı görülmüştür. Serum vitamin D düzeyi düşük sağlıklı gençlerde D vitamini takviyesinin sempatik sinir sistemini modüle edebileceği sonucuna varılmıştır (Tønnesen ve ark, 2018). VDR knock-out farelerde (Szeto ve ark, 2012) ya da diyetle indüklenen D vitamini yetmezliğinde RAS sisteminin aktivasyonundan dolayı kan basıncının

yükseldiği ve vitamin D takviyesinin bu durumu düzelttiği bildirilmiştir (Wong ve ark, 2013). Vitamin D takviyesinin olumlu etkilerinin vitamin D düzeylerinin normal ya da yetersiz olduğu durumlarda ayrıca sağlıklı veya indüklenmiş durumlarda farklı olabileceği görülmektedir. Wong ve ark (2014), 1,25(OH) D_3 'ün hem sağlıklı ve hem de indüklenmiş modellerde (karotid arter hasarı, tip 1 diyabet, femoral arter ligasyonu) endotel rejenerasyonunu artırdığını ancak tip1 diyabetli farelerde saptanan rejenerasyonun sağlıklı farelere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. 6 hafta süreyle 10ng/kg/gün 1,25-dihidroksivitamin D3 verilen spontan hipertansif ratlarda (SHR) verilmeyenlere göre kan basıncı düşerken, vitamin D alan normotansif Wistar Kyoto sıçanlarında (WKY) kan basıncının değişmediği görülmüştür (Wong ve ark, 2010).

Bu çalışmada vitamin D alan gruplar ile vitamin D almayan gruplar karşılaştırıldığında; vitamin D düzeylerinin K, VitD ve D grubunda farklı olmadığı ancak, ilginç olarak DVD grubunda vitamin D düzeyinin diğer gruplardan önemli düzeyde düşük olduğu belirlendi. Kalsiyum düzeyleri açısından herhangi bir farklılık görülmedi ve vitamin D kullanımına bağlı bir hiperkalsemi durumu yoktu. Diyabet hastalarında sıklıkla vitamin D eksikliğinin görüldüğü (Van-Belle ve ark, 2013), tip 2 diyabet hastalarında aktif D vitamini eksikliğinin sistemik inflamasyonla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Thorand ve ark, 2011). Bununla birlikte tip 1 diyabetli farelerde vitamin D düzeylerinin normal olduğu saptanmıştır (Wong ve ark 2010; Wong ve ark, 2014). Bu çalışmada da diyabet grubunda vitamin D düzeyleri kontrol grubundan farklı değildi.

25(OH)VitD $_3$ 'ün yarı ömrü 1,25(OH) $_2$ VitD $_3$ 'e göre daha uzun ve serumdaki konsantrasyonu daha kararlı olduğu için serum Vitamin D düzeylerinin belirlenmesinde 25 (OH)Vitamin D $_3$ kullanılmaktadır. 25(OH)VitD $_3$ ve 1,25(OH) $_2$ VitD $_3$ düzeylerinin korunmasında CYP24A1 enzimi önemli rol oynamaktadır. CYP24A1, dolaşımdaki 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ arttığı zaman 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün 24-hidroksile edilmiş ürünlere dönüştürülmesini katalize ederek ekskresyonunu sağlar ve böylece miktarını sınırlandırır veya 24,25(OH) $_2$ D $_3$ oluşturarak 1-hidroksilasyon için mevcut olan 25(OH)D $_3$ havuzunu azaltır. Bu çalışmada CYP24A1 aktivitesi belirlenmedi ancak, vitamin D takviyesi yapılan diyabet grubunda vitamin D miktarındaki azalmanın, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ve 25(OH)D $_3$ sentezindeki negatif-feedback düzenlemeden kaynaklanabileceği düşünüldü. Bununla birlikte, VitD grubunda benzeri bir durumun görülmemesi, ayrıca, vitamin D takviyesi yapılan diğer çalışmalarda 25(OH)D $_3$ düzeyinde meydana gelen artışlar (Wong ve ark, 2014) bu düşüncemizi desteklememektedir. Ayrıca, arteriyel doku içindeki lokal D vitamini metabolit konsantrasyonlarının dolaşımdaki düzeylerden farklı olabileceği, çünkü vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri,

makrofajlar ve dendritik hücrelerin tümünün CYP27B1 aktivitesine sahip olup, 1,25(OH)₂ Vitamin D üretebildiği bildirilmiştir (Mathieu, 2015). D vitamini bağlayıcı protein (DBP) varlığının da, kandaki toplam 1,25(OH)₂D₃ seviyesini etkilediği, ancak hücrelere ve dokulara girmekte serbest kalan biyolojik olarak aktif hormon seviyelerine önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir. DBP'den yoksun farelerde, 1,25(OH)₂D₃ plazma konsantrasyonları önemli ölçüde azalmış ancak D vitamini aktivitesinin bir belirteci olan serum kalsiyum düzeylerinin normal olduğu bildirilmiştir (Zella ve ark, 2008). Plazma 25(OH)VitD₃ düzeyi ile ilişkili olarak, yüksek miktarda VDR'ye sahip olan sinomolgus maymunlarının, düşük miktarda VDR ve yüksek plazma 25(OH)VitD₃ konsantrasyonlarına sahip olanlardan önemli ölçüde daha az ateroskleroz gösterdiği saptanmıştır (Schnatz ve ark, 2012).

5.3. Damar Yanıtları

Bu çalışmada aort kasılma ve gevşeme yanıtlarında KCl yanıtı dışında istatistiksel önemde bir değişim saptanmadı. VitD grubunun KCl'e verdiği kasılma yanıtı diğer gruplardan daha yüksekti ($P<0,01$). Bunun dışında istatistiksel öneme ulaşmasa da fenilefrin kasılma yanıtının vitamin D alan gruplarda kontrol ve diyabet grubuna göre daha düşük olduğu ($P=0,076$), ayrıca diyabet gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtlarının kontrol ve VitD grubuna göre daha yüksek olduğu ($P=0,082$) dikkati çekti.

Diyabetik kan damarlarında K depolarizasyonu ile uyarılan kasılma yanıtının; deneysel modellere, vasküler doku tipine ve diyabet süresine bağlı olarak azaldığı (Head ve ark, 1987; Fulton ve ark, 1991), arttığı (White ve Carrier, 1990) veya değişmediği (Mulhern ve Docherty 1989, Abebe ve Macleod 1990) görülmektedir. Bu durumun vasküler düz kastaki kalsiyum iyon kanalları sayısının ve/veya aktivitesinin değişmesiyle ilgili olabileceği ileri sürülmüş (White ve Carrier, 1990), diyabetli sıçanların kuyruk arterinde L tipi voltaj duyarlı Ca^{+2} kanallarının sayısının azaldığı gösterilmiştir (Wang ve ark, 2000), Curtis ve ark (2003), ise diyabette voltaj bağımlı L-tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} girişinin ve KCl yanıtının değişmediğini buna karşın, depo aracılı Ca^{+2} akışının, artan kan şekeri ve PKC α/β ile ilişkili olarak azaldığını bildirmişlerdir. KCl, G protein-bağılı reseptörleri (GPCR) bypass etmek ve düz kasları yüksek oranda aktif hale getirmek için uygun bir uyarıcı olarak uzun zamandır kullanılmaktadır. KCl, voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarını aktive ederek; sitozolik serbest Ca^{+2} ($[Ca^{+2}]_i$) miktarı, Ca^{+2} -kalmodulin bağımlı miyozin hafif zincir (MLC) kinaz aktivasyonu, MLC fosforilasyonu ve kasılmada artışa neden olarak görece basit mekanizmalarla düz kas

aktivasyonunu sağlar. KCl'nin neden olduğu uyarıcı-yanıt mekanizması, GPCR'lerin aktivasyonu ile oluşturulan daha karmaşık mekanizmaları keşfetmek için karşılaştırmalı çalışmalarda kullanılan standart bir uygulamadır (Ratz ve ark, 2005). GPCR bağımlı Ca^{+2} duyarlılığındaki bu değişiklikler, MLCP'nin ROCK, PKC α/β , and PKC δ tarafından inhibisyonu ile sağlanır (Eto ve ark, 2001). MLCP inhibisyonu, Ca^{+2} -kalmmodulin bağımlı MLCK'yı aktive ederek MLC fosforilasyonunda ve kontraksiyonda bir artış meydana getirir ve Ca^{+2} hassasiyetine neden olur. Bununla birlikte, hücre dışı yüksek KCl konsantrasyonu tarafından indüklenen membran depolarizasyonunun, birçok düz kasta Ca^{+2} duyarlılığına neden olabileceği görülmektedir (Ratz ve ark, 2005). Daha önceleri Ca^{+2} duyarlılığındaki artış için kesinlikle GPCR aktivasyonunun gerekliliği görüşü kabul edilmekteydi ancak, KCl gibi membran depolarizasyonuna neden olan herhangi bir uyarıcının da bunu sağlayabileceği bildirilmektedir (Ratz ve Miner, 2008). KCl, RhoA kinazın sitozolden hücre membranına translokasyonu ve aktivasyonu yoluyla Ca^{+2} duyarlılığına neden olabilmektedir (Ratz ve Miner, 2008).

Bu çalışmada VitD grubunda KCl yanıtının diğer gruplardan yüksek olması D vitamininin, voltaj duyarlı Ca^{+2} kanallarının sayısını ya da Ca^{+2} duyarlılığını artırmış olmasından kaynaklanabilir. 1,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$ 'ün vasküler düz kas hücrelerinde artan norepinefrin konsantrasyonlarında kalsiyum alımını uyardığı ve vasküler reaktiviteyi artırdığı bildirilmektedir (Bian ve ark, 1996). Yedi gün süreyle 1,25(OH) $_2$ D $_3$ verilen SHR sıçanlarda kan basıncının başlangıç değerlerine göre değişmediği ancak mezenterik arter ve aortada *in vitro* KCl ve fenilefrin yanıtının arttığı tespit edilmiştir (Hatton ve ark, 1994). Hipertansif SHR ve normotansif WKY sıçanlarda 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile 72 saatlik (Bukoski ve ark, 1990; Bukoski ve Xue, 1993) *in vivo* tedavi, kan basıncını etkilememiş ancak, mezenterik direnç arterlerinde KCl ve norepinefrin yanıtını artırmıştır. Bir aylık tedavi sürecinde ise normotansif sıçanlarda kan basıncının 7. günde arttığı ve deney boyunca yüksek kaldığı bildirilmiştir (Bukoski ve Xue, 1993). Silva ve ark (1996), tarafından yapılan çalışmada; SHR sıçanlarında aort halkalarının potasyum ve adrenaline olan kasılma yanıtları normotansif Wistar sıçanlara (NWR) göre daha küçük iken, 4 hafta boyunca, 12.5 μ g/100g/gün şeklinde yeme katılan kolekalsiferol bu durumu düzeltmiştir. SHR'de NWR'ye göre daha yüksek olan aort membran potansiyeli kolekalsiferol ile yapılan tedaviden sonra azalmıştır. Araştırmacılar vitamin D $_3$ 'ün membran lipid kompozisyonu ve akışkanlığına olan etkilerinin SHR'deki Na-K ATPaz ve Ca^{+2} duyarlı K kanal aktivitesini değiştirebileceğini savunmuşlardır (Silva ve ark, 1996). Santos ve ark (2014), da yeme iki ay boyunca yüksek dozda (3000 ve 10000 IU/kg) ilave edilen kolekalsiferolün sistolik arter basıncını artırdığını, endotel tabakasının sıyrıldığı

aort halkalarında fenilefrine verilen yanıtların 3000 IU/kg grubunda kontrol grubuna göre yükseldiğini saptamışlardır. Sağlam endotel varlığında fenilefrin yanıtının değişmediğini bu nedenle endotelden salınan gevşetici faktörlerin fenilefrinin vazokonstriktif etkisini kontrol ettiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, Ach ve SNP tarafından indüklenen vasküler gevşeme yanıtı her iki deney grubunda da bozulmuştur (Santos ve ark, 2014). Santos ve ark (2014)'nın çalışmasında vitamin D ve kalsiyum düzeyi kontrol grubuna göre artmasına karşın, bu artışın tür için normal değer aralığında olduğu bildirilmiştir.

Her ne kadar yukarıda özetlenen bazı araştırma bulguları Vitamin D'nin fenilefrin yanıtlarını artırdığını bildirirse de bizim bulgularımızı destekleyen, vitamin D'nin fenilefrin yanıtlarını azalttığını ortaya koyan araştırmalar da mevcuttur (Norman ve ark, 2002; Ün ve ark, 2012; Sturza ve ark, 2015). Bu çalışmada vitamin D alan gruplarda fenilefrin kontraksiyon yanıtı daha düşük iken, vitD grubunda KCl yanıtının yüksek olması bu iki kontraktıl agonistin farklı kalsiyum kanallarını ya da farklı kontraktıl mekanizmaları etkilemesiyle ilişkili olabilir. Ayrıca vitamin D fenilefrin reseptör sayısını ve/veya duyarlılığını etkilemiş olabilir.

Endotel disfonksiyonu, diyabetik vasküler hastalıkların patogeneğinde anahtar rol oynamaktadır. Damar endoteli, vazodilatör aracıları üreterek, damar düz kasının tonusunu kontrol eder. DM fizyolojik vazokonstriktörlere yanıtı artırırken, vazodilatörlere olan yanıtı azaltarak damar aktivitesini değiştirmektedir. Diyabetin farklı hayvan modellerinde, T1D ve T2D'li insanlarda, çeşitli damar yataklarında endotel bağımlı damar fonksiyon bozukluğunun şekillendiği gösterilmiştir (Cameron ve Cotter 1992; Shimizu ve ark 1993; Pieper ve ark, 1996; 1997; De Vriese ve ark, 2000; Mota ve ark, 2014). Bununla birlikte, endotel disfonksiyon mekanizmaları diyabetik modele, diyabetin şiddeti ve süresine ve incelenen vasküler yatağa göre farklılık gösterebilmektedir. Bu konuda çok sayıda çalışma olmasına karşın bulguların farklılığı diyabette endotel bağımlı vazodilatasyonun karmaşık patofizyolojisini göstermektedir (De Vriese ve ark, 2000).

Diyabetin genetik ve kimyasal indüklenmiş modellerinde endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulduğunu bildiren çok sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte (Cameron ve Cotter 1992; Shimizu ve ark 1993; Pieper ve ark, 1996; 1997, Mota ve ark, 2014), endotel kaynaklı vazodilatasyonun değişmediğini (Fortes ve ark 1983; Wakabayashi ve ark, 1987; Head ve ark, 1987; Mulhern ve Docherty, 1989; Manojlović ve ark, 2019) hatta arttığını (White ve Carrier, 1986; Bhardwaj ve Moore, 1988; Gebremedhin ve ark, 1988) bildiren çalışmalar da mevcuttur. Endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına ilişkin mekanizmalar; EDRF'lerden birinin üretiminin azalması, EDRF'nin etkisiz hale getirilmesi,

EDRF'nin düz kas hücrelerine difüzyonun azalması, düz kasın EDRF'ye karşı duyarlılığının azalması ve endotelyum kaynaklı vazokonstriktör maddelerin artması şeklinde sıralanmaktadır (De Vriese ve ark, 2000).

Diyabetin endotel bağımlı gevşeme yanıtını artırdığına ilişkin olarak; Bhardwaj ve Moore (1988), STZ ile oluşturdukları diyabetin 12. gününde desending abdominal aorta yoluyla kanüle ettikleri böbrekte çeşitli vazoaktif maddeleri kullanarak *in vitro* perfüzyon basıncını değerlendirmiştir. Diyabetli sıçanlarda; noradrenalin yanıtının arttığını, SNP yanıtının değişmediğini ve beklenmedik şekilde Ach'nin böbrek damarlarında vazodilatasyonu artırdığını görmüşlerdir. Bu çalışmada da diyabetli sıçanların torasik aort halkalarının Ach ile daha iyi gevşedikleri tespit edildi (P=0,082). Çeşitli endojen maddelerin (asetilkolin, bradikinin, histamin) vasküler gevşeme yanıtları sağlam bir endotele bağlıdır. Bu maddeler düz kas hücrelerinin gevşemesini indükleyen endotel kaynaklı bir gevşetici faktörün (EDRF) salınımını uyarmaktadır (De Vriese ve ark, 2000). Diyabetli sıçanlarda histaminin de endotel bağımlı gevşemeyi artırdığı, endotel kaldırıldıktan sonra bu yanıtın kaybolduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar diyabetin, endojen vazodilatörlere duyarlılığı artırmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir (White ve Carrier, 1986). Çalışmamızda diyabetli sıçanlarda kan basıncının düşük olması ve Ach cevabının artmış olması vazodilatör duyarlılığın arttığını desteklemektedir. Gebremedhin ve ark (1988)'da melez köpeklerde alloxan ile indüklenmiş diyabette izole koroner arterlerin Ach duyarlılığının arttığını, SNP yanıtının ise diyabette değişmediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde damar ve diğer düz kaslarda güçlü gevşetici etkisi olan H₂S'in sıçanlarda 4 ve 12 haftalık diyabet sürecinde torasik aorta, pulmoner arter ve mezenterik arterde etkinliğinin arttığı bildirilmiştir (Denizaltı ve ark, 2011).

Diğer taraftan Mota ve ark (2014), sıçanlarda alloxan ile indüklenmiş tip 1 diyabette sekiz haftalık süreçte kan basıncının arttığını ve asetilkolin kaynaklı gevşeme yanıtının azaldığını ve direnç egzersizinin bu durumu düzelttiğini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte L-NAME varlığında kontrol ve egzersiz yapan diyabet grubunun gevşeme yanıtları azalırken, diyabetli grubun gevşeme düzeyinin değişmediğini bildirmişlerdir (Mota ve ark, 2014). Bu durum diyabetin NO dışındaki EDRF'leri etkinleştirdiğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda vitamin D'nin ne sağlıklı ne de diyabetli sıçanlarda asetilkolinin indüklediği endotel bağımlı gevşemeye ya da SNP'nin indüklediği endotel bağımsız gevşemeye bir etkisi olmadı. Endotelyal VDR olmayan farelerde, eNOS ve fosforillenmiş vazodilatör etkili proteinlerin ekspresyonlarında azalma ile birlikte asetilkolinin indüklediği aort gevşeme yanıtının belirgin şekilde bozulduğu, ve bu farelerin anjiyotensin II'nin hipertansif etkilerine daha duyarlı oldukları saptanmıştır (Ni ve ark, 2014). Sturza ve ark

(2015), Sprague Dawley sıçanlarında STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde 1,25-dihidroksikolekalsiferol'ün torasik aorta kasılma ve gevşeme yanıtına etkilerini farklı bir deneme dizaynıyla değerlendirmişlerdir. Diyabetin birinci ayında kontrol ve diyabetli sıçanlardan alınan torasik aort halkalarını 24 saat süreyle 1,25-dihidroksikolekalsiferol (0.1µM) ile ve 1,25-dihidroksikolekalsiferol olmadan inkübe etmişler ve *in vitro* endotel gevşeme yanıtının diyabetli grupta azaldığını, buna karşın 1,25-kolekalsiferol ile inkübe edilen damarlarda vasküler yanıtın düzeldiğini saptamışlardır (Sturza et al. 2015). Sturza ve ark, (2015)'nin çalışmasında diyabetli sıçan aort halkalarının 10^{-7} M fenilefrine vermiş oldukları kasılma yanıtı diyabetli grupta artarken, 1,25-dihidroksikolekalsiferol ile inkübasyon fenilefrin yanıtını düşürmüştür. Sıçanlarda, gebelik sırasında ve erken yaşam döneminde artan D vitamini miktarlarına maruz kalmak, aortik elastin içeriğinde, aorttaki elastik lamellerin sayısında ve aort halkalarının fenilefrin kasılma yanıtında bir azalmaya neden olmuştur (Norman ve ark, 2002). Artan kalsitriol konsantrasyonları (10^{-7} M ile 10^{-13} M), taşıt maddeye (DMSO) kıyasla sıçan aort halkalarında *in vitro* doza bağımlı damar gevşemesi oluşturmuştur ve L-NAME varlığında bu cevap değişmemiştir (Al-Harbi ve ark, 2015). Ün ve ark, (2012) da alfakalsidol (1α-hydroxyvitamin D₃) ile inkübe edilen aort halkalarında fenilefrinin indüklediği kontraksiyon yanıtının inhibe edildiğini ancak, L-NAME varlığında bu inhibisyonun kaybolduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da, kontrol grubundan farklı olmamakla birlikte en yüksek fenilefrin yanıtı ortalamasının diyabet grubunda olduğu, vitamin D alan gruplarda fenilefrin yanıtlarının düştüğü ancak bu farklılığın istatistiksel öneme ulaşmadığı görüldü (P=0,076). Vitamin D'nin damar koruyucu etkileri; RAS sistemini baskılaması (Li ve ark, 2002; Zhang ve ark, 2008), antioksidan (Salum ve ark, 2013; Takeneka ve ark, 2014; Zhang ve ark, 2018), antiinflammatuvar (Li ve ark, 2013; Deda ve ark, 2018, Zhang ve ark, 2018) ve rejeneratif özellikleriyle (Wong ve ark, 2014) ilişkilendirilmektedir. Uzun süreli vitamin D tedavisi hipertansif sıçanlarda *in vitro* endotel kaynaklı kontraksiyonların amplitüdünü azaltmıştır. VitD-VDR aktivasyonu anjiyotensin-1 (AT-1) ve NOX alt ünitelerini baskılayarak, ROS aşırı üretimini engeller. Bu düzenleme aynı zamanda COX-1 mRNA ve protein düzeyini de azaltır ve kan basıncını düşürür (Wong ve ark 2008; 2010; Dong ve ark, 2012). Bu etkinin hipertansif sıçanlarda daha belirgin olduğu, bu nedenle D vitamini eksikliği olan hipertansif bireylerin, endotel bağımlı kasılmaların artması ile karakterize endotelial fonksiyon bozukluğuna daha yatkın olabileceği vurgulanmıştır (Vanhoutte ve ark, 2017).

Vitamin D, diyabetli bireylerde ya da diyabetin hayvan modellerinde yukarıda özetlenen mekanizmalar üzerinden ve aynı zamanda antidiyabetik etkileri (insülin sekresyonu ve

duyarlılığını artırması, antiinflammatuvar etkiyle sitokinlerin indüklediği beta hücresi disfonksiyonunu ve ölümünü engellemesi) ile damar fonksiyonlarını iyileştirmektedir (Li ve ark, 2013; Deda ve ark, 2017. Bununla birlikte, vitamin D'nin herhangi bir değişiklik oluşturmadığı ya da kısmi iyileşme sağladığı çalışmalara da rastlanmaktadır. STZ ile tip 1 diyabet indüksiyonu yapılan Wistar sıçanlarında 10 hafta süreyle (500 IU/kg) dozda, gün aşırı oral yolla verilen kolekalsiferol aort media tabakasında elastik liflerin parçalanmasını önlemiş (Salum ve ark, 2012), ve damarda AGE birikimini azaltarak oksidatif stres kaynaklı vasküler hasara karşı önemli bir koruma sağlamıştır (Salum ve ark, 2013) ancak, endotel fonksiyonunda veya aort sertliğinde fonksiyonel bir iyileşme belirlenmemiştir. Kronik böbrek hastalığı olmayan kontrol altındaki T2D'li bireylerde 3 hafta süreyle uygulanan kalsitriol tedavisinin plazma renin aktivitesini, serum ve idrar aldosteron seviyesini ve vasküler dinamikleri etkilemediği bildirilmiştir (Zaheer ve ark, 2018). Kronik böbrek hastalarında kalsitriol veya kolekalsiferol ile yapılan altı aylık tedavi, vasküler endotel disfonksiyonunu veya inflamasyonu iyileştirmemiştir (Kendrick ve ark, 2017).

Yukarıda özetlenen araştırma bulguları, diyabetin vasküler yanıtta sınırlı da olsa bulgularımıza benzer sonuçlar oluşturabileceğini ve vitamin D'nin etkilerinin deneysel modele, kullanım şekline ve doza göre farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünyada diyabet insidansı her geçen gün artış göstermektedir ve diyabete bağlı ölümlerin şekillenmesinde kardiyovasküler problemler önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle diyabetli hastaların yaşam kalitesinin ve süresinin iyileştirilmesi, yeni tedavi seçeneklerinin belirlenmesi önemli hedefler arasında yer almaktadır (De Vriese ve ark, 2000; Beckman ve ark, 2002). Vitamin D yetmezliği ile diyabet ve çeşitli kardiyovasküler problemler arasındaki ilişkiye dayanarak (Norman ve Powell 2014; Christakos ve ark, 2015; Mathieu 2015) bu araştırmada, 1,25 dihidroksikolekalsiferolün sıçanlarda diyabete bağlı şekillenmesi beklenen hiperglisemi, kan basıncı artışı ve endotel disfonksiyonunu düzeltebileceğini ön gördük.

Çalışma bulguları, diyabetin 5. ve 6. haftalarında D vitamini alan diyabetli grupta kan glikoz düzeyinin diyabetli gruba göre düşük olduğunu ortaya koydu. Diyabetin hayvan modellerinde vitamin D'nin hiperglisemiyi düzelterek normale getirdiğini bildiren araştırmalar olmakla birlikte değiştirmedini bildirenler de bulunmaktadır. Diyabetin şiddeti, süresi ve/veya vitamin D'nin dozu ve verilme şeklinin hiperglisemideki düzelmenin sınırlı olmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte diyabette şekillenmesini beklediğimiz kan basıncı artışı ve endotel disfonksiyonu bu deneyde görülmedi. Aksine diyabetli sıçanlarda kan basıncının düştüğü ve istatistiksel öneme ulaşmasa da torasik aortada Ach'nin indüklediği endotel bağımlı gevşeme yanıtının arttığı saptandı. Ayrıca vitamin D'nin diyabete bağlı şekillenen vasküler değişimleri etkilemediği belirlendi. Hipotezin dayandırıldığı birçok çalışma diyabetin kan basıncında artışa ve endotel disfonksiyonuna neden olduğunu belirtirken (De Vriese ve ark 2000; Li ve ark 2013; Mota ve ark, 2014; Elham ve ark 2017), bulgularımızı destekleyen, deneysel diyabet modellerinde kan basıncının düştüğünü (Kusaka ve ark, 1987; Yu ve Mc Neill 1991; Katovich ve ark, 1995) ve Ach'nin indüklediği vazodilatasyon yanıtının arttığını bildiren araştırmalar da (White ve Carrier, 1986; Bhardwaj ve Moore, 1988; Gebremedhin ve ark, 1988) bulunmaktadır. Bu farklılıklar, endotel disfonksiyon mekanizmalarının diyabetik modele, diyabetin şiddeti ve süresine ve incelenen vasküler yatağa göre değişmesine ayrıca endotel bağımlı vazodilatasyonun karmaşık patofizyolojisine dayandırılmaktadır (De Vriese ve ark, 2000). Ayrıca, kan basıncının direkt ya da indirekt yöntemle ölçülmesi kan basıncı değerlendirmelerini etkilemektedir. Diyabette kan basıncının düştüğünü bildiren araştırmalar, hem direkt hem de indirekt yöntemle kan basıncını belirlemişlerdir. Direkt yöntemle kan basıncının düştüğünü saptarken, indirekt

yöntemde değişmediğini ya da arttığını bildirmişlerdir. Hatta insülin tedavisinin kan basıncında meydana gelen bu düşüşü düzelttiği belirlenmiştir (Kusaka ve ark, 1987; Yu ve Mc Neill 1991; Katovich ve ark, 1995).

Bu çalışmada, sıçanlarda STZ ile indüklenmiş T1D'in kan basıncını düşürdüğü indirekt yöntemle belirlenmiştir. Diyabetli sıçanlarda kan basıncının düşük olması ve Ach cevabının artmış olması birbiriyle uyumlu bulgulardır ve vazodilatör duyarlılığın arttığına işaret etmektedir. Diyabette vasküler cevaptaki bu farklılıkların olası mekanizmaları aydınlatılmalıdır. T1D'de vitamin D'nin vasküler yanıtı etkileri D vitaminin farklı form, verilme şekli, doz ve süreleri kullanılarak araştırılmalıdır.



KAYNAKLAR

Abebe W, MacLeod KM. Protein kinase C-mediated contractile responses of arteries from diabetic rats. *British Journal of Pharmacology* 1990, 101, 465–471.

Aihara KI, Azuma H, Akaike M, Ikeda Y, Yamashita M, Sudo T, Yoshida T. Disruption of nuclear vitamin D receptor gene causes enhanced thrombogenicity in mice. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279(34), 35798-35802.

Akasaka T, Sueta D, Tabata N, Takashio S, Yamamoto E, Izumiya Y, Hokimoto S. Effects of the mean amplitude of glycemic excursions and vascular endothelial dysfunction on cardiovascular events in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Journal of the American Heart Association* 2017, 6(5), e004841.

Alba A, Planas R, Clemente X, Carrillo J, Ampudia R, Puertas M C, Vives-Pi M. Natural killer cells are required for accelerated type 1 diabetes driven by interferon- β . *Clinical and Experimental Immunology* 2008, 151(3), 467-475.

Al-Harbi L, Brameld JM, Parr T. The active form of vitamin D, Calcitriol, induces vasodilation in the rat aorta. *Proceedings of the Nutrition Society* 2015, 74 (OCE5), E293

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2013, 36(1), 11-66.

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014, 37(1), 81-90.

American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2015, 38(1), 8-16.

Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrang D, Creager M, Ganz AP. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology* 1995, 75(6), 71B-74B.

Andrukhova O, Slavic S, Smorodchenko A, Zeitz U, Shalhoub V, Lanske B, Erben RG. FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO Molecular Medicine* 2014, 6(6), 744-759.

Angiolillo DJ, Bernardo E, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Costa MA, Palazuelos J, Bañuelos C. Impact of platelet reactivity on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2007, 50(16), 1541-1547.

Ansari A, Bhat M, Dsa GS Mahalingam S, Joseph N. Study of insulin resistance in patients with β thalassemia major and validity of triglyceride glucose (TYG) index. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2018, 40(2), 128-131.

Aronoff SL. Rationale for treatment options for mealtime glucose control in patients with type 2 diabetes. *Postgraduate Medicine* 2017, 129(2), 231-241.

Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovascular Diabetology* 2002, 1(1), 1.

Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 1994, 331(21), 1428-1436.

Avogaro A, Miola M, Favaro A, Gottardo L, Pacini G, Manzato E, Tiengo A. Gemfibrozil improves insulin sensitivity and flow-mediated vasodilatation in type 2 diabetic patients. *European Journal of Clinical Investigation* 2001, 31(7), 603-609.

Bai N, Tang S, Ma J, Luo Y, Lin S. Increased expression of intercellular adhesion molecule-1, vascular cellular adhesion molecule-1 and leukocyte common antigen in diabetic rat retina. *Yan Ke Xue Bao* 2003, 19(3), 176-183.

Bailey CJ, Gross JL, Pieters A, Bastien A, List JF. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* 2010, 375(9733), 2223-2233.

Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *The Journal of the American Medical Association* 2002, 287(19), 2570-2581.

Bhardwaj R, Moore PK. Increased vasodilator response to acetylcholine of renal blood vessels from diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1988, 40(10), 739-742.

Bian K, Ishibashi K, Bukoski RD. 1,25(OH)₂D₃ modulates intracellular Ca²⁺ and force generation in resistance arteries. *American Journal of Physiology* 1996, 270(1 Pt 2), H230-237.

Bogatcheva NV, Sergeeva MG, Dudek SM, Verin AD. Arachidonic acid cascade in endothelial pathobiology. *Microvascular Research* 2005, 69(3), 107-127.

Bolluk S, Akbulut G. D Vitamini ve Diabetes Mellitus. *Türkiye Klinikleri Journal of Endocrinology* 2013, 8 (2), 65-72.

Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer H F, Demay M Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocrine Reviews* 2008, 29(6), 726-776.

Brøndum-Jacobsen P, Nordestgaard BG, Schnohr P, Benn M. 25-hydroxyvitamin D and symptomatic ischemic stroke: an original study and meta-analysis. *Annals of Neurology* 2013, 73(1), 38-47.

Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001, 414 (6865), 813.

Bukoski RD, Wang DB, Wagman DW. Injection of 1,25-(OH)₂ vitamin D₃ enhances resistance artery contractile properties. *Hypertension* 1990, 16, 523-531.

Bukoski RD, Xue H. On the vascular inotropic action of 1,25-(OH)₂ vitamin D₃. *American Journal of Hypertension* 1993, 6(5 Pt 1), 388-396.

Bukoski RD, Li J, Bo J. Effect of long-term administration of 1,25-(OH)₂vitamin D₃ on blood pressure and resistance artery contractility in the spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Hypertension* 1993, 6(11 Pt 1): 944-950

Busse R, Edwards G, Félétou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH. EDHF: bringing the concepts together. *Trends in Pharmacological Sciences* 2002, 23(8), 374-380.

Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circulation Research* 2000, 87(10), 840-844.

Calgaroto NS, Thomé GR, da Costa P, Baldissareli J, Hussein FA, Schmatz R, Rubin MA, Signor C, Ribeiro DA, Carvalho FB, de Oliveira LS, Pereira LB, Morsch VM, Schetinger MR. Effect of vitamin D3 on behavioural and biochemical parameters in diabetes type 1-induced rats. *Cell Biochemistry and Function* 2014, 32(6), 502-510.

Calle C, Maestro B, García-Arencibia M. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on insulin receptor gene expression, insulin receptor number and insulin activity in the kidney, liver and adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Molecular Biology* 2008, 18, 9, 65.

Cameron NE, Cotter MA. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia* 1992, 35(11), 1011-1019.

Cau SB, Roscani MG, Azevedo PS, Minicucci MF, Tostes Rde C, Zornoff LA, Paiva SA. Vitamin D induces increased systolic arterial pressure via vascular reactivity and mechanical properties. *PLoS One* 2014, 9(6), e98895.

Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *Journal of the American College of Cardiology* 1997,30(2), 325-333.

Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993, 82(2), 513-520.

Cersosimo E, Triplitt C, Solis-Herrera C, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. In (ed) Feingold KR. Endotext Comprehensive Free Online Endocrinology Book, South Dartmouth (MA), MDText.com, Inc.; 2000.

Charlton M, Nair KS. Protein metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of Nutrition* 1998, 128(2), 323-327.

Chia CW, Egan JM, Ferrucci L. Age-related changes in glucose metabolism, hyperglycemia, and cardiovascular risk. *Circulation Research* 2018, 123(7), 886-904.

Chiasson JL, Aris-Jilwan N, Bélanger R, Bertrand S, Beauregard H, Ékoé JM, Havrankova J. Diagnosis and treatment of diabetic ketoacidosis and the hyperglycemic hyperosmolar state. *Canadian Medical Association Journal* 2003,168(7), 859-866.

Chitalia N, Ismail T, Tooth L, Boa F, Hampson G, Goldsmith D, Banerjee D. Impact of vitamin D supplementation on arterial vasomotion, stiffness and endothelial biomarkers in chronic kidney disease patients. *PloS One* 2014, 9(3), e91363

Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological Reviews* 2015, 96(1), 365-408.

Christie-David DJ, Girgis CM, Gunton JE. Effects of vitamins C and D in type 2 diabetes mellitus. *Nutrition and Dietary Supplements* 2015, 7, 21-28.

Chun RF, Liu PT, Modlin RL, Adams JS, Hewison M. Impact of vitamin D on immune function: lessons learned from genome-wide analysis. *Frontiers in Physiology* 2014, 5, 151.

Crofts LA, Hancock MS, Morrison NA, Eisman JA. Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998, 95(18), 10529-10534.

Cunha-Neto E, Nogueira LG, Teixeira PC, Ramasawmy R, Drigo SA, Goldberg AC, Kalil J. Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009, 104, 252-258.

Curtis TM, Major EH, Trimble ER, Scholfield CN. Diabetes-induced activation of protein kinase C inhibits store-operated Ca^{2+} uptake in rat retinal microvascular smooth muscle. *Diabetologia* 2003, 46(9),1252-1259.

Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004, 109 (suppl III), 27–32.

De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *British Journal of Pharmacology* 2000, 130(5), 963-974.

Deda L, Yeshayahu Y, Sud S, Cuerden M, Cherney DZ, Sochett EB, Mahmud FH. Improvements in peripheral vascular function with vitamin D treatment in deficient adolescents with type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* 2018, 19(3), 457-463.

Del Pino-Montes J, Benito GE, Fernández-Salazar MP, Coveñas R, Calvo JJ, Bouillon R, Quesada JM. Calcitriol improves streptozotocin-induced diabetes and recovers bone mineral density in diabetic rats. *Calcified Tissue International* 2004, 75(6), 526-532.

Delaney MF, Zisman A, Kettyle WM. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar nonketotic syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 2000, 29(4), 683-705.

Delvin EE, Glorieux FH, Marie PJ, Pettifor JM. Vitamin D dependency: replacement therapy with calcitriol. *The Journal of Pediatrics* 1981, 99(1), 26-34.

Denizalti M, Bozkurt TE, Akpulat U, Sahin-Erdemli I, Abacioğlu N. The vasorelaxant effect of hydrogen sulfide is enhanced in streptozotocin-induced diabetic rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2011, 383(5), 509-517.

Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of Hypertension* 2000, 18(6), 655-673.

Dong J, Wong SL, Lau CW, Lee HK, Ng CF, Zhang L, Yao X, Chen ZY, Vanhoutte PM, Huang Y. Calcitriol protects renovascular function in hypertension by down-regulating angiotensin II type 1 receptors and reducing oxidative stress. *European Heart Journal* 2012, 33 (23), 2980-2990.

Dorman JS, Bunker CH. HLA-DQ locus of the human leukocyte antigen complex and type 1 diabetes mellitus: a Huge review. *Epidemiologic Reviews* 2000, 22(2), 218-227.

Dorr DA, Wilcox A, Donnelly SM, Burns L, Clayton PD. Impact of generalist care managers on patients with diabetes. *Health Services Research* 2005, 40(5), 1400-1421.

Drexler H, Hornig B. Endothelial dysfunction in human disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1999, 31(1), 51-60.

Dyck PJ, Giannini C. Pathologic alterations in the diabetic neuropathies of humans: a review. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 1996, 55(12), 1181-1193.

Elamin MB, Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourech MM, Alkatib AA, Almandoz JP, Erwin PJ. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011, 96(7), 1931-1942.

Elattar S, Estaphan S, Mohamed EA, Elzainy A, Naguib M. The protective effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ and metformin on liver in type 2 diabetic rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2017, 173, 235-244.

Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *Journal of the American Society of Nephrology* 2004, 15(8), 1983-1992.

Eto M, Kitazawa T, Yazawa M, Mukai H, Ono Y, Brautigan DL. Histamine-induced vasoconstriction involves phosphorylation of a specific inhibitor protein for myosin phosphatase by protein kinase C alpha and delta isoforms. *The Journal of Biological Chemistry* 2001, 276, 29072–29078.

Feener EP, King GL. Vascular dysfunction in diabetes mellitus. *The Lancet* 1997, 350(1), 9-S13.

Feinkohl I, Aung PP, Keller M, Robertson CM, Morling JR, McLachlan S. Severe hypoglycemia and cognitive decline in older people with type 2 diabetes: the Edinburgh type 2 diabetes study. *Diabetes Care* 2014, 37(2), 507-515.

Feldman EL. Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *The Journal of Clinical Investigation* 2003 111(4), 431-433.

Félétou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *British Journal of Pharmacology* 1988, 93(3), 515-524.

Félétou M. The endothelium, Part I: Multiple functions of the endothelial cells-focus on endothelium-derived vasoactive mediators. In *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function* (Vol. 3, No. 4). Morgan & Claypool Life Sciences, 2011, s. 1-306.

Ferre T, Pujol A, Riu Efren, Bosch F, Valera A. Correction of diabetic alterations by glucokinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1996, 93(14), 7225-7230.

Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006, 113, 1708–1714.

Fortes ZB, Garcia Leme J, Scivoletto R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cell. *British Journal of Pharmacology* 1983, 79(3), 771-81

Fowler MJ. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical Diabetes* 2008, 26(2), 77-82.

Friedman JJ. Vascular sensitivity and reactivity to norepinephrine in diabetes mellitus. *American Journal of Physiology* 1989, 256(4 Pt 2), H1134-1138.

Fulton DJR, Hodgson WC, Sikorski BW, King RG. Attenuated responses to endothelin-1, KCl and CaCl₂, but not noradrenaline, of aortae from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *British Journal of Pharmacology* 1991, 104, 928–932.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980, 27, 288(5789), 373-376.

Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB Journal* 1989, 3(9), 2007–2018.

Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. *British Journal of Anaesthesia* 2004, 93(1), 105-113.

García-Cardena G, Fan R, Shah V, Sorrentino R, Cirino G, Papapetropoulos A, Sessa WC. Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by HSP90. *Nature* 1998, 392(6678), 821.

Garrett-Mayer E, Wagner C L, Hollis B W, Kindy M S, Gattoni-Celli S. Vitamin D3 supplementation (4000 IU/d for 1 y) eliminates differences in circulating 25-hydroxyvitamin D between African American and white men. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2012, 96(2), 332-336.

Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogátsa G, Magyar K, Hadházy P. Influence of experimental diabetes on the mechanical responses of canine coronary arteries: role of endothelium. *Cardiovascular Research* 1988, 22(8), 537-544.

Geleijnse JM. Vitamin D and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases: a review of the current evidence. *American Journal of Hypertension* 2011, 24(3), 253-262.

George N, Kumar TP, Antony S, Jayanarayanan S, Paulose CS. Effect of vitamin D3 in reducing metabolic and oxidative stress in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *British Journal of Nutrition* 2012, 108(8), 1410-1428.

Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996, 19(3), 257-267.

Glorieux FH, Marie PJ, Pettifor JM, Delvin EE. Bone response to phosphate salts, ergocalciferol, and calcitriol in hypophosphatemic vitamin D-resistant rickets. *New England Journal of Medicine* 1980, 303(18), 1023-1031.

Gollasch M. Endothelium-derived contracting factor: a new way of looking at endothelial function in obesity. *Journal of Hypertension* 2002, 20, 2147–2149.

Göring H. Vitamin D in Nature: A Product of synthesis and/or degradation of cell membrane components. *Biochemistry (Moscow)* 2018, 83(11), 1350-1357.

Gray SD. Effect of hypertonicity on vascular dimensions in skeletal muscle. *Microvascular Research* 1971, 3(1), 117-124.

Guyton AC, Hall JE. Insulin, Glucagon, and Diabetes. In: Textbook of Medical Physiology 11th edition, Ch. 78: Elsevier Saunders, Philadelphia, 2006, s961-970.

Gysemans C, van Etten E, Overbergh L, Giulietti A, Eelen G, Waer M, Mathieu C. Unaltered diabetes presentation in NOD mice lacking the vitamin D receptor. *Diabetes* 2008, 57(1), 269-275.

Haeusler RA, Camastra S, Astiarraga B, Nannipieri M, Anselmino M, Ferrannini E. Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Molecular Metabolism* 2015, 4(3), 222-226.

Haffner SM, Lehto S, Rönnekaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *New England Journal of Medicine* 1998, 339(4), 229-234.

Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, Quyyumi AA. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 2002, 106(6), 653-658.

Hatton DC., Xue H, DeMerritt JA, McCarron DA. 1,25(OH)₂ vitamin D₃- induced alterations in vascular reactivity in the spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Medicine and Science* 1994, 307(Suppl 1), S154–S158.

Haussler MR, Norman AW. Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1969, 62(1), 155-162.

Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Jurutka PW. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *Journal of Bone and Mineral Research* 1998, 13(3), 325-349.

Head RJ, Longhurst P, Panek RL, Stitzel RE. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit. *British Journal of Pharmacology* 1987, 91, 275–286.

Hebden RA, Gardiner SM, Bennett T, MacDonald IA. The influence of streptozotocin-induced diabetes mellitus on fluid and electrolyte handling in rats. *Clinical Science* 1986, 70(1), 111-117.

Hebden RA, Bennett T, Gardiner SM. Pressor sensitivities to vasopressin, angiotensin II, or methoxamine in diabetic rats. *American Journal of Physiology* 1987, 253(5 Pt 2), 726-734.

Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL, Freytag SO, Zhu M, Cortes P. Overexpression of glucose transporters in rat mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *The Journal of Clinical Investigation* 1995, 96(4), 1802-1814.

Henricsson M, Nilsson A, Janzon L, Groop L. The effect of glycaemic control and the introduction of insulin therapy on retinopathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 1997, 14(2), 123-131.

Hewison M. Vitamin D and the immune system. *Journal of Endocrinology* 1992, 132(2), 173-175.

Hiemstra T, Lim K, Thadhani R, Manson JE. Vitamin D and atherosclerotic cardiovascular disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2019, 4, pii, jc.2019-00194.

Hogikyan RV, Galecki AT, Halter JB, Supiano MA. Heightened norepinephrine-mediated vasoconstriction in type 2 diabetes. *Metabolism* 1999, 48(12), 1536-1541.

Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: Mechanisms of action. *Molecular Aspects of Medicine* 2008, 29(6), 361-368.

Honeyman MC, Stone NL, Harrison LC. T-cell epitopes in type 1 diabetes autoantigen tyrosine phosphatase IA-2: potential for mimicry with rotavirus and other environmental agents. *Molecular Medicine* 1998, 4(4), 231.

Ishida M, Sakuma H. Magnetic resonance of coronary arteries: assessment of luminal narrowing and blood flow in the coronary arteries. *Journal of Thoracic Imaging* 2014, 29(3), 155-162.

Ismail K, Moulton CD, Winkley K, Pickup JC, Thomas SM, Sherwood RA, Amiel SA. The association of depressive symptoms and diabetes distress with glycaemic control and diabetes complications over 2 years in newly diagnosed type 2 diabetes: a prospective cohort study. *Diabetologia* 2017, 60(10), 2092-2102.

Judd S, Tangpricha V. Vitamin D deficiency and risk for cardiovascular disease. *Circulation* 2008, 29, 117(4), 503-511.

Jude EB, Oyibo SO, Chalmers N, Boulton AJ. Peripheral arterial disease in diabetic and nondiabetic patients: a comparison of severity and outcome. *Diabetes Care* 2001, 24(8), 1433-1437.

Kaiser N, Sasson S, Feener EP, Boukobza-Vardi N, Higashi S, Moller DE, King GL. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes* 1993, 42(1), 80-89.

Kajita K, Ishizuka T, Miura A, Kanoh Y, Ishizawa M, Kimura M, Yasuda K. Increased platelet aggregation in diabetic patients with microangiopathy despite good glycemic control. *Platelets* 2001, 12(6), 343-351.

Kan S, Onodera H, Furutani E, Aung T, Araki M, Nishimura H, Imamura M. Novel control system for blood glucose using a model predictive method. *ASAIO Journal* 2000, 46(6), 657-662.

Karamali M, Ashrafi M, Razavi M, Jamilian M, Kashanian M, Akbari M, Asemi Z. The effects of calcium, vitamins D and K co-supplementation on markers of insulin metabolism and lipid profiles in vitamin D-deficient women with polycystic ovary syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes* 2017, 125(05), 316-321.

Katayama S, Lee JB. Hypertension in experimental diabetes mellitus. Renin-prostaglandin interaction. *Hypertension* 1985, (4), 554-561.

Katusic ZS. Vascular endothelial dysfunction: does tetrahydrobiopterin play a role? *American Journal of Physiology Heart Circulation Physiology* 2001, 281(3), H981-986.

Kaur R, Kaur M, Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovascular Diabetology* 2018, 17(1), 121.

Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC, Haffner SM, Klein R, Moss SE, Hamman RF. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Archives of Ophthalmology* 2004, 122(4), 552-563.

Kendrick J, Andrews E, You Z, Moreau K, Nowak KL, Farmer-Bailey H, Seals DR, Chonchol M. Cholecalciferol, calcitriol, and vascular function in CKD: A randomized, double-blind trial. *Clinical Journal of American Society of Nephrology* 2017, 7, 12(9), 1438–1446.

Khan D, Moffet C R, Flatt P R, Kelly C. Role of islet peptides in beta cell regulation and type 2 diabetes therapy. *Peptides* 2018, 100, 212-218.

Kılıçlı F, Olmuşçelik O. Diabetes mellitusa güncel bir bakış; epidemiyoloji, patogenezi ve tedavi. *Türkiye Klinikleri Nephrology-Special Topics* 2016, 9(3), 1-8.

Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care* 2009, 32(7), 1335-1343.

Kohner EM, Patel V, Rassam SM. Role of blood flow and impaired autoregulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes* 1995, 44(6), 603-607.

Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: Effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International Journal of Vascular Medicine* 2012, 1–30.

Konety BR, Lavelle JP, Pirtskalaishvili G, Dhir R, Meyers SA, Nguyen TST, Zeidel M L. Effects of vitamin D (calcitriol) on transitional cell carcinoma of the bladder in vitro and in vivo. *The Journal of Urology* 2001, 165(1), 253-258.

Kovacs M, Finkelstein R, Feinberg TL, Crouse-Novak M, Paulauskas S, Pollock M. Initial psychologic responses of parents to the diagnosis of insulin-dependent diabetes mellitus in their children. *Diabetes Care* 1985, 8(6), 568-575.

Krause R, Bühring M, Hopfenmüller W, Holick MF, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 1998, 29, 352(9129), 709-710.

Kumar PT, Antony S, Nandhu MS, Sadanandan J, Naijil G, Paulose CS. Vitamin D3 restores altered cholinergic and insulin receptor expression in the cerebral cortex and muscarinic M3 receptor expression in pancreatic islets of streptozotocin induced diabetic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2011, 22(5), 418-425.

Kumar K, Kumar S, Datta A, Bandyopadhyay A. Effect of fenugreek seeds on glycemia and dyslipidemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Medical Science and Public Health* 2015, 4(7), 997-1000.

Kusaka M, Kishi K, Sokabe H. Does so-called streptozocin hypertension exist in rats? *Hypertension* 1987, 10(5), 517-521.

Labazi H, Trask AJ. Coronary microvascular disease as an early culprit in the pathophysiology of diabetes and metabolic syndrome. *Pharmacological Research* 2017, 123, 114-121.

Laffel L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 1999, 15(6), 412-426.

Laufs U, Liao JK. Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *Journal of Biological Chemistry* 1998, 273(37), 24266-24271.

Lehmann ED, Deutsch T. A physiological model of glucose-insulin interaction in type 1 diabetes mellitus. *Journal of Biomedical Engineering* 1992, 14(3), 235-242.

Leung SW, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization: age, gender and blood pressure, do they matter? *Acta Physiologica* 2017, 219(1), 108-123.

Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *Journal of Clinical Investigation* 2002, 110, 229-238.

Li X, Liao L, Yan X, Huang G, Lin J, Lei M, Zhou Z. Protective effects of 1- α -hydroxyvitamin D₃ on residual β - cell function in patients with adult- onset latent autoimmune diabetes (LADA). *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2009, 25(5), 411-416.

Li F, Liu P, Zhang X, Zhang Q, Tang S, Zhu M, Qiu M. 1,25(OH)₂D₃-mediated amelioration of aortic injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Inflammation* 2013, 36, 1334-1343.

Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Cooke JP. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002, 106(8), 987-992.

Lloyd-Jones DM, Bloch KD. The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annual Review of Medicine* 1996, 47(1), 365-375.

Lopes-Virella MF, Virella G, Orchard TJ, Koskinen S, Evans RW, Becker DJ, Forrest KYZ. Antibodies to oxidized LDL and LDL-containing immune complexes as risk factors for coronary artery disease in diabetes mellitus. *Clinical Immunology* 1999, 90(2), 165-172.

Mancuso P, Rahman A, Hershey SD, Dandu L, Nibbelink KA, Simpson RU. 1, 25-Dihydroxyvitamin-D₃ treatment reduces cardiac hypertrophy and left ventricular diameter in spontaneously hypertensive heart failure-prone (cp/+) rats independent of changes in serum leptin. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2008, 51(6), 559-564.

Manojlović D, Stupin A, Matić A, Mihaljević Z, Novak S, Drenjančević I. The role of epoxyeicosatrienoic acids in diabetes mellitus-induced impaired vascular relaxation of aortic rings in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *International Journal of Endocrinology* 2019, 27,5410108.

Martinez K, Frazer SF, Dempster M, Hamill A, Fleming H, McCorry NK. Psychological factors associated with diabetes self-management among adolescents with Type 1 diabetes: a systematic review. *Journal of Health Psychology* 2018, 23(13), 1749-1765.

Masszi G, Novak A, Tarszabo R, Horvath E M, Buday A, Ruisanchez E, Revesz C. Effects of vitamin D3 derivative—calcitriol on pharmacological reactivity of aortic rings in a rodent PCOS model. *Pharmacological Reports* 2013, 65(2), 476-483.

Mathieu C. Vitamin D and diabetes: Where do we stand? *Diabetes Research and Clinical Practice* 2015, 108(2), 201-209.

Miller VM, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of cyclooxygenase. *American Journal of Physiology* 1985, 248(4 Pt 2), H432-437.

Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, Keane WF. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004, 27, 79.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *New England Journal of Medicine* 1993, 329(27), 2002-2012.

Mota MM, Silva TL, Fontes MT, Barreto AS, Araújo JE, Oliveira AC, Wichi RB, Santos MR. Resistance exercise restores endothelial function and reduces blood pressure in type 1 diabetic rats. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2014, 103(1), 25-32.

Mozos I, Stoian D, Luca CT. Crosstalk between vitamins A, B12, D, K, C, and E status and arterial stiffness. *Disease Markers* 2017, 1-14.

Mulhern M, Docherty JR. Effects of experimental diabetes on the responsiveness of rat aorta. *British Journal of Pharmacology* 1989, 97(4), 1007-1012.

Myrup B, Jensen GF, McNair P. Cardiovascular risk factors during estrogen-norethindrone and cholecalciferol treatment. *Archives of Internal Medicine* 1992, 152(11), 2265-2268.

Ni W, Watts S W, Ng M, Chen S, Glenn D J, Gardner D G. Elimination of vitamin D receptor in vascular endothelial cells alters vascular function. *Hypertension* 2014, 64(6), 1290-1298.

Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 1993, 42(7), 1017-1025.

Noble JA, Erlich HA. Genetics of type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2012, 2(1), 1-15.

Norman P, Moss I, Sian M, Gosling M, Powell J. Maternal and postnatal vitamin D ingestion influences rat aortic structure, function and elastin content. *Cardiovascular Research* 2002, 1;55(2), 369-374.

Norman PE, Powell JT. Vitamin D and cardiovascular disease. *Circulation Research* 2014, 17, 114(2), 379-393.

Nozaki M, Ogura Y, Hirabayashi Y, Saishin Y, Shimada S. Enhanced expression of adhesion molecules of the retinal vascular endothelium in spontaneous diabetic rats. *Ophthalmic Research* 2002, 34(3), 158-164.

Okahara K, Sun B, Kambayashi JI. Upregulation of prostacyclin synthesis-related gene expression by shear stress in vascular endothelial cells. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 1998, 18(12), 1922-1926.

Oktay S. Sıçan Deneysel Diyabet Modelinde 20 (S) Ginsenozit Rg3'ün Olası Nöroprotektif Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2015, 59.

Pan WH, Wang CY, Li LA, Kao LS, Yeh SH. No significant effect of calcium and vitamin D supplementation on blood pressure and calcium metabolism in elderly Chinese. *Chinese Journal of Physiology* 1993, 36(2), 85-94.

Parker RS, Doyle FJ, Peppas NA. The intravenous route to blood glucose control. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine* 2001, 20(1), 65-73.

Parkington HC, Coleman HA, Tare M. Prostacyclin and endothelium-dependent hyperpolarization. *Pharmacological Research* 2004, 49(6), 509-514.

Patino-Alonso MC, Recio-Rodríguez JI, Belio JFM, Colominas-Garrido R, Lema-Bartolomé J, Arranz AG. Factors associated with adherence to the Mediterranean diet in the adult population. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 2014, 114(4), 583-589.

Patton JS, Bukar J, Nagarajan S. Inhaled insulin. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1999, 35(2-3), 235-247.

Peelen E, Knippenberg S, Muris A H, Thewissen M, Smolders J, Tervaert JWC, Damoiseaux J. Effects of vitamin D on the peripheral adaptive immune system: a review. *Autoimmunity Reviews* 2011, 10(12), 733-743.

Peeyush KT, Savitha B, Sherin A, Anju TR, Jes P, Paulose CS. Cholinergic, dopaminergic and insulin receptors gene expression in the cerebellum of streptozotocin-induced diabetic rats: functional regulation with Vitamin D3 supplementation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2010, 95(2), 216-222.

Petersmann A, Nauck M, Müller-Wieland D, Kerner W, Müller U A, Landgraf R, Heinemann L. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes* 2018, 126(07), 406-410.

Pieper GM, Langenstroer P, Siebeneich W. Diabetic-induced endothelial dysfunction in rat aorta: role of hydroxyl radicals. *Cardiovascular Research* 1997, 34(1), 145-56.

Pieper GM, Moore-Hilton G, Roza AM. Evaluation of the mechanism of endothelial dysfunction in the genetically-diabetic BB rat. *Life Sciences* 1996, 58(9), 147-152.

Przybylski R, McCune S, Hollis B, Simpson RU. Vitamin D deficiency in the spontaneously hypertensive heart failure [SHHF] prone rat. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease*. 2010, 20(9), 641-646.

Raju SM, Raju B. Illustrated medical biochemistry. 2nd Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd, New Delhi, India, 2010, s645.

Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 2005, 288, C769-C783

Ratz PH, Miner AS. Role of protein kinase c and calcium entry in KCl-induced vascular smooth muscle calcium sensitization and feedback control of cellular calcium levels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2008, 328(2), 399-408.

Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for islet autoimmunity among monozygotic twins. *New England Journal of Medicine* 2008, 359, 2849-2850.

Rewers M, Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. *The Lancet* 2016, 387(10035), 2340-2348.

Ridker PM, CushmanM, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998, 97(5), 425-428.

Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Seminars in Reproductive Endocrinology* 1998, 16 (1), 5-15.

Ross R. Atherosclerosis-antiinflammatory disease. *New England Journal of Medicine* 1999, 340(2), 115-126.

Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology* 1986, 250(5 Pt 2), H822-827.

Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1993, 22, S1-14.

Russell SJ, Hillard MA, Balliro C, Magyar KL, Selagamsetty R, Sinha M, Damiano ER. Day and night glycemic control with a bionic pancreas versus conventional insulin pump therapy in preadolescent children with type 1 diabetes: a randomised crossover trial. *The Lancet Diabetes and Endocrinology* 2016, 4(3), 233-243.

Salum E, Kampus P, Zilmer M, Eha J, Butlin M, Avolio AP, Podramagi T, Arend A, Aunapuu M, Kals J. Effect of vitamin D on aortic remodeling in streptozotocin-induced diabetes. *Cardiovascular Diabetology* 2012, 11, 58.

Salum E, Kals J, Kampus P, Salum T, Zilmer K, Aunapuu M, Arend A, Eha J, Zilmer M. Vitamin D reduces deposition of advanced glycation end-products in the aortic wall and systemic oxidative stress in diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2013, 100, 243-249.

Sambrook PN, Kotowicz M, Nash P, Styles CB, Naganathan V, Henderson-Briffa KN, Nicholson GC. Prevention and treatment of glucocorticoid- induced osteoporosis: a comparison of calcitriol, vitamin D plus calcium, and alendronate plus calcium. *Journal of Bone and Mineral Research* 2003, 18(5), 919-924.

Santos PP, Rafacho BP, Gonçalves Ade F, Jaldin RG, Nascimento TB, Silva MA, Schächinger V, Zeihe AM. Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Zeitschrift für Kardiologie* 2000, 89(9), IX70-IX74.

Schmidt A. Nitric oxide signalling in vascular control and cardiovascular risk. In: *Cardiovascular Risk Factors*, Gasparyan AY (ed), Intech Open Access Books, Rijeka, Croatia 2012, s280-300, erişilebilirlik: <https://www.intechopen.com/books/cardiovascular-risk-factors/nitric-oxide-signalling-in-vascular-control-and-cardiovascular-risk>,

Schnatz PF, Nudy M, O'Sullivan DM, Jiang X, Cline JM, Kaplan JR, Clarkson TB, Appt SE. Coronary artery vitamin D receptor expression and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D: their association with atherosclerosis. *Menopause* 2012, 19(9), 967-973.

Shinkyō R, Sakaki T, Kamakura M, Ohta M, Inouye K. Metabolism of vitamin D by human microsomal CYP2R1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004, 324(1), 451-457.

Signorelli SS, Fiore V, Malaponte G. Inflammation and peripheral arterial disease: the value of circulating biomarkers. *International Journal of Molecular Medicine* 2014, 33(4), 777-783.

Silva EG, Vianna LM, Okuyama P, Paiva TB. Effect of treatment with cholecalciferol on the membrane potential and contractility of aortae from spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology* 1996, 118(6), 1367-1370.

Stojanovic V, Ihle S. Role of beta-hydroxybutyric acid in diabetic ketoacidosis: A review. *The Canadian Veterinary Journal* 2011, 52(4), 426.

Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *British Medical Journal* 2000, 321(7258), 405-412.

Stuehr DJ. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *Journal of Nutrition* 2004, 134 (10 Suppl), 2748S-2751S.

Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet* 2005, 365(9467), 1333-1346.

Sturza A, Duicu O, Vaduva A, Noveanu L, Danila M, Privistirescu A, Munteanu M, Muntean D. Vitamin D improves vascular function in experimental diabetes. *Fiziologia-Physiology* 2015, 25, 87.

Szeto FL, Reardon CA, Yoon D, Wang Y, Wong KE, Chen Y, Kong J, Liu SQ, Thadhani R, Getz GS, Li YC. Vitamin D receptor signaling inhibits atherosclerosis in mice. *Molecular Endocrinology* 2012, 26(7), 1091-1100.

Takiishi T, Van Belle T, Gysemans C, Mathieu C. Effects of vitamin D on antigen-specific and non-antigen-specific immune modulation: relevance for type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* 2013, 14(2), 81-89.

Tchobroutsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetologia* 1978, 15(3), 143-152.

Tessari P, Cecchet D, Cosma A, Vettore M, Coracina A, Millionsi R, Vedovato M. Nitric oxide synthesis is reduced in subjects with type 2 diabetes and nephropathy. *Diabetes* 2010, 59(9), 2152-2159.

Thorand B, Zierer A, Huth C, Linseisen J, Meisinger C, Roden M, Peters A, Koenig W, Herder C. Effect of serum 25-hydroxyvitamin D on risk for type 2 diabetes may be partially mediated by subclinical inflammation: results from the MONICA/KORA Augsburg study. *Diabetes Care* 2011, 34(10), 2320-2322.

Tønnesen R, Schwarz P, Hovind P, Jensen LT. Modulation of the sympathetic nervous system in youngsters by vitamin-D supplementation. *Physiological Reports* 2018, 6(7),e13635.

Turner AG, Hanrath MA, Morris HA, Atkins GJ, Anderson PH. The local production of 1,25(OH)₂D₃ promotes osteoblast and osteocyte maturation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2014, 144, 114-118.

Ün İ, Kurt AH, Batuş A, Büyükaşar K. Alfacalcidol suppresses α -receptor-mediated vasoconstriction via an endothelium dependent mechanism. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2013, 43, 238-244.

Van Belle TL, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D and diabetes: the odd couple. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2013, 24: 561-568.

Van Belle TL, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: a vital player?. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011, 25(4), 617-632.

Van Dijk C, Berl T. Pathogenesis of diabetic nephropathy. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2004, 5(3), 237-248.

Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiologica* 2009, 196(2), 193-222.

Vanhoutte PM. One or two, does it matter as long as the arterial wall is coxygenated? *Hypertension* 2013, 62(2), 244-246.

Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EH. Endothelial dysfunction and vascular disease - A 30th anniversary update. *Acta Physiologica (Oxford)* 2017, 219 (1), 22-96.

Vardı N, Uçar M, Iraz M, Öztürk F. Deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science* 2003, 23, 27-32.

Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002, 106(12), 1439-1441.

Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002, 105(5), 546-549.

Vinik AI, Erbas T, Park T S, Stansberry K B, Scanelli J A, Pittenger GL. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001, 24(8), 1468-1475.

Virdis A, Bacca A, Colucci R, Duranti E, Fornai M, Materazzi G, Ippolito C, Bernardini N, Blandizzi C, Bernini G, Taddei S. Endothelial dysfunction in small arteries of essential hypertensive patients: role of cyclooxygenase-2 in oxidative stress generation. *Hypertension* 2013, 62(2), 37-44.

Wakabayashi I, Hatake K, Kimura N, Kakishita E, Nagai K. Modulation of vascular tone by the endothelium in experimental diabetes. *Life Science* 1987, 16, 40(7), 643-648.

Walker RJ, Gebregziabher M, Martin-Harris B, Egede LE. Understanding the influence of psychological and socioeconomic factors on diabetes self-care using structured equation modeling. *Patient Education and Counseling* 2015, 98(1), 34-40.

Wang L, Song Y, Manson J E, Pilz S, März W, Michaëlsson K, Eaton C B. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes* 2012, 5(6), 819-829.

Wang Y, He D, Ni C, Zhou H, Wu S, Xue Z, Zhou Z. Vitamin D induces autophagy of pancreatic beta-cells and enhances insulin secretion. *Molecular Medicine Reports* 2016, 14: 2644-2650.

Watts GF, Playford DA, Croft KD, Ward NC, Mori TA, Burke V. Coenzyme Q10 improves endothelial dysfunction of the brachial artery in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2002, 45(3), 420-426.

Wei H, Qu H, Wang H, Ji B, Ding Y, Liu D, Duan Y, Liang H, Peng C, Xiao X, Deng H. 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ prevents the development of diabetic cardiomyopathy in type 1 diabetic rats by enhancing autophagy via inhibiting the β -catenin/TCF4/GSK-3 β /mTOR pathway. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2017b, 168, 71-90.

Wei M, Brandhorst S, Shelehchi M, Mirzaei H, Cheng C W, Budniak J, Cohen P. Fasting-mimicking diet and markers/risk factors for aging, diabetes, cancer, and cardiovascular disease. *Science Translational Medicine* 2017a, 9(377), 8700.

Weng S, Sprague JE, Oh J, Riek AE, Chin K, Garcia M, Bernal-Mizrachi C. Vitamin D deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice. *PLoS One* 2013, 8(1), e54625.

White RE, Carrier GO. Supersensitivity and endothelium dependency of histamine-induced relaxation in mesenteric arteries isolated from diabetic rats. *Pharmacology* 1986, 33(1),34-38.

White RE, Carrier GO. Vascular contraction induced by activation of membrane calcium ion channels is enhanced in streptozotocin-diabetes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1990, 253, 1057– 1062.

Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita J A. The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology* 2003, 42(7), 1149-1160.

Wimalawansa SJ. Vitamin D adequacy and improvements of comorbidities in persons with intellectual developmental disabilities. *Journal of Childhood & Developmental Disorders* 2016 2(3), 22-33.

Wolden-Kirk H, Overbergh L, Christesen HT, Brusgaard K, Mathieu C. Vitamin D and diabetes: Its importance for beta cell and immune function. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2011, 347(1-2), 106-120.

Wong MS, Delansorne R, Man RY, Svenningsen P, Vanhoutte PM. Chronic treatment with vitamin D lowers arterial blood pressure and reduces endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology* 2010, 299, H1226-1234.

Wong MS, Delansorne R, Man RY, Vanhoutte PM. Vitamin D derivatives acutely reduce endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology* 2008, 295(1), H289-296.

Wong MS, Leisegang MS, Kruse C, Vogel J, Schürmann C, Dehne N, Weigert A, Herrmann E, Brüne B, Shah AM, Steinhilber D, Offermanns S, Carmeliet G,

Badenhoop K, Schröder K, Brandes RP. Vitamin D promotes vascular regeneration. *Circulation* 2014, 16, 130(12), 976-986.

Yoshida T, Nishioka H, Nakamura Y, Kondo M. Reduced noradrenaline turnover in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia* 1985, 28(9), 692-696.

Yu Z, McNeill JH. Altered inotropic responses in diabetic cardiomyopathy and hypertensive-diabetic cardiomyopathy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1991, 257(1), 64-71.

Yu Z, McNeill JH. Blood pressure and heart rate response to vasoactive agents in conscious diabetic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1992, 70(12), 1542–1548.

Zaheer S, Taquechel K, Brown JM, Adler GK, Williams JS, Vaidya A. A randomized intervention study to evaluate the effect of calcitriol therapy on the renin-angiotensin system in diabetes. *Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System* 2018, 19(1), 1470320317754178.

Zella LA, Shevde NK, Hollis BW, Cooke NE, Pike JW. Vitamin D-binding protein influences total circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D3 but does not directly modulate the bioactive levels of the hormone in vivo. *Endocrinology* 2008,149(7), 3656-3667.

Zha P, Bista R, Du, F, Wang C. Clinical features of diabetic patients with insulin allergy: a single center analysis of 12 cases. *Diabetes-Metabolism Research and Reviews* 2018, 3, 47030.

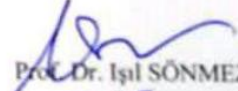
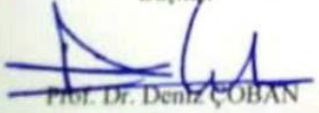
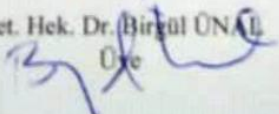
Zhang M, Lin L, Xu C, Chai D, Peng F, Lin J. VDR agonist prevents diabetic endothelial dysfunction through inhibition of prolyl isomerase-1-mediated mitochondrial oxidative stress and inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018, 15,1714896.

Zhang Z, Zhang Y, Ning G, Deb DK, Kong J, Li YC. Combination therapy with AT1 blocker and vitamin D analog markedly ameliorates diabetic nephropathy: blockade of compensatory renin increase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008, 14, 105(41),15896-15901.

Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton D A. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature* 2008, 455(7213), 627.

EKLER

Ek1. (ADÜ-HADYЕК Kararı)

	T.C. ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (ADÜ-HADYЕК)	
Aydın 27.Nisan. 2018		
Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2018 Yılı IV. Oturum	
Sayı	: 64583101/2018/056	
Proje Başlığı	: 1,25-Dihidroksikolekalsiferol verilen Tip 1 Diyabetli Sıçanlarda Vasküler Yanıtın Değerlendirilmesi.	
Proje Yürütücüsü	: Hümeysra ÜNSAL	
Proje Ekibi	Mehmet Ali ZORLU	
Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:		
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması		
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması		
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması		
Hayvan Çalışması	İnsanlarda araştırma	
	İnsan olmayan primatların kullanılması	
	Transgenik hayvanların kullanılması	
	Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.	
Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.		
 Prof. Dr. M. Dinçer BİLİGİN Başkan	 Prof. Dr. Turhan DOĞST Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ Üye
 Prof. Dr. Deniz ÇOBAN Üye	 Prof. Dr. Yücel KOCA Üye	 Doç. Dr. Evrim DERELİ FIDAN Üye
 Vet. Hek. Dr. Sırdar AKTAŞ Üye	 Vet. Hek. Dr. Bircül ÜNAL Üye	(Toplantıya Katılmadı) Yurdağül ALTINBAŞ Üye
Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir		

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Zorlu, Mehmet Ali
Uyruk : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum yeri ve tarihi : Muğla/Merkez 08.10.1989
Telefon : 05423133733
E-mail : Vethekmehmetali@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Fırat Üniversitesi	13.02.2014

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2015-2018	Muğla Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü	Yetkilendirilmiş Veteriner Hekim
2018-2019	Medika-Vet Hayvan Hastanesi	Veteriner Hekim