



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ANDROJEN RESEPTÖR GENİ CAG TEKRARI VE
K_{ATP} KANALI KİR6.2 GENİ E23K
POLİMORFİZMLERİNİN KORONER ARTER
HASTALIĞINA YAKALANMA RİSKİ VE
TESTOSTERONUN İN VİTRO VASODİLATÖR
YANITLARI İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Necla BENLİER
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. A. Şükrü AYNACIOĞLU**

Ekim-2009

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ANDROJEN RESEPTÖR GENİ CAG TEKRARI VE
K_{ATP} KANALI KİR6.2 GENİ E23K
POLİMORFİZMLERİNİN KORONER ARTER
HASTALIĞINA YAKALANMA RİSKİ VE
TESTOSTERONUN İN VİTRO VASODİLATÖR
YANITLARI İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Necla BENLİER
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. A. Şükrü AYNACIOĞLU**

Ekim-2009

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiştir (BAP, TF-07/17, 2007).

I. ÖNSÖZ

Tıbbi Farmakoloji uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana destek veren bölüm başkanımız ve kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. A. Şükrü Aynacıoğlu'na, ayrıca tez çalışmalarım ve pratik çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile bana destek veren değerli hocalarım Doç Dr. Mehtap Özkur, Doç. Dr. Muradiye Nacak ve Doç. Dr. Oğuzhan Yıldız'a. ve ayrıca Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek ve Doç. Dr. Belgin Alaşehirli'ye en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tez çalışmalarımda destekleklerini esirgemeyen Doç. Dr. Birol Yamak'a, Uzm. Dr. Mustafa Erdoğan'a, Yard. Doç. Dr. Melik Seyrek'e ve Uzm. Dr. Cunay Ülkü'ye teşekkür ederim.

Desteği ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Hüseyin Benlier'e ve tezimin yoğunluğu süresince bana sabır gösteren oğullarım Metin ve Hakan'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Necla BENLİER

Gaziantep, 2009

3.1. Gereçler	29
3.1.1. Kimyasal Maddeler	29
3.1.2. Çözeltiler	29
3.1.3. Araçlar	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Gönüllülerin Demografik Özellikleri	31
3.2.2. DNA İzolasyonu	32
3.2.3. K _{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Polimorfizmi Genotiplemesi	33
3.2.3.1. K _{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Polimorfizmi PCR Protokolü	33
3.2.3.2. PCR Ürünlerinin %2' lik Agaroz Jel Kullanılarak Görüntülenmesi	33
3.2.3.3. RFLP	34
3.2.3.4. RFLP Yöntemi İçin Agaroz Jel Hazırlanması	34
3.2.4. AR Geni CAG Tekrar Polimorfizmi Tayini	35
3.2.5. İn Vitro Çalışma	36
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi	38
4. BULGULAR	39
4.1. KAH Grubunun Cinsiyet ve Yaşlarına Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması	39
4.1.1. KAH Grubunun Cinsiyetlerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması	39
4.1.2. KAH Grubunun Yaşlarına Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması	41
4.2. KAH Grubunun VKİ ile Serum Androjen Düzeylerinin Karşılaştırılması	41
4.3. KAH Grubunun Serum Serbest Testosteron Düzeyleri ile T. Kolesterol, HDL, LDL Ve TG Düzeylerinin Karşılaştırılması	42
4.4. KAH Grubunda AR Geni CAG Tekrar Uzunluklarının Karşılaştırılması	43
4.4.1. AR Geni CAG Tekrar Uzunluklarının Frekansı	43
4.4.2. AR Gen CAG Tekrar Sayılarının Uzunlukları ile Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırması	44

4.5. Testosteron EC_{50} Değerlerinin AR Geni CAG Tekrar Uzunluk ve K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Polimorfizimleri ile Karşılaştırılması	46
4.5.1. AR Gen CAG Tekrar Uzunlukları ile Testosteronun EC_{50} Değerleri	46
4.5.2. K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Genotipleri ile Testosteronun EC_{50} Değerleri	46
4.5.3. Testosteronun EC_{50} Değerleri ile KAH Grubunun Klinik Parametrelerinin Karşılaştırılması	46
4.6. Testosterona Bağlı Gevşeme Yanıtlarının K_{ATP} Kanal Kir6.2 Gen E23K Polimorfizimleri ve AR Geni CAG Tekrar Uzunluk Polimorfizimleri ile Karşılaştırılması	47
4.7. K_{ATP} Kanal Kir6.2 Gen E23K Genotipleri ile Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması	49
4.8. KAH ve Kontrol Gruplarında Klinik Karakterlerin Karşılaştırılması	51
4.9. KAH ve Kontrol Gruplarında K_{ATP} Kanal Kir6.2 Gen E23K Genotipleri ve Alel Sıklıklarının Karşılaştırılması	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	63

III. ÖZET

ANDROJEN RESEPTÖR GENİ CAG TEKRARI VE K_{ATP} KANALI KİR6.2 GENİ E23K POLİMORFİZMLERİNİN KORONER ARTER HASTALIĞINA YAKALANMA RİSKİ VE TESTOSTERONUN İN VİTRO VASODİLATÖR YANITLARI İLE İLİŞKİSİ

Dr. Necla BENLİER

Uzmanlık Tezi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Şükrü AYNACIOĞLU
Ekim 2009, 76 Sayfa

Koroner arter hastalığı (KAH) erkek ve kadınlarda başlıca ölüm nedenidir. Testosteron, koroner damarlarda oluşturduğu vazodilatör etki ile miyokard iskemisinde hızlı iyileşme sağlamaktadır. Testosteronun oluşturduğu vazodilatasyonun, potasyum (K⁺) kanalları (K_{ATP}: ATP duyarlı K⁺ kanalları ve BKCa²⁺: kalsiyumla aktive olan K⁺ kanalları) ve membrana bağlı androjen reseptörleri (AR) aracılığı ile olabileceği ileri sürülmektedir.

Son zamanlarda, AR geninde polimorfik bir CAG trinükleotid tekrarı ve ATP duyarlı K⁺ kanallarının Kir6.2 geninde E23K polimorfizmi tanımlanmıştır.

Çalışmamızın amacı, KAH'lı bireylerden koroner bypass cerrahisi sırasında alınan internal meme arterlerinde testosteron-aracılıklı gevşemeler üzerine her iki polimorfizmin rolünü araştırmaktır. AR geni CAG tekrar uzunluklarının belirlenmesinde Gene-Scan analizi kullanılmıştır. CAG tekrar uzunluğunun üst çeyreği, 17 ve üzeri alınmıştır. İnternal meme arterlerinde testosteron (10⁻⁷, 10⁻⁶, 10^{-5.5}, 10⁻⁵, 10^{-4.5}, 10⁻⁴, 10^{-3.5} M) aracılıklı gevşeme yanıtları ya da EC50 değerleri ile AR geni CAG tekrar sayıları ve Kir6.2 gen E23K polimorfizminin genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir ilişki bulunamadı.

Çalışmamızın bir diğer bölümünde 340 koroner arter hastası ile 91 kontrol bireyde polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemleri ile Kir6.2 gen E23K (G----A) polimorfizmi araştırıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, KAH grubunda G alel sıklığı (wild tip) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (KAH %58.2, kontrol %47.8, p=0.012). Ayrıca, KAH ve kontrol grubu bireylerde GG ve GA+AA genotiplerinin sıklıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi (sırası ile, %35.9, %23.1 ve %64.1, %76.9, p=0.02).

Sonuçlarımız, İMA'da Kir6.2 geni E23K ve AR geni CAG tekrar polimorfizmlerinin testosteron aracılıklı gevşemede rol oynamadığı, ancak Kir6.2 gen E23K polimorfizminin KAH'a yakalanma riskinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, İnternal meme arteri, Androjen reseptör geni CAG tekrar polimorfizmi, K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi.

IV. ABSTRACT

ASSOCIATION BETWEEN ANDROGEN RECEPTOR GENE CAG REPEAT AND K_{ATP} CHANNEL KIR6.2 GENE E23K POLYMORPHISMS AND SUSCEPTIBILITY TO CORONARY ARTERY DISEASE AND IN VITRO VASODILATATION RESPONSES OF TESTOSTERONE

Dr. Necla BENLİER

Residency Thesis, Department of Pharmacology

Supervisor: Prof. Dr. A. Şükrü Aynacıoğlu

October 2009, 76 Pages

Coronary artery disease (CAD) is the leading cause of death among both men and women. Testosterone provides rapid improvements in myocardial ischemia, an effect presumably mediated by testosterone-induced coronary vasodilatation. The testosterone-induced vasodilatation is mediated by potassium channels (K_{ATP}: ATP sensitive K⁺ channels and Ca-activated K⁺ channels) and membrane-dependent androgen receptors.

A polymorphic CAG trinucleotide repeat sequence in AR gene and an E23K polymorphism in Kir6.2 gene of ATP-sensitive potassium channels have been detected recently.

In our study, we aimed to investigate the impact of both polymorphisms on testosterone-induced vasodilatation in internal mammary artery rings from patients with CAD undergoing coronary bypass surgery. Determination of the number of CAG repeats were performed by Gene-Scan analyses. The upper quartile of CAG length was ≥ 17 . We did not find any association between androgen receptor CAG repeats or genotypes of E23K polymorphisms of Kir6.2 gene and testosterone-induced (10^{-7} , 10^{-6} , $10^{-5.5}$, 10^{-5} , $10^{-4.5}$, 10^{-4} , $10^{-3.5}$ M) vasodilatation responses or their ED₅₀ in IMA.

In an other part of our study a group of 340 patients with CAD and 91 control subjects were analysed for the E23K (G---A) polymorphism in Kir6.2 gene by polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assays.

Among the CAD patients, the frequency of the G allele (wild type) was significantly higher compared to control subjects (CAD 58.2% vs control 47.8%, $p < 0.05$). Additionally, there were statistically significant differences in GG and GA+AA genotypes frequencies between CAD and control group (35.9% vs 23.1%, and 64.1% vs 76.9%, $p = 0.02$).

In conclusion, E23K polymorphism of Kir6.2 gene and CAG repeat polymorphism in AR gene may not have a role in testosterone-induced vasodilatations. However, the E23K gene polymorphism in Kir6.2 gene may confer susceptibility to CAD.

Key Words: Coronary artery disease, Internal mammary artery, Androgen receptor gene CAG repeat, K_{ATP} channel Kir6.2 gene E23K polymorphism.

V. KISALTMALAR

KAH: Koroner Arter Hastalığı
AR: Androjen Reseptörü
IMA: İnternal Meme Arteri
MI: Miyokart İnfarktüs
TAD: Trans Aktivasyon Domain (bölge)
DBD: DNA Bağlayan Bölge
LBD: Ligant Bağlayan Bölge
ARE: Androjen Respond (yanıt) Element
SUR: Sulfanilüre Üre Reseptör
ATP: Adenozin Tri Fosfat
DİK: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
T.Kolesterol: Total kolesterol
TG: Trigliserid
T: Testosteron: Total Testosteron
S. Testosteron: Serbest Testosteron
DHT: Dihidrotestosteron
DHEA: Dihidroepiandrojen
DHEAS: Dihidroepiandrojen Sülfat
LH: Lüteinizan Hormon
FSH: Folikül Stimülan Hormon
GnRH: Gonadotropin Releasing Hormon
SSS: Santral Sinir Sistemi
SHBG: Seks Hormonu Bağlayan Globülin
NO: Nitrik Oksit
PG: Prostaglandin
VKİ: Vücut Kitle İndeksi
DM: Diabetes Mellitus
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP: Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi

NLB: Nuclei Lysis Buffer

SDS: Sodyumdodesilsulfat

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1: AR Reseptör Geni CAG Tekrar Sayısı ve İlişkili Olduğu Hastalıklar	17
Tablo 2: K_{ATP} Kanal İzofomları	24
Tablo 3: Gönüllülerin Demografik Özellikleri	32
Tablo 4: RFLP’de Kullanılan Enzim	34
Tablo 5: KAH Grubunun Cinsiyetlerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması	40
Tablo 6: KAH Bulunan Hastaların Yaşları ile İstatistiksel Bakımdan Anlamlı Gözlenen Klinik ve Biyokimyasal Veriler	41
Tablo 7: KAH Bulunan Hastaların VKİ ile Serum Androjen Düzeylerinin Karşılaştırılması	41
Tablo 8: KAH Grubunun Serum Serbest Testosteron Düzeyleri ile T. Kolesterol, HDL, LDL Ve TG Düzeyleri ile Karşılaştırılması	42
Tablo 9: AR Geni CAG Tekrar Uzunlukları ile Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması	45
Tablo 10: AR Geni CAG Tekrar Uzunlukları ile Testosteronun EC_{50} Değerleri Arasındaki İlişki	46
Tablo 11: K_{ATP} Kanal Kir6.2 Gen E23K Genotipleri ile Testosteron EC_{50} Değerleri Arasındaki İlişki	46
Tablo 12: Testosteronun EC_{50} Değerleri ile Klinik Parametreler Arasındaki Korelasyon	47
Tablo 13: Testosterona Bağlı Gevşeme Yanıtlarının AR Gen CAG Kısa ve Uzun Tekrar Sayıları ile Karşılaştırılması	48
Tablo 14: K_{ATP} Kanal E23K Genotipleri ile Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması	50
Tablo 15: Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri	51
Tablo 16: KAH Grubunun K_{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Genotiplerinin Gözlenen ve Beklenen Dağılımları	51
Tablo 17: KAH Grubunun K_{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Genotiplerinin Gözlenen ve Beklenen Dağılımları	52

Tablo 18: KAH ile Kontrol Grubu Arasında Alel ve Genotip
Sıklıklarının Karşılaştırılması

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: KAH (Koroner Arter Hastalığı)’ın Çeşitli Ülkelerdeki Sıklığı	7
Şekil 2: Androjen Sentezi	8
Şekil 3: Testosteronun Regüle Edici Mekanizması	9
Şekil 4: Hedef Hücrelerde Testosteronun 5 α Redükdaz Enzimi İle DHT’ye Dönüşmesi	10
Şekil 5: Testosteronun Hedef Hücrelerde Genomik ve Genomik Olmayan Etkileri	11
Şekil 6: AR Reseptör Geni ve Reseptör Proteini	15
Şekil 7: Potasyum Kanallarının Genel Yapısı	20
Şekil 8: Pankreasın beta hücrelerindeki K _{ATP} Kanalının yapısı	23
Şekil 9: Sulfanilüre Grubu İlaçların K _{ATP} Kanallarını Etkilemesi	25
Şekil 10: K _{ATP} Kanal Aktivitesi	26
Şekil 11: K _{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Polimorfizminin Bulunduğu Lokalizasyon	27
Şekil 12: DNA Bantlarının Görünümü	35
Şekil 13: KAH Grubunda AR Gen CAG Tekrar Sayısının Dağılımı	43
Şekil 14: Cinsiyet Dağılımına Göre AR Geni CAG Kısa ve Uzun Tekrar Sayılarının Karşılaştırılması	44
Şekil 15: Testosteronun Verilen Konsantrasyonlarda İMA Damarlarında Yaptığı Gevşeme Yanıtlarının Üç Farklı Genotip (AA, GA, GG) Arasında Karşılaştırılması	48

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter hastalığı (KAH), günümüzde en sık görülen ve en önemli sağlık sorunlarından biridir. KAH, multifaktoriyel bir hastalık olup hem çevresel hem genetik faktörler etyolojisinde önemli rol oynamaktadır (1). Kalp kasını besleyen koroner arterlerde daralmayla karakterizedir ve en önemli nedeni aterosklerozdur. Benzer yaştaki kadınlar ile karşılaştırıldığında erkeklerde KAH prevalansı daha fazladır (2). Menopoz sonrası kadınlarda KAH riskinin hızla artmasında cinsiyet hormon düzeylerinin etkisi olduğu ileri sürülmektedir (3).

Kadınlarda yüksek doz androjen tedavisinin aterojenik etkiye sebep olduğu gösterilmiştir. Atletlerde ise androjenik steroidlerin prematür kardiyovasküler hastalıklardan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (4).

Testosteronun endotel üzerinde zararlı etkilerinin dışında KAH bulunan erkeklerde anti-iskemik etkisinin de bulunduğu, klinik ve biyokimyasal açıdan düzeltilmeler sağladığı gözlenmiştir. Bu zıt bulguların, androjen düzeyleri ile aortik ateroskleroz arasındaki ilişkiden kaynaklandığı belirtilmiştir (4).

Testosteron, kolesterolden türeyen güçlü bir doğal androjendir. Testosteronun çok bilinen androjenik etkileri dışında, son yıllarda tanımlanan vazodilatör etkisi de bulunmaktadır (5,6). Köpek, tavşan, fare ve domuzların mezenter ve pulmoner damarlarına hem in vitro hem de in vivo olarak uygulanan testosteronun, vazodilatör etkisi gösterilmiştir (3). Testosteron bu vazodilatör etkisini endotel bağımlı mekanizmaların dışında K^+ (potasyum) kanalları (K_{ATP} : ATP duyarlı K^+ kanalları ve BK_{Ca}^{+2} : kalsiyumla aktive olan K^+ kanalları) ve membrana bağlı androjen reseptörü (AR) ile yaptığı saptanmıştır (7-9).

Yıldız ve ark.(8), by pass cerrahisi sırasında alınan insan internal meme arterlerine (İMA) KCl ve $PGF_{2\alpha}$ uygulamaları ile elde edilen kasılmanın ardından testosteron ile gerçekleşen gevşeme yanıtlarından sorumlu olan mekanizmanın endotel bağımlı bir gevşeme olmadığı ve bu mekanizmanın BK_{Ca}^{+2} ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Androjenler, genomik etkilerini androjen reseptörü (AR) üzerinden gösterirler. AR geni X kromozomu üzerinde lokalizedir.

Yapılan çalışmalarda, bu genin 1.ekson bölgesinde CAG tekrar polimorfizmi saptanmış olup, reseptör transaktivasyonu ile CAG tekrar sayısı arasında ilişki bulunduğu ve CAG tekrar sayısı arttıkça AR gen transkripsiyonunda azalma olduğu saptanmıştır (10,11).

Alevizaki ve ark. (4), koroner anjiyografi yapılan erkeklerde KAH 'ın varlığı ve şiddeti ile CAG tekrar polimorfizmi arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Başka bir çalışmada, testosteronun vazodilatör etkisinde rolü olduğu bilinen K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizminin KAH ile ilişkisi araştırılmış ve GG genotipi (yaban tip) taşıyanlarda GA+AA (heterozigot+homozigot mutant) taşıyanlara göre KAH riskinin daha fazla olduğu ve A alelinin KAH riskini azalttığı bulunmuştur (9).

Testosteronun insan damarlarında oluşturduğu vazodilatör etkisinde AR geni CAG tekrarı ve K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmlerinin rolü olup olmadığı bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, hem testosteronun İMA'da oluşturduğu vazodilatör etkisinde AR geni CAG tekrar ve K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmlerinin rolünün olup olmadığını hem de bu polimorfizimlerin KAH'a yatkınlıkta bir rolünün bulunup bulunmadığını araştırmaktır.

Araştırmamız sonucunda elde edilen verilerin hem testosteronun vazodilatör etki mekanizmasının aydınlatılması konusunda hem de KAH'ın tanı, tedavi ve patogeneziyle ilgili araştırma ve uygulamalara yeni açılımlar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Arter Hastalığı

2.1.1. Koroner Arter Hastalığının Tanımı

KAH, kalbin etrafını çevreleyen kalp kasını besleyen koroner arterlerde gelişen aterosklerotik değişiklikler sonucu oluşan tıkanıklıklar veya daralmalar ile karakterizedir. Bunun sonucunda kalp kasına sunulan oksijen miktarı azalır ve iskemik kalp hastalığı denilen tablo ortaya çıkar (12).

2.1.2. Koroner Arter Hastalığı Sebepleri

KAH'a yol açan başlıca nedenler aşağıda verilmiştir.

- 1- Ateroskleroz (%99),
- 2- Arteritler: Poliarteritis nodosa, Takayasu hastalığı, Kawasaki sendromu, dissemine lupus eritamatozus, romatoit spondilit, ankilozan spondilit,
- 3- Koroner arter travması (laserasyon, tromboz, iyatrojenik, radyasyon),
- 4- Koroner mural kalınlaşma ve intimal proliferatif hastalık (homosisteinüri, mukopolisakaridozlar, Fabry hastalığı, amiloidoz, juvenil intimal sklerozis, kontraseptif steroidlere sekonder gelişen intimal hiperplazi, psödoksantoma elastikum, radyasyona sekonder gelişen koroner fibrozis),
- 5- Koroner arter embolisi (infektif endokardit, nonbakteriyal trombotik endokardit, mitral valv prolapsusu, sol atriyum/sol ventrikül yada pulmoner venlerden kaynaklanan mural trombüs, prostetik kapak embolisi, kardiyak miksuma, paradoks emboli, kalp kateterizasyon komplikasyonu),
- 6- Konjenital koroner arter anomalisi (arteriyovenöz fistüller, koroner arter çıkış anomalileri),
- 7- Myokard oksijen istem-sunum dengesizliği (aort stenozunun tüm formları, aort yetmezliği, karbon monoksit zehirlenmesi, tirotoksikoz),

8- Hematolojik (polisitemia vera, trombositoz, dissemine intravasüler koagülasyon bozukluğu, hiperkoagulabilite, tromboz, trombositopenik purpura),

9- Aort diseksiyonu, kokain kullanımı, nitrogliserin kesilmesine sekonder spazm, koroner arter diseksiyonu, normal koroner arterler varlığında Prinzmetal anjina gibi mekanizmalara bağlı luminal daralma.

Aterosklerozis; çocukluk çağında başlayan, orta ve ileri yaşlarda klinik bulgu veren progresif multifaktöriyel bir olaydır. İlerlemiş aterosklerotik lezyonlar üç temel biyolojik olayın sonucudur (13):

- 1- İntimal düz kas hücre çoğalması,
- 2- Prolifere olan düz kas hücrelerinden bol miktarda bağ dokusu matriksi, kollajen ve elastik lifler, proteoglikanların oluşumu ve
- 3- Lipid birikimi.

KAH'ın kesin tanısı ve hastalığa bağlı olarak koroner arterlerde ve sol ventrikülde gelişen anatomik ve fonksiyonel değişikliklerin belirlenmesi koroner anjiyografi, sol ventrikülografi ve intrakoroner ultrasonografi ile mümkün olmaktadır. Kalbin oksijen deposu olmadığından koroner arter oklüzyonu sonrası saniyeler içinde yüksek enerji tüketiminden dolayı miyokardiyal gerimde ani ve belirgin bir azalma olur. Ani ve belirgin bir azalma sonucu kontraktilite azalır. Reiyonel kontraktilite bozukluğu yaygın ise, sol ventrikülün global fonksiyonunu da bozar. Kardiyak debi ve ejeksiyon fraksiyonu azalırken, diyastol sonu basınç ve volüm artar. Bölgesel duvar hareket bozukluğu geniş bir alanda ise miyokard normal hemodinamik yükü sürdüremez. Sol ventrikülün %20-25'inde kontraksiyon durursa sol kalp yetmezliği gelişir. Sol ventrikül miyokardının kontraksiyon yeteneğinin %40 ve üzeri kaybedilirse ciddi pompa yetmezliği görülür. Bu durum akut olarak meydana gelirse kardiyojenik şok adını alır (14).

2.1.3. Koroner Arter Hastalığının Risk Faktörleri

KAH'ın nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli çevresel ve genetik faktörlerin rolü üzerinde durulmaktadır (15,16). KAH, sıklıkla 40 yaş sonrasında görülür. Erkeklerde kadınlara göre yaklaşık 2.5 ile 4.5 kat daha fazladır (17). Bu durum erkek cinsiyet hormonu testosterona bağlanmaktadır (18,19). Kadınlarda bulunan östrojen hormonunun ise koruyucu olduğu bildirilmektedir (20,21).

Sağlıklı kişilerde yapılan gözleme dayalı epidemiyolojik çalışmalarda, KAH'ın ortaya çıkışı ile ilgili bazı faktörlerin rolü üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu faktörler;

- **Bireysel özellikler (değiştirilmeleri ya da giderilmeleri olanaksız)**

1. Yaş
2. Cinsiyet
3. Aile öyküsü,
4. Özgeçmişte KAH veya başka bir aterosklerotik damar hastalığının varlığı,

- **Biyokimyasal veya fizyolojik özellikler (değiştirilebilir nitelikte)**

1. Yüksek plazma kolesterol ve LDL kolesterol düzeyi,
2. Yüksek kan basıncı,
3. Düşük HDL-kolesterol düzeyi,
4. Yüksek plazma trigliserit düzeyi,
5. Hiperglisemi / Diyabetes Mellitus,
6. Obezite,
7. Trombojenik faktörler,

- **Yaşam biçimi**

1. Doymuş yağ, kolesterol ve kalorisi bol diyetle beslenme alışkanlığı,
2. Sigara içmek,
3. Aşırı alkol kullanmak,
4. Fiziksel inaktivite,

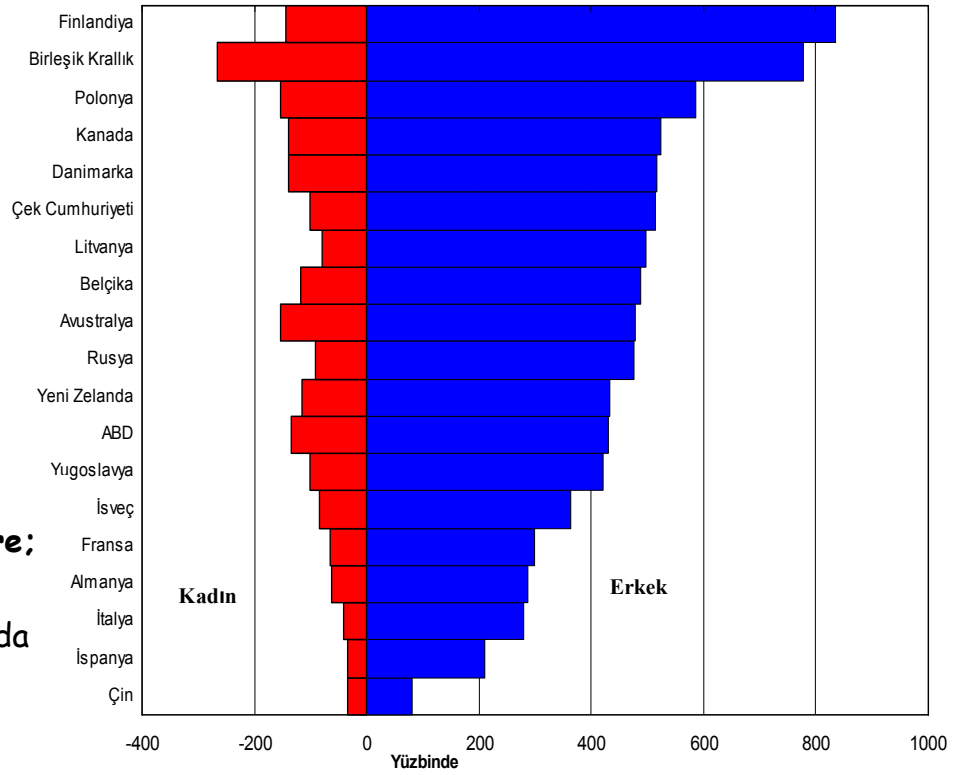
Framingham çalışmasının verilerine göre birden çok risk faktörü bir araya geldiğinde bunların toplam olumsuz etkileri, tek başına yaptıkları etkilerinden çok daha büyük olmaktadır.

Plazma kolesterolü ılımlı ölçüde yüksek olup başka bir risk faktörü taşımayan asemptomatik bir erkekte KAH riskinin göreceli olarak daha az olmasına karşılık, aynı yaşta bulunan ve başka risk faktörlerinin de beraberinde bulunduran bir erkekte risk çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (22).

Dünya da olduğu gibi ülkemizde de kalp hastalıkları ölüm nedenlerinin başında yer almaktadır (23). Türk Kardiyoloji Derneği tarafından 1990 yılından bu yana yürütülen TEKHARF çalışmasının 10 yıllık izlem verilerine göre Türkiye’de yaklaşık 2 milyon kişide KAH bulunduğu tahmin edilmektedir. KAH’ın ülkemizde yıllık mortalitesi erkeklerde %0.51, kadınlarda ise %0.33 tür. Bu olumsuz eğilim devam ettiği takdirde 2 milyon civarında olan KAH sayısının 2010 yılında 1,4 milyon daha artarak 3,4 milyon kişiye varacağı öngörülmektedir (24). KAH’ın epidemiyolojik özellikleri ülkeden ülkeye ve toplumdan topluma farklılık göstermektedir. KAH’ın etyolojisinin aydınlatılmasına yönelik girişimler, KAH’dan korunma stratejileri geliştirmek, mevcut hastalığı tedavi etmek ve kimi durumlarda hastaların yaşam kalitelerini yükseltmek açısından son derece önemlidir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), ülkeler arasındaki KAH ve risk faktörlerinin sıklığındaki farklılıkların nedenlerini incelemek için 30’un üzerinde ülkeyi içeren MONICA adlı bir çalışmayı başlatmıştır. MONICA çalışmasının sonuçlarına göre KAH insidansı açısından bazı ülkeler arasında yaklaşık 10 kat fark olduğu gözlenmiştir. KAH açısından genelde gelir düzeyi yüksek, endüstrileşmiş Kuzey Amerika, Kuzey ve Orta Avrupa ülkeleri, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi ülkeler ilk sıraları paylaşıırken, Yunanistan, Yugoslavya, İtalya gibi Akdeniz ülkelerinde KAH sıklığı ilk grubun 1/3’ü kadardır. Japonya gibi Asya ülkelerinde ise KAH sıklığı daha da düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 1).

**DSÖ'nün MONICA
çalışmasına göre;
Çin'de yüz binde 81
iken Finlandiya'da
yüz binde 835**

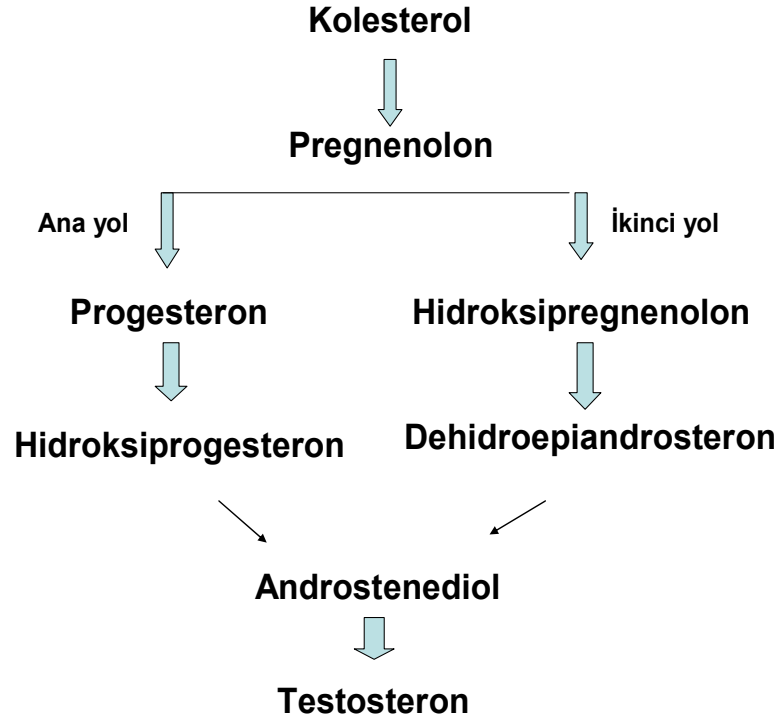


Şekil 1: KAH'ın çeşitli ülkelerdeki sıklığı (25)

2.2. Androjenler

Testosteron, androstenodion, dihidrotestosteron (DHT), dehidroepiandro-steron (DHEA) gibi erkek cinsiyet hormonlarını içeren hormon topluluğudur (26). Androjenler, erkeklerde ikincil seks karakterlerinin gelişimi ve genital traktusun maskülinizasyonunu sağlayan 19 karbonlu steroid yapıda hormonlardır. Erkekte testis ve adrenal kortekste kadınlarda ise adrenal korteks ve overlerde sentez edilirler (Şekil 2).

Androjen sentezi, kolesterol yan zincirini yıkan 3 beta hidroksisteroid dehidrogenaz enziminin etkisiyle kolesterolden pregnenolon oluşumuyla başlar (27).



Şekil 2: Androjen sentezi

Tüm androjenler karaciğerde metabolize edilirler ve 17-ketosteroid türevlerine yıkılırlar. Adrenal kortekste sentezlenen en önemli seks steroidleri androstenodion, DHEA ve sülfatize esteri olan DHEAS'dır. Bunlar zayıf androjenik etkiye sahiptir, ancak testosteron ve DHT gibi potent bir androjene dönüştürülebilirler (27).

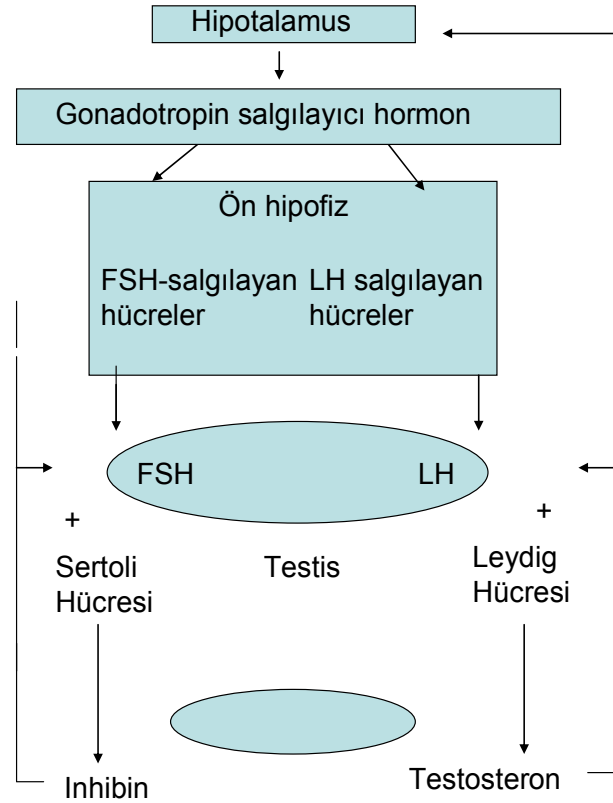
2.2.1. Testosteron

Testosteron, kimyaca 19- karbonlu bir steroid olan androstenolun türevidir. Testiste kolesterolden sentez edilir. Testosteronun öncülü olan dihidroepiandrosteron ve androstenedion adrenal korteksten en fazla salgılanan androjenik maddelerdir ve erkeklerde vücutta salgılanan toplam miktarının 2/3'ü adrenal kaynaklı, 1/3'ü ise testis kaynaklıdır. Kadınlarda aynı prekürsör overlerden de salgılanır. Bu öncülerin testis dışındaki dokularda testosterona dönüşüm hızları yavaştır.

Testosteron az miktarda da seminifer tubulusların Sertoli hücreleri ve epididimis hücrelerinde sentez edilir.

Erkeklerdeki en önemli androjen olan testosteronun %95'ten fazlası testiküler Leydig hücrelerinden salgılanır. Salgılanması LH hormonu tarafından düzenlenir.

FSH hormonunun bir etkisi yoktur. Testosteron, SSS'e girer ve orada (-) feedback etki ile hipotalamustan GnRH salınımını inhibe eder. Testosteron ve salgılanma mekanizması Şekil 3'te gösterilmiştir.



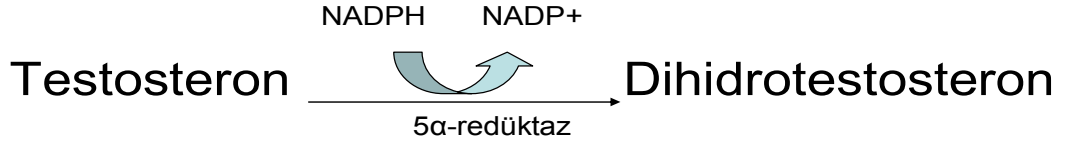
Şekil 3: Testosteronun regüle edici mekanizması

Testosteron ve DHT plazma içinde ya serbest olarak (% 2-3) ya da plazma proteinlerine bağlı olarak bulunur. Bu hormonlar, albümin gibi spesifik olmayan ve seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) gibi spesifik proteinlere bağlanırlar.

SHBG karaciğerde sentez edilen bir glikoproteindir ve steroid hormonların dağılımında, dolaşımdaki transportunda ve hedef dokulara ulaşmasında önemli rol oynar. Bundan başka meme, endometrium ve prostat dokularında da sentezlenir (28).

Testosteron başlıca karaciğerde androsteron ve dehidroandrosterona dönüşür. Bu metabolitler glukuronidlerle veya sulfatlarla birleşerek safra içinde sindirim kanalından ya da idrarla böbreklerden atılır. Karaciğer dışında böbrek, kas, adipoz dokuda da biyolojik inaktif formuna dönüştürülür (28).

Testosteron prostat, epididimis, seminifer tubuluslar ve cilt (özellikle dış genital organların cildi) gibi bazı hedef organların hücreleri içine girdiğinde 5-alfa redüktazın etkisiyle DHT'ye çevrilir (28). Androjenler içinde en potent olanı DHT'dur (Şekil 4). Potent sırası, DHEA < Androstenodion < Testosteron < DHT şeklindedir (29).



Şekil 4: Hedef hücrelerde testosteronun 5α redüktaz enzimi ile DHT dönüşmesi

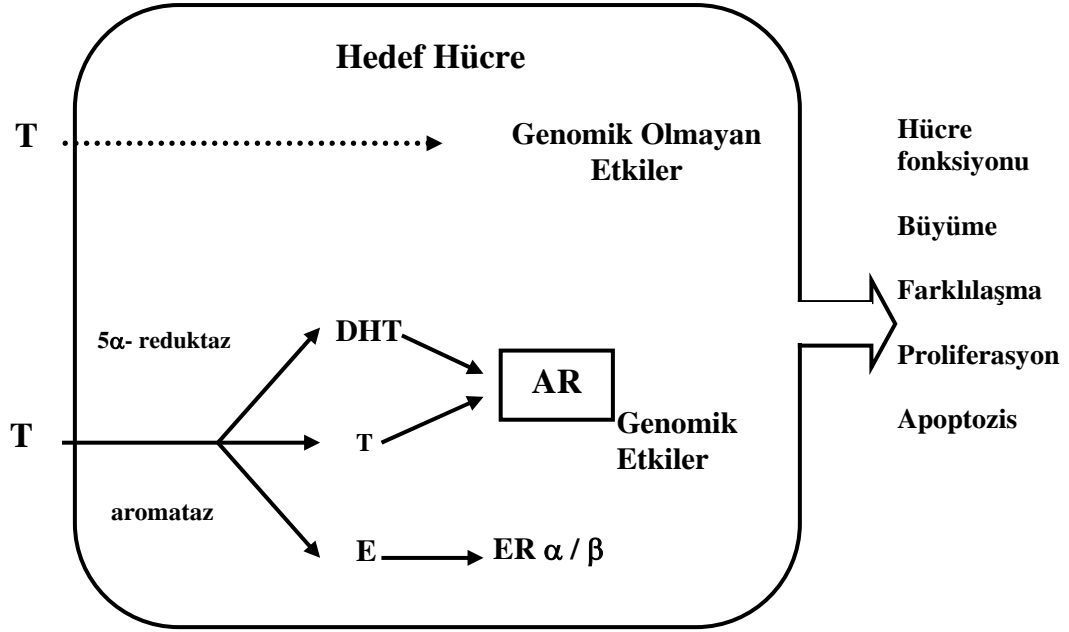
Belirtilen durum nedeni ile DHT'nun erişkinlerdeki sekonder seks karakteristiklerinin çoğundan ve ayrıca embriyogenez esnasında eksternal seks organlarının ve üretranın virilizasyonundan ve ürogenital sinüsün prostatı oluşturmamasından sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Normal bir erkekte plazmada total testosteron miktarı ortalama 0.7 µg/dl'dir. Bireysel değerler normal kişiler arasında oldukça fazla değişkenlik gösterir. Kadınlarda ortalama testosteron konsantrasyonu erkeklere göre daha düşük olduğu tanımlanmıştır (0.015–0.065 µg/dl). Plazma testosteron miktarı sabah saatlerinde doruk konsantrasyona ulaşır. Mental stres ve travmatik stres durumlarında plazma testosteron konsantrasyonu düşer.

Testosteron ve androstenedion diğer bir yolak üzerinden aromataz enzimi aracılığıyla östrojene çevrilebilir. Erkeklerde günlük sentezlenen testosteron miktarı 2.5–10 mg (ortalama 7 mg), kadınlarda 0.23 mg kadardır. Erişkin testosteron miktarı yaşla birlikte gittikçe azalır (28). Erkeklerde yaşlanma ile birlikte libidoda azalma, potensin düşmesi, kemik kaybı, kas kitlesi ve gücünde azalma, iştah azalması, hafıza bozuklukları ile psikolojik değişiklikler gibi bazı belirtiler ortaya çıkar (30). Plazma testosteron konsantrasyonundaki azalmanın 31 yaşından sonra başladığı ve daha sonra da devam ettiği, 40–60 yaşları arasındaki erkeklerin %7'sinin, 60–80 yaşları arasındakilerin %21'inin ve 80 yaşın üzerindekiilerin ise %35'inin normalin altında testosteron düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir (31,32).

50–60 yaş arası erkeklerin yaklaşık yarısında, testosteronun plazma düzeylerinin normalin altında olduğu da bildirilmiştir (33).

2.2.1.1. Testosteronun Etkileri

Testosteron, hedef hücrelerdeki etkilerini AR üzerinden gösterir (Şekil 5).



Şekil 5: Testosteronun genomik ve nongenomik etkileri

- **Androjenik Etkinliği:**

1- Erken fõtal dönemde:

Wolf kanallarının (epididimis, vas deferens ve vesikula seminalis) erkekleşmesi,

Ürogenital kanaldan prostat oluşumu,

Dış genital organların erkekleşmesi,

Beynin diferansiyasyonu,

2- Puberte Döneminde:

Ses kalınlaşması,

Derinin kalınlaşması ve yağlanması,

Kıllanma,

Penis büyümesi,

Scrotum kıvrımlarının oluşması (testis, penis, prostat ve salgı bezlerinin büyümesi, spermatogenezin başlatılması ve spermatozoitlerin oluşumu),

Libido artışı,

Psikolojik ve davranış değişiklikleri.

- **Anabolik Etkinliği:**

Protein sentezini artırma,

Protein yıkımını inhibe etme,

Aminoasit yıkımını inhibe etme,

Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Cl^- ve fosfat tutulması,

Kas kitlesinin gelişimi ve artması,

Epifizin kapanması,

Pubertal büyüme,

Alyuvar yapımında artma, böbreklerde eritropoetin sentezini stimüle etme.

2.2.1.2. Testosteron ve KAH ile ilişkisi

Plazma testosteron düzeyleri ile KAH'ın varlığı ve şiddeti arasında önemli bir ilişki vardır. Ancak plazma testosteron düzeylerinin yüksekliği ile KAH'a yakalanma riski bakımından kadınlarda doğru, erkeklerde ise ters bir orantı söz konusudur. Ayrıca, erkeklerde hipoandrojenemi, kadınlarda ise hiperandrojenemi durumunun obezite, insülin direnci, dislipidemi gibi çeşitli metabolik bozukluklara neden olduğu belirtilmektedir. Testosteronun fizyolojik dozlarda, serum trigliserid düzeyini azalttığı, hem total hem de LDL kolesterolünü düşürdüğü ve neticede vasküler atherom riskini azalttığı bulunmuştur (34). Bu değişikliklerin 12 aylık testosteron replasman tedavisi süresince devam ettiği ve tedaviyi kestikten sonra 3 ay içerisinde tekrar kaybolduğu gösterilmiştir (35).

Erkeklerde endojen testosteron düzeyleri ile HDL kolesterol düzeyleri arasında pozitif ilişki varken, LDL kolesterolü, TG, fibrinojen düzeyleri arasında ters bir korelasyon vardır. Kadınlarda bu durum tam tersidir. Erkeklerde hipoandrojenemi ve kadınlarda hiperandrojenemi santral obezite ve insülin rezistansını bozmaktadır.

Bu ilişki, androjenlerin direkt proaterojenik yada antiaterojenik ilişkisi ile açıklanamamıştır. Kısa süreli testosteron tedavisi, KAH'ı bulanan erkeklerde egzersiz sırasında çekilen elektrokardiyografi (EKG)'de düzelme sağlamıştır.

Testosteronun fizyolojik dozunun üstünde bir dozda kısa süreli olarak uygulanmasının miyokard iskemisinde düzelme sağladığı görülmüştür (36).

Başka bir çalışmada, testosteronun lipid sentezini azalttığı, abdominal yağlarda ise lipolizi arttırdığı gösterilmiştir (37). Prostat kanseri tanısı alan erkeklerin bir kısmına parenteral östrojen hormonu, bir diğer grubuna da orşiektomi uygulanmış. Parenteral östrojen tedavisi uygulanan hastalarda KAH için bir risk faktörü olarak bilinen lipoprotein(a)'nın serum düzeyi değişmediği, orşiektomi uygulanan hasta grubunda da lipoprotein(a)'nın serum düzeyinin yükseldiği görülmüş. Aynı çalışma grubu sağlıklı erkek hastalarda uyguladıkları parenteral testosteron tedavisinin ise lipoprotein(a)'nın serum düzeyini azalttığını saptamışlar (38).

Epidemiyolojik çalışmalar, düşük testosteron düzeylerinin KAH için bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (35). Anjiyografik çalışmalarda düşük testosteron düzeyi ile ateroskleroz plaklarındaki artışın birlikteliği dikkat çekmektedir (34). KAH sahip erkeklerde ortaya çıkan egzersize bağlı miyokard iskemisinde uygulanan akut testosteron tedavisinin, bu hastalar da egzersize bağlı gelişen iskemiyi düzelttiği saptanmış ve testosteronun bu düzeltici etkisi de koroner damarlarda vazodilatasyon yaparak gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (39).

Testosteronun, koroner damarlar da dahil çeşitli hayvan ve insan damarlarında hem in vivo hem de in vitro vazodilatasyon yaptığı bilinmektedir (40). Testosteron vazodilatör etkisini, endotel bağımlı gevşetici faktörler (NO ve PG'ler), çeşitli potasyum kanalları (K_{ATP} , BK_{Ca}^{+2}) ve AR üzerinden oluşturduğu saptanmıştır (7,41). Testosteronun cinsiyete spesifik farklı etkileri tanımlanmıştır (42,43) Erkek tavşanlarda uygulanan testosteron, plak gelişimini engellerken, dişi tavşanlarda atherom oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir (42).

Testosteron fizyolojik konsantrasyonlarda, damar düz kas hücrelerinde bulunan AR'ı uyardığı, AR'ın uyarılması ile mRNA transkripsiyonunun gerçekleştiği ve ardından da reseptör sayısının arttığı gösterilmiştir. Bu etki sonucunda da damar yataklarında plak gelişiminin engellendiği belirtilmiştir (44).

2.3. Androjen Reseptörü (AR):

2.3.1. AR'ın Yapısı ve Özellikleri

Testosteron hedef dokudaki etkinliğini, stoplazma ve çekirdekte var olan X kromozomunda yerleşik 8 eksonlu bir gen tarafından kodlanan AR aracılığı ile gösterir (45). AR steroid-nükleer reseptör ailesine aittir. Bu reseptör, perisentromerik bölgede uzun kol üzerinde q11-q12 aralığında bulunur (46).

AR'ın molekül ağırlığı 110.000 baz (yaklaşık 90 kb), içerdiği aminoasit sayısı ise 917'dir (47).

AR, dalak ve kemik iliği dışında vücudun tüm dokularında bulunmaktadır (48). AR'ın 4 işlevsel parçası vardır (46).

1- N terminal transaktivasyon bölgesi (TAD): AR geninde 1. ekson tarafından kodlanır. Nükleustaki proteinlere ve gendeki regülatör ünitlere bağlanır ve içerdiği glutamin (CAG dizeleri) aminoasidini kodlar,

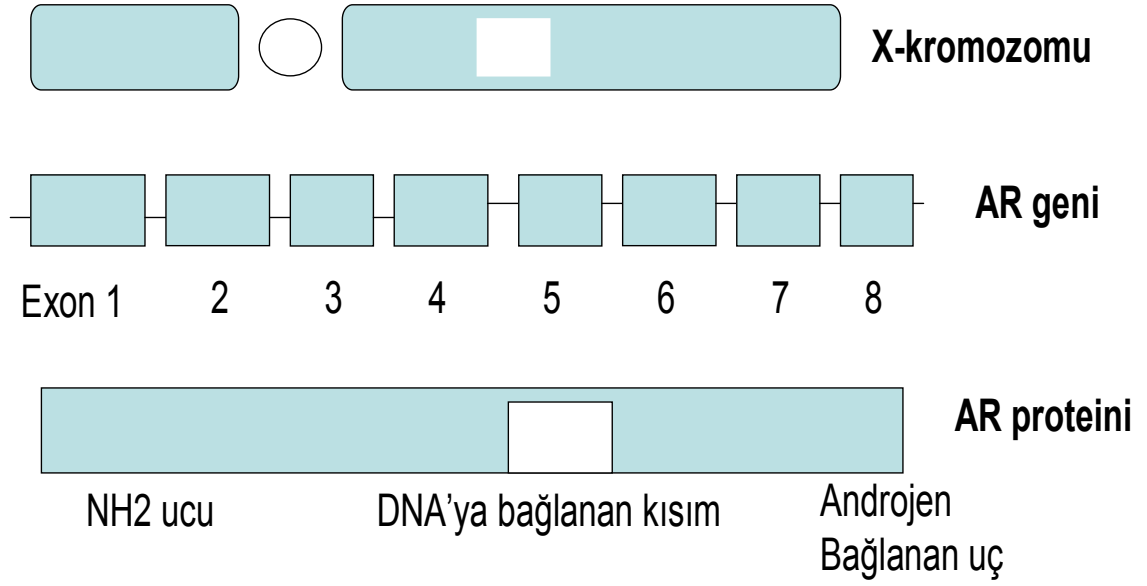
2- DNA bağlayan bölgesi (DBD): Ekson 2 ve 3 tarafından kodlanır,

3- Menteşe bölgesi,

4- C terminal bölgesi: Ligandın bağlandığı bölge (LBD).

AR, sentezlendikten sonra fosforilizasyona uğrar (post-translasyon yapılanma süreci). Fosforilizasyon reseptöre dayanıklılık sağlar (49).

Androjen hücre içine girince önce AR'a bağlanır. AR'lar, glukokortikoidler, mineralokortikoidler, tiroid hormonu, retinol, östrojen ve progesteron gibi steroid hormon reseptörleri ailesine aittir (Şekil 6) (49).



Şekil 6: Androjen reseptör geninin ve AR proteininin yapısı (50)

Reseptörün androjen bağlayan kısmı C karboksil ucudur. Tüm reseptörün yaklaşık %30'unu oluşturur. Androjenlerin bağlanabileceği 24 aminoasitlik hidrofobik bir cep taşır. Testosteron ya da DHT'un bu bölgeye bağlanması ile reseptörün yapısı da değişir ve transkripsiyon yapıcı bir özellik kazanmasını sağlar. Buna transaktivasyon denir. DHT, testosterona göre daha fazla afinite ile bağlanır. Androstenadion, östradiol ve progesteron gibi diğer androjenler ise reseptöre testosterona göre daha düşük afiniteyle bağlanırlar (51).

AR'ın DNA'ya bağlanan kısmı 72 aminoasitten meydana gelmiştir. Tüm reseptörün %10'unu oluşturur. N ucu ile androjen bağlayan kısmı arasında lokalizedir. Sisteinden zengindir. AR'ın transkripsiyondan sorumlu kısmı (N-bölgesi) nükleustaki bağlanmada önemlidir (49). Burada aminoasitlerin belli bir sırada dizilmiş olmaları gerekir. 20 glutamin–8 prolin–23 glisin ünitinden oluşur. Glutamin dizeleri, gendeki CAG dizeleri tarafından kodlanarak sentezlenir.

AR geninde poliglutamin dizelerindeki tekrar sayısı bireylerarası farklılık gösterir. Bu tekrar sayıları ortalama olarak 11 ila 31 arasında değişmektedir (52).

AR'ın bağlandığı DNA kısmı androjenlere özel protein sentezlettirdikleri için ayrıca androjen yanıt elementi (androjen responsive elements: ARE) adını da alırlar. Bu elementler genin uyarılması için emir verirler. Eğer ARE bağlanan aminoasit diziliminde bir mutasyon olmuşsa, reseptör androjene duyarlı genleri aktive edemez ve neticede androjene duyarsız kalıtsal sendromların ortaya çıkmasına neden olurlar (49).

AR, DNA'ya birbirinin aynısı 2 hormon-reseptör kompleksinden oluşan bir homodimerik formunda bağlanır. Dimerizasyon; ya androjenin reseptöre bağlandığı sırada ya da DNA'ya bağlanma sırasında gelişir. Sitozolden nukleusa geçen reseptör-hormon kompleksi, DNA üzerindeki kendine ait spesifik bölgeyi tanıyarak, oraya bağlanır (53). Androjenlerin bu bölgelere bağlanması androjen+androjen reseptörü, RNA polimeraz, transkripsiyon faktörleri ve DNA'dan oluşan bir transkripsiyon kompleksinin oluşması ile sonuçlanır. Bu transkripsiyon kompleksi de androjen-bağımlı genlerden mRNA sentezlenmesini başlatır. mRNA'nın translasyonunu takiben de androjen-bağımlı proteinler yapılır. Transkripsiyonal kompleksin çalışması ko-aktivatörler ve ko-represörler tarafından kontrol edilir. Ko-aktivatörler reseptörün transkripsiyon fonksiyonunu arttırırken, ko-represörler azaltırlar (54).

Reseptör normal şartlarda sitozolde serbest konumda dolaşır. Isı-şoku (Heatshock) proteinleri (örneğin HSP 90; protein 90) normalde bu bölge üzerindeki özel kısımlara bağlanarak reseptörün inaktif formda kalmasını yani stoplazmada kalmasını sağlar. Testosteron reseptöre bağlanınca, reseptörde bazı yapısal değişimler ortaya çıkar. Bunun sonucunda HSP reseptörden ayrılarak fonksiyonel bölgelerin serbestleşmesi sağlanmış olur. Bundan sonra hormon-reseptör kompleksi nukleusa taşınabilir, dimerize olur ve DNA'ya bağlanabilir. Serum testosteron düzeyinin yüksek olması ile androjeniteninde yüksek olmadığı, reseptörün aktivitesine de bakılması gerektiği bildirilmektedir (51).

2.3.2. AR Geni CAG Tekrar Polimorfizmi ve Hastalıklarla İlişkisi

AR geni 1. ekson bölgesinde CAG ve GGN tekrar sayıları ile oluşan iki polimorfizm tanımlanmış olup, CAG tekrar sayıları poliglutamin zincirini, GGN tekrar sayıları ise poliglisin zincirinin kodlandığı belirlenmiştir. Normal bireylerde GGN tekrar uzunluğu 10 ile 30 arasında olduğu saptanmıştır. GGN tekrar sayıları 3 GGT, 1 GGG, 2 GGT ve farklı sayılarda GGC tekrarlarından ibaret olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda AR geni GGN tekrar sayıları ile oluşan poliglisin zincirinde gerçekleşen delesyonun AR aktivasyonunu yaklaşık olarak %30 azalttığı bildirilmektedir (55,56).

AR geni CAG tekrar polimorfizmi daha fazla araştırılmıştır. AR geninin 1 nolu eksonundaki değişken sayıdaki CAG tekrarı, TAD'deki poliglutamin zincirinin uzunluğunu belirlemektedir. Çeşitli hastalıklar ile CAG tekrar uzunluğu arasında ilişki saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: AR reseptör geni CAG tekrar sayısı ve ilişkili olduğu hastalıklar

AR gen CAG tekrarı	Hastalık	Referanslar
40↑	Kenedy hastalığı	La Spada et al. (1991),(57)
40↑	Meme kanseri	Lillie EO.et al. (2003),(58)
36↑	Huntington hastalığı	Herishanu et al. (2008),(59)
22-31	Kemik dansisitesi kaybı	Zitzman M.et al. (2001),(60)
23↑	İnfertilite	Tut et al. (1997),(61)
20↑	Baş- Boyun kanseri	Dos santos et al. (2004),(62)
21 +/- 3 (erkek), 20+/- 3 (kadın)	Akne	Sawaya ME.et al. (1998),(63)
16 +/- 3(kadın)	Hirsitismus	Sawaya ME.et al. (1998),(63)
18↓	Prostat kanseri	Giovannucci et al. (1997),(64)
19 +/- 3 (erkek), 17 +/- 3 (kadın)	Androjenik alopesi	Sawaya ME.et al (1998),(63)
20↓	Testis kanseri	Garolla et al. (2005),(65)
20↓	Alzhemier hastalığı	Lehmann et al. (2003),(66)
23↓	KAH	Alevizaki et al. (2003),(4)

2.3.2.1. AR Geni CAG Tekrar Polimorfizmi ve KAH

AR'ın transaktivasyon bölgesinde CAG tekrar uzunluğu ile KAH şiddeti arasında ters bir korelasyon olduğu ileri sürülmektedir. İleri düzeyde KAH'ı bulunan erkeklerde androjen duyarlılığının arttığı ve buna bağlı olarak androjen yanıt genlerinin aktivasyonunun artmasının da KAH gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (4). Kısa CAG tekrar uzunluğu bulunan bireylerde AR geni mRNA transkripsiyon oranı artmaktadır.

Kısa CAG tekrar uzunluğu bulunan genç ve yaşlı erkeklerde serum HDL düzeyi düşük ve endotel bağımlı vazodilatasyonunun bozulması ile KAH gelişimine neden olduğu belirtilmiştir (4). Chamberlain ve ark, AR geni CAG tekrar sayısının uzunluğu ile androjen yanıtları arasında bir ilişki olabileceğini ve CAG tekrar sayısı arttıkça AR geni mRNA transkripsiyonunun azalmakta olduğunu göstermişlerdir (61,67).

Zitmann ve ark. (68), AR geni CAG tekrar polimorfizminin tedavi almayan sağlıklı erkeklerde testosteronun metabolik ve kardiyovasküler etkisini değiştirdiğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, kısa CAG tekrarı bulunan bireylerde hem serum HDL kolesterolünün hem de endotel yanıtlarının azalması ile oluşan iskemi riskini arttırdığını bulmuşlardır. Ek olarak brakial arterde endotel disfonksiyonunun ve azalan serum HDL düzeylerinin aterosklerozis için bir risk olduğunu belirtmişlerdir. Alevizaki ve ark. (4), HDL düzeyleri ile CAG tekrar sayıları arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır. Liu ve ark. (69), AR transkripsiyonundaki artışın koroner damarlarda kalsifikasyon artışı ve plak oluşumu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Hanke ve ark. (70), testosteronun fizyolojik konsantrasyonlarında, damar düz kas hücrelerinde bulunan AR'ı uyararak mRNA transkripsiyonunu arttırdığını ve plak gelişimini engellediğini saptamışlardır.

Diğer bazı çalışmalarda da benzer şekilde androjen düzeyleri ile KAH arasında bir ilişki saptanmamıştır (71,72). Hak ve ark. (73), erkeklerde düşük testosteron, kadınlarda ise yüksek testosteron düzeylerinin aterosklerozis için bir risk oluşturduğunu belirlemişlerdir. Diğer yandan uzun CAG tekrarı ile serum testosteron yüksekliği arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (74).

2.4. Potasyum (K^+) Kanalları

Hücre membranlarında bulunan ve protein yapısında olan iyon kanalları, hücreye iyon giriş çıkışlarını kontrol ederek hücre fonksiyonlarını düzenlerler. Bu kanallar, kalbin çalışma hızını, sentezlenen hormonların kana salıverilmesini ve santral sinir sistemindeki sinyal iletiminde rol oynayan elektriksel stimulusların oluşumunu sağlarlar. Doku fonksiyonlarını kontrol eden bu kanalların aktiviteleri hastalık durumlarında değişebilir.

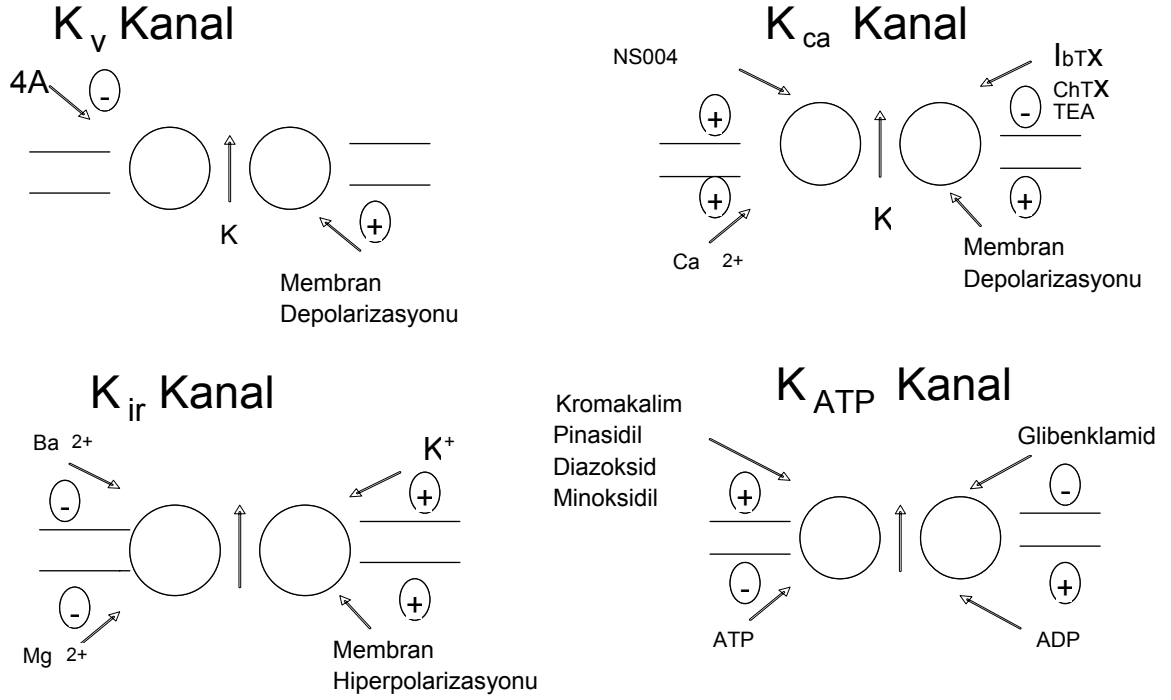
Hipertansiyon, Alzheimer, epilepsi, myastenia gravis, uzamış QT sendromu gibi radikal tedavisi günümüzde pek mümkün olmayan bazı hastalıkların moleküler temeli son zamanlarda araştırılmaya başlanmıştır. Bu araştırmalara göre, bazı iyon kanallarında meydana gelen genetik mutasyonların kanal fonksiyonlarını olumsuz etkileyebileceği ve bunun sonucunda yukarıda belirtilen hastalıklar gibi bazı ciddi doku fonksiyon bozukluklarının oluşabileceği bildirilmiştir (75,76).

K^+ kanalları hemen hemen bütün organizmalarda bulunur. Kalp hastalıkları gibi yaşamsal risk taşıyan bazı hastalıkların nedeninin K^+ kanallarının fonksiyon bozukluğundan kaynaklandığının anlaşılmasından sonra bu kanallara olan ilgi artmıştır (77).

K^+ kanalları, pankreatik β ve α hücreleri de dahil olmak üzere bir çok dokuda bulunur (78).

Damar düz kasında bulunan K^+ kanalları dört tiptir (75).

- 1- Voltaj bağımlı K^+ kanalları (K_v),
- 2- Kalsiyum ile aktive olan K^+ kanalları (BK_{Ca}^{+2}),
- 3- ATP duyarlı K^+ kanalları (K_{ATP}),
- 4- İçeride doğru K^+ kanalları (K_{ir}) (Şekil 7)



Şekil 7: Potasyum kanallarının genel yapısı (79)

2.4.1. K_v Kanalları

K_v kanallarının α ve β olmak üzere 2 alt birimi vardır. α alt birimi, stoplazmik C ve N terminali ile altı adet transmembranal segment (S1-S6)'ten oluşur. Bunlardan S1-S4 voltaj sensörleri gibi görev görürken S5 ve S6 'por' denilen ve K⁺ iyonunun arasından geçtiği 'kapı' kısmını oluştururlar. Por ile voltaj sensör kısmının fonksiyonel olarak birbirleriyle bağıntılı olduğu sanılmaktadır. Membran depolarize olduğunda sensör kısmının hareketlenerek por kısmına sinyal gönderdiği ve bunun sonucunda kanal kapısının açıldığı bildirilmiştir (79).

Düz kas hücrelerinde L tipi voltaja bağlı Ca⁺² kanalları açılarak Ca⁺² içeri girer ve ardında depolarizasyon olur ve takiben damarlarda kasılma meydana gelir. K_v kanalları bu membran depolarizasyonunu sınırlar ve vasküler tonusu istirahata çeker (79).

Kalp dokusu fonksiyonlarında rol oynayan K^+ kanalları daha çok K_v 'dir. Kalpteki K_v kanallarında herhangi bir nedenle meydana gelen fonksiyon bozukluğu ciddi kalp rahatsızlıklarına neden olabilir. Örneğin; uzamış QT sendromu, ölümcül ventriküler aritmilere neden olabilen bir kalp hastalığıdır.

Bu sendromun, kalpteki K_v kanallarında meydana gelen genetik mutasyonlardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Bu mutasyonlar sonucu K^+ kanalı normalden daha uzun bir süre kapalı kalır. Atrial fibrilasyonda ise KCNQ geninde meydana gelen genetik mutasyonların rolü olduğu ve bu mutasyonların K_v fonksiyonlarında artışa neden olduğu rapor edilmiştir (77).

2.4.2. BK_{Ca}^{+2} Kanalları

Nöron, kohleadaki saçlı hücreler, kromaffin hücreler, iskelet ve düz kaslarda bulunur. Bunların da α ve β alt tipleri vardır. Bu kanallar hücre içi Ca^{+2} miktarı yükselip ve ardından da membran depolarizasyonu gerçekleştiğinde aktive olurlar. Bu kanallar membranın negatif feedback kontrolüne hizmet ederler (80).

2.4.3. K_{ir} Kanalları

Bu kanallar, küçük çapa sahip olan rezistans damarların düz kasında bol miktarda bulunmaktadır. K_{ir} kanallarının fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır. 2 temel mekanizma üzerinde durulmaktadır.

1- K_{ir} kanalları küçük çaplı damar düz kasında istirahat tonusu ve istirahat membran potansiyeline katkıda bulunmaktadır.

2- K_{ir} kanalları vazodilatasyon sırasında artan hücre dışı K^+ dolayısı ile aktive olmaktadır (79).

2.4.4. K_{ATP} Kanalları

K_{ATP} kanalları, hücre içi metabolitler (nükleotidler ve uzun zincirli açıl CoA esterleri) ile K^+ iyon geçişinin kontrolünü sağlarlar (81).

K_{ATP} kanalları, beyinde elektriksel aktivite ve transmitterler ile ilişkilidir. K_{ATP} kanalları ilk olarak kalp kasında tanımlanmıştır. Daha sonra damar düz kası da dahil çeşitli hücrelerde varlığı saptanmıştır (79).

K_{ATP} kanalları metabolik olaylara duyarlı kanallardır. Bu kanallar, anoksi, iske mi ve hücre iç i ATP düzeyi düştüğünde aktive olurlar (80). Hipokside koroner, serebral ve iskelet kası arteriyel yapılarda vasodilatasyon oluşur ve vazodilatasyonda K_{ATP} kanallarının görev aldığı saptanmıştır (82). Asidoz durumunda da, koroner damarlarda vazodilatasyon K_{ATP} kanalları ile gerçekleşir (83).

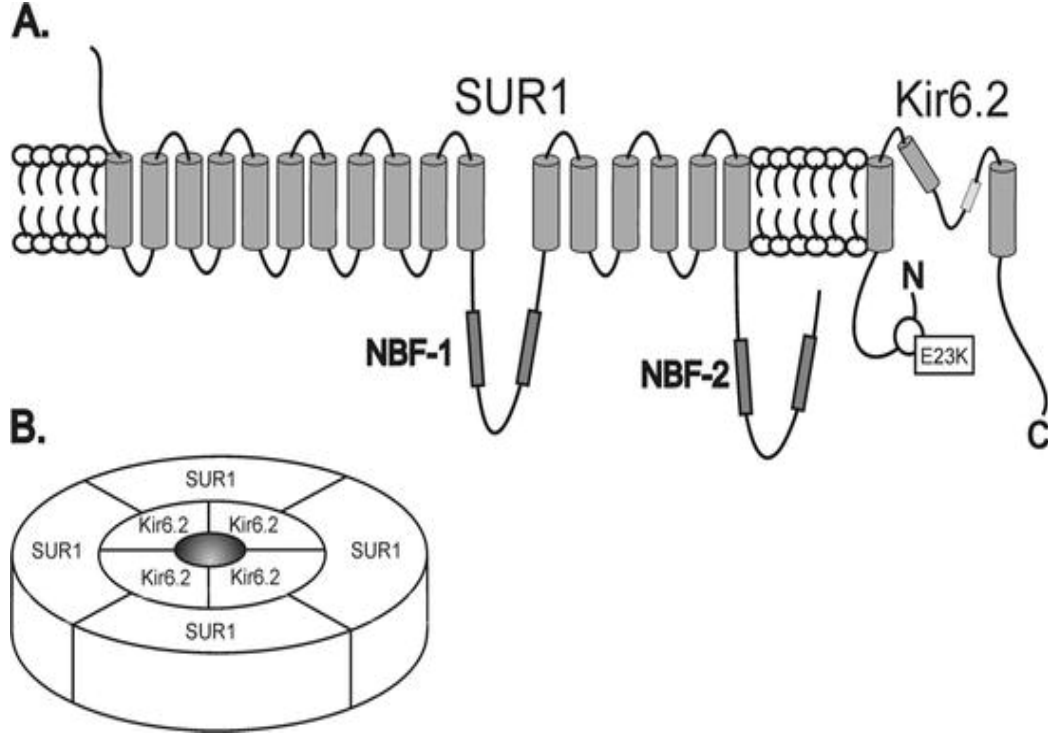
Kalp kasındaki K_{ATP} kanalları, iskemide gerçekleşen hücre iç i ATP konsantrasyonu düştüğünde açılarak K^+ çıkışına izin vermekte ve bu durum aksiyon potansiyeli süresini kısaltarak Ca^{+2} girişini azaltmaktadır. Ca^{+2} girişinin azalması, enerjinin korunmasını sağlar ve iske mi sonucu oluşan ozmotik şişmeyi azaltır. K_{ATP} kanallarını spesifik olarak açan kromakalim, bimakalim ve pinasidil gibi ajanlar önkoşullanmaya benzer güçlü anti-iskemik etki gösterirler. Ayrıca K_{ATP} kanalını bloke eden glibenklamid ve 5-hidroksidekonoat gibi ilaçların da önkoşullanma ile sağlanan korumayı engellediği gösterilmiştir (84).

Klasik iskemik ön koşullanma; miyokard kan akımında önemli miktarda azalmaya yol açan uyaranların neden olduğu bir veya daha fazla iskemik atağın infarkt gelişimini geciktirmesi olarak tanımlanır (85).

2.4.4.1. K_{ATP} Kanallarının Moleküler Özellikleri

K_{ATP} kanalları başta pankreas olmak üzere birçok dokuda bulunur ve hetero-oktomerik bir kompleksten oluşmuştur. K_{ATP} kanallarının 2 alt birimi vardır (Şekil 8) (9,79).

- 1- SUR (regülatör sulfanilüre reseptör) : SUR1, SUR2A ve SUR2B
- 2- Kir6.X : Kir6.1 ve Kir6.2'dir



Şekil 8: Pankreasın beta hücrelerindeki K_{ATP} kanalının yapısı (79)

A. SUR1 ve Kir6.2 alt biriminden oluşmuştur.

B. K_{ATP} kanalı hetero-oktomerik kompleksi yapısında olup, K^+ spesifik por bulunduran dört Kir6.2 alt birimi ve çevresinde dört adet SUR1'den oluşmuştur.

NBF: Nükleotid bağlayan kısım

Kalpte bulunan K_{ATP} kanalları Kir6.2 ve SUR2A'dan, beynin belirli nöronlarında, glikolipoprotein-1 (GLP-1) salgılayan L hücrelerinde, pankreatik α ve β hücrelerinde ise Kir6.2 ve SUR1'den oluşmaktadır (9). Damar düz kasında SUR2B ile birlikte Kir6.1 ve Kir6.2 gösterilmiştir (Tablo 2) (79).

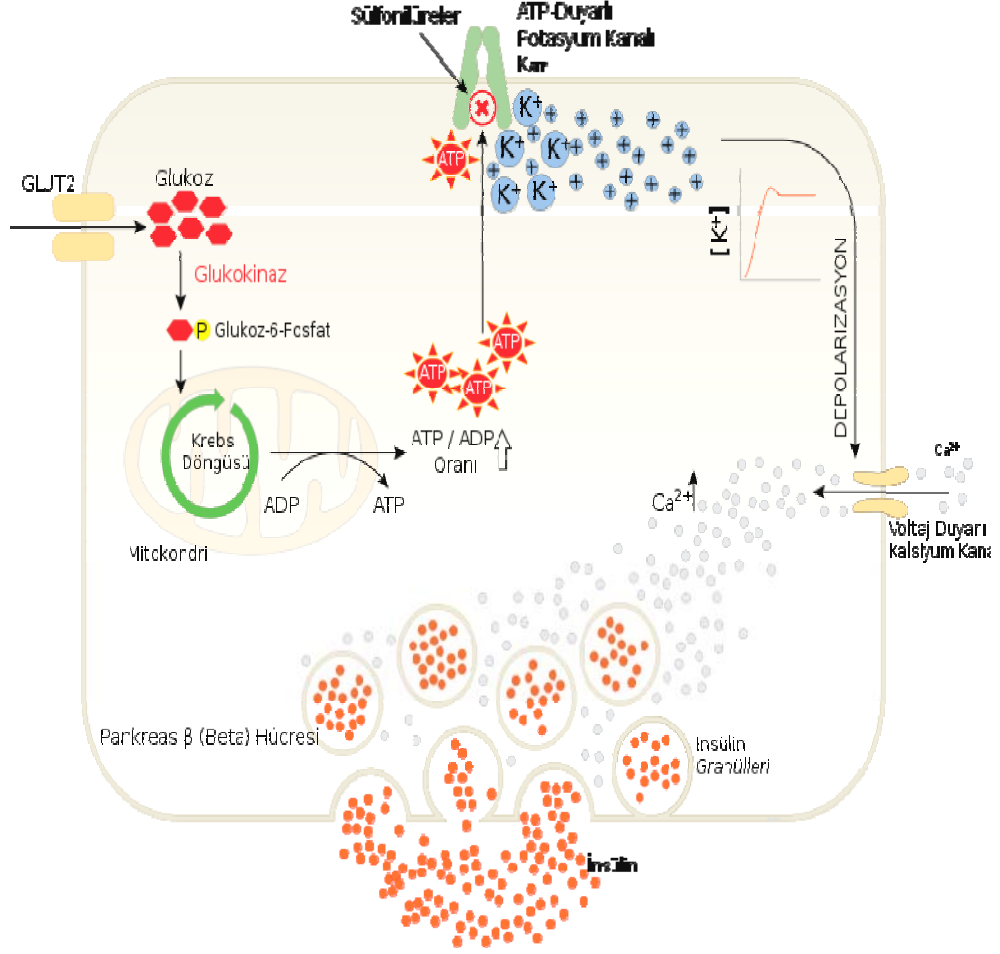
Tablo 2: K_{ATP} kanal izoformları (86)

Sulfonilüre reseptörleri	Kir6.x alt birimi	Doku/Kanal alt tipleri
SUR1	Kir6.1	??
	Kir6.2	Pankreatik beta hücreleri/nöronal
SUR2A	Kir6.1	??
	Kir6.2	Kardiak/iskelet kası
SUR2B	Kir6.1	Damar düz kası
	Kir6.2	Damar düz kası

2.4.4.2. SUR Alt Birimi:

K_{ATP} kanal kompleksinin üzerinde bulunan regülatör SUR alt birimi birçok farmakolojik özelliklere sahiptir. SUR alt birimi üç transmembran (TMD0, TMD1, TMD2) bölgeden oluşmuştur (78). SUR alt birimi üzerinde glibenklamid, glipizid gibi antidiabetik sulfanilüre grubu ilaçlar ve diazoksit gibi K⁺ kanal açıcıları için bağlayıcı bölgeler bulunmaktadır (79).

Sulfonilüre grubu ilaçlar pankreasın beta hücrelerinin yüzeyinde yer alan K_{ATP} kanallarına bağlanırlar. Sülfonilürelerin bu kanala bağlanmaları, hücre içinden hücre dışına doğru olan hiperpolarize edici K⁺ akımını engeller. Yani K_{ATP} kanallarını inhibe ederler. K⁺'nın hücre dışına çıkamaması hücre içerisindeki elektriksel potansiyeli, hücre dışına göre daha pozitif hale getirir ve hücre depolarize olur. Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarının açılmasına ve hücre içine giren Ca^{2+} moleküllerinin, granüller içerisinde depolanmış olan insülinin ekzositoz yolu ile hücre dışına çıkmasına yol açar (Şekil 9) (79).



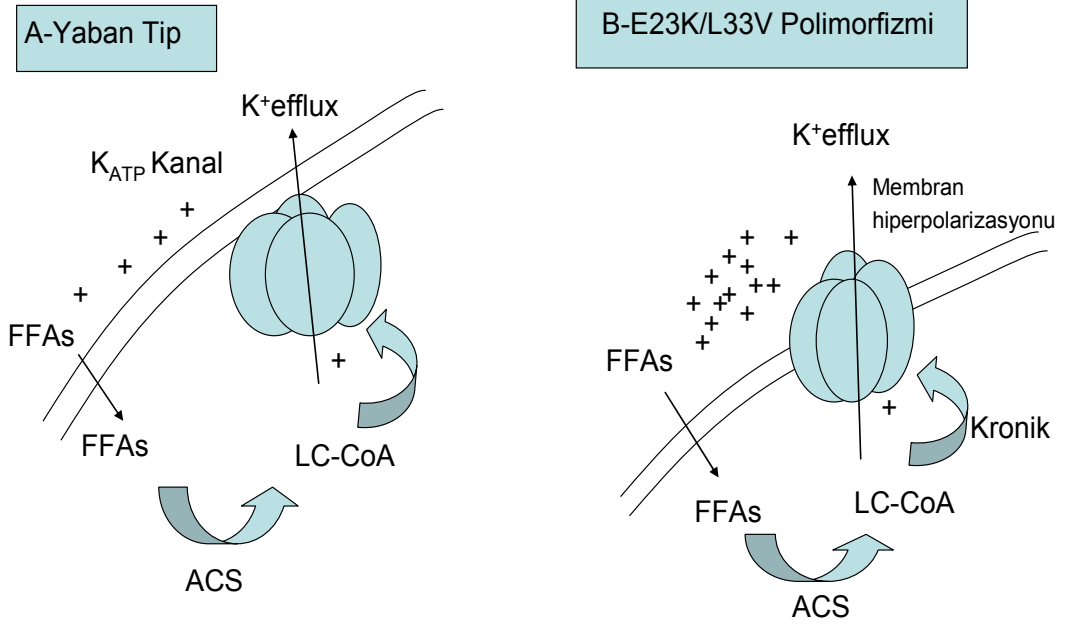
Şekil 9: Sulfanilüre grubu ilaçların K_{ATP} kanallarını etkilemesi (87)

2.4.4.3. Kir6.2 Alt Birimi

K_{ATP} kanalının Kir6.2 altbirimi M1 ve M2 denen iki transmembran bölge ve hücre içinde olan kısa N ve uzun C terminal bölümlerinden oluşmuştur (79).

K_{ATP} kanalı kir6.2 alt birimi pankreatik beta hücrelerinde, beyin, kalp, iskelet ve damar düz kasında bulunmuştur (88).

K_{ATP} kanallarının nükleotidlere duyarlı olmasına hem Kir6.2 hem de SUR1 alt biriminin katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. Kir6.2 alt birimi kanal komplekslerini ATP'ye duyarlı kılar. Oysa Mg ve ADP, alt birimi üzerinde bulunan ikinci NBF ile etkileşir ve bu şekilde ATP aracılı kanal kapanmasını antagonize eder. Ayrıca LC-CoAs ve PIP2 gibi anyonik lipid mediatörleri Kir6.2 alt birimi ile etkileşmek süreti ile K_{ATP} kanal aktivitesini arttırmaktadır (Şekil 10) (79).



Şekil 10: K_{ATP} kanal aktivitesi: Palmitol-Co A gibi uzun/ zincirli açıl Co A esterleri K_{ATP} kanallarını direk aktive eder. Uzun zincirli yağ asitlerinin sitoplazmada birikimi ile kronik olarak serbest yağ asitlerine maruz kalınır ve K_{ATP} kanal aktivitesi artar. Artan kanal aktivitesi insülin salgılanmasında bozulmalara yol açar. Bu durum hiperglisemi ve tip 2 DM gelişimine katkıda bulunur (79).

2.4.4.4. K_{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Polimorfizmi ve Hastalıklarla (KAH ve Diabet) İlişkisi

Glukoz homeostazı ve kardiovasküler tonus ile ilişkili çeşitli genetik hastalıkların K_{ATP} kanal alt birimlerindeki mutasyonlarla ilişkili olduğu bulunmuştur (85).

K_{ATP} kanalı SUR alt birimi, ATP-binding cassette (ABC) gen ailesine ait C alt familyasına aittir.

ABCC8 geni SUR1 alt birimini, ABCC9 geni SUR2 altbirimini kodlar. Kir6.x alt birimi ise potassium inwardly rectifying channel, subfamily J (KCNJ) gen ailesinden olup, KCNJ8 geni Kir6.1'i, KCNJ11 geni ise Kir6.2'yi kodlar (85).

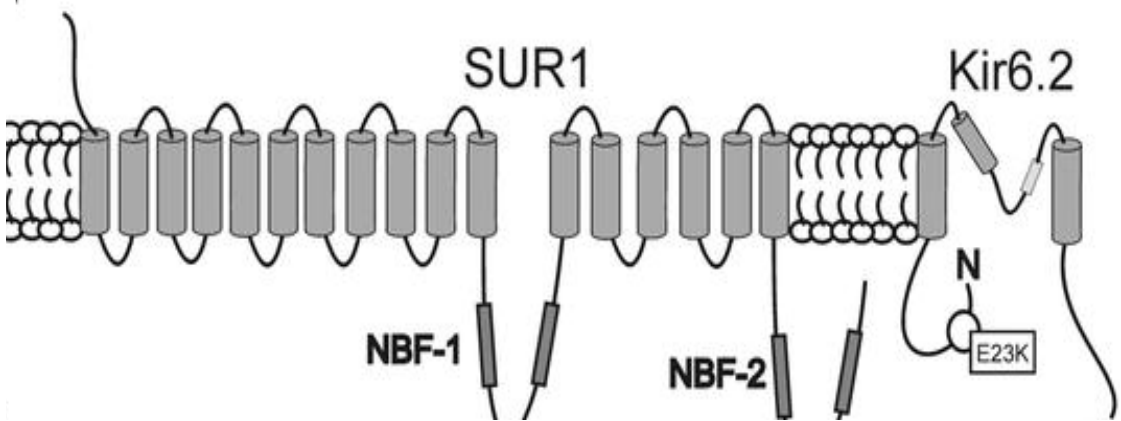
İnsanda Kir6.2 alt birimini kodlayan gen 11p15.1 kromozomu üzerinde lokalizedir ve 1173 baz çiftinden (bp) oluşmaktadır.

Kir6.2 alt biriminde 1 tanesi silent mutasyon olmak üzere 5 tip mutasyon tanımlanmıştır (89).

- 1- A190A, GCT den GCCye deęişim olan bir silent mutasyon,
- 2- E23K polimorfizmi, Glutamat23GAG-->Lizin23AAG,
- 3- L270V polimorfizmi, L sin270CTG-->Valin270GTG,
- 4- I337V polimorfizmi, iz l sin337ATC—>Valin337GTC
- 5- E10K polimorfizmi, Glutamat10GAG—>Lizin10AAG.

L270V, I337V polimorfizimleri sağlıklı ve tip2 diabetlilerde benzer sıklıklarda bulunmasına rağmen E23K polimorfizmi tip2 diabetiklerde yüksek sıklıkta bulunmuştur (79). E23K, N terminalinde diğerleri C terminalinde lokalizedir (90).

K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi, sitozolik proksimal N terminal (5') ucunda lokalize olan bir missens tek nükleotid polimorfizmi (SNP)'tir ve Glutamat (E) ile lizin (K) yer değiştirmiştir (Şekil 11) (79).



Şekil 11: K_{ATP} kanal Kir6.2 geni E23K polimorfizminin bulunduğu lokalizasyon (79)

E23K (G-A) varyantı, Kir6.2 sub nitinin N terminalinde missense SNP bulunmakta ve bu SNP rezidü akımında negatiften pozitif bir kaymaya neden olur. Bu değişim ATP duyarlılığını azaltmakta ve kanalın açık kalma süresini ve K^+ akımını arttırmakta ve bunun sonucunda da Ca^{+2} i e akımının azalmasına bağlı olarak hücresel membran hiperpolarizasyonu gerçekleşmektedir.

Yapılan birçok çalışmanın sonuçlarına göre K_{ATP} kanal Kir6.2 geni E23K polimorfizminin diabete yatkınlığı artırdığını göstermiştir.

Kafkas populasyonundan seçilen ve tip 2 diabeti olan hastalarda, K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi ile DM arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (90-92).

Kir6.2 altbirimi hem K^+ iyonlarına geçirgendir hem de ATP'ye duyarlıdır. Bu nedenle mutasyonları ATP'ye yanıt verirlikte kanalın duyarlılığını bozarak insülin sekresyonunu azaltır ve tip2 diabete zemin hazırlar (79). Böylece insülin sekrete eden ilaçların K_{ATP} kanallarının aktivasyonunu inhibe ederek diabet gelişimini engelleyeceği ileri sürülmektedir. Ancak diğer yandan bu ilaçların zıt etki olarak KAH riskine neden olabileceği de belirtilmiştir (9). Xiong ve ark. (9) tarafından, K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizminin doğrudan KAH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER

3.1.1.Kimyasal Maddeler

Proteinaz K (Sigma, ABD)

Taq DNA-Polimeraz (MBI Fermentas, Litvanya)

dNTPs (MBI Fermentas, Litvanya)

10XPCR Buffer (MgCl₂'siz) (Sigma, ABD)

ID: Foward Primer (Bio Basic Inc., İontek, İstanbul, Türkiye)

ID: Revers Primer (Bio Basic Inc., İontek, İstanbul, Türkiye)

BanII enzim (Fermentas, Litvanya)

Marker 100 bp (Fermentas, Litvanya)

Agaroz plus (Prona, İspanya)

Agaroz Gama Micropor (Prono, İspanya)

Orange G (Merck, Damstandt, Almanya)

Sodyumdodesilsülfat (SDS) (Sigma, ABD)

Etanol (Merck, Damstadt, Almanya)

Testosteron propiyonat (Organon, Ankara, Türkiye)

KCl (Merck, Darmstadt, Almanya)

PGF_{2α} (SERVA Electrophoresis GmbH Heidelberg, Almanya)

Tris EDTA Buffer (Sigma, ABD)

Amonyum asetat (Sigma, ABD)

Etidyum Bromür (AppliChem, Darmstadt, Almanya)

Gliserol (Merck, Damstandt, Almanya)

3.1.2. Çözeltiler

10XPCR Buffer Tamponu.....100 Mm Trizma HCl: pH 8.3

500 mM KCl

TBE tamponu..... Tris baz 108g (0.89M)

	Borik asit 55g (0.88M)
	Na ₂ EDTA, 2H ₂ O 8.3 g (0.02M)
	pH=8.3
dNTP _s çözeltisi.....	d ATP 12.5µl
	d CTP 12.5µl
	d GTP 12.5µl
	d TTP 12.5µl
	450 µl distile su
NLB (Nuclei lysis buffer).....	NaCl (23.4 g)
	Na ₂ EDTA(0.7 g)
	Tris HCl (1.576 g)
SDS çözeltisi.....	Sodyumdodesilsülfat (200g/l) PH 7.2
Oranj-G çözeltisi.....	4.5 ml 1X TBE
	5.5 ml gliserol
	Orange g 0.01 g
Krebs-Henseleit solüsyonu.....	NaCl (118)
	KCl(4.7)
	CaCl ₂ (2.5)
	KH ₂ PO ₄ (1.2)
	MgSO ₄ (1.2)
	Glukoz (10)
	NaHCO ₃ (25mM)
	Ph7.4
Etidyum bromür çözeltisi.....	10 mg/ml

3.1.3. Araçlar

Termal Cycler (G-Strom, ABD)

Elektroforez Tankı (E-C Apparatus Corporation, NewYork, ABD)

Elektroforez güç kaynağı (Bio Rad Power Pac 1000, California, ABD)

İnkübatör (Biometra, Göttingen, Almanya)

Soğutmalı santrifüj (Eppendorf, Hamburg, Almanya)

Video-grafik Printer (Sony, Koeln, Japonya)
 Görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa)
 Mikropipet takımı (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
 Varispenser Plus (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
 Hassas terazi (Radwag, ABD)
 Mikrodalga fırın (Bosch, Almanya)
 Manyetik karıştırıcı (Labinco, Hollanda)
 Vorteks (Labinco, Hollanda)
 Dipfriz (Arçelik, İstanbul)

3.2. Yöntem

3.2.1. Gönüllülerin Demografik Özellikleri

Bu çalışmaya, Sani Konukoğlu Tıp Merkezine (Gaziantep, Türkiye) başvuran koroner anjiyografisi yapılmış ve anjiyografi sonucunda bypass ameliyatına karar verilmiş toplam 340 hasta (257 erkek, 83 kadın) alındı. Kontrol grubu olarak da, aynı hastaneye başvuran koroner anjiyografisi yapılmış ve anjiyografi sonucu koroner arterlerinde herhangi bir tıkanıklık saptanmamış 91 (46 kadın, 45 erkek) birey alındı (Tablo 3). Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'dan onay alınarak yapıldı (10-2007/58). Bu hastaların yaş ortalaması 60.5 ± 9.1 , yaş ortancası 60 idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 55.6 ± 9.4 , yaş ortancası ise 55 olarak belirlendi (Tablo 3).

Her hastadan steril koşullarda yaklaşık 10 ml venöz kan alınıp bir bölümü bazı biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere ayrıldı (kan üre azotu (BUN), kreatin, total kolesterol, HDL, LDL, TG, AST, ALT). Kanın bir kısmı insülin, total testosteron, serbest testosteron, östradiol ve ürik asit düzeylerine bakılmak üzere ayrı bir biyokimya tüpüne alındı ve GAMA Tıp Merkezine (Gaziantep, Türkiye) gönderildi. Burada, 10 ml'lik jelli tüpe alınan kanlar 2500 rpm'de 10 dk. Santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar plastik serum tüpüne konularak çalışmaya hazır hale getirildi. Ürik asit, Prestij 24 marka biyokimya otoanalizöründe enzimatik metotla (Ürikaz) çalışan spinreact marka kit kullanılarak çalışıldı. İnsülin, Immunotech marka kit kullanılarak IRMA yöntemiyle çalışıldı. Total testosteron, DSL marka kit kullanılarak RIA yöntemiyle çalışıldı. Serbest testosteron, Biosource marka kit kullanılarak RIA

yöntemiyle çalışıldı. Östradiol, Roche marka kit kullanılarak kemiluminesans yöntemiyle çalışan Elecsys 2010 hormon otoanalizöründe çalışıldı. Yaklaşık 5ml kan ise EDTA'lı tüplere konularak DNA izolasyonu yapılmak üzere +4 derecede buzdolabında saklandı. Uygun koşullar altında laboratuvarımıza getirilen EDTA'lı kanlardan DNA' lar tuz çöktürme yöntemi ile izole edildi. Yaklaşık 5 µl kadar DNA, AR geni CAG tekrar polimorfizmi bakılmak üzere İstanbul'da bulunan İontek firmasına gönderildi.

AR geni CAG tekrar polimorfizmi Gene-Scan analiziyle saptandı. K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi ise bölümümüz laboratuvarında değerlendirildi.

İn vitro testosteron deneyleri için by pass cerrahisi sırasında çıkarılan İMA segmentlerinin yaklaşık olarak 2-2.5 cm'si Krebs-Henseleit solusyonuna konularak aynı gün içerisinde soğuk zincir koşullarında GATA Farmakoloji Anabilim Dalı'na gönderildi ve burada damarların in vitro testosteron yanıtlarına bakıldı.

Tablo 3: Gönüllülerin dağılımı

	N	KADIN	ERKEK
KAH	340	83	257
KONTROL	91	46	45

3.2.2. DNA İzolasyonu

Yaklaşık 5ml EDTA'lı kan steril koşullarda 10 ml'lik polipropilen tüplere alındı. Üzerlerine yaklaşık 10 ml soğuk distile su eklendi. Ardından her biri vortekslenip 10 dk 2000 devirde santrifüj edildi. Üste kalan süpernatant pastör pipeti ile alınıp atıldı. Tüplere yeniden 10 cc distile su konulup vortekslenildi. 2000 devirde 10 dak. 2. bir santrifüj uygulandı. Üstte kalan süpernatant pastör pipeti ile alınıp atıldı ve pelet üzerine 1.5 ml NLB, 100 µl proteinaz K, 100 µl SDS eklendi. Tüpler vortekslenip bir gece 37 °C de inkübe edildi. Ertesi gün, her tüpe 1 ml amonyum asetat eklendi. Vortekslenip oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Tüpler 15 dk 3500 devirde santrifüj edildikten sonra süpernatant pastör pipeti ile alınarak başka bir 10 ml'lik propilen tüpe aktarıldı.

Süpernatant üzerine iki katı hacimde %95 lik alkol eklendi ve hafifçe alt üst edilerek bu işlem DNA presipite edilene kadar sürdürüldü.

DNA otomatik pipet ucu ile alınarak, içerisinde 100 µl'lik tris EDTA solusyonu bulunan 2.5 ml'lik eppendorf tüplere konuldu ve genotipleme yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.3. K_{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Polimorfizmi Genotiplemesi

3.2.3.1. K_{ATP} Kanalı Kir6.2 geni E23K Polimorfizmi PCR protokolü

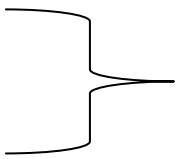
K⁺ kanal Kir6.2 gen E23K polimorfizminin saptanması için uygulanan PCR protokolü Xiong ve ark. (9) tarafından belirtilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak uygulandı.

Her bir örnek için PCR karışımı;

- 1- 10x tampon (2.5 µl)
- 2- MgCl₂ (1.5 µl)
- 3- dNTP (2.7 µl)
- 4- Forward primer: 5'-GACTCTGCAGTGAGGCCCTA-3' = (0.5 µl)
- 5- Reverse primer: 5'-AGAAAAGGAAGGCAGACGAGAAG-3' = (0.5 µl)
- 6- Tag polimeraz (0.1 µl)
- 7- Soğuk distile su (17.2 µl) konularak hazırlandı.

25 µl'lik karışımlar 0.2ml kuyucuklu PCR plaklarına paylaştırılarak üzerlerine her bir hastadan elde edilen DNA'lardan 1'er µl eklendi. Plaklar Thermal Cycler cihazına konularak aşağıda belirtilen döngüleri uygulandı.

PCR için Thermal-Cycler reaksiyonu

95 °C	5dk.		35 döngü
94 °C	30 sn.		
60 °C	1 dk.		
72 °C	30 sn.		
72 °C	10 dk.		

3.2.3.2. PCR Ürünlerinin %2' lik Agaroz Jel Kullanılarak Görüntülenmesi

Bir behere aktarılan 150 ml 1xTBE tamponuna 3 g normal agaroz ilave edildi. Mikrodalga fırında 1-2 dakika tutularak çözünmesi sağlandı.

Ardından etidyum bromür eklenip buz dolabında 1-2 saat tutuldu. PCR ürünü yarısı alınarak üzerlerine 10'ar µl Oranj-G eklendi. Örnekler agaroz jelde kuyucuklara konuldu. Bantları belirlemek için 100 bp DNA Markır kullanıldı. 120 volt akımda 20 dk yürütüldü. UV görüntüleme yardımıyla DNA'ların fotoğrafları çekildi.

3.2.3.3. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Çoğaltılan PCR ürünlerinin görüntülenmesinin ardından arta kalan 12.5 PCR 12.5µl RFLP karışımı vortekslenip arta kalan 12.5 µl PCR ürünlerinin üzerine eklendi. 4 saat 37 °C 'de inkübe edildi ve kesim için aşağıdaki belirtilen protokol uygulandı.

Her bir örnek için RFLP (Tablo 4);

- 2.5 µl Buffer Tango
- 1 µl Eco 241 Enzim
- 9 µl Distile Su

Tablo 4: RFLP'de Kullanılan Enzim

Enzim	Tanıma Bölgesi	Kaynak
Eco 241	5'GGGCC↓C 3'GAGCT↓C	Escherichia coli

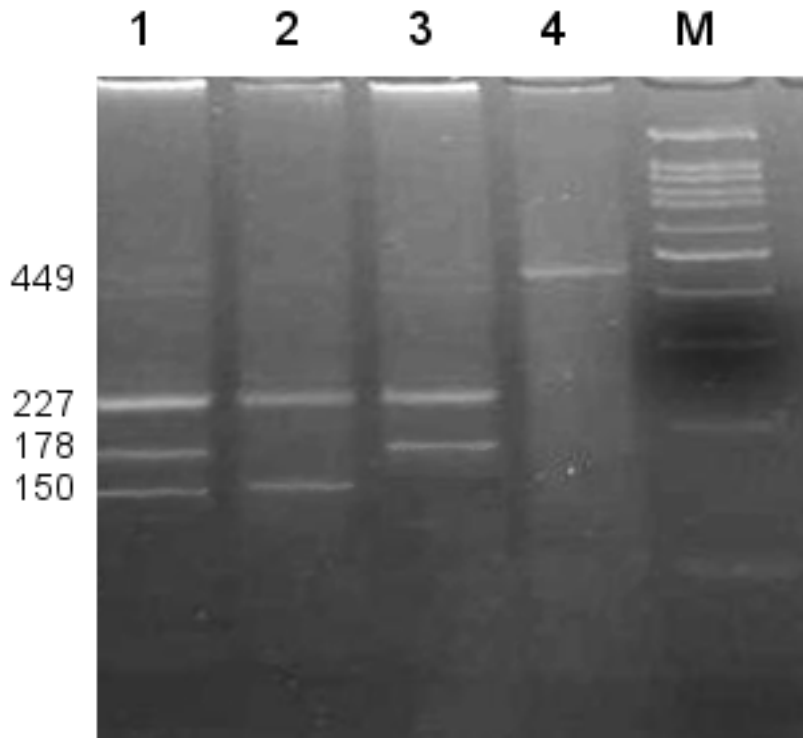
3.2.3.4. RFLP Yöntemi İçin Agaroz Jel Hazırlanması:

RFLP ile elde edilen ürünler agaroz jel kullanılarak yürütüldü. Bir behere aktarılan 150 ml 1xTBE tamponuna 4.5 gr (1.5 g normal agaroz, 3 g nusieve agaroz) ilave edildi. Mikrodalga fırında 1-2 dakika tutularak çözünmesi sağlandı. Ardından etidyum bromür eklenip buz dolabında 1-2 saat tutuldu.

RFLP ürününe 10'ar µl Oranj-G eklendi. Örnekler agaroz jelde kuyucuklara konuldu. Bantları belirlemek için 100 bp DNA Markır kullanıldı ve 80 volt akımda 90

dk yürütüldü. Fragmanlar elektroforez tankında büyüklüklerine göre ayrıştırıldı ve UV ışığında görüntüledi.

UV ışığı altında Ban II ile 3 farklı genotip (GG, GA ve AA) tanımlandı. Homozigot genotip (mutant) AA; 227 ve 178 bz, homozigot (yabanıl) GG; 227 ve 150 bz ve heterozigot GA; ise 227, 178 ve 150 bölgesinde tespit edilip sonuçlar kaydedildi (Şekil 12).



Şekil 12: DNA bantlarının görünümü: PCR sonucunda çıkan DNA'ların kesim enzimleri kullanılarak elektroforez tankında yürütüldükten sonra görüntülenmesi. 227,178 ve 150 bz hizasında çıkan DNA bantları heterozigot 1: GA, 2: 227 ve 150 bz olan GG (yaban tip), 3: 227 ve 178 bz ise mutant AA genotipi. 4: PCR ürünü. M: Markır(Gene Ruler 100bz DNA Ladder).

3.2.4. AR Geni CAG Tekrar Polimorfizmi Tayini

Çalışmada kullanılan primerler Alevizaki ark. (4) makalesinden faydalanılarak tespit edildi. Bu primerlerden 1F'in 5'ucu FAM işaretli olarak sentezlendi.

Bu primerler kullanılarak yapılan PCR reaksiyonu:

DSPM	12.5 µl
AR-1F (5 uM)	2.5 µl

AR-2R (5uM)	2.5 µl
DNA	2.5 µl
Distile su	5.0 µl
Toplam	25.0 µl

PCR için hazırlanan ürünlere aşağıdaki protokol uygulandı.

95 C	15 dk.		
95 C	45 sn.	}	35 döngü
56 C	45 sn.		
72 C	45 sn.		
72 C	10 dk.		

PCR sonrası ürünler ABI310 cihazına yüklendi ve Gene Scan yazılımı ile analiz edildi. Kapiler elektroforezde elde edilen uzunluk ile gerçek uzunluk arasında oluşabilecek farklılıkları ortadan kaldırmak amacıyla 3 örnek, 2 yönlü dizi analizine tabi tutuldu. Dizi analizi sonrası elde edilen gerçek fragman uzunlukları ile Gene-Scan'den elde edilen uzunluklar bu 3 örnek için karşılaştırıldı ve normalizasyon için bir formül elde edildi. Bu formül kullanılarak tüm örneklerin normalize edilerek uzunluk değerleri hesaplandı. Toplam hastaların 310'unda analiz sonucu değerlendirildi. Kullanılan formül; Grafide gözlenen eğride en yüksek değer alındı ve bu değerlerden 10 ve ardından 187 (Ort. Alınan standart değer)'den çıkarıldı. Çıkan değer 3 sayısına bölündü. Sonuç baz tekrarı olarak kaydedildi.

3.2.5. İn vitro çalışma

Koroner by pass operasyonu uygulanan toplam 63 hastadan (14 kadın, 49 erkek) yaklaşık olarak 0.5 cm'lik İMA segmenti elde edildi.

Çıkarılan damar segmentleri, soğuk (+ 4 °C) Krebs Henseleit Solusyonu (118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄, 10 mM glukoz, ve 25 mM NaHCO₃) içerisinde ivedi olarak GATA Farmakoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Burada, dokular ulaşır ulaşmaz çevre yağ ve bağ dokularından temizlendi.

Ortaya çıkan damar dokusu 3 mm'lik eşit parçalara bölünerek halka şeklinde damar segmentleri elde edildi. Her bir segmentin içerisinde horizontal düzlemde L askı telleri geçirilerek, alt ucu sabit kancaya takılarak ve üst ucu ise oluşan gerilimin ölçülmesi amacıyla izometrik transdüsa bağlanarak 10 ml'lik organ banyolarına asılmaları sağlandı.

37 °C'de ve 7.4 pH'da Krebs Henseleit solusyonu içeren banyolarda bulunan dokular %95 O₂ ve %5 CO₂ ile sürekli gazlandırılarak 1.5 saat boyunca her 15 dakikada bir solusyon değiştirilerek dengelenme periyodunda bekletildiler. Bu süre içerisinde dokulara 1,5 gramlık istirahat gerilimi uygulandı. Dengelenme dönemi sonrasında dokuların canlılığı 45mM KCl ile test edildi ve 1 gram üzerinde kasılma gösteren dokular çalışmaya dahil edildi (13 kadın, 47 erkek). Çalışmaya dahil edilen dokular her 10 dakikada bir yıkanarak 30 dakikalık ilave bir dengelenme dönemine daha maruz bırakıldıktan sonra aşağıdaki deney protokollerine geçildi.

Deney Protokolleri:

Ön deney ve deney protokolü uygulandı.

1- Ön-deney olarak aşağıdaki her iki protokole başlamadan önce “zaman” ve “vehikül” kontrol deneyleri sınırlı sayıda preparatlar kullanılarak yapıldı.

2- 45 mM KCl ile uyarılmış (ön kasılma uygulanmış) dokularda kümülatif testosteron (10^{-7} - 3×10^{-4} M) uygulamasının yanıtları alındı.

3- PGF_{2α} (10^{-6} M) ile uyarılmış (ön kasılma uygulanmış) dokularda kümülatif testosteron (10^{-7} - 3×10^{-4} M) uygulamasının yanıtları alındı. In vitro olarak damar gerilimleri üzerinde oluşturulan kasılma ve gevşemeler, banyo setine bağlı bir veri alma ve analiz sistemi ile değerlendirildi. Oluşan değişimler izometrik olarak force displacement transducer (model FT03, Grass Instruments; Astro-Med Inc., West Warwick, RI, USA) ile algılandı.

Sinyaller multichannel recorder polygraph (model P122, Grass Instruments; Astro-Med Inc., West Warwick, RI, USA) yardımıyla amplifiye edilerek kayıt sistemine (Poliview, version 2.0, Grass Instruments; Astro-Med Inc., West Warwick, RI, USA) alındı ve bu veriler analiz edilerek değerlendirmeler yapıldı.

Deneylerde kullanılan KCl'in çözünmesi için distile su; testosteron propiyanat için de etil alkol kullanılmıştır.

3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Verilerin kaydı ve istatistiksel analizlerde SPSS 13.0 istatistiksel programı kullanıldı. İki grup arasında eşleşmiş (paired) veri için istatistiksel anlamlılık, normal dağılımlarda *Student t* testi. ile değerlendirildi. Testlerin homojenitesi Levene testi uygulanarak tespit edildi. Sonuçlar bu yüzdelerin aritmetik ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması olarak ifade edildi. Çoklu gruplar arasındaki karşılaştırma tek yönlü ANOVA testini takiben post hoc çoklu karşılaştırma testlerinden olan Scheffe ile yapıldı. $P < 0.05$ aradaki farkın anlamlılığı için yeterli kabul edildi. Niteliksel olarak değerlendirilen 2 bağımsız grubun karşılaştırılmasında χ^2 testi kullanıldı. Bağımsız ölçümlerin karşılaştırılmasında ise Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. KAH Grubunun Cinsiyet ve Yaşlarına Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması

Toplam 340 KAH'lı bireyin klinik ve biyokimyasal parametreleri ile yaş ve cinsiyetleri arasında bir korelasyon olup olmadığına bakıldı.

4.1.1. KAH Grubunun Cinsiyetlerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması

83'ü kadın, 257'si erkek toplam 340 KAH'lı bireyin serum östradiol, serbest ve total testosteron, total kolesterol, insülin, ürik asit, kreatin, karaciğer enzimleri (SGOT ve SGPT) ve klinik verilerden olan KOAH, DM, sigara kullanımı ve HT arasında istatistiksel bakımdan önemli derecede ilişki olduğu gözlemlendi (Tablo 5).

Tablo 5: KAH grubunun cinsiyetlerine göre klinik ve biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması

	Erkek (n:257)	Kadın (n:83)	p
Yaş	60.1±9.14	61.6±9.31	0.2
Kilo	77.4±10.9	78.9±11.4	0.2
VKİ	29.1±3.6	29.7±4.2	0.2
Diastol	72.6±12.4	73.47±12.68	0.6
Sistol	121.40±15.36	125.41±17.99	0.06
Üre	17.19±6.21	15.69±6.33	0.06
Kreatin	0.98±0.22	0.76±0.25	<0.001
T. Kolesterol	190.61±45.65	203.66±37.31	0.05
HDL	36.45±28.7	37.71±9.03	0.7
LDL	124.86±39.95	133.24±37.30	0.1
SGOT	29.40±25.11	25.23±10.14	0.03
SGPT	31.06±22.25	23.83±13.29	0.001
TG	172.70±110.19	172.06±93.93	0.9
Östradiol	31.08±23.07	51.75±50.84	0.001
İnsülin	156.58±12526	165.75±40858	0.05
S. Testosteron	5.92±2.87	2.62±1.35	<0.001
T. Testosteron	2.38±1.54	1.0±0.54	<0.001
Ürik Asit	5.33±1.40	4.71±1.44	0.001
Koroner Yüzde	220.24±59.32	216.56±63.71	0.7
MI %(-/+)	65.0/35.0	74.7/25.3	*0.1
KOAH %(-/+)	83.7/16.3	100/0	*<0.001
DM %(-/+)	77.8/22.2	61.4/38.6	*0.003
Sigara%(-/+)	65.4/34.6	94/6	*<0.001
HT %(-/+)	53.3/46.7	37/62.7	*0.01

n,birey sayısı. Veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde *Student t* testi kullanıldı. * ile işaretli olanlarda χ^2 testi kullanıldı.

4.1.2 KAH Grubunun Yaşlarına Göre Klinik ve Biyokimyasal Verilerinin Karşılaştırılması

Hastaların yaşları ile serum TG, SGPT, kreatin düzeyleri ve sigara kullanımı ile anlamlı korelasyon bulundu (Tablo 6).

Tablo 6: KAH bulunan hastaların yaşları ile istatistiksel bakımdan anlamlı gözlenen klinik ve biyokimyasal veriler

Parametreler	Yaş	
	r	p
TG	-.179	0.01
Kreatin	.123	0.03
SGPT	-.233	<0.001
Sigara Kullanımı(-/+)	-,290	*<0.001

İstatistiksel değerlendirmede Pearson korelasyon analizi ve *Student t testi (ortalama değer±standart sapma) kullanıldı. r: Pearson korelasyon katsayısıdır.

4.2. KAH Grubunun VKİ ile Serum Androjen Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hastaların VKİ ile total testosteron düzeyleri arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Diğer serum androjen düzeyleri ile VKİ arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanmadı (Tablo 7).

Tablo 7: KAH bulunan hastaların VKİ ile serum androjen düzeylerinin karşılaştırılması

Parametreler	VKİ	
	r	p
Total Testosteron	-,143	0.01
Serbest Testosteron	-,098	0.08
Östradiol	.032	0.5

İstatistiksel değerlendirmede Pearson korelasyon analizi kullanıldı. r: Pearson korelasyon katsayısıdır.

4.3. KAH Grubunun Serum Serbest Testosteron Düzeyleri ile T. Kolesterol, HDL, LDL Ve TG Düzeylerinin Karşılaştırılması

KAH bulunan hastaların serbest testosteron düzeyleri ile total kolesterol düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlemlendi ($p:0.005$, $-r:0.184$). Diğer değerler arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir ilişki gözlenmedi (Tablo 8).

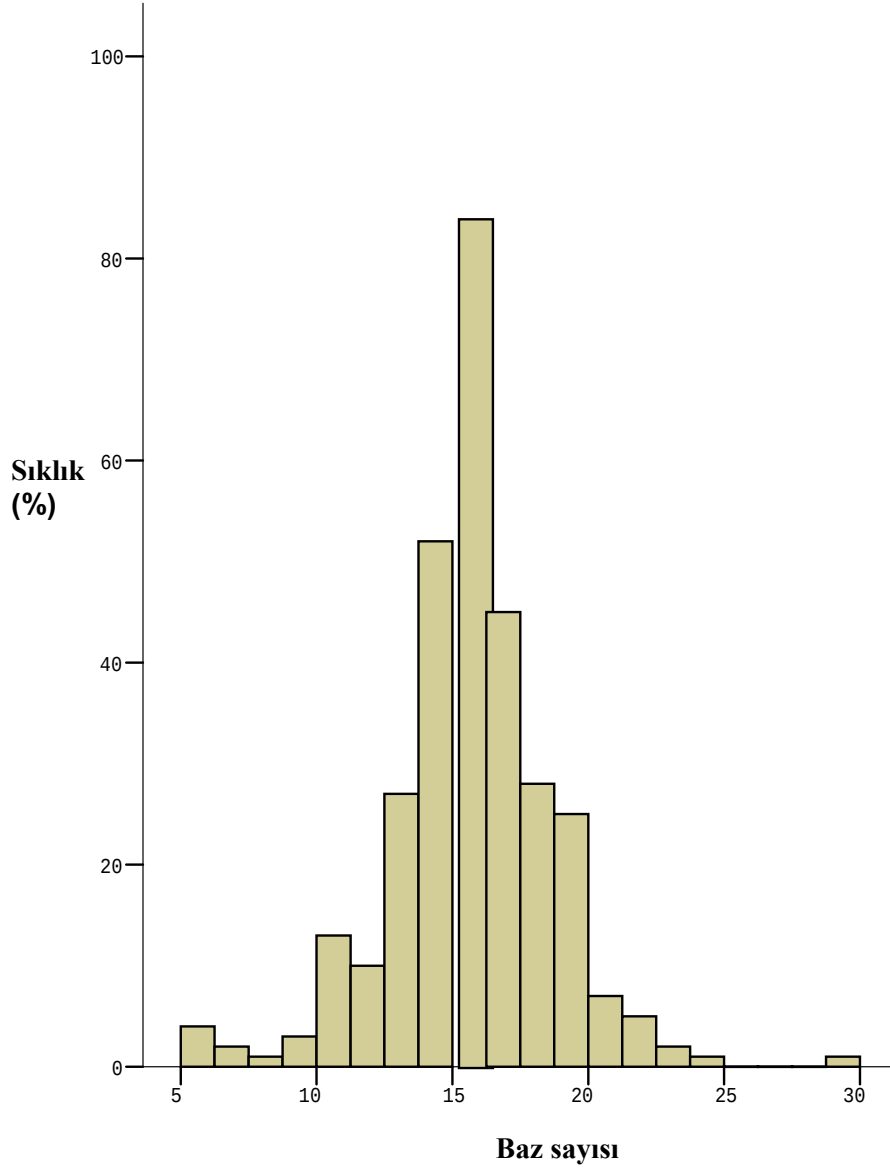
Tablo 8: KAH grubunun serum serbest testosteron düzeyleri ile T. Kolesterol, HDL, LDL ve TG düzeyleri ile karşılaştırılması

Parametreler	Serbest Testosteron	
	r	p
T. Kolesterol	-.184	0.005
HDL	-.069	0.3
LDL	-.053	0.3
TG	-.093	0.2

İstatistiksel değerlendirmede Pearson korelasyon analizi kullanıldı. r: Pearson korelasyon katsayısıdır.

4.4. KAH Grubunda AR Geni CAG Tekrar Uzunluklarının Karşılaştırılması

4.4.1. AR Geni CAG Tekrar Uzunluklarının Frekansı

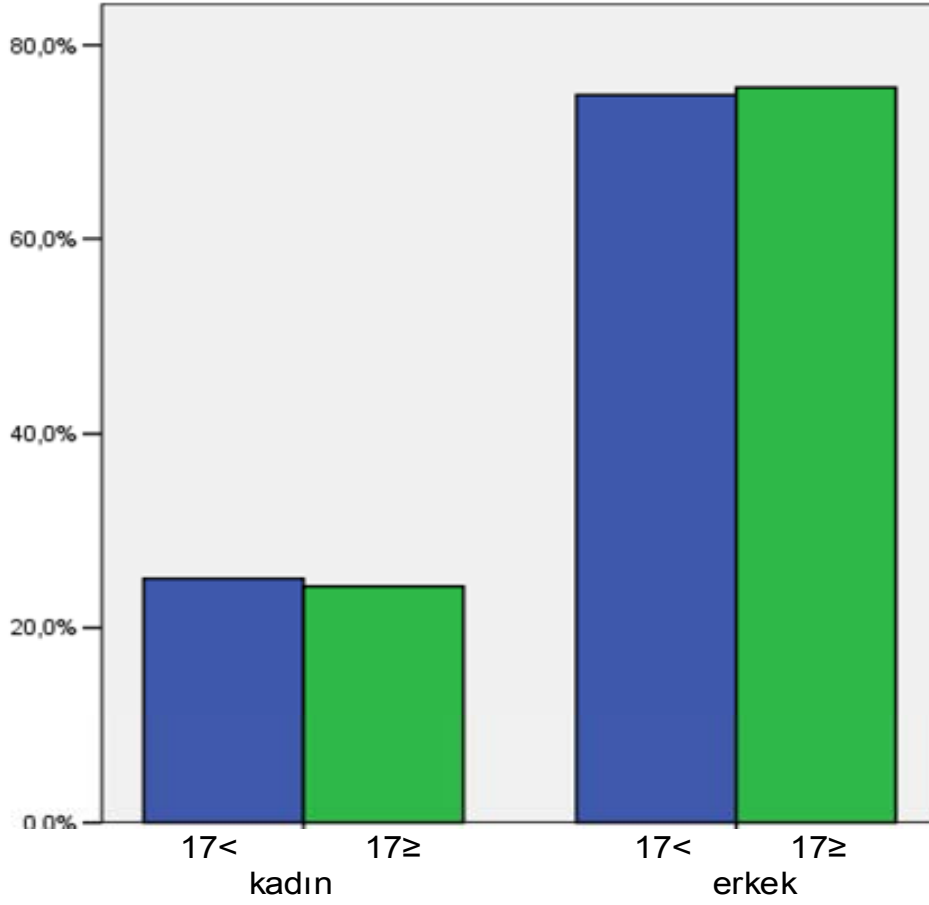


Şekil 13: KAH grubunda AR geni CAG tekrar sayısının dağılımı

KAH grubunun AR geni CAG tekrar sayılarının ortalama değeri: 15.52 ± 3.01 (ortalama $\pm$ standart sapma) bulundu. Bu hastalarda ortanca değer 16 idi (Şekil 16).

Alevizaki ve ark. (4) makalesi referans alınarak CAG tekrar uzunluklarının quartil (çeyrek) değerleri hesaplanmış ve üst çeyrek değer olarak ≥ 17 alındı. Bu sonuçlara göre

≥ 17 CAG tekrara sahip hastalar uzun, $CAG < 17$ olan hastalar ise kısa tekrar sayılı olarak belirlendi (Şekil 14).



Şekil 14: Cinsiyet dağılımına göre AR geni CAG kısa ve uzun tekrar sayılarının karşılaştırılması

4.4.2. AR Geni CAG Tekrar Sayılarının Uzunlukları ile Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

Kısa AR geni CAG tekrarı olan hasta grubunun uzun AR geni CAG tekrarına sahip hasta grubuna göre yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. AR geni CAG tekrar uzunlukları ile diğer parametreler arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir anlamlılık bulunmadı (Tablo 9).

Tablo 9: AR geni CAG tekrar uzunlukları ile klinik ve biyokimyasal verilerin karşılaştırılması

Klinik Parametreler	AR<17(n:195)	AR≥17(n:115)	p
Yaş	59.37±8.97	62.64±8.85	0.002
VKİ	29.08±3.74	29.60±4.11	0.2
Diastol	72.09±12.04	74.90±12.78	0.06
Sistol	121.56±15.90	124.39±16.35	0.1
BUN	16.73±6.47	17.08±5.95	0.6
Kreatin	0.91±0.23	0.94±0.25	0.4
T.Kolesterol	195.41±44.89	190.82±42.26	0.4
HDL	35.72±9.30	38.91±38.24	0.4
LDL	125.19±41.48	123.68±37.31	0.3
TG	177.94±118.01	161.56±86.93	0.3
SGOT	28.22±22.37	26.32±12.90	0.4
SGPT	30.22±21.82	26.90±15.61	0.1
Östradiol	35.90±36.60	31.70±27.61	0.8
İnsülin	14.74±24.21	10.65±16.03	0.08
Serbest Testosteron	5.03 ±2.77	5.11±3.17	0.8
Total Testosteron	2.02±1.37	2.12±1.71	0.5
Ürik Asit	5.13±1.45	5.24±1.37	0.4
Koroner Yüzde	225.20±58.68	217.47±61.04	0.3
Cinsiyet %(kadın/erkek)	25.1/74.9	24.3/75.7	*0.8
DM %(-/+)	73.8/26.2	73.9/26.1	*0.9
HT %(-/+)	50.8/49.2	47.8/52.2	*0.6
Sigara İçimi %(-/+)	74.4/25.6	71.3/28.7	*0.5
MI%(-/+)	70.3/29.7	63.5/36.5	*0.2
KOAH %(-/+)	89.7/10.3	83.5/16.5	*0.1

n,birey sayısı. Veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde *Student t* testi kullanıldı. * ile işaretli olanlarda χ^2 testi kullanıldı.

4.5. Testosteron EC₅₀ Değerlerinin AR Geni CAG Tekrar Uzunluk ve K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Polimorfizimleri ile Karşılaştırılması

4.5.1. AR Geni CAG Tekrar Uzunlukları ile Testosteronun EC₅₀ Değerleri

Testosteronun EC₅₀ değerleri ile AR gen CAG tekrar uzunlukları arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir anlamlılık bulunmadı (Tablo10).

Tablo 10: AR geni CAG tekrar uzunlukları ile testosteronun EC₅₀ değerleri arasındaki ilişki

	AR<17 (n:39)	AR≥17 (n:21)	p
-logEC ₅₀	4.41±0.80	4.57±0.69	0.4

n: birey sayısı; veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde *Student t* testi kullanıldı.

4.5.2. K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Genotipleri ile Testosteronun EC₅₀ Değerleri

Testosteronun EC₅₀ değerleri ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Tablo 11).

Tablo 11: K_{ATP} kanal Kir_{6.2} gen E23K genotipleri ile testosteron EC₅₀ değerleri arasındaki ilişki

	GG	GA+AA	p
-logEC ₅₀	4.55±0.60	4.39±0.85	0.4

Veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. *Student t* testi kullanıldı.

4.5.3. Testosteronun EC₅₀ Değerleri İle KAH Grubunun Klinik Parametrelerinin Karşılaştırılması

Testosteronun EC₅₀ değerleri ile KAH grubunun klinik ve biyokimyasal verileri karşılaştırıldığında, VKİ ile testosteronun EC₅₀ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu gözlenirken diğer parametreler ile her hangi bir ilişki saptanmadı (Tablo 12).

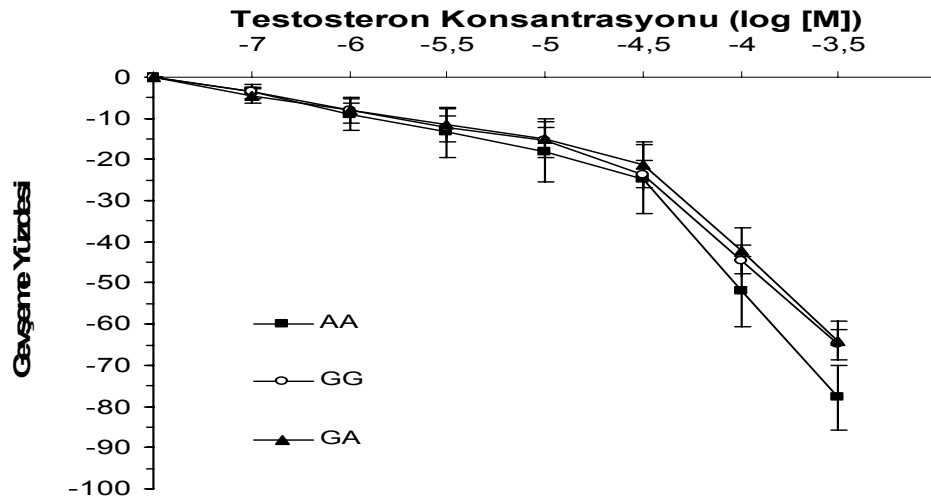
Tablo 12: Testosteronun EC₅₀ değerleri ile klinik parametreler arasındaki korelasyon

Parametreler	r	EC ₅₀	p
Yaş	,003		0.9
VKI	,338		0.008
Diastol	,073		0.5
Sistol	-,002		0.9
BUN	-,079		0.5
Kreatin	-,241		0.08
T.Kolesterol	-,001		0.9
HDL	-,327		0.08
LDL	-,015		0.9
TG	,179		0.3
SGOT	,037		0.7
SGPT	,020		0.8
Östrojen	,198		0.1
İnsülin	-,058		0.6
S.testosteron	,069		0.5
T.testosteron	,077		0.5
Ürik asit	,042		0.7

Verilerin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı. r: Pearson korelasyon katsayısıdır.

4.6. Testosterona Bağlı Gevşeme Yanıtlarının K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Polimorfizimleri ve AR Geni CAG Tekrar Uzunluk Polimorfizimleri ile Karşılaştırılması

Çeşitli konsantrasyonlardaki testosteronun İMA damarlarında oluşturduğu gevşeme yanıtları ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Şekil 15).



Şekil 15: Testosteronun verilen konsantrasyonlarda İMA damarlarında yaptığı gevşeme yanıtlarının üç farklı genotip (AA, GA, GG) arasında karşılaştırılması.

AR geni CAG tekrar uzunlukları < 17 kısa tekrar ve ≥ 17 uzun tekrar sayıları ile testosteronun 10^{-7} , 10^{-6} , $10^{-5.5}$, 10^{-5} , $10^{-4.5}$, 10^{-4} , $10^{-3.5}$ M konsantrasyonlarda İMA damarlarında oluşturduğu gevşeme yanıtları karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13: Testosterona bağlı gevşeme yanıtlarının AR Geni CAG Kısa ve Uzun Tekrar Sayıları ile Karşılaştırılması

Testosteronun Molar

Konsantrasyonları	AR<17 (n:39)	AR≥17 (n:21)	p
10^{-7}	4.26±7.60	3.24±6.86	0.6
10^{-6}	8.21±13.55	8.38±12.36	0.9
$10^{-5.5}$	11.29±17.91	13.12±16.61	0.7
10^{-5}	14.36±21.82	16.9±19.41	0.6
$10^{-4.5}$	20.40±24.87	25.01±23.07	0.4
10^{-4}	42.33±26.60	46.98±21.79	0.4
$10^{-3.5}$	65.96±24.66	65.31±17.57	0.9

n,birey sayısı, veriler $-\log$ değer olarak ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. Verilerin değerlendirilmesinde *Student t* testi kullanıldı.

4.7. K_{ATP} Kanal Kir6.2 Geni E23K Genotipleri ile Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotipleri (GG, GA+ AA) ile klinik ve biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı ve KOAH ile istatistiksel bakımdan anlamlılık tespit edildi (%95CI (1.17-5.88), OR=2.63, p=0.01) ancak, diğer veriler arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi (Tablo 14).

Tablo 14: K_{ATP} kanal E23K genotipleri ile klinik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

Parametreler	GG(n=122)	GA+AA(n=218)	p
Yaş	60.49±9.05	60.55±9.28	0.9
VKİ	28.97±3.74	29.47±3.82	0.2
Diastol	74.10±12.91	72.08±12.21	0.1
Sistol	121.16±15.52	123.04±16.41	0.3
BUN	16.64±5.02	16.94±6.88	0.6
Kreatin	0.92±0.22	0.93±0.25	0.7
T. Kolesterol	191.26±42.60	195.08±45.12	0.5
HDL	39.92±39.75	35.05±8.93	0.2
LDL	129.06±38.91	125.56±39.79	0.4
TG	158.41±69.70	180.82±122.06	0.1
SGOT	30.65±23.44	27.11±21.91	0.1
SGPT	31.10±21.35	28.34±20.29	0.2
Östradiol	36.12±30.32	35.88±34.54	0.9
İnsülin	15.14±32.97	14.32±25.92	0.8
Serbest Testosteron	5.19±3.10	5.05±2.86	0.6
Total Testosteron	2.09±1.55	2.0±1.44	0.6
Ürik Asit	5.21±1.48	5.15±1.41	0.7
Koroner Yüzdeleler	215.76±58.36	221.36±61.45	0.4
MI % (-/+)	64.8/35.2	68.8/31.2	*0.4
Cinsiyet(Kadın/Erkek)%	23.8/76.2	24.8/75.2	*0.8
KOAH %(-/+)	93.4/6.6	84.4/15.6	*0.01
DM % (-/+)	77.9/22.1	71.6/28.4	*0.2
Sigara Kullanımı% (-/+)	68/32	74.8/25.2	*0.1
HT% (-/+)	50.8/49.2	48.6/51.4	*0.6

n,birey sayısı. Veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde *Student t* testi kullanıldı. * ile işaretli olanlarda χ^2 testi kullanıldı.

4.8. KAH ve Kontrol Gruplarında Klinik Karakterlerin Karşılaştırılması

KAH ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri Tablo 15’de gösterildi.

Tablo 15: Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri

Karakteristik özellikler	KAHGrubu(n=340)	KontrolGrubu(n=91)	p
Yaş	60.53±9.1	56.02±9.4	<0.001
VKİ	29.29±3.79	28.89±4.36	0.3
Cinsiyet%(kadın/erkek)	24.4/75.6	50.5/49.5	*<0.001
HT% (-/+)	49.4/50.6	59.3/40.7	*0.09
Sigara Kullanımı%(-/+)	72.4/27.6	74.7/25.3	*0.6

n,birey sayısı. Veriler, ortalama değer±standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde *Student t* testi kullanıldı. * ile işaretli olanlarda χ^2 testi kullanıldı.

4.9. KAH ve Kontrol Gruplarında K_{ATP} Kanalı Kir6.2 Geni E23K Genotipleri ve Alel Sıklıklarının Karşılaştırılması

Genotip sıklıkları KAH grubunda GG %35.9 ve GG+AA %64.1, kontrol grubunda ise GG %23.1 ve GA+AA %76.9 olarak bulundu (%95 CI (1.092-3.187), OR= 1.865, p=0.02). KAH grubunda G aleli (%58.2) ve A aleli (%41.8) sıklıkları da, kontrol grubuna göre (G ve A alel sıklıkları sırasıyla %47.8 ve %52.2) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı bulundu (%95 CI (1.10-2.11), OR=1.52, p=0.012) (Tablo 16-18).

Tablo 16: KAH grubunun K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotiplerinin gözlenen ve beklenen dağılımları

Genotipler	Gözlenen(n)	%	95%CL	Beklenen%
GG	122	35.9	30.78-41.23	33.9
GA	152	44.7	39.34-50.16	48.63
AA	66	19.4	15.34-24.02	17.43
Total	340	100		

Beklenen değerler Hardy-Weinberg denkliği kullanılarak hesaplandı.

Tablo 17: Kontrol grubunun K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotiplerinin gözlenen ve beklenen dağılımları

Genotipler	Gözlenen(n)	%	95%CL	Beklenen%
GG	21	23.1	14.89 -33.09	22.84
GA	45	49.5	38.80- 60.14	49.89
AA	25	27.5	18.63- 37.83	27.23
Total	91	100		

Beklenen değerler Hardy-Weinberg denkliği kullanılarak hesaplandı.

Tablo 18: KAH ile kontrol grubu arasında alel ve genotip sıklıklarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	ALEL (%)		GENOTİP (%)	
	A	G	GG	GG+AA
KAH (N=340)	41.8	58.2	35.9	64.1
KONTROL (N=91)	52.2	47.8	23.1	76.9
P		0.012		0.02
OR (%95CI)		1.52 (1.10-2.11)		1.86 (1.09-3.19)

n, birey sayısı, istatistiksel analizde χ^2 testi kullanıldı.

5. TARTIŞMA

Ülkemizde de oldukça yüksek sıklıkta gözlenen KAH, özellikle gelişmiş ülkelerde hem kadınlarda hem de erkekler mortalite ve morbidite bakımından üst sıralarda yer almaktadır (14). Ancak KAH, erkeklerde benzer yaştaki kadınlarla kıyaslandığında daha yüksek oranda görülmektedir (39). Benzer yaş ve her iki cinsiyet içinde KAH insidansında cinsiyet hormonları önemli rol oynamaktadır (93,94).

KAH grubunda, öncelikle cinsiyet farklılıklarının klinik ve biyokimyasal veriler arasında bir farklılık yaratıp yaratmadığı incelenmiştir. KAH'ı olan hastalarda cinsiyet ile serum kreatin, cinsiyet hormonları (S. testosteron, T.testosteron, östradiol), serum ürik asit düzeyleri, KOAH, DM, sigara kullanımı ve HT arasında istatistiksel bakımdan anlamlı farklılık gözlemlendi. Sigara kullanımı, erkek cinsiyetinde daha fazla idi. Serbest ve total testosteronun erkeklerde, östradiolün de kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olması beklenen bir durumdur. KAH grubunda plazma serbest testosteron düzeyleri (serbest testosteronun referans aralığı: Erkek 18 -50 yaş: 8.69-54.6 pg/ml; 50 -100 yaş: 8.69-42.5 pg/ml; Kadın 18-100 yaş:0.02-3.09 pg/ml) kadınlarda 2.6 ± 1.35 , erkeklerde ise 5.9 ± 2.87 bulundu. Erkeklerin yaş ortalaması 60.1 ± 9.1 , kadınların 61.6 ± 9.3 idi. Bu yaş aralıklarına göre hastaların serbest testosteron düzeyleri erkeklerde düşük olarak bulundu.

Erkeklerde major cinsiyet hormonu olan testosteron pro-aterojendir (95). Prematür KAH gelişmesinde plazma serbest testosteron düzeylerinin düşük olmasının rolü olabileceği ileri sürülmüştür (96). Ayrıca anjiyografi ile tanı konulmuş KAH grubunda hastalığın varlığı ve şiddeti ile testosteron düzeylerinin düşük olması arasında da bir ilişki bulunmuştur (71,72,97). KAH'ı bulunan bireylerde testosteron replasman tedavisinin myokard iskemisinde düzelmeye neden olması, testosteronun koroner vazodilatör etkilerine bağlanmaktadır (98). Bazı çalışmalar ise testosteron replasman tedavisinin anjina veya miyokard infarktüsü gelişimi ile bir ilişkisinin bulunmadığını ileri sürmektedir (99).

Koroner anjiyografi sonucu KAH tanısı alan erkeklerin serum androjen düzeyleri normal anjiyografiye sahip olan erkeklerle karşılaştırıldığında önemli derecede düşük bulunmuştur (100). Ülkemizde yapılan bir çalışmada KAH'ı olan 69 erkek ile 56 kontrol grubu karşılaştırılmış ve serum serbest ve total testosteron düzeyleri, kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur (96). Erkeklerde, düşük doz serbest testosteron düzeylerinin koroner ateroskleroza eğilimi arttırdığı gösterilmiştir (72). Ek olarak testosteronun yüksek plazma konsantrasyonlarında lipid ve hemostatik mekanizmaları etkilemek sureti ile atherom oluşumuna neden olduğu ve dolayısı ile miyokard enfarktüsü ve inme riskini arttırdığı gösterilmiştir (101). Çalışmamızın sonuçları da, KAH'ı olan erkek hastalarda serum serbest testosteron düzeylerinin düşük olmasının koroner aterosklerozis için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Kadınlarda major cinsiyet hormonu östrojendir. Östrojen hormonunun KAH gelişiminde koruyucu olduğu ileri sürülmüşse de, son yapılan çalışmalarda postmenopozal kadınlarda östrojen ve progesteron hormon replasman tedavisinin başarılı bir tedavi olmadığı görülmüştür (102). Östrojen, KAH'ın kontrolünde önemli fonksiyonlara sahiptir (65,95). Menopoz sonrası kadınlarda KAH insidansı artmasına rağmen, aynı yaşlardaki erkeklerle karşılaştırıldığında daha düşük insidanda görülmektedir (103). Östrojenin ateroskleroza karşı tanımlanmış yararlı etkilerinde LDL kolesterolü ve lipoprotein A düzeyini azaltması, plazma fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitörü aktivitesini azaltması, HDL kolesterolünü artırması, LDL kolesterolünün oksidasyonunu azaltması, glukoz metabolizması ve insülin duyarlılığını artırması rol oynamaktadır (101,104,105). Östrojenin aterosklerozis oluşturulmuş hayvan modellerinde, NO sentetaz aktivitesini ve NO sekresyonunu artırması, endotelin1 sekresyonunu inhibe etmesi, fibroblast büyüme faktörü, hücre içi adezyon molekülü ve vasküler hücre adezyon molekülünün dahil olduğu inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu ve kalsifikasyonunu azaltması gibi aterosklerozisi azaltıcı etkileri gösterilmiştir (106-108). Çalışmamızda, östradiol düzeyleri (referans aralığımız, erkeklerde 18–50 yaş: < 55 pg/ml; kadınlarda 18–100 yaş: foliküler: 7.1–178 pg/ml, luteal: 31–247 pg/ml, preovulatar: 48–388 pg/ml ve menopoz: 1.9–49 pg/ml) kadınlarda 51.7±50.8, erkeklerde 31.0±23.07 olarak bulundu. Erkek ve kadın hasta grubumuzda yaşları ile uyumlu olarak serum östradiol düzeyleri normal sınırlarda idi.

Serum ürik asit düzeyleri her iki cinsiyet için normal aralıklarda olmakla birlikte erkeklerde (5.3 ± 1.4), kadınlara (4.7 ± 1.4) göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (referans aralığımız: erkek 18-100 yaş: 3.4–7.7 mg/dl, kadın 18–100 yaş: 2.5–6.0 mg/dl). Kiyoshi Matsumura ve ark (109), kadınlarda, serum ürik asit düzeyleri ile HT’na bağlı sol ventrikül hipertrofisi arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, kadınlarda serum ürik asit düzeyi arttıkça sol ventrikül hipertrofisinin arttığını göstermişler, ancak erkeklerde herhangi bir ilişki bulmamışlardır. Ekokardiyografi (EKO) sonuçlarına göre hastalarımızda da uzun dönem HT’na bağlı olarak sol ventrikül hipertrofisinin bulunduğu saptandı.

HT, özellikle erişkin popülasyonu etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Epidemiyolojik veriler 30’lu yaşlarda %20–25 olan HT prevalansının yaşla birlikte bir artış göstererek 60 yaş ve üzerinde %50’lere çıktığını göstermektedir (110). Ülkemizde HT prevalansının erişkin erkeklerde %36.3, kadınlarda ise %49.1 olduğu bulunmuştur (110). Hasta grubumuzda HT, sigara kullanımı, DM, KOAH bakımından cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı. KOAH ve sigara kullanımının erkeklerde, HT ve DM’nin ise kadınlarda daha fazla sıklıkta olduğu gözlemlendi. DM ve HT’nin kadın hastalarımızda fazla görülmesi, genetik ve beslenme gibi çevresel faktörlere bağlı olabilir. Nitekim VKİ’nin kadın hasta grubunda erkeklere göre daha yüksek olması, bu iki hastalığın kadınlarda daha sık gözlenmesine katkı sağlayabilir. KOAH’ın erkeklerde daha fazla gözlenmesi sigara kullanımının da bu cinsiyette daha yaygın olmasından kaynaklanabilir.

Çeşitli çalışmalarda kronik androjen tedavisinin her iki cinsiyet için ateroskleroza eğilim yarattığı gösterilmiştir (111-113). Testosteron fizyolojik dozlarda, serum HDL kolesterolü seviyesini değiştirmeden LDL kolesterol seviyesini düşürmektedir (34,114,115). Ancak Wranicz ve ark. (116) serum testosteron düzeyleri ile serum lipid düzeyleri arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Çalışmamızda, hastaların yaşları ile klinik ve biyokimyasal veriler korelasyon analizi ile karşılaştırıldı.

Sonuçlarımıza göre, yaşla ilişkili olarak serum TG ve serum SGPT düzeyleri arasında negatif, kreatin düzeyleri ile ise pozitif bir korelasyon bulunduğu gösterildi. Serum TG düzeylerinin yaşla birlikte azalması, ileri yaş grubunda antilipidemik ilaç kullanımının daha fazla olmasından kaynaklanabilir.

SGPT ve SGOT çalışma grubumuzdaki hastalarda normal düzeylerde bulunmuş olmakla birlikte, SGPT düzeylerinde ileri yaşta bir azalmanın olduğu gözlemlendi. Ancak bu azalmanın nedenlerini açıklayabilecek herhangi bir veri bulunamadı.

Androjenler, vücut kitlesinin belirlenmesinde önemli rol oynarlar ve iştahı düzenleyen bir hormon olan leptin salınımını etkilerler. Serbest testosteron ve leptin salınımı arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (117). Nowicki ve ark. (118) total androjen blokajı uygulanmış ileri dönem prostat kanserli hastalarda, VKİ ve plazma leptin düzeylerinin anlamlı derecede arttığını bulmuşlardır. Çalışmamızda, KAH grubunda VKİ ile serum androjen düzeyleri karşılaştırıldı ve serum total testosteron düzeyleri ile VKİ arasında negatif bir korelasyon olduğu saptandı. VKİ arttıkça serum testosteron düzeylerinin azalmasının androjenlerin VKİ belirlemede rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Stefan Zgliczynski ve ark. (119) hipogonadizm bulunan yaşlı erkeklerde yaptıkları bir çalışmada, testosteron replasman tedavisinin total kolesterol ve LDL kolesterolünü azaltarak yararlı etkiler oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu bulgularla uyumlu olarak çalışmamızın sonuçlarına göre de KAH grubunda, serbest testosteron düzeyleri ile total kolesterol düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Serum testosteron düzeyleri azaldıkça serum total kolesterol düzeyleri artmaktadır.

Yıldız ve ark. (120), kardiyovasküler risk faktörlerinin (obezite, sigara kullanımı, hiperlipidemi vs.) testosteron aracılıklı gevşeme yanıtlarını azalttığını bulmuşlardır. VKİ arttıkça testosteron aracılıklı gevşeme azalmaktadır. Dolayısıyla, testosteron aracılıklı gevşeme ile VKİ arasında önemli bir ilişki söz konusu olabilir. Bu verilerle uyumlu olarak in vitro çalışmamıza dahil olan 63 KAH'ı bulunan bireyde, testosteronun EC_{50} değerleri ile klinik ve biyokimyasal veriler karşılaştırıldığında, VKİ ile testosteronun EC_{50} değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu gözlemlendi.

Testosteronun vazodilatör etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, çeşitli mekanizmalar üzerinde durulmaktadır. Damar düz kasında testosteron için membrana bağlı bir bölgede AR bulunduğu ve bu reseptörün akut non-genomik etki ile gevşeme yanıtlarına aracılık ettiği gösterilmiştir (29). Murphy ve ark. (34), domuz koroner düz kas hücrelerinde testosteronun vazodilatör etkisine steroid reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermişlerdir (119).

Diğer yandan Yue ve ark. (3), sıçan aortasında testosteron aracılıklı akut vazodilatör yanıtların steroid reseptöründen bağımsız olduğunu bulmuşlardır. AR'ü fonksiyonunda değişikliğe yol açtığı saptanmış olan AR geni CAG tekrar polimorfizminin testosteronun vazodilatör yanıtlarında gözlenen bireyler arası farklılıklarda rol oynayabileceği düşüncesinden yola çıkarak bu polimorfizmi araştırdık. Ancak İMA'da testosteronun oluşturduğu gevşeme yanıtları ve EC₅₀ değerleri ile AR geni CAG tekrar polimorfizmi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir ilişki bulamadık. Bu nedenle testosteronun İMA'da yaptığı gevşeme yanıtlarında AR geni CAG tekrar uzunluklarının herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Alevizaki ve ark. (4), kısa AR geni CAG tekrarına (< 23) sahip olan hastalarda, reseptörün transaktivasyonunun artması sonucu KAH riski ve şiddetinin de daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, uzun tekrarı olanlarla kısa tekrara sahip olan hastalarda serum testosteron düzeyleri arasında önemli bir farklılık saptamamışlardır. Ancak, başka çalışmalarda uzun CAG tekrarına sahip olan bireylerde testosteron düzeylerinin daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (4). Bizim sonuçlarımıza göre KAH'ı olan bireylerde, kısa ve uzun CAG tekrarları ile serum testosteron düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık saptanmadı. Alevizaki ve ark. CAG tekrar uzunlukları ile yaş arasında herhangi bir ilişki saptamamış olmalarına karşın, bizim çalışmamızda KAH grubunda CAG tekrar uzunlukları ile yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulundu. KAH nedeni ile by pass ameliyatı geçiren hastalardan kısa CAG tekrar sayısına sahip olanların, daha küçük yaşlarda olduğu belirlendi. Bu sonuçlar, kısa CAG tekrarına sahip bireylerin KAH'a daha erken yaşlarda yakalanabileceğini düşündürmektedir.

Koroner damarlarda AR transaktivasyonu arttıkça aterosklerotik olaylara eğilimin arttığı gösterilmiştir (69). AR geni CAG tekrar sayısı kısa olanlarda serum HDL kolesterolü ve apolipoprotein A düzeyi düşük, total kolesterol, LDL kolesterolü ve apolipoprotein B düzeyi yüksek bulunmuştur. AR geni CAG tekrar sayısı kısa olanlarda, artan reseptör transaktivasyonunun HDL kolesterolünü düşürdüğü ve KAH ile MI riskini arttırdığı ileri sürülmüştür (121). Çalışmamızda, AR geni CAG tekrar sayısı ile koroner arter tıkanma yüzdesi arasında yapılan korelasyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir bulguya rastlanmadı.

Yine, AR geni CAG tekrar sayısı ile serum total kolesterolü, HDL kolesterolü ve LDL kolesterolü arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bu sonuçlara göre testosteronun İMA damarlarında oluşturduğu gevşeme yanıtları ile AR geni CAG tekrar uzunlukları arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.

İMA segmentlerinde, testosteron aracılıklı gevşeme yanıtlarını etkileyebileceğini düşündüğümüz 2. polimorfizm, K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmidir. Testosteron insanda, fizyolojik konsantrasyonlarda (erişkin erkek: 10^{-8} ile 10^{-9}) koroner damarlarda direkt etki ile vazodilatasyon ve kan akımında artış yapmaktadır (102). Köpek, tavşan, sıçan, domuz gibi hayvanlarda in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda, testosteronun direkt koroner vazodilatör etkisi gösterilmiştir (3,6,122,123). Testosteronun köpek koroner arteri ve sıçan mezenterik arterindeki vazodilatör etkisinin, endotel bağımlı NO aracılığı ile olduğu saptanmıştır (124,125). Tavşan koroner arteri ile sıçan aortası ve pulmoner arterlerinde NOS inhibisyonu ile testosteronun damarlardaki vazodilatör yanıtlarının azalmadığı görülmüştür (3,126,127). Buna ek olarak, köpek, tavşan, domuz koroner arterinde ve sıçan torasik aorta ve mezenterik arter yataklarında testosteron gevşemesinde endotel ve NO'dan bağımsız olarak K^{+} kanallarının rol aldığı belirtilmiştir (3,122,123,125,126). Yıldız ve ark. (8), insan İMA damarlarında testosteron aracılıklı gevşemede $BKCa^{+2}$ kanallarının aracılık ettiğini ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan, aynı araştırmacılar insan radial arterlerinde testosteronun aracılıklı vazodilatör yanıtlarda K_{ATP} kanallarının rol oynadığını saptamışlardır (40). Bizler bu bilgilerden yola çıkarak K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi ile testosteronun İMA'da oluşturduğu vazodilatör yanıtlar arasında bir ilişki olup olmadığını araştırdık.

Farklı konsantrasyonlarda verilen testosteronun İMA'da yaptığı gevşemenin EC_{50} değerleri ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotipleri (GG ve GA+AA) arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir anlamlılık saptamadık.

KAH bulunan bireylerde K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi ile KOAH görülme sıklığı açısından yaptığımız değerlendirmede istatistiksel bakımdan anlamlı bir ilişki saptadık. KAH grubunda KOAH'ı bulunan ve bulunmayan hastalar arasında yaptığımız karşılaştırmada K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi GG genotip görülme sıklığını KOAH'lı hastalarda daha düşük olarak tespit ettik. Bu durum, G alelinin KOAH açısından koruyucu bir alel olduğunu düşündürmektedir.

KOAH görölme sıklığı ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi arasında literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmadığından, bulduğumuz bu sonuç KOAH ile bu polimorfizmin ilişkili olduğunu gösteren ilk çalışma olması bakımından da önemlidir.

K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi ile VKİ ve obezite arasında anlamlı bir ilişkili bulunmuştur (128). Obez ve tip 2 diabetli bireylerde uzun zincirli serbest yağ asitlerinin kronik olarak yükseldiği ve yağ asitleri ile metabolitlerinin hücrel olarak biriktiği gözlenmiştir (129,130). Beta hücrelerinde, uzun zincirli yağ asitlerinin, K_{ATP} kanallarının aktivitesini arttırdığı görülmüştür (131). Uzun zincirli yağ asitlerinin varlığında artan kanal aktivitesinin beta hücrelerinin elektriksel uyarılabilirliğini azaltarak insülin sekresyonunun bozulması ve ardından da tip 2 DM riskini arttırdığı tespit edilmiştir.

Gloyn ve ark. (132), Kafkas populasyonunda sağlıklı bireyler ile Tip 2 DM'li gruplar arasında K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmini değerlendirmişler ve DM'li grupta homozigot mutant alel taşıyanların fazla olduğunu saptamışlardır.

K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi, kanal aktivitesini aşırı arttırarak insülin sekresyonunda azalma yapmakta ve diabete zemin hazırlamakta olduğundan. İnsülin sekresyonunu arttırmak sureti ile etki gösteren oral antidiabetik ilaçların, K_{ATP} kanallarını inhibe ederek KAH riskini arttırdığı ileri sürülmüştür (9). KAH grubumuzda, DM'li (n=89) hastalar ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizminin sıklık dağılımı arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir anlamlılık bulunmadı.

Xiong ve ark. (9), Çin populasyonunda KAH ve K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceledikleri bir çalışmalarında 119 KAH ve 110 kontrol bireyde alel sıklıklarını karşılaştırmışlar ve hasta grubunda G alel sıklığını yüksek A alel sıklığını ise daha düşük bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, A alelinin KAH'a yakalanmada koruyucu olduğuna işaret etmişler.

Çalışmamızda da, KAH bulunan bireylerin K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi alel ve genotip dağılımları karşılaştırıldı. Kadınlarda G aleli %58.4, A aleli ise %41.5 iken erkeklerde bu oran G için %58.1, A için %41.8 bulundu. K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K genotipleri ve alel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldı ve genotip sıklıkları KAH grubunda GG %35.9 ve GG+AA %64.1, kontrol grubunda ise GG %23.1 ve GA+AA %76.9 olarak bulundu.

KAH grubunda G aleli (%58.2) ve A aleli (%41.8) sıklıkları da, kontrol grubuna göre (G ve A alel sıklıkları sırasıyla %47.8 ve %52.2) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı bulundu (%95 CI (1.10-2.11), OR=1.52, p=0.012).

Sonuç olarak, çalışmamızda 340 KAH bireyde ve 91 kontrol grubunda K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmine baktık. A alel sıklığını kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek gördük. Bu sonuç ile A alelinin KAH'a yakalanmada önemli bir koruyucu faktör olduğu sonucuna vardık.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç:

- 1- KAH bulunan bireylerde bakılan K_{ATP} kanalı Kir6.2 geninde A alel sıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunduğundan A alelinin koruyucu olduğu sonucuna vardık.
- 2- Testosteronun İMA da oluşturduğu vazodilatör yanıtlarında K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K ve AR geni CAG tekrar polimorfizmlerinin herhangi bir etkisinin olmadığını belirledik.
- 3- KAH grubunda DM ve HT görülme sıklığını kadınlarda, KOAH ve sigara içimi görülme sıklığını ise erkeklerde fazla olduğunu saptadık
- 4- KAH'ı bulunan bireylerin yaşları arttıkça serum TG ve SGPT düzeylerinde azalma saptadık.
- 5- KAH'I bulunan bireylerde serum total testosteron düzeyleri azaldıkça VKİ'de artma saptadık.
- 6- KAH grubumuzda serum serbest testosteron düzeyleri arttıkça total kolesterol düzeylerinde azalma olduğunu belirledik.
- 7- KAH'ı bulunan bireylerde K_{ATP} kanalı kir6.2 geni E23K polimorfizmi ile KOAH karşılaştırıldığında, GG genotip sıklığını GG+GA genotip sıklığına göre anlamlı derecede düşük bulduk. Buradan GG genotipinin KOAH görülme sıklığını azaltabileceği sonucuna vardık.
- 8- KAH bulunan bireylerde bakılan AR geni CAG tekrarlar sayılarını ≥ 17 olan hastalarda uzun ve < 17 olan hastalarda kısa olarak saptadık.
- 9- Kısa AR geni CAG tekrarına sahip olan hasta grubunun yaşlarının, uzun AR geni CAG tekrarına sahip olan hasta grubuna göre daha küçük olduğunu belirledik.

Öneriler:

1- Her ne kadar testosteronun İMA'da oluşturduğu vazodilatör yanıtlarda K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K ve AR geni CAG tekrar polimorfizmlerinin bir rolünün bulunmadığı sonucuna varsak da, $BKCa^{+2}$ kanallarındaki fonksiyonel polimorfizmlerin bu damarlarda testosteronun vazodilatör yanıtlarında gözlenen değişkenlikte rolünün olabileceğini ve bu nedenle daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

2- KAH'ı bulunan bireylerde K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmine bağlı A alelinin koruyucu olduğu bulgusundan yola çıkarak, KAH'a yatkınlıkta rolü olan diğer faktörlerle birlikte riskli gruplarda ön tarama yaparak K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfizmi de değerlendirilebilir. Böylece bazı koruyucu önlemler alınabilir.

3- Bazı gen polimorfizmlerinde (ACE, AGT gibi renin anjiotensin sistemi (RAS) ve metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi) görülebilen gen polimorfizimlerinin KAH'a yatkınlığa sebep olması nedeni ile K_{ATP} kanalı Kir6.2 geni E23K polimorfiziminin de haplotip analizine konulmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1- Seckin D, Ilhan N, Ozbay Y. The relationship between ACE insertion deletion polymorphism and coronary artery disease with or without myocardial infarction. Clin Biochem. 2006;39(1):50–4.
- 2- Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486–97.
- 3- Yue P, Chatterjee K, Beale C, Poole-Wilson P. A. and Collins P. Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta. Circulation. 1995;91:1154–1160.
- 4- Alevizaki M, Cimponeriu AT, Garofallaki M, Sarika HL, Alevizaki CC, Papamichael C. et al. The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men. Clin Endocrinol. 2003;59:749–55.
- 5- He H, Yang F, Liu X, Zeng X, Hu Q, Zhu Q et al. Sex hormone ratio changes in men and postmenopausal women with coronary artery disease. Menopause. 2007;14(3 Pt 1):385–90.
- 6- English KM, Jones RD, Jones TH, Morice AH, Channer KS. Testosterone acts as a coronary vasodilator by a calcium antagonistic action. J Endocrinol Invest. 2002;25:455–458.
- 7- Tep-areenan P, Kendall DA, Randall MD. Mechanism of vasorelaxation to testosterone in the rat aorta. Eur J Pharmacol. 2003;28:465(1–2):125–32.
- 8- Yildiz O, Seyrek M, Gul H, Un İ, Yildirim V, Ozal E, ve ark. Testosterone relaxes human internal mammary artery in vitro. J Cardiovasc Pharmacol. 2005;45:580–585.

- 9- Xiong C, Zheng F, Wan J, Zhou X, Yin Z, Sun X. The E23K polymorphism in Kir6.2 gene and coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 2006;367(1–2):93-7.
- 10- Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*. 1992;12:241–253.
- 11- Beilin J, Ball EM, Favaloro JM, Zajac JD. Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *J Mol Endocrinol*. 2000;25:85–96.
- 12- http://tr.wikipedia.org/wiki/Koroner_arter_hastalığı. 23-06-2009
- 13- Kardiyoloji. İsfendiyar C, Derviş Oral, 2002: Bölüm-7 Konu-30 Sayfa 616.
- 14- Kardiyoloji. İsfendiyar C, Derviş O, 2002:7:32-647.
- 15- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001;24:683–689.
- 16- Castelli WP. Lipids, risk factors and ischemic heart disease. *Atherosclerosis*. 1996;124:1–9.
- 17- Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet*. 1999;353:89–92.
- 18- Webb CM, Adamson DL, de Zeigler D, Collins P. Effect of acute testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1999;83(3):437–9.
- 19- English KM, Mandour O, Steeds RP, Diver MJ, Jones TH, Channer KS. Men with coronary artery disease have lower levels of androgens than men with normal coronary angiograms. *Eur Heart J*. 2000;21:890–894.

- 20- Subbiah MT. Mechanisms of cardioprotection by estrogen. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998;217:23–29.
- 21- Bairey Merz CN, Johnson BD, Sharaf BL, Bittner V, Berga SL, Braunstein GD, et al. Hypoestrogenemia of hypothalamic origin and coronary artery disease in premenopausal women: a report from the NHLBI-sponsored WISE study. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:413–419.
- 22- Sansoy V. Koroner arter hastalığı risk faktörleri. *Kardiyoloji Dergisi* 2003;16(5):19-27.
- 23- Vallese P. Vascular endothelium, Its physiology and pathophysiology: Weatherall DJ et al. *Oxford Textbook of Medicine*, 3rd ed. Oxford Medical Publications, Oxford, UK, 1996;2:2295–2300.
- 24- Cohen MV, Gorlin R: Main left coronary artery disease. Clinical, arteriographic and hemodynamic appraisal. *Am J Cardiol.* 1972; 30: 791-3.
- 25- <http://halksagligi.pamukkale.edu.tr/kongre/.../kdheBELGİNÜNAL.ppt>. 12-07-2009
- 26- Guyton AC. Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*; WB Saunders International Edition, 1996.
- 27- Haymond S, Gronowski AM. Reproductive Related Disorders in: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, fourth edition, p: 2097–2104.
- 28- Oğuz K. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 11. Baskı, 2005:1151–1163.
- 29- Jones RD, English KM, Jones TH, Channer KS. Testosterone-induced coronary vasodilatation occurs via a non-genomic mechanism: evidence of a direct calcium antagonism action. *Clin Sci.* 2004;107(2):149–58.

- 30- Morley JE, Perry HM. Androgen deficiency in aging men: role of testosterone replacement therapy. *J Lab Clin Med.* 2000;135(5):370–8.
- 31- Wishart JM, Need AG, Horowitz M, Morris HA, Nordin BE. Effect of age on bone density and bone turnover in men. *Clin Endocrinol.* 1995;42:141–6.
- 32- Vermeulen A, Deslypere JP. Testicular endocrine function in the ageing male. *Maturitas.* 1985;7:273–9.
- 33- Bain J. Andropause: testosterone replacement therapy for aging men. *Can Fam Physican.* 2001;47:91–7.
- 34- Zgliczynski S, Ossowski M, Slowinska-Srzednicka J, Brzezinska A, Zgliczynski W, Soszynski P et al. Effect of testosterone replacement therapy on lipids and lipoproteins in hypogonadal and elderly men. *Atherosclerosis.* 1996;121(1):35–43.
- 35- Comhaire FH. Andropause: hormone replacement therapy in the aging male. *Eur Urol.* 2000;38(6):655–62.
- 36- Eckardstein A, Wu FC. Testosterone and atherosclerosis. *Growth Horm IGF Res.* 2003;13:72–84.
- 37- Mårin P, Holmäng S, Jönsson L, Sjöström L, Kvist H, Holm G et al. The effects of testosterone treatment on body composition and metabolism in middle-aged obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1992;16(12):991–7.
- 38- Berglund L, Carlström K, Stege R, Gottlieb C, Eriksson M, Angelin B et al. Hormonal regulation of serum lipoprotein (a) levels: effects of parenteral administration of estrogen and testosterone in males. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(7):2633–7.
- 39- Rosano GM, Leonardo F, Pagnotta P, Pelliccia F, Panina G, Cerquetani E et al. Acute anti-ischemic effect of testosterone in men with coronary artery disease. *Circulation.* 1999;99(13):1666–70.

- 40- Seyrek M, Yildiz O, Ulusoy HB, Yildirim V. Testosterone relaxes isolated human radial artery by potassium channel opening action. *J Pharmacol Sci.* 2007;103(3):309–16.
- 41- Navarro-Dorado J, Orensanz LM, Recio P, Bustamante S, Benedito S, Martínez AC et al. Mechanisms involved in testosterone-induced vasodilatation in pig prostatic small arteries. *Life Sci.* 2008;83(15–16):569–73.
- 42- Bruck B, Brehme U, Gugel N. Gender-specific differences in the effects of testosterone and estrogen on the development of atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2192–2199.
- 43- Hanke H, Hanke S, Finking G. Different effects of estrogen and progesterone on experimental atherosclerosis in female versus male rabbits. *Circulation.* 1996;94:175–181.
- 44- Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen. Natural androgens inhibit male atherosclerosis: a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res.* 1999;84:813–819.
- 45- Wurtz JM, Bourguet W, Renaud JP, Vivat V, Chambon P, Moras D, et al. Canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nat Struct Biol.* 1996;3:87–94.
- 46- Ochsenkühn R, Dekretser DM. The contrutions of deficient androgen action in spermatogenic disorders. *Int J Androl.* 2003;26:195–201.
- 47- Choong CS, Wilson EM. Trinucleotide repeats in the human androgen receptor: a molecular basis for disease. *J Mol Endocrinol.* 1998;21:235–57.
- 48- Lindzey J, Kumar MV, Grossman M. Molecular mechanisms of androgen action. *Vitam Horm.* 1994;49:383–432.

- 49- Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. Physiology of testicular function. P. 23, in. *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction* (2nd ed). Nieschlag E, Behre HM (eds), Springer, New York, 2000.
- 50- www.androloji.org.tr/images/file/DID_8_infertilite4_18.say1.pdf. 3-08-2009
- 51- Paris F, Weinbauer GF, Blum V, Nieschlag E. The effect of androgens and antiandrogens on the immunohistochemical localization of the androgen receptor in accessory reproductive organs of male rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1994;48:129–37.
- 52- MacLean HE, Warne GL, Zajac JD. Defects of androgen receptor function: from sex reversal to motor neurone disease. *Mol Cell Endocrinol*. 1995;112:133–41.
- 53- Partin A, Coffey D: The molecular biology, endocrinology and physiology of the prostate and seminal vesicles. In. *Campbell's Urology*, p. 1381, Walsh D, Retik A, Vaughan E, Wein A (eds), WB Saunders, Philadelphia, 1998.
- 54- Moilanen AM, Karvonen U, Poukka H, Yan W, Toppari J, Janne OA, et al. Testis-specific androgen receptor coregulator that belongs to a novel family of nuclear proteins. *J Biol Chem*. 1999;5:3700–4.
- 55- Chen C, Lamharzi N, Weiss NS, Etzioni R, Dightman DA, Barnett M. Androgen receptor polymorphisms and the incidence of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(10 Pt 1):1033–40.
- 56- Gao T, Marcelli M, McPhaul MJ. Transcriptional activation and transient expression of the human androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1996;59:9–20.
- 57- La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischback KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*. 1991;352(6330):77–9.
- 58- Lillie EO, Bernstein L, Ursin G. The role of androgens and polymorphisms in the androgen receptor in the epidemiology of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2003;5(3):164–73.

- 59- Herishanu YO, Parvari R, Pollack Y, Shelef I, Marom B, Martino T, et al. Huntington disease in subjects from an Israeli Karaite community carrying alleles of intermediate and expanded CAG repeats in the HTT gene: Huntington disease or phenocopy? *J Neurol Sci.* 2009;277(1–2):143–6.
- 60- Zitzmann M, Brune M, Kornmann B, Gromoll J. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene affects bone density and bone metabolism in healthy males. *Clin Endocrinol.* 2001;55(5):649–57.
- 61- Tut TG, Ghadessy FJ, Trifiro MA, Pinsky L, Yong EL. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(11):3777–82.
- 62- Dos Santos ML, Sibov TT, Nishimoto IN, Kowalski LP, Miracca EC. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR) and its relationship to head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2004;40(2):177–82.
- 63- Sawaya ME, Shalita AR. Androgen receptor polymorphisms (CAG repeat lengths) in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *J Cutan Med Surg.* 1998;3(1):9–15.
- 64- Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, Brown M, Dahl D, Brufsky A, et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 1997;94(7):3320–3.
- 65- Garolla A, Ferlin A, Vinanzi C, Roverato A, Sotti G, Artibani W et al. Molecular analysis of the androgen receptor gene in testicular cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2005;12(3):645–55.
- 66- Lehmann DJ, Butler HT, Warden DR, Combrinck M, King E, Nicoll JA, et al. Association of the androgen receptor CAG repeat polymorphism with Alzheimer's disease in men. *Neurosci Lett.* 2003;340(2):87–90.
- 67- Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor. *Nucleic Acids Res.* 1994;11:3181–3186.

68- Zitzmann M, Brune M, Kornmann B, Gromoll J, von Eckardstein S, vonEckardstein A et al. The CAG repeat polymorphism in the AR gene affects high density lipoprotein cholesterol and arterial vasoreactivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4867–4873.

69- Liu PY, Rose C, RC C,Ruan M, Miller VM, Fitzpatrick LA. Correlating androgen and estrogen steroid receptor expression with coronary calcification and atherosclerosis in men without known coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(2):1041–1046.

70- Hanke H, Lenz C, Hess B, Spindler KD, Weidemann W. Effect of testosterone on plaque development and androgen receptor expression in the arterial vessel wall. *Circulation.* 2001;103(10):1382–5.

71- Chute CG, Baron JA, Plymate SR, Kiel DP, Pavia AT, Lozner EC et al. Sex hormones and coronary artery disease. *Am J Med.* 1987;83(5):853–9.

72- Phillips GB, Pinkernell BH, Jing TY. The association of hypotestosteronaemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1994;14:701–706.

73- Hak AE, Westendorp IC, Pols HA, Hofman A, Witteman JC. High-dose testosterone is associated with atherosclerosis in postmenopausal women. *Maturitas.* 2007;56(2):153–60.

74- Mifsud A, Ramirez S, Yong EL. Androgen receptor gene CAG trinucleotide repeats in anovulatory infertility and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3484–3488.

75- Felix R. Channelopathies: ion channel defects linked to heritable clinical disorders. *J Med Genet.* 2000;37(10):729–40.

76- Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S, Berkovic SF. Channelopathies as a genetic cause of epilepsy. *Curr Opin Neurol.* 2003;16(2):171–6.

77- <http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/ndondas.pdf>.17-08-2009

78- Bryan J, Muñoz A, Zhang X, Düfer M, Drews G. ABCC8 and ABCC9: ABC transporters that regulate K⁺ channels. *Pflugers Arch.* 2007;453(5):703–18.

- 79- Riedel MJ, Steckley DC, Light PE. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes. *Hum Genet.* 2005;116(3):133–45.
- 80- Cui J, Yang H, Lee US. Molecular mechanisms of BK channel activation. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(5):852–75.
- 81- Aguilar-Bryan L, Nichols CG, Wechsler SW, Clement JP 4th, Boyd AE 3rd, González G et al. Cloning of the beta cell high-affinity sulfonylurea receptor: a regulator of insulin secretion. *Science.* 1995;268(5209):423–6.
- 82- Daut J, Maier-Rudolph W, Von Beckerath N, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science.* 1990;247:1341–4.
- 83- Ishizaka H, Kuo L. Acidosis-induced coronary arteriolar dilation is mediated by ATP-sensitive potassium channels in vascular smooth muscle. *Circ Res.* 1996;78:50–7.
- 84- Evrengül H, Dursunoğlu D, Semiz E. İskemik Önkoşullanma. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi.* 2003;3:144–149.
- 85- Demircan S, Yeşildağ O, Soylu K, Demircan S, Yeşildağ D, Soylu K. İskemik Ön Koşullanma ve Warm-Up Fenomeni. *Türk Kardiyoloji Derneği Arş.* 2002;30:640–646.
- 86- Aguilar-Bryan L, Bryan J. Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocr Rev.* 1999;20(2):101–35.
- 87- <http://tr.wikipedia.org/wiki/S%C3%BClfonil%C3%BCreler>.6-06-2009
- 88- Sakura H, Ammälä C, Smith PA, Gribble FM, Ashcroft FM. Cloning and functional expression of the cDNA encoding a novel ATP-sensitive potassium channel subunit expressed in pancreatic beta-cells, brain, heart and skeletal muscle. *FEBS Lett.* 1995;377(3):338–44.

89- Inoue H, Ferrer J, Warren-Perry M, Zhang Y, Millns H, Turner RC, Elbein SC et al. Sequence variants in the pancreatic islet beta-cell inwardly rectifying K⁺ channel Kir6.2 (Bir) gene: identification and lack of role in Caucasian patients with NIDDM. *Diabetes*. 1997;46(3):502–7.

90- Hani EH, Boutin P, Durand E, Inoue H, Permutt MA, Velho G et al. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of type 2 diabetes mellitus in Caucasians. *Diabetologia*. 1998;41(12):1511–5.

91- Gloyn AL, Hashim Y, Ashcroft SJH, Ashfield R, Wiltshire S, Turner RC. Association studies of variants in promoter and coding regions of beta cell ATP-sensitive K-channel genes SUR1 and Kir6.2 with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2001;18:206–12.

92- Love-Gregory L, Wasson J, Lin J, Skolnick G, Suarez B, Permutt MA. E23K single nucleotide polymorphism in the islet ATP-sensitive potassium channel gene (Kir6.2) contributes as much to the risk of Type II diabetes in Caucasians as the PPARgamma Pro12Ala variant. *Diabetologia*. 2003;46(1):136–7.

93- British Heart Foundation Statistics Database. BHF 1996;21–22.

94- Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T. Menopause and the risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1976;85:447–452.

95- Hodis HN, Mack WJ, Lobo R. What is the cardioprotective role of hormone replacement therapy? *Curr Atheroscler Rep*. 2003;5:56–66.

96- Turhan S, Tulunay C, Güleç S, Ozdöl C, Kilickap M, Altin T, ve ark. The association between androgen levels and premature coronary artery disease in men. *Coron Artery Dis*. 2007;18(3):159–62.

97- Jeppeson LL, Jorgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, Olsen TS, Winther K. Decreased testosterone in men with acute ischaemic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16:749–754.

- 98- Malkin CJ, Pugh PJ, Morris PD, Kerry KE, Jones RD, Jones TH, Channer KS. Testosterone replacement in hypogonadal men with angina improves ischaemic threshold and quality of life. *Heart*. 2004;90(8):871–6.
- 99- Hajjar RR, Kaiser FE, Morley JE. Outcomes of long-term testosterone replacement in older hypogonadal males: a retrospective analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3793–6.
- 100- Kajinami K, Takeda K, Takekoshi N, Matsui S, Tsugawa H, Kanemitsu S et al. Imbalance of sex hormone levels in men with coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2004;15(4):199–203.
- 101- Knopp RH, Zhu X. Multiple beneficial effects of estrogen on lipoprotein metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):3952–4.
- 102- Asscherman H, Gooren LJG, Megens JAJ, Nauta J, Kloosterboer HJ, Eikelboom F. Serum testosterone is the major determinant of male-female differences in serum levels of high-density lipoprotein-cholesterol and HDL-2 cholesterol. *Metabolism* 1994;43:935–939.
- 103- Webb CM, McNeill JG, Hayward CS, de Zeigler D, Collins P. Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation*. 1999;100(16):1690–6.
- 104- Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 1999;340:1801–1811.
- 105- Sack MN, Rader DJ, Cannon RO. 3rd. Oestrogen and inhibition of oxidation in low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*. 1994;342:269–270.
- 106- Hayashi T, Yamada K, Esaki T. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;214:847–855.
- 107- Blum A, Cannon RO III. Effects of estrogens and selective oestrogen receptor modulators on serum lipoproteins and vascular function. *Curr Opin Lipidol*. 1998;9:575–586.

- 108- Adams MR, Kaplan JR, Manuck SB. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17 α -estradiol in ovariectomized monkeys: lack of an effect of added estrogen. *Arteriosclerosis*. 1990;10:1051–1057.
- 109- Matsumura K, Ohtsubo T, Oniki H, Fujii K, Iida M. Gender-related association of serum uric acid and left ventricular hypertrophy in hypertension. *Circ J*. 2006;70(7):885–8.
- 110- Buyukozturk K, Ilerigelen B, Kabakci G, Koylan N, Kozan O. Intensive cardiovascular examination regarding blood pressure levels: evaluation of risk groups. ICEBERG study. *Blood Press*. 2006;15(5):291–301.
- 111- Rosano GM. Androgens and coronary artery disease. A sex-specific effect of sex hormones? [editorial]. *Eur Heart J*. 2000;21:868–871.
- 112- Hayward CS, Kelly RP, Collins P. The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovasc Res*. 2000;46:28–49.
- 113- Nathan L, Shi W, Dinh H, Mukherjee TK, Wang X, Lusis AJ et al. Testosterone inhibits early atherogenesis by conversion to estradiol: critical role of aromatase. *Proc Natl Acad Sci*. 2001;98:3589–3593.
- 114- Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1092–1098.
- 115- Morley JE, Perry HM, Kaiser FE, Kraenzle D, Jensen J, Houston K. et al. Effects of testosterone replacement in old hypogonadal males: a preliminary study. *J Am Geriatr Soc*. 1993;41:149–152.
- 116- Wranicz JK, Cygankiewicz I, Rosiak M, Kula P, Kula K, Zareba W. The relationship between sex hormones and lipid profile in men with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2005;101:105–110.
- 117- Kaaks R, Lukanova A, Rinaldi S. Interrelationships between plasma testosterone, SHBG, IGF-I, insulin and leptin in prostate cancer cases and controls. *Eur J Cancer Prev*. 2003;12:309–315.

118- Nowicki M, Bryc W, Kokot F. Hormonal regulation of appetite and body mass in patients with advanced prostate cancer treated with combined androgen blockade. *J Endocrinol Invest.* 2001;24:31–36.

119- Murphy JG, Khalil RA. Decreased $[Ca^{2+}]_i$ during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17 β -estradiol, progesterone, and testosterone. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;291:44–52.

120- Oguzhan Y, Seyrek M, Un I, Gul H, Candemir G, Yildirim V. The Relationship Between Risk Factors and Testosterone-Induced Relaxations in Human Internal Mammary. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005;45(1):4-7.

121- Hersberger M, Muntwyler J, Funke H, Marti-Jaun J, Schulte H, Assmann G et al. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene is associated with HDL-cholesterol but not with coronary atherosclerosis or myocardial infarction. *Clin Chem.* 2005;51(7):1110–5.

122- Chou TM, Sudhir K, Hutchison SJ, Ko E, Amidon TM, Collins P et al. Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo. *Circulation.* 1996;94:2614–2619.

123- Deenadayalu VP, White RE, Stallone JN, Gao X, Garcia AJ. Testosterone relaxes coronary arteries by opening the large conductance, calcium-activated potassium channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281:1720–27.

124- English KM, Steeds R, Jones TH. Testosterone and coronary heart disease: is there a link? *QJM.* 1997;90:787–791.

125- Tep-arreenan P, Kendall DA, Randall MD. Testosterone-induced vasorelaxation in the rat mesenteric arterial bed is mediated predominantly via potassium channels. *Br J Pharmacol.* 2002;135:735–740.

126- Honda H, Unemoto T, Kogo H. Different mechanisms for testosterone induced relaxation of aorta between normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1999;34:1232–1236.

- 127- Jones RD, English KM, Pugh PJ. Pulmonary vasodilatory action of testosterone: evidence of a calcium antagonistic action. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002;39:814–823.
- 128- Nielsen EM, Hansen L, Carstensen B, Echwald SM, Drivsholm T, Glumer C, et al. The E23K variant of Kir6.2 associates with impaired post-OGTT serum insulin response and increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52:573–577.
- 129- Corkey BE. Analysis of acyl-coenzyme A esters in biological samples. *Methods Enzymol*. 1988;166:55–70.
- 130- Corkey BE, Deeney JT, Yaney GC, Tornheim K, Prentki M. The role of long-chain fatty acyl-CoA esters in beta-cell signal transduction. *J Nutr*. 2000;130:299–304.
- 131- Gribble FM, Proks P, Corkey BE, Ashcroft FM. Mechanism of cloned ATP-sensitive potassium channel activation by oleoyl-CoA. *J Biol Chem*. 1998;273:26383–26387.
- 132- Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR, Turner MJ, Knight BA, Hitman G et al. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52:568–572.