

Koroner Kalp Hastası Erkeklerde SHBG Geni (TAAAA)n Pentanükleotid Tekrar Sayılarının Serum SHBG ve Lipid Düzeyleri Üzerine Etkisi

Özlem KURNAZ GÖMLEKSİZ*, Başak AKADAM TEKER**, Zehra BUĞRA***, Beyhan ÖMER****, Hülya YILMAZ AYDOĞAN*****

Öz

Amaç: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-K) seviyelerinin önemli düzenleyicilerinden biri cinsiyet hormonlarıdır. Cinsiyet hormon bağlayıcı globülin (SHBG), biyoaktif serbest cinsiyet hormonlarını belirleyen bir faktördür. Serum SHBG konsantrasyonu HDL-K düzeyleri ile pozitif ilişkilidir ve kısmen genetik kontrol altındadır. İnsan SHBG geninin 5' promotöründe bir Alu dizisi içinde (TAAAA)n pentanükleotid tekrar polimorfizmi (rs35785886) tanımlanmıştır. Tekrar sayısı ve serum SHBG konsantrasyonları arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada koroner kalp hastalığı (KKH) olan Türk erkeklerinde SHBG geni pentanükleotid (TAAAA)n tekrar polimorfizminin serum SHBG proteini ve HDL-K düzeyleriyle ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: SHBG geni (TAAAA)n pentanükleotid tekrar polimorfizmi 75 KKH erkek ve 50 sağlıklı erkekte polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) sonrası Poliakrilamid jel elektroforezi

Özgün Araştırma Makalesi (Original Research Article)

Geliş / Received: 07.10.2017 & **Kabul / Accepted:** 24.11.2017

* Yrd. Doç. Dr., İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu Öğretim Üyesi, İstanbul, Türkiye, E-posta: okurnaz@gelisim.edu.tr

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-9827-5253>

** Yrd. Doç. Dr., Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Giresun, Türkiye, E-posta: basak.teker@giresun.edu.tr

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-3618-0560>

*** Prof. Dr., İstanbul Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, İstanbul, Türkiye, E-posta: zbugra@istanbul.edu.tr **ORCID ID** <https://orcid.org/0000-0002-9904-0146>

**** Prof. Dr., İstanbul Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, İstanbul, Türkiye, E-posta: beyomer@istanbul.edu.tr

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-7938-6281>

***** Prof. Dr., Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, İstanbul, Türkiye, E-posta: yilmazh@istanbul.edu.tr

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-8837-6664>

yöntemiyle belirlenmiştir. Serum SHBG düzeyleri Elektrokemilüminesan metoduyla ölçülmüştür.

Bulgular: Kontrol grubunda 6 TAAAA tekrar allel frekansı KKH grubuna göre yüksektir ($p=0,002$ GR:0,293 (%95 GA= 0,133-0,649)). Kontrol grubunda 6 tekrar alleli taşımayanlarda serum trigliserid düzeyi 6 tekrar taşıyanlara göre yüksek gözlenmiştir ($p=0,048$). Kısa tekrar allellerini (≤ 8 tekrar) taşıyan kontrollerde serum SHBG düzeyi yüksek iken ($p=0,006$), hasta grubunda 6 tekrar taşıyan bireylerde serum SHBG düzeyi yüksektir ($p=0,027$). 8 tekrar alleli olan hastalarda 8 tekrar alleli bulunmayanlara göre HDL-K/LDL-K oranı ($p=0,027$) ve sistolik kan basıncı ($p=0,008$) düzeyleri düşük gözlenmiştir. KKH grubunda uzun tekrar alleli taşıyanlarda sigara etkisiyle birlikte serum SHBG seviyelerinde anlamlı bir düşüş belirlenmiştir ($p=0,024$).

Sonuç: KKH grubunda SHBG (TAAAA) 6 tekrar alleli ve kontrollerde ise kısa tekrarlar (≤ 8 tekrar) yüksek SHBG düzeyleriyle kayda değer bir ilişki içindedir. KKH grubumuzda SHBG düzeyleriyle HDL-K düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur ve bu ilişkinin SHBG (TAAAA)n polimorfizminden ve tekrar sayısının sigara kullanımı ile birlikte olan etkisinden etkilenebileceği düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Koroner kalp hastalığı, cinsiyet hormonu bağlayıcı globülin, TAAAA pentanükleotid tekrar polimorfizmi.

The Effects of the SHBG Gene (TAAAA)n Pentanucleotide Repeats Numbers on Serum SHBG and Lipid Levels in Men with Coronary Heart Disease

Abstract

Aim: One of the important regulators of the High-Density Lipoprotein Cholesterol (HDL-C) is sex hormones. Sex hormone binding globulin (SHBG) is a determining factor for the bioactive free sex hormones. Serum SHBG concentration is positively associated with HDL-C levels and under the genetic control. A (TAAAA)n pentanucleotide repeats polymorphism (rs35785886) was identified in Alu sequence in 5' promotor of human SHBG gene. A correlation has been reported between repeat numbers and blood SHBG concentrations. In the present study, our aim was to investigate the (TAAAA)n pentanucleotide repeat polymorphism and its association with SHBG protein and HDL-C levels in Turkish men with Coronary Heart Disease (CHD).

Method: SHBG (TAAAA)n pentanucleotide repeat polymorphism was studied by polyacrylamide gel electrophoresis after polymerase chain reaction (PCR) in 75 men with

CHD and 50 healthy men in Turkish population. Serum SHBG levels were measured by electro-chemiluminescence method.

Findings: The frequency of (TAAAA) six repeats allele was higher in controls ($p=0.002$, GR:0.293 (95% CI=0.133-0.649)). In control group without six repeats allele, serum triglyceride levels were higher than in controls with six repeats allele ($p=0.048$). While serum SHBG levels were higher in short repeat (≤ 8 repeats) allele carriers ($p=0.006$) in control group, serum SHBG levels were higher in patients with six repeat allele ($p=0.027$). HDL-C/LDL-C ratio ($p=0.027$) and mean systolic blood pressure ($p=0.008$) were observed higher in patients with 8 repeat allele compared to patients without 8 repeat allele. There was a significant decrease in serum SHBG by the smoking effect in long-repeat allele carriers in CHD group ($p=0.024$).

Conclusion: SHBG (TAAAA) 6 repeats-allele in CHD group and short repeats (≤ 8 repeats) in control group were in a remarkable association with high SHBG levels. Our findings suggest that there is a positive association between SHBG levels and HDL-C levels in the CHD group and this association may be affected by the SHBG (TAAAA)n polymorphism and the effects of an interaction between repeat numbers and smoking.

Keywords: Coronary heart disease, sex hormone binding globulin, TAAAA pentanucleotide repeat polymorphism.

Giriş

Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) serum düzeyleri koroner kalp hastalığı (KKH) gelişim riskiyle ters ilişkilidir¹. “Türk Kalp Çalışmasında”, HDL-K düzeylerinin Türk yetişkinlerde Avrupa ve Kuzey Amerikalılardan 10-15 mg/dl daha düşük olduğu ve Türk erkeklerinin %50’sinin, Türk kadınlarının ise %25’inde HDL-K düzeylerinin 35 mg/dl’nin altında bulunduğu bildirilmiştir. Almanya ve Amerika’da yaşayan Türklerde de benzer bulgular elde edildiğinden Türklerdeki düşük HDL-K düzeyinin daha çok genetik orijinli olduğu düşünülmektedir².

Cinsiyet hormonları HDL-K düzeyinin önemli düzenleyicileri arasındadır. Testosteronun erkek pubertesinde ve testosteron tedavisi alan hipogonodal erkeklerde HDL-K düzeyini azalttığı ve baskılanmış testosteronlu bireylerde HDL-K düzeyinin arttığı bildirilmiştir¹. Cinsiyet hormon bağlayıcı globülin

(SHBG) biyoaktif serbest cinsiyet hormonlarının önemli bir belirleyicisidir. SHBG serum konsantrasyonu kısmen genetik kontrol altındadır ve HDL-K düzeyleri ile pozitif ilişkilidir. Ayrıca, SHBG düzeylerindeki azalma hiperinsülinemi, dislipidemi ve obezite ile de ilişkili bulunduğundan, SHBG'nin düşük HDL-K üzerindeki önemi araştırılmaya değerdir^{1, 3}.

SHBG karaciğer tarafından üretilen 373 aminoasitli homodimerik bir plazma glikoproteinidir⁴⁻⁶. İnsanlarda kan SHBG konsantrasyonu seks steroidlerine selektivitesi ve yüksek afinitesi nedeniyle, dokulara giren ve hedef hücrelerine pasif difüzyonla ulaşan serbest androjen ve östrojen düzeylerinin belirleyicisidir⁵. SHBG ayrıca seks steroid hormonlarının metabolik temizlenmesi⁵⁻⁷ ve hedef dokulara girişinin başlıca düzenleyicisidir. Bu nedenle, plazma SHBG seviyelerinin ölçülmesi kanda dolaşan proteine bağlı olmayan (serbest) seks steroidlerinin miktarlarının tahminini sağlamaktadır⁷. Bazı dokuların ekstrasellüler kompartımanında plazma SHBG'nin hedef hücre seviyesinde seks steroidlerinin biyolojik aktivitelerini etkileyebileceği muhtemeldir.

SHBG geni 17. kromozomun kısa kolunda p12-p13 bölgesinde yerleşiktir. Yedi kısa intronla ayrılan sekiz ekzona sahiptir⁸⁻¹⁰. Genomik DNA'nın 3,2 kb'ını kapsamaktadır⁷. İnsan SHBG geninin promotörünün 5' (upstream) bölgesinde bir Alu dizisi içinde (TAAAA)n pentanükleotid tekrar polimorfizmi (rs35785886) tanımlanmıştır^{11,12}. (TAAAA) tekrar sayısı bireyler arasında yüksek oranda değişkendir ve 6-11 (TAAAA) tekrar sayılı 6 allel saptanmıştır. Bu polimorfizmin dağılımı popülasyonlar arasında büyük ölçüde değişmektedir¹¹. Pek çok çalışma tekrar sayısı ve kanda SHBG konsantrasyonları arasında bir korelasyon tanımlamışlardır^{6,13}. Mekanik olarak SHBG promotörünün transkripsiyonel aktivitesi tekrar sayısına bağlı olduğu gösterilmiştir. 46kDa nükleer faktörün bu diziyeye bağlandığı ve bu bağlanmanın tekrar sayısına bağlı olduğu da gösterilmiştir¹².

Çalışmamızda, Türk toplumundaki koroner kalp hastalarında ve sağlıklı kontrollerde, SHBG geninde yer alan pentanükleotid (TAAAA)n tekrar polimorfizmi, SHBG proteini ve HDL-K düzeyleriyle ilişkisinin incelenmesi

amaçlanmıştır. Elde edilen veriler ışığında, koroner kalp hastalarında SHBG gen pentanükleotid (TAAAA)n tekrar polimorfizminin ve serum protein seviyesinin hastalığa yatkınlık, düşük HDL-K düzeyi ve diğer klinik parametrelerle ilişkisi irdelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Bölümü tarafından takip edilen 75 KKH olan erkek bireyler hasta grubunu oluşturmaktadır. Herhangi bir iskemik kalp hastalığı bulgusu, hipertansiyon, lipid anomalisi, metabolik rahatsızlık (DM, böbrek yetersizliği, KC yetersizliği vs.), ailede bilinen erken yaş iskemik kalp hastalığı, lipid metabolizma bozukluğu ve hipertansiyon bulgusu olmayan 50 erkek kontrol grubuna alınmıştır. Çalışmamız İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınan 2010/687-179 sayılı etik kurul kararınca gerçekleştirilmiştir.

Serum SHBG protein düzeyleri Elektrokemilüminesan immunoassay (ECLIA) metoduyla ölçülmüştür. Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA izolasyonları DNA izolasyon kiti (High Pure Roche) ile yapılmıştır. (TAAAA) pentanükleotid tekrar sayıları, uygun primerler kullanılarak yapılan PZR reaksiyonunun ardından %12'lik denatüre edici poliakrilamid jelde yürütülerek belirlenmiştir.

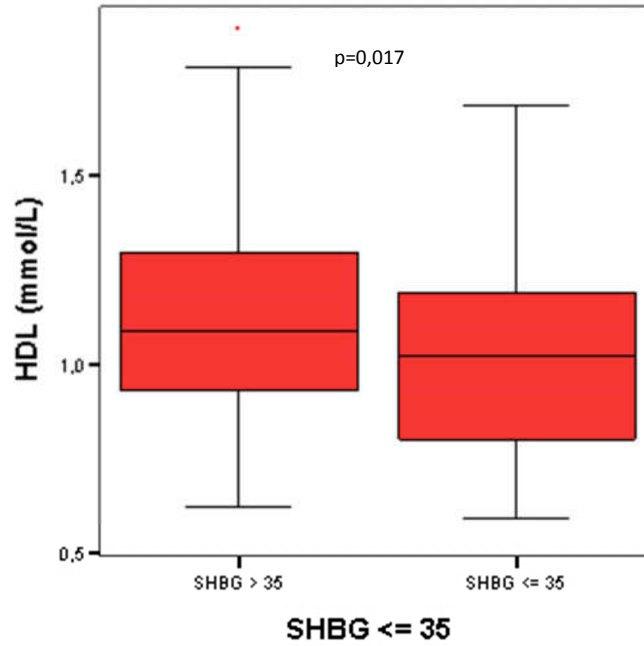
Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SSPS 13,0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak değerlendirilmiştir. Allel frekansı hesaplamalarında gen sayma yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular

Serum SHBG düzeyleri ile HDL-K ilişkisini incelediğimizde, KKH grubunda serum SHBG düzeyi 35 nmol/l'den yüksek olan bireylerde serum HDL-K düzeylerinin 0,90 mmol/l'den yüksek olma oranı istatistiksel olarak anlamlı

derecede ilişkili gözlenmiştir ($\chi^2=5,715$, $p=0,017$; GR: 2,522, %95 GA: 1,170-5,438) (Şekil-1). Kontrol grubunda ise serum SHBG düzeyleri ile HDL-K düzeyleri arasında hasta grubundakine benzer bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$). Tablo1’de verilen SHBG geni (TAAAA)n tekrar polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarına göre, kontrol grubunda (TAAAA) 6 tekrar allel frekansı KKH grubuna göre yüksektir ($p=0,002$).

Şekil 1: Serum SHBG düzeyleriyle HDL-K düzeyleri arasındaki pozitif ilişkinin gösterilmesi ($p=0,017$).



TAAAA tekrar allel ve genotiplerinin serum lipit profiliyle olan ilişkileri Tablo 2 ve Tablo 3’te gösterilmiştir. Kontrol grubunda 6 tekrar alleli taşımayanlarda serum trigliserit düzeyi 6 tekrar taşıyanlara göre yüksek gözlenmiştir ($p=0,048$) (Tablo 2). 9 tekrar alleli taşıyan kontrol örneklerinde serum trigliserit ($p=0,166$) ve VLDL-K ($p=0,001$) düzeyleri yüksek iken HDL-K/LDL-K oranı düşük bulunmuştur ($p=0,018$). Kısa tekrar allellerini (≤ 8 tekrar) taşıyan kontrol örneklerinde serum SHBG düzeyi yüksek iken ($p=0,006$), serum trigliserit ($p=0,067$) ve VLDL-K ($p=0,040$) düzeyleri düşük gözlenmiştir (Tablo 3). Hasta grubunda 6 tekrar taşıyan bireylerde taşımayanlara göre serum SHBG düzeyi

anlamli olarak yuiksek bulunmuştur ($p=0,027$). 8 tekrar alleli olan hastalarda 8 tekrar alleli bulunmayanlara göre HDL-K/LDL-K oranı ($p=0,027$) ve sistolik kan basıncı ortalaması ($p=0,008$) düzeyleri istatistiksel anlamli seviyede düşük gözlenmiştir (Tablo 2).

Şekil 2'de verilen grafikte KKH grubunda serum SHBG düzeylerinin 6 tekrar allelini taşıyanlarda en yüksek olduğunu göstermekteyiz ($p=0,027$).

Tablo 1: Çalışma gruplarında SHBG TAAAA Pentanükleotid Tekrar Polimorfizminin Dağılımı

TAAAA		Kontrol (n (%))	KKH Hasta(n(%))
	6/6	3 (6,0)	6 (8,0)
6 tekrar	6/X	20 (40,0)	9 (12,0)
	X/X	27 (54,0)	60 (80,0)
6 tekrar+ allel		23 (46,0)*	15 (20,0)
6 tekrar - allel		27 (54,0)	60 (80,0)
	7/7	3 (6,0)	10 (13,3)
7 tekrar	7/X	17 (34,0)	16 (21,3)
	X/X	30 (60,0)	49 (65,3)
7 tekrar+ allel		20 (40,0)	26 (34,7)
7 tekrar - allel		30 (60,0)	49 (65,3)
	8/8	3 (6,0)	13 (17,3)
8 tekrar	8/X	12 (24,0)	18 (24,0)
	X/X	35 (70,0)	44 (58,7)
8 tekrar+ allel		15 (30,0)	31 (41,3)
8 tekrar - allel		35 (70,0)	44 (58,7)
	9/9	4 (8,0)	9 (12,0)
9 Tekrar	9/X	7 (14,0)	13 (17,3)
	X/X	39 (78,0)	53 (70,7)
9 tekrar+ allel		11 (22,0)	22 (29,3)
9 tekrar - allel		39 (78,0)	53 (70,7)
	10/10	3 (6,0)	1 (1,3)
10 tekrar	10/X	7 (14,0)	13 (17,3)

	X/X	40 (80,0)	61 (81,3)
10 tekrar+ allel		10 (20,0)	14 (18,7)
10 tekrar - allel		40 (80,0)	61 (81,3)
	11/11	-	-
11 tekrar	11/X	5 (10,0)	2 (2,7)
	X/X	45 (90,0)	73 (97,3)
11 tekrar+ allel		5 (10,0)	2 (2,7)
11 tekrar - allel		45 (90,0)	73 (97,3)
Kısa tekrar (≤ 8 tekrar) / Uzun Tekrar (> 8 tekrar)			
Kısa tekrar		40 (80,0)	60 (80,0)
Uzun tekrar		10 (20,0)	15 (20,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arası önemlilik derecesi Kikare testi ile incelenmiştir.

KKH: Koroner kalp hastaları, n: örnek sayısı, *p=0,002 GR:0,293 (%95 GA= 0,133-0,649)

Tablo 2: SHBG TAAAA kısa tekrar allellerinin (≤ 8 tekrar) çalışma gruplarında SHBG düzeyleri, Serum lipit profili ve kan basınçları üzerine etkisi

GRUP	SHBG TAAAA					
	6 Tekrar +	6 Tekrar -	7 Tekrar+	7 Tekrar -	8 Tekrar+	8 Tekrar -
KONTROL						
SHBG	38,96±25,99	33,70±17,81	35,84±20,84	36,38±22,63	39,72±20,28	34,75±22,41
Total-K (mmol/L)	5,03±1,37	5,31±1,15	4,91±1,09	5,37±1,36	5,50±1,39	5,03±1,19
TG (mmol/L)	1,42±0,48	1,91±1,02 *	1,64±0,43	1,68±1,04	1,50±0,48	1,74±0,94
HDL-K (mmol/L)	1,08±0,32	1,01±0,29	1,01±0,28	1,08±0,33	1,03±0,31	1,06±0,31
LDL-K (mmol/L)	3,20±0,88	3,27±0,82	3,04±0,40	3,77±0,97	3,29±0,57	3,23±0,93

VLDL-K (mmol/L)	0,68±0,22	0,84±0,45	0,73±0,22	0,78±0,44	0,63±0,22	0,82±0,39
Total-K/HDL-K	5,03±1,99	5,66±2,10	5,18±1,86	5,48±2,21	5,75±2,20	5,17±1,99
HDL-K/LDL-K	0,40±0,11	0,35±0,11	0,39±0,09	0,35±0,11	0,39±0,09	0,35±0,12
SKB (mmHg)	128,70±19,61	136,09±22,1	134,00±22,1	131,15±17,05	134,29±23,10	131,56±20,34
DKB (mmHg)	75,00±15,00	80,43±16,23	79,75±18,60	76,15±13,21	82,86±15,78	75,46±15,36
KKH						
SHBG	46,41±15,13*	36,92±14,49	40,38±13,56	37,99±15,80	35,65±16,69	41,04±18,46
Total-K (mmol/L)	4,35±1,02	4,55±1,23	4,43±1,16	4,56±1,08	4,62±1,15	4,44±1,07
TG (mmol/L)	1,48±0,76	1,58±0,61	1,54±0,70	1,57±0,61	1,60±0,56	1,52±0,69
HDL-K (mmol/L)	1,16±0,22	1,10±0,27	1,12±0,24	1,11±0,28	1,09±0,27	1,12±0,26
LDL-K (mmol/L)	2,64±0,90	2,80±0,88	2,72±0,99	2,79±0,82	2,93±0,79	2,65±0,92
VLDL-K (mmol/L)	0,64±0,23	0,69±0,28	0,69±0,26	0,67±0,23	0,73±0,22	0,64±0,25
Total-K/HDL-K	3,82±0,93	4,32±1,22	4,05±1,01	4,31±1,26	4,41±1,13	4,09±1,21
HDL-K/LDL-K	0,49±0,19	0,42±0,15	0,47±0,21	0,42±0,13	0,39±0,12*	0,47±0,18
SKB (mmHg)	126,67±8,99	124,00±12,91	127,31±12,82	123,06±11,76	120,32±9,48**	127,50±13,14
DKB (mmHg)	77,33±5,94	74,83±8,13	76,54±8,92	74,69±7,10	73,87±8,82	76,36±6,85

Tablodaki değerler $X \pm SD$ olarak verilmiştir. Gruplar arası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Student's t testi ile incelenmiştir.

Total-K: Total kolesterol, TG: Trigliserit, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K: LDL-kolesterol, VLDL-K : VLDL-kolesterol, SKB : Sistolik kan basıncı, DKB : Diastolik kan basıncı, * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$.

Tablo 3: SHBG TAAAA uzun tekrar allellerinin (>8 tekrar) çalışma gruplarında SHBG düzeyleri, Serum lipit profili ve kan basınçları üzerine etkisi

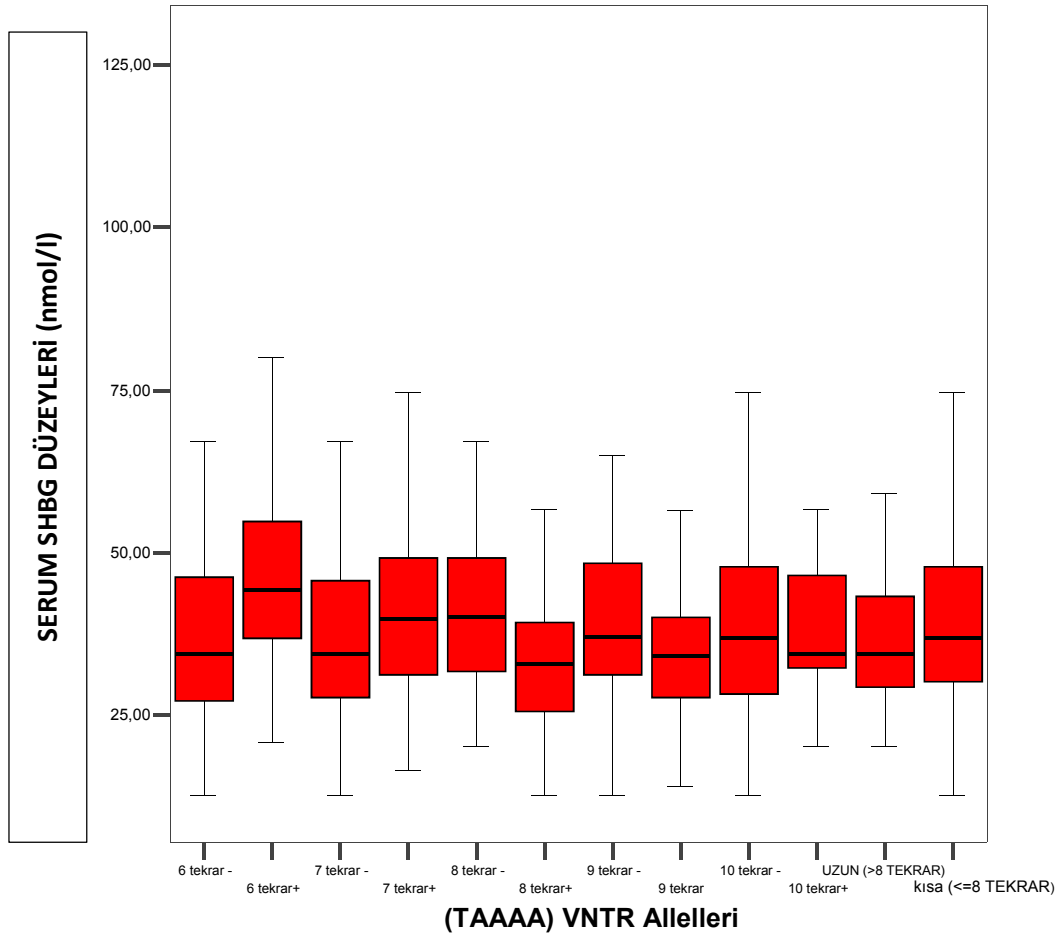
GRUP	SHBG TAAAA					
	9 Tekrar +	9 Tekrar -	10 Tekrar+	10 Tekrar -	Kısa Tekrar (≤8)	Uzun Tekrar (>8)
KONTROL						
SHBG	32,44±16,10	37,25±23,18	31,13±9,00	37,46±23,86	38,77±23,44*	26,01±7,30
Total-K (mmol/L)	5,50±1,33	5,09±1,25	5,33±1,08	5,14±1,31	5,07±1,19	5,71±1,38
TG (mmol/L)	2,26±1,45	1,52±0,52	1,64±0,73	1,67±0,85	1,48±0,47	2,72±1,47
HDL-K (mmol/L)	1,07±0,35	1,04±0,30	1,14±0,30	1,03±0,31	1,06±0,32	0,99±0,28
LDL-K (mmol/L)	3,64±0,80	3,07±0,78	3,20±1,08	3,27±0,70	3,26±0,65	3,23±1,16
VLDL-K (mmol/L)	1,11±0,56*	0,68±0,24	0,77±0,33	0,76±0,37	0,67±0,22*	1,25±0,59
Total-K/HDL-K	5,52±1,77	5,30±2,15	5,18±2,51	5,38±1,98	5,18±1,90	6,29±2,73
HDL-K/ LDL-K	0,29±0,08*	0,40±0,10	0,39±0,12	0,35±0,10	0,38±0,09	0,34±0,13
SKB (mmHg)	136,67±15,00	131,35±22,26	127,50±17,53	133,42±21,72	132,05±21,79	134,28±17,18
DKB (mmHg)	75,00±12,55	78,37±16,42	74,38±14,5	78,42±16,03	78,20±15,87	75,00±15,55
KKH						
SHBG	35,50±13,12	40,19±15,63	37,58±9,91	39,10±16,00	39,21±15,49	37,24±13,26
Total-K (mmol/L)	4,64±0,97	4,46±1,16	4,35±0,86	4,55±1,15	4,42±1,22	4,89±0,96
TG (mmol/L)	1,52±0,48	1,57±0,70	1,64±0,69	1,54±0,63	1,57±0,67	1,51±0,52
HDL-K (mmol/L)	1,06±0,24	1,13±0,27	1,09±0,27	1,11±0,26	1,11±0,25	1,12±0,32
LDL-K (mmol/L)	2,77±0,83	2,76±0,90	2,40±0,77	2,85±0,89	2,72±0,87	2,94±0,91
VLDL-K (mmol/L)	0,66±0,21	0,68±0,25	0,66±0,27	0,68±0,23	0,69±0,24	0,62±0,23
Total-K/HDL-K	4,54±1,31	4,09±1,11	4,26±1,73	4,21±1,03	4,11±1,08	4,65±1,48
HDL-K/ LDL-K	0,40±0,10	0,45±0,18	0,48±0,13	0,42±0,17	0,45±0,17	0,39±0,09
SKB (mmHg)	126,81±15,54	123,58±10,58	125,71±14,53	124,26±11,76	124,33±11,84	125,33±14,07
DKB (mmHg)	75,00±8,59	75,47±7,49	75,71±5,14	75,25±8,29	75,50±8,32	74,67±5,16

Tablodaki değerler $X \pm SD$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Student's t testi ile incelenmiştir.

Total-K: Total kolesterol, TG: Trigliserit, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K: LDL-kolesterol, VLDL-K: VLDL-kolesterol, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diastolik kan basıncı.

* : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$.

şekil 2: Hasta grubunda Serum SHBG düzeyleriyle (TAAAA) allellerinin ilişkisi



KKH grubunda TAAAA allellerinin sigara ile birlikte serum SHBG düzeylerini nasıl etkilediğini incelediğimizde; 6 tekrar allelinin varlığında yüksek olan

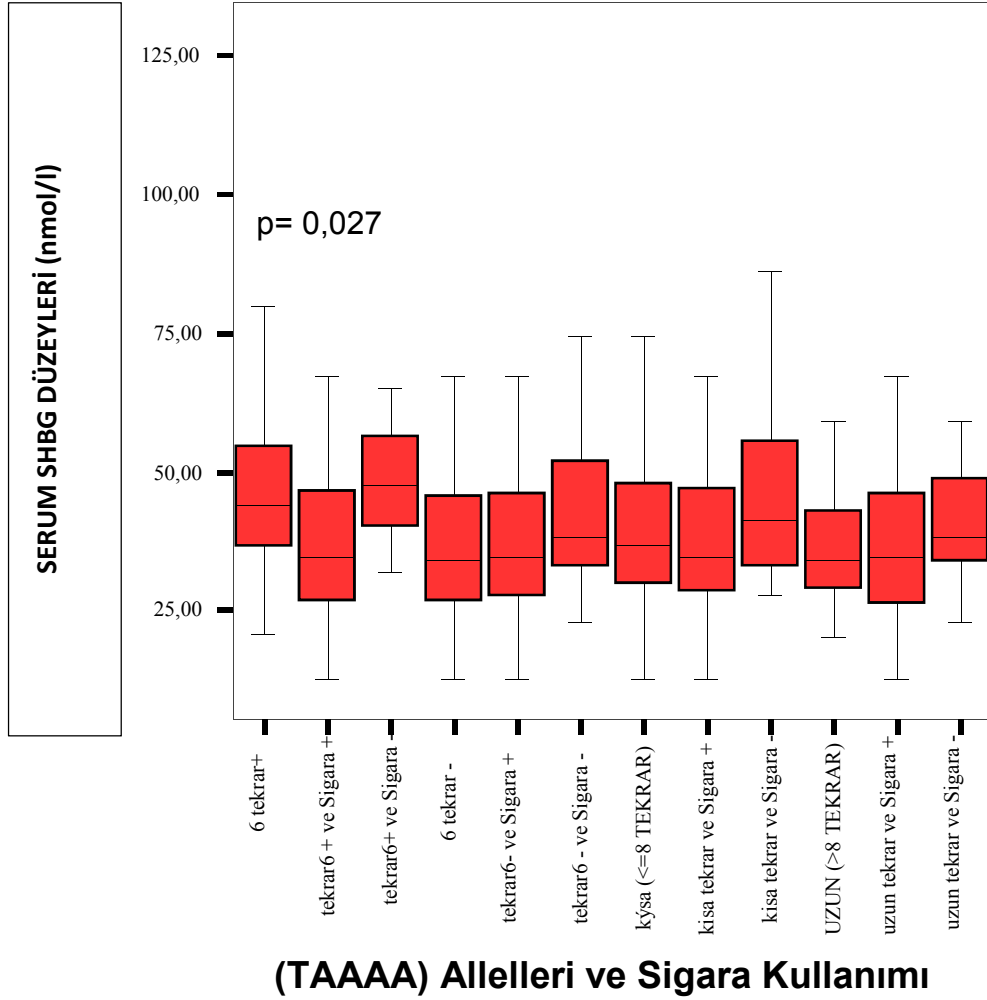
SHBG'nin düzeylerinin sigara kullanımı ile birlikte azaldığını gözlemledik ($p>0,05$) (Şekil 3) (Tablo 4). Buna karşın uzun tekrar alleli taşıyanlarda sigara etkisiyle birlikte serum SHBG seviyelerinde anlamlı bir düşüş olmuştur ($p=0,024$) (Tablo 4). Kontrol grubunda serum SHBG düzeylerinin kısa tekrar allellerini (≤ 8 Tekrar) taşıyanlarda en yüksek olduğunu göstermekteyiz ($p<0,01$) (Şekil 4). Ancak kontrol grubunda kısa tekrar allellerinin serum SHBG düzeyleri üzerindeki bu olumlu etkisinin sigara kullanmayan kontrollerde artış eğilimi gösterirken sigara kullananlarda azalmaya eğilim göstermektedir ($p>0,05$).

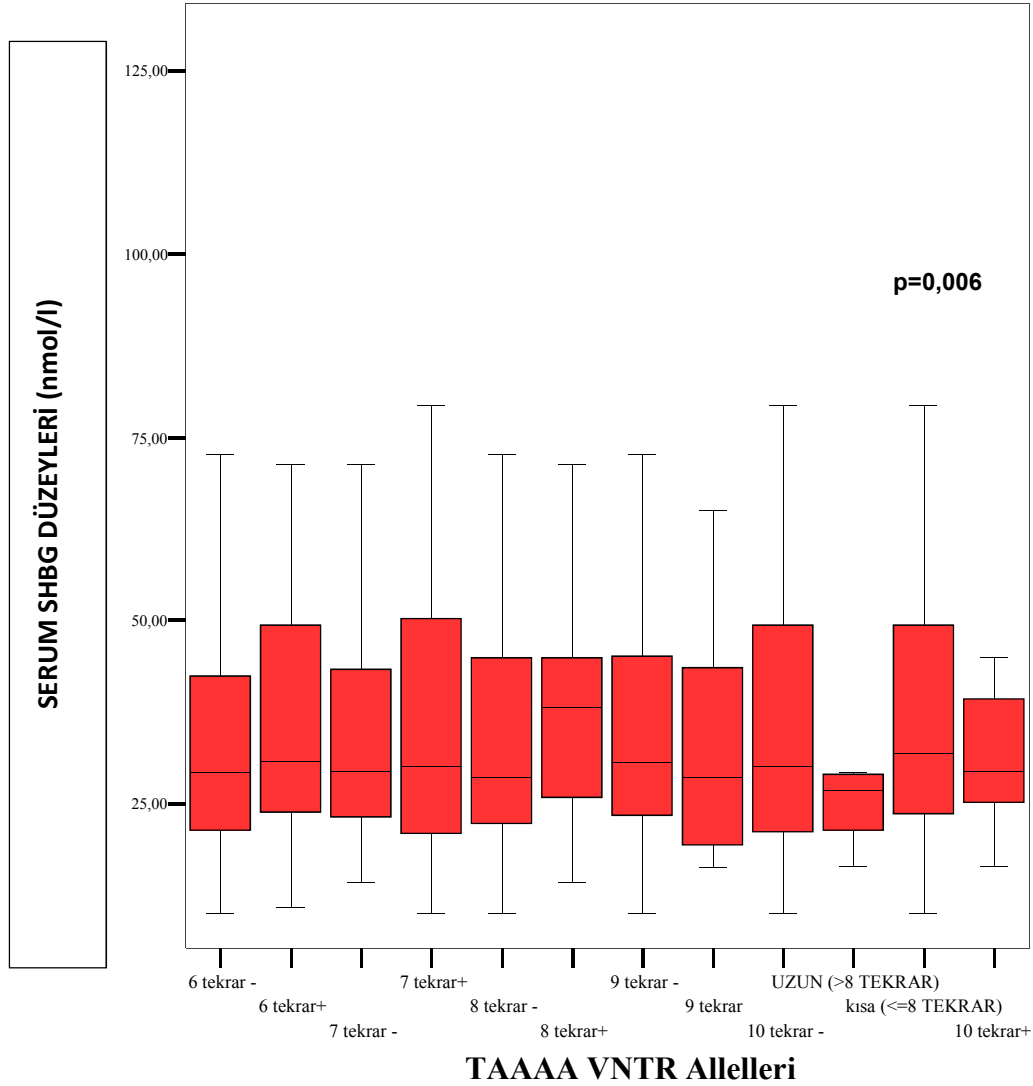
Tablo 4: KKH hasta grubunda Serum SHBG düzeylerine TAAAA alellerinin ve sigarayla birlikte olan etkileri

	Serum SHBG düzeyleri	P değeri
6 tekrar alleli +	46,41±15,13	0,027
6 tekrar alleli -	36,92±14,49	0,027
6 tekrar alleli + ve sigara kullanımı	37,59±15,34	0,153
6 tekrar alleli - ve sigara kullanımı	37,94±15,77	0,125
Uzun tekrar alleli +	37,23±13,26	0,652
Kısa tekrar alleli +	39,21±15,49	0,652
Uzun tekrar alleli + ve sigara kullanımı	37,06±15,12	0,024
Kısa tekrar alleli + ve sigara kullanımı	38,423±15,94	0,782

Tablodaki değerler X+SD olarak verilmiştir. Gruplar arası önemlilik derecesi alleller arasında student's t testi ile incelenmiştir.

Şekil 3: KKH hastalarında (TAAAA) allellerinin sigarayla birlikte serum SHBG düzeylerindeki değişime etkisi



Şekil 4: Kontrol grubunda Serum SHBG düzeyleriyle (TAAAA) allellerinin ilişkisi

Tartışma ve Sonuç

Hastalık patolojileriyle bağlantı gösteren küçük tekrar sayılı pek çok polimorfik ardışık tekrar bölgeleri tanımlanmıştır. Bunlardan biri, ardışık tekrar değişken sayısı (variable number tandem repeats (VNTR)) olarak bilinen kısa tekrar üniteleridir. Promotör VNTR örneklerinden SHBG promotöründeki (TAAAA)n tekrar sayılarındaki bir artış kardiyak arter hastalıklarıyla bağlantılı bulunmuştur¹⁴.

KKH olan menopoz sonrası kadınlarda SHBG geni TAAAA 6, 8 ve 9 tekrarlarının daha fazla olduğu bildirilmiştir¹⁵. Hastalarda uzun allel sıklığı yüksek, kısa allel kabul edilen 6 tekrar allelinin sıklığı ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur¹⁵. Tekrar genotipleri ile KAH şiddeti arasında da anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. SHBG geni TAAAA tekrar polimorfizmi ile dolaşımdaki SHBG seviyeleri arasında ise bir ilişki bulamamışlardır¹⁵.

Vonbillemont ve arkadaşları, genç, orta yaşlı ve yaşlı sağlıklı erkeklerde yaptıkları çalışmada her yaş grubu için 6 tekrar allelini taşıyanlarda taşımayanlara göre SHBG konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir⁴. Eriksson ve ark. İsveçli yaşlı ve genç erişkin erkeklerde yaptıkları 2 kohort çalışmasında, (TAAAA) polimorfizmini genç erişkin ve yaşlı erkeklerde serum SHBG düzeyleriyle belirgin olarak ilişkili bulmuşlardır¹⁶. CARDIA erkek hormon çalışmasında genç erişkin siyah ve beyaz erkeklerde (TAAAA) 6, 8 ve 9 pentanükleotid tekrarlarının çok yaygın olduğu bulunmuştur. 6 tekrar allelinin beyazlarda 8 tekrar allelinin ise siyahlarda (%58) beyazlara (%38) göre daha yüksek sıklıkta bulunduğunu bildirmişlerdir. Homozigot 6 tekrar alleli olan erkeklerde diğer genotiplere göre anlamlı olarak daha yüksek SHBG seviyeleri gözlemlenmiştir¹⁷. Hogeveen ve arkadaşları ise 6 tekrar allelinin düşük SHBG konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir¹². Saltiki ve ark. TAAAA tekrar uzunluğunun ateroskleroz erken belirteçleriyle ilişkili olduğunu ve uzun allel taşıyanlarda azalmış endotel bağımlı dilatasyon (FMD, flow mediated dilatation) ile ölçülen endotel fonksiyon bozukluğu olduğunu göstermişlerdir. Uzun tekrar alleli olan postmenopozal kadınlarda KAH riskinin arttığını bildirmişlerdir. Ancak SHBG düzeyleriyle SHBG genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır¹⁸.

Çalışmamızda kontrol grubunda (TAAAA) 6 tekrar alleli taşıyanlarda serum trigliserid düzeyi düşük, kısa tekrar (≤ 8 tekrar) alleli taşıyanlarda trigliserid ve VLDL-K düzeyleri düşük iken, 9 tekrar alleli taşıyanlarda trigliserid ve VLDL-K düzeyleri yüksek gözlenmiştir. Kontrol grubunda ayrıca kısa tekrar alleli taşıyanların daha yüksek SHBG düzeylerine sahip olduğunu gözlenmiştir. Buna karşın 9 tekrar alleli taşıyanlarda HDL-K/ LDL-K oranının düşük olduğunu

saptanmıştır. Bu bulgularımız kontrol grubunda (TAAAA) 6 tekrar allelinin anlamlı olarak yüksek gözlenmesi ile birlikte ele alındığında, (TAAAA) 6 tekrar allelinin KKH riski açısından koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

Hasta grubumuzda ise (TAAAA) 6 tekrar alleli taşıyan bireylerde serum SHBG düzeylerini anlamlı olarak yüksek iken ($p=0,027$); 8 tekrar alleli olan hastalarda HDL-K/LDL-K oranı ($p=0,027$) ve sistolik kan basıncı düzeyleri ($p=0,008$) anlamlı derecede düşük gözlenmiştir. Bulgularımız KKH hasta grubunda da kontrol grubumuzda benzer şekilde 6 tekrar allelinin SHBG seviyeleri üzerindeki pozitif etkisine işaret etmektedir. Bulgumuz, Hogeveen ve arkadaşlarının¹² bulgularıyla çelişki gösterirken, CARDIA çalışmasıyla¹⁷ ve Vonbillemont ve ark.'nın⁴ sonuçlarıyla uyumludur. Yunan toplumunda yapılan bir çalışmada ise diğer toplumlardakine benzemeksizin SHBG (TAAAA) ile SHBG seviyeleri arasında bir ilişki olmadığı önerilmiştir¹⁵.

KKH grubumuzda TAAAA tekrar allellerinin sigara kullanımına bağlı olarak serum SHBG düzeyleri üzerindeki etkisine baktığımızda ise; 6 tekrar allelinin varlığında yüksek olan serum SHBG düzeyleri sigara kullanımı ile birlikte azaldığı saptanmıştır, ancak bu azalma istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p>0,05$). Buna karşın uzun tekrar alleli taşıyanlarda sigara etkisiyle birlikte serum SHBG seviyelerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p=0,024$).

Kontrol grubunda serum SHBG düzeylerinin TAAAA kısa tekrar allellerini (≤ 8 tekrar) taşıyanlarda en yüksek olduğunu göstermekteyiz ($p<0,01$). Kısa tekrar allellerinin (≤ 8 tekrar) serum SHBG düzeyleri üzerindeki bu olumlu etkisi sigara kullanmayan kontrollerde artış eğilimi gösterirken sigara kullananlarda azalmaya eğilim göstermektedir. Ancak bu bulgularımız istatistiksel anlamlılığa erişememiştir ($p>0,05$).

Genel olarak baktığımızda, sigara kullanımının SHBG genotiplerinin SHBG seviyelerini arttırıcı etkisini olumsuz, yani artan SHBG düzeylerini azaltıcı yönde etki gösterdiğini saptadık. Bu açıdan sigara kullanımının serum SHBG düzeyleriyle ters ilişkili olduğunu söyleyebiliriz. Bu bulgumuz Jacquish ve

arkadaşlarının San Antonio Aile Kalp Çalışması'nda sigara içenlerde SHBG düzeylerini anlamlı olarak yüksek olarak tespit ettikleri bulgularıyla uyumlu değildir¹⁹.

Ayrıca SHBG pentanükleotid tekrarı olan gen varyasyonunun SHBG düzeyleri üzerinde etkisini değerlendirdiğimizde KKH grubunda SHBG (TAAAA) 6 tekrar alleli, kontrollerde ise kısa tekrarların (≤ 8 tekrar) yüksek SHBG düzeyleriyle ilişkisi dikkat çekicidir.

Sonuç olarak, bulgularımız KKH hasta grubumuzda SHBG düzeyleriyle HDL-K düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunduğu ve bu ilişkinin SHBG geni (TAAAA) tekrar varyasyonlarından etkilenebileceği yönündedir. Çalışmamız koroner kalp hastalarında SHBG (TAAAA) tekrar varyasyonları, SHBG düzeyleri ve serum lipitlerinin bir arada incelendiği dünya literatüründeki ilk araştırmadır. Çalışmamızı daha büyük bir ölçeğe taşıyarak elde ettiğimiz bulguları güçlendirmeyi ve bu şekilde toplumumuzda SHBG gen varyasyonlarının SHBG ve aterojenik/antiaterojenik lipid profili ile ilişkisini daha kesin bir şekilde söyleyebilmeyi amaçlıyoruz.

KAYNAKLAR

1. Hergenc G, Schulte H, Assmann G, von Eckardstein A. Associations of obesity markers, insulin, and sex hormones with HDL-cholesterol levels in Turkish and German individuals. *Atherosclerosis*. 1999;145:147–156.
2. Mahley RW, Arslan P, Pekcan G, Pépin GM, Ağaçdiken A, Karaağoğlu N, Rakicioğlu N, Nursal B, Dayanikli P, Palaoğlu KE, Bersot TP. Plasma lipids in Turkish children: Impact of puberty, socioeconomic status and nutrition on plasma cholesterol and HDL. *J Lipid Res*. 2001;42(12):1996-2006.
3. Yasui T, Uemura H, Irahara M, Arai M, Kojimahara N, Okabe R, Ishii Y, Tashiro S, Sato H. Associations of endogenous sex hormones and sex

- hormone-binding globulin with lipid profiles in aged Japanese men and women. *Clin Chim Acta*. 2008;398(1-2):43-7.
Doi:10.1016/j.cca.2008.08.006.
4. Vanbillemont G, Bogaert V, De Bacquer D, Lapauw B, Goemaere S, Toye K, Van Steen K, Taes Y, Kaufman JM. Polymorphisms of the SHBG gene contribute to the interindividual variation of sex steroid hormone blood levels in young, middle-aged and elderly men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;70(2):303-310.
 5. Avvakumov GV, Cherkasov A, Muller YA, Hammond GL. Structural analyses of sex hormone-binding globulin reveal novel ligands and function. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316(1):13-23.
 6. Cousin P, Calemard-Michel L, Lejeune H, Raverot G, Yessaad N, Emptoz-Bonneton A, Morel Y, Pugeat M. Influence of SHBG gene pentanucleotide TAAAA repeat and D327N polymorphism on serum sex hormone-binding globulin concentration in hirsute women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):917-924.
 7. Pugeat M, Nader N, Hogeveen K, Raverot G, Déchaud H, Grenot C. Sex hormone-binding globulin gene expression in the liver: Drugs and the metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316(1):53-59.
 8. Hoppé E, Bouvard B, Royer M, Audran M, Legrand E. Sex hormone-binding globulin in osteoporosis. *Joint Bone Spine*. 2010;77(4):306-312.
 9. Misao R, Nakanishi Y, Fujimoto J, Tamaya T. Expression of sex hormone-binding globulin exon VII splicing variant mRNA in human uterine myometrium and leiomyoma. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1997;63(4-6):269-274.
 10. Liska F, Gösele C, Kren V, Hübner N, Krenová D. Molecular analysis of the sex hormone-binding globulin gene in the rat hypodactylous mutation (Hd). *Folia Biol (Praha)*. 2004;50(2):63-68.
 11. Xita N, Tsatsoulis A. Genetic variants of sex hormone-binding globulin and their biological consequences. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316(1):60-65.

12. Hogeveen KN, Talikka M, Hammond GL. Human sex hormone-binding globulin promoter activity is influenced by a (TAAAA)_n repeat element within an alu sequence. *J Biol Chem*. 2001;276(39):36383–36390.
13. Thompson DJ, Healey CS, Baynes C, Kalmyrzaev B, Ahmed S, Dowsett M, Folkerd E, Luben RN, Cox D, Ballinger D, Pharoah PD, Ponder BA, Dunning AM, Easton DF and the SEARCH team. Identification of common variants in the SHBG gene affecting sex hormone-binding globulin levels and breast cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(12):3490-3498.
14. Usdin K. The biological effects of simple tandem repeats: lessons from the repeat expansion diseases. *Genome Res*. 2008;18(7):1011-1019.
15. Alevizaki M, Saltiki K, Xita N, Cimponeriu A, Stamatelopoulos K, Mantzou E, Doukas C, Georgiou I. The importance of the (TAAAA)_n alleles at the SHBG gene promoter for the severity of coronary artery disease in postmenopausal women. *Menopause*. 2008;15(3):461-468.
16. Eriksson AL, Lorentzon M, Mellström D, Vandenput L, Swanson C, Andersson N, Hammond GL, Jakobsson J, Rane A, Orwoll ES, Ljunggren Ö, Johnell O, Labrie F, Windahl SH, Ohlsson C. SHBG gene promoter polymorphisms in men are associated with serum sex hormone-binding globulin, androgen and androgen metabolite levels and hip bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(12):5029-5037.
17. Turk A, Kopp P, Colangelo LA, Urbanek M, Wood K, Liu K, Skinner HG, Gapstur SM. Associations of serum sex hormone binding globulin (SHBG) levels with SHBG gene polymorphisms in the CARDIA Male Hormone Study. *Am J Epidemiol*. 2008;167(4):412-418.
18. Saltiki K, Stamatelopoulos K, Voidonikola P, Lazaros L, Mantzou E, Georgiou I, Anastasiou E, Papamichael C, Alevizaki M. Association of the SHBG gene promoter polymorphism with early markers of atherosclerosis in apparently healthy women. *Atherosclerosis*. 2011;219(1):205-210.
19. Jaquish CE, Mahaney MC, Blangero J, Haffner SM, Stern MP, MacCluer JW. Genetic correlations between lipoprotein phenotypes and indicators of sex hormone levels in Mexican Americans. *Atherosclerosis*. 1996;122(1):117-125.