

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BÜYÜME HORMON RESEPTÖRÜ (GHR) EKZON 3
POLİMORFİZMİNİN TİP2 DİYABET İLE KORONER
ARTER HASTALIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

ÖZLEM KÜÇÜKHÜSEYİN

**DANIŞMAN
PROF. DR. TURGAY İSBİR**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü MOLEKÜLER TIP Anabilim Dalı DOKTORA Programında ÖZLEM KÜÇÜKHÜSEYİN tarafından hazırlanan BÜYÜME HORMONU RESEPTÖRÜ (GHR) EKZON 3 POLİMORFİZMİNİN TİP2 DİYABET İLE KORONER ARTER HASTALIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

11 / ARALIK / 2012

Tez Sınav JürisiÜnvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)İmzası

1.PROF.DR.TURGAY İSBİR, YEDİTEPE ÜNV. TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ AD

2.PROF.DR.İLHAN YAYLIM, İ.Ü DETAE MOLEKÜLER TIP AD

3.PROF.DR.AYŞEN YARAT, M.Ü. DIŞ HEK. FAK. BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

4.PROF.DR.HÜLYA YILMAZ AYDOĞAN, İ.Ü DETAE MOLEKÜLER TIP AD

5.PROF.DR.BEDİA AĞAÇHAN, İ.Ü DETAE MOLEKÜLER TIP AD

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

ÖZLEM KÜÇÜKHÜSEYİN

İTHAF

Sevgileriyle her zaman benimle olan kıymetli aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak yapılmıştır.

Doktora eğitimim süresince ilgisini, desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen ve deneysel çalışmalarımın yapılmasında her türlü imkanı seferber eden kıymetli danışmanım, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı Marmara Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Bölümü öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Selim İsbir'e ve İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrin ve Metabolizma Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Kubilay Karşıdağ'a,

Doktoram süresince desteklerinden ötürü Moleküler Tıp Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Ve tüm hayatım boyunca beni her aşamada destekleyen ve bana güç veren, sevgileriyle hep yanımda olan canım annem Uzm. Gülcan Baytok'a, kıymetli babam Prof. Dr. Cihat Küçük hüseyin'e ve sevgili abim Özgür Küçük hüseyin'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:9632

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET.....	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. BÜYÜME HORMONU VE METABOLİZMASI.....	4
2.1.1. Büyüme Hormonu.....	4
2.1.2. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1).....	10
2.1.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3	12
2.1.4. Büyüme Hormon Reseptörü (GHR) ve GHR Polimorfizmleri	13
2.1.4.1. Büyüme Hormon Reseptörü	13
Büyüme Hormon Reseptörü Polimorfizmi	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI	20
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	21
3.3. KULLANILAN GEREÇLER	22
3.4. ÇÖZELTİLER.....	22
3.4.1. AGARoz JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER	22
3.4.1.1. Etidyum Bromür (10 mg/ml)	22
3.4.1.2. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (10x)	22
3.4.1.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE) Tamponu	22
3.4.1.4. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:	22
3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER	23
3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU	23

3.5.2. ELDE EDİLEN DNA'NIN KONSANTRASYON VE KALİTESİNİN TAYİNİ	23
3.5.3. GHR EKZON 3 DELESYONU GEN POLİMORFİZMİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI	24
3.5.3.1. GHR geni ekzon-3 delesyonunun saptanması kullanılan multipleks PCR primerleri:.....	24
3.5.3.2. Multipleks PCR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Multipleks PCR'ın Hazırlanışı:	25
3.5.3.3. PCR Karışımının Hazırlanışı :	26
3.5.3.4. PCR Koşulları	26
3.5.4. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ (PCR SONRASI) VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	27
3.5.4.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Jel'e Yüklenmesi:	27
3.5.4.2. Agaroz Jelde PCR Ürünlerinin Kontrolü ve Değerlendirilmesi:	27
3.5.5. Kan Örneklerinden serum eldesi.....	29
3.5.6. ELISA Yöntemi ile Serum GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin ölçülmesi ..	29
3.5.6.1. Serumda HGH – İnsan Büyüme Hormonu Düzey Tayin Protokolü.....	29
3.5.6.2. Serumda İnsan IGF-1 Düzey Tayin Protokolü	30
3.5.6.3. Serumda İnsan IGFBP-3 Düzey Tayin Protokolü.....	31
3.5.7. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılacak İstatistiksel Yöntemler	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR	33
GHR Ekzon 3 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular.....	33
4.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR	34
TARTIŞMA.....	56
KAYNAKLAR	72
HAM VERİLER.....	87
FORMLAR	108
ETİK KURUL KARARI.....	110
ÖZGEÇMİŞ	113

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3-1. PCR karışımının hazırlanması.....	26
Tablo 3-2. GHR ekzon-3 polimorfizmine ait amplifikasyon koşulları	27
Tablo 4-1. Çalışma Gruplarına ait demografik ve biyokimyasal parametreler.....	35
Tablo 4-2. GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı.	39
Tablo 4-3. Hasta ve kontrol gruplarında lipid sınır değerlerinin dağılımı.....	41
Tablo 4-4. GHR Ekzon 3 varyantlarına göre risk faktörlerinin diyabetik hasta grubundaki dağılımları	42
Tablo 4-5 GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre risk faktörlerinin koroner kalp hasta grubundaki dağılımları.....	43
Tablo 4-6 Kontrol grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları ile glukoz ve HgA1c değerleri.....	44
Tablo 4-7 Diyabetik hasta grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları ile glukoz ve HgA1c değerleri	46
Tablo 4-8 Koroner kalp hasta grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmi varyantlarına göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları ile glukoz ve HgA1c değerleri.....	47
Tablo 4-9. Diyabetik hastalarda risk faktörleri ve GHR-fl veya GHR-d3 allellerinin bireysel ve birlikte DM gelişim görelisi üzerine etkilerinin incelenmesi.	51
Tablo 4-10. Koroner kalp hastalarında risk faktörleri ve GHR-fl veya GHR-d3 allellerinin bireysel ve birlikte KKH gelişim görelisi üzerine etkilerinin incelenmesi.	52
Tablo 4-11. Diyabet veya koroner kalp hastalarında GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allel ve genotiplerin yıllara göre vücut kitle indeksine etkisi	53
Tablo 4-12. Diyabet veya koroner kalp hastalarında GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allel ve genotiplerin yıllara göre vücut kitle indeksine etkisi	54
Tablo 4-13. Koroner kalp hastalarında VKI düzeyine etki eden risk faktörlerine ait logistik regresyon analizi.....	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-5. Büyüme Hormonunun (GH) yapısı.....	5
Şekil 2-6. GH Salınımının düzenlenmesi.....	6
Şekil 2-7. GH biyolojik fonksiyonları.....	8
Şekil 2-8. GH'nin organ sistemlerine etkisi.....	9
Şekil 2-9. Büyüme hormon reseptörü (GHR) yapısı.....	13
Şekil 2-10. Kompleks oluşturmuş büyüme hormonu (GH) ve reseptörünün (GHR) üç boyutlu şematik gösterimi.....	14
Şekil 2-11. GHR Geni	15
Şekil 2-12. GH Sinyal Yolu.....	16
Şekil 2-13. GH, IGF-1 ve insülin yolları arasındaki ilişki.....	17
Şekil 2-14. GHR'nin hücre dışı domenine ait ekzon 2-4 arasındaki konsensus bölgeleri	18
Şekil 3-1. GHR ekzon 3 lokusunu genotipleme yöntemi	25
Şekil 3-2. GHR ekzon 3 bölgesinin multipleks PCR sonrası verdiği bantların şematik görüntüsü.....	28
Şekil 3-3. Multipleks PCR sonrası oluşabilecek GHR ekzon 3 bölgesine ait DNA.....	28
Şekil 4-1. GHR Ekzon 3 bölgesine ait PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	33
Şekil 4-2. Çalışma grupları arasındaki GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4-3. Çalışma gruplarında IGF-1 ve IGFBP-3'nin GH düzeylerine göre dağılımı.....	37
Şekil 4-4. GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantların cinsiyete göre çalışma gruplarındaki dağılımı.....	40
Şekil 4-5. Çalışma gruplarında büyüme hormonu (GH) düzeylerinin GHR Ekzon 3 varyantlarına göre dağılımı.....	48
Şekil 4-6. Çalışma gruplarında insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeylerinin GHR Ekzon 3 varyantlarına göre dağılımı.....	49
Şekil 4-7. Çalışma gruplarında insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) düzeylerinin GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre dağılımı.....	50

SEMBOLLER / kısaltmalar listesi

GH: Büyüme Hormonu; Growth Hormone

GHR : Büyüme Hormon Reseptörü

KKH: Koroner kalp hastalığı

DM: Diabetes mellitus

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

IGFBP : İnsülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein

TC : Total kolesterol

TG : Trigliserid

LDL-C : Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

HDL-C : Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

VLDL-C : Çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

kDA : Kilo Dalton

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

RFLP : Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi

ELİSA : Enzim işaretli immunotest

kb : kilo baz

bç : baz çifti

OR : Göreli risk (odds ratio)

GA : Güven aralığı

ÖZET

KUCUKHUSEYİN O. (2012). Büyüme Hormon Reseptörü (GHR) Ekzon 3 Polimorfizminin Tip2 Diyabet İle Koroner Arter Hastalığı Üzerindeki Etkisi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD. Doktora Tezi, **İstanbul**

Diyabet hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar dünyada ve ülkemizde prevalansı yüksek olan, pek çok gen ve çevresel etmenin etyopatogeneze katkıda bulunduğu multifaktöriyel hastalıklar arasında yer almaktadır.

Büyüme hormonu (GH) lipid, karbohidrat, protein ve mineral metabolizmalarının regülasyonunda görev aldığından, son yıllarda diyabet ve ateroskleroz gibi hastalıkların etyolojisindeki olası fonksiyonlarını saptamak amacıyla çalışmalar hızlandırılmıştır. Nitekim büyüme hormonunun diyabet hastalığını uyarıcı bir molekül olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmış ve büyüme hormonunun adipoz, kas ve karaciğer gibi hem büyüme hormonuna hem de insüline yanıt veren dokularda insülin resistansı yaratan bir molekül olduğu kabul edilmiştir. Bunun da ötesinde karaciğerin, adipoz dokunun ve kasın insülin resistansını uyarmak için büyüme hormonu tarafından etkilendiği gösterilmiştir. Büyüme hormon yetersizliğinin kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumsuz etkileri ise ateromatoza yol açan kötü lipid profilleri, artan kan basıncı, anormal vücut kompozisyonu, kilo artışı, koagülasyondaki artış, inflamasyon markerlarının artışı ile açıklanmaktadır. Büyüme hormonu replasman tedavisi ile bu etkilerin normalize edilebildiği rapor edilmiştir.

GH etkisini reseptörüne (GHR) bağlanarak göstermektedir ve GHR'yi kodlayan genlerdeki polimorfizmler büyüme hormonunun fonksiyonunu etkilemektedir. GHR geninin 9 ekzonu olup insanlarda GHR'nin ekson 3'ü taşıyan ya da taşımayan olmak üzerine 2 izoformu vardır.

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda GHR ekzon 3 gen polimorfizminin ve GH, IGF-1, IGF-1R, IGF-1BP3 (IGF bağlayıcı protein-3) düzeylerinin diyabet ve koroner arter hastalığı üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve Türk toplumundaki dağılımlarının belirlenmesi hedeflenmektedir. Bu faktörlerin kendi aralarındaki kompleks

etkileşimlerin anlaşılması ile diyabet ve KKH'ın patojenezlerinin açıklığa kavuşması ve gelecekte genetik bazlı risk düzenlenmesi ile hastalığın önlenmesi ve tedavisinin gelişimine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: GHR, GH, IGF-1, IGFBP-3, Diabetes mellitus, Koroner kalp hastalığı, polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 9632

ABSTRACT

KUCUKHUSEYIN O. (2012). The Effect of GHR exon-3 polymorphism on diabetes and coronary artery disease, Istanbul University, Institute Of Health Science, Department Of Molecular Medicine, Ph.D Thesis, **Istanbul.**

Diabetes mellitus and cardiovascular diseases (CVD) are multifactorial diseases in which many genes and environmental factors contribute to their etiopathogenesis, have higher prevalences in both our country and the whole world.

The growth hormone (GH) regulates lipid, carbohydrate, protein and mineral metabolisms and due to its importance in metabolic control, in recent years studies are accelerated in determining the possible effects of GH on the etiology of diabetes and atherosclerosis. As a diabetogenic molecule, GH would be suspected to generate insulin resistance in tissues, such as adipose, muscle and liver, which respond to both GH and insulin. Moreover, liver, adipose tissue and muscle have shown to induce insulin resistance by GH. On the other hand the hypothesis that GH deficiency increases the risk of CVD is supported by a series of risk factors, such as adverse lipid profiles, increased blood pressure, abnormal body composition, increased body weight, increased coagulability, and increased inflammation markers, leading to an accelerated atheromatosis. These effects could be normalized with GH replacement therapy.

GH signals, via the growth hormone receptor (GHR), induce a variety of cellular events. The polymorphisms on GHR gene effect these cellular event thus the funtions of GH altered by SNPs. In humans GHR gene composed of 9 exons and has two common variants depending on expression of exon 3 (full length GHRfl and deleted GHRd3).

Accordingly in our study, the determination of effects of GHR exon 3 polymorphism and blood levels of GH, IGF-1, IGFBP-3 on diabetes and coronary artery disease, and their distribution in Turkish population will be investigated. It is accepted that understanding the complex interactions of these factors, contributes to the prevention and therapy strategies for diabetes and coronary heart diseases.

Key words: GHR, GH, IGF-1, IGFBP-3, Diabetes mellitus, Coronary Heart Disease, polimorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 9632.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye’de ve dünyada en sık rastlanan, yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan diabetes mellitus (DM), yaygın ismiyle diyabet, morbiditesi, mortalitesi ve topluma ekonomik yükü yüksek endokrin-metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (1-5). Günümüzde dünyada yaklaşık 200 milyon diyabet hastası olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte dünyada diyabetli hasta sayısının 2000 yılından 2050 yılına kadar %165 oranında artacağı (5) ve hastalığın önlenmesi için adım atılmaz ise 2030 yılında dünyada 350 milyon kişinin diyabetten etkilenebileceği düşünülmektedir. Diyabetin ülkemizdeki yaygınlığının %5 ile %9,9 arasında olduğu bildirilmiştir (1).

Diabetes mellitus, kalıtılmış ve/veya sonradan kazanılmış insülin üretiminin ya da etkisinin yokluğu ile karakterize edilen kronik metabolik bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır. Bu eksiklik, daha sonradan hedef dokuların ve damarların hasarına neden olabilen kan glukoz düzeylerinin artışıyla (hiperglisemiyle) sonuçlanır. Hedef dokularda insülin eksikliği veya etkisindeki anormallikler karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açtığı klinik bilgilerimiz arasında önemli bir yer tutmaktadır. Bu etkiler diyabetin tipine, kontrolüne ve insülin yetersizliğinin derecesine bağlıdır. Diabetes mellitustaki hiperglisemik safha diyabete özel mikrovasküler komplikasyonların (retinopati, nefropati, nöropati) gelişiminde ve kardiovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklar gibi makrovasküler komplikasyonlara yol açabilen hastalıkların hızlanmasında gözlenmektedir (6,7). Diyabet sıklığının artma nedenleri arasında popülasyonun yaşlanması, sağlıksız diyet uygulamaları, fazla kilolar ve obezite, sedanter (hareketsiz) bir yaşam tarzı, cinsiyet hormonları, genetik faktörler, alkol ve sigara kullanımı yer almaktadır (1-4).

Tüm dünyada yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip olan koroner kalp hastalığı (KKH) çok sayıda genetik ve çevresel faktörün etkileşimleriyle ortaya çıkan kompleks bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Günümüze kadar KKH için risk faktörlerini tanımlamak ve etkilerini azaltmak için çok etkin bir şekilde çalışılmaktadır (8-13). Türk Kardiyoloji Derneği’nin öncülüğünde yapılan TEKHARF (Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışmasının verilerine göre, Türkiye’de

iki milyondan fazla koroner kalp hastasının bulunduğu ve yılda yüzaltmış bin kişinin koroner kalp hastalığından öldüğü rapor edilmiştir (8,9,14).

Kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde çok önemli yer tutan ateroenez, büyük arterlerde plazma lipidlerinin, fibröz dokuların ve çoğunlukla makrofajlar, düz kas hücreleri ve lenfositlerin yer aldığı hücre birimlerinin birikimiyle tanımlanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ateroenezin genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan kompleks bir hastalık olduğu vurgulanmaktadır. Ateroenezin geleneksel risk faktörleri arasında yaş, cinsiyet, diabetes mellitus, hiperkolesterolemi ve sigara kullanımı önemli yer tutmaktadır. Çeşitli genetik faktörlerin de koroner kalp hastalığı riskine önemli derecede katkısı olduğu önerilmiş, ancak genetik olarak iyi belirlenmiş lipid anomalileri (15) haricinde koroner kalp hastalığına yol açan genetik faktörler hakkında yeterli derecede önemli bilgi mevcut değildir (12,13). Bununla birlikte KKH'ya yatkınlığı etkileyen en az 100 gen olduğu bildirilmektedir. Genetik faktörlerin kendi aralarında ve çevresel etmenlerle kompleks etkileşimlerin anlaşılmasının, KKH'ın patojenezinin açıklığa kavuşmasına ve gelecekte genetik bazlı risk düzenlenmesi ile hastalığın önlenmesi ve tedavisinin gelişimine önemli derecede katkıda bulunacağı düşünülmektedir (10-15).

Vücutta kan glukoz seviyelerinin düzenlenmesi pek çok kimyasal madde ve hormonun karmaşık etkileşimi sonucunda sağlanmaktadır. Glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan hormonlardan en önemlisi pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonudur. İnsülin hormonu glukoz düzeyini düşürücü etkiye sahiptir. Büyüme hormonları, katekolaminler, kortizol ve glukagon gibi regülasyonda görevli olan diğer hormonlar ise kandaki glukoz düzeyini yükseltme eğilimindedirler (1-5,16-18).

Büyüme hormonu (GH-somatotrop hormon) ön hipofizin somatotrof hücreleri tarafından yapılan ve salgılanan protein yapısında bir hormon olup, dokular üzerinde büyüme ve çoğalmayı uyarır. Anabolik etkisini periferik dokularda bulunan hedef hücre reseptörünü (GHR) aktive ederek göstermektedir. GH'nin bilinen önemli etkileri, karaciğerde sentezlenen insülin benzeri büyüme faktörleri tarafından; özellikle de insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) tarafından kaynaklanmaktadır. Dolaşımdaki IGF-1'in %90'ı insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3'e (IGFBP-3) bağlı şekildedir ve bu şekliyle yarı ömrü uzar. IGFBP-3 pasif bir taşıyıcı molekül değildir; ya IGF-1'in biyolojik etkisini düzenler yani aktivitesini arttırır ya da IGF-1'den bağımsız

olarak büyümeyi inhibe edici etki gösterir. IGF-1 hücre düzeyindeki etkilerini hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörüne (IGF-1R) bağlanarak gösterir (10,19-24). GH'nun büyüme uyarıcı etkileri IGF-I reseptörünün bloke edilmesiyle bozulur. GH yokluğunda ekzojen IGF-1 tedavisi uygulanır. Aşırı miktarlarda salgılanan büyüme hormonu, kortizol, östrojen ve progesteron, insülin salınımını artırmaktadır ve insüline zıt yönde etkisi nedeniyle bozulmuş glikoz toleransı, hipertansiyon ve galaktore gibi çeşitli metabolik etkiler ortaya çıkar (25-30).

Büyüme hormonunun insüline karşı etkisini ve diyabet yapıcı bir molekül olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır (31-38). Bu nedenle büyüme hormonunun yağ doku (39,40), kas (41-45) ve karaciğer (43,45-48) gibi hem büyüme hormonuna hem de insüline yanıt veren dokularda, insülin resistansı yaratan bir molekül olduğu kabul edilmiştir. Bunun da ötesinde karaciğerin, yağ dokusunun ve kas dokusunun insülin resistansını uyarmak için büyüme hormonu tarafından etkilendiği gösterilmiştir. Büyüme hormonunun etkilerinden sorumlu olan moleküler mekanizmanın insülin resistansını nasıl tetiklediği halen tam olarak anlaşılacakla birlikte bugünkü bilgiler ışığı altında GH'nin, insülin sinyalizasyonu downregüle eden fosfatidil inositol trifosfat (PI3) kinazın regülatuar alt birimini upregüle ettiğini göstermektedir (46-50).

Büyüme hormonu regülasyonundaki bozukluğun kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumsuz etkileri ise ateromatoza yol açan kötü lipid profilleri (51-54), artan kan basıncı, anormal vücut kompozisyonu (51,55,56), kilo artışı (51,57,58), koagülasyondaki artış (51,59), inflamasyon markerlarının artışı ile açıklanmaktadır (51,60). Büyüme hormonu replasman tedavisi ile bu etkilerin normalize edilebildiği savı Kreitschmann-Andermahr *et al.* tarafından ileri sürülmektedir (61). Bununla birlikte diyabetik mikroanjyopatide rolü olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TDGF) ve insülin benzeri büyüme faktörleri-1 ve -2'nin (IGF-1 ve IGF-2) makroanjyopatide de rolü olduğu gösterilmiştir. Bu faktörler mediadaki elastin, proteoglikan ve kollajen artışından sorumlu tutulmaktadır (62). Son yıllarda yapılan çalışmalarda homozigot olarak GHR ekzon-3 delesyonunun tip 2 diyabet üzerinde, GH replasman tedavilerinin ise kardiyovasküler hastalıklar üzerinde koruyucu etkisi olduğu belirtilmektedir (31-62).

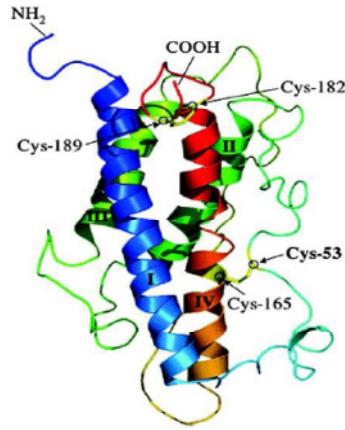
Yukarıda özetlenen bilgiler ışığı altında, çalışmamızda GHR ekzon-3 gen polimorfizminin ve GH, IGF-1, IGFBP (IGF bağlayıcı protein) düzeylerinin diyabet ve koroner kalp hastalığı üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve Türk toplumundaki dağılımlarının belirlenmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÜYÜME HORMONU VE METABOLİZMASI

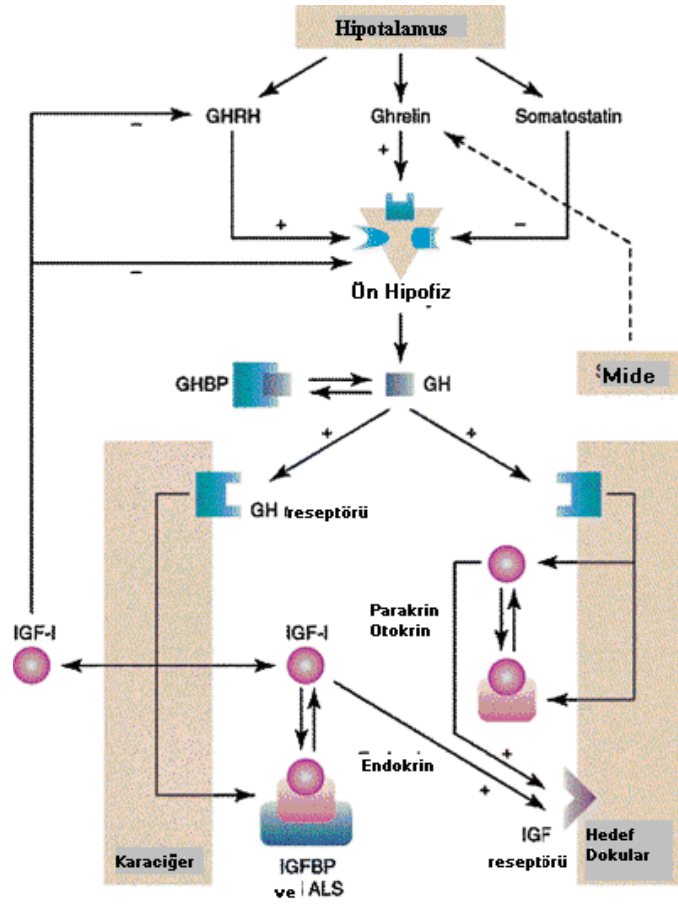
2.1.1. Büyüme Hormonu

Büyüme hormonu (GH-somatotrop hormon) anterior hipofizin somatotrof hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan, dokular üzerinde büyüme ve çoğalmayı uyaran, protein yapılı bir hormon olarak tanımlanmaktadır (19-24). İnsanlarda 17. kromozomun uzun kolunda yer alan GH genomunu 5 gen kümesi oluşturur: normal GH (GH-N), varyant GH (GH-V), CS-A, CS-B ve CS-L (chorionic somatomammotropin), dolayısıyla anterior hipofiz bezi farklı GH izoformları sentezler. Bununla birlikte GH salgılanması GH-N geninin ekspresyonundan kaynaklanır. Bu gen kümesinin diğer üyelerinin placentada sentezlendiği rapor edilmiştir. GH-N ve GH-V genleri amino asit dizisinde %5'lik fark yaratan GH izoformlarını eksprese ederek, GH-N transkriptleri 20 ve 22 kDa moleküler ağırlığa sahip iki GH izoformu meydana getirirler. GH, 217 amino asitten oluşan 24 kDa moleküler ağırlığa sahip bir öncül poli-peptit olarak sentezlenir, amino ucundaki (N') sinyal peptidin proteolitik kesim ile uzaklaştırılmasıyla 191 amino asitten oluşan, 22 kilo Dalton (kDa) moleküler büyüklüğe sahip, molekül içi disülfid bağları olan ve dolaşımda yaygın olan bu form meydana gelmiş olur. GH'nin dolaşımda bulunan diğer varyantı ise 20 kDa moleküler büyüklüğe sahiptir ve bu varyantta 32.-46. amino asit eksiktir. Hipofiz bezinde 22 kDa GH % 80- 85 oranında, 20 kDa GH izoformu ise % 10-20 oranında üretilmektedir. GH'nin her iki varyantı da biyolojik olarak aktif olup büyüme ve farklılaşmada rol almaktadır. Bunların dışında GH geninin 3. eksonunun alternatif kesim (alternatif splicing) ile atlanarak üretilen 17.5 kDa büyüklüğünde diğer bir GH izoformunun varlığı belirlenmiştir. Ayrıca hipofiz bezinde GH geninin 2. ve 3. eksonları veya 2., 3., 4. eksonları eksik olarak sentez edilen mRNA üzerinden biyolojik olarak inaktif olan GH varyantlarının üretildiği belirlenmiştir (63).



Şekil 2-1. Büyüme Hormonunun (GH) yapısı. İnsan GH'nun I, II, III, IV ile ifade edilen alfa heliksleri ve 53. Sistein ile 165. Sistein ve 182. Sistein ile 189. Sistein arasındaki iki tuz köprüsü Cys: Sistein, NH₂ : Amino uç, COOH: Karboksi uç (<http://pymol.sourceforge.net>)

GH'nin salınımı hipotalamus kaynaklı iki nöropeptid tarafından kontrol edilir: Büyüme hormonu salgılatan hormon (GHRH) salınımı artırırken, somatostatin (büyüme hormonu inhibe edici faktör; GHIF) GH salınımını azaltır. Bununla birlikte mideden salgılanan peptid hormon olan ghrelin de somatotrop hücrelerdeki reseptörüne bağlanarak bu hücrelerden GH salınımını arttırmaktadır, ancak fizyolojik rolü henüz tam olarak açığa kavuşmamıştır (10,19-24,64) . Büyüme hormonunun salınımını etkileyen faktörler de söz konusudur : nöropeptidler (galanin, opioitler), metabolitler (örneğin; hipoglisemi, amino asitler, yüksek protein içerikli yiyecekler), hormonlar (östrojen, testosteron), fizik egzersiz, açlık, stres ve uyku büyüme hormonu salınımını artırırken; tokluk, yüksek karbonhidrat içerikli yiyecekler, hiperglisemi, serbest yağ asitleri, obezite (özellikle santral obezite), glukokortikoidler ve yaşlılık büyüme hormonu salınımını inhibe eder. Ayrıca büyüme hormonunun kendisi ve IGF-1 de somatostatin üzerinden negatif geri uyarım yaparak GH salınımını baskılar. IGF-1'in ayrıca hipofiz üzerinde doğrudan baskılayıcı etkisi söz konusudur. Bunların yanında GH salınımıyla ergenliğe girmemiş normal kilolu ve obez çocuklardaki vücut kitle indeksi (VKİ) arasında negatif ilişki saptanmıştır. Nasıl açlık ve vücut ağırlığında azalma GH salınımını arttırıyorsa, vücut yağ oranında artış da GH salınımını azaltmaktadır. Bu cocuklarda, GH düzeyleri düşük olmasına rağmen yüksek düzeydeki IGF-1 ve insulinin etkisiyle büyüme hızlanmıştır. Burada hiperinsulineminin IGF-1 salınımını arttırdığı ve IGF-1'in de negatif geri uyarımla GH salınımını baskıladığı düşünülmektedir (65).



Şekil 2-2. GH Salınımının düzenlenmesi. GHRH (growth hormone releasing hormone, büyüme hormonu salgılatıcı hormon), GH (growth hormone, büyüme hormonu), IGFBP (insulin-like growth factor binding protein, insulin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein), ALS (acid labile subunit, asite hassas alt birim), IGF-1 (insulin-like growth factor 1, insulin benzeri büyüme faktörü-I), GHBP (growth hormone binding protein, büyüme hormonu bağlayıcı protein (66).

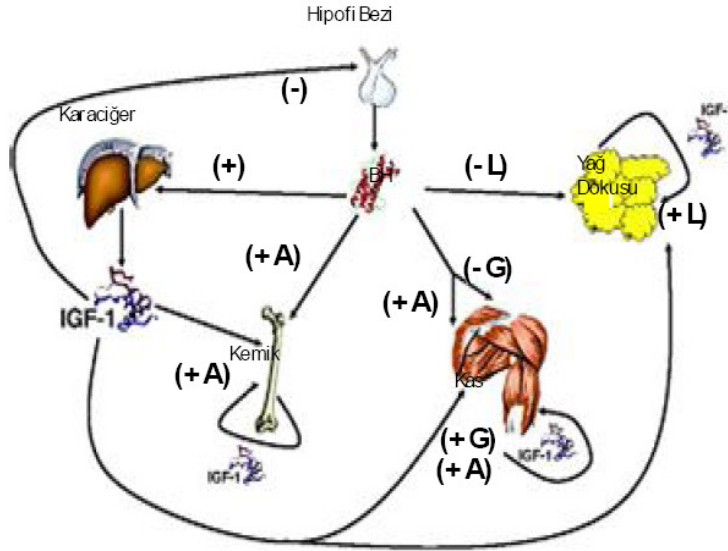
GH'nin salınımı 10-30 dakikalık pulsatil patlamalar şeklinde gece uykusunda meydana gelir. Pulsatil salınım arasında kalan dönemde GH'nin dolaşımdaki düzeyi $<3\text{ng/mL}$ olup bunun %60'ı büyüme hormonu bağlayıcı proteine bağlı halde bulunur. GH'nin salınım miktarı ve şekli yaşam boyunca değişiklik göstermektedir. Bazal seviye erken çocukluk döneminde en yüksek değerde iken, pubertal büyüme döneminde pulsatil patlamaların büyüklüğü ve frekansı en yüksek düzeydedir. GH'nin bazal seviyesi, patlamaların büyüklük ve frekansı yaşla birlikte azalır. Anterior hipofizdeki somatotrop hücrelerden kaynaklanan adenomlarda GH sentezi ve dolayısıyla düzeyi artmaktadır.

Erişkin bir kişideki GH fazlalığında uzun kemiklerin epifizleri kapanmış olduğundan membranöz büyüme gelişerek parmak kemikleri ve çene kemiği kalınlaşır, kaslarda güçsüzlük ve insülin direnci meydana gelir; bu tabloya akromegali ismi verilmektedir. Çocukluk çağındaki GH fazlalığında ise gigantizm gelişirken, GH yetersizliğinde büyüme geriliği ve boy kısalığı ile cücelik tablosu gözlenir (67).

GH'nin vücut dokuları üzerinde genel olarak anabolik etkisi söz konusudur. GH etkisini reseptörü (GHR) aracılığıyla direk ya da indirek şekilde gösterir. Direkt etki hedef hücrelerdeki reseptörlerini (GHR) aktive ederek hücre içi sinyal yolunun başlamasına neden olmaktadır. Indirek etkileri ise insülin benzeri büyüme faktörleri ailesinden olan bazı peptidler (somatomedinler), özellikle IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) aracılık eder. GH karaciğerden IGF-1 sentez ve salınımını arttırarak indirek etkisini gösterir (10,19-24,67).

GH primer olarak lineer büyümeyi sağladığı gibi iskelet büyüme hızı ve vücut ağırlığındaki artışı da kontrol eder. GH direk olarak osteoblastlardaki reseptörüne bağlanarak veya indirekt olarak IGF-1 sentezini arttırarak yeni kemik ve kırıkta yapıyı arttırılmaktadır. Bunun yanında iskelet büyümesini sağlar ve boyu uzatır. Karbonhidrat, lipit, azot, mineral metabolizmaları üzerine etkili olmaktadır. Dokulara glikoz girişini azaltarak kan glukoz düzeyini artırır ve lipolizi hızlandırır. Dolayısıyla yağ dokusundan mobilize olan yağ asitleri glikoz kullanımını azaltır. GH, kas hücrelerinin aminoasit alımını uyararak ve direkt olarak mRNA transkripsiyonunu ve translasyonunu hızlandırarak protein yapımını artırır. Enerji kaynağı olarak yağ kullanımını arttırarak protein yıkımını azaltır. GH yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin serbestleşmesini ve asetil koenzim A'ya dönüşümünü artırır. Bundan da enerji sağlanır. Protein koruyucu etkisi büyümeyi ve gelişmeyi sağlayan önemli bir mekanizmadır. Yumuşak doku ve iskeletin artan büyümesi elektrolit değişikliğiyle birliktedir. Bu pozitif azot ve fosfor dengesi, plazma fosfor düzeyinde artış ve kan üre azotunda ve aminoasit düzeyinde azalışa neden olur. Kalsiyumun bağırsaktan emilimi artar, sodyum ve potasyumun idrarla atımı azalır (10,19-24,67,68). Büyüme hormonu, IGF-1 aracılığıyla endotelial nitrik oksid sentezini uyararak lokal vazodilatasyonla iskelet kasına kan akımını kat kat arttırır. Bu şekilde, iskelet kasının dinlenme halinde bile metabolik hızı artmış olur; dolayısıyla bazal metabolik hız artar. Büyüme hormonu

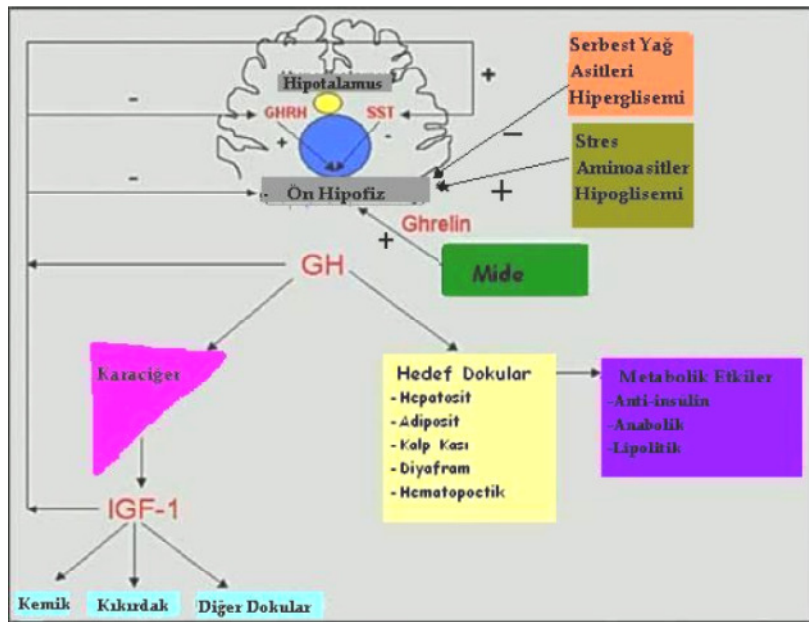
yaşlandıkça azalır; yaşlandıkça oluşan metabolik yavaşlama, kas kitlesinde atrofi ve yağ dokusunda artış, GH azalmasına bağlıdır (69,70). GH insülinin çoğu etkisinin tam zıttı etki gösterir ve dolayısıyla karbonhidrat metabolizması üzerine hiperglisemik ve diyabetojenik (diyabeti taklit edici) etkisinin olduğu kabul edilir. Yüksek dozda GH, hem hepatik hem de çevre dokularda (yağ dokusu ve iskelet kasında), insülinin glukoz metabolizmasındaki etkisine direnç sağlar yani insülinin etkilerine karşı etki (antagonize etmesi) gösterir ve yağ oksidasyonunu artırır. Ayrıca kas dokusunda glikojen sentaz aktivitesinde azalmaya neden olur (10,19-24,67,68). GH, ayrıca B lenfositlerin antikör yapımını artırır, doğal katil (natural killer) hücreleri aktive eder ve T lenfosit fonksiyonlarını düzenler (10,19-24,67).



Şekil 2-3. GH'nin biyolojik fonksiyonları. Hipofizden salgılanan GH karaciğerde IGF-1 sentezini uyardığı ve sentezlenen IGF-1'in kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etkisi oklarla gösterilmiştir. Ayrıca hipofizden salınan BH'nun kemik, kas, yağ dokusunda direkt etkisi olduğu oklar ile gösterilmiştir (A: Anabolizma, L: Lipogenez, G: Glukoz alımı, +: Uyarıcı etki, -: İnhibe edici etki (71).

Büyüme hormonu uygulanan hayvanların tüm dokularında protein, bazı dokularında ise RNA ve DNA sentezinde artış, idrar aminoasit ve üre düzeylerindeki azalmaya bağlı olarak pozitif bir azot dengesi gözlenmektedir. Bu hormon pubertede iç organların orantılı büyümesinden ve vücut ağırlığının düzenli artışından sorumludur. Büyüme hormonunun farelerde kıkırdak proliferasyonunu uyaran sülfatlayıcı faktör aktivitesini dolayı yoldan artırarak etkili olduğu gösterilmiştir. Sülfatlayıcı faktör aktivitesinin

büyüme hormonuna bağımlı somatomedin C veya IGF-1 üzerinden gerçekleştiği anlaşılmıştır. Yapısal olarak proinsuline benzeyen IGF-1 ve insan plazmasında saptanan benzer bir peptid olan IGF-2, membran reseptörlerine bağlanmaktadır. IGF-2 konsantrasyonu, IGF-1 konsantrasyonunun iki katı olmasına rağmen IGF-1, büyüme hormonu etkileri ile direkt ilişkilidir. Hekzokinaz aktivitesini düzenleyerek kan glukoz düzeyini artıran büyüme hormonu, iskelet kası tarafından glukozun alınmasını engellemekte ve dokuların insülin etkilerine karşı duyarlılığını azaltmaktadır. Yağ dokusunda hormona duyarlı lipazın sentezini artıran büyüme hormonu, lipolizi hızlandırmaktadır. Büyüme hormonu karaciğerde ketogenezi hızlandırmaktadır. Hepatik glukoz 6-fosfataz aktivitesini artıran büyüme hormonu, karaciğerden glukoz salıverilmesine yol açmaktadır. İnsülin antagonisti olarak işlev gören büyüme hormonunun uzun süreli uygulanması diabetes mellitusa neden olmaktadır. Prolaktine yapısal benzerliğinden ötürü laktogenik reseptörlere bağlanan somatotrop hormonun, meme bezlerini uyarıcı etkisi bulunmaktadır. Aşırı miktarlarda protein alınması veya arginin, lösin gibi aminoasitlerin verilmesi büyüme hormonu salıverilmesini artırmaktadır (21,25-27). Bununla birlikte GH, insülin benzeri büyüme faktörü -1 (IGF-1)'in salınımını arttırmaktadır; artan IGF-1 de negatif feed-back yoluyla GH yapımını hipofiz ve hipotalamus düzeyinde baskılar (67).



Şekil 2-4. GH'nin organ sistemlerine etkisi. GHRH (growth hormone releasing hormone, büyüme hormonu salgılatıcı hormon), SST (somatostatin), GH (büyüme

hormonu, growth hormone), IGF-I (insulin benzeri büyüme faktörü-I, insulin-like growth factor-I) (<http://www.endotext.org/neuroendo/neuroendo5c/neuroendoframe5c.htm>).

2.1.2. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1)

Somatomedinler yani IGF'ler, memelilerde büyümede önemli roller oynayan ve GH'nin birçok dokudaki anabolik ve mitojenik etkilerinde aracılık görevini üstlenen, küçük peptid hormonları olup insülin-ilişkili peptid ailesi üyelerindedir. Üç ana tipi vardır : somatomedin C (IGF-1), somatomedin A (IGF-2) ve somatomedin B'dir. Genellikle lokal etki gösteren ve spesifik hücrelerde büyümeyi uyararak, primer aminoasit dizilimleri birbirlerine ve insan proinsüline benzeyen bu küçük peptidler karaciğerde sentezlenerek kana salınır. IGF'lerde insülinin aksine C-peptidi korunmuştur. Dolaşımdaki konsantrasyonları insülinde yüksektir. Mitojen gibi hareket ederek DNA, RNA ve protein sentezini uyarırlar. IGF-1 ve -2 embriyonik gelişimde rol alırken; doğumdan sonra IGF-1 büyümenin kontrolünde baskın rolü üstlenir, IGF-2'nin doğum sonrası dönemdeki fizyolojik rolü ise bilinmemektedir (72-77).

GH anabolik etkilerinin büyük kısmını IGF-1 aracılığıyla gerçekleştirir. IGF-1'in genomdaki yeri, 12q22-24.1'dir (78). GH'nin büyümeyi hızlandırmada major mediatörü olarak görev alan IGF-1 proteini üç disulfid bağıyla çapraz bağlanmış, 70 amino asitlik tek bir polipeptid zincirinden oluşmaktadır; moleküler ağırlığı 7.6 kDa'dır. IGF-1 bir prekursor (öncü) protein olarak sentezlenir, her iki ucundan proteolize (proteinin parçalanması) uğrayarak, olgun proteine dönüşür. Postnatal yaşam boyunca dolaşımda anlamlı seviyelerde bulunur ve insüline benzer dozlarda glikoregülatuar ve mitojenik özellik gösterir. Doğum sonrası hayatta, en güçlü düzenleyici GH'dir. Buna karşılık, IGF-1 de negatif geri uyarımla GH salınımını baskılar (72-77). Beslenme durumu ve diyetdeki enerji ve protein alımı da IGF-1 gen ifadesini düzenler, hatta fetal hayatta en baskın düzenleyicidir (79-80). IGF-2 de yapısal olarak IGF-1'e benzer fakat başka bir gen tarafından kodlanmıştır (72-77).

IGF'ler dolaşımda serbest halde veya özel bağlayıcı proteinlere bağlı olarak bulunabilir. IGF-1'in serbest halde yarı ömrü 15-20 dakika iken bağlı olması durumunda yarı ömrü uzar. Bu bağlayıcı proteinler IGF'lerinin biyolojik hareketlerini düzenlerler. IGF'ler spesifik dokularda depolanmazlar ama tüm vücutta yüksek konsantrasyonlarda

bulunurlar. Dolaşımında her iki IGF de pek çok peptid hormondan daha yüksek olan konsantrasyonlarda bulunur (72-80).

Karaciğerde GH'nin etkisi ile sentezlenen IGF-1; hedef dokularda hormon gibi endokrin etki gösterirken, karaciğer dışında kemik gibi periferel dokularda sentezlendiği diğer dokularda dokuya özel parakrin etki gösterir. IGF-1'in ayrıca otokrin etkilerinin olduğu ve onkogen gibi davrandığı da düşünülmektedir. IGF-1; potent mitotik ve antiapoptotik etkileri yanında neovaskülarizasyonu da arttıran bir peptittir. İnsan kolorektal kanser hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörü'nü (VEGF) uyardığı gösterilmiştir. IGF-1'in interlökinler üzerine de etkileri mevcuttur. Büyümei inhibe eden tümör nekroze edici faktör- α 'yı (TNF- α) inhibe ederken, antiapoptotik interlökin-8'in (IL-8) üretimini ise arttırmaktadır (72-82).

IGF'ler hücre düzeyindeki etkilerinin büyük kısmını tüm hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanarak gösterir. IGF-1 ve -2'nin birbirinden ayrı reseptörleri vardır. İnsülin ve IGF-1 reseptörleri yaklaşık olarak %38 oranında benzerlik gösterir. IGF-1 reseptörü (IGF-1R); birbirine disülfit bağları ile bağlı 2 alt birimden (α ve β) oluşur: α ligand bağlayıcı; β ise transmembran ve hücre içi alt birimdir. Sonuçta IGF-1R $\alpha_2\beta_2$ heterotetramerik bir glikoproteindir. Geninin yeri, 15q25-26'dır ve olgun protein 1337 amino asit içerir. α alt biriminin ekstraselüler bölgedeki sisteinden zengin bölgeleri reseptörün ligand özgüllüğünü sağlarken yani IGF-1'in tanınması ve bağlanması görevini yerine getirirken, β alt birimi intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. IGF-1'in α alt birimine bağlanması ile reseptörde konformasyonel bir değişim meydana gelerek 2 α alt biriminin dimerizasyonu ve bunun sonucunda da otoaktivasyon meydana gelir. Sonuçta tirozin kinaz aktive olur ve β alt ünitesindeki özel tirozinler transfosforillenir. Hücre içi diğer sinyal basamaklarının fosforillenmesi ile de IGF-1'in mitojenik ve metabolik etkileri meydana gelir (72-82). IGF-1R'nin IGF-1 için yüksek ilgisi (afinitesi) vardır, IGF-2'yi ise çok daha düşük oranda bağlar; insüline ilgisi 100 kat daha azdır (83,84). Buna rağmen, IGF-2, hem rahim içi hem de doğum sonrası hayatta, büyümeyle ilgili mitojen (mitoz bölünmeyi uyarıcı) etkilerini bu reseptör aracılığıyla gösterir. Reseptörün güçlü bir anti-apoptotik (apoptoza karşı) aktivitesi vardır; normal dokunun kanserli dokuya dönüşmesinde önemli rol oynar ve bir çok

kanserli dokuda artmış ekspresyonu görülür. Bu dokularda, anti-apoptotik etkisiyle hücre sağ kalımını artırır (72-84).

2.1.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3

IGF'ler, dolaşımda ve hücre dışı aralıkta çoğunlukla IGF bağlayıcı proteinlere (IGFBP protein) bağlı olarak bulunur. Birbirlerine %50 oranında, değişik türdeki karşılıklarına da %80 oranında benzerlik gösteren 6 çeşit IGFBP vardır ve her birinin kromozomdaki yerleri farklıdır. IGFBP'lerde, kılcal damarlara ve hücre yüzeylerine tutunabilen amino asit motifleri ya da glikozaminoglikan parçaları bulunmaktadır ki bu şekilde IGF'leri kılcal damar duvarlarından geçirerek ilgili dokuya ulaştırırlar (81,85-87).

Bu bağlayıcı proteinler karaciğerde ve lokal olarak otokrin ve parakrin etki gösterdikleri diğer pek çok dokuda sentezlenir ve ana görevleri: IGF'lerin plazma yarı ömrünü uzatmak, onları hedef hücrelere taşımak ve biyolojik görevlerinin düzenlenmesinde rol almaktır (81,85-88). Ayrıca IGFBP'lerin diğer bir görevi de, dolaşımda insuline göre 1000 kat daha yüksek oranda bulunan ve insulin reseptörüne de etki edebilen IGF'lerin, insulin benzeri etkilerini engellemektir (88).

IGFBP'nin IGF-1 ve -2 için afinitesi, IGF-1 reseptörlerinden daha fazladır. IGFBP'lerin başlıca fonksiyonu hedef dokulara IGF taşınmasıdır. IGFBP'ler genel olarak IGF-1'e 1/1 oranında kompetitif olarak bağlanarak etkisini inhibe ederler. Ancak bazı durumlarda IGF-1'in aktivitesini arttırır ya da IGF-1'den bağımsız davranırlar (80,84-87). IGFBP-1, -3 ve -4 hem IGF-1 hem de IGF-2'ye eşit oranda ilgi (afinite) gösterirken, IGF-2,5 ve 6 IGF-2'ye daha fazla ilgi gösterir (88). İnsanlarda IGFBP-3 plazmada en fazla bulunan form olup IGF-1 için afinitesi en yüksek olan formdur. Dolaşımdaki IGF-1'in %80'i IGFBP-3 tarafından taşınır, bu sayede IGF-1 dolaşımda kalır ve yarı ömrü uzar. IGF-1R yüksek dozda IGF-1 ile karşılaştığında reseptörlerin çoğu IGF ile bağlı olduğundan yetersiz kalır dolayısıyla IGFBP-3, IGF-1'in yavaş salınımını sağlayarak reseptörün bu cevabını önler ve dolaylı olarak IGF-1'in etkisine katkıda bulunur (81,85-87).

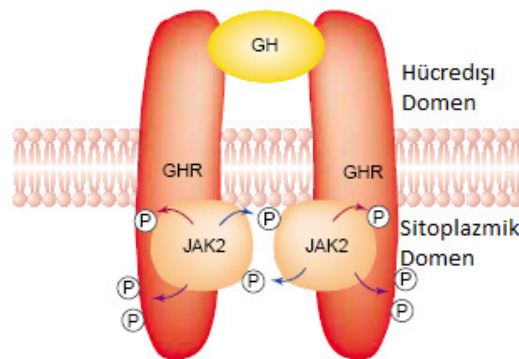
Ana sentez yeri karaciğer olan IGFBP-3 çeşitli dokularda sentezlenir ve IGF'ler gibi sentezi GH kontrolündedir. IGFBP-3'ün dolasındaki miktarı IGF-1 ve -2'nin miktarının toplamına eşittir, yani neredeyse hepsini bağlar (85-88).

IGFBP-3 sadece pasif bir taşıyıcı molekül değildir. IGFBP -3'ün IGF-1'den bağımsız etkileri de mevcuttur ve bu etkilerini V tipi TGF- β (tümör büyüme faktörü- β) reseptörüne bağlanarak gösterir. TGF- β epitelyal hücrelerde hücre büyümesinin potent bir inhibitörüdür. In vitro çalışmalarla; meme ve kolon kanseri hücrelerine ve fare fibroblastlarına, insan IGFBP-3 cDNA'sının aktarılması ile hücre büyümesinin inhibe olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak; IGF-1 hücre sağ kalımı yönünde işlev görürken IGFBP-3, hem IGF-1'e bağlanıp aktif hormon seviyesini azaltarak hem de apoptozisi artırarak sağ kalımı dengelemektedir (81,85-88).

2.1.4. Büyüme Hormon Reseptörü (GHR) ve GHR Polimorfizmleri

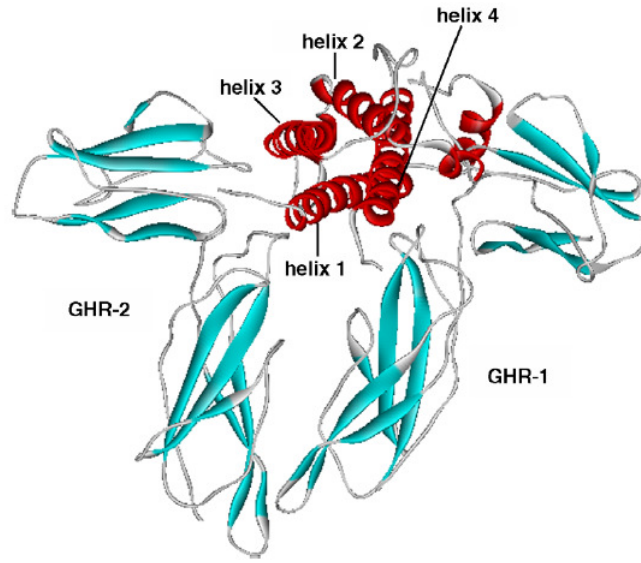
2.1.4.1. Büyüme Hormon Reseptörü

Büyüme hormonunun (GH) özel transmembran reseptörü olan GHR, sınıf I hematopoetik sitokin reseptörü süper-ailesine dahil olup periferik dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu reseptör grubu, Janus kinaz 2 gibi adaptör tirozin kinazlarla bağlantılıdır (89-91). GHR; hücre dışı, transmembran ve hücre içi olmak üzere üç kısımdan oluşur. GH reseptörünün hücre dışı kısmı, yüksek afiniteli bağlayıcı proteini oluşturmaktadır (20-23,25,36,37,64,90-93).



Şekil 2-5. Büyüme hormon reseptörü (GHR) yapısı (93).

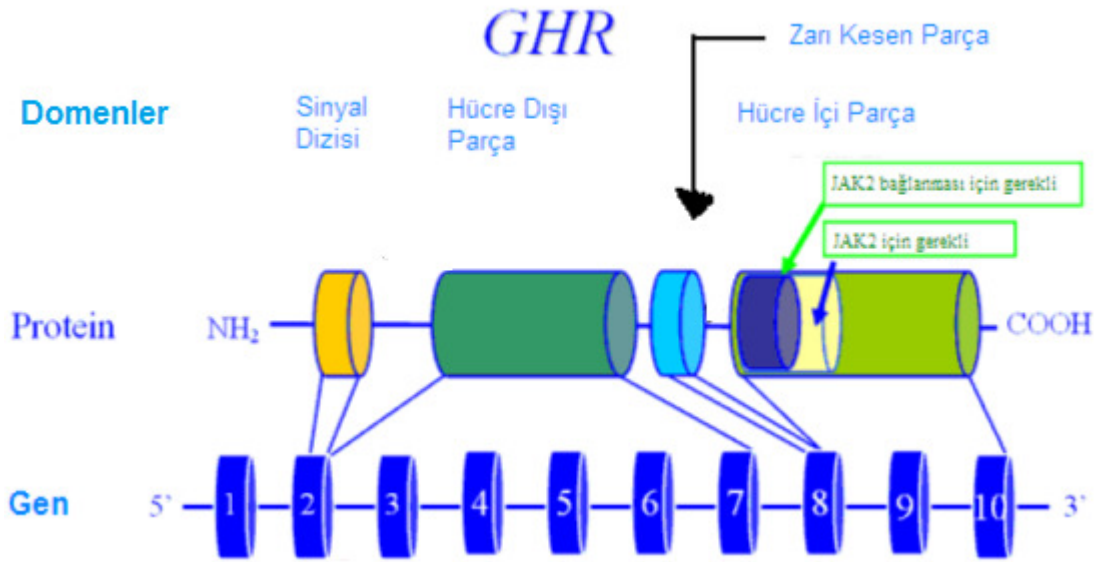
GH, reseptörüne reseptör proteininin hücre dışındaki bağlantı bölgesiyle bağlanır; daha sonra reseptör dimerize olarak aktive olur. Reseptörün aktivasyonu JAK-STAT yolağının aktivasyonu ve ardından IGF-1 ve büyüme hormonuna bağlı diğer genlerin ekspresyonlarının artışı izlemektedir. Sonuçta GHR; GH'nun dolaşımdan uzaklaştırılmasını sağlayarak etkisini düzenler (20-23,25,36,37,64,90-93).



Şekil 2-6. Kompleks oluşturmuş büyüme hormonu (GH) ve reseptörünün (GHR) üç boyutlu şematik gösterimi. GH'nin helikal segmentleri kırmızı renkte; reseptör molekülleri (GHR1 and GHR2) mavi renkte gösterilmiştir (63).

GHR, başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda eksprese edilir (94). GHR geni 5p13.1-12'de lokalizedir ve yaklaşık 300 kb'lik genomik DNA'yı kaplamaktadır. GHR geninin kodlanan kısmı en az 87 kb'dir. Reseptörün kodlanan ve 3' kodlanmayan kısmı, ikiden ona kadar numaralandırılmış 9 ekzondan oluşurken 5'kodlanmayan bölgesinde pek çok ekson 1 varlığı olduğu tespit edilmiştir. GHR geninin ikiden dokuza kadar tüm ekzonları 66-179 baz çifti (bç) arasında değişen uzunluktadır. Bununla beraber neredeyse tüm hücre içi (sitoplazmik) parçayı ve translasyona uğramayan 3' bölgeyi kodlayan ekzon 10, yaklaşık 3400 bç uzunluğundadır. Ekzon 2, salınım sinyalini veren diziyi kodlarken; ekzon 8, GHR'yi hücre zarına zincirleyen transmembran parçayı kodlar. Üçten yediye kadar olan ekzonlar, hücre dışı GH bağlayan bölümü ve aynı zamanda da büyüme hormonu bağlayıcı proteini (GHBP) kodlar (95). Tüm GHR

proteini 620 amino asit uzunluğundadır (hücre dışı kısım 246, transmembran kısım 24, sitoplazmik kısım 350 amino asit ihtiva eder) (89,91-94,95). GHR geninin insanlarda GHR'nin ekson 3'ü taşıyan tam form (GHR-fl) ya da taşımayan delesyonlu form (GHR-d3) olmak üzere 2 izoformu vardır (20-23,25,36,37,92).

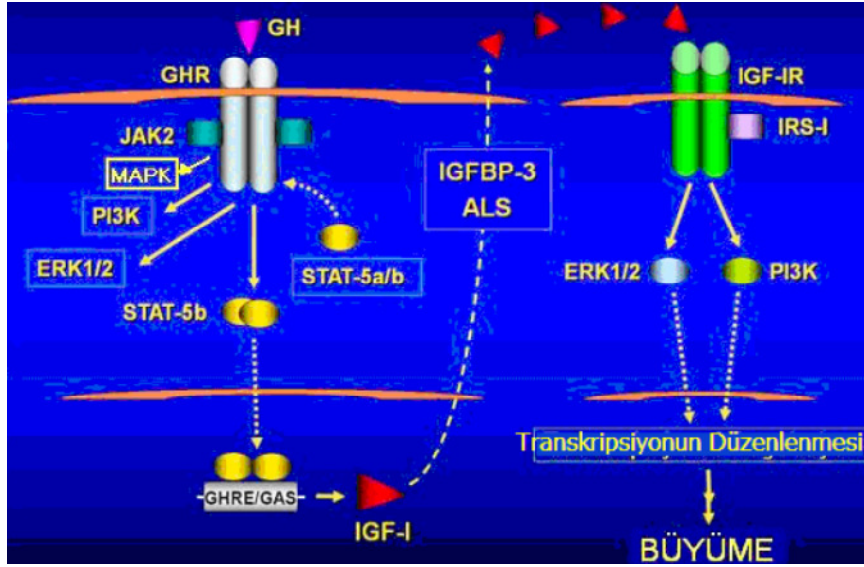


Şekil 2-7. GHR Geni (<http://www.endotext.org/pediatrics/pediatrics1/pediatricsframe1a.htm>)

Büyüme Hormonu Sinyal Yolu:

GH'nun GHR'ye bağlanması ile başlayan sinyal iletimi hücre içinde pek çok molekülün kimyasal modifikasyonu sonucu aktif hale dönüşmesi ve çekirdekteki transkripsiyon faktörlerinin hedef genlerin ekspresyonu başlatması ile gerçekleşmektedir. GH sinyal iletiminde ilk adım GH'nun GHR'nin hücre dışı domenine bağlanarak 1:2 heterodimer kompleks oluşturması ile sinyal yolağının aktifleşmesidir. Büyüme hormonu reseptörünün tirozin kinaz aktivitesi olmamasına rağmen dimerizasyonu takiben iki GHR'nin hücre içi kuyruklarında yer alan ve birer tirozin kinaz olan Janus kinaz-2 (JAK2)'ler birbirlerine yaklaşırlar, karşılıklı olarak birbirlerini ve kuyruk üzerindeki tirozinleri fosforillerler ve bu şekilde fosforilasyon yolağı başlamış olur. JAK-2 fosforilasyonu sonrası GH sinyal iletimi, cesitli yollar üzerinden devam eder; bunların en iyi tanımlanmış olanları; MAPK (mitogen-activated protein kinase, mitojenle aktive olan protein kinaz), STAT (signal transducers and activators of transcription, sinyal iletilci ve transkripsiyon başlatıcı) ve PI3 kinaz (fosfatidil inozitol 3-OHkinaz), ERK (extracellular signal-regulated kinase, hücre dışı sinyal tarafından düzenlenen kinaz)

yolaklarıdır. GH anabolik etkilerini, IGF-1 ve büyüme hormonuna bağlı diğer genlerin ekspresyonlarının artışıyla sağlayarak gösterir. GHR aktivasyonu sonrası, GH-GHR kompleksi, hücre içine alınır (internalize olur), dolayısıyla GH uyarısı ortadan kalkar. Serbest kalan GHR'ler tekrar kullanılmak üzere hücre yüzeyine geri döner (89-96) (Şekil 2-12).

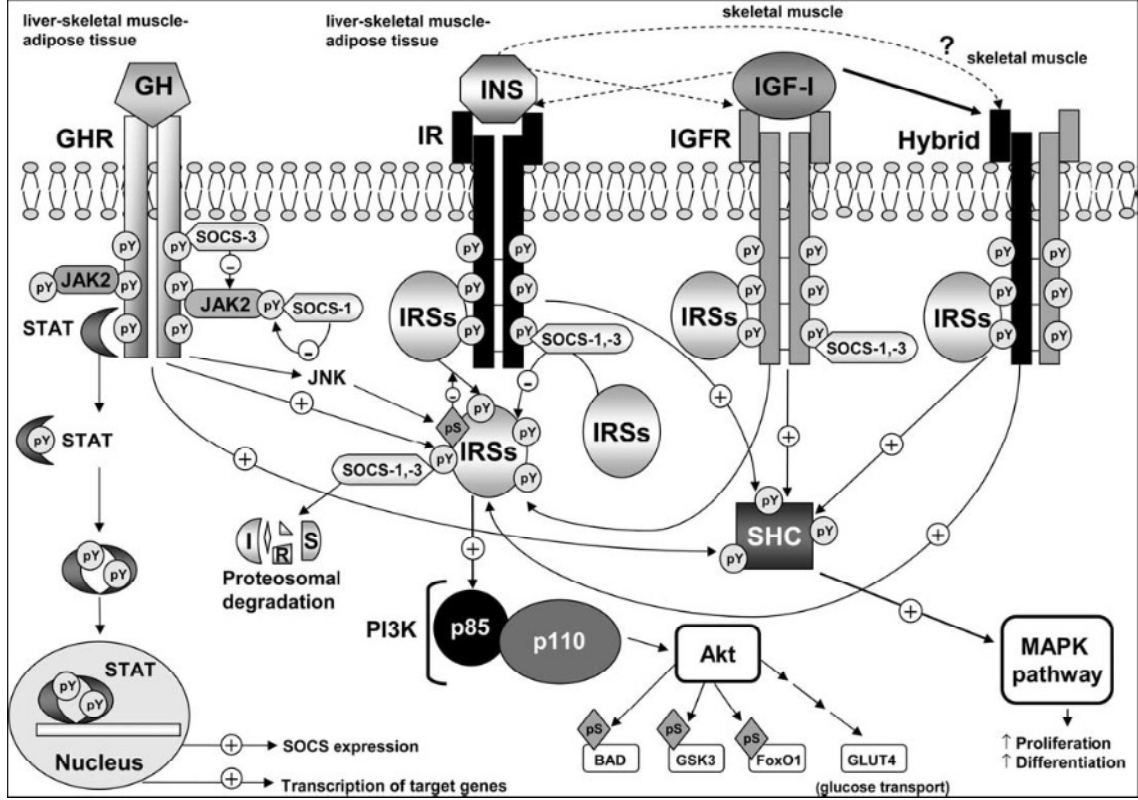


Şekil 2-8. GH Sinyal Yolu. (http://www.ohsu.edu/som/ped/rr_home.cfm).

GH'nun büyüme uyarıcı etkileri IGF-1 reseptörünün bloke edilmesiyle bozulur. GH yokluğunda ekzojen IGF-1 tedavisi uygulanır. Aşırı miktarlarda salgılanan büyüme hormonu, kortizol, östrojenler ve progesteron, insülin salınımını artırmaktadır ve insüline zıt yönde etkisi nedeniyle bozulmuş glikoz toleransı, hipertansiyon ve galaktore gibi çeşitli metabolik etkiler ortaya çıkar (25-30).

Büyüme hormonunun insüline karşı etkisi ile hiperglisemik ve diyabetojenik bir molekül olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır (31-38). Bu nedenle büyüme hormonunun adipoz (39,40), kas (41-45) ve karaciğer (43, 45-48) gibi hem büyüme hormonuna hem de insüline yanıt veren dokularda insülin resistansı yaratan bir molekül olduğu kabul edilmiştir. Bunun da ötesinde karaciğerin, adipoz dokunun ve insülin resistansını uyarmak için büyüme hormonu tarafından etkilendiği gösterilmiştir. Büyüme hormonunun etkilerinden sorumlu olan moleküller mekanizmasının insülin resistansını nasıl tetiklediği halen tam olarak anlaşılmamakla birlikte bugünkü bilgiler

GHnin, insülin sinyalizasyonu downregüle eden PI3 kinazın regülatuvar alt birimini upregüle ettiğini göstermektedir (Şekil 2-13) (25,46-50).



Şekil 2-9. GH, IGF-1 ve insülin yolları arasındaki ilişki. İnsülin ve IGF-1, reseptörlerindeki tirozin kinazları aktive etmek ve IRS proteinlerini bir araya toplayarak bunların tirozin fosforilasyonunu gerçekleştirmek üzere reseptörlerine bağlanır. IRS proteinlerinin bir araya toplanarak birbirleriyle ve fosforillenmiş reseptörle ilişkisini, Ser fosforilasyonu ile inhibisyon düzenler. IRS-1 ve IRS-2'nin tirozin fosforilasyonu, Akt kaskadını aktive eden PI3K'nın regülatuar alt birimi olan p85 gibi -SH2 domeni taşıyan çeşitli proteinlerin bir araya toplanmasına ve aktive olmasına neden olur. SHC ile birleşme ise downstream MAPK kaskadının aktivasyonuna neden olur. SHC ve IRS proteinlerinin bu kaskada olan katkıları hücre ve doku spesifiktir. GH ile uyarılan GHR dimerizasyonu JAK-2 aktivasyonuna ve IRS proteini ve SHC gibi birçok sitosolik proteinin fosforilasyonuna neden olur. Gen transkripsiyonunun GH tarafından düzenlenmesi 2 temel sinyal yolunu içerir: MAPK kaskadı ve STAT proteinleri (özellikle STAT5b). JAK-2 tarafından fosforillenen bu proteinler nucleusa transloke olarak burada IGF-1, IGFBP-3 ve SOCS (sitokin sinyalizasyonunun supresör molekülü) gibi çeşitli genlerin transkripsiyonuna neden olurlar. SOCS-1 ve -3, IRS'nin sinyalizasyon potansiyelini en az 3 inhibitör mekanizmayla düzenler. IR/IGFR sinyalizasyonunda SOCS, reseptör bağlanma bölgesiyle kompetisyona girer; JAK-2 aktivitesini inhibe eder ve IRS'nin proteozomal degradasyonunu uyarır. Kesikli çizgi ile gösterildiği gibi insülin ve IGF-1, IR ve IGFR proteinlerine düşük afinite ile bağlanırlar. IGF-1'in insülin benzeri etkisi özellikle iskelet kasında bol miktarda bulunan hibrid reseptörler aracılığıyla gerçekleşir. +, uyarı; -, inhibisyon; pY, fosfotirozin; pS, fosfoserin (25).

Büyüme hormonu regülasyonundaki bozuklukların kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumsuz etkileri ise ateromatoza yol açan kötü lipid profilleri(41-44), artan kan basıncı, anormal vücut kompozisyonu (51,55,56), kilo artışı (51,57,58), koagülasyondaki artış (51,59), inflamasyon markerlarının artışı ile açıklanmaktadır (51,60). Büyüme hormonu replasman tedavisi ile bu etkiler normalize edilebilmektedir (61).

Büyüme Hormon Reseptörü Polimorfizmi

GHR'nin fizyolojik olarak, ekzon 3'un olması ya da delesyonu ile oluşan 2 izoformu vardır: GHR-fl (GHR full length, GHR tam boyda), GHR-d3 (GHR deleted exon3, GHR ekzon 3'ü kayıp) (25,30,97-99). Pantel ve arkadaşları, GHR-d3 izoformunun alternatif kırılma sonucu meydana gelmediğini direkt olarak ekzon3'u eksik olan GHR alleli tarafından kodlanma sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir (97).



Şekil 2-10. GHR'nin hücre dışı domenine ait ekzon 2-4 arasındaki konsensus bölgeleri. GHR-d3; Büyüme hormon reseptörü ekzon 3 delesyonu olan form, GHR-fl; büyüme hormon reseptörü ekzon 3 delesyonu olmayan tam form (97).

Stallings-Mann ve arkadaşları, ekzon 3'ün kodladığı alanın, ekstrasellüler domenin 22 amino asitlik bir parçası olduğunu göstermişler ve bu parçanın eksilmesinin ekzon 2 ve 4 birleşkesindeki aspartik asit ile alaninin yerdeğiştirmesi ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Yalnızca insanlarda görülen bu izoformun, plasentalarda ifade şeklini araştıran Stallings-Mann ve arkadaşları, gebelik boyunca ifade şeklinin değişmediğini, dolayısıyla gelişimsel olarak düzenlenmediğini ve doğan çocukların plasentadakiyle aynı izoformu taşıdığını bildirmişlerdir. Bu izoform için homozigot (GHR-d3d3, her iki allelde de ekzon 3 kaybı var) bireyler incelendiğinde, normal oldukları görülmüştür. Soyağacı çalışmaları sonucu basit Mendel tipi geçişli olduğu ve ya hep ya hiç kuralıyla

geçiş gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Normal populasyonda, homozigot GHR-d3 allel taşıyıcısı birey oranı, yaklaşık %10 olarak hesaplanmıştır ve sık görülen bir polimorfizm olduğuna karar verilmiştir. Bu yüksek orana, evrim sırasında seçici avantaj sağlaması nedeniyle ulaşıldığı düşünülmektedir (100).

Pantel ve arkadaşları, GH duyarsızlığı olan bir hastada ekzon 3'te W16X mutasyonu ile ekzon 4'te bir anlamsız (nonsense) mutasyon tespit etmiştir. Aile taraması yapıldığında sağlıklı olan her iki ebeveynde ekzon 3 delesyonunun bulunmadığı ancak annede ekzon 3'te W16X mutasyonu olduğu bildirilmiştir. Heterozigot normal ebeveynlerden yola çıkarak, ister GHR-fl olsun ister GHR-d3 olsun, normal tek bir allel taşımanın normal büyüme için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır (98). Bununla birlikte 2004 yılında Dos Santos ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada GH tedavisi alan kısa boylu çocuklardaki büyüme hızları değerlendirilmiş ve GHR-d3 izoformunun, GHR-fl izoformuna göre yaklaşık 1.7-2 kat daha fazla büyüme hızına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (22).

Akromegali hastalarında yapılan bir araştırmada ise GHR-d3 polimorfizminin hastalığın seyri ile ilişkili olabileceği ve bu polimorfizmin tedavi direncine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (101). 2006 yılında Horan ve ark. GHR-d3 polimorfizmi ile hipertansiyon ve inme riskini karşılaştırmışlar ve bu polimorfizm ile inme geçirmiş kadın hastalardaki hipertansiyon arasında pozitif ilişki bulmuşlardır (28).

Son yıllarda GH ve reseptörü ve diyabet ile kardiyovasküler hastalıklar gibi diyabetin komplikasyonları arasındaki ilişkiyi araştıran birçok araştırma yapılmıştır (20,22,25,48,49,51,54,97-99,102-106). Deneysel sıçan modellerinde yapılan çalışmalarda GH'nin inhibisyonunun insülin sensitivitesini arttırdığı gösterilmiştir (104). GH fazlalığı veya eksikliği olan hastalarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda da GH/IGF-1 eksenindeki değişikliklerin kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi arttırdığı, GH replasman tedavilerinin kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği (105-107) bildirilmiştir. Homozigot olarak GHR ekzon 3 delesyonu taşımanın diyabet üzerinde koruyucu etkisinin olduğu da belirtilmektedir (108).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Proje kapsamında ilk olarak aşağıda belirlenen klinik kriterlere dayanılarak olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Seçilen olgulardan izin alınarak 10 ml'lik kan örnekleri EDTA'lı ve kuru tüplere toplandıktan sonra en geç 1 gün içinde elde edilen DNA'ların saflıkları tayin edilerek DNA düzeyleri hesaplanmıştır. Elde edilen DNA örneklerinden GHR ekzon 3 gen polimorfizminin saptanmasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve agaroz jel elektroforezi yöntemleri kullanılmıştır. Kuru tüplerle alınan kan örneklerinden ise serum santrifüjleme ile direk elde edilmiş ve çalışılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Ayrılan serum örneklerinden GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri enzim işaretli immünotest (ELİSA) yöntemi ile saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarındaki genotip ve allel dağılımlarının belirlenmesi ve biyokimyasal parametrelere ilişkin dağılımlar istatistiksel analizlerle yapılmış olup hastalık gelişiminde risk oluşturup oluşturmadıkları saptanmaya çalışılmıştır.

3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Bu çalışmada diyabet hastası, koroner kalp hastası ve kontrol olmak üzere üç farklı örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grup Marmara Üniversitesi Hastanesi, Kalp-Damar Cerrahisi Bölümü tarafından takip edilen 90 hastadan; ikinci grup İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrin ve Metabolizma Bilim Dalı'nda takip edilen 90 hastadan oluşturulmuştur. Hastaların klinik parametrelerine göre yapılan ayrımlar, kan örneklerinin sağlandığı klinikler tarafından yapılarak, kan örnekleri bu birimler tarafından sınıflandırılarak İstanbul Üniversitesi DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na gönderilmiştir. Üçüncü grup olan kontrol grubu ise, herhangi bir rahatsızlığı olmayan 96 erkek ve kadınlardan oluşturulmuştur.

İlgili birimlerce hastaların seçiminde izlenen kriterler aşağıda özetlenmiştir.

Koroner kalp hasta grubu: Eğer hasta miyokard infarktsü (MI) geçirmişse veya anjina var fakat MI geçirmemişse tanı amacıyla farmakolojik stres testi veya miyokard perfüzyon sintigrafisi (MIBI) ile miyokard perfüzyonuna bakılmıştır. Bu testlerin

sonucu negatifse çalışma grubuna dahil edilmemiş, pozitifse hasta Koroner kalp hastası kabul edilip anjiyografi önerilerek çalışma grubuna dahil edilmiştir. Bu kapsamda Marmara Üniversitesi Hastanesi, Kalp-Damar Cerrahisi Bölümü tarafından teşhisi konulan ve takip edilen 90 koroner kalp hastası, koroner kalp hastalığı çalışma grubu olarak değerlendirilmiştir.

Diyabet hasta grubu: İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrin ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından teşhisi konulan ve takip edilen 90 diyabet hastası, diyabet hasta grubu olarak dahil edilmiştir.

Kontrol Grubu: Herhangi bir iskemik/koroner kalp hastalığı bulgusu, hipertansiyon, metabolik rahatsızlık (DM, böbrek yetersizliği, KC yetersizliği vs.), ailede bilinen erken yaş iskemik kalp hastalığı, lipid metabolizma bozukluğu ve hipertansiyon bulgusu olmayanlar kontrol grubuna alınmıştır. Bu kapsamda kontrol grubu; normal popülasyondan rastgele seçilerek oluşturulan tercihen sigara kullanmayan 30-80 yaşları arasında toplam 96 adet erkek ve kadın bireyden oluşturulmuştur.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

iPrep™ PureLink™ gDNA Blood Kiti, Trizma baz (Sigma T-1503), Brom fenol mavisi (Sigma B-6896), Borik asit (Sigma B-6768), Etidyum bromür (Sigma E-8751), Agaroz MB Grade (Invitrogen), primer dizileri (HPLC Grade) (Invitrogen), Multipleks PCR kiti, Taq DNA polimeraz Platinum Hot start&high fidelity, 100 bp DNA ladder (Invitrogen), ELISA kitleri ; HGH (Invitrogen) IGF-1 ve IGFBP-3 (Mediagnost).

Kullanılan Primerler: GHR geni ekzon 3 delesyonunun gözlemlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir.

GHR-3 I : 5'TGTGCTGGTCTGTTGGTCTG3'

GHR-3 II : 5'AGTCGTTCCCTGGGACAGAGA3'

GHR-3 III: 5'CCTGGATTAACACTTTGCAGACTC3'

3.3. KULLANILAN GEREÇLER

Invitrogen iPrep İzolasyon Cihazı, BioRad T-100 Thermal Cycler, Elektroforez için güç kaynağı (Titan plus Helena Laboratories), Hassas terazi (Mettler), Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Electromag), Mikrodalga fırın (Philco), Mikrosantrifüj (TDX), pH metre (Hanna), Pipet takımı, (Eppendorf), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag), Elektroforez Sistemi LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis, E-C 350 MIDICELL), Dijital Görüntüleme sistemi/ UV transilluminator (Stratagene UV/White light Transilluminator), Polaroid kamera (Kodak), Vorteks (Nuve mix), Etüv, ELİSA okuyucu (Mediopec).

3.4. ÇÖZELTİLER

3.4.1. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER

3.4.1.1. Etidyum Bromür (10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH₂O ile 10 mililitreye tamamlandı.

3.4.1.2. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (10x)

4 gram sükroz ve 0,025 gr bromofenol mavisi tartılarak steril ddH₂O ile 10 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

3.4.1.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE) Tamponu

54 gram Tris baz ve 27,5 gram Borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. Üzerine 20 mililitre 0.5 molarlık EDTA (pH'sı 8.0) ve 800 ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözüldürüldü. Çözelti balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı ve 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Hazırlanan çözelti oda ısısında saklandı.

3.4.1.4. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:

4 gram agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözüldürüldü.

Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C) çözülmüş agaroz jel içine 4.5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi.

Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı.

Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU

Periferik kandan DNA izolasyonu için Invitrogen DNA izolasyon kiti (*iPrep™ PureLink™ gDNA Blood Kit*) ve Invitrogen iPrep İzolasyon Cihazı kullanıldı. Bu amaçla hasta ve sağlıklı kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere periferik venöz kan alınarak DNA izolasyon kitinin içerisindeki prosedür uygulandı.

iPrep™ İzolasyon Cihazı ChargeSwitch® Teknolojisine (CST®) göre çalışmaktadır. Bu sistem, ortamdaki tamponun pH'ı üzerinden değiştirilebilir yüzey yüküne bağlı manyetik boncuk tabanlı bir teknolojidir. Düşük pH durumunda CST boncukları negatif yüklü nükleik asit iskeletine bağlanan bir pozitif yüke sahiptir. Bu nedenle proteinler ve diğer kontaminantlar bağlanamayıp sıvı yıkama tamponu ile yıkanır. Nükleik asitlerin bu ortamdaki eldesi için ise önce yüklü boncuk yüzeyi, pH'ı düşük tuzlu yıkama (elution) tamponu kullanılarak pH 8,5'e yükseltmek suretiyle nötralize edilir. Böylece nükleik asit yıkama tamponuna geçer ve uygulamalarda kullanılmak üzere hazır hale gelmiş olur (109). Bu kapalı sistem içerisinde DNA izolasyon işlemi 45 dakika içerisinde gerçekleşerek bu işlem sonunda yaklaşık 150 µl DNA elde edildi.

3.5.2. ELDE EDİLEN DNA'NIN KONSANTRASYON VE KALİTESİNİN TAYİNİ

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı ve spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi.

50µg/ml (50ng/µl) çift iplikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda vermiş olduğu absorbans değerinin 1 optik densite (OD) olduğu kabul edilmektedir. Bu temel bilgiden faydalanarak, 260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu: $OD_{260} \times 50\mu\text{g/ml} \times \text{Sulandırma oranı} (100)$

DNA örneklerinin saflığı ise OD_{260}/OD_{280} oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD_{260}/OD_{280} değeri 1,7-1.8 arasında olan örnekler çalışma grubuna alınmıştır.

3.5.3. GHR EKZON 3 DELESYONU GEN POLİMORFİZMİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI

GHR geninde, ekzon 3 delesyonunun saptanabilmesi için multipleks PCR yapılmıştır. Bu amaçla 3 primer dizisi kullanılmıştır. Birinci ve ikinci primer dizisi GHR-fl (GHR full length, GHR tam boyda) formu birinci ve üçüncü primer dizisi ise GHR-d3 (GHR deleted exon3, GHR ekzon 3'ü kayıp) formu belirlemek için kullanılan dizileridir. Reaksiyon detayları aşağıdaki gibidir:

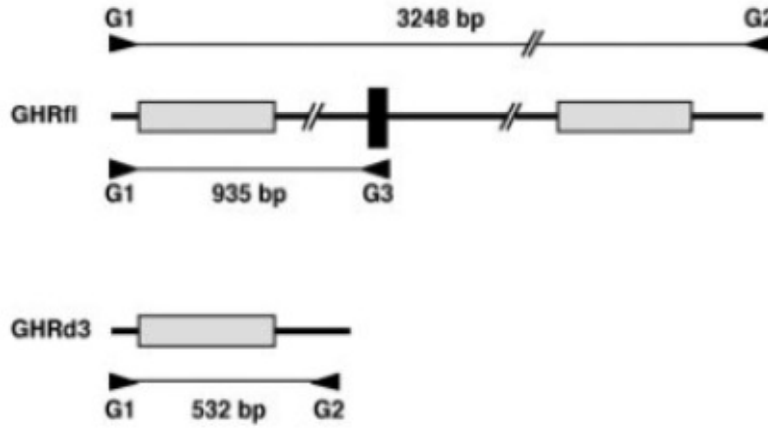
3.5.3.1. GHR geni ekzon-3 delesyonunun saptanması kullanılan multipleks PCR primerleri:

GHR geni tam boy ve ekzon 3 delesyonlu izoformların saptanması için kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (Genbank ulaşım numarası AF155912) (97,98).

GHR-3 I : 5'TGTGCTGGTCTGTTGGTCTG3'

GHR-3 II : 5'AGTCGTTCCCTGGGACAGAGA3'

GHR-3 III: 5'CCTGGATTAACACTTTGCAGACTC3'



Şekil 3-1. GHR ekzon 3 lokusunu genotipleme yöntemi . Ekzon 3 siyah dikdörtgen şeklinde şematize edilmiş olup gri kutular tekrar bölgelerini göstermektedir. GHR ekzon 3 delesyonu olmayan tam formda (GHR-fl) ekzon 3 bölgesini temsil eden siyah kutu ile bir tekrar bölgesi; ekzon 3'ün olmadığı GHR-d3 formunda ise sadece tekrar bölgesi görülmektedir. G1, G2 ve G3 multipleks PCR primerlerinin yerleşimi şekilde oklar şeklinde gösterilmiştir. Spesifik PCR şartları sağlandığında G1-G3 primer çifti GHR-fl'yi çoğaltırken G1-G2 primer çifti GHR-d3'ü amplifiye eder (98).

3.5.3.2. Multipleks PCR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Multipleks PCR'ın Hazırlanışı:

Taq DNA polimeraz enzimi (5U/μl) (Invitrogen)

PCR reaksiyonundaki son konsantrasyonu 1 unite olacak şekilde 25 μl lik PCR reaksiyonuna eklendi.

Primer Stok Çözeltisi

Çalışma için Invitrogen firmasına sentez ettirilen ve liyofilize halde gelen primer dizileri ilk önce 1000 pmol/μl stok çözeltisi olacak şekilde sulandırıldı. Daha sonra PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere bu stok primer çözeltisinden her primerin derisimi 10 pmol/μl olacak şekilde bir primer-karışım çözeltisi hazırlandı. PCR reaksiyonunda kullanılan bütün primerler -20°C 'de saklandı.

Nükleotid Karışımı (dNTP)

Dört ayrı nükleotid trifosfat (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) için son derişim 12,5 mM olan dNTP karışımı hazır olarak Invitrogen firmasından temin edildi ve -20°C 'de saklandı.

3.5.3.3. PCR Karışımının Hazırlanışı :

Genomik DNA örneklerinde GHR ekzon 3 gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Bu amaçla toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde, Tablo3.1'deki bileşenler sırası ile 0.5 ml'lik steril tüpe konuldu. 10 örnek çalışılacak ise pozitif ve negatif kontrol için birer tane ve pipetleme hataları için de bir tane olmak üzere toplam 13 örnek üzerinden reaksiyon karışımı hazırlandı. PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı.

Tablo 3-1. PCR karışımının hazırlanması

Malzemeler	Kullanılan hacim	10 + 3' lük Reaksiyon
PCR Tamponu (750 mM Tris-HCl, pH:8.8, 200mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% (v/v)Tween 20)	2.5 µl	32.5 µl
dNTP	0,4 µl	5,2 µl
Primer karışımı (10pmol)	0,6 µl	7,8 µl
MgCl₂	2 µl	26 µl
Taq polimeraz	0.25 µl	3.25 µl
Distile su	18.25µl	237.25 µl
DNA	1 µl	-

Taq polimeraz eklendikten sonra hiç vakit kaybetmeden tüp içine konan bileşenlerin iyice karışması için pipetleme işlemi yapıldı. Örnek sayısı kadar 0.2 ml'lik tüplere 24 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Daha sonra her tüpe 1 µl genomik DNA eklenerek yeniden pipetleme yapıldı ve daha önceden 95 °C sıcaklığa çıkarılmış PCR cihazına (BioRad T-100 Thermal Cycler) örnekler yerleştirilerek ve PCR işlemi başlatıldı.

3.5.3.4. PCR Koşulları

GHR geni ekzon 3 bölgesi delesyonunun saptanması için kullanılan primerler için annealing (bağlanma) derecesi optimize edilerek 60 °C sıcaklık kullanıldı.

Tablo 3-2. GHR ekzon-3 polimorfizmine ait amplifikasyon koşulları

95 °C	5 dakika	
95 °C	30 saniye	} 35 döngü
60 °C	30 saniye	
72°C	60 saniye	
72°C	10 dakika	

3.5.4. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ (PCR SONRASI) VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

GHR geni ekzon 3 delesyonunun saptanabilmesi için multipleks PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek ultraviyole ışık (UV) altında incelendi.

3.5.4.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Jel'e Yüklenmesi:

%2'lik agaroz jel hazırlandıktan sonra jel, 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu.

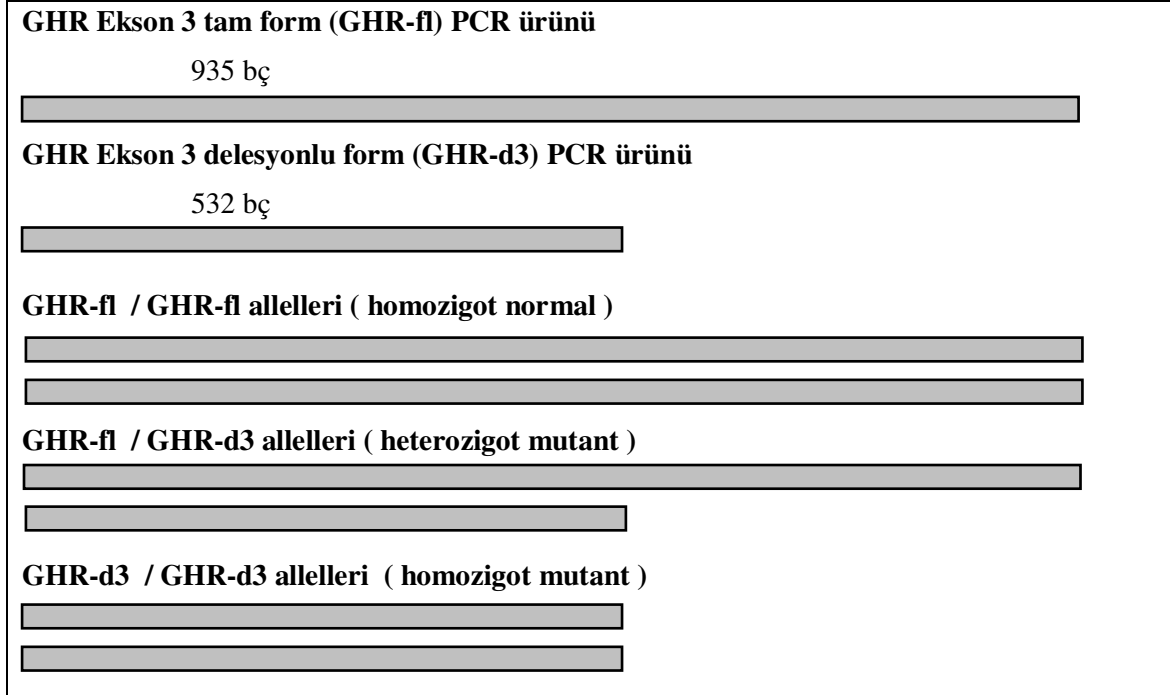
Agaroz jelin üzerini 2-3 ml geçecek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendikten sonra 7 µl PCR ürünü veya negatif kontrol olarak kullanılan 7 µl'lik PCR karışımına, 3 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik porsiyonlar halindeki örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendikten sonra PCR ürünleri 100 bp'lik DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.

Yükleme işleminden sonra güç kaynağı 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak agaroz jelde elektroforez işlemi başlatıldı.

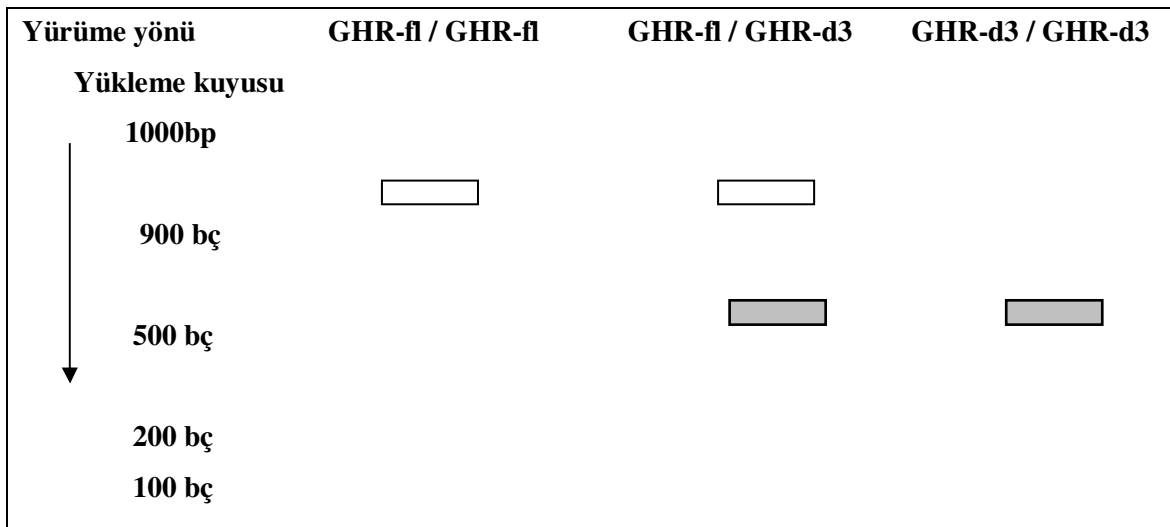
3.5.4.2. Agaroz Jelde PCR Ürünlerinin Kontrolü ve Değerlendirilmesi:

GHR geni ekzon 3 delesyonunun saptanabilmesi amacı ile PCR yukarıda tanımlanan elektroforez sisteminde yürütülmesinden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi. Jelde görüntülenen PCR ürünlerindeki bant boyları 100 bp'lik DNA moleküler marker ile karşılaştırıldı ve buna göre gen ürünü ve GHR-d3 polimorfizmi hakkında bilgi sahibi

olundu. Buna göre homozigot GHR-fl alleli taşıyan bireyler için G1 ve G3 primer çiftinin çoğaltmış olduğu 935 bç uzunluğa sahip bölge için tek bir bant; homozigot GHR-d3 alleli taşıyan bireylerde G1 ve G2 primer çiftinin çoğaltmış olduğu 532 bç'lik bölgeye ait tek bir bant ve heterozigot olarak GHR-fl ve GHR-d3 allelleri taşıyan bireyler (GHR-fl/d3) için ise her iki uzunluğun da olduğu iki bant gözlemlendi (Şekil3-1 ve Şekil3-2).



Şekil 3-2. GHR ekzon 3 bölgesinin multipleks PCR sonrası verdiği bantların şematik görüntüsü.



Şekil 3-3. Multipleks PCR sonrası oluşabilecek GHR ekzon 3 bölgesine ait DNA

3.5.5. Kan Örneklerinden serum eldesi

10 ml'lik kuru tüpte gelen kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika soğutmalı santrifüjde çevrildi ve supernatant kısım yani serum kısmı 250 mikrolitre olacak şekilde aligotlara ayrılıp bu aligotlar -20°C'de saklandı.

3.5.6. ELISA Yöntemi ile Serum GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin ölçülmesi

3.5.6.1. Serumda HGH – İnsan Büyüme Hormonu Düzey Tayin Protokolü.

Serum örneklerinde GH seviyesi tayini Sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Invitrogen (Kanada) kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

Kullanılan standart solüsyonlar 0.14, 0.92, 2.5, 9.9, 21.8 ng/ mL olacak şekilde hazırlandı. İşlem aşamaları aşağıdaki şekilde yapıldı:

- ✓ Tüm ayıraçlar ve örnekler oda sıcaklığına getirilip vortekslenip karıştırıldı.
- ✓ Protokole göre standart solüsyonlar için 5 kuyu, kör örnek için 1 kuyu hazırlanır. Diğer kuyulara çalışma grubuna ait serum örnekleri eklenir. Dolayısıyla uygun kuyucuklara serum örneklerinden, standartlardan ve kontrollerden 50'şer µl eklendi.
- ✓ Her bir kuyucuğa 50 µl Anti-HGH-HRP konjugatı eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- ✓ Her bir kuyucuk içerisindeki sıvılar aspire edilip 400'er µl'lik yıkama solüsyonu ile 3 kere yıkandı.
- ✓ Yıkamanın ardından 15 dakika içinde kuyucuklara 100 µl kromojen eklenerek ile 25 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- ✓ Kuyucukların üzerine 100 µl stop solüsyonu eklenip, iyice karıştırıldı. (Kuyucukların rengi stop solüsyon eklendiğinde maviden sarıya döndü.)
- ✓ 1 saat içerisinde 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okuma yapıldı.

3.5.6.2. Serumda İnsan IGF-1 Düzey Tayin Protokolü

Serum örneklerinde IGF-1 seviyesi tayini Sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Mediagnost (Almanya) kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

Kullanılan standart solüsyonlar 2, 5, 15, 30, 50 ng/ mL olacak şekilde hazırlandı. İşlem aşamaları aşağıdaki şekilde yapıldı:

- ✓ Çalışma gruplarına ait örnekler kit içeriğinde olan seyreltme tamponu ile 1:21 oranında seyreltildi.
- ✓ Kuyucuklara 80 µl antikor konjugatı eklendi.
- ✓ Protokole göre standart solüsyonlar için 5 kuyu, kör örnek için 1 kuyu hazırlanır. Diğer kuyulara çalışma grubuna ait seyreltilmiş serum örnekleri eklenir. Dolayısıyla uygun kuyucuklara serum örneklerinden, standartlardan ve kontrollerden 20'şer µl eklendi.
- ✓ Plate üzerine koruyucu kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat 350 rpm'de inkübe edildi.
- ✓ Her bir kuyucuk içerisindeki sıvılar aspire edilip 300'er µl'lik yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkandı.
- ✓ Yıkamanın ardından 100 µl enzim konjugatı eklenerek oda sıcaklığında 1 saat 350 rpm'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrası her bir kuyucuk içerisindeki sıvılar aspire edilip tekrar 300'er µl'lik yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkandı.
- ✓ Kuyucuklara 100 µl substrat solüsyonu eklenerek ile 15 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.
- ✓ Kuyucukların üzerine 100 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
- ✓ 30 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda (referans dalga boyu \geq 590 nm) olarak ELISA okuyucusunda okuma yapıldı.

3.5.6.3. Serumda İnsan IGFBP-3 Düzey Tayin Protokolü

Serum örneklerinde IGFBP-3 seviyesi tayini Sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Mediagnost (Almanya) kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

Kullanılan standart solüsyonlar 0.4, 2, 6, 15, 30 ng/ mL olacak şekilde hazırlanmıştır. İşlem aşamaları aşağıdaki şekilde yapıldı:

- ✓ Çalışma gruplarına ait örnekler kit içeriğinde olan seyreltme tamponu ile 1:401 oranında seyreltildi.
- ✓ Kuyucuklara 50 µl dilüsyon tamponu eklendi.
- ✓ Protokole göre standart solüsyonlar için 5 kuyu, kör örnek için 1 kuyu hazırlanır. Diğer kuyulara çalışma grubuna ait seyreltilmiş serum örnekleri eklenir. Dolayısıyla uygun kuyucuklara serum örneklerinden, standartlardan ve kontrollerden 50'şer µl eklendi.
- ✓ Plate üzerine koruyucu kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat 350 rpm'de inkübe edildi.
- ✓ Her bir kuyucuk içerisindeki sıvılar aspire edilip 250ş'er µl'lik yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkandı.
- ✓ Yıkamanın ardından 100 µl antikor konjugatı eklenerek oda sıcaklığında 1 saat 350 rpm'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrası her bir kuyucuk içerisindeki sıvılar aspire edilip tekrar 250ş'er µl'lik yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkandı.
- ✓ Kuyucuklara 100 µl substrat solüsyonu eklenerek ile 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.
- ✓ Kuyucukların üzerine 100 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
- ✓ 30 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda (referans dalga boyu \geq 590 nm) olarak ELISA okuyucusunda okuma yapıldı.

3.5.7. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılacak İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Sonuçlar sürekli değişkenler için ortanca (median) ve ortalama standart sapma olarak, kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde verilmiştir.

Genotip ve allelerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki Kare (χ^2) testi ile Fisher's kesin olasılık (Fischer's exact) testi, biyokimyasal aktivite üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için iki bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır.

Vücut kitle indeksi üzerine etki eden risk faktörlerini değerlendirmek için lojistik regresyon analizinden yararlanılmıştır.

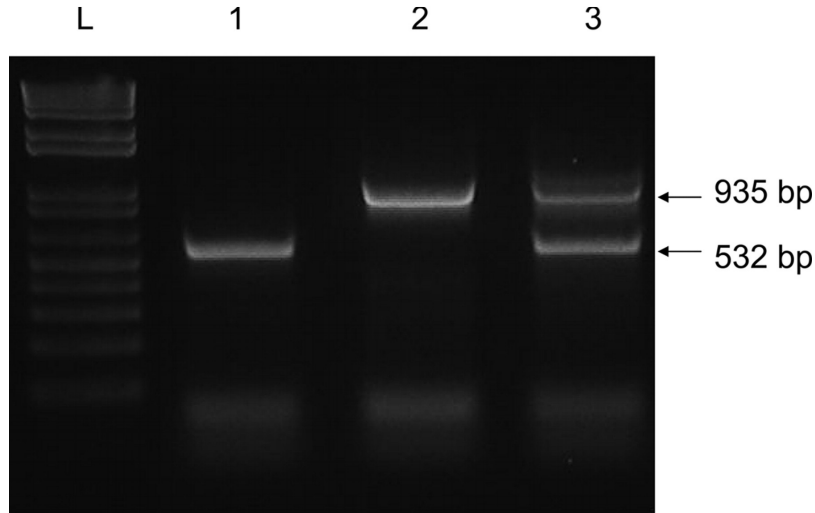
4. BULGULAR

4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

GHR Ekzon 3 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular

Bu çalışmada GHR ekzon 3 bölgesindeki delesyonun belirlenebilmesi için PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir.

PCR sonrası agaroz jelde yürütülen örneklerde 935 bç'lik tek bant elde edilen örnekler GHR ekzon 3 delesyonu bakımından homozigot normal-yabanıl tip yani GHR-fl/fl (tam form; full length) genotipinde; 532 bç'lik tek bant elde edilen PCR ürünleri homozigot mutant/delesyonlu yani GHR-d3/d3 genotipinde; 935 bç ve 532 bç olmak üzere iki bant veren örnekler ise heterozigot mutant (GHR-fl/d3) olarak değerlendirildi. (Şekil 4-1).



Şekil 4-1. GHR Ekzon 3 bölgesine ait PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. L, Fermentas 100 bç marker; 1. Kuyu GHR-d3/d3; 2. Kuyu GHR-fl/fl; 3. Kuyu GHR-fl/d3.

4.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Tez projemize ait çalışma grupları Marmara Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi'nde takip edilen 90 koroner arter hastası, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrin ve Metabolizma Bilim Dalı'nda takip edilen 90 diyabet hastası ve 96 gönüllü sağlıklı kontrolden oluşturulmuştur. Tez çalışmamızda incelediğimiz hasta ve kontrol gruplarına ait demografik bilgiler ve biyokimyasal parametrelere ait bulgularımız Tablo 4-1'de verilmiştir.

Kikare istatistik analizi ile çalışma grupları karşılaştırıldığında diyabetik hasta grubunda kadın cinsiyetinin (%70.0), koroner kalp hasta grubunda ise erkek cinsiyetin (%75.6) hem kontrol grubuna hem de birbirlerine göre anlamlı bir şekilde ($p_{\text{kontrol vs DM}} = 0.001$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} = 0.001$; $p_{\text{DM vs KAH}} < 0.001$) yüksek olduğu gözlenmiştir. $VKİ \geq 27 \text{ kg/m}^2$ olma frekansının (%83.3; $p_{\text{kontrol vs DM}} < 0.001$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} < 0.001$; $p_{\text{DM vs KAH}} = 0.007$) diyabetik hasta grubunda; hipertansiyon prevalansı (%60; $p_{\text{kontrol vs DM}} < 0.001$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} < 0.007$) ile sigara içme (%45.6; $p_{\text{kontrol vs DM}} = 0.019$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} < 0.001$; $p_{\text{DM vs KAH}} = 0.031$) ve alkol kullanım (%13.3; $p_{\text{kontrol vs DM}} < 0.001$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} < 0.001$) oranlarının ise KKH grubunda diğer çalışma gruplarına göre anlamlı derece yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 4-1).

Çalışma gruplarında student t testi ile yapılan istatistiksel analiz sonucunda, diyabetik hastalarda vücut kitle indeksi (VKİ) ($32.51 \pm 6.39 \rightarrow 25.82 \pm 3.64, p < 0.001$), total kolesterol (TC) ($195.04 \pm 31.74 \rightarrow 177.99 \pm 26.58, p < 0.001$), trigliserid (TG) ($163.48 \pm 82.74 \rightarrow 121.70 \pm 54.24, p < 0.001$), düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-C) ($115.54 \pm 28.59 \rightarrow 100.98 \pm 23.47, p < 0.001$), hemoglobin-A1c (HbA1c) ($7.83 \pm 1.59 \rightarrow 5.91 \pm 0.44, p < 0.001$), glukoz ($181.73 \pm 60.67 \rightarrow 94.71 \pm 9.36, p < 0.001$) seviyeleri ile sistolik (SKB) ($136.23 \pm 20.52 \rightarrow 124.39, p < 0.001$) ve diastolik kan basıncı (DKB) ($84.03 \pm 11.38 \rightarrow 75.14 \pm 7.80, p < 0.001$) düzeylerinin; koroner kalp hasta grubunda ise VKİ ($27.30 \pm 3.16 \rightarrow 25.82 \pm 3.64, p = 0.004$), TC ($198.11 \pm 34.64 \rightarrow 177.99 \pm 26.58, p < 0.001$), TG ($155.34 \pm 46.64 \rightarrow 121.70 \pm 54.24, p < 0.001$), LDL-C ($124.91 \pm 35.67 \rightarrow 100.98 \pm 23.47, p < 0.001$), çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (VLDL-C) ($38.59 \pm 28.51 \rightarrow 27.47 \pm 16.67, p = 0.001$), HbA1c ($8.45 \pm 6.44 \rightarrow 5.91 \pm 0.44, p < 0.001$), glukoz ($135.70 \pm 54.27 \rightarrow 94.71 \pm 9.36, p < 0.001$) seviyeleri ile SKB ($143.39 \pm 19.91 \rightarrow$

124.39, $p < 0.001$) ve DKB ($82.59 \pm 10.75 \rightarrow 75.14 \pm 7.80$, $p < 0.001$) düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4-1).

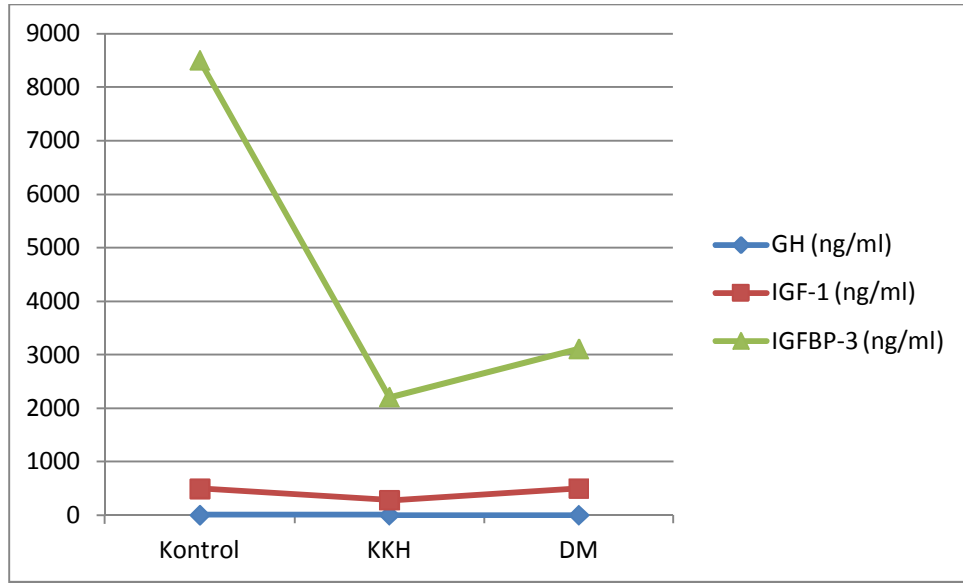
Tablo 4-1. Çalışma Gruplarına ait demografik ve biyokimyasal parametreler

ÇALIŞMA GRUPLARI			P değerleri				
	CONTROL (n=96)	DM (n=90)	KKH (n=90)	1 p	2 p	3 p	
Cinsiyet (n,%)							
Erkek	51 (%53.1)	27 (%30.0)	68 (%75.6)	0.001	0.001	<0.001	
Kadın	45 (%46.9)	63 (%70.0)	22 (%24.4)				
Yaş (X±SD)	64.05±9.89	54.98±9.34	63.71±8.82	<0.001	0.805	<0.001	
VKI (kg/m ²)	25.82±3.64	32.51±6.39	27.30±3.16	<0.001	0.004	<0.001	
≥ 27 kg/m ²	24 (%25.0)	75 (%83.3)	46 (%51.1)	<0.001	<0.001	<0.001	
< 27 kg/m ²	72 (%75.0)	15 (%16.7)	44 (%48.9)				
TC (mg/dl) (X±SD)	177.99±26.58	195.04±31.74	198.11±34.64	<0.001	<0.001	0.537	
TG (mg/dl) (X±SD)	121.70±54.24	163.48±82.74	155.34±46.64	<0.001	<0.001	0.418	
HDL-C (mg/dl) (X±SD)	49.65±12.97	46.54±11.44	44.28±30.80	0.086	0.120	0.516	
LDL-C (mg/dl) (X±SD)	100.98±23.47	115.54±28.59	124.91±35.67	<0.001	<0.001	0.054	
VLDL-C(mg/dl)(X±SD)	27.47±16.67	30.84±16.30	38.59±28.51	0.166	0.001	0.026	
HbA1c (X±SD)	5.91±0.44	7.83±1.59	8.45±6.44	<0.001	<0.001	0.377	
Glukoz (mg/dl) (X±SD)	94.71±9.36	181.73±60.67	135.70±54.27	<0.001	<0.001	<0.001	
SKP (mmHg) (X±SD)	124.39±11.97	136.23±20.52	143.39±19.91	<0.001	<0.001	0.019	
DKP (mmHg) (X±SD)	75.14±7.80	84.03±11.38	82.59±10.75	<0.001	<0.001	0.383	
GH (ng/ml) (X±SD)	1.77±1.68	0.95±1.36	1.69±1.68	<0.001	0.766	0.001	
IGF1 (ng/ml) (X±SD)	492.82±222.92	500.14±176.76	277.82±178.93	0.805	<0.001	<0.001	
IGFBP3 (ng/ml) (X±SD)	8499.50±2406.56	3108.51±965.96	2204.48±1343.28	<0.001	<0.001	<0.001	
Sigara (n, %)	(+)	15 (%15.6)	27 (%30.0)	41 (%45.6)	0.019	<0.001	0.031
	(-)	81 (%84.4)	63 (%70.0)	49 (%54.4)			
Alkol (n, %)	(+)	-	11 (%12.2)	12 (%13.3)	<0.001	<0.001	0.823
	(-)	96 (%100)	79 (%87.8)	78 (%86.7)			
HT (n, %)	(+)	4 (%4.2)	48 (%53.3)	54 (%60.0)	<0.001	<0.001	0.367
	(-)	92 (%95.8)	42 (%46.7)	36 (%40.0)			

KKH, koroner kalp hastalığı; DM, Diabetes mellitus; VKI, vücut kitle indeksi; TC, Total kolesterol; TG, Trigliserid; HDL-C, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; LDL-C, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; VLDL-C, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; HbA1c, haemoglobin A1c; SKB, Sistolik kan basıncı; DKB, Diastolik kan basıncı; GH, büyüme hormone; IGF1, insulin benzeri büyüme faktörü-1; IGFBP-3, insulin benzeri büyüme factor bağlayıcı protein-3; HT, hipertansiyon. Tabloda X±SD olarak verilen değerler iki bağımsız örneklem t testleri ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma). Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. ¹ P Değeri: Kontrol ile DM gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri, ² P Değeri: Kontrol ile KAH gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri, ³ P Değeri: DM ile KAH gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri. Koyu ile işaretlenmiş olanlar istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

Hasta gruplarının birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda ise LDL-C ($p=0.054$), VLDL-C ($p=0.026$) ve SKB ($p=0.019$) düzeylerinin KKH hasta grubunda; glukoz ($p<0.001$) düzeyi ile VKI ($p<0.001$) prevalansının ise diyabetik hasta grubunda anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 4-1).

Çalışma grupları arasında büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme hormonu-1 (IGF-1) ve insülin benzeri büyüme hormon bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) düzeyleri Şekil 4-2’de gösterilmiştir.



Şekil 4-2. Çalışma grupları arasındaki GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin karşılaştırılması. GH, Büyüme hormonu; IGF-1, insülin benzeri büyüme faktörü-1; IGFBP-3, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3.

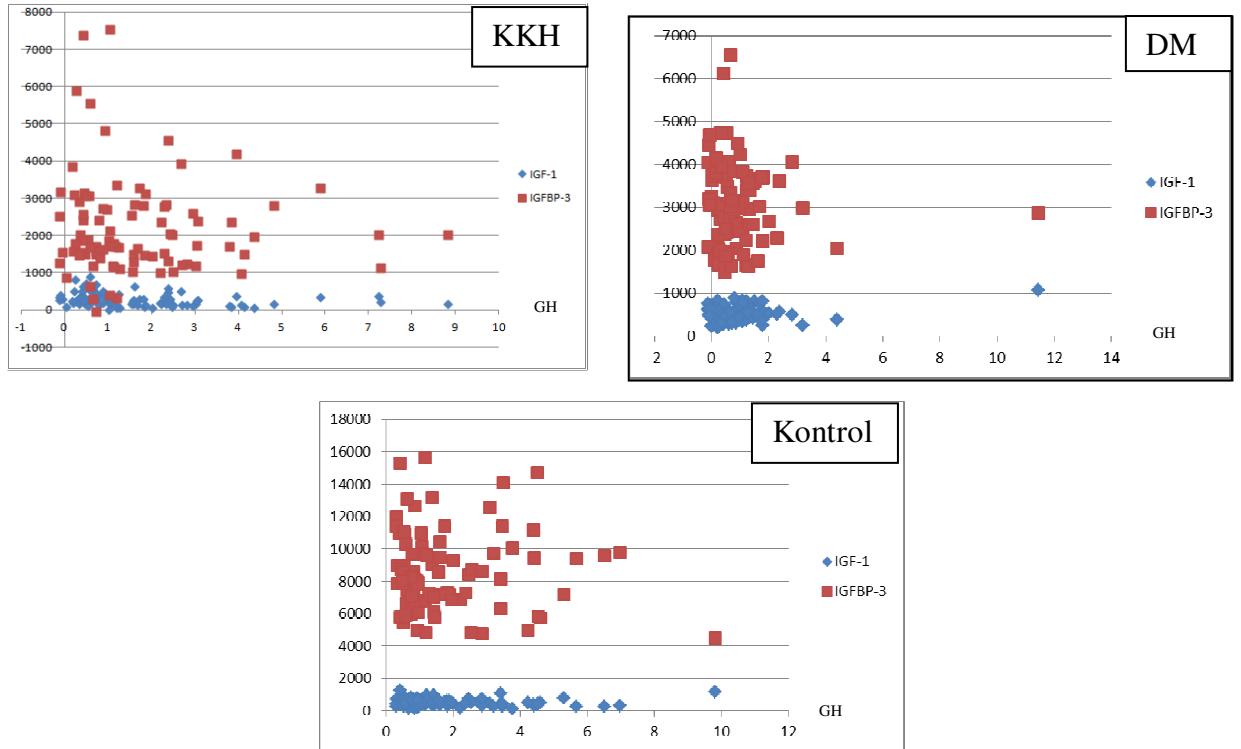
GH düzeyi kontrol grubunda DM hasta grubuna göre ($1.77\pm 1.68 \rightarrow 0.95\pm 1.36$, $p<0.001$) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Ancak bu anlamlılık kontrol grubu ile KKH grubu arasında elde edilememiştir ($p>0.05$). İki hasta grubu arasındaki fark incelendiğinde ise KKH grubunda (1.69 ± 1.68 , $p=0.001$) anlamlılık gözlenmiştir.

IGF-1 düzeyleri incelendiğinde, DM hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmamakla beraber, KKH grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında IGF-1 düzeyinin KKH grubunda anlamlı bir şekilde düşük olduğu ($492.82\pm 222.92 \rightarrow 277.82\pm 178.93$, $p<0.001$) gözlenmiştir. Bununla birlikte diyabetik

gruptaki düzeyinin ise KKH gruba göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ($500.14 \pm 176.76 \rightarrow 277.82 \pm 178.93$, $p < 0.001$) gözlenmiştir.

IGFBP-3 seviyeleri her iki gruba göre kontrol grubunda ($p < 0.001$) en yüksek seviyelerde gözlenirken, DM ve KKH hasta grupları karşılaştırıldığında DM grupta istatistiksel anlamlılık söz konusudur ($p < 0.001$) (Tablo 4-1, Şekil 4-2).

Şekil 4-3’de GH’ye göre IGF-1 ve IGFBP-3 dağılımları verilmiştir. Buna göre IGF-1 salınımının DM>Kontrol>KKH şeklinde; IGFBP-3 salınımının Kontrol>DM>KKH şeklinde sıralandığı tespit edilmiştir.



Şekil 4-3. Çalışma gruplarında IGF-1 ve IGFBP-3’nin GH düzeylerine göre dağılımı. GH, Büyüme hormonu; IGF-1, insülin benzeri büyüme faktörü-1; IGFBP-3, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3.

KKH, DM hasta ve kontrol gruplarında incelenen GHR ekzon 3 delesyonu gen polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları Tablo 4-2’de gösterilmiştir. Allel hesaplamaları gen sayma metodu kullanılarak yapılmıştır.

GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlar hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilememiştir ($p>0.05$). Genotip frekansları kontrol grubunda %43.8 homozigot yabanıl tip olan GHR-fl/fl; %36.5 homozigot mutant tip GHR-d3/d3 ve %19.8 heterozigot varyant GHR-fl/d3 iken bu durum DM grupta sırasıyla %54.4, %37.8 ve %7.8; KKH grubunda ise %44.4, %45.6 ve %10.0 olarak gözlenmiştir. Görüldüğü üzere Türk toplumunda heterozigot GHR-fl/d3 genotipi görülme sıklığı düşüktür (Tablo 4-2).

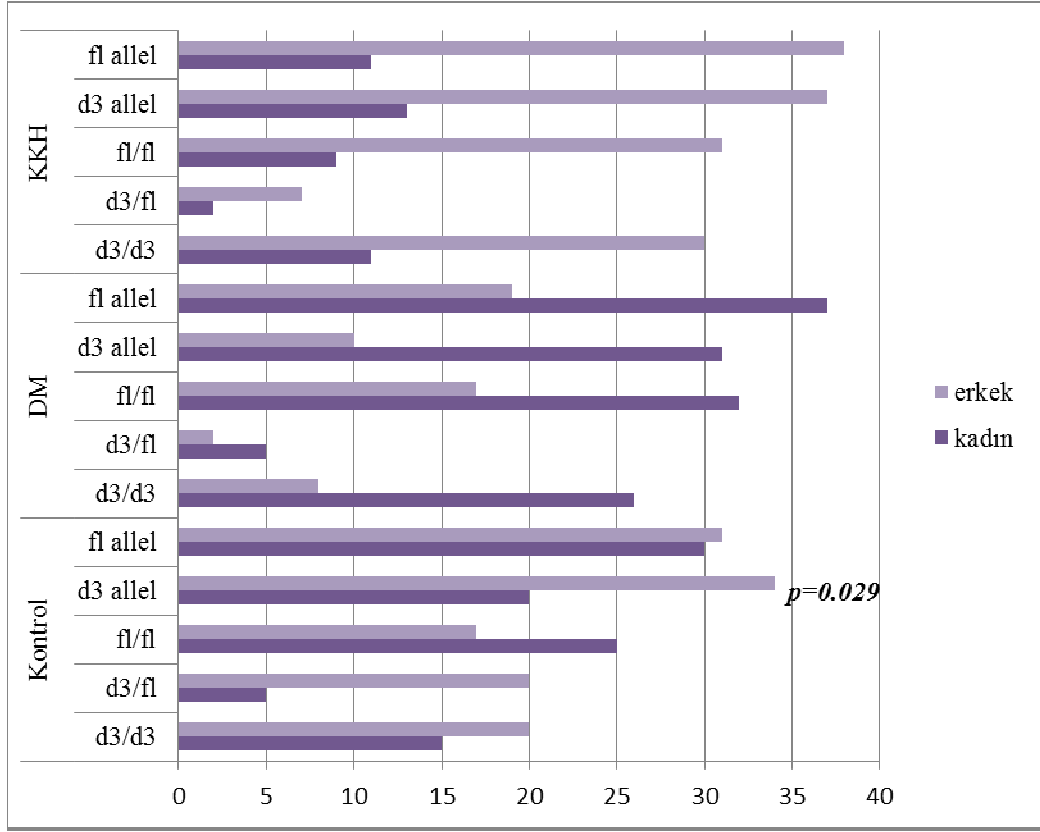
Allel dağılımları incelendiğinde ise DM grupta GHR-fl allel KKH grupta ise GHR-d3 allel frekanslarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplarda homozigot olarak GHR ekzon 3 polimorfizmine ait varyantları taşımanın eşit oranda olduğu tespit edilmiş ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Bununla birlikte heterozigot GHR-fl/d3 genotip varyant frekansı DM hasta grubuna kontrol grubunda göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş olup (%19.8→%7.8, $p<0.005$), homozigot olarak allelleri (GHR-fl/fl veya GHR-d3/d3 genotipi) taşımanın heterozigot GHR-fl/d3 genotipini taşımaya göre hastalık riskini 2.545 kat artırdığı gözlenmiştir ($p=0.018$, %95 GA: 1.124-5.763). Benzer şekilde GHR-fl/d3 genotip frekansı KKH grubunda da kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığa yakın bir şekilde düşük gözlenmiştir (%19.8→%10.0, $p=0.062$) (Tablo 4-2).

Tablo 4-2. GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı.

	KONTROL (n=96)	DM (n=90)	KKH (n=90)
GENOTİP			
GHR-fl/fl	42 (%43.8)	49 (%54.4)	40 (%44.4)
GHR-d3/d3	35 (%36.5)	34 (%37.8)	41 (%45.6)
GHR-fl/d3	19 (%19.8)	7 (%7.8) *	9 (%10.0)
ALLEL			
GHR-fl allel	103 (%53.7)	105 (% 58.3)	89 (%49.4)
GHR-d3 allel	89 (%46.3)	75 (%41.7)	91(%50.6)

*DM, Diabetes mellitus; KKH, koroner kalp hasta grubu; n, kişi sayısı; Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlığı belirten * simgesi istatistiksel anlamlılık sınırı olan $p<0.05$ değerini ifade etmektedir.*

GHR ekzon 3 polimorfizmine ait varyantların cinsiyete göre çalışma gruplarındaki dağılımı Şekil 4-4'de ile Tablo 4-4 ve Tablo 4-5'de verilmiş olup sadece kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur. Buna göre kadınlarda GHR-fl/fl genotipi frekansı GHR-d3 allel frekansına göre (%55.6→%44.6); erkeklerde GHR-d3 allel frekansı GHR-fl/fl genotip frekansına göre (%66.7→%33.3) anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla d3 allel frekansı erkeklerde fl/fl genotip frekansı kadınlarda daha yüksektir ($p=0.029$).



Şekil 4-4. GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantların cinsiyete göre çalışma gruplarındaki dağılımı. KKH, Koroner kalp hastalığı; DM, Diabetes mellitus. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarında LDL-C, HDL-C ve kolesterolde dislipidemilerde sınır değerler olarak kabul edilen değerlerin (LDL-C için 130mg/dl, HDL-C için 35mg/dl, kolesterol için 200mg/dl, TG için 100 mg/dl) (110,111) altında ve üstünde yer alan bireylerin sayı ve yüzdesi Tablo 4-3’de verilmiştir. LDL-C > 130mg/dl olan olguların DM ($p=0.001$) ve KKH ($p<0.001$) hasta gruplarında kontrol grubundakilere oranla daha fazla olduğu ve ayrıca iki hasta grubu arasında ($p=0.005$) da KKH grupta DM gruba göre bu sınır değer frekansının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. HDL-C < 35 mg/dl olma durumu özellikle KKH hasta grununda istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir ($p<0.001$). DM ve KKH hasta gruplarında TC ($p_{\text{kontrol vs DM}} = 0.012$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} = 0.008$) ve TG ($p_{\text{kontrol vs DM}} < 0.001$; $p_{\text{kontrol vs KAH}} < 0.001$; $p_{\text{DM vs KAH}} = 0.003$) sınır değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Tablo 4-3).

Tablo 4-3. Hasta ve kontrol gruplarında lipid sınır değerlerinin dağılımı

Lipid Değerleri	Kontrol (n, %)	DM (n, %)	KKH (n, %)	¹ P Değeri	² P Değeri	³ P Değeri
LDL-C < 130	88 (%91.7)	66 (%73.6)	48 (%53.3)	0,001	<0.001	0.005
LDL-C > 130	8 (%8.3)	24 (%26,7)	42 (%46.7)			
HDL-C < 35	7 (%7.3)	7 (%7.8)	29 (%32.2)	0,900	<0.001	<0.001
HDL-C > 35	89 (%92.7)	83 (%92.2)	61 (%67.8)			
TC < 200	73 (%76.0)	53 (%58.9)	52 (%57.8)	0,012	0.008	0.880
TC > 200	23 (%24,0)	37 (%41.1)	38 (%42.2)			
TG < 100	39 (%40.6)	15 (%16.7)	3 (%3.3)	<0.001	<0.001	0.003
TG > 100	57 (%59.4)	75 (%83.3)	87 (%96.7)			

DM, Diabetes mellitus; KKH, Koroner kalp hastalığı; n, örnek sayısı; LDL-C >130, LDL-C düzeyi 130mg/ml'den yüksek; LDL-C <130, LDL-C düzeyi 130mg/ml'den düşük; HDL-C >35, HDL-C düzeyi 35 mg/dl'den yüksek; HDL-C <35, HDL-C düzeyi 35 mg/dl'den düşük; TC<200, Total kolesterol düzeyi 200mg/dl den düşük; TC >200, Total kolesterol düzeyi 200mg/dl den yüksek; TG <100, TG düzeyi 100 mg/dl'den küçük; TG>100, TG düzeyi 100 mg/dl'den büyük; Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır. ¹ P Değeri: Kontrol ile DM gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri, ² P Değeri: Kontrol ile KAH gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri, ³ P Değeri: DM ile KAH gruplarının istatistik analizinde elde edilen p anlamlılık değeri.

DM ve KKH hasta gruplarında risk faktörlerinin GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre dağılımları Tablo 4-4 ve Tablo 4-5'de verilmiştir.

Hem DM hasta grubunda hem de KKH hasta grubunda GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları ile hipertansiyon, obezite, serum kritik lipid düzeyleri, sigara ve alkol gibi risk faktörleri arasında istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir ($p>0.005$).

KKH grupta $VKİ \geq 27$ kg/m² olma durumunun GHR-d3/d3 genotipine sahip bireylerde GHR-fl allelini (GHR-fl/fl + GHR-fl/d3 genotipini) taşıyan bireylere göre istatistiksel anlamlılığa yakın bir şekilde yüksek olduğu ($p=0.087$) tespit edilmiştir (Tablo 4-5). Ayrıca sigara kullanan DM hastalarında GHR-fl allel frekansının (GH-fl/fl + GHR-fl/d3) GHR-d3/d3 genotipine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.046$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4. GHR Ekzon 3 varyantlarına göre risk faktörlerinin diyabetik hasta grubundaki dağılımları

Risk faktörü		f1/f1 genotipi	d3 allel (f1/d3 + d3/d3)	p değeri	d3/d3 genotipi	f1 allel (f1/f1 + f1/d3)	p değeri
Cinsiyet	Erkek	17(%63.0)	10(%37.0)	0.288	8(%29.6)	19(%70.4)	0.297
	Kadın	32(%50.8)	31(%49.2)		26(%41.3)	37(%58.7)	
HT	(+)	30(%62.5)	18(%37.5)	0.101	15(%31.3)	33(%68.8)	0.172
	(-)	19(%45.2)	23(%54.8)		19(%45.2)	23(%54.8)	
Obezite	(+)	31(%51.7)	29(%48.3)	0.454	23(%38.3)	37(%61.7)	0.878
	(-)	18(%60.0)	12(%40.0)		11(%36.7)	19(%63.3)	
VKİ≥27kg/m²	(+)	40(%81.6)	35(%85.4)	0.636	29(%85.3)	46(%82.1)	0.697
	(-)	9(%18.4)	6(%14.6)		5(%14.7)	10(%17.9)	
TC > 200	(+)	21(%56.8)	16(%43.2)	0.713	14(%37.8)	23(%62.2)	0.992
	(-)	28(%52.8)	25(%47.2)		20(%37.7)	33(%62.3)	
TG > 100	(+)	40(%53.3)	35(%46.7)	0.636	30(%40.0)	45(%60.0)	0.331
	(-)	9(%60.0)	6(%40.0)		4(%26.7)	11(%73.3)	
LDL-C > 130	(+)	13(%54.2)	11(%45.8)	0.975	10(%41.7)	14(%58.3)	0.646
	(-)	36(%54.5)	30(%45.5)		24(%36.4)	42(%63.6)	
HDL-C < 35	(+)	46(%55.4)	37(%44.6)	0.522	30(%36.1)	53(%63.9)	0.271
	(-)	3(%42.9)	4(%57.1)		4(%57.1)	3(%42.9)	
Sigara	(+)	18(%66.7)	9(%33.3)	0.127	6(%22.2)	21(%77.8)	0.046
	(-)	41(%49.2)	32(%50.8)		28(%44.4)	35(%55.6)	
Alkol	(+)	8(%72.7)	3(%27.3)	0.194	2(%18.2)	9(%81.8)	0.152
	(-)	41(%51.9)	38(%48.1)		32(%40.5)	47(%59.5)	

Tablodaki değerler örnek sayısı (n) ve yüzde olarak verilmiştir. DM, Diabetes mellitus; KKH: Koroner kalp hastalığı; HT, Hipertansiyon; VKİ, Vücut kitle indeksi; TC >200, Total kolesterol düzeyi 200mg/dl den yüksek; TG>100, TG düzeyi 100 mg/dl'den büyük; LDL-C >130, LDL-C düzeyi 130mg/ml'den yüksek; HDL-C <35, HDL-C düzeyi 35 mg/dl'den düşük; Sistolik kan basıncı 120 mmHg ve diastolik kan basıncı >90 mmHg olan hastalar hipertansif olarak kabul edilmiştir. Brad tarafından verilen kriterlere göre çalışmaya katılan örneklerin obez ayrımı yapılmıştır (25 kg/m² 'nin altı normal, 25-30 kg/m² arası normalden fazla kilolu (over weight) ve 30 kg/m² 'nin üstü şişman sayılmaktadır). Hipertansiyon, obezite ve hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi tanısı klinisyen tarafından konulmuştur. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı p<0.05 olarak alınmıştır.

Tablo 4-5 GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre risk faktörlerinin koroner kalp hasta grubundaki dağılımları

Risk faktörü		f1/f1 genotipi	d3 allel (f1/d3 + d3/d3)	p değeri	d3/d3 genotipi	f1 allel (f1/f1 + f1/d3)	p değeri
Cinsiyet	Erkek	31(%45.6)	37(%54.4)	0.701	30(%44.1)	38(%55.9)	0.630
	Kadın	9(%40.9)	13(%59.1)		11(%50.0)	11(%50.0)	
HT	(+)	22(%40.7)	32(%59.3)	0.386	26(%48.1)	28(%51.9)	0.545
	(-)	18(%50.0)	18(%50.0)		15(%41.7)	21(%58.3)	
Obezite	(+)	33(%42.9)	44(%57.1)	0.461	6(%46.2)	7(%53.8)	0.963
	(-)	18(%60.0)	12(%40.0)		35(%45.5)	42(%54.5)	
VKİ≥27kg/m²	(+)	19(%47.5)	27(%54.0)	0.540	25(%61.0)	21(%42.9)	0.087
	(-)	21(%52.5)	23(%46.0)		16(%39.0)	28(%57.1)	
TC > 200	(+)	16(%42.1)	22(%57.9)	0.703	16(%42.1)	22(%57.9)	0.574
	(-)	24(%46.2)	28(%53.8)		25(%48.1)	27(%51.9)	
TG > 100	(+)	39(%44.8)	48(%55.2)	0.694	39(%44.8)	48(%55.2)	0.455
	(-)	1(%33.3)	2(%66.7)		2(%66.7)	1(%33.3)	
LDL-C > 130	(+)	19(%45.2)	23(%54.8)	0.887	19(%45.2)	23(%54.8)	0.955
	(-)	21(%43.8)	27(%56.3)		22(%45.8)	26(%54.2)	
HDL-C < 35	(+)	26(%42.6)	35(%57.4)	0.614	27(%44.3)	34(%55.7)	0.721
	(-)	14(%48.3)	15(%51.7)		14(%48.3)	15(%51.7)	
Sigara	(+)	20(%48.8)	21(%51.2)	0.449	18(%43.9)	23(%56.1)	0.773
	(-)	20(%40.8)	29(%59.2)		23(%46.9)	26(%53.1)	
Alkol	(+)	5(%41.7)	7(%58.3)	0.835	7(%58.3)	5(%41.7)	0.340
	(-)	35(%44.9)	43(%55.1)		34(%43.6)	44(%56.4)	

Tablodaki değerler örnek sayısı (n) ve yüzde olarak verilmiştir. DM, Diabetes mellitus; KKH: Koroner kalp hastalığı; HT, Hipertansiyon; VKİ, Vücut kitle indeksi; TC >200, Total kolesterol düzeyi 200mg/dl den yüksek; TG>100, TG düzeyi 100 mg/dl'den büyük; LDL-C >130, LDL-C düzeyi 130mg/ml'den yüksek; HDL-C <35, HDL-C düzeyi 35 mg/dl'den düşük; Sistolik kan basıncı 120 mmHg ve diastolik kan basıncı >90 mmHg olan hastalar hipertansif olarak kabul edilmiştir. Brad tarafından verilen kriterlere göre çalışmaya katılan örneklerin obez ayrımı yapılmıştır (25 kg/m² 'nin altı normal, 25-30 kg/m² arası normalden fazla kilolu (over weight) ve 30 kg/m² 'nin üstü şişman sayılmaktadır). Hipertansiyon, obezite ve hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi tanısı klinisyen tarafından konulmuştur. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı p<0.05 olarak alınmıştır.

Çalışma gruplarına ait GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının VKİ, serum lipid profili, kan basıncı ile glukoz seviyelerine olan etkileri Tablo 4-6, Tablo 4-7 ve Tablo 4-8’de verilmiştir.

Kontrol grubundaki bireyler vücut kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basınçları, serum lipoprotein ve glukoz seviyeleri ile yaş parametleri açısından GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre Anova testi ile incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6 Kontrol grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları ile glukoz ve HbA1c değerleri

	fl/fl genotipi (n=42)	d3 alleli (d3/d3 + fl/d3) (n=54)	<i>p</i> değeri	d3/d3 genotipi (n=35)	fl alleli (fl/fl + fl/d3) (n=61)	<i>p</i> değeri	fl/d3 genotipi (n=19)
YAŞ (yıl)	63.57±10.59	64.43±9.39	0.677	63.63±10.56	64.30±9.57	0.753	65.89±6.76
VKİ (kg/m²)	26.43±3.46	25.36±3.75	0.157	25.54±4.56	25.99±3.03	0.563	25.03±1.40
TC (mg/dl)	179.97±28.01	176.44±25.57	0.521	177.83±24.68	178.02±27.82	0.964	173.89±27.66
TG (mg/dl)	125.71±60.57	118.57±49.12	0.525	116.54±49.92	124.66±56.76	0.483	122.32±48.72
HDL-C (mg/dl)	50.02±12.76	49.35±13.24	0.803	49.71±15.31	49.61±11.55	0.969	46.68±8.52
LDL-C (mg/dl)	102.45±23.95	99.83±23.06	0.590	98.54±23.45	102.38±23.57	0.444	102.21±23.35
VLDL-C (mg/dl)	27.93±18.62	27.13±15.15	0.817	28.60±17.15	26.84±16.49	0.620	24.42±10.39
HbA1c	5.87±0.45	5.95±0.45	0.354	6.01±0.40	5.86±0.47	0.133	5.85±0.53
Glukoz (mg/dl)	95.81±9.15	93.85±9.51	0.312	93.26±10.11	95.54±8.87	0.252	94.95±8.45
SKP (mmHg)	125.83±13.23	123.26±10.88	0.298	122.46±10.79	125.49±12.55	0.234	124.74±11.19
DKP (mmHg)	74.40±7.96	75.70±7.70	0.421	75.31±7.49	75.03±8.04	0.866	76.42±8.25

VKİ, vücut kitle indeksi; TC, Total kolesterol; TG, Trigliserid; HDL-C, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; LDL-C, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; VLDL-C, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; SKB, Sistolik kan basıncı; DKB, Diastolik kan basıncı; HbA1c, hemoglobin A1c; n, örnek sayısı. Tabloda $X \pm SD$ olarak verilen değerler iki bağımsız örneklem t testleri ile incelenmiştir (X : Ortalama, SD : Standart sapma). İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır. Koyu ile işaretlenmiş olanlar istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

Diyabetik hasta grubunda GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlar ile yaş, vücut kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basınçları, serum lipoprotein ve glukoz seviyeleri gibi parametler arasındaki ilişki Tablo 4-7’de gösterilmiştir. Homozigot olarak GHR-fl alleli taşıyan bireylerde sistolik kan basıncı düzeylerinin GHR-d3 alleli (GHR-fl/d3 + GHR-d3/d3) taşıyan bireylere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0.025$) (Tablo 4-7). Bununla birlikte GHR-fl alleli (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3) taşıyan diyabetik hastalarda GHR-d3/d3 genotipi taşıyanlara göre kan glukoz ($p=0.099$) ve IGF-1 düzeylerinin daha düşük olduğu; GH ile IGFBP-3 seviyelerinin ise daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup istatistiksel farklılık gözlenmemiştir.

DM grubuna uygulanan Anova testi ile genotipler arasındaki fark incelendiğinde ise SKB düzeylerinin GHR-fl/fl genotipi taşıyan bireylerde GHR-d3/d3 genotipini taşıyan bireylere göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ($p=0.042$); serum HDL-C konsantrasyonunun GHR-fl/d3 genotipi taşıyan bireylerde diğer genotiplere özellikle de GHR-d3/d3 genotipine oranla istatistiksel anlamlılığa yakın şekilde yüksek olduğu ($p=0.090$) ve kan glukoz düzeyinin ise GHR-d3/d3 genotipi taşıyan bireylerde diğer genotiplere özellikle de GHR-fl/d3 genotipine göre istatistiksel anlamlılığa yakın şekilde yüksek olduğu ($p=0.065$) tespit edilmiştir. Diğer parametreler ile GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlar arasındaki dağılımlarda istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.005$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7 Diyabetik hasta grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları basınçları ile glukoz ve HbA1c değerleri

	fl/fl genotipi (n=49)	d3 alleli (d3/d3 + fl/d3) (n=41)	<i>p</i> değeri	d3/d3 genotipi (n=34)	fl alleli (fl/fl + fl/d3) (n=56)	<i>p</i> değeri	fl/d3 genotipi (n=7)
YAŞ (yıl)	55.59±7.85	54.27±10.92	0.506	55.65±10.12	54.59±8.91	0.605	47.57±12.99*
VKİ (kg/m²)	32.59±7.04	32.42±5.60	0.899	32.02±4.35	32.81±7.38	0.576	34.33±9.99
TC (mg/dl)	198.16±28.06	191.31±35.65	0.311	192.03±32.04	196.87±31.71	0.486	187.86±53.02
TG (mg/dl)	166.69±92.18	159.63±70.77	0.689	158.88±43.41	166.27±99.63	0.630	163.29±151.68
HDL-C (mg/dl)	46.41±10.56	46.71±12.54	0.902	45.32±11.47	47.29±11.46	0.433	53.43±16.13
LDL-C (mg/dl)	118.90±25.47	111.54±31.79	0.226	113.09±31.46	117.04±26.89	0.528	104.00±34.79
VLDL-C (mg/dl)	30.37±11.38	31.41±20.86	0.763	31.65±20.04	30.36±13.73	0.718	30.29±26.30
HbA1c	7.71±1.60	7.97±1.63	0.439	8.15±1.62	7.63±1.56	0.135	7.10±1.51
Glukoz (mg/dl)	177.02±54.23	187.37±67.82	0.424	195.29±60.34	173.50±59.90	0.099	148.86±92.51
SKP (mmHg)	140.63±21.92	130.98±17.54	0.025	131.32±16.30	139.21±22.31	0.077	129.29±24.23
DKP (mmHg)	85.88±12.02	81.83±10.29	0.093	82.65±10.32	84.88±11.99	0.371	77.86±9.94

VKİ, vücut kitle indeksi; TC, Total kolesterol; TG, Trigliserid; HDL-C, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; LDL-C, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; VLDL-C, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; SKB, Sistolik kan basıncı; DKB, Diastolik kan basıncı; HbA1c, hemoglobin A1c; n, örnek sayısı. Tabloda $X \pm SD$ olarak verilen değerler iki bağımsız örneklem t testleri ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma). İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Koyu ile işaretlenmiş olanlar istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

Tablo 4-8’de KKH grubunda GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlar ile yaş, vücut kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basınçları, serum lipoprotein ve glukoz seviyeleri arasındaki ilişki gösterilmiştir. Buna göre GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allellere göre bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Bununla birlikte GHR-fl alleleline (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3) sahip KKH’lı bireylerin total kolesterol düzeylerinin GHR-d3/d3 genotipine sahip bireylere göre istatistiksel anlamlılığa yakın düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p = 0.087$). Anova istatistiksel testi sonucuna göre ise GHR-fl/fl

genotipine sahip KKH hastalarında LDL-C düzeylerinin en yüksek; GHR-d3/d3 genotipine sahip olanlarda ise en düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir ($p=0.098$) (Tablo 4-8).

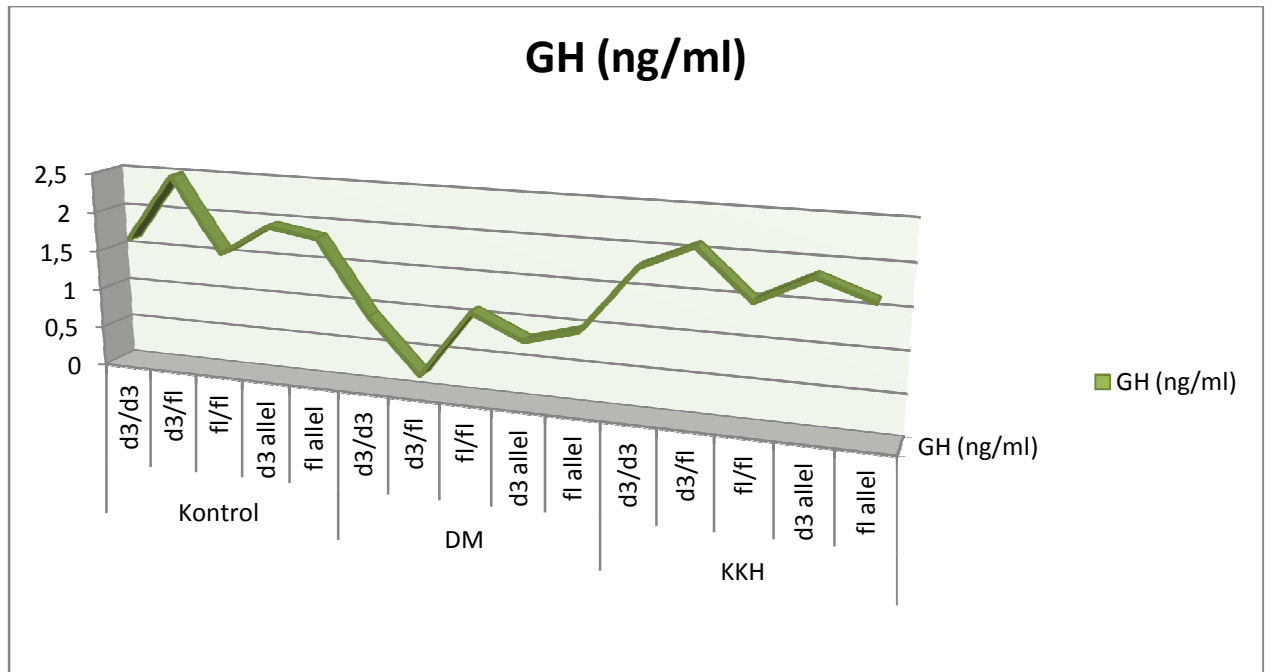
Tablo 4-8 Koroner kalp hasta grubunda GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmi varyantlarına göre vücut kitle indeksi, serum lipoprotein değerleri, kan basınçları ile glukoz ve HbA1c değerleri

	fl/fl genotipi (n=42)	d3 alleli (d3/d3 + fl/d3) (n=54)	<i>p</i> değeri	d3/d3 genotipi (n=35)	fl alleli (fl/fl + fl/d3) (n=61)	<i>p</i> değeri	fl/d3 genotipi (n=19)
YAŞ (yıl)	63.35±9.49	64.00±8.35	0.731	63.56±8.39	63.84±9.26	0.884	66.00±8.34
VKİ (kg/m²)	27.57±3.32	27.10±3.05	0.490	27.43±3.15	27.21±3.20	0.751	25.63±2.13
TC (mg/dl)	203.11±39.09	194.10±30.45	0.222	191.27±30.61	203.83±37.03	0.087	207.00±27.64
TG (mg/dl)	148.00±36.14	161.22±53.22	0.183	162.34±55.16	149.49±37.70	0.195	156.11±45.82
HDL-C (mg/dl)	41.12±19.01	46.82±37.69	0.386	47.66±41.58	41.46±17.32	0.345	43.00±5.87
LDL-C (mg/dl)	129.94±38.85	120.89±32.75	0.234	119.55±35.25	129.60±35.76	0.194	126.98±17.50
VLDL-C (mg/dl)	39.94±26.69	37.51±27.78	0.690	38.94±30.27	38.31±27.25	0.917	31.02±9.34
HbA1c	7.95±4.58	8.84±7.63	0.517	8.90±8.40	8.07±4.23	0.549	8.61±2.11
Glukoz (mg/dl)	137.30±44.74	134.44±61.26	0.806	132.12±64.04	138.71±44.99	0.569	145.01±48.24
SKP (mmHg)	140.28±15.84	145.88±22.50	0.170	144.51±23.49	142.45±16.53	0.638	152.11±16.98
DKP (mmHg)	82.28±11.24	82.84±10.44	0.806	82.29±9.80	82.84±11.58	0.812	85.33±13.39

VKİ, vücut kitle indeksi; TC, Total kolesterol; TG, Trigliserid; HDL-C, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; LDL-C, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; VLDL-C, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü; SKB, Sistolik kan basıncı; DKB, Diastolik kan basıncı; HbA1c, hemoglobin A1c; n, örnek sayısı. Tabloda $X \pm SD$ olarak verilen değerler iki bağımsız örneklem t testleri ile incelenmiştir (X : Ortalama, SD : Standart sapma). İstatistiksel anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Koyu ile işaretlenmiş olanlar istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

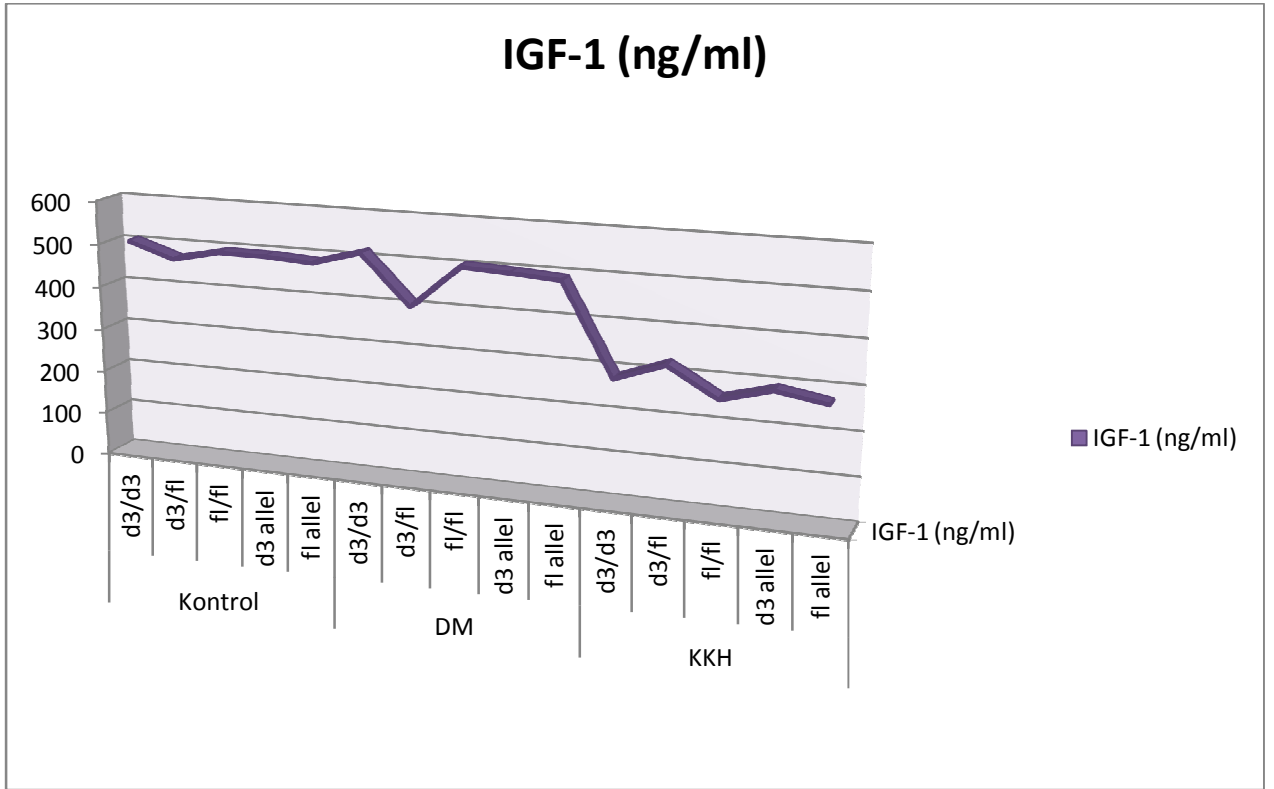
GH ve IGFBP-3 serum düzeylerinin kontrol grubunda, IGF-1 serum düzeyinin ise DM grupta en yüksek seviyede bulunduğu Tablo 4-1 ve Şekil 4-1’de gösterilmiştir. Buna ek olarak tüm çalışma gruplarında serum GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin GHR ekzon 3 polimorfizmi delesyonu polimorfizmine ait genotip ve allellere göre dağılımları Anova ve student t istatistiksel testleri uygulanarak incelenmiştir (Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7).

Kontrol grubundaki GH seviyelerinin GHR-fl/d3>GHR-d3/d3>GHR-fl/fl şeklinde; IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin ise GHR-d3/d3>GHR-fl/fl>GHR-fl/d3 şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Bu grupta istatistiksel anlamlık düzeyi incelendiğinde sadece heterozigot olarak GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allelleri (GHR-fl/d3) taşıyan bireylerin kan GH düzeylerinin homozigot olarak yabani (GHR-fl/fl) veya mutant (GHR-d3/d3) allelleri taşıyan bireylere göre anlamlı seviyede yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla p=0.044 ve 0.076) (Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7).



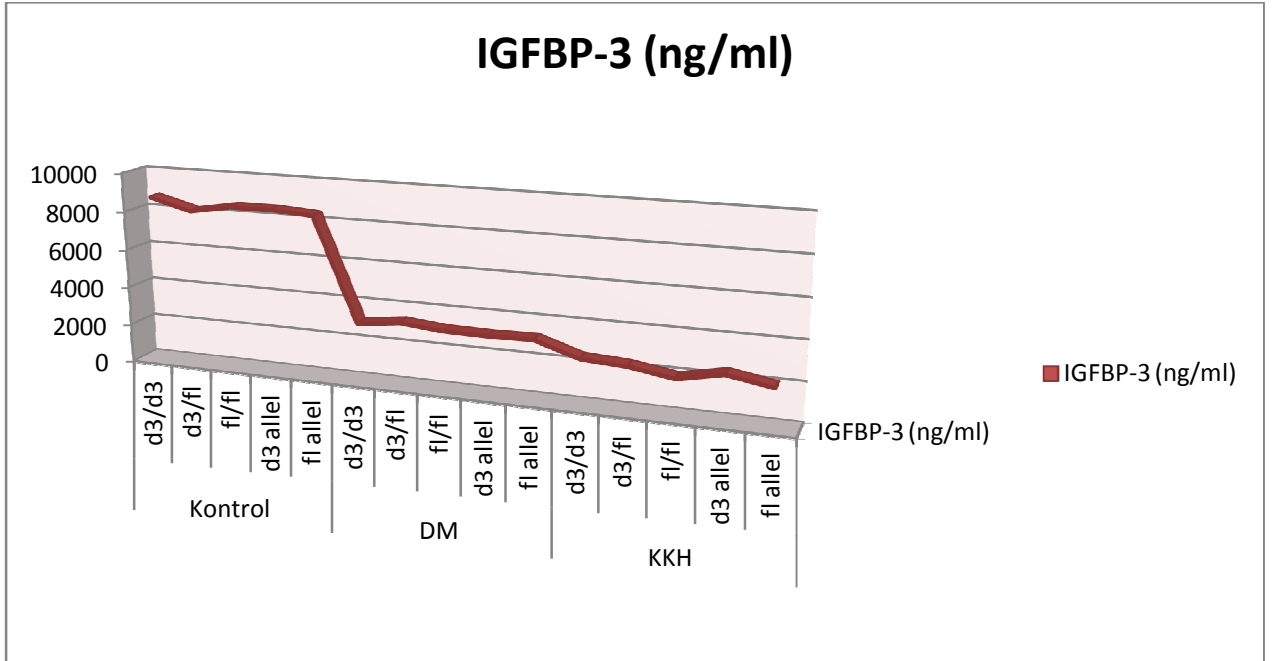
Şekil 4-5. Çalışma gruplarında büyüme hormonu (GH) düzeylerinin GHR Ekzon 3 varyantlarına göre dağılımı. KKH, Koroner kalp hastalığı; DM, Diabetes mellitus.

DM hasta grubunda GH seviyelerinin GHR-fl/fl>GHR-d3/d3>GHR-fl/d3 şeklinde; IGF-1 seviyelerinin GHR-d3/d3>GHR-fl/fl>GHR-fl/d3 şeklinde ve IGFBP-3 seviyelerinin ise GHR-fl/d3>GHR-fl/fl>GHR-d3/d3 şeklinde olduğu tespit edilmiş olup istatistiksel anlamlılık elde edilmemiştir (Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7).



Şekil 4-6. Çalışma gruplarında insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeylerinin GHR Ekzon 3 varyantlarına göre dağılımı. KKH, Koroner kalp hastalığı; DM, Diabetes mellitus.

KKH hasta grubunda ise GH ve IGF-1 seviyelerinin GHR-fl/d3>GHR-d3/d3>GHR-fl/fl şeklinde; IGFBP-3 seviyelerinin GHR-d3/d3>GHR-fl/d3>GHR-fl/fl şeklinde sıralandığı gözlenmiş ancak istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7).



Şekil 4-7. Çalışma gruplarında insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) düzeylerinin GHR Ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait varyantlara göre dağılımı. KKH, Koroner kalp hastalığı; DM, Diabetes mellitus.

DM ve KKH gelişim riskinde genetik faktör olarak GHR ekson 3 delesyonu polimorfizmine ait GHR-fl ve GHR-d3 allellerini ve risk faktörü olarak da sigara kullanımı, cinsiyet veya obezitenin bireysel ve birlikte etkileri incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4-9 ile Tablo 4-10 da verilmiştir.

Tablo 4-9’da görüldüğü üzere DM gelişiminde görel risk; GHR-fl alleleline sahip olma durumunda 0.94; GHR-d3 allel varlığında 0.65; kadın cinsiyetinde olma durumunda 0.38; GHR-fl allelini taşıyan kadınlarda 2.70; GHR-d3 allelini taşıyan kadınlarda 0.92; sigara kullanımında 2.31; sigara kullanımı ile beraber GHR-fl allelinin varlığında 1.01; sigara kullanımıyla birlikte GHR-d3 allelinin varlığında 1.14; obez olma durumunda 22.00; GHR-fl allelini taşıyan obezlerde 3.45; GHR-d3 allelini taşıyan obezlerde ise 2.61 olduğu gözlenmiştir. Görel risk (odds ratio) 1’den büyük olduğunda nedensel etiyolojik değere sahiptir. Görel risk 1’den küçük olduğunda ise koruyucu değere sahiptir. Buna göre tek başına GHR allellerinin hastalık gelişimine etkisi olmadığı ancak kadınlarda GHR-fl allel varlığında riskin arttığı (0.94→2.70) ayrıca hem GHR-fl

hem de GHR-d3 allellerine sahip sigara kullanan bireylerde (sırasıyla; 0.94→1.01; 0.65→1.14) ve obez bireylerde de (sırasıyla; 0.94→3.42; 0.65→2.62) riskin belirgin şekilde arttığı tespit edilmiş olup bu etkiler serum lipid profilleriyle GH, IGF-1 veya IGFBP-3 düzeylerinden bağımsız olarak gerçekleşmektedir (Tablo 4-9).

Tablo 4-9. Diyabetik hastalarda risk faktörleri ve GHR-fl veya GHR-d3 allellerinin bireysel ve birlikte DM gelişim görel riski üzerine etkilerinin incelenmesi.

Risk faktörleri	OR	%95 GA	p değeri
GHR-fl	0.945	0.521-1.714	0.852
GHR-d3	0.651	0.365-1.161	0.145
Kadın	0.378	0.207-0.691	0.001
Kadın olmak ve GHR-fl alleli taşımak	2.697	1.122-6.486	0.023
Kadın olmak ve GHR-d3 alleli taşımak	0.924	0.439-1.944	0.835
Sigara	2.314	1.136-4.716	0.019
Sigara kullanmak ve GHR-fl alleli taşımak	1.006	0.541-1.873	0.984
Sigara kullanmak ve GHR-d3 alleli taşımak	1.142	0.627-2.080	0.664
Obezite	22.000	9.440-51.273	<0.001
Obez olmak ve GHR-fl alleli taşımak	3.425	1.598-7.340	0.001
Obez olmak ve GHR-d3 alleli taşımak	2.621	1.356-5.065	0.004

DM, Diabetes mellitus; OR, Görel risk (odds ratio); GA, Güven aralığı. Tablodaki değerler için istatistiksel olarak risk analizi yapılmıştır.

Koroner kalp hastalığında GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allellerinin ve risk faktörlerinin tek başlarına ve birlikte etkileri incelendiğinde ise DM gruptaki duruma benzer şekilde tek başlarına GHR-fl (0,69) ve GHR-d3 (0,97) allellerinin görel riske etkileri yoktur. Buna karşılık literatürle uyumlu bir şekilde sigara (4,52) veya erkek cinsiyetinin (2,73) KKH gelişimine önemli derecede katkıları vardır. Bu risk faktörleri ile GHR allellerinin birlikte etkileri incelendiğinde ise hem GHR-fl hem de GHR-d3 allelleri varlığında sigara kullanmanın (sırasıyla; 4,52→1,32; 4,52→2,10) veya

erkek cinsiyetinde olmanın (sırasıyla; 2.72→1.33; 2.72→3.17) riski koruduğu tespit edilmiştir (Tablo 4-9). Ancak bu kombine etkilerin serum lipid profilleriyle GH, IGF-1 veya IGFBP-3 düzeylerinden bağımsız olarak gerçekleştiği gözlenmiştir (Tablo 4-10).

Tablo 4-10. Koroner kalp hastalarında risk faktörleri ve GHR-fl veya GHR-d3 allellerinin bireysel ve birlikte KKH gelişim görel riski üzerine etkilerinin incelenmesi.

Risk faktörleri	OR	%95 GA	p değeri
GHR-fl	0.686	0.381-1.234	0.207
GHR-d3	0.972	0.545-1.735	0.924
Erkek	2.727	1.458-5.100	0.001
Erkek olmak ve GHR-fl alleli taşımak	1.330	0.576-3.073	0.504
Erkek olmak ve GHR-d3 alleli taşımak	3.169	1.388-7.237	0.005
Sigara	4.518	2.267-9.005	<0.001
Sigara kullanmak ve GHR-fl alleli taşımak	1.324	0.698-2.513	0.390
Sigara kullanmak ve GHR-d3 alleli taşımak	2.100	1.100-4.008	0.023

KKH, koroner kalp hastalığı; OR, Görel risk (odds ratio); GA, Güven aralığı. Tablodaki değerler için istatistiksel olarak risk analizi yapılmıştır.

Çalışma gruplarında tüm risk faktörleri ve ELİSA ile ölçülmüş olan GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyeleri medyan değerlerine göre alt çalışma gruplarına ayrılmış ve bu gruplarda GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizminin etkisi beşer yıllık süreçler halinde incelenmiştir. Buna göre KKH grubunda GHR-d3/d3 genotipine sahip olan bireylerde yaş artışıyla beraber $VKİ \geq 27\text{kg/m}^2$ olma riskinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ve bu anlamlılığın yaş artışıyla birlikte artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak bu ilişki diğer risk faktörlerinde ve DM grupta gözlenmemiştir (Tablo 4-11).

Tablo 4-11. Diyabet veya koroner kalp hastalarında GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allel ve genotiplerin yıllara göre vücut kitle indeksine etkisi

DM Grubu						KKH Grubu					
GHR-d3/d3 genotipi	GHR-fl alleli	p değeri	GHR-fl/fl genotipi	GHR-d3 alleli	p değeri	GHR-d3/d3 genotipi	GHR-fl alleli	P değeri	GHR-fl/fl genotipi	GHR-d3 alleli	p değeri
Yas>40											
VKİ≥27 kg/m ²	30 (%38.5)	48 (%61.5)	41 (%52.6)	37 (%47.4)	0.548	22 (%55.0)	18 (%45.0)	0.087	17 (%42.5)	23 (%57.5)	0.631
VKİ<27 kg/m ²	5 (%38.5)	8 (%61.5)	8 (%61.5)	5 (%38.5)		16 (36.4)	28 (%63.6)		21 (%47.7)	23 (%52.3)	
Yas>45											
VKİ≥27 kg/m ²	29 (39.2)	45 (%60.8)	39 (%52.7)	35 (%47.3)	0.556	22 (%57.9)	16 (%42.1)	0.063	15 (%39.5)	23 (%60.5)	0.523
VKİ<27 kg/m ²	5 (%38.5)	8 (%61.5)	8 (%61.5)	5 (%38.5)		16 (%37.2)	27 (%62.8)		20 (%46.5)	23 (%53.5)	
Yas>50											
VKİ≥27 kg/m ²	26 (%39.4)	40 (%60.6)	36 (%54.5)	30 (%45.5)	0.574	21 (%58.3)	15 (%41.7)	0.046	14 (%38.9)	22 (%61.1)	0.438
VKİ<27 kg/m ²	4 (%36.4)	7 (%63.6)	7 (%63.6)	4 (%36.4)		15 (%35.7)	27 (%64.3)		20 (%47.6)	22 (%52.4)	
Yas>55											
VKİ≥27 kg/m ²	22 (%44.0)	28 (%56.0)	24 (%48.0)	26 (%52.0)	0.488	20 (%57.1)	15 (%42.9)	0.019	14 (%40.0)	21 (%60.0)	0.334
VKİ<27 kg/m ²	4 (%40.0)	6 (%60.0)	6 (%60.0)	4 (%40.0)		11 (%29.7)	26 (%70.3)		19 (%51.4)	18 (%48.6)	
Yas>60											
VKİ≥27 kg/m ²	12 (%46.2)	14 (%53.8)	13 (%50.0)	13 (%50.0)	0.682	17 (%63.0)	10 (%37.0)	0.022	9 (%33.3)	18 (%66.7)	0.236
VKİ<27 kg/m ²	3 (%60.0)	2 (%40)	2 (%40.0)	3 (%30.0)		11 (%33.3)	22 (%66.7)		16 (%48.5)	17 (%51.5)	

DM, Diabetes mellitus; KKH, Koroner kalp hastalığı; VKİ, Vücut kitle indeksi; Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır. Koyu ile işaretlenmiş olan p değerleri istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

Tablo 4-12’de ise GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmi ve cinsiyete göre vücut kitle indeksindeki değişimler yine beşer yıllık aralıklarla incelenmiştir. Buna göre kadın GHR-d3/d3 genotipine sahip olan KKH’larda $BMI \geq 27 \text{ kg/m}^2$ olma durumu GHR-fl alleleline sahip olanlara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.005$). Ancak bu ilişki erkek hastalarda ve ayrıca DM gruptaki kadın/erkek hastalarda gözlenmemiştir ($p > 0.005$).

Tablo 4-12. Diyabet veya koroner kalp hastalarında GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait allel ve genotiplerin yıllara göre vücut kitle indeksine etkisi

		DM Grubu : $BMI \geq 27 \text{ kg/m}^2$						KKH Grubu : $BMI \geq 27 \text{ kg/m}^2$					
Yaş		GHR-fl alleli	GHR-d3/d3 genotipi	<i>p</i> değeri	GHR-d3 alleli	GHR-fl/fl genotipi	<i>p</i> değeri	GHR-fl alleli	GHR-d3/d3 genotipi	<i>p</i> değeri	GHR-d3 alleli	GHR-fl/fl genotipi	<i>p</i> değeri
KADIN	Yaş ≥ 40	30 (%57.7)	22 (%42.3)	0.673	26 (55.0)	26 (%50.0)	0.439	3 (%25.0)	9 (%75.0)	0.030^a	9 (%75.0)	3 (%25.0)	0.192 ^a
	Yaş ≥ 45	28 (%57.1)	21 (%42.9)	0.655	24 (%49.0)	25 (%51.0)	0.469	3 (%25.0)	9 (%75.0)	0.030^a	9 (%75.0)	3 (%25.0)	0.192 ^a
	Yaş ≥ 50	25 (%58.1)	18 (%41.9)	0.936	20 (%46.5)	23 (%53.5)	0.782	3 (%25.0)	9 (%75.0)	0.030^a	9 (%75.0)	3 (%25.0)	0.192 ^a
	Yaş ≥ 55	18 (%54.5)	15 (%45.)	0.863	17 (%51.5)	16 (%48.5)	0.954	3 (%27.3)	8 (%72.7)	0.030^a	8 (%72.7)	3 (%27.3)	0.198 ^a
	Yaş ≥ 60	10 (%55.6)	8 (%44.4)	0.476	9 (%50.0)	9 (%50.0)	0.593	2 (%25.0)	6 (%75.0)	0.054^a	6 (%75.0)	2 (%25.0)	0.188 ^a
ERKEK	Yaş ≥ 40	15 (%75.0)	5 (%25.0)	0.373	7 (%35.0)	13 (%65.0)	0.711	18 (%52.9)	16 (%47.1)	0.625	18 (%52.9)	16 (%47.1)	0.808
	Yaş ≥ 45	14 (%73.7)	5 (%26.3)	0.418	7 (%36.8)	12 (%63.2)	0.780	16 (%50.0)	16 (%50.0)	0.540	18 (%56.3)	14 (%43.7)	0.914
	Yaş ≥ 50	12 (%70.6)	5 (%29.4)	0.858	6 (%35.3)	11 (%64.7)	0.931	15 (%50.0)	15 (%50.0)	0.459	17 (%56.7)	13 (%43.3)	0.974
	Yaş ≥ 55	7 (%58.3)	5 (%41.7)	0.732	6 (%50.0)	6 (%50.0)	0.502	15 (%51.7)	14 (%48.3)	0.256	16 (%55.2)	13 (%44.8)	0.803
	Yaş ≥ 60	2 (%50.0)	2 (%50.0)	1 (F.E.)	2 (%50.0)	2 (%50.0)	1 (F.E.)	10 (%43.5)	13 (%56.5)	0.238	14 (%60.9)	9 (%39.1)	0.765

DM, Diabetes mellitus; KKH, Koroner kalp hastalığı; VKİ, Vücut kitle indeksi; n, örnek sayısı. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık *p* değeri ile ifade edilmekte olup istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. ^a, Fischer’s kesin olasılık testi *p* değeridir. Koyu ile işaretlenmiş olan *p* değerleri istatistiksel anlamlılığı vurgulamak içindir.

Koroner kalp hastalarında VKİ düzeyine etki edebilecek olan risk faktörlerine ait logistik regresyon analizi Tablo 4-13'de gösterilmiştir. Buna göre koroner kalp hastalarında vücut kitle indeksi üzerinde GHR-d3/d3 genotipi ($p=0.083$) ile IGFBP-3 seviyelerinin ortanca değerinden küçük olması (0.096) durumunun istatistiksel olarak anlamlılığa yakın bir şekilde katkısı olduğu gözlenmiştir (Tablo 4-13).

Tablo 4-13. Koroner kalp hastalarında VKİ düzeyine etki eden risk faktörlerine ait logistik regresyon analizi

Bağımlı değişken	Bağımsız değişkenler	Exp (B) (OR)	<i>p</i> değeri	%95 GA	
VKİ \geq 27kg/m ²	Cinsiyet (Erkek=Ref) →	0.961	0.939	0.348-2.654	
	GHR-d3/d3 genotipi (GHR-fl alleli=Ref) →	0.459	0.083	0.190-1.107	
	GHngm>10.87 (GHng/ml \leq 0.87=Ref) →	0.774	0.594	0.302-1.985	
	IGF-1 \geq 369.56ng/ml (IGF1<369.56ng/ml=Ref) →	0.487	0.215	0.156-1.519	
	IGFBP-3\leq2594.20ng/ml (IGFBP-3>2594.20ng/ml=Ref) →	2.287	0.096	0.863-6.062	

VKİ, Vücut kitle indeksi; GH, Büyüme hormonu; IGF-1, İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; IGFBP-3, İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3; OR: Görelî risk (odds ratio), G.A.: Güven aralığı; Koyu ile işaretlenmiş olan Wald istatistiği *p* değerleri, %90 güven aralığına göre belirlenmiş istatistiksel anlamlılığını vurgulamak içindir.

TARTIŞMA

Diyabet (DM) ve diyabetin makrovasküler komplikasyonlarından biri olan koroner kalp hastalığı (KKH) üzerinde yoğunlaşan çalışmalar etiyolojide birçok risk faktörünün bulunduğunu, ancak bunların hiçbirinin hastalığın patogenezi tek başına açıklamakla yeterli olmadığını göstermektedir. Bu hastalıklar genetik ve çevresel faktörlerin birlikteliği sonucu ortaya çıkan topluma maliyeti oldukça yüksek olan kompleks hastalıklardandır. Özellikle KKH'nın günümüzde erişkin popülasyonundaki ölümlerin en önemli sebeplerinden biri olduğu ve diyabetik hastalarda KAH'a bağlı mortalitenin normal popülasyona göre 2-4 kat daha yüksek olduğu bilinmektedir (7,10-13,112).

Geleneksel risk faktörlerinin yanısıra genetik faktörler arasında yer alan, gen varyantları veya polimorfizmler (=populasyondaki nadir allellerin %1 veya daha üzerinde prevalansı olan gen varyantları) tek nükleotid polimorfizmlerinden DNA dizilerinde insersiyon ve delesyonlara kadar değişen niteliktedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda büyüme hormonu ve dolayısıyla büyüme hormonu ekseninde yer alan IGFler ile IGFBPlerin ve ayrıca bu proteinlerin genlerinde meydana gelen polimorfizmlerin DM ve KKH gelişiminde rolleri olabileceği vurgulanmaktadır.

Hipofiz bezinin ön lobundaki hücrelerden salınan ve memelilerde postnatal büyüme ve gelişmede görevli olan büyüme hormonunun (GH'nin) vücutta kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etki ederek protein, lipid, karbonhidrat metabolizmaları ile azot ve mineral dengesi üzerinde de etkileri vardır. GH, kas ve kemik dokusunda anabolizmayı uyarıcı, yağ dokusu üzerinde lipogenezi inhibe edici özelliğe sahip olup kas dokusunda ayrıca glukoz alınımını uyarılmaktadır (113,114).

GH tüm bu fonksiyonlarını başlıca karaciğer, kemik, böbrek, kalp, beyin, dalak, göz, timüs, kas ve yağ dokusu gibi hedef dokularda hücrelerinin yüzeylerinde bulunan büyüme hormonu reseptörüne (GHR) bağlanarak insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) gibi moleküllerin ekspresyonunu uyararak suretiyle gerçekleştirir (113-115).

Hipofizden salınan GH'nin ilk hedefinin; karaciğerdeki IGF-1 sentezini uyararak hedef dokulardaki büyüme ve gelişmeyi uyararak olduğu bilinmekle beraber ayrıca hedef

dokularda lokal IGF-1 sentezini uyararak gelişim üzerinde direkt etkisinin olduğu gösterilmiştir (113-115). GH biyolojik fonksiyonlarını sadece kendisinin bağlanabildiği GHR'ye bağlandıktan sonra reseptörün intrasellüler kısımlarının fosforilasyonu ve STAT-1 ile STAT-3, STAT-5 (115-119) aktive ederek hedef genlerin (IGF-1, c-fos, cjun, cyp 2/3, jun-B) ekspresyonu ile gerçekleştirmektedir (120). IGF-1, yapımı yine GH kontrolünde olan IGFBP'lere, başlıca da IGFBP3'e bağlı olarak dolaşıma salınır. Bu şekilde dolaşımdaki IGF-1 düzeyleri sabit tutularak plazma yarı ömrünün uzaması ve ayrıca dolaşımda IGF-1 deposu oluşması sağlanmış olur. Ayrıca bu taşıma sistemi IGF'lerin kılcal damar duvarından geçişini düzenler. Tüm vücutta yaygın olarak bulunan IGF-1R'lere bağlanan IGF-1, GH ile beraber başlıca parakrin ve otokrin, ek olarak da endokrin etkisiyle kemikte epifizyal tabakada, kasta ve bir çok dokuda mitojenik ve büyüme arttırıcı etki gösterir, yağ dokusunu azaltır ve kemik mineral yoğunluğunu arttırır (88,94,121-127).

Hipotalamustan salınan büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) ve somatostatin ön hipofiz bezinden salgılanan GH regülasyonunu düzenler. Ayrıca ghrelin de büyüme GH salgılanmasını güçlü bir şekilde stimüle eder. GH biyolojik etkilerini IGF-1'in yanısıra onun ana bağlayıcı proteini olan IGFBP-3' ü uyarma yolu ile de sağlar. Beslenmesi normal bir organizmada IGF-1'in ana düzenleyicisi GH'dir. Beslenme durumu kötü olanlarda IGF-1 düzeyi düşüktür. Ayrıca karaciğerden salgılanan IGF-1 düzeyi üzerine insülin, tiroid hormonu ve kortizolün etkisi de vardır. Postnatal gelişim için genetik ve çevresel faktörlerin kontrolü altında normal seviyelerde salınan GH bazı çocuklarda ve erişkinlerde genetik ya da travmatolojik durumlardan dolayı sentez edilemez, az veya biyolojik olarak inaktif şekilde üretilir. Bu durumda çocuklarda büyüme geriliği, erişkinlerde psikolojik ve/veya metabolik rahatsızlıklar gibi birçok hastalığa neden olur. Bununla birlikte yaşa bağlı seviyesinde azalma görülen GH uykusu, egzersiz, stres ve travma gibi durumlarda yükselirken, hamilelikte düşerek yerini GH-V'e bırakmaktadır (124,128,129).

Anabolik bir hormon olan GH'nin karbonhidrat metabolizmasında hem diyabetik hem de antidiyabetik etki gösterdiğini bildiren birçok çalışma mevcuttur (65,130). Yüksek dozdaki GH'nin, hem hepatik hem de çevre dokularda, insülinin glukoz metabolizmasındaki etkisine direnç sağladığı ve yağ oksidasyonuna katkıda bulunduğu

gösterilmiştir (65). Ayrıca hayvanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre kedi ve köpeklere uzun süreli GH verilmesi sonucunda kan glikoz seviyesinin yükselmesine bağlı olarak GH'nin diyabetik etki gösterdiği tespit edilmiştir (131). Buna karşılık fare ve tavuk yağ doku kültürleriyle yapılan çalışmalarda bu dokulara GH'nin verilmesi sonucu dokuların glikoz alınmasını arttırması ile GH'nin antidiyabetik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (132-134).

GH'nin diyabet ve dolayısıyla koroner kalp hastalığı patojenezindeki karışık ve çelişkisi etkisinden dolayı gerek GH düzeyleri gerekse GH ekseninde yer alan IGF-1, IGFBP-3 düzeyleri ve ayrıca GHR geninde yer alan polimorfizmler ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar için aday genler arasında yer almaktadır.

Bu çalışmada diyabet, koroner kalp hasta grupları ile kontrol gruplarındaki lipid kritik değerleri dağılımından elde edilen bulgular, uluslararası ölçülerde kabul edilen sınırlar (110,111) içinde olup daha önce yapılan çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bununla birlikte diyabet hastalarına vücut kitle indeksi, trigliserid, glukoz ve IGF-1 seviyelerinin; koroner kalp hastalarında total kolesterol, LDL-C, HbA1c, sistolik kan basıncı düzeylerinin; kontrol grubunda ise GH ve IGFBP-3 düzeylerinin anlamlı seviyede yüksek olduğu tespit edilmiştir. İki hasta grubu arasında ise IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin DM grupta; GH düzeyinin ise KKH grupta daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizmine ait genotip ve alleler hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırıldığında heterozigot GHR-fl/d3 genotip frekansının diyabet hastalarında anlamlı ($p=0.018$); koroner kalp hastalarında ise anlamlılığa yakın ($p=0.062$) bir şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte çalışma grupları içinde bu heterozigot genotipin dağılımı homozigot olan genotiplerden daha düşük olması Türk toplumu içerisinde homozigot olarak GHR ekzon 3 alleleri taşımanın daha yüksek olduğuna işaret etmektedir.

Çalışmamız allel dağılımları incelendiğinde ise yabani tip olan GHR-fl alleli için DM>Kontrol>KKH; mutant tip olan GHR-d3 alleli için KKH>Kontrol>DM şeklinde artmakta olduğu gözlenmiş ancak istatistiksel anlamlılık elde edilemiştir. Bununla

beraber kontrol grubunu oluşturan kadınlarda GHR-fl/fl genotipi; erkeklerde ise GHR-d3 allel frekansının daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0.029$).

DM hastalık gelişim riskinin kadınlarda anlamlı derecede yüksek ($p=0.001$) olduğu ve bu etkinin GHR-fl alleli taşımayla daha da arttığı ($OR=2.70$; $p=0.023$) tespit edilmiştir ($OR=2.31$; $p=0.023$). Bununla beraber her iki allel varlığında da sigara kullanmanın ve obezitenin hastalık riskini belirgin şekilde arttığı tespit edilmiş olup bu etkilerin serum lipid profilleri ve GH, IGF-1 veya IGFBP-3 düzeylerinden bağımsız olarak gerçekleştiği gözlenmiştir.

KKH grubunda kardiyovasküler risk faktörlerinden sigara kullanım oranı ve erkek cinsiyeti oranı diyabetik hastalar ve kontrol grubuna anlamlı seviyede yüksektir. Bu grupta ayrıca GHR-d3 allel (GHR-fl/d3 + GHR-d3/d3) frekansının GHR-fl/fl genotipli hastalara göre yüksek olduğu gözlenmiş olup ($p>0.05$)

Diyabetik grupta GHR-fl alleli (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3) taşıyan hastalarda GHR-d3/d3 genotipi taşıyanlara göre kan glukoz ($p=0.099$) ve IGF-1 düzeylerinin daha düşük olduğu; GH ile IGFBP-3 seviyelerinin ise daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca serum HDL-C konsantrasyonunun GHR-fl/d3 genotipi taşıyan bireylerde diğer genotiplere özellikle de GHR-d3/d3 genotipine oranla istatistiksel anlamlılığa yakın şekilde yüksek olduğu ($p=0.090$) tespit edilmiştir.

KKH grupta ise GHR-fl alleli (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3) taşıyan hastalarda total kolesterol düzeylerinin GHR-d3/d3 genotipine sahip bireylere göre istatistiksel anlamlılığa yakın düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0.087$). Ayrıca GHR-fl/fl genotipine sahip KKH hastalarında LDL-C düzeylerinin en yüksek; GHR-d3/d3 genotipine sahip olanlarda ise en düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir ($p>0.05$).

İstatistiksel olarak anlamlılık elde edilmemekle birlikte GHR ekzon 3 polimorfizmi genotiplerine göre GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubunda GH seviyelerinin GHR-fl/d3>GHR-d3/d3>GHR-fl/fl şeklinde; IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin ise GHR-d3/d3>GHR-fl/fl>GHR-fl/d3 şeklinde; DM hasta grubunda GH seviyelerinin GHR-fl/fl>GHR-d3/d3>GHR-fl/d3 şeklinde; IGF-1 seviyelerinin GHR-

d3/d3>GHR-fl/fl>GHR-fl/d3 şeklinde ve IGFBP-3 seviyelerinin ise GHR-fl/d3>GHR-fl/fl>GHR-d3/d3 şeklinde olduğu; KKH hasta grubunda ise GH seviyelerinin GHR-fl/d3>GHR-d3/d3>GHR-fl/fl şeklinde; IGF-1 seviyelerinin GHR-fl/d3>GHR-d3/d3>GHR-fl/fl şeklinde ve IGFBP-3 seviyelerinin GHR-d3/d3>GHR-fl/d3>GHR-fl/fl şeklinde sıralandığı gözlenmiştir.

Çalışma grupları VKİ, GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerindeki medyan değerlerine göre alt gruplara ayrılarak beşer yıllık süreçler halinde GHR ekzon 3 delesyonu polimorfizminin etkisi değerlendirildiğinde sadece KKH grubunda GHR-d3/d3 genotipine sahip olan bireylerde VKİ $\geq 27\text{kg/m}^2$ olma durumunun anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ve bu anlamlılığın yaşa bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Cinsiyet açısından bu durum incelendiğinde ise GHR-d3/d3 genotipine sahip olan kadın KKH'larda BMI $\geq 27\text{kg/m}^2$ olma durumunun GHR-fl alleleline sahip olanlara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak koroner kalp hastalarında VKI düzeyine etki edebilecek olan risk faktörleri incelendiğinde ise GHR-d3/d3 genotipi ile IGFBP-3 seviyelerinin düşük olmasının riske katkısı olduğu gözlenmiştir.

Diyabet ve koroner kalp hastalığı gelişiminde GHR ekzon3 delesyonu polimorfizmi ile GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinden elde ettiğimiz bulgular aşağıda bahsedilen daha önceki çalışmalarla kısmen uyumlu kısmen uyumlu değildir. Bu çalışmalar arasındaki ve bizim çalışmamızdaki bulgularda gözlenen çelişki çalışma gruplarının sayısal olarak farklılığından, çalışma gruplarının etnik özelliklerinden ve sigara kullanımı, beslenme alışkanlıkları gibi diğer çevresel risk faktörlerinin bu popülasyonlardaki farklılığından kaynaklanabilir. Ayrıca literatürde görülen karışık sonuçlar da GH'nin insülin duyarlılığında yarattığı farklı etkiler nedeniyle hem diyabetojenik hem de anti diyabetojenik bir molekül olmasından kaynaklanmaktadır.

Verhelst *et al.*, Beshyah *et al.* ve Stewart *et al.* GH eksikliği olan bireylerde obezitenin önemli bir sağlık sorunu olduğunu bildirmişlerdir (51,135,136).

Dolaşımdaki yüksek insülin seviyelerinin (hiperinsülinemi), insülin resistansı ve beta hücre fonksiyon bozukluğu yaratarak obezite ve uzun vadede diyabete yol açtığı, ayrıca diyabetin makrovasküler komplikasyonları arasında koroner kalp hastalıklarının

bulunduğu bilinmektedir. Bu hastalıklarla ilgili yapılan birçok çalışmada ekspresyonu GH'ye bağlı olan IGF-1'in yüksek düzeylerinin obeziteyi tetiklediği; GH'nin ise insülin resistansını düzenlediği bildirilmiş ve insülin ile GH hormonun salınımı arasındaki regülasyona dikkat çekilmiştir. Bu alışmalar insülinin hipofiz bezinden GH salınımı üzerine direk inhibitör etkisinin ve ayrıca hepatik IGFBP retimi inhibe ederek serum serbest IGF-1 düzeylerini arttırarak periferal etkisinin olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte yüksek serbest IGF-1'in düzeylerinin negatif feedback etkisiyle GH salınımını bastırđıđı ve sonuçta insülin resistansı geliştirerek hiperinsülinemi ve yüksek plasma glukoz, amino asit ve yağ asidi seviyelerine neden olduğu bildirilmiştir (61,137-141).

Waxmann *et al.* beslenme durumunda GH'nin insülin ve IGF-1 sentezini arttırarak anabolik etkilerini gösterdiğini bildirmiştir (142). Thankamony *et al.* kan dolaşımlarında yüksek GH seviyeleri olan Tip1 diyabetli hastalarda somatostatin analogları kullanımının retinopati gelişimini önlediğini bildirmiştir (143). Carroll *et al.* normal kilodaki insanlarda yaptığı araştırmalarda bu bireylerin yüksek GH ve düşük IGF-1 serum düzeylerine sahip olduğunu bildirmiştir (144).

GH fonksiyonlarının daha iyi anlaşılabilmesi için araştırmacılar GH eksikliği görülen bireylerde birçok çalışma yapmışlar ve GH replasman tedavisinin lipid profilleri üzerinde iyileştirici etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (144-146). Bununla birlikte Thomas *et al.* ve Monson *et al.* düşük hipofiz fonksiyonu olan bireylerde GH eksikliğine bağlı olarak gelişen insülin direnci sebebiyle DM prevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir (147,148).

Argente *et al.* orta derece VKİ (26-27.9 kg/m²) düzeyine sahip olan kadınların, hem zayıf hem de obez olanlardan daha yüksek IGF-1 konsantrasyonlarına buna karşılık anoreksi nevrozalı hastaların düşük IGF-1 seviyelerine sahip olduklarını ve ayrıca vücut ağırlığı artışının bu değerleri yselttiğini göstermiştir (149). Gianotti *et al.* ise aksine obezite durumunda nispeten düşük IGF-1 seviyelerinin varlığına işaret etmiştir (150). Bu karşıt durumun artan yağlılık ve dolaşımdaki IGF-1 seviyeleri arasında doğrusal olmayan ilişkinin sonucunda kiloya bağlı olarak insülin ve GH'deki bozulmalardan olduğu öne sürülmektedir (151,152). Ayrıca bazı çalışmalarda yine IGF-1 seviyesinde obezite durumunda kk bir artış gözlenmiştir (153) ancak bütün çalışmalar bunu doğrulamamaktadır (154,155).

Rudman *et al.* 60 yaşını aşmış erkek deneklere 6 ay GH verilmesi sonucu adipoz doku miktarında % 14 oranında düşüş tespit etmiştir (156). Skaggs *et al.* obez kadınlara yaptıkları çalışmalarda GH infüzyonunun vücut yağ kitlesinde düşüğe neden olduğunu bildirmiştir (157). Yapılan çalışmalarda GH'nin insan, koyun, at, tavuklara verilmesi sonucunda lipidlerin serbest yağ asitleri ve gliserole hidrolize edildiği gösterilmiştir (158-160). Ayrıca GH'nin insulin veya insulinle beraber deksametakson birlikteliğinin serbest yağ asidi seviyelerini düşürerek antilipolitik etki gösterdiği belirlenmiştir (161,162). Sonuç olarak bu çalışmaların sonuçları GH'nin lipid metabolizması üzerindeki etkisinin hem lipolitik hem de antilipolitik yönde olduğuna işaret etmektedir.

Düşük hipofiz aktivitesi nedeniyle GH eksikliği görülen kişilerde obezite dışında ayrıca kardiyovasküler olayların daha yüksek risk oluşturduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (163-165). Jorgensen *et al.* GH eksikliği görülen bireylerde sağlıklı kontrollere kıyasla kas kitlesi, kemik mineral yoğunluğu ve kardiyovasküler risk faktörleri arasında yer alan HDL-C seviyelerinde düşüş; buna karşın yağ kitlesi, kan basıncı, LDL-C ile TC seviyelerinde artış gösterdiğini dolayısıyla bu kişilerin yüksek kardiyovasküler mortalite ve morbidite riski altında olduğu ifade etmiş ve bu kişilerde görülen mortalite ve morbiditenin ortadan kaldırılması için GH tedavisini öngörmüştür (163). GH eksikliği olan erişkinlere uzun süreli GH tedavisinin kemik yoğunluğunu iyileştirdiği gibi DKB, LDL-C ve TC seviyelerinde düşüş, HDL-C seviyelerinde ise yükselme sağlayıp kardiyovasküler risk faktörlerini normalize ederek yaşam kalitesini arttırdığını gösterilmiştir (53,146,163-168). Bununla birlikte IGF-1 ve GH'nin kardiyak fonksiyonu olumlu ya da olumsuz etkilediğini gösteren birçok çalışma da mevcuttur.

Yapılan birçok çalışmayla tedavi edilmeyen GH eksikliğinin insülin direnci yarattığı doğrulanmaktadır (107,113,169,170). Bunun da ötesinde insülin dirençliliğine karşı GH replasman tedavisinin bifazik olduğu; yani tedavinin başlangıç periyodunda riskli durumların artmış olduğu ancak uzun süreli kullanımlarda insüline karşı duyarlılığın iyileştirilerek insülin seviyelerinin olması gerektiği seviyelere çekildiği bildirilmiş bu durumun GH'nin vücut lipid seviyelerindeki düzenlemeyle vücut kompozisyonunu iyileştirerek gerçekleştirdiği gösterilmiştir (48, 171,172). Ayrıca tedavi başlangıcındaki kısa süreli GH kullanımının dolaşımdaki hem glukoz hem de insülin seviyelerini

arttırarak insülin direncine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (173). Bununla birlikte uzun süreli GH tedavilerinde glukoz toleransının daha kötüye gittiğini (174-176) ya da değişmediğini (177,178) gösteren çalışmalar da mevcuttur. Hwu *et al.* 1 yıllık GH tedavisinin insülin hassasiyetini normal seviyelere çektiğini (179), Jorgensen *et al.* 5 yıllık tedavi sonrasında insülin seviyelerinin çalışmalarındaki kontrol grubundaki seviyelerle eşitlendiğini (180); Svensson *et al.* 7 yıllık tedavi süresince hastalarında insülin hassasiyetinin değişmediğini ancak yaşa bağlı gelişebilecek azalmaları önleyerek insülin seviyelerini normal düzeyde tuttuğunu göstermişlerdir. Bununla beraber 7 ve 10 yıllık tedavilerin glukoz homeostazını değiştirmediklerini gösteren çalışmalar da mevcuttur (181,182). Arwert *et al.* 10 yıllık sürecin dolaşımdaki HbA1c ve glukoz seviyelerini arttırdığını bildirmiştir (183). Bengtsson *et al.* GH seviyeleri düşük olan bireylerde yüksek VKİ nin diyabet gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir. Holmer *et al.* GH seviyeleri düşük olan hastalarda diyabet prevalansının kadınlarda daha yüksek olduğunu ve bunun da yüksek VKİ ile düşük egzersizden kaynaklandığını, bu durumun erkek bireylerde gözlenmediğini bildirmişlerdir (184). Bununla birlikte birçok placebo-kontrol çalışmalarında araştırmacılar yetişkinlerdeki kısa dönem GH replasmanının kalpteki diastolik (185) ve sistolik (130,186-188) fonksiyonları iyileştirdiğini dolayısıyla düşük dozlu tedavinin kardiyak fonksiyonlara iyi yönde katkı sağladığını bildirmişlerdir (186,189-192). Bununla birlikte çok yüksek dozların ventriküler bozulma sağlayarak özellikle de sol ventrikül hipertrofisine katkı sağlayarak risk oluşturduğu da bildirilmiştir (107,130). Khan *et al.* GH'nin aynı zamanda hem antijenik hem de prolaktojenik özellikte olmasından kaynaklı anabolik etkilerinin kısıtlandığını dolayısıyla da hormonun non-spesifik etkilerini gösterdiğini bildirerek yüksek dozlardaki GH kullanımının akromegalik yan etkiler, insülin direnci ve kardiyak hastalık gelişimine katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir (193).

GH eksikliğinin kardiyovasküler ve serebrovasküler morbiditeyle (165,194-199) ilişkisinin araştırıldığı birçok çalışmada GH eksikliğindeki artışın sadece kötü lipid profilleri, yüksek kan basıncı, kilo artışına neden olmadığını bunun yanında koagülasyon ve inflamasyon markerlarındaki artış gibi birçok kardiyovasküler risk faktörleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (43-60).

Thueses *et al.* yaptıkları çalışmada GH'nin dinlenme sırasındaki kardiyak outputu ve iskelet kası ve böbreği de içine alan birçok doku/organa kan akışını arttırdığını bildirmişlerdir (200).

Hansen *et al.* Tip1 diyabetiklerde yüksek ve değişken GH seviyelerinin gözlendiğini bildirmiş (201); bunun da ötesinde kontrol altında olmayan kötü prognozlu hastalarda düşük IGF-1 seviyelerinin olabileceğini ve bu durumun da GH salınımını arttırdığı bildirmiştir (202-205). Bramnert *et al.* yaptıkları çalışmada GH eksikliği bulunan hastalara uygulanan fizyolojik GH replasman tedavisinin glukoz toleransı ile insülin sensitivitesinin ileri derecede bozulmasına yol açtığını bildirmişlerdir (48). Buna karşılık Christ *et al.* (206) hipofiz fonksiyonu azalmış Tip 1 diyabet hastalarında düşük doz GH replasman tedavisinin yüksek doz insülin kullanımında asemptomatik hipoglisemik atakları azalttığını bildirmiştir. Bununla birlikte Press *et al.* (207) yüksek GH salımının tip1 diyabet hastalarında metabolik kontrolü kötüleştirdiğini bildirmiştir. Clemmons *et al.* Tip1 DM hastalarına 2 haftalık sürelerde IGF-1 ve IGFBP-3 kombinasyonunu infüze etmiş ve insülin ihtiyaçlarını hipoglisemik atak olmadan karşılayarak kan glukoz seviyelerini düşürmüştür (208). Ancak burada IGF-1'in insülin etkisini iyileştirerek mi yoksa GH'den bağımsız bir yolla mı etkili olduğu halen tartışılmaktadır (113).

Yapılan birçok çalışma GH eksikliği olan yetişkin bireylerde görülen anormal vücut kompozisyonlarının ve metabolik değişikliklerin kilo artışı, hiperlipidemi, insülin resistansı yaratarak diyabet ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalık riskini artırarak mortaliteye neden olduğunu ortaya koymuştur (53,165,194,195,198,209,210). Ayrıca çalışmalarda GH eksikliği olan hastalara uygulanan GH replasman tedavisinin insülin sensitivitesini arttırarak GH ile uyarılamış vücut ağırlığı kaybına neden olduğu bildirilmiştir (179). Bu hastalarda GH eksikliğinin düşük IGF-1 seviyelerine neden olarak kötü lipid profilleri yarattığı ve bu şekilde kardiyovasküler hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (211-214).

GH'nin tüm foksionları ve kandaki düzeyi fizyolojik şartlar altında GHR ile etkileşmesine bağlı olmakla beraber GHR geni çok sayıda polimorfizm ve varyasyon içerir (87,215-217). Pantel *et al.* fizyolojik olarak 3.ekzonu eksik olan GHR

izoformunun alternatif kırılma sonucu değil, ekzon3'ü eksik olan GHR alleli tarafından kodlandığını göstermişlerdir (97,98). Stallings-Mann *et al.* yaptıkları çalışmada ekzon 3'ün kodladığı alanın hücre dışında 22 aa'lık bir bölümü kapsadığını ve bu fragmanın eksilmesi sonucunda 2. ve 4. ekzon birleşkesindeki aspartik asitin yerini alaninin aldığını göstermişlerdir (100).

Yalnızca insanlarda görülen bu izoform için homozigot mutant (GHR-d3/d3, her iki allelde ekzon 3 kaybı var) bireyler incelendiğinde, bu bireylerin normal oldukları gösterilmiş ve bu izoformun soyağacı çalışmaları sonucu basit Mendel tipi geçişli olduğu ve ya hep ya hiç kuralı ile geçiş gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Homozigot GHR-d3 allel taşıyıcılarının normal popülasyonda görülme frekansının yaklaşık olarak %10 olduğu ve bu yüksek orana, evrim sırasında seçici avantaj sağlaması nedeniyle ulaştığı düşünülmektedir (93,96-103).

Pantel *et al.* ister GHR-fl olsun ister GHR-d3 olsun, normal tek bir allel taşımanın normal büyüme için yeterli olduğu bildirmişlerdir (97,98). Dos Santos *et al.* GH tedavisi alan kısa boylu çocuklarda, GHR-d3 izoformunun, GHR-fl izoformuna göre yaklaşık 1.7-2 kat daha fazla büyüme hızlanmasına yol açtığını göstermiştir (22). Audi ve arkadaşları, 2006'daki çalışmalarında, kısa boylu bireylerle normal boylu sağlıklı erişkinleri karşılaştırdıklarında, biyolojik olarak daha az aktif olan GHR-fl/fl genotipinin kısa boylu olan grupta neredeyse iki kat daha sık görüldüğünü saptamıştır (218).

Horan *et al.* inme geçirmiş kadın hastalarda GHR ekzon 3 polimorfizmini araştırmış ve hipertansiyon ile bu polimorfizm arasında pozitif ilişki bulmuştur (28). Mercado *et al.* ise GHRd3 polimorfizmini akromegali hastalarında inceleyerek GHR-d3 alleleline sahip olmayan hastalarda hastalık seyri ile tedavi başarısının daha kötü olduğunu yani bu hastalara tedavi yoluyla IGF-1 normalizasyonunun sağlanmasının daha güç olduğunu bildirmişlerdir (101).

GHR'nin fonksiyonel önemini araştırdığı ilk çalışmalarda in vitro bağlanma affinitesinin GHR'ye ait her iki allel (yabanıl olan GHR-fl veya mutant olan GHR-d3) için de değişmediği bildirilmiştir (21,219). Ancak daha sonradan yapılan transfeksiyon

çalışmalarında GHR-d3 allelini homozigot olarak (GHR-d3/d3) ya da heterozigot olarak (GHR-fl/d3) şeklinde taşıyan HEK293 hücrelerinin GH ile uyarılan sinyal iletim yolunun GHR-fl homodimerlerinden daha fazla olduğu gösterilmiştir (22). Ayrıca gestasyonel yaşa göre küçük doğan çocuklar (22,24), idiyopatik olarak kısa boylu olan çocuklar (22), Turner sendromu olan kız çocukların (24) ve ciddi GH eksikliği olan çocuklarda (30) yapılan çalışmalar eksojen rekombinant GH tedavisinin GHR-d3 alleleline sahip çocuklarda daha başarılı olduğunu göstermiştir. Sorensen *et al.* puberte dönemindeki GHR-d3 alleleline sahip olan sağlıklı çocuklarla ergenlerin daha fazla insülin salgıladıklarını ancak IGF-1 düzeylerinin gruplar arasında farklılık göstermediğini bildirmişlerdir (220). Sonuç olarak, yapılan diğer birçok çalışmada da GHR-d3 allelinin biyolojik olarak daha aktif olduğu gösterilmiştir (99,221). Bununla birlikte yapılan ilk çalışmalarla korelasyon gösteren yani alleller arasında bağlanma afinitesinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (24,222).

Bütün bu bilgiler ışığı altında;

Çalışmamızda diyabetik hasta grubumuzda kontrol grubuna göre GH ve IGFBP-3 konsantrasyonları düşük; IGF-1 konsantrasyonu yüksek bulunmuştur. Buna karşın koroner kalp hasta grubunda her üç parametrede kontrol grubuna göre düşük seviyelerdedir. Bu bulgularımızın tamamen fizyolojik sınırlar dahilinde olduğunu ve gerek glukoz homeostazı gerekse proteinlerin korunmasını sağlayan regülatuar bir mekanizma olan ve birbiriyle sıkı şekilde ilişkili olan insülin GH/IGF-1/IGFBP-3 döngüsünün Michalis-Menten kinetiğine uygunluk gösterdiğini düşünmekteyiz. Normal sağlıklı bireylerde GH salınımı hiperglisemide, fiziksel strese, yüksek kan serbest yağ asidi düzeylerinde, obezitede ve yaşlılıkta azalmakta buna karşın açlık ve vücut ağırlık kayıplarında azot dengesini sağlayabilmek ve vücut proteinlerini koruyabilmek için seviyesi artmaktadır. Yüksek GH seviyeleri vücut kas kitlesinde artışa, lipolize, kan glukoz düzeyinin artışına ve sonuçta insülin direncine neden olmaktadır. Dolayısıyla hem kendisi hem de IGF-1 negatif feedback yolu ile çok sıkı bir şekilde kontrol altında tutulmaktadır.

Ana fonksiyonu büyüme ve gelişme olan GH'nin fizyolojik şartların sürdürülmesinde glukoz homeostazını da içine alan metabolik etkileri de vardır. GH, glukoz

homeostazını insülinle beraber gerçekleştirmektedir. Kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde insülin ve GH zıt yönde etki gösterir. DM'de kan glukoz düzeyini düşüren insülin seviyesi düşüktür. Dolayısıyla direk hipofiz bezini inhibe edici özellikte olan insülinin dolaşımdaki azlığı GH ve IGFBP protein seviyelerinin yükselmesine yol açarak, dokulardaki lokal sentezin yanı sıra, karaciğerden IGF-1 sentez ve/veya salınımını arttırmakta ve bu şekilde insülin benzeri etki yaratarak yani bir nev'i insülin etkisi arttırılarak kan glukoz düzeyi normal seviyelere düşürülmeye çalışılmaktadır. Ancak yüksek IGF-1 seviyeleri kan glukozunu ciddi şekilde düşürüp hipoglisemiye de neden olabileceğinden, kendi sentez ve salınımını uyaran GH salınımını, negatif feed back yoluya inhibisyona uğratar. Dolayısıyla diyabetik hastalarımızda gözlediğimiz düşük GH seviyesi ve yüksek IGF-1 seviyesi tamamen fizyolojik bir durumdur. Literatürde diyabette GH seviyelerinin ve buna bağlı olarak IGF-1 seviyelerinin artışı veya azalışı ile ilgili iki çelişkili durumun da bu ekseninde aslında geçerli olduğunu düşünmekteyiz.

Bununla birlikte yüksek IGF-1 seviyelerinden kaynaklı gelişen hipogliseminin kontrolünde yüksek seviyeleriyle katkıda bulunan IGFBP-3 proteininin seviyesi DM grubumuzda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bunun da tamamen fizyolojik bir durum olduğunu düşünmekteyiz. Normal şartlar altında IGF-1'in %20'si serbest %80'i IGFBP-3 ile kompleks halindedir. Kompleks halinde olması IGF-1'in dolaşımda depo şeklinde tutulmasını sağlamak içindir. DM grupta gözlenen plazma yüksek IGF-1 seviyelerinden dolayı depolanmak üzere IGFBP-3 ile kompleks oluşturmaya dolayısıyla da IGFBP-3 sentezine gerek yoktur ki zaten bu proteinin sentezi GH kontrolünde değildir.

KKH grubumuzda görülen düşük GH (ancak normale yakın bir düşüklük), IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin ise normal/yüksek insülin seviyelerinden kaynakladığı görüşündeyiz. KKH grubunda doku ve organ sistemlerinde endotelial hasarı da içine alan kardiyovasküler hasarlar çok yüksektir. Dolayısıyla bu grupta glukozun daha da çok hasar yaratmaması için; diğer bir deyişle doku ve organ sistemlerini koruyabilmek için, insülin düzeylerinin normal/yüksek seviyelerde olması hayati öneme sahiptir. Aslında, yüksek GH hormon seviyeleri de protein sentezinin arttırılmasını teşvik ederek bu hasarı giderebilir ancak aynı zamanda her ne kadar insülin kompensasyonu olsa da

yüksek GH seviyeleri kan glukozunun yükselmesine de neden olabilir. Buna ilaveten GH kaynaklı yüksek IGF düzeylerine bağlı olarak damar mediasındaki elastin, proteoglikan ve kollojeni arttırarak hem de endotelial ve düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olarak hasarın boyutunu daha da arttırabilir. Dolayısıyla, IGF sentezini arttırmadan sadece IGFBP'lerin inhibisyonu ile kompleks halinde dolaşımda var olan IGF'lerin serbestleşmesi daha ideal bir yoldur. Yüksek plazma insülin seviyeleri GH'nin yanı sıra IGFBP-3'ün de sentez ve salınımını inhibisyona uğratmaktadır. Azalan IGFBP-3 seviyelerine bağlı olarak dolaşımda daha fazla IGF-1 serbest kalarak hasarlı bölgelerde protein sentezini arttırmak suretiyle doku onarımına gider. Dolayısıyla IGF-1 sentezi, insülinin GH'yi inhibe etmesinden dolayı sentezlenemediği için de düşük seviyede tutulmuş olur. Çalışma grubumuzu oluşturan KKH grubu mensuplarına diyabet teşhisi konulmamıştır. Ancak bu bireylerdeki yüksek HbA1c varlığı bu gruba ait bireylerin prediyabetik olduklarına ve dolayısıyla normal/yüksek insülin düzeylerine sahip olduklarını göstermektedir. Bu mekanizmaya insülin sentezinin bozuk/hiç olduğu diyabetik koroner kalp hastalarında, uzun süreli DM'ye bağlı olarak kullanılan insülin tedavisinin endojen insülin yerine foksion göstererek katkı sağladığını düşünmekteyiz. Ayrıca diyabetik ve koroner kalp hasta grubu arasındaki GH, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerindeki istatistiksel olarak anlamlı fark bulgularımızı doğrular niteliktedir.

Hasta ve kontrol gruplarında GHR ekson 3 polimorfizmine ait homo ve heterodimerlerin dağılımlarının eşit oranda olması hastalık ve bu polimorfizm arasında bir ilişkinin olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte istatistiksel anlamlılık olmasa bile KKH grubunda GHR-d3 allel (GHR-fl/d3 + GHR-d3/d3) frekansının GHR-fl/fl genotipli hastalara göre yüksek olmasının daha fazla GH metabolizması sağlayarak kan glukoz düzeyini arttırdığını ve ayrıca kötü lipid profillerini teşvik ederek endotelial hasarı daha da tetikleyip hastalık gelişimine katkıda bulunduğu kanaatindeyiz.

Hasta gruplarının kendi içlerinde GHR ekzon-3 polimorfizmi varyantlarına göre (GHR-fl/fl, GHR-d3/d3, GHR-fl/d3 genotipleri ve GHR-fl, GHR-d3 allelleri bazında) GH, IGF-1 ve IGFBP-3 seviyelerinin incelenmesi sonucunda GH, IGF-1 ve IGFBP-3 istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte istatistiksel farklılık olmaksızın DM grupta GHR-fl alleli (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3)

taşıyan hastalarda GHR-d3/d3 genotipi taşıyanlara göre kan glukoz ve IGF-1 düzeylerinin daha düşük olduğu; GH ise daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup bu durumun biyolojik aktivitesi daha düşük olan GHR-fl alleleline sahip olanlarda GH'nin daha az metabolize edilmesinden dolayıyla da kan glukoz düzeyini daha az şekilde arttırmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. KKH grupta ise GHR-fl alleli (GHR-fl/fl+GHR-fl/d3) taşıyan hastalarda total kolesterol düzeylerinin GHR-d3/d3 genotipine sahip bireylere göre istatistiksel anlamlılığa yakın düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0.087). Ayrıca GHR-fl/fl genotipine sahip KKH hastalarında LDL-C düzeylerinin en yüksek; GHR-d3/d3 genotipine sahip olanlarda ise en düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir (p>0.05). Bu durumun da GHR'nin biyolojik aktivitesine bağlı olarak geliştiğini ve aktif olan formun daha fazla protein anabolizmasına neden olarak ve lipolitik cevabı attırmak suretiyle adipozite oranını düşürdüğünü ve bu şekilde de iyi lipid profillerine katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz.

Çalışma grubumuzu oluşturan sağlıklı kadın bireylerde GHR-fl/fl genotip frekansının, erkeklerde ise GHR-d3 allel frekansının anlamlı bir şekilde yüksek olması kadınlara göre erkeklerdeki yüksek kas kitlesi yoğunluğunu açıklayan nedenlerden biri olabilir. GH, enerji dengesinin sağlanmasında görevli olan anabolik bir hormondur ve kadınlarda östrojen; erkeklerde androjen hormonlarına alternatif bir yol olarak kilo kontrolüne katkıda bulunabilir. Erkeklerde biyolojik olarak aktif olan mutant formun bulunması, GH'nin daha fazla metabolik etki göstermesine yani protein oksidasyonunu daha fazla inhibe ederek protein sentezini daha fazla uyarmasına neden olarak erkeklerde kas kitlesinin kadınlardakinden daha fazla olmasına neden olmuş olabilir.

KKH hasta grubunda daha fazla aktif olan GHR-d3/d3 genotipine sahip bireylerde GHR-fl alleli taşıyan hastalara göre $VKİ \geq 27 \text{kg/m}^2$ olma durumu daha fazladır. Bu durumun da benzer şekilde reseptörün biyolojik aktivitesinden kaynaklı olduğunu kanaatindeyiz.

Sonuç olarak diyebiliriz ki,

Normal fizyolojik durumların sağlanmasında hormonal kontrolün önemi yadsınamaz, bununla birlikte içinde bulunulan fizyolojik koşula göre organizma cevap verir.

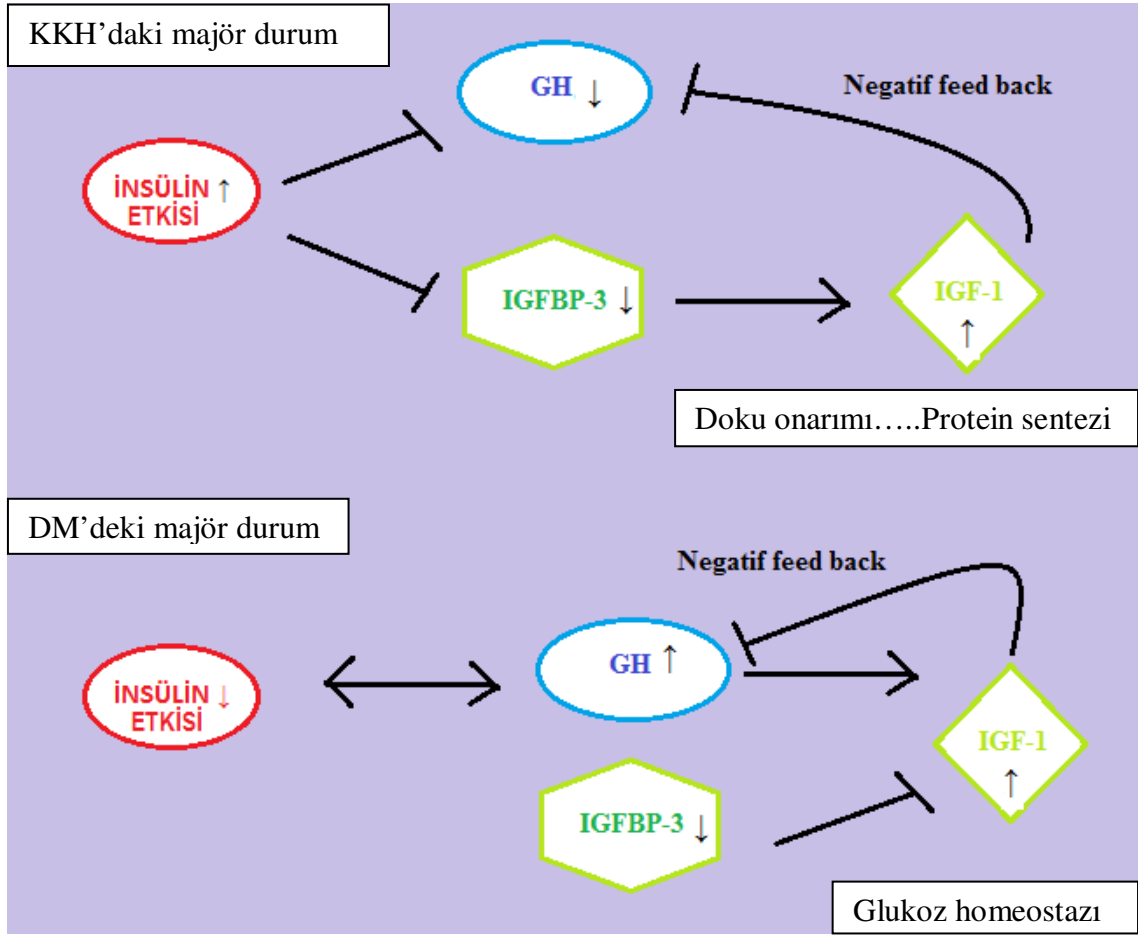
Dolayısıyla çalışma grubunu oluşturan KKH ve DM hastalıklarında normal vücut homeostazının sağlanmasında GH, IGF-1 ve IGFBP-3, insülin ile beraber fonksiyon gösterdiği (Şekil -1),

Diyabet hastalarında glukoz seviyelerine neden olan az/hiç insülin seviyelerin GH inhibisyonu ortadan kaldırarak insülin etkisini güçlendirmek amaçlı IGF-1 düzeylerini arttırdığı,

Koroner kalp hastalarında organ/doku hasarının giderilmesi için bağlı olan IGF- 'in serbestleştirilerek protein sentezinin arttırıldığını ve kan glukoz düzeyinin sağlanabilmesi için GH salınımının inhibe edildiği/ normale yakın tutulduğu,

KKH grubunu oluşturan bireylerde hastalık gelişimi açısından erkek cinsiyeti ve sigara kullanımının anlamlı bir şekilde ve GHR-d3 allelinin ise muhtemel daha etken olduğu,

GHR ekzon 3 polimorfizminin DM ve KKH hasta grubuna direk olarak etkisi gözlenmediği ancak KKH hasta grubunda daha fazla aktif olan GHR-d3/d3 genotipinin vücut kitle indeksini arttırıcı fonksiyon gösterebileceği ve iyi lipid profillerine katkıda bulunabileceği belirlenmiştir.



Şekil 1. Çalışma gruplarından elde edilen verilere göre DM ve KKH'da vücut homeostazının sağlanmasında kullanılan olası mekanizmalar

KAYNAKLAR

1. Yenigün, M. and Y. Altuntaş, *Her Yönüyle Diabetes Mellitus* 2. Baskı. 2001, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 78-80.
2. Roden M. Diabetes mellitus--definition, classification and diagnosis. *Acta Med Austriaca* 2004; 31(5): 156-7.
3. İmamoğlu Ş. *Diabetes Mellitus. Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem.* 2th ed. 2009.
4. Aschner P, Horton E, Leiter LA, Munro N, Skyler JS. Global Partnership for Effective Diabetes Management. Practical steps to improving the management of type 1 diabetes: recommendations from the Global Partnership for Effective Diabetes Management. *Int J Clin Pract* 2010; 64(3): 305-15.
5. Burgess E. *The effect of hypertension in diabetes In Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2001. 498: p. 115-117.
6. Taner Onat, Kaya Emerk, Eser Y Sözmén. *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002.
7. G.S. Meneilly, D. Tessier, Diabetes in elderly adults, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001; 56: M5–M13.
8. Shepherd RM, Hashmi MN, Kane C, Squires PE, Dunne MJ. Elevation of cytosolic calcium by imidazolines in Mouse islets of Langerhans: implication for stimulus-response coupling of insulin release. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 911-16.
9. Orchard TJ et al. Type 1 diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care* 2006; 29(11): 2528-2538.
10. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for health professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1348–1359.
11. Gerszten RE, Rosenzweig A. *Coronary Atherosclerosis In Principles of Molecular Medicine*. Chicago: Humanna Press Edited by Jameson JL; 1998.
12. Novelli G, Borgiani P, Giardina E, Mango R, Contino G, Romeo F, Mehta JL. Role of genetics in prevention of coronary atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 2003; 18: 368–71.
13. Scheuner MT. Genetic predisposition to coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 2001; 16: 251– 60.
14. Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K. *TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı*. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi 2003, İstanbul.
15. Scheuner MT. Genetic evaluation for coronary artery disease. *Genet Med* 2003; 5: 269-285.
16. Martha SN, John HK. Ed. Bertram G Katzung. Basic and Clinical Pharmacology. 10th ed. Stamford, UK: McGraw-Hill Companies Inc. 2007; p 683-687.
17. Foster DW. Fauci AS, Braunwald E, Iselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, editor. Diabetes mellitus: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed., New York: The McGraw-Hill Companies Inc., 1998; pp. 2060-2080.
18. Davis SN, Granner DK. Hardman JG, Limbird LE. *Insulin, oral hypoglycemic agents and pharmacology of endocrin pancreas- Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed., New York: The McGraw-Hill Companies Inc; 2006

19. Figen Gürdöl, Evim Ademoğlu. *Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2006.
20. Strawbridge RJ, Karvestedt L, Li C, Efendic S, Östenson CG, Gu HF, Brismar K. GHR exon 3 polymorphism: Association with type 2 diabetes mellitus and metabolic disorder. *Growth Hormone & IGF Research* 2007; 17: 392-398.
21. Urbanek M, Russell JE, Cooke NE, Liebhaber SA. Functional characterization of the alternatively spliced, placental human growth hormone receptor. *J Biol Chem* 1993; 268: 19025-19032.
22. Santos CD, Essioux L, Teinturier C, Tauber M, Goffin V, Bougneres P. A common polymorphism of the growth hormone receptor is associated with increased responsiveness to growth hormone. *Nat Genet* 2004; 36: 720-724.
23. Blum WF, Machinis K, Shavrikova EP, Keller A, Stobbe H, Pfaeffle RW, Amselem S. The growth response to growth hormone (GH) treatment in children with isolated GH deficiency is independent of the presence of the exon 3-minus isoform of the GH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10): 4171-4174.
24. Binder G, Baur F, Schweizer R, Ranke MB. The d3-growth hormone (GH) receptor polymorphism is associated with increased responsiveness to GH in Turner syndrome and short small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 659-664.
25. Dominici FP, Argentino DP, Munoz MC, Miquet JG, Sotelo AI, Turyn D Influence of the crosstalk between growth hormone and insulin signaling on the modulation of insulin sensitivity, *Growth Horm IGF Res* 2005; 15: 324-336.
26. Vaessen N, Heutink P, Janssen JA, Witteman JC, Testers L, Hofman A, Lamberts SW, Oostra BA, Pols HA, van Duijn CM. A polymorphism in the gene for IGF-I: functional properties and risk for type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes* 2001; 50: 637-642.
27. Frystyk J, Ledet T, Moller N, Flyvbjerg A, Orskov H. Cardiovascular disease and insulin-like growth factor I. *Circulation* 2002; 106: 893-895
28. Horan M, Newsday V, Yasmin, Lewis MD, Easter TE, Rees DA, Mahto A, Millar DS, Procter AM, Scanlon MF, Wilkinson IB, Hall IP, Wheatley A, Blakey J, Bath PM, Cockcroft JR, Krawczak M, Cooper DN. Genetic variation at the growth hormone (GH1) and growth hormone receptor (GHR) loci as a risk factor for hypertension and stroke, *Hum Genet* 2006.
29. Wallander M, Brismar K, Ohrvik J, Ryden L, Norhammar A. Insulin-like growth factor I: a predictor of long-term glucose abnormalities in patients with acute myocardial infarction, *Diabetologia* 2006; 49: 2247-2255.
30. Jorge AA, Marchisotti FG, Montenegro LR, Carvalho LR, Mendonca BB, Arnhold IJ. Growth hormone (GH) pharmacogenetics: influence of GH receptor exon 3 retention or deletion on first-year growth response and final height in patients with severe GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1076-1080.
31. Bratusch-Marrain PR, Smith D, DeFronzo RA. The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 973-982.
32. R.A. Rizza RA, L.J. Mandarino LJ, Gerich JE. Effects of growth hormone on insulin action in man. Mechanisms of insulin resistance, impaired suppression of glucose production, and impaired stimulation of glucose utilization. *Diabetes* 1982; 31: 663-669.
33. Hansen I, Tsalikian E, Beaufriere B, Gerich J, Haymond M, Rizza R. Insulin resistance in acromegaly: defects in both hepatic and extrahepatic insulin action. *Am J Physiol* 1986; 250: 269-273.

34. Davidson MB. Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocr Rev* 1987; 8: 115–131.
35. M.C. Foss, M.J. Saad, G.M. Paccola, F.J. Paula, C.E. Piccinato, A.C. Moreira, Peripheral glucose metabolism in acromegaly, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991; 72: 1048–1053.
36. Clemmons DR. Roles of insulin-like growth factor-I and growth hormone in mediating insulin resistance in acromegaly. *Pituitary* 2002; 5: 181–183.
37. Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor I in maintaining normal glucose homeostasis. *Horm Res* 2004; 62 (Suppl. 1): 77–82.
38. Jorgensen JO, Krag M, Jessen N, Norrelund H, Vestergaard ET, Moller N, Christiansen JS. Growth hormone and glucose homeostasis. *Horm. Res* 2004; 62 (Suppl. 3): 51–55.
39. Yakar S, Pennisi P, Kim CH, Zhao H, Toyoshima Y, Gavrilova O, LeRoith D. Studies involving the GH-IGF axis: lessons from IGF-I and IGF-I receptor gene targeting Mouse models. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 19–22.
40. Yakar S, Setser J, Zhao H, Stannard B, Haluzik M, Glatt V, Bouxsein ML, Kopchick JJ, LeRoith D. Inhibition of growth hormone action improves insulin sensitivity in liver IGF-1-deficient mice. *J Clin Invest* 2004; 113: 96–105
41. Nilsson L, Binart N, Bohlooly YM, Brammert M, Egecioglu E, Kindblom J, Kelly PA, Kopchick JJ, Ormandy CJ, Ling C, Billig H. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331: 1120–1126.
42. Roupas P, Towns RJ, Kostyo JL. Isolated adipocytes from growth hormone-treated obese (ob/ob) mice exhibit insulin resistance. *Biochim. Biophys Acta* 1990; 1052: 341–344.
43. Rabinowitz D, Klassen GA, Zierler KL. Effect of human growth hormone on muscle and adipose tissue metabolism in the forearm of man. *J Clin Invest* 1965; 44: 51–61.
44. Kloting N, Bluher M. Extended longevity and insulin signaling in adipose tissue. *Exp Gerontol* 2005; 40: 878–883.
45. Jorgensen JO, Jessen N, Pedersen SB, Vestergaard E, Gormsen L, Lund SA, Billestrup N. GH receptor signaling in skeletal muscle and adipose tissue in human subjects following exposure to an intravenous GH bolus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291:899–905.
46. Barbour LA, Rahman SM, Gurevich I, Leitner JW, Fischer SJ, Roper MD, Knotts TA, Vo Y, McCurdy CE, Yakar S, Leroith D, Kahn CR, Cantley LC, Friedman JE, Draznin B. Increased P85alpha is a potent negative regulator of skeletal muscle insulin signaling and induces in vivo insulin resistance associated with growth hormone excess. *J Biol Chem* 2005; 280: 37489–37494.
47. Yakar S, Liu JL, Fernandez AM, Wu Y, Schally AV, Frystyk J, Chernausek SD, Mejia W, Le Roith D. Liver-specific IGF-1 gene deletion leads to muscle insulin insensitivity. *Diabetes* 2001; 50: 1110–1118.
48. Brammert M, Segerlantz M, Laurila E, Daugaard JR, Manhem P, Groop L. Growth hormone replacement therapy induces insulin resistance by activating the glucose-fatty acid cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1455–1463.
49. Del Rincon JP, Iida K, Gaylinn BD, McCurdy CE, Leitner JW, Barbour LA, Kopchick JJ, Friedman JE, Draznin B, Thorner M. Growth hormone regulation of p85{alpha} expression and phosphoinositide 3-kinase activity in adipose tissue: mechanism for growth hormone-mediated insulin resistance. *Diabetes*, 2007.

50. Berryman DE, Christiansen JS, Johannsson G, Thorner MO, Kopchick JJ. Role of the GH/IGF-1 axis in lifespan and healthspan: Lessons from animal models, *Growth Hormone & IGF Research* 2008; 18: 455–471.
51. Verhelst J, Abs R. Cardiovascular risk factors in hypopituitary GH-deficient adults. *European Journal of Endocrinology* 2009; 161: S41–S49.
52. Beshyah SA, Henderson A, Niththyanathan R, Sharp P, Richmond W, Johnston DG. Metabolic abnormalities in growth hormone deficient adults: carbohydrate tolerance and lipid metabolism. *Endocrinology and Metabolism* 1994; 1: 173–180.
53. Abs R, Bengtsson BA, Hernberg-Stahl E, Monson JP, Tauber JP, Wilton P, Wuster C. GH replacement in 1034 growth hormone deficient adults: demographic and clinical characteristics, dosing and safety. *Clinical Endocrinology* 1999; 50: 703–713.
54. Abdu TA, Neary R, Elhadd TA, Akber M, Clayton RN. Coronary risk in growth hormone deficient hypopituitary adults: increased predicted risk is due largely to lipid profile abnormalities. *Clinical Endocrinology* 2001; 55: 209–216.
55. Beshyah SA, Freemantle C, Thomas E, Rutherford O, Page B, Murphy M, Johnston DG. Abnormal body composition and reduced bone mass in growth hormone deficient hypopituitary adults. *Clinical Endocrinology* 1995; 42: 179–189.
56. Lonn L, Johannsson G, Sjostrom L, Kvist H, Oden A, Bengtsson BA. Body composition and tissue distributions in growth hormone deficient adults before and after growth hormone treatment. *Obesity Research* 1996; 4: 45–54.
57. Jorgensen JO, Pedersen SA, Thuesen L, Jorgensen J, Ingemann-Hansen T, Skakkebaek NE, Christiansen JS. Beneficial effects of growth hormone treatment in GH-deficient adults. *Lancet* 1989; 1: 1221–1225.
58. Libber SM, Plotnick LP, Johanson AJ, Blizzard RM, Kwiterovich PO, Migeon CJ. Long-term follow-up of hypopituitary patients treated with human growth hormone. *Medicine* 1990; 69: 46–55.
59. Johannsson JO, Landin K, Tengborn L, Rosen T, Bengtsson BA. High fibrinogen and plasminogen activator inhibitor activity in growth hormone deficient adults. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1994; 14: 434–437.
60. Leonsson M, Hulthe J, Johannsson G, Wiklund O, Wikstrand J, Bengtsson BA, Oscarsson J. Increased interleukin-6 levels in pituitary-deficient patients are independently related to their carotid intima-media thickness. *Clinical Endocrinology* 2003; 59: 242–250.
61. Kreitschmann-Andermahr I, Suarez P, Jennings R, Evers N, Brabant G. GH/IGF-I Regulation in Obesity –Mechanisms and Practical Consequences in Children and Adults. *Horm Res Paediatr* 2010; 73:153–160.
62. Davis SN, Granner DK. Hardman JG, Limbird LE. *Insulin, oral hypoglycemic agents and pharmacology of endocrin pancreas- Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed., New York: The McGraw-Hill Companies Inc; 2006
63. De Palo EF, De Filippis V, Gatti R, Spinella P. Growth hormone isoforms and segments/fragments: Molecular structure and laboratory measurement. *Clinica Chimica Acta* 2006; 364:67-76.
64. Molina PE: *Endocrine Physiology Lange Medical Books*. New York, Mc Graw-Hill, 2004; 59-65.
65. Strobl JS, Thomas MJ. Human growth hormone. *Pharmacol Rev* 1994; 46(1): 1-34.
66. Holt RI. Fetal programming of the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13(9): 392-7.

67. Goodman HM: *Growth hormone and metabolism. The endocrinology of growth, development, and metabolism in vertebrates*. Ed. Schreibman MP, Scanes CG, Pang PKT. San Diego, Academic Pres, 1993: 51-82.
68. Bak JF, Moller N, Schmitz O. Effects of growth hormone on fuel utilization and muscle glycogen synthase activity in normal humans. *Am J Physiol* 1991; 260:736-742.
69. Boger RH, Skamira C, Bode-Boger SM, Brabant G, von zur Muhlen A, Frolich JC. Nitric oxide may mediate the hemodynamic effects of recombinant growth hormone in patients with acquired growth hormone deficiency. A doubleblind, placebo-controlled study. *J Clin Invest* 1996; 98(12): 2706-13.
70. Rudman D, Kutner MH, Rogers CM, Lubin MF, Fleming GA, Bain RP. Impaired growth hormone secretion in the adult population: relation to age and adiposity. *J Clin Invest* 1981; 67(5): 1361-9.
71. Milman, A.E.; Russell, J.A.: "Some effects of purified pituitary growth hormone on carbohydrate metabolism in the rat", *Endocrinology.*, 47(2) (1950)114-28.
72. Akagi Y, Liu W, Zebrowski B, Xie K, Ellis LM. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer by insulin-like growth factor-I. *Cancer Res* 1998;58:4008-14.
73. Remacle-Bonnet M, Garrouste F, Heller S, Andre F, Marvaldi J, Pommier G. Insulin-like growth factor-I protects colon cancer cells from death factor-induced apoptosis by potentiating tumour necrosis factor α -induced mitogen-activated protein-kinase and nuclear factor κ B signaling pathways. *Cancer Res* 2000;60:2007-17.
74. Vallee S, Fouchier F, Bremond P, Briand C, Marvaldi J, Champion S. Insulinlike growth factor-I downregulates nuclear factor kappa activation and upregulates interleukin-8 gene expression induced by tumour necrosis factor alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305:831-9.
75. Clemmons DR: *Insulin-like Growth Factor I and Its Binding Proteins*. *Endocrinology*. Ed. Groot LJ, Jameson JL. 5. basim. Philadelphia, Elsevier, 2006; 643-73.
76. Ikari N, Yoshino H, Moses AC, Flier JS. Evidence that receptor aggregation may play a role in transmembrane signaling through the insulin-like growth factor-Ireceptor. *Mol Endocrinol* 1988;9:831-7.
77. Rosenfeld RG. Insulin-like growth factors and the basis of growth. *NEngl J Med* 2003; 349(23): 2184-6.
78. Morton CC, Byers MG, Nakai H, Bell GI, Shows TB. Human genes for insulin-like growth factors I and II and epidermal growth factor are located on 12q22---q24.1, 11p15, and 4q25---q27, respectively. *Cytogenet Cell Genet* 1986; 41(4): 245-9.
79. Berelowitz M, Szabo M, Frohman LA, Firestone S, Chu L, Hintz RL. Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary. *Science* 1981; 212(4500): 1279-81.
80. Chard T. Hormonal control of growth in the human fetus. *J Endocrinol* 1989; 123(1): 3-9.
81. Holly JMP, Perks CM, Stewart CEH. Overview of insulin-like growth factor physiology. *Growth Horm IGF Res* 2000; 10(Suppl A):8-9.
82. Roith DL. Regulation of proliferation and apoptosis by the insulin-like growth factor I receptor. *Growth Horm IGF Res* 2000; 10 (Suppl A):12-3.
83. Ullrich A, Gray A, Tam AW, Yang-Feng T, Tsubokawa M, Collins C ve ark. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin

- receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J* 1986; 5(10): 2503-12.
84. Werner H, Adamo M, Roberts CT Jr, LeRoith D. Molecular and cellular aspects of insulin-like growth factor action. *Vitam Horm* 1994; 48:1-58.
 85. Grimberg A. P53 and IGFBP-3: apoptosis and cancer protection. *Mol genet Metab* 2000; 70:85-98.
 86. Butt AJ, Williams AC. IGFBP-3 and apoptosis- a licence to kill? *Apoptosis* 2001;6:199-205.
 87. Murphy LJ, Molnar P, Lu X, Huang H. Expression of human insulin-like growth factor binding protein-3 in transgenic mice. *J Mol Endocrinol* 1995;15:293-303.
 88. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their bindingproteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16(1): 3-34.
 89. Mullis PE. Genetic control of growth. *Eur J Endocrinol* 2005; 152(1): 11-31.
 90. Bazan JF. Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today* 1990;11:350-4.
 91. Roupas P, Herington AC. Cellular mechanisms in the processing of growth hormone and its receptor. *Mol Cell Endocrinol* 1989;1:1-12.
 92. Carter-Su C, Argetsinger LS, Caml GS, et al. The identification of JAK2 tyrosine kinase as a signaling molecule for growth hormone. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994;206:210-5.
 93. Herington J, Carter-Su C. Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2001;12(6):252-257.
 94. Clayton PE and Gill MS. Normal Growth and Its Endocrine Control. Brook CGD and Hindmarsh PC, editor. *Clinical Pediatric Endocrinology*. 4th ed. Oxford: Blackwell Science Ltd; 2001: 95-114.
 95. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R ve ark. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(20): 8083-7.
 96. Brooks AJ, Wooh JW, Tunny KA, Waters MJ. Growth hormone receptor; mechanism of action. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2008; 40: 1984–1989.
 97. Pantel J, Grulich-Henn J, Bettendorf M, Strasburger CJ, Heinrich U, Amselem S. Heterozygous nonsense mutation in exon 3 of the growth hormone receptor (GHR) in severe GH insensitivity (Laron syndrome) and the issue of the origin and function of the GHRd3 isoform. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4):1705-10.
 98. Pantel J, Machinis K, Sobrier ML, Duquesnoy P, Goossens M, Amselem S. Species-specific Alternative Splice Mimicry at the Growth Hormone Receptor Locus Revealed by the Lineage of Retroelements during Primate Evolution. A Novel Mechanism Accounting For Protein Diversity Between And Within Species. *The Journal Of Biological Chemistry* 2000; 275(25):18664–18669.
 99. Jorge AAL, Arnhold IJP. Growth Hormone Receptor Exon 3 Isoforms and Their Implication in Growth Disorders and Treatment. *Horm Res* 2009;71(suppl 2):55–63.
 100. Stallings-Mann ML, Ludwiczak RL, Klinger KW, Rottman F. Alternative splicing of exon 3 of the human growth hormone receptor is the result of an unusual genetic polymorphism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(22):12394-9.
 101. Mercado M, Gonzalez B, Sandoval C, Esquenazi Y, Mier F, Vargas G ve ark. Clinical and biochemical impact of the d3 growth hormone receptor genotype in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(9): 3411-5.

102. Flyvbjerg A, Bennett WF, Rasch R, et al. Inhibitory effect of a growth hormone receptor antagonist (G120K-PEG) on renal enlargement, glomerular hypertrophy and urinary albumin excretion in experimental diabetes in mice. *Diabetes*. 1999;48:377–382.
103. Growth Hormone Antagonist for Proliferative Diabetic Retinopathy Study Group. The effect of a growth hormone receptor antagonist drug on proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2001;108:2266–2272.
104. Yakar S, Setser J, Zhao H, Stannard B, Haluzik M, Glatt V, Bouxsein ML, Kopchick JJ, LeRoith D. Inhibition of growth hormone action improves insulin sensitivity in liver IGF-1 deficient mice. *J. Clin. Invest* 2004; 113:96–105.
105. Colao A. Cardiovascular Effects of Growth Hormone Treatment: Potential Risks and Benefits. *Horm Res* 2004; 62(suppl 3):42–50.
106. Vasan RS, Sullivan LM, D’Agostino RB, Roubenoff R, Harris T, Sawyer DB, Levy D, Wilson PW: Serum insulin-like growth factor I and risk for heart failure in elderly individuals without a previous myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med* 2003;139:642–648.
107. Svensson J, Bengtsson BA. Safety aspects of GH replacement. *European Journal of Endocrinology* 2009;161:65–74.
108. Strawbridge RJ, Karvestedt L, Li C, Efendic S, Ostenson CG, Gu HF, Brismar K 2007 GHR exon 3 polymorphism: association with type 2 diabetes mellitus and metabolic disorder. *Growth Horm IGF Res* 17:392–398.
109. http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/iprep_bloodgDNA_man.pdf erişim tarihi: 08.11.2012.
110. 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; 285:2486-2497.
111. Gotto AM Jr. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 1998; 82: 220- 250.
112. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-1431
113. Moller N, Jorgensen JO. Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. *Endocrine Reviews* 2009;30(2):152-77.
114. Tannenbaum GS. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Acta paediatrica Scandinavica* **1991**; 3725-16.
115. Le Roith D, Bond y C, Yakar S, Liu JL, Butler A.The somatomedin hypothesis: 2001, *Endocrine Reviews* 2001; 22(1): 53-74.
116. Wang X, Xu B, Souza, SC, Kopchick JJ. Growth hormone (GH) induces tyrosine-phosphorylated proteins in mouse L cells that express recombinant GH receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994; 91(4): 1391-1395.
117. Campbell GS, Meyer DJ, Raz R, Levy DE, SchwartzJ, Carter-Su C. Activation of acute phase response factor (APRF)/Stat3 transcription factor by growth hormone. *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270(8): 3974-3979.
118. Meyer DJ, Campbell GS, Cochran BH, Argetsinger LS, Larner AC, Finbloom DS, Carter-Su C, Schwartz J.Growth hormone induces a DNA binding factor related to the interferon-stimulated 91-kDa transcription factor. *Journal of Biological Chemistry* 1994; 269(7): 4701-4704.

119. Xu BC, Wang X, Darus CJ, Kopchick JJ. Growth hormone promotes the association of transcription factor STAT5 with the growth hormone receptor. *Journal of Biological Chemistry* 1996; 271(33): 19768-19773.
120. Eleswarapu S, Gu Z, Jiang H. Growth hormone regulation of insulin-like growth factor-I gene expression may be mediated by multiple distal signal transducer and activator of transcription 5 binding sites. *Endocrinology*. 2008; 149(5):2230-2240.
121. Ho Y, Elefant F, Cooke N, Liebhaber S. A defined locus control region determinant links chromatin domain acetylation with long-range gene activation. *Mol Cell* 2002; 9(2): 291-302.
122. Strabl JS, Thomas MJ. Human growth hormone. *Pharmacol Rev* 1994;46:1-34.
123. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. *Endocrinology* 1991; 128(3):1459-1464.
124. Mullis PE, Lund T, Patel MS, Brook CG, Brickell PM. Regulation of human growth hormone receptor gene expression by human growth hormone in a human hepatoma cell line. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1991; 76(1-3):125-33.
125. Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Slootweg MC. Growth hormone and bone. *Endocrine Reviews* 1998; 19(1): 55-79.
126. Tjong TS, Herington AC. Tissue distribution, characterization, and regulation of messenger ribonucleic acid for growth hormone receptor and serum binding protein in the rat. *Endocrinology* 1991; 129(3): 1628-34.
127. Vikman K, Carlsson B, Billig H, Eden S. Expression and regulation of growth hormone (GH) receptor messenger ribonucleic acid (mRNA) in rat adipose tissue, adipocytes, and adipocyte precursor cells: GH regulation of GH receptor Mrna. *Endocrinology* 1991; 129(3):1155-1161.
128. Takahashi Y, Kipnis DM, Daughaday WH. Growth hormone secretion during sleep. *Journal of Clinical Investigation* 1968; 47(9):2079-2090.
129. Casanueva FF, Villanueva L, Cabranes JA, Cabezas-Cerrato J, Fernandez-Cruz A. Cholinergic mediation of growth hormone secretion elicited by arginine, clonidine, and physical exercise in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1984; 59(3): 526-530.
130. Amato G, Carella C, Fazio S et al. Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1671-1676.
131. Cotes PM, Reid E, Young FG. Diabetogenic action of pure anterior pituitary growth hormone. *Nature* 1949; 164:209-211.
132. Tanner JW, Leingang KA, Mueckler MM. Cellular mechanism of the insulin-like effect of growth hormone in adipocytes. Rapid translocation of HepG2-type and adipocyte/muscle glucose transporters. *Biochemical Journal* 1992; 282 (1): 99-106.
133. Cameron CM, Kostyo JL, Adamafio NA, Brostedt P, Roos P, Skottner A, Forsman A, Fryklund L, Skoog B. The acute effects of growth hormone on amino acid transport and protein synthesis are due to its insulin-like action. *Endocrinology* 1988; 122(2): 471-4.
134. Goodman HM. Biological activity of bacterial derived human growth hormone in adipose tissue of hypophysectomized rats. *Endocrinology* 1948; 114(1):131-5.
135. Beshyah SA, Johnston D. Cardiovascular disease and risk factors in adults with hypopituitarism. *Clinical Endocrinology* 1999; 50:1-15.
136. Stewart PM, Sheppard MC. Mortality and hypopituitarism. *Growth Hormone and IGF Research* 1999; 9:15-19.

137. Lanzi R, Luzi L, Caumo A, Andreotti AC, Manzoni MF, Malighetti ME, Sereni LP, Pontiroli AE: Elevated insulin levels contribute to the reduced growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in obese subjects. *Metabolism* 1999; 48: 1152–1156.
138. Maccario M, Grottoli S, Procopio M, Oleandri SE, Rossetto R, Gauna C, Arvat E, Ghigo E: The GH/IGF-I axis in obesity: influence of neuro-endocrine and metabolic factors. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24(Suppl 2):S96–S99.
139. Scacchi M, Pincelli AI, Cavagnini F: Growth hormone in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 260–271.
140. Tappy L, Acheson K: Role of substrate competition in the pathogenesis of insulin resistance in man. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 10–15.
141. Conover CA, Lee PD, Kanaley JA, Clarkson JT, Jensen MD: Insulin regulation of insulin like growth factor binding protein-1 in obese and nonobese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1355–1360.
142. Waxman DJ, O'Connor C. Growth hormone regulation of sex-dependent liver gene expression. *Mol. Endocrinol* 2006; 20: 2613–2629.
143. Thankamony GN, Dunger DB, Acerini CL. Pegvisomant: current and potential novel therapeutic applications. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2009; 9:1553–1563.
144. Carroll PV, Christ ER, Bengtsson BA, Carlsson L, Christiansen JS, Clemmons D, Hintz R, Ho K, Laron Z, Sizonenko P, Sonksen PH, Tanaka T, Thorne M. Growth hormone deficiency in adulthood and the effects of growth hormone replacement: a review. Growth Hormone Research Society Scientific Committee. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998; 83:382–395.
145. Abs R, Feldt-Rasmussen U, Mattsson AF, Monson JP, Bengtsson BA, Goth MI, Wilton P, Koltowska-Haggstrom M. Determinants of cardiovascular risk in 2589 hypopituitary GH-deficient adults – a KIMS database analysis. *European Journal of Endocrinology* 2006; 155:79–90.
146. Bengtsson BA, Abs R, Bennmarker H, Monson JP, Feldt-Rasmussen U, Hernberg-Stahl E, Westberg B, Wilton P, Wuster C. The effects of treatment and the individual responsiveness to growth hormone (GH) replacement therapy in 665 GH-deficient adults. KIMS Study Group and the KIMS International Board. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:3929–3935.
147. Thomas JJ, Monson JP. Adult GH deficiency throughout lifetime. *European Journal of Endocrinology* 2009; 161:97–106.
148. Monson JP, Bengtsson BA, Abs R, Feldt-Rasmussen U, Wuster C. Can growth hormone therapy cause diabetes? KIMS Strategic Committee. *Lancet* 2000; 355:1728–1729.
149. Argente J, Caball N, Barrios V, Munoz MT, Pozo J, Chowen JA, Morande G. And Hernandez M. Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulinlike growth factor axis in patients with anorexia nervosa, effect of short and longterm weight recuperation, *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(7):2084-2092.
150. Gianotti L, Broglio F, Ramunni J, Lanfranco F, Gauna C, Benso A, Zanello M, Avrat E and Ghigo E. The activity of GH/IGF-1 axis in anorexia nervosa and obesity, a comparison with normal subjects and patients with hypopituitarism or critical illness. *Eat Weight Disord* 1998; 3(2):64-70.
151. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer, the role of insulin and insulin-like growth factor-1. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 91-106.

152. Maccario M, Tassone F, Grottoli S, Rossetto R, Gauna C and Ghio E. Neuroendocrine and metabolic determinants of the adaptation of GH/IGF-1 axis to obesity. *Ann Endocrinol* 2002; 63(1):140-144.
153. Frystyk J, Skjaerbaek C, Vestbo E, Fisker S and Orskov H. Circulating levels of free insulin-like growth factors in obese subjects, the impact of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15(5):314-322.
154. Chang S, Wu X, Yu H and Spitz MR. Plasma concentrations of insulin-like growth factors among healthy men and post-menopausal women, associations with body composition, lifestyle and reproductive factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(8):758-766.
155. Schoen RE, Schragin J, Weissfeld JL, Thaete FL, Evans RW, Rosen CJ, Kuller LH. Lack of association between adipose tissue distribution and IGF-1 and IGFBP-3 in men and women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; (1):6:581-586.47
156. Rudman D, Feller AG, Nagraj HS, Gergans GA, Lalitha PY, Goldberg AF, Schlenker RA, Cohn L, Rudman IW, Mattson DE. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *New England Journal of Medicine* 1990; 323(1):1-6.
157. Skaggs SR, Crist DM. Exogenous human growth hormone reduces body fat in obese women. *Hormone Research* 1991; 35(1):19-24.
158. Hart IC, Chadwick PM, Boone TC, Langley KE, Rudman C, Souza LM. A comparison of the growth-promoting, lipolytic, diabetogenic and immunological properties of pituitary and recombinant-DNA-derived bovine growth hormone (somatotropin). *Biochemical Journal* 1984; 224(1):93-100.
159. Byatt JC, Eppard PJ, Veenhuizen JJ, Sorbet RH, Buonomo FC, Curran DF, Collier RJ. Serum half-life and in-vivo actions of recombinant bovine placental lactogen in the dairy cow. *Journal of Endocrinology* 1992; 132(2):185-193.
160. Scanes CG. Lipolytic and diabetogenic effects of native and biosynthetic growth hormone in the chicken: a re-evaluation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1992; 101(4):871-8.
161. Vernon RG, Finley E, Flint DJ. Role of growth hormone in the adaptations of lipolysis in rat adipocytes during recovery from lactation. *Biochemical Journal* 1987; 242(3):931-934.
162. Vernon RG, Taylor E. Insulin, dexamethasone and their interactions in the control of glucose metabolism in adipose tissue from lactating and nonlactating sheep. *Biochemical Journal* 1988; 256(2):509-514.
163. Jorgensen JO, Pedersen SA, Thuesen L, Jorgensen J, Moller J, Muller J, Skakkebaek NE, Christiansen JS. Long-term growth hormone treatment in growth hormone deficient adults. *Acta Endocrinologica* 1991; 125(5):449-453.
164. Colao A, di Soma C, Pivonello R, Cuocolo A, Spinelli L, Bonaduce D, Salvatore M, Lombardi G. The cardiovascular risk of adult GH deficiency (GHD) improved after GH replacement and worsened in untreated GHD: a 12-month prospective study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87(3):1088-93.
165. Rosen T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* 1990; 336(8710):285-288.
166. Wiren L, Bengtsson B-A, Johannsson G. Beneficial effects of longterm GH replacement therapy on quality of life in adults with GH deficiency. *Clinical Endocrinology* 1998; 48:613-620.
167. Götherström G, Svensson J, Koranyi J, Alpsten M, Bosæus I, Bengtsson B-A, Johannsson G. A prospective study of five years of growth hormone (GH) replacement therapy in GH deficient adults; sustained effects on body composition,

- bone mass, and metabolic indices. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 86:4657–4665.
168. Wuster C, Abs R, Bengtsson B-A, Bennmarker H, Feldt-Rasmussen U, Hernberg-Stahl E, Monson J, Westberg B, Wilton P. The influence of growth hormone deficiency, growth hormone replacement therapy, and other aspects of hypopituitarism on fracture rate and bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research* 2001; 16:398–405.
 169. Johansson J-O, Fowelin J, Landin K, Lager I, Bengtsson B-A. Growth hormone-deficient adults are insulin-resistant. *Metabolism* 1995; 44:126–1129.
 170. Hew F, Koschmann M, Christopher M, Rantzaou C, Vaag A, Ward G, Beck-Nielsen H, Alford F. Insulin resistance in growth hormone deficient adults: defects in glucose utilization and glycogen synthase activity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81:555–564.
 171. O'Neal D, Kalfas A, Dunning P, Christopher M, Sawyer S, Ward G, Alford F. The effects of 3 months treatment of recombinant human growth hormone (GH) therapy on insulin and glucose-mediated glucose disposal and insulin secretion in GH-deficient adults. A minimal model analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994; 79:975–983.
 172. Fowelin J, Attvall S, Lager I, Bengtsson B-A. Effects of treatment with recombinant human growth hormone on insulin sensitivity and glucose metabolism in adults with growth hormone deficiency. *Metabolism* 1993; 42: 1443–1447.
 173. Maison P, Griffin S, Nicoue-Beglah M, Haddad N, Balkau B, Chanson P. Impact of growth hormone (GH) treatment on cardiovascular risk factors in GH-deficient adults: a metaanalysis of blinded, randomized, placebo-controlled trials. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89:2192–2199.
 174. Weaver J, Monson J, Noonan K, John W, Edwards A, Evans K, Cunningham J. The effect of low dose recombinant human growth hormone replacement on regional fat distribution, insulin sensitivity, and cardiovascular risk factors in hypopituitary adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1995; 80:153–80159.
 175. Rosenfalck A, Maghsoudi S, Fisker S, Jorgensen J, Christiansen J, Hilsted J, Volund A, Madsbad S. The effect of 30 months of lowdose replacement therapy with recombinant human growth hormone (rhGH) on insulin and C-peptide kinetics, insulin secretion, insulin sensitivity, glucose effectiveness, and body composition in GH-deficient adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000; 85:4173–4181.
 176. Hoffman A, Kuntze J, Baptista J, Baum H, Baumann G, Biller B, Clark R, Cook D, Inzucchi S, Kleinberg D, Klibanski A, Phillips L, Ridgway E, Robbins R, Schlechte J, Sharma M, Thorner M, Vance M. Growth hormone (GH) replacement therapy in adultonset GH deficiency: effects on body composition in men and women in a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89:2048–2056.
 177. Al-Shoumer K, Gray R, Anyaoku V, Hughes C, Beshyah S, Richmond W, Johnston D. effects of four years treatment with biosynthetic human growth hormone (GH) on glucose homeostasis, insulin secretion and lipid metabolism in GH-deficient adults. *Clinical Endocrinology* 1998; 48:795–802.
 178. Bulow B, Erfurth E. A low individualized GH dose in young patients with childhood onset GH deficiency normalized serum IGF-I without significant deterioration in glucose tolerance. *Clinical Endocrinology* 1999;50:45–55.

179. Hwu C-M, Kwok C, Lai T-Y, Shih K-C, Lee T-S, Hsiao L-C, Lee S-H, Fang V, Ho L-T. Growth hormone (GH) replacement reduces total body fat and normalizes insulin sensitivity in GH-deficient adults: a report of one-year clinical experience. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82:3285–3292.
180. Jorgensen J, Vahl N, Nyholm B, Juul A, Müller J, Moller N, Schmitz O, Skakkebaek N, Christiansen JS. Substrate metabolism and insulin sensitivity following long-term growth hormone (GH) replacement therapy in GH-deficient adults. *Endocrinology and Metabolism* 1996; 3:281–286.
181. Chrisoulidou A, Beshyah S, Rutherford O, Spinks T, Mayet J, Kyd P, Anyaoku V, Haida A, Ariff B, Murphy M, Thomas E, Robinson S, Foaley S, Johnston D. Effects of seven years of growth hormone replacement therapy in hypopituitary adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000; 85:3762–3769.
182. Gibney J, Wallace J, Spinks T, Schnorr L, Ranicar A, Cuneo R, Lockhart S, Burnard K, Salomon F, Sonksen P, Russell-Jones D. The effects of 10 years of recombinant human growth hormone (GH) in adult GH-deficient patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:2596–2602.
183. Arwert L, Roos J, Lips P, Twisk J, Manoliu R, Drent M. Effects of 10 years of growth hormone (GH) replacement therapy in adult GH-deficient men. *Clinical Endocrinology* 2005; 63:310–316.
184. Holmer H, Svensson J, Rylander L, Johannsson G, Rosen T, Bengtsson B-A, Thoren M, Hoybye C, Degerblad M, Bramnert M, Hagg E, Eden Engstrom B, Ekman B, Norrving B, Hagmar L, Erfurth E. Nonfatal stroke, cardiac disease, and diabetes mellitus in hypopituitary patients on hormone replacement including growth hormone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007; 92:3560–3567.
185. Beshyah S, Shahi M, Skinner E, Sharp P, Foale R, Johnston D. Cardiovascular effects of growth hormone replacement therapy in hypopituitary adults. *European Journal of Endocrinology* 1994; 130:451–458.
186. Cuneo R, Salomon F, Wiles C, Hesp R, Sonksen P. Growth hormone treatment in growth hormone-deficient adults. II. Effects on exercise performance. *Journal of Applied Physiology* 1991; 70:695–700.
187. Caidahl K, Ede'n S, Bengtsson B-A. Cardiovascular and renal effects of growth hormone. *Clinical Endocrinology* 1994 40 393–400.
188. Fort S, Weaver J, Monson J, Mills P. The effects of low dose recombinant human growth hormone on cardiovascular structure and function in hypopituitary adults growth hormonedeficient adults. *Endocrinology and Metabolism* 1995; 2:119–126.
189. Whitehead H, Boreman C, McIlrath E, Sheridan B, Kennedy L, Atkinson A, Hadden D. Growth hormone treatment of adults with growth hormone deficiency: results of a 13-month placebo-controlled cross-over study. *Clinical Endocrinology* 1992; 36:45–52.
190. Jørgensen J, Vahl N, Hansen T, Thuesen L, Hagen C, Christiansen J. Growth hormone versus placebo treatment for one year in growth hormone deficient adults: increase in exercise capacity and normalisation of body composition. *Clinical Endocrinology* 1996; 45:681–688.
191. Woodhouse L, Asa S, Thomas S, Ezzat S. Measures of submaximal aerobic performance evaluate and predict functional response to growth hormone (GH) treatment in GH- efficient adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:4570–4577.
192. Bollerslev J, Hallen J, Fougner K, Jorgensen A, Kristo C, Fagertun H, Gudmundsen O, Burman P, Schreiner T. Low-dose GH improves exercise capacity in adults with

- GH deficiency: effects of a 22-month placebo-controlled, crossover study. *European Journal of Endocrinology* 2005; 153:379–387.
193. Khan AS, Sane DC, Wannenburg T, Sonntaga WE. Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging cardiovascular system. *Cardiovascular Research* 2002; 54:25–35.
 194. Bates AS, Vant Hoff W, Jones PJ, Clayton RN. The effect of hypopituitarism on life expectancy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81: 1169–1172.
 195. Bulow B, Hagmar L, Mikoczy Z, Nordstrom CH, Erfurth EM. Increased cerebrovascular mortality in patients with hypopituitarism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 46:75–81.
 196. Bates AS, Bullivant B, Sheppard MC, Steward PM. Life expectancy following surgery for pituitary tumours. *Clinical Endocrinology* 1999; 50:315–319.
 197. Svensson J, Bengtsson BA, Rosen T, Oden A, Johannsson G. Malignant disease and cardiovascular morbidity in hypopituitary adults with or without growth hormone replacement therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89:3306–3312.
 198. Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, Sheppard MC, Steward PM. Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midland Prospective Hypopituitarism Group. *Lancet* 2001; 357:425–431.
 199. Bengtsson BA. Untreated growth hormone deficiency explains premature mortality in patients with hypopituitarism. *Growth Hormone and IGF Research* 1998; 8:480–485.
 200. Thuesen L, Jorgensen JO, Muller JR, Kristensen BO, Skakkebaek NE, Vahl N, Christiansen JS. Short and long-term cardiovascular effects of growth hormone therapy in growth hormone deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 41:615–620
 201. Hansen AP, Johansen K. Diurnal patterns of blood glucose, serum free fatty acids, insulin, glucagon and growth hormone in normals and juvenile diabetics. *Diabetologia* 1970; 6:27-33
 202. Asplin CM, Faria AC, Carlsen EC, Vaccaro VA, Barr RE, Iranmanesh A, Lee MM, Veldhuis JD, Evans WS. Alterations in the pulsatile mode of growth hormone release in men and women with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69:239 –245
 203. Amiel SA, Sherwin RS, Hintz RL, Gertner JM, Press CM, Tamborlane WV. Effect of diabetes and its control on insulin-like growth factors in the young subject with type I diabetes. *Diabetes* 1984; 33:1175–1179
 204. Boni-Schnetzler M, Schmid C, Meier PJ, Froesch ER. Insulin regulates insulin-like growth factor I mRNA in rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1991; 260:846–851
 205. Russell-Jones DL, Rattray M, Wilson VJ, Jones RH, Sonksen PH, Thomas CR. Intraperitoneal insulin is more potent than subcutaneous insulin at restoring hepatic insulin-like growth factor-I mRNA levels in the diabetic rat: a functional role for the portal vascular link. *J Mol Endocrinol* 1992; 9:257–263
 206. Christ ER, Simpson HL, Breen L, Sonksen PH, Russell-Jones DL, Kohner EM. The effect of growth hormone (GH) replacement therapy in adult patients with type 1 diabetes mellitus and GH deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58:309–315
 207. Press M, Tamborlane WV, Sherwin RS. Importance of raised growth hormone levels in mediating the metabolic derangements of diabetes. *N Engl J Med* 1984; 310:810–815

208. Clemmons DR, Moses AC, McKay MJ, Sommer A, Rosen DM, Ruckle J. The combination of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding protein-3 reduces insulin requirements in insulin-dependent type 1 diabetes: evidence for in vivo biological activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1518–1524.
209. Monson JP. Long-term experience with GH replacement therapy: efficacy and safety. *European Journal of Endocrinology* 2003; 148:9–14
210. Lamberts SW, De Herder WW, Van Der Lely AJ. Pituitary insufficiency. *Lancet* 1998; 352:127–134.
211. Carroll PV, Christ ER, Sonksen PH. Growth hormone replacement in adults with growth hormone deficiency: assessment of current knowledge. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2000; 11:231–238.
212. Cuneo RC, Salomon F, McGauley GA, Sonksen PH. The growth hormone deficiency syndrome in adults. *Clinical Endocrinology* 1992; 37:387–397.
213. Cuocolo A, Nicolai E, Colao A, Longobardi S, Cardei S, Fazio S et al. Improved left ventricular function after growth hormone replacement in patients with hypopituitarism: assessment with radionuclide angiography. *European Journal of Nuclear Medicine* 1996; 23:390–394.
214. Colao A, Cuocolo A, Di Somma C, Cerbone G, Della Morte AM, Nicolai E et al. Impaired cardiac performance in elderly patients with growth hormone deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:3950–3955.
215. Wagner JK, Eblé A, Cogan JD, Prince MA, Phillips JA 3rd, Mullis PE. Allelic variations in the human growth hormone-1 gene promoter of growth hormone-deficient patients and normal controls. *Eur J Endocrinol* 1997; 137(5): 474–81.
216. DeNoto FM, Moore DD, Goodman HM. Human growth hormone DNA sequence and mRNA structure: possible alternative splicing. *Nucleic Acids Res* 1981; 9(15): 3719–30.
217. Giordano M, Marchetti C, Chiorboli E, Bona G, Momigliano Richiardi P. Evidence for gene conversion in the generation of extensive polymorphism in the promoter of the growth hormone gene. *Hum Genet* 1997; 100(2): 249–55.
218. Audi L, Esteban C, Carrascosa A, Espadero R, Perez-Arroyo A, Arjona R et al. Exon 3-deleted/full-length growth hormone receptor polymorphism genotype frequencies in Spanish short small-for-gestational-age (SGA) children and adolescents (n = 247) and in an adult control population (n = 289) Show increased fl/fl in short SGA. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12): 5038–43.
219. Sobrier ML, Duquesnoy P, Duriez B, Amselem S, Goossens M. Expression and binding properties of two isoforms of the growth hormone receptor. *FEBS Lett* 1993; 319:16–20.
220. K. Sorensen, L. Aksglaede, T. Munch-Andersen, N.J. Aachmann-Andersen, H. Leffers, J.W. Helge, L. Hilsted, A. Juul. Impact of the Growth Hormone Receptor Exon 3 Deletion Gene Polymorphism on Glucose Metabolism, Lipids, and Insulin-Like Growth Factor-I Levels during Puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(8):2966–2969
221. A. Bianchi, A. Giustina, V. Cimino, R. Pola, F. Angelini, A. Pontecorvi, L. De Marinis. Influence of Growth Hormone Receptor d3 and Full-Length Isoforms on Biochemical Treatment Outcomes in Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(6):2015–2022.
222. E.J.L. Barbosa, J. Palming, C.A.M. Glad, H. Filipsson, J. Koranyi, B.A. Bengtsson, L.M.S. Carlsson, C.L. Boguszewski, G. Johannsson. Influence of the Exon 3-Deleted/Full-Length Growth Hormone (GH) Receptor Polymorphism on the

Response to GH Replacement Therapy in Adults with Severe GH Deficiency *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(2):639–644.

HAM VERİLER

Crosstabs Kontrol vs DM

Case Processing Summary						
	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Grup * Exon3	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * fl allele	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * d3 allele	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Obezite(30kg/m2)	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * FazlaKilolu(25kg/m2)	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Sigara	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Alkol	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Hipertansiyon	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%

Grup * Exon3

Crosstab						
			Exon3			Total
			fl/fl	d3/d3	fl/d3	
Grup	Kontrol	Count	42	35	19	96
		% within Grup	43,8%	36,5%	19,8%	100,0%
	Diyabetik	Count	49	34	7	90
		% within Grup	54,4%	37,8%	7,8%	100,0%
Total	Count	91	69	26	186	
	% within Grup	48,9%	37,1%	14,0%	100,0%	

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,904(a)	2	,052
Likelihood Ratio	6,114	2	,047
Linear-by-Linear Association	4,700	1	,030
N of Valid Cases	186		
a 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,58.			

Risk Estimate	
	Value
Odds Ratio for Grup (Kontrol / Diyabetik)	(a)
a Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.	

Crosstabs Kontrol vs KAH

Case Processing Summary						
	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Grup * Exon3	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * fl allele	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * d3 allele	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Obezite(30kg/m2)	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * FazlaKilolu(25kg/m2)	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Sigara	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Alkol	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%
Grup * Hipertansiyon	186	100,0%	0	,0%	186	100,0%

Grup * Exon3

Crosstab						
			Exon3			Total
			fl/fl	d3/d3	fl/d3	
Grup	Kontrol	Count	42	35	19	96
		% within Grup	43,8%	36,5%	19,8%	100,0%
	KAH (DM + nonDM)	Count	40	41	9	90
		% within Grup	44,4%	45,6%	10,0%	100,0%
Total	Count	82	76	28	186	
	% within Grup	44,1%	40,9%	15,1%	100,0%	

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,904(a)	2	,142
Likelihood Ratio	3,981	2	,137
Linear-by-Linear Association	1,002	1	,317
N of Valid Cases	186		

a 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13,55.

Risk Estimate	
	Value
Odds Ratio for Grup (Kontrol / KAH (DM + nonDM))	(a)
a Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.	

Oneway Kontrol

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
BMI	fl/fl	42	26,4256	3,45829	,53363	25,3479	27,5033	16,65	38,67
	d3/d3	35	25,5400	4,55934	,77067	23,9738	27,1061	9,98	38,06
	fl/d3	19	25,0293	1,39836	,32081	24,3553	25,7033	21,22	27,29
	Total	96	25,8263	3,64525	,37204	25,0877	26,5649	9,98	38,67
Kolesterol	fl/fl	42	179,9762	28,01436	4,32271	171,2463	188,7061	124,00	230,00
	d3/d3	35	177,8286	24,67612	4,17103	169,3520	186,3051	120,00	223,00
	fl/d3	19	173,8947	27,65842	6,34528	160,5638	187,2257	114,00	221,00
	Total	96	177,9896	26,58353	2,71317	172,6033	183,3759	114,00	230,00
Trigliserid	fl/fl	42	125,7143	60,57138	9,34637	106,8389	144,5897	37,00	250,00
	d3/d3	35	116,5429	49,91955	8,43794	99,3949	133,6908	45,00	225,00
	fl/d3	19	122,3158	48,72263	11,17774	98,8322	145,7993	69,00	226,00
	Total	96	121,6979	54,24081	5,53593	110,7077	132,6881	37,00	250,00
HDL-Col	fl/fl	42	50,0238	12,76139	1,96913	46,0471	54,0005	26,00	79,00
	d3/d3	35	49,7143	15,31161	2,58813	44,4546	54,9740	27,00	92,00
	fl/d3	19	48,6842	8,51830	1,95423	44,5785	52,7899	35,00	62,00
	Total	96	49,6458	12,96877	1,32362	47,0181	52,2736	26,00	92,00
LDL-Col	fl/fl	42	102,4524	23,94527	3,69483	94,9905	109,9143	40,00	162,00
	d3/d3	35	98,5429	23,44749	3,96335	90,4884	106,5974	37,00	150,00
	fl/d3	19	102,2105	23,35375	5,35772	90,9544	113,4667	55,00	138,00
	Total	96	100,9792	23,47360	2,39576	96,2230	105,7354	37,00	162,00
VLDL-Col	fl/fl	42	27,9286	18,61863	2,87292	22,1266	33,7305	7,00	93,00
	d3/d3	35	28,6000	17,15192	2,89920	22,7081	34,4919	9,00	74,00
	fl/d3	19	24,4211	10,39399	2,38455	19,4113	29,4308	14,00	45,00
	Total	96	27,4792	16,66700	1,70107	24,1021	30,8562	7,00	93,00
HbA1c	fl/fl	42	5,8657	,44929	,06933	5,7257	6,0057	4,82	6,45
	d3/d3	35	6,0054	,40331	,06817	5,8669	6,1440	4,98	6,48
	fl/d3	19	5,8537	,52507	,12046	5,6006	6,1068	4,82	6,43
	Total	96	5,9143	,44990	,04592	5,8231	6,0054	4,82	6,48
Glukoz	fl/fl	42	95,8095	9,14714	1,41143	92,9591	98,6600	78,00	112,00
	d3/d3	35	93,2571	10,11214	1,70926	89,7835	96,7308	74,00	110,00
	fl/d3	19	94,9474	8,44902	1,93834	90,8751	99,0197	83,00	112,00
	Total	96	94,7083	9,35714	,95501	92,8124	96,6043	74,00	112,00
Sispress	fl/fl	42	125,83	13,230	2,041	121,71	129,96	100	170
	d3/d3	35	122,46	10,790	1,824	118,75	126,16	100	142
	fl/d3	19	124,74	11,189	2,567	119,34	130,13	100	141
	Total	96	124,39	11,969	1,222	121,96	126,81	100	170
Diapress	fl/fl	42	74,40	7,960	1,228	71,92	76,89	62	95
	d3/d3	35	75,31	7,486	1,265	72,74	77,89	60	92
	fl/d3	19	76,42	8,248	1,892	72,45	80,40	60	90

	Total	96	75,14	7,802	,796	73,55	76,72	60	95
HGHngml	fl/fl	42	1,5543	1,17723	,18165	1,1874	1,9211	,29	5,29
	d3/d3	35	1,6431	1,88252	,31820	,9965	2,2898	,30	9,82
	fl/d3	19	2,4942	2,12294	,48704	1,4710	3,5174	,41	6,98
	Total	96	1,7727	1,68872	,17235	1,4305	2,1149	,29	9,82
HGHulUml	fl/fl	42	5,4512	3,32668	,51332	4,4145	6,4879	1,88	16,01
	d3/d3	35	5,6991	5,31993	,89923	3,8717	7,5266	1,90	28,79
	fl/d3	19	8,1053	5,99991	1,37647	5,2134	10,9971	2,20	20,79
	Total	96	6,0669	4,77226	,48707	5,0999	7,0338	1,88	28,79
IGF1	fl/fl	42	493,2060	245,75747	37,92120	416,6225	569,7894	111,59	1272,78
	d3/d3	35	504,7091	209,88327	35,47675	432,6117	576,8066	229,63	1189,22
	fl/d3	19	470,0437	201,65557	46,26296	372,8488	567,2386	160,66	978,34
	Total	96	492,8156	222,91795	22,75147	447,6483	537,9830	111,59	1272,78
IGFBP3	fl/fl	42	8490,0052	2420,38669	373,47377	7735,7596	9244,2508	4762,77	15647,53
	d3/d3	35	8710,1706	2443,37705	413,00610	7870,8412	9549,5000	4493,19	14730,98
	fl/d3	19	8132,4279	2391,03698	548,54150	6979,9850	9284,8708	4948,47	15312,06
	Total	96	8499,5033	2406,56240	245,61875	8011,8885	8987,1182	4493,19	15647,53

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
LSD							
Dependent Variable	(I) Exon3	(J) Exon3	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
BMI	fl/fl	d3/d3	,88562	,83312	,291	-,7688	2,5400
		fl/d3	1,39630	1,00643	,169	-,6023	3,3949
	d3/d3	fl/fl	-,88562	,83312	,291	-2,5400	,7688
		fl/d3	,51069	1,03731	,624	-1,5492	2,5706
	fl/d3	fl/fl	-1,39630	1,00643	,169	-3,3949	,6023
		d3/d3	-,51069	1,03731	,624	-2,5706	1,5492
Kolestrol	fl/fl	d3/d3	2,14762	6,12695	,727	-10,0193	14,3145
		fl/d3	6,08145	7,40153	,413	-8,6165	20,7794
	d3/d3	fl/fl	-2,14762	6,12695	,727	-14,3145	10,0193
		fl/d3	3,93383	7,62858	,607	-11,2150	19,0827
	fl/d3	fl/fl	-6,08145	7,40153	,413	-20,7794	8,6165
		d3/d3	-3,93383	7,62858	,607	-19,0827	11,2150
Triglisericid	fl/fl	d3/d3	9,17143	12,51051	,465	-15,6720	34,0148
		fl/d3	3,39850	15,11304	,823	-26,6130	33,4100
	d3/d3	fl/fl	-9,17143	12,51051	,465	-34,0148	15,6720
		fl/d3	-5,77293	15,57666	,712	-36,7051	25,1592
	fl/d3	fl/fl	-3,39850	15,11304	,823	-33,4100	26,6130
		d3/d3	5,77293	15,57666	,712	-25,1592	36,7051
HDL-Col	fl/fl	d3/d3	,30952	2,99766	,918	-5,6432	6,2623
		fl/d3	1,33960	3,62126	,712	-5,8515	8,5307
	d3/d3	fl/fl	-,30952	2,99766	,918	-6,2623	5,6432
		fl/d3	1,03008	3,73235	,783	-6,3816	8,4418
	fl/d3	fl/fl	-1,33960	3,62126	,712	-8,5307	5,8515

		d3/d3	-1,03008	3,73235	,783	-8,4418	6,3816
LDL-Col	fl/fl	d3/d3	3,90952	5,41281	,472	-6,8393	14,6583
		fl/d3	,24185	6,53883	,971	-12,7430	13,2267
	d3/d3	fl/fl	-3,90952	5,41281	,472	-14,6583	6,8393
		fl/d3	-3,66767	6,73942	,588	-17,0508	9,7155
	fl/d3	fl/fl	-,24185	6,53883	,971	-13,2267	12,7430
		d3/d3	3,66767	6,73942	,588	-9,7155	17,0508
VLDL-Col	fl/fl	d3/d3	-,67143	3,83851	,862	-8,2939	6,9511
		fl/d3	3,50752	4,63702	,451	-5,7007	12,7157
	d3/d3	fl/fl	,67143	3,83851	,862	-6,9511	8,2939
		fl/d3	4,17895	4,77927	,384	-5,3117	13,6696
	fl/d3	fl/fl	-3,50752	4,63702	,451	-12,7157	5,7007
		d3/d3	-4,17895	4,77927	,384	-13,6696	5,3117
HbA1c	fl/fl	d3/d3	-,13971	,10282	,177	-,3439	,0645
		fl/d3	,01203	,12421	,923	-,2346	,2587
	d3/d3	fl/fl	,13971	,10282	,177	-,0645	,3439
		fl/d3	,15174	,12802	,239	-,1025	,4060
	fl/d3	fl/fl	-,01203	,12421	,923	-,2587	,2346
		d3/d3	-,15174	,12802	,239	-,4060	,1025
Glukoz	fl/fl	d3/d3	2,55238	2,14804	,238	-1,7132	6,8180
		fl/d3	,86216	2,59490	,740	-4,2908	6,0151
	d3/d3	fl/fl	-2,55238	2,14804	,238	-6,8180	1,7132
		fl/d3	-1,69023	2,67450	,529	-7,0013	3,6208
	fl/d3	fl/fl	-,86216	2,59490	,740	-6,0151	4,2908
		d3/d3	1,69023	2,67450	,529	-3,6208	7,0013
Sispress	fl/fl	d3/d3	3,376	2,746	,222	-2,08	8,83
		fl/d3	1,096	3,317	,742	-5,49	7,68
	d3/d3	fl/fl	-3,376	2,746	,222	-8,83	2,08
		fl/d3	-2,280	3,419	,507	-9,07	4,51
	fl/d3	fl/fl	-1,096	3,317	,742	-7,68	5,49
		d3/d3	2,280	3,419	,507	-4,51	9,07
Diapress	fl/fl	d3/d3	-,910	1,796	,614	-4,48	2,66
		fl/d3	-2,016	2,170	,355	-6,33	2,29
	d3/d3	fl/fl	,910	1,796	,614	-2,66	4,48
		fl/d3	-1,107	2,236	,622	-5,55	3,33
	fl/d3	fl/fl	2,016	2,170	,355	-2,29	6,33
		d3/d3	1,107	2,236	,622	-3,33	5,55
HGHngml	fl/fl	d3/d3	-,08886	,38152	,816	-,8465	,6688
		fl/d3	-,93992(*)	,46089	,044	-1,8552	-,0247
	d3/d3	fl/fl	,08886	,38152	,816	-,6688	,8465
		fl/d3	-,85107	,47503	,076	-1,7944	,0922
	fl/d3	fl/fl	,93992(*)	,46089	,044	,0247	1,8552
		d3/d3	,85107	,47503	,076	-,0922	1,7944
HGHuUml	fl/fl	d3/d3	-,24795	1,07819	,819	-2,3890	1,8931
		fl/d3	-2,65407(*)	1,30249	,044	-5,2406	-,0676

	d3/d3	fl/fl	,24795	1,07819	,819	-1,8931	2,3890
		fl/d3	-2,40612	1,34245	,076	-5,0720	,2597
	fl/d3	fl/fl	2,65407(*)	1,30249	,044	,0676	5,2406
		d3/d3	2,40612	1,34245	,076	-,2597	5,0720
IGF1	fl/fl	d3/d3	-11,50319	51,48370	,824	-113,7396	90,7332
		fl/d3	23,16227	62,19372	,710	-100,3421	146,6667
	d3/d3	fl/fl	11,50319	51,48370	,824	-90,7332	113,7396
		fl/d3	34,66546	64,10164	,590	-92,6277	161,9586
	fl/d3	fl/fl	-23,16227	62,19372	,710	-146,6667	100,3421
		d3/d3	-34,66546	64,10164	,590	-161,9586	92,6277
IGFBP3	fl/fl	d3/d3	-220,16533	554,59133	,692	-1321,4738	881,1431
		fl/d3	357,57734	669,96151	,595	-972,8334	1687,9881
	d3/d3	fl/fl	220,16533	554,59133	,692	-881,1431	1321,4738
		fl/d3	577,74268	690,51392	,405	-793,4811	1948,9665
	fl/d3	fl/fl	-357,57734	669,96151	,595	-1687,9881	972,8334
		d3/d3	-577,74268	690,51392	,405	-1948,9665	793,4811
* The mean difference is significant at the .05 level.							

Oneway DM

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
BMI	fl/fl	49	32,5895	7,04224	1,00603	30,5668	34,6123	21,64	64,46
	d3/d3	34	32,0231	4,34754	,74560	30,5062	33,5400	23,71	41,79
	fl/d3	7	34,3280	9,99549	3,77794	25,0838	43,5723	21,37	49,37
	Total	90	32,5108	6,39098	,67367	31,1722	33,8493	21,37	64,46
Kolesterol	fl/fl	49	198,1633	28,05526	4,00789	190,1049	206,2217	149,00	269,00
	d3/d3	34	192,0294	32,03832	5,49453	180,8507	203,2081	120,00	251,00
	fl/d3	7	187,8571	53,02021	20,03976	138,8216	236,8927	140,00	289,00
	Total	90	195,0444	31,74120	3,34582	188,3964	201,6925	120,00	289,00
Trigliserid	fl/fl	49	166,6939	92,17877	13,16840	140,2170	193,1707	57,00	640,00
	d3/d3	34	158,8824	43,40630	7,44412	143,7372	174,0275	72,00	297,00
	fl/d3	7	163,2857	151,67698	57,32851	23,0079	303,5635	51,00	500,00
	Total	90	163,4778	82,74018	8,72158	146,1482	180,8074	51,00	640,00
HDL-Col	fl/fl	49	46,4082	10,56314	1,50902	43,3741	49,4423	29,00	84,00
	d3/d3	34	45,3235	11,47255	1,96753	41,3206	49,3265	22,00	74,00
	fl/d3	7	53,4286	16,13337	6,09784	38,5077	68,3495	35,00	77,00
	Total	90	46,5444	11,43832	1,20570	44,1487	48,9402	22,00	84,00
LDL-Col	fl/fl	49	118,8980	25,46832	3,63833	111,5826	126,2133	65,00	182,00
	d3/d3	34	113,0882	31,46366	5,39597	102,1100	124,0664	31,00	168,00
	fl/d3	7	104,0000	34,79464	13,15114	71,8203	136,1797	64,00	166,00

	Total	90	115,5444	28,59173	3,01383	109,5560	121,5329	31,00	182,00
VLDL-Col	fl/fl	49	30,3673	11,37925	1,62561	27,0988	33,6358	11,00	69,00
	d3/d3	34	31,6471	20,03615	3,43617	24,6561	38,6380	13,00	137,00
	fl/d3	7	30,2857	26,29775	9,93961	5,9644	54,6071	10,00	88,00
	Total	90	30,8444	16,30049	1,71822	27,4304	34,2585	10,00	137,00
HbA1c	fl/fl	49	7,7102	1,56914	,22416	7,2595	8,1609	5,60	14,30
	d3/d3	34	8,1529	1,62074	,27796	7,5874	8,7184	6,10	14,30
	fl/d3	7	7,1000	1,50665	,56946	5,7066	8,4934	5,50	9,50
	Total	90	7,8300	1,59518	,16815	7,4959	8,1641	5,50	14,30
Glukoz	fl/fl	49	177,0204	54,23118	7,74731	161,4434	192,5974	83,00	369,00
	d3/d3	34	195,2941	60,33770	10,34783	174,2413	216,3469	104,00	397,00
	fl/d3	7	148,8571	92,50663	34,96422	63,3028	234,4115	77,00	351,00
	Total	90	181,7333	60,66686	6,39485	169,0269	194,4398	77,00	397,00
Sispress	fl/fl	49	140,63	21,924	3,132	134,34	146,93	100	190
	d3/d3	34	131,32	16,298	2,795	125,64	137,01	100	180
	fl/d3	7	129,29	24,226	9,157	106,88	151,69	100	170
	Total	90	136,23	20,517	2,163	131,94	140,53	100	190
Diapress	fl/fl	49	85,88	12,017	1,717	82,43	89,33	70	120
	d3/d3	34	82,65	10,316	1,769	79,05	86,25	70	110
	fl/d3	7	77,86	9,940	3,757	68,66	87,05	60	90
	Total	90	84,03	11,384	1,200	81,65	86,42	60	120
HGHngml	fl/fl	49	1,0851	1,71940	,24563	,5912	1,5790	-,09	11,44
	d3/d3	34	,9197	,72958	,12512	,6651	1,1743	-,12	2,84
	fl/d3	7	,2371	,45114	,17051	-,1801	,6544	-,13	1,20
	Total	90	,9567	1,36229	,14360	,6713	1,2420	-,13	11,44
HGHuUml	fl/fl	49	4,1231	4,86030	,69433	2,7270	5,5191	,81	33,39
	d3/d3	34	3,6582	2,06509	,35416	2,9377	4,3788	,72	9,09
	fl/d3	7	1,7300	1,27389	,48149	,5518	2,9082	,70	4,45
	Total	90	3,7613	3,85117	,40595	2,9547	4,5679	,70	33,39
IGF1	fl/fl	49	502,4463	188,25417	26,89345	448,3734	556,5192	221,67	1071,18
	d3/d3	34	516,4279	152,50236	26,15394	463,2174	569,6385	193,82	825,81
	fl/d3	7	404,8943	199,79381	75,51496	220,1158	589,6727	224,99	748,22
	Total	90	500,1409	176,76464	18,63263	463,1183	537,1635	193,82	1071,18
IGFBP3	fl/fl	49	3119,4090	970,57179	138,65311	2840,6282	3398,1897	1623,74	6541,95
	d3/d3	34	3050,1841	1010,13298	173,23638	2697,7321	3402,6362	1473,97	6110,63
	fl/d3	7	3315,6286	788,86889	298,16441	2586,0465	4045,2106	1677,65	4043,90
	Total	90	3108,5189	965,96161	101,82129	2906,2021	3310,8356	1473,97	6541,95

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
LSD							
Dependent Variable	(I) Exon3	(J) Exon3	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
BMI	fl/fl	d3/d3	,56644	1,43653	,694	-2,2888	3,4217
		fl/d3	-1,73852	2,60052	,506	-6,9073	3,4303
	d3/d3	fl/fl	-,56644	1,43653	,694	-3,4217	2,2888

		fl/d3	-2,30496	2,67126	,391	-7,6144	3,0045
	fl/d3	fl/fl	1,73852	2,60052	,506	-3,4303	6,9073
		d3/d3	2,30496	2,67126	,391	-3,0045	7,6144
Kolestrol	fl/fl	d3/d3	6,13385	7,11974	,391	-8,0174	20,2851
		fl/d3	10,30612	12,88871	,426	-15,3116	35,9238
	d3/d3	fl/fl	-6,13385	7,11974	,391	-20,2851	8,0174
		fl/d3	4,17227	13,23932	,753	-22,1423	30,4869
	fl/d3	fl/fl	-10,30612	12,88871	,426	-35,9238	15,3116
		d3/d3	-4,17227	13,23932	,753	-30,4869	22,1423
Triglicerid	fl/fl	d3/d3	7,81152	18,66020	,677	-29,2776	44,9007
		fl/d3	3,40816	33,78016	,920	-63,7336	70,5499
	d3/d3	fl/fl	-7,81152	18,66020	,677	-44,9007	29,2776
		fl/d3	-4,40336	34,69910	,899	-73,3716	64,5649
	fl/d3	fl/fl	-3,40816	33,78016	,920	-70,5499	63,7336
		d3/d3	4,40336	34,69910	,899	-64,5649	73,3716
HDL-Col	fl/fl	d3/d3	1,08463	2,53939	,670	-3,9627	6,1320
		fl/d3	-7,02041	4,59701	,130	-16,1575	2,1167
	d3/d3	fl/fl	-1,08463	2,53939	,670	-6,1320	3,9627
		fl/d3	-8,10504	4,72207	,090	-17,4907	1,2806
	fl/d3	fl/fl	7,02041	4,59701	,130	-2,1167	16,1575
		d3/d3	8,10504	4,72207	,090	-1,2806	17,4907
LDL-Col	fl/fl	d3/d3	5,80972	6,37935	,365	-6,8699	18,4894
		fl/d3	14,89796	11,54841	,200	-8,0557	37,8517
	d3/d3	fl/fl	-5,80972	6,37935	,365	-18,4894	6,8699
		fl/d3	9,08824	11,86256	,446	-14,4899	32,6664
	fl/d3	fl/fl	-14,89796	11,54841	,200	-37,8517	8,0557
		d3/d3	-9,08824	11,86256	,446	-32,6664	14,4899
VLDL-Col	fl/fl	d3/d3	-1,27971	3,67717	,729	-8,5885	6,0291
		fl/d3	,08163	6,65670	,990	-13,1493	13,3125
	d3/d3	fl/fl	1,27971	3,67717	,729	-6,0291	8,5885
		fl/d3	1,36134	6,83779	,843	-12,2295	14,9522
	fl/d3	fl/fl	-,08163	6,65670	,990	-13,3125	13,1493
		d3/d3	-1,36134	6,83779	,843	-14,9522	12,2295
HbA1c	fl/fl	d3/d3	-,44274	,35372	,214	-1,1458	,2603
		fl/d3	,61020	,64033	,343	-,6625	1,8829
	d3/d3	fl/fl	,44274	,35372	,214	-,2603	1,1458
		fl/d3	1,05294	,65775	,113	-,2544	2,3603
	fl/d3	fl/fl	-,61020	,64033	,343	-1,8829	,6625
		d3/d3	-1,05294	,65775	,113	-2,3603	,2544
Glukoz	fl/fl	d3/d3	-18,27371	13,38057	,176	-44,8690	8,3216
		fl/d3	28,16327	24,22255	,248	-19,9817	76,3082
	d3/d3	fl/fl	18,27371	13,38057	,176	-8,3216	44,8690
		fl/d3	46,43697	24,88149	,065	-3,0177	95,8916
	fl/d3	fl/fl	-28,16327	24,22255	,248	-76,3082	19,9817
		d3/d3	-46,43697	24,88149	,065	-95,8916	3,0177

Sispress	fl/fl	d3/d3	9,309(*)	4,500	,042	,37	18,25
		fl/d3	11,347	8,146	,167	-4,84	27,54
	d3/d3	fl/fl	-9,309(*)	4,500	,042	-18,25	-,37
		fl/d3	2,038	8,367	,808	-14,59	18,67
	fl/d3	fl/fl	-11,347	8,146	,167	-27,54	4,84
		d3/d3	-2,038	8,367	,808	-18,67	14,59
Diapress	fl/fl	d3/d3	3,230	2,514	,202	-1,77	8,23
		fl/d3	8,020	4,551	,082	-1,02	17,07
	d3/d3	fl/fl	-3,230	2,514	,202	-8,23	1,77
		fl/d3	4,790	4,675	,308	-4,50	14,08
	fl/d3	fl/fl	-8,020	4,551	,082	-17,07	1,02
		d3/d3	-4,790	4,675	,308	-14,08	4,50
HGHngml	fl/fl	d3/d3	,16540	,30334	,587	-,4375	,7683
		fl/d3	,84796	,54914	,126	-,2435	1,9394
	d3/d3	fl/fl	-,16540	,30334	,587	-,7683	,4375
		fl/d3	,68256	,56408	,230	-,4386	1,8037
	fl/d3	fl/fl	-,84796	,54914	,126	-1,9394	,2435
		d3/d3	-,68256	,56408	,230	-1,8037	,4386
HGHulUml	fl/fl	d3/d3	,46483	,85760	,589	-1,2397	2,1694
		fl/d3	2,39306	1,55249	,127	-,6927	5,4788
	d3/d3	fl/fl	-,46483	,85760	,589	-2,1694	1,2397
		fl/d3	1,92824	1,59472	,230	-1,2414	5,0979
	fl/d3	fl/fl	-2,39306	1,55249	,127	-5,4788	,6927
		d3/d3	-1,92824	1,59472	,230	-5,0979	1,2414
IGF1	fl/fl	d3/d3	-13,98161	39,37978	,723	-92,2532	64,2900
		fl/d3	97,55204	71,28837	,175	-44,1413	239,2454
	d3/d3	fl/fl	13,98161	39,37978	,723	-64,2900	92,2532
		fl/d3	111,53366	73,22767	,131	-34,0143	257,0816
	fl/d3	fl/fl	-97,55204	71,28837	,175	-239,2454	44,1413
		d3/d3	-111,53366	73,22767	,131	-257,0816	34,0143
IGFBP3	fl/fl	d3/d3	69,22486	217,51595	,751	-363,1116	501,5614
		fl/d3	-196,21959	393,76447	,620	-978,8691	586,4299
	d3/d3	fl/fl	-69,22486	217,51595	,751	-501,5614	363,1116
		fl/d3	-265,44445	404,47624	,513	-1069,3848	538,4959
	fl/d3	fl/fl	196,21959	393,76447	,620	-586,4299	978,8691
		d3/d3	265,44445	404,47624	,513	-538,4959	1069,3848
BUN	fl/fl	d3/d3	-,50432	1,56525	,748	-3,6154	2,6068
		fl/d3	-1,28163	2,83353	,652	-6,9136	4,3503
	d3/d3	fl/fl	,50432	1,56525	,748	-2,6068	3,6154
		fl/d3	-,77731	2,91061	,790	-6,5625	5,0078
	fl/d3	fl/fl	1,28163	2,83353	,652	-4,3503	6,9136
		d3/d3	,77731	2,91061	,790	-5,0078	6,5625
Kreatin	fl/fl	d3/d3	,21354	,22361	,342	-,2309	,6580
		fl/d3	,23245	,40480	,567	-,5721	1,0370
	d3/d3	fl/fl	-,21354	,22361	,342	-,6580	,2309

		fl/d3	,01891	,41581	,964	-,8076	,8454
	fl/d3	fl/fl	-,23245	,40480	,567	-1,0370	,5721
		d3/d3	-,01891	,41581	,964	-,8454	,8076
Albumin	fl/fl	d3/d3	,04604	,08464	,588	-,1222	,2143
		fl/d3	,10612	,15322	,490	-,1984	,4107
	d3/d3	fl/fl	-,04604	,08464	,588	-,2143	,1222
		fl/d3	,06008	,15738	,704	-,2527	,3729
	fl/d3	fl/fl	-,10612	,15322	,490	-,4107	,1984
		d3/d3	-,06008	,15738	,704	-,3729	,2527

* The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway KKH

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
BMI	fl/fl	40	27,5688	3,31654	,52439	26,5081	28,6294	21,51	35,20
	d3/d3	41	27,4260	3,14843	,49170	26,4322	28,4198	20,76	36,20
	fl/d3	9	25,6251	2,12778	,70926	23,9896	27,2607	22,39	29,38
	Total	90	27,3094	3,16313	,33342	26,6469	27,9719	20,76	36,20
Kolesterol	fl/fl	40	203,1150	39,09011	6,18069	190,6134	215,6166	117,00	316,00
	d3/d3	41	191,2683	30,61129	4,78068	181,6062	200,9304	135,00	255,00
	fl/d3	9	207,0000	27,64055	9,21352	185,7536	228,2464	167,00	258,00
	Total	90	198,1067	34,64425	3,65182	190,8506	205,3628	117,00	316,00
Triglisericid	fl/fl	40	148,0000	36,14075	5,71435	136,4416	159,5584	94,00	257,00
	d3/d3	41	162,3415	55,16231	8,61491	144,9301	179,7528	38,00	325,00
	fl/d3	9	156,1111	45,81606	15,27202	120,8938	191,3285	101,00	243,00
	Total	90	155,3444	46,64211	4,91651	145,5754	165,1134	38,00	325,00
HDL-Col	fl/fl	40	41,1250	19,01307	3,00623	35,0443	47,2057	22,00	142,00
	d3/d3	41	47,6585	41,58402	6,49433	34,5330	60,7841	26,00	280,00
	fl/d3	9	43,0000	5,87367	1,95789	38,4851	47,5149	31,00	53,00
	Total	90	44,2889	30,79918	3,24652	37,8381	50,7397	22,00	280,00
LDL-Col	fl/fl	40	129,9400	38,85007	6,14273	117,5151	142,3649	42,00	240,00
	d3/d3	41	119,5512	35,25019	5,50515	108,4249	130,6776	43,00	191,00
	fl/d3	9	126,9778	17,50441	5,83480	113,5227	140,4329	103,00	153,00
	Total	90	124,9111	35,67108	3,76006	117,4399	132,3823	42,00	240,00
VLDL-Col	fl/fl	40	39,9450	29,68660	4,69386	30,4508	49,4392	12,00	170,00
	d3/d3	41	38,9366	30,27462	4,72810	29,3807	48,4924	8,00	177,00
	fl/d3	9	31,0222	9,34101	3,11367	23,8421	38,2024	20,00	45,00
	Total	90	38,5933	28,50674	3,00487	32,6227	44,5640	8,00	177,00
HbA1c	fl/fl	40	7,9550	4,58252	,72456	6,4894	9,4206	5,40	35,00
	d3/d3	41	8,8990	8,39702	1,31139	6,2486	11,5495	5,30	56,00
	fl/d3	9	8,6111	2,11273	,70424	6,9871	10,2351	6,30	12,90

	Total	90	8,4507	6,44195	,67904	7,1014	9,7999	5,30	56,00
Glukoz	fl/fl	40	137,2958	44,74604	7,07497	122,9853	151,6062	84,00	248,00
	d3/d3	41	132,1210	64,03688	10,00088	111,9084	152,3335	73,00	362,00
	fl/d3	9	145,0056	48,23955	16,07985	107,9254	182,0858	94,00	251,00
	Total	90	135,7093	54,27125	5,72069	124,3424	147,0762	73,00	362,00
Sispress	fl/fl	40	140,28	15,836	2,504	135,21	145,34	100	172
	d3/d3	41	144,51	23,493	3,669	137,10	151,93	89	210
	fl/d3	9	152,11	16,981	5,660	139,06	165,16	130	180
	Total	90	143,39	19,912	2,099	139,22	147,56	89	210
Diapress	fl/fl	40	82,28	11,243	1,778	78,68	85,87	50	110
	d3/d3	41	82,29	9,796	1,530	79,20	85,38	55	100
	fl/d3	9	85,33	13,388	4,463	75,04	95,62	73	110
	Total	90	82,59	10,746	1,133	80,34	84,84	50	110
HGHngml	fl/fl	40	1,5145	1,32459	,20944	1,0909	1,9381	-,12	7,28
	d3/d3	41	1,7932	1,71698	,26815	1,2512	2,3351	-,12	7,22
	fl/d3	9	2,0878	2,82222	,94074	-,0816	4,2571	-,09	8,82
	Total	90	1,6988	1,68654	,17778	1,3455	2,0520	-,12	8,82
HGHulUml	fl/fl	40	5,3373	3,74082	,59148	4,1409	6,5336	,72	21,62
	d3/d3	41	6,1251	4,85204	,75776	4,5936	7,6566	,72	21,46
	fl/d3	9	6,9589	7,97684	2,65895	,8273	13,0904	,81	25,99
	Total	90	5,8583	4,76548	,50233	4,8602	6,8564	,72	25,99
IGF1	fl/fl	40	260,7663	156,49801	24,74451	210,7158	310,8167	-1,81	681,24
	d3/d3	41	284,1729	198,87074	31,05839	221,4016	346,9443	45,94	894,12
	fl/d3	9	324,6844	186,90141	62,30047	181,0193	468,3496	140,10	701,14
	Total	90	277,8211	178,93781	18,86170	240,3433	315,2989	-1,81	894,12
IGFBP3	fl/fl	40	1954,7133	1019,57856	161,20952	1628,6362	2280,7903	-53,61	4816,68
	d3/d3	41	2426,6124	1545,89633	241,42845	1938,6673	2914,5575	323,80	7536,37
	fl/d3	9	2302,6611	1575,29963	525,09988	1091,7786	3513,5436	629,31	5559,50
	Total	90	2204,4843	1343,27955	141,59410	1923,1399	2485,8288	-53,61	7536,37
BUN	fl/fl	40	24,8228	10,57182	1,67155	21,4417	28,2038	8,00	52,00
	d3/d3	41	23,9071	12,12728	1,89396	20,0792	27,7349	9,00	57,78
	fl/d3	9	32,8200	19,71616	6,57205	17,6648	47,9752	13,00	64,51
	Total	90	25,2053	12,51885	1,31960	22,5833	27,8274	8,00	64,51
Kreatin	fl/fl	40	1,0915	,38830	,06140	,9673	1,2157	,55	2,33
	d3/d3	41	1,1076	,60063	,09380	,9180	1,2971	,59	3,40
	fl/d3	9	1,1344	,42273	,14091	,8095	1,4594	,70	2,12
	Total	90	1,1031	,49441	,05212	,9996	1,2067	,55	3,40
Albumin	fl/fl	40	3,5488	,71901	,11368	3,3188	3,7787	1,20	4,60
	d3/d3	41	3,7885	,65373	,10210	3,5822	3,9949	1,90	4,80
	fl/d3	9	3,7978	,46612	,15537	3,4395	4,1561	3,13	4,40
	Total	90	3,6829	,67283	,07092	3,5420	3,8238	1,20	4,80

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons						
LSD						
Dependent Variable	(I) Exon3	(J) Exon3	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval

						Lower Bound	Upper Bound
BMI	fl/fl	d3/d3	,14276	,69942	,839	-1,2474	1,5329
		fl/d3	1,94362	1,16109	,098	-,3642	4,2514
	d3/d3	fl/fl	-,14276	,69942	,839	-1,5329	1,2474
		fl/d3	1,80087	1,15849	,124	-,5017	4,1035
	fl/d3	fl/fl	-1,94362	1,16109	,098	-4,2514	,3642
		d3/d3	-1,80087	1,15849	,124	-4,1035	,5017
Kolestrol	fl/fl	d3/d3	11,84671	7,65375	,125	-3,3660	27,0594
		fl/d3	-3,88500	12,70576	,761	-29,1391	21,3691
	d3/d3	fl/fl	-11,84671	7,65375	,125	-27,0594	3,3660
		fl/d3	-15,73171	12,67727	,218	-40,9292	9,4657
	fl/d3	fl/fl	3,88500	12,70576	,761	-21,3691	29,1391
		d3/d3	15,73171	12,67727	,218	-9,4657	40,9292
Triglicerid	fl/fl	d3/d3	-14,34146	10,37065	,170	-34,9543	6,2713
		fl/d3	-8,11111	17,21600	,639	-42,3298	26,1076
	d3/d3	fl/fl	14,34146	10,37065	,170	-6,2713	34,9543
		fl/d3	6,23035	17,17740	,718	-27,9116	40,3723
	fl/d3	fl/fl	8,11111	17,21600	,639	-26,1076	42,3298
		d3/d3	-6,23035	17,17740	,718	-40,3723	27,9116
HDL-Col	fl/fl	d3/d3	-6,53354	6,88680	,345	-20,2218	7,1547
		fl/d3	-1,87500	11,43257	,870	-24,5985	20,8485
	d3/d3	fl/fl	6,53354	6,88680	,345	-7,1547	20,2218
		fl/d3	4,65854	11,40693	,684	-18,0140	27,3310
	fl/d3	fl/fl	1,87500	11,43257	,870	-20,8485	24,5985
		d3/d3	-4,65854	11,40693	,684	-27,3310	18,0140
LDL-Col	fl/fl	d3/d3	10,38878	7,93885	,194	-5,3905	26,1681
		fl/d3	2,96222	13,17904	,823	-23,2326	29,1570
	d3/d3	fl/fl	-10,38878	7,93885	,194	-26,1681	5,3905
		fl/d3	-7,42656	13,14949	,574	-33,5626	18,7095
	fl/d3	fl/fl	-2,96222	13,17904	,823	-29,1570	23,2326
		d3/d3	7,42656	13,14949	,574	-18,7095	33,5626
VLDL-Col	fl/fl	d3/d3	1,00841	6,38136	,875	-11,6752	13,6921
		fl/d3	8,92278	10,59350	,402	-12,1330	29,9785
	d3/d3	fl/fl	-1,00841	6,38136	,875	-13,6921	11,6752
		fl/d3	7,91436	10,56975	,456	-13,0941	28,9229
	fl/d3	fl/fl	-8,92278	10,59350	,402	-29,9785	12,1330
		d3/d3	-7,91436	10,56975	,456	-28,9229	13,0941
HbA1c	fl/fl	d3/d3	-,94402	1,44442	,515	-3,8150	1,9269
		fl/d3	-,65611	2,39784	,785	-5,4221	4,1099
	d3/d3	fl/fl	,94402	1,44442	,515	-1,9269	3,8150
		fl/d3	,28791	2,39247	,904	-4,4674	5,0432
	fl/d3	fl/fl	,65611	2,39784	,785	-4,1099	5,4221
		d3/d3	-,28791	2,39247	,904	-5,0432	4,4674
Glukoz	fl/fl	d3/d3	5,17477	12,16628	,672	-19,0070	29,3566
		fl/d3	-7,70981	20,19686	,704	-47,8533	32,4336

	d3/d3	fl/fl	-5,17477	12,16628	,672	-29,3566	19,0070
		fl/d3	-12,88458	20,15157	,524	-52,9380	27,1688
	fl/d3	fl/fl	7,70981	20,19686	,704	-32,4336	47,8533
		d3/d3	12,88458	20,15157	,524	-27,1688	52,9380
Sispress	fl/fl	d3/d3	-4,237	4,404	,339	-12,99	4,52
		fl/d3	-11,836	7,311	,109	-26,37	2,69
	d3/d3	fl/fl	4,237	4,404	,339	-4,52	12,99
		fl/d3	-7,599	7,294	,300	-22,10	6,90
	fl/d3	fl/fl	11,836	7,311	,109	-2,69	26,37
		d3/d3	7,599	7,294	,300	-6,90	22,10
Diapress	fl/fl	d3/d3	-,018	2,407	,994	-4,80	4,77
		fl/d3	-3,058	3,995	,446	-11,00	4,88
	d3/d3	fl/fl	,018	2,407	,994	-4,77	4,80
		fl/d3	-3,041	3,986	,448	-10,96	4,88
	fl/d3	fl/fl	3,058	3,995	,446	-4,88	11,00
		d3/d3	3,041	3,986	,448	-4,88	10,96
HGHngml	fl/fl	d3/d3	-,27867	,37678	,462	-1,0276	,4702
		fl/d3	-,57328	,62548	,362	-1,8165	,6699
	d3/d3	fl/fl	,27867	,37678	,462	-,4702	1,0276
		fl/d3	-,29461	,62408	,638	-1,5350	,9458
	fl/d3	fl/fl	,57328	,62548	,362	-,6699	1,8165
		d3/d3	,29461	,62408	,638	-,9458	1,5350
HGHulUml	fl/fl	d3/d3	-,78787	1,06462	,461	-2,9039	1,3282
		fl/d3	-1,62164	1,76734	,361	-5,1344	1,8911
	d3/d3	fl/fl	,78787	1,06462	,461	-1,3282	2,9039
		fl/d3	-,83377	1,76338	,638	-4,3387	2,6711
	fl/d3	fl/fl	1,62164	1,76734	,361	-1,8911	5,1344
		d3/d3	,83377	1,76338	,638	-2,6711	4,3387
IGF1	fl/fl	d3/d3	-23,40668	39,98753	,560	-102,8862	56,0729
		fl/d3	-63,91819	66,38207	,338	-195,8597	68,0234
	d3/d3	fl/fl	23,40668	39,98753	,560	-56,0729	102,8862
		fl/d3	-40,51152	66,23321	,542	-172,1572	91,1342
	fl/d3	fl/fl	63,91819	66,38207	,338	-68,0234	195,8597
		d3/d3	40,51152	66,23321	,542	-91,1342	172,1572
IGFBP3	fl/fl	d3/d3	-471,89919	297,58045	,116	-1063,3726	119,5742
		fl/d3	-347,94786	494,00415	,483	-1329,8346	633,9389
	d3/d3	fl/fl	471,89919	297,58045	,116	-119,5742	1063,3726
		fl/d3	123,95133	492,89638	,802	-855,7336	1103,6362
	fl/d3	fl/fl	347,94786	494,00415	,483	-633,9389	1329,8346
		d3/d3	-123,95133	492,89638	,802	-1103,6362	855,7336

T-Test Kontrol DM

Group Statistics					
	Grup	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Yas	Kontrol	96	64,0521	9,89244	1,00964
	Diyabetik	90	54,9889	9,34302	,98484
BMI	Kontrol	96	25,8263	3,64525	,37204
	Diyabetik	90	32,5108	6,39098	,67367
Kolestrol	Kontrol	96	177,9896	26,58353	2,71317
	Diyabetik	90	195,0444	31,74120	3,34582
Trigliserid	Kontrol	96	121,6979	54,24081	5,53593
	Diyabetik	90	163,4778	82,74018	8,72158
HDL-Col	Kontrol	96	49,6458	12,96877	1,32362
	Diyabetik	90	46,5444	11,43832	1,20570
LDL-Col	Kontrol	96	100,9792	23,47360	2,39576
	Diyabetik	90	115,5444	28,59173	3,01383
VLDL-Col	Kontrol	96	27,4792	16,66700	1,70107
	Diyabetik	90	30,8444	16,30049	1,71822
HbA1c	Kontrol	96	5,9143	,44990	,04592
	Diyabetik	90	7,8300	1,59518	,16815
Glukoz	Kontrol	96	94,7083	9,35714	,95501
	Diyabetik	90	181,7333	60,66686	6,39485
Sispress	Kontrol	96	124,39	11,969	1,222
	Diyabetik	90	136,23	20,517	2,163
Diapress	Kontrol	96	75,14	7,802	,796
	Diyabetik	90	84,03	11,384	1,200
HGHngml	Kontrol	96	1,7727	1,68872	,17235
	Diyabetik	90	,9567	1,36229	,14360
HGHulUml	Kontrol	96	6,0669	4,77226	,48707
	Diyabetik	90	3,7613	3,85117	,40595
IGF1	Kontrol	96	492,8156	222,91795	22,75147
	Diyabetik	90	500,1409	176,76464	18,63263
IGFBP3	Kontrol	96	8499,5033	2406,56240	245,61875
	Diyabetik	90	3108,5189	965,96161	101,82129

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Yas	Equal variances assumed	2,732	,100	6,414	184	,000	9,06319	1,41304	6,27536	11,85103
	Equal			6,426	183,989	,000	9,06319	1,41042	6,28051	11,84587

	variances not assumed									
BMI	Equal variances assumed	16,374	,000	-8,830	184	,000	-6,68442	,75697	-8,17787	-5,19096
	Equal variances not assumed			-8,686	139,418	,000	-6,68442	,76957	-8,20596	-5,16287
Kolestrol	Equal variances assumed	,487	,486	-3,982	184	,000	-17,05486	4,28319	-25,50535	-8,60438
	Equal variances not assumed			-3,959	174,033	,000	-17,05486	4,30764	-25,55681	-8,55292
Triglicerid	Equal variances assumed	,108	,742	-4,097	184	,000	-41,77986	10,19739	-61,89870	-21,66102
	Equal variances not assumed			-4,044	152,041	,000	-41,77986	10,33017	-62,18908	-21,37064
HDL-Col	Equal variances assumed	1,715	,192	1,725	184	,086	3,10139	1,79771	-,44539	6,64817
	Equal variances not assumed			1,732	183,330	,085	3,10139	1,79044	-,43114	6,63392
LDL-Col	Equal variances assumed	,865	,353	-3,807	184	,000	-14,56528	3,82581	-22,11337	-7,01718
	Equal variances not assumed			-3,783	172,491	,000	-14,56528	3,85005	-22,16455	-6,96600
VLDL-Col	Equal variances assumed	4,730	,031	-1,391	184	,166	-3,36528	2,41958	-8,13896	1,40841
	Equal variances not assumed			-1,392	183,666	,166	-3,36528	2,41783	-8,13558	1,40502
HbA1c	Equal variances assumed	43,738	,000	-11,299	184	,000	-1,91573	,16955	-2,25024	-1,58122
	Equal variances not assumed			-10,991	102,237	,000	-1,91573	,17430	-2,26145	-1,57001
Glukoz	Equal variances assumed	65,738	,000	-13,882	184	,000	-87,02500	6,26877	-99,39291	-74,65709
	Equal variances not assumed			-13,459	92,971	,000	-87,02500	6,46577	-99,86478	-74,18522
Sispress	Equal variances assumed	19,087	,000	-4,847	184	,000	-11,848	2,444	-16,671	-7,025

	Equal variances not assumed			-4,770	141,367	,000	-11,848	2,484	-16,758	-6,938
Diapress	Equal variances assumed	7,743	,006	-6,251	184	,000	-8,898	1,423	-11,706	-6,090
	Equal variances not assumed			-6,178	156,254	,000	-8,898	1,440	-11,743	-6,053
HGHngml	Equal variances assumed	8,755	,003	3,613	184	,000	,81604	,22588	,37039	1,26169
	Equal variances not assumed			3,638	180,056	,000	,81604	,22434	,37338	1,25871
HGHuUml	Equal variances assumed	8,748	,004	3,611	184	,000	2,30554	,63842	1,04599	3,56510
	Equal variances not assumed			3,636	180,074	,000	2,30554	,63406	1,05440	3,55668
IGF1	Equal variances assumed	2,995	,085	-,247	184	,805	-7,32526	29,62573	-65,77507	51,12454
	Equal variances not assumed			-,249	179,147	,804	-7,32526	29,40755	-65,35502	50,70450
IGFBP3	Equal variances assumed	44,099	,000	19,806	184	,000	5390,98444	272,19187	4853,96608	5928,00281
	Equal variances not assumed			20,275	126,471	,000	5390,98444	265,88747	4864,81995	5917,14894

T-Test Kontrol KKH

		Group Statistics			
	Grup	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Yas	Kontrol	96	64,0521	9,89244	1,00964
	KAH (DM + nonDM)	90	63,7111	8,82698	,93045
BMI	Kontrol	96	25,8263	3,64525	,37204
	KAH (DM + nonDM)	90	27,3094	3,16313	,33342
Kolestrol	Kontrol	96	177,9896	26,58353	2,71317
	KAH (DM + nonDM)	90	198,1067	34,64425	3,65182
Trigliserid	Kontrol	96	121,6979	54,24081	5,53593
	KAH (DM + nonDM)	90	155,3444	46,64211	4,91651
HDL-Col	Kontrol	96	49,6458	12,96877	1,32362
	KAH (DM + nonDM)	90	44,2889	30,79918	3,24652
LDL-Col	Kontrol	96	100,9792	23,47360	2,39576
	KAH (DM + nonDM)	90	124,9111	35,67108	3,76006

VLDL-Col	Kontrol	96	27,4792	16,66700	1,70107
	KAH (DM + nonDM)	90	38,5933	28,50674	3,00487
HbA1c	Kontrol	96	5,9143	,44990	,04592
	KAH (DM + nonDM)	90	8,4507	6,44195	,67904
Glukoz	Kontrol	96	94,7083	9,35714	,95501
	KAH (DM + nonDM)	90	135,7093	54,27125	5,72069
Sispress	Kontrol	96	124,39	11,969	1,222
	KAH (DM + nonDM)	90	143,39	19,912	2,099
Diapress	Kontrol	96	75,14	7,802	,796
	KAH (DM + nonDM)	90	82,59	10,746	1,133
HGHngml	Kontrol	96	1,7727	1,68872	,17235
	KAH (DM + nonDM)	90	1,6988	1,68654	,17778
HGHulUml	Kontrol	96	6,0669	4,77226	,48707
	KAH (DM + nonDM)	90	5,8583	4,76548	,50233
IGF1	Kontrol	96	492,8156	222,91795	22,75147
	KAH (DM + nonDM)	90	277,8211	178,93781	18,86170
IGFBP3	Kontrol	96	8499,5033	2406,56240	245,61875
	KAH (DM + nonDM)	90	2204,4843	1343,27955	141,59410

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Yas	Equal variances assumed	2,911	,090	,247	184	,805	,34097	1,37805	-2,37785	3,05979
	Equal variances not assumed			,248	183,561	,804	,34097	1,37299	-2,36790	3,04985
BMI	Equal variances assumed	,462	,497	-2,955	184	,004	-1,48303	,50187	-2,47320	-,49286
	Equal variances not assumed			-2,969	182,927	,003	-1,48303	,49959	-2,46872	-,49733
Kolestrol	Equal variances assumed	1,936	,166	-4,459	184	,000	-20,11708	4,51138	-29,01776	-11,21641
	Equal variances not assumed			-4,422	166,768	,000	-20,11708	4,54941	-29,09894	-11,13523
Trigliserid	Equal variances assumed	6,922	,009	-4,522	184	,000	-33,64653	7,44002	-48,32524	-18,96782
	Equal			-4,544	182,663	,000	-33,64653	7,40396	-48,25480	-19,03825

	variances not assumed									
HDL-Col	Equal variances assumed	,876	,351	1,563	184	,120	5,35694	3,42738	-1,40508	12,11897
	Equal variances not assumed			1,528	117,992	,129	5,35694	3,50597	-1,58584	12,29973
LDL-Col	Equal variances assumed	7,804	,006	-5,437	184	,000	-23,93194	4,40160	-32,61603	-15,24786
	Equal variances not assumed			-5,368	152,400	,000	-23,93194	4,45845	-32,74029	-15,12360
VLDL-Col	Equal variances assumed	1,753	,187	-3,270	184	,001	-11,11417	3,39845	-17,81911	-4,40923
	Equal variances not assumed			-3,219	141,564	,002	-11,11417	3,45296	-17,94019	-4,28815
HbA1c	Equal variances assumed	14,404	,000	-3,848	184	,000	-2,53640	,65907	-3,83670	-1,23609
	Equal variances not assumed			-3,727	89,814	,000	-2,53640	,68059	-3,88855	-1,18424
Glukoz	Equal variances assumed	62,304	,000	-7,289	184	,000	-41,00100	5,62521	-52,09920	-29,90280
	Equal variances not assumed			-7,069	93,961	,000	-41,00100	5,79986	-52,51682	-29,48518
Sispress	Equal variances assumed	20,354	,000	-7,945	184	,000	-19,003	2,392	-23,722	-14,285
	Equal variances not assumed			-7,825	144,022	,000	-19,003	2,428	-23,804	-14,203
Diapress	Equal variances assumed	3,581	,060	-5,437	184	,000	-7,453	1,371	-10,158	-4,749
	Equal variances not assumed			-5,383	161,706	,000	-7,453	1,385	-10,188	-4,719
HGHngml	Equal variances assumed	,000	,989	,299	184	,766	,07393	,24762	-,41461	,56247
	Equal variances not assumed			,299	183,258	,766	,07393	,24761	-,41460	,56246
HGHulUml	Equal variances assumed	,000	,985	,298	184	,766	,20854	,69972	-1,17197	1,58905

	Equal variances not assumed			,298	183,262	,766	,20854	,69969	-1,17194	1,58902
IGF1	Equal variances assumed	2,983	,086	7,224	184	,000	214,99451	29,76127	156,27730	273,71173
	Equal variances not assumed			7,275	179,802	,000	214,99451	29,55322	156,67875	273,31028
IGFBP3	Equal variances assumed	24,398	,000	21,829	184	,000	6295,01900	288,37710	5726,06812	6863,96988
	Equal variances not assumed			22,204	150,851	,000	6295,01900	283,50918	5734,85739	6855,18061

Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	90	100,0
	Missing Cases	0	,0
	Total	90	100,0
Unselected Cases		0	,0
	Total	90	100,0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
BMI <= 27	0
BMI >= 27	1

Categorical Variables Codings

		Frequency	Parameter coding (1)
Cinsiyet	Kadin	22	,000
	Erkek	68	1,000
IGF1 <= 369.56	IGF1 > 369.56	20	,000
	IGF1 <= 369.56	70	1,000
IGFBP3 <= 2594.20	IGFBP3 > 2594.20	27	1,000
	IGFBP3 <= 2594.20	63	,000

d3d3	f1 allele	49	1,000
	d3d3	41	,000
HGHngml <= 0.87	HGHngml >= 0.87	55	,000
	HGHngml <= 0.87	35	1,000

Block 0: Beginning Block**Classification Table^{a,b}**

Observed			Predicted		
			BMI >= 27		Percentage Correct
			BMI <= 27	BMI >= 27	
Step 0	BMI >= 27	BMI <= 27	0	44	,0
		BMI >= 27	0	46	100,0
		Overall Percentage			51,1

a. Constant is included in the model.

b. The cut value is ,500

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0	Constant	,044	,211	,044	1	,833	1,045

Variables not in the Equation

			Score	df	Sig.
Step 0	Variables	HGH087(1)	,002	1	,962
		IGF1369(1)	1,985	1	,159
		IGFBP2594(1)	3,735	1	,053
		d3d3(1)	2,933	1	,087
		Cinsiyet(1)	,137	1	,711
		Overall Statistics	7,928	5	,160

Block 1: Method = Enter**Omnibus Tests of Model Coefficients**

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	8,267	5	,142
	Block	8,267	5	,142
	Model	8,267	5	,142

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	116,456 ^a	,088	,117

a. Estimation terminated at iteration number 4 because parameter estimates changed by less than ,001.

Classification Table^a

Observed		Predicted			
		BMI >= 27		Percentage Correct	
		BMI <= 27	BMI >= 27		
Step 1	BMI >= 27	BMI <= 27	25	19	56,8
		BMI >= 27	18	28	60,9
		Overall Percentage			58,9

a. The cut value is ,500

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	HGH087(1)	-,256	,481	,284	1	,594	,774
	IGF1369(1)	-,719	,580	1,536	1	,215	,487
	IGFBP2594(1)	,827	,497	2,767	1	,096	2,287
	d3d3(1)	-,778	,449	3,002	1	,083	,459
	Cinsiyet(1)	-,040	,518	,006	1	,939	,961
	Constant	,922	,778	1,402	1	,236	2,514

a. Variable(s) entered on step 1: HGH087, IGF1369, IGFBP2594, d3d3, Cinsiyet.

Variables in the Equation

		95% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper
Step 1 ^a	HGH087(1)	,302	1,985
	IGF1369(1)	,156	1,519
	IGFBP2594(1)	,863	6,062
	d3d3(1)	,190	1,107
	Cinsiyet(1)	,348	2,654

a. Variable(s) entered on step 1: HGH087, IGF1369, IGFBP2594, d3d3, Cinsiyet.

FORMLAR**OLGU RAPOR FORMU (ORF)****ÇALIŞMA PROTOKOLÜ**

Protokol:

Tarih:

Hasta no:

Ad-Soyad:

Yaş:

Hastalık Süresi:Aile Öyküsü:Kullandığı ilaçlar:

Boy:

Cinsiyet:

Kg:

Tel:

BMI (kg/m²):**POLİMORFİZM**

o GHR Ekzon 3 Gen Polimorfizmi

BİOKİMYASAL TETKİKLER:*Açlık kan şekeri:**HbA1c:**Total kolesterol**Trigliserid**HDL-kolesterol:**EKO:**Tansiyon:**LDL-kolesterol:**LDL-kolesterol:*

Diabetes Risk faktörleri:

Evet

Hayır:

Yaş

()

()

Cinsiyet

()

()

Sigara

()

()

Alkol

()

()

Aile hikayesi

()

()

Hiperkolesterolemi

()

()

Düşük HDL

()

()

Hipertansiyon

()

()

Ateroskleroz

()

()

1 Eğer MI geçirmişse

Anjiyografi:

Damar sayısı:

Anjioplasti tarihi:

Kontrol anjiogram tarihi:

Restenoz:

By pass:

Reinfarkt ve tarihi:

Takip:

2 Eğer MI Geçirmemişse (Farmakolojik stres testi, MIBI ve Talyum pozitif olmalı)

Var yok

HT:

OLGU RAPOR FORMU

- Çalışmaya 75 diyabet hastası, 75 koroner arter hastası ve 75 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 225 vaka dahil edilecektir.
- Gönüllüden 10cc EDTA'lı kan örneği alınacaktır.
- Alınan kan örneklerinden büyüme hormon düzeyi belirlenecek ve DNA izolasyonu yapılacaktır. Elde edilen DNA örneklerinde diyabet hastalığının oluşmasında etkin rol oynayabileceği düşünülen genetik değişikliklerden GHR ekzon 3 gen polimorfizminin incelenmesi için gerekli olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği kullanılacaktır.
- Polimorfizm çalışmaları direkt hastalık sonucunu belirtmemekte olup, kişiye söz konusu hastalığa yatkınlıkla ilişkili genetik yapıya sahip olup olmadığını göstermektedir.
- Çalışmada gönüllünün sadece kan örneği alınacaktır ve gönüllü üzerinde başka herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA elde edilecek ve bu DNA örnekleri bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.
- Diğer bir çalışmada gönüllü DNA'sının kullanılması gerektiğinde kendisinden izin alınacaktır.
- Gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.
- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır, istediği takdirde çalışmadan ayrılabilir.
- Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Gönüllünün çalışmaya katılım süreci sadece gönüllüden kan örneğinin alınması ile sınırlıdır.
- Çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilirsiniz.

Bu işlemlerle ilgili karşılaşılabileceğiniz herhangi bir sorunda arayabileceğiniz kişi ve telefonu aşağıda belirtilmiştir. Çalışmada şahsınıza ait her türlü kişilik ve genetik bilgileriniz gizli tutulacaktır.

Çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir.

Çalışma sonunda elde edilecek verilerle uluslararası çapta yayınlanabilecek, hastalığınıza açıklık getirecek bilgiler elde edilebilmesi mümkündür. Bu şekilde çalışma sonucunda ulaşılan önemli bir bilgi varsa tarafınıza bildirilecektir.

Gönüllülerin 24 Saat Ulaşabilecekleri Araştırmacılar:

Araş.Gör.MSc. Özlem Küçükhüseyin (Deneysel Araştırmalardan Sorumlu Yardımcı Araştırmacı) Tel No : 0542 344 4622

Prof.Dr. C.Selim İsbir (Klinikten Sorumlu Yardımcı Araştırmacı) Tel No:0532 405 7070

Prof.Dr. Kubilay Karşıdağ (Klinikten Sorumlu Yardımcı Araştırmacı) Tel No: 0532 355 1454

Gönüllü Adı, Soyadı :

İmza:

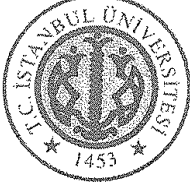
Tel. No:

Tanık Adı, Soyadı:

İmza :

Tel. No :

Çalışma için benden alınan kandan elde edilecek materyalle daha sonar da çalışılabilmesi için izin veriyorum.

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU



Sayı : 283

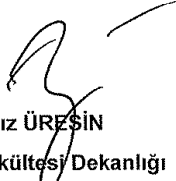
Tarih : 15/06/2010

Konu : Prof.Dr. Turgay İSBİR hk,

Sayın Prof.Dr. Turgay İSBİR
Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
İlgi : 13.11.2009 tarihli 713 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve doktora öğrencisi Biolog Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'in yürüteceği 2009/2902-97 dosya numaralı "Büyüme Hormon Reseptörü (GHR) Ekzon 3 Polimorfizminin Tip 2 Diyabet ile Koroner Arter Hastalığı Üzerindeki Etkisi" başlıklı doktora tez çalışması İstanbul 2' Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 02.12.2009 tarihli 06 sayılı toplantısında onaylanmış olup, Etik Kurulun 13.01.2010 tarihinde durdurulmasından dolayı onay yazısı, yeni kurulan Etik Değerlendirme Komisyonu tarafından yazılmıştır.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜREŞİN
İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı
Etik Değerlendirme Komisyon Başkanı

Eki: Tutanak

KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	Istanbul 2 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hulusi Behçet Kütüphanesi Kat 3 Çapa Fatih/İstanbul 34380
TELEFON	0 212 414 20 00-313 46
FAKS	0 212 414 21 53
E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Büyüme Hormon Reseptörü (GHR) Ekzon 3 Polimorfizminin Tip 2 Diyabet ile Koroner Arter Hastalığı Üzerindeki Etkisi"		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU	-		
	EUDRACT NUMARASI	-		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Turgay İSBİR		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya		
	YARDIMCI ARAŞTIRICININ ÜNVANI/ADI/SOYADI	Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN		
	YARDIMCI ARAŞTIRICININ UZMANLIK ALANI	MSc. Biyolog		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Vakıf Gureba Cad.Kat:1 (İ.Ü. Çapa Kampüsü) Çapa/ İSTANBUL		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	İstanbul 2 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ	AKADEMİK AMAÇLI (Doktora Tezi) X	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1		
		FAZ 2		
		FAZ 3		
		FAZ 4		
BE/BY				
DiĞER		Diğer ise belirtiniz:		
İLAC ARAŞTIRMA		DiŞİ	Belirtiniz:	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ X	ÇOKMERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLARARASI

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10.11.2009	1.0	Türkçe X	İngilizce	Diğer
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe	İngilizce	Diğer
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	10.11.2009	1.0	Türkçe X	İngilizce	Diğer
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe	İngilizce	Diğer

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X		
	SİGORTA			
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ			
	İLAN			
	YILLIK BİLDİRİM			
	SONUÇ RAPORU			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ			
DİĞER				

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06	Tarih: 02.12.2009
	<p>Prof.Dr. Turgay İSBİR ve Doktora Öğrencisi Biyolog Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik amaçlı doktora tez başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.</p>	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik , İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu, ve Etik Kurul SOP
---------------	--

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	Istanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	Istanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	Istanbul Tıp Fakültesi	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Istanbul Tıp Fakültesi	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	Istanbul Tıp Fakültesi	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Pınar SAIP	Onkoloji	I.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E	X	E	H	X	H	
Uzm. Dr. Ahmet Rıza URAS	Biyokimya	Vakıf Gureba E. ve Arş. Hst.	E	X	E	H	X	H	
Doç. Dr. H. Hanzade DOĞAN	Deontoloji	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Ayşen BULUT	Haik Sağlığı	Emekli	E	X	E	H	X	H	
Doç. Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Vakıf Gureba E. ve Arş. Hst	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Şişli Etfal E. ve Arş. Hst.	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	I.Ü. Eczacılık Fakültesi	E	X	E	H	X	H	
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	Istanbul Üniversitesi	E	X	E	H	X	H	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	E	X	E	H	X	H	
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat Bölümü	Özel (Ekonomist)	E	X	E	H	X	H	

* :Araştırma ile ilişki ** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ
Kişisel Bilgiler

Adı	ÖZLEM	Soyadı	KÜÇÜKHÜSEYİN
Doğ.Yeri	ANKARA	Doğ.Tar.	11.12.1975
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	53929087430
Email	ozlemkh@istanbul.edu.tr ozlem.h@gmail.com	Tel	0542 344 4622

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MOLEKÜLER TIP	2008
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ, BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2005
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ, SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ	2003
Sertifika Programı	MARMARA ÜNİVERSİTESİ, BİLGİSAYAR PROGRAMCILIĞI VE ANALİSTLİĞİ	1995
Lise	F.M.V. ÖZEL IŞIK LİSESİ	1993

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp AD.	-2005 - ...
2.	Yönetim Kurulu Üyeliği	Aktif Balıkadamlar Spor Kulübü Derneği	- 2003 – 2006
3.	Stajyer	TÜBİTAK-MAM	-2003 (1 Ay)
4.	Stajyer	Kılıç Deniz A.Ş.	-2003 (1 Ay)
5.	Dış Ticaret Uzmanı	T. İş Bankası A.Ş.	-1995 – 1998
6.	Stajyer	Boğaziçi Üniversitesi, Bilgi-İşlem Merkezi	-1995 (1 Ay)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS	(Diğer) Puanı

				Puanı	
İngilizce	Çok İyi	İyi	İyi	76.250	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin.

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	68.672	70.709	70.350
(Diğer) Puanı			

Tezler :

1. “Su Ürünlerinde Kullanılan Ambalaj Malzemeleri ve Özellikleri”, İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Lisans Bitirme Tezi, 2003
2. “Diyabetik Ve Diyabetik Omayan Koroner Arter Hastalarında İleri Glikozillenmiş Son Ürün Reseptörü (RAGE) ’ ne Ait Kritik Polimorfizmlerin İncelenmesi”, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Yüksek Lisans Tezi, Proje No: BAP/ T-967/06102006, 2008

Uluslar arası Poster Sunumlar :

1. Özlem Kurnaz, **Özlem Küçük hüseyin**, Hülya Yılmaz, Selim İsbir, Turgay İsbir, “ Effects of Lipoprotein Lipase Ser⁴⁴⁷ Ter Mutation on Left Ventricular Hypertrophy and Obesity in Turkish Patients with Coronary Artery Disease”, II. Congress of Molecular Medicine From Cell to Bedside, 24-26 March 2007, İstanbul.
2. **Özlem Küçük hüseyin**, Özlem Kurnaz, Hülya Yılmaz, Fehmi Narter, Turgay İsbir, “Relationship Between MTHFR C667T Polymorphism, Prostate Specific Antigene, Tumor Grade and Prostate Cancer in the Turkish Population”, II. Congress of Molecular Medicine From Cell to Bedside, 24-26 March 2007, İstanbul
3. Agachan B, **Kucukhuseyin O**, Aksoy P, Yaylım-Eraltan I, Turna A, Gormus U, Isbir T, “Association of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease (APE1) Gene Polymorphisms with Lung Cancer in Males”, I.U.B.M.B Life, 61 (3): 330 MAR 2009
4. Ofluoglu D, Zeybek U, **Kucukhuseyin O**, Tanyeri H, Isbir T, “Methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism in Turkish Female Recurrent Aphthous Stomatitis Patients”, I.U.B.M.B Life, 61 (3): 336 MAR 2009
5. Attar R, Agachan B, **Kucukhuseyin O**, Toptas B, Ergen HA, Attar E, Isbir T, “Association of IL-1 beta Gene Polymorphism with Endometriosis”, I.U.B.M.B Life, 61 (3): 372 MAR 2009
6. Ofluoglu D, Zeybek U, **Kucukhuseyin O**, Isbir T, Tanyeri H. Research of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism in Recurrent Aphthous Stomatitis Patients. ORAL DISEASES Volume: 16 Issue: 6 Pages: 545-546, SEP 2010.

7. **Ö Küçük hüseyin**, Ö Timirci-Kahraman, C Cacina, B Toptas, E Coskunpinar, HA Ergen, ŞÜ Zeybek, B Çakmakoglu, H Yılmaz-Aydoğan, O Öztürk, İ Yaylım-Eraltan, T İsbir, Molecular Medicine Doctorate Programme at Istanbul University”, Orpheus, Organization For PhD Education in Biomedicine and Health Sciences, İzmir, Nisan, 2011
8. M Dinççelik, N Işık, Hİ Kısakesen, **Ö Küçük hüseyin**, İ Yaylım-Eraltan, O Öztürk, “ CUDA-MEDUSA A GPU Parallelized Computational Approach To FastMedusa”, The International Congress on Bioinformatics and Biomics, Kuşadası, Mayıs, 2011
9. K Bektaş-Kayhan, **Ö Küçük hüseyin**, G Karagöz, M Unur, O Ozturk, A Ünüvar, Ö Devecioğlu, H. Yılmaz-Aydoğan. Is MDR-1 C3435 Polymorphism Responsible For More Oral Mucositis In Children With Acute Lymphoblastic Leukemia? 2011 International MASCC/ISOO Symposium, Yunanistan, 2011
10. H Yılmaz-Aydoğan, O Kurnaz, O Kurt, AB Akadam-Teker, **O Kucukhuseyin**, A Tekeli, B Caykara, T Isbir, “Effects of The PPAR-Gamma and Apolipoprotein E Gene Polymorphisms on Clinical and Lipid Characteristics in Patients with Diabetic and Non-Diabetic Coronary Heart Disease”, 4th International Congress of Molecular Medicine, Istanbul, Temmuz 2011, In Vivo 25: 467-576 (2011)

Ulusal Posterler :

1. **Özlem Küçük hüseyin**, Hülya Yılmaz, Selim İsbir, Turgay İsbir “ İleri Glikozillenmiş Son Ürün Reseptörü (RAGE)Ne Ait Gly82 Ser Ve -374T/ A Haplotiplerinin Diyabetik Ve Diyabetik Olmayan Koroner Arter Hastalarındaki Olası Etkilerinin İncelenmesi, I.DETAE Günleri, Ekim 2009.
2. Özlem Timirci Kahraman, Bahar Toptaş, **Özlem Küçük hüseyin** Uzay Görmüş, H. Arzu Ergen, Turgay İsbir. Variköz ven hastalarında MMP-2 -735 gen polimorfizminin etkisinin araştırılması, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, 6. Ulusal Kongresi, Eylül 2010.
3. Bahar Toptaş, Özlem Timirci Kahraman, **Özlem Küçük hüseyin** Uzay Görmüş, H. Arzu Ergen, Turgay İsbir. Variköz ven hastalarında MMP-2 -1306 gen polimorfizminin etkisinin araştırılması, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, 6. Ulusal Kongresi, Eylül 2010.
4. **Özlem Küçük hüseyin**, Uzay Görmüş, Özlem Timirci Kahraman, Bahar Toptaş, H. Arzu Ergen, Turgay İsbir. Safenöz Venlerde Varis Oluşumunda Matriksmetalloproteinaz-2 (Mmp-2) Ekspresyonunun Rolü, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, 6. Ulusal Kongresi, Eylül 2010.
5. Altay Burak Dalan, M. Zehra Buğra, Bahar Toptaş, **Özlem Küçük hüseyin**, Turgay İsbir. İnterlökin -1, -6, -8 Düzeyleri ile Ateroskleroz Arasındaki İlişki, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, 7. Ulusal Kongresi, Dalaman, Eylül 2011.
6. Rukset Attar, **Özlem Küçük hüseyin**, Bahar Toptaş, Özlem Timirci-Kahraman , Altay Burak Dalan, İlhan Yaylım-Eraltan, Turgay İsbir. Endometriozis Olgularında Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü düzeyleri ve Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Antalya, 2011; Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 2011: 31(6); 215.

7. Atike Tekeli, Selim İsbir, Uzay Görmüş, Özlem Timirci-Kahraman, **Özlem Küçük hüseyin**, Bahar Toptaş , Altay Burak Dalan, Turgay İsbir. Variköz Ven Hastalarında TIMP-2 Gen polimorfizminin Etkisinin Araştırılması. XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Antalya, Ekim, 2011; Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 2011: 31(6); 213.
8. Atike Tekeli, Selim İsbir, H. Arzu Ergen, Uzay Görmüş, **Özlem Küçük hüseyin**, Bahar Toptaş, Özlem Timirci-Kahraman, Altay Burak Dalan, Turgay İsbir. MMP-9 Gen polimorfizminin Variköz Ven Hastalığına Etkisinin Araştırılması. XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Antalya, Ekim, 2011; Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 2011: 31(6); 212.
9. **Özlem Küçük hüseyin**, Atike Tekeli, Hülya Yılmaz Aydoğan, Turgay İsbir. Tip 2 Diyabetik Koroner Arter Hastalığında MTHFR 677 C>T Polimorfizminin Lipid ve BMI Düzeyleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. 3. DETAE Günleri, Kasım 2011.

Uluslararası Sözlü Sunumlar :

1. K.Bektas-Kayhan, H.Yılmaz, **Ö.Küçük hüseyin**, Z.Boy-Metin, M.Ünür, T.İsbir , “The association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and oral squamous cell carcinoma”, 9th Biennial Congress of the European Association of Oral Medicine, Salzburg, Austria, Oral Diseases, Vol.14,Sup.1, September, 2008
2. **Kucukhuseyin O**, Yilmaz-Aydogan H, Isbir S, Tekeli A, Isbir T, “ The Study of Gly82Ser Polymorphism of Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) in Diabetic and Non-diabetic Patients with Coronary Artery Disease”, I.U.B.M.B Life, 61 (3): 320-321 MAR 2009
3. **Kucukhuseyin O**, Yilmaz-Aydogan H, Isbir S, Tekeli A, Isbir T, “ The Study of -374 T/A Polymorphism of Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) in Diabetic and Non-diabetic Patients with Coronary Artery Disease”, I.U.B.M.B Life, 61 (3): 321 MAR 2009
4. **Ö Küçük hüseyin**, A Tekeli, H Yilmaz-Aydogan, T Isbir, “ The Effects of Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) -374 T/A and Gly82Ser and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ) Pro12Ala Polymorphisms on Coronary Artery Disease”, 4th International Congress of Molecular Medicine, Istanbul, Temmuz 2011, In Vivo 25: 467-576 (2011)

Ulusal Sözlü Sunumlar :

1. **Kucukhuseyin O**, Ergen HA, “Diabetik Nefropatide Myeloperoksidaz Gen Polimorfizminin Rolü”, II.DETAE Günleri,Konuşma Özetleri ve Bildiri Kitabı S:60, İstanbul, Ekim 2010

Uluslararası Makaleler :

1. **Özlem Kucukhuseyin**, Hülya Yılmaz Aydoğan, C.Selim İsbir, Turgay İsbir. Associations of -374/A Polymorphism of Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) Gene in Turkish Diabetic and Non-diabetic Patients with Coronar Artery Disease. In Vivo. 2009; 23(6):949-954. **Impact factor : 1,159 (SCI)**
2. Bedia Ağaçhan, **Özlem Küçük hüseyin**, Pınar Aksoy, Akif Turna, İlhan Yaylım, Uzay Görmüş, Arzu Ergen, Ümit Zeybek, Burak Dalan, Turgay İsbir. Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease

- (APE1) Gene Polymorphisms and Lung Cancer Risk in Relation to Tobacco Smoking. Anticancer Res. 2009; 29(6): 2417-2420. **Impact factor :1,656 (SCI)**
3. Rukset Atar, Bedia Agachan, **Ozlem Kucukhuseyin**, Bahar Toptas, Erkut Atar, Turgay Isbir. Association of interleukin 1beta gene (+3953) polymorphism and severity of endometriosis in Turkish women. Mol Biol Rep. 2010; 37(1): 369-374. **Impact factor : 1,875 (SCI)**
 4. Yilmaz-Aydogan H, Kurnaz O, Kurt O, Akadam-Teker B, **Kucukhuseyin O**, Tekeli A, Isbir T. Effects of the PPARG P12A and C161T Gene Variants on serum Lipids in Coronary Artery Disease Patients with and without Type2 Diabetes. Mol Cell Biochem. 2011; 358(1-2):355-63. **Impact factor : 2,168 (SCI)**
 5. **Küçük hüseyin O**, Kurnaz O, Akadam-Teker AB, Narter F, Yılmaz H, İsbir T. The effect of MTHFR C677T polymorphism on Prostate Specific Antigene, Tumor Grade and Prostate Cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12(9):2275-8. **Impact factor : 1,240 (SCI-ex.)**
 6. H Yilmaz-Aydogan, **O Kucukhuseyin**, A Tekeli, T Isbir. Associations of Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) -374 T/A and Gly82Ser and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ) Pro12Ala Polymorphisms in Turkish Coronary Artery Disease Patients, Genet Test Mol Biomarkers. 2012 Feb;16(2):134-7. **Impact factor :0,879 (SCI-ex.)**
 7. **Kucukhuseyin O**, Yilmaz-Aydogan H, Isbir CS, Isbir T. Is there any association between GLY82 ser polymorphism of rage gene and Turkish diabetic and non diabetic patients with coronary artery disease?, Mol Biol Rep. 2012 Apr;39(4):4423-8. **Impact factor : 1,875 (SCI)**
 8. H. Yilmaz-Aydogan, **O. Küçük hüseyin**, O. Kurnaz, Basak Akadam-Teker, O. Kurt, A. Tekeli, O. Ozturk, T. Isbir. Investigation of the polymorphic variants of PPARD and APOE genes in Turkish coronary heart disease patients. DNA Cell Biol. 2012 May;31(5):867-75. **Impact factor : 2,159 (SCI)**

Ulusal Makaleler :

1. **Ö. Küçük hüseyin**, H. Y. Aydoğan, T. İsbir. İleri glikozillenmiş son ürün reseptörü (RAGE) ve yapısı. Diabet Bilimi. 2010; 8(6): 239-252.

Verdiği Kurslar

1. Temel Genetiğe Giriş. İ.Ü.DETAE Uygulamalı Moleküler Genetik Kursu, 26-30 Nisan 2010, İstanbul.(Eğitim/Laboratuvar)
2. Hastalıkların Moleküler Mekanizmaları Sertifika Programı (Moleküler Tıp Anabilim Dalı - Uzaktan Eğitim Merkezi), 29 Kasım-10 Aralık 2010, İstanbul.(Eğitim/Laboratuvar)
3. Hastalıkların Moleküler Mekanizmaları Sertifika Programı (Moleküler Tıp Anabilim Dalı - Uzaktan Eğitim Merkezi), 3-10 Ekim 2011, İstanbul.(Eğitim/Laboratuvar)

Düzenlediği Kongreler

1. 4th International Congress of Molecular Medicine, Kongre Sekteryası, İstanbul, Temmuz 2011.