

**MİGREN TANISI ALMIŞ HASTALARDA ENDOTELİN
RESEPTÖR A GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra AKDENİZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
EKİM 2016**

MİGREN TANISI ALMIŞ HASTALARDA ENDOTELİN RESEPTÖR A GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra AKDENİZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

DANIŞMAN

Prof. Dr. İ. Ömer BARLAS

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2015-TP2-1180 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 317

MERSİN

EKİM 2016

ONAY

Kübra AKDENİZ tarafından Prof. Dr. İbrahim Ömer BARLAS danışmanlığında hazırlanan "Migren Tanısı Almış Hastalarda Endotelin Reseptör A Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı bu çalışmada aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Unvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. M. Emin ERDAL	
Üye (Danışman)	Prof. Dr. İbrahim Ömer BARLAS	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Şenay GÖRÜCÜ YILMAZ	

Yukarıdaki jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 14/10/2016 tarih ve 2016/399 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Banu GÖŞKUN YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine aykırıdır.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yaz tüm bilgi ve sonuçlar bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Baskılanın eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'nce devrettiğimi beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works. I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

... 2016 / 2016

İmza / Signature



Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince her zaman yanımda olup bana tüm konularda yardım eden, verdiği bilgiler ve gösterdiği farklı bakış açılarıyla gelişmemi sağlayan çok değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. İ. Ömer BARLAS'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans eğitimimde akademik bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı, çok değerli hocam Sn. Prof. Dr. M. Emin ERDAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisansım boyunca aldığım dersler ile verdikleri bilimsel ve akademik bilgilerle sağladıkları katkılar için Sn. Doç. Dr. Özlem İZCİ AY'a, Sn. Yrd. Doç. Dr. M. Ertan AY'a, Sn. Prof. Dr. Nurcan ARAS ATEŞ'e, Sn. Prof. Dr. Etem AKBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezim için gerekli numunelerin toplanmasında bana çok yardımcı olan Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof. Dr. Aynur ÖZGE'ye, Dr. Mümine BOZDAĞ'a, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Derya ULUDÜZ'e, tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan Sn. Doç. Dr. Gülhan ÖREKİCİ TEMEL ve Asena Ayça ÖZDEMİR'e yardımları için teşekkür ederim.

Tezim süresince bana her zaman manevi destek olup yanımda hissettiren ve hep güç veren çok değerlim, gururum, kardeşim Fazilet AKDENİZ'e ve beni o güzel pozitif enerjisiyle hep mutlu eden çok değerli kardeşim meleğim Naz AKDENİZ'e ve hayatıma girdiği andan itibaren huzurum olan Emre KARGILI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Her zaman tecrübelerinden yararlandığım çok değerli Arş. Gör. Nisa UYAR'a ve tüm anabilim dalı asistanlarına ayrıca bu süreçte yanlarında kaldığım manevi kardeşlerim Berrin ÇETİN, Şerife YILMAZ ve Özlem YEŞİLIRMAK a pozitif enerjileri ve manevi destekleri en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Ve tüm hayatımda beni, maddi, manevi her konuda destekleyen ve her türlü zorlukta arkamda duran, asla pes etmemeyi öğreten, her zaman kendime güvenmemi ve inanmamı sağlayan, varlıkları ve bana verdikleri sonsuz emekler için çok değerli iyilik meleğim ilk öğretmenim anneciğim Songül AKDENİZ'e ve çok değerli koca bir çınar gibi arkamda olan babacığım Salih Sami AKDENİZ'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÖZET	xii
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Migren.....	2
2.1.1. Migrenin Tanımı	2
2.1.2. Migrenin Tarihçesi	2
2.1.3. Migrenin Epidemiyolojisi	3
2.1.4. Migrenin Sınıflandırılması.....	4
2.1.4.1 Aurasız Migren	5
2.1.4.2. Auralı Migren.....	6
2.1.4.2.1. Baziler Tip Migren	6
2.1.4.2.2. Hemiplejik Migren	7
2.1.4.2.3. Ailesel Hemiplejik Migren	8
2.1.4.3. Kronik Migren.....	8
2.1.4.4. Migren Komplikasyonları	9
2.1.4.5. Olası Migren.....	9
2.1.4.6. Migrenle İlişkili Olabilen Epizodik Sendromlar	9
2.2. Migrenin Patofizyolojisi	9
2.2.1. Vasküler ve Nörolojik Teoriler	10
2.2.2. Trigeminoasküler Sistem	11
2.2.3. Kortikal Yayılan Depresyon.....	11
2.3. Migren ve Genetik.....	12
2.3.1. Aile ve İkiz çalışmaları	12
2.3.2. Migren ve Gen Polimorfizmleri	12
2.3.3. Endotelin Geni	15
2.3.4. EDNRA Geni.....	17

2.3.5. Endotelial Disfonksiyon.....	18
2.3.6. Migren ile İlişkili Biyokimyasal Markerlar	19
2.4. Migren Tedavisi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Denek Grubu	21
3.2. Kullanılan Gereçler.....	21
3.2.1. Cihazlar	21
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	22
3.2.3. Çözeltiler.....	22
3.3. DNA İzolasyonu	22
3.3.1. Miller Tuz Çöktürme Yöntemi	23
3.3.2. Kit Yöntemi.....	24
3.4. EDNRA Geninin Real-Time PCR ile Çoğaltılması.....	24
3.4.1. EDNRA'da Çalışılan SNP'lerin Özellikleri	25
3.4.2. Real Time-PCR Reaksiyon Ortamının Hazırlanması.....	26
3.5. Genotip Tayini	27
3.6. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1.Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Bakımından Değerlendirilmesi.....	30
4.1.1. Hasta Grubu.....	30
4.1.2. Kontrol Grubu.....	30
4.2. Grupların Genotip Dağılımının Değerlendirilmesi.....	31
4.2.1 EDNRA-rs1801708 Polimorfizmine Ait Genotiplerin Değerlendirilmesi.....	31
4.2.2. EDNRA-rs5333 Polimorfizmine Ait Genotiplerin Değerlendirilmesi.....	32
4.3. Grupların Allel Dağılımının Değerlendirilmesi.....	32
4.3.1. EDNRA-rs1801708 Polimorfizmine Ait Allellerin Değerlendirilmesi.....	32
4.3.2. EDNRA-rs5333 Polimorfizmine Ait Allellerin Değerlendirilmesi.....	33
4.4. Grupların Özgeçmiş ve Soy geçmiş Özelliklerinin Değerlendirilmesi	34
5.TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	41
7. KAYNAKLAR.....	43
EKLER.....	55
EK-1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	55
EK-2 Etik Kurul Onayı.....	58
ÖZGEÇMİŞ	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. EDNRA- rs1801708 polimorfizmi için Allelik Diskriminasyon.....	16
Şekil 2.2: Endotelin Reseptör A geninin 4. kromozom üzerindeki lokalizasyonu.....	17
Şekil 3.1. EDNRA- rs1801708 polimorfizminin A/A genotipi	27
Şekil 3.2. <i>EDNRA- rs1801708</i> polimorfizmi A>G genotipi	28
Şekil 3.3. EDNRA- rs1801708polimorfizminin G/G genotipi	28
Şekil 3.4. EDNRA- Rs1801708polimorfizminin A/G genotipi	29
Şekil 4.1. EDNRA- rs1801708 polimorfizminin allellere ait yüzdesel dağılımı.....	33
Şekil 4.2. EDNRA- rs5333 polimorfizminin allellere ait yüzdesel dağılımı.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. 2013 Küresel Hastalık Yüğü Raporu İş yapamamala Geçirilen Yaşam Yılları (YLDs)'na en çok neden olan 20 hastalık.....	4
Çizelge 3.1. <i>EDNRA</i> genine ait <i>rs1801708</i> (138).....	25
Çizelge 3.2. <i>EDNRA</i> genine ait <i>rs5333</i> (139).....	25
Çizelge 3.3. <i>EDNRA</i> genine ait tüm SNP'lerin Real-Time PCR için kullanılan miktar ve protokolleri.....	26
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarındaki kadın ve erkeklerin yaş ortalaması.....	30
Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet bakımından değerlendirilmesi.....	31
Çizelge 4.3. <i>EDNRA</i> geni üzerinde yer alan <i>rs1801708</i> polimorfizminin genotip dağılımı	31
Çizelge 4.4. <i>EDNRA</i> geni üzerinde yer alan <i>rs5333</i> polimorfizminin genotip dağılımı	32
Çizelge 4.5. <i>ETA</i> genine ait <i>RS801708</i> polimorfizminin allel dağılımı.....	33
Çizelge 4.6. <i>EDNRA</i> genine ait <i>rs5333</i> polimorfizminin allel dağılımı.....	34
Çizelge 4.7. Hastaların özgeçmiş ve soy geçmiş özelliklerinin dökümü.....	35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: 5-Hidroksitriptamin (Serotonin)
5-HTT	: 5-Hidroksitriptamintransporter (Serotonin taşıyıcı protein)
5-HTTLPR	: 5-HTT gene- linked polymorphic region
5'-UTR	: 5 'translasyona uğramamış bölge
ATP1A2	: Na-ATPaz kodlayan gen
bp	: Baz çifti
β	: Beta
BAPWV	: Üst kol ve ayak bileği arasındaki nabız dalga hızı
BW	: Yıkama Tamponu (Wash Buffer)
Buffer BE	: Elüsyon Tamponu (Elution Buffer)
Ca⁺²	: Kalsiyum İyonu
CACNA1A	: Kalsiyum voltaj kapılı kanal alt birimi alfa 1 A
cAMP	: Siklik Adenozin Mono Fosfat
CBT	: Bilişsel Davranışçı Terapi
CSD	: Kortikal yayılan depresyon
CGRP	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid agonistleri
CNS	: Merkezi Sinir Sistemi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ECE	: Endotelin Dönüştürücü Enzim
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EDN	: Endotelin
EDNRA	: Endotelin Reseptör Tip A (ETA)
EDNRB	: Endotelin Reseptör Tip B (ETB)
EPC	: Endotelyal Progenitör Hücre sirkülasyon
ETC	: Endotelin Reseptör Tip C
ET-1	: Endotelin 1
ET-2	: Endotelin 2
ET-3	: Endotelin 3
FAM	: 6-Karboksi-Floresan
FHM	: Ailesel Hemiplejik Migren
GABA	: γ-aminobutirik asit
GBD	: Küresel Hastalık Yüğü
gr	: Gram
Hs	: Homosistein

HCTR1	: Hipokretin Reseptör 1
Hipokretin	: Oreksin
HW	: Hardy Weinberg
ICD	: International Classification of Disease
ICD-11	: Uluslararası Hastalık Sınıflandırması 11. Revizyon
ICHD-I	: Uluslararası Baş ağrısı I. Sınıflandırma
ICHD-II	: Uluslararası Baş ağrısı II. Sınıflandırma
ICHD-III	: Uluslararası Baş ağrısı III. Sınıflandırma
IHS	: Uluslararası Baş ağrısı Derneği
KCNK18	: Potasyum Kanal Alt Familyası Elemanı 18
χ^2	: Ki-kare
μl	: Mikrolitre
M	: Molar
MA	: Auralı Migren
MIDAS	: Migren İş Yapamama Değerlendirmesi Skoru
MO	: Aurasız Migren
MÖ	: Milattan Önce
mRNA	: Messenger RNA
MRS	: Manyetik Rezonans Spektroskopi
MS	: Milattan Sonra
ml	: Mililitre
MTHFR	: Metilentetrahidrofolat redüktaz
Na₂EDTA	: Sodyum-2-etilendiamintetraasetik asit
NaCl	: Sodyum klorür
PCR	: Polimeraz Zincir Tepkimesi
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
ROX	: 6-Karboksi-X-Rodamin, Süksinil Esteri
rs	: Referans SNP numarası
SCN1A	: Sodyum Kanalı Kodlayan Geni
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SP	: P Maddesi
STX1A	: Sintaksin 1 A
TACs	: Trigeminal Otonomik Bozukluklar
TE	: Tris-Etilendiamintetraasetik asit
Tris-HCl	: Tris-Hidroklorid

TGVS	: Trigeminovasküler sistem
TTH	: Gerilim tipi baş ağrısı
UTR	: Translasyona Uğramamış Bölge
VNTR	: Değişken Sayıda Ardışık Tekrar Dizileri
YLD	: İş Yapamama ile Geçirilen Yaşam Yılı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



ÖZET

Migren Tanısı Almış Hastalarda Endotelin Reseptör A Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

Migren, dünya çapında yaşam kalitesini düşüren ve iş gücü kaybına neden olan en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. Genetik, çevresel, yaşam koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak oluşan nörovasküler bir bozukluktur.

Çalışmamız, Mersin Üniversitesi ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda IHS'nin belirlediği ICDH-III tanı ölçütlerine göre migren tanısı konmuş 150 hasta ve hiçbir nörolojik hastalığı olmayan, 150 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak, her bireyin, Endotelin Reseptör A (*EDNRA*) genine ait *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizmlerinin moleküler analizi, Real-Time PCR (Applied Biosystems) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Genotiplendirme sonucu elde edilen veriler, SPSS v.11.5 paket programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak; *EDNRA* genine ait polimorfizmlerin migren ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin olmadığı tespit edildi. Yapılan çalışma migrenin patofizyolojisinde önemli bir yeri olan vasküler hipotezdeki endotelin fonksiyonunun genetik kökenlerini araştırmak üzere planlandı. *EDNRA* genine ait polimorfizmlerin migren ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmanın Türk toplumunda daha önce çalışılmamış olması nedeniyle, hastalığın etiyolojisini anlamaya ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Migren, Endotelin, *EDNRA*, Real Time PCR, polimorfizm

ABSTRACT

The Investigation of Endothelin Receptor Gene A Polymorphism Association with Patients Diagnosed with Migraine

Migraine is one of the most common worldwide diseases currently disabling and decreasing quality of life. Migraine neurovascular disorder and depends on many factors such as genetic, environmental, living conditions. Our study's sample volume is including 150 individuals have taken migraine diagnosis as experimental group and 150 healthy individuals who haven't taken another diagnosis based on Neurological at Mersin University Faculty of Medicine and İstanbul University Faculty of Cerrahpaşa Medicine Department of Neurology. DNA isolation was performed on peripheral blood samples from patients and control groups. The molecular analysis of *rs1801708* and *rs5333* polymorphisms of EDNRA gene of each individual was performed by using Real-Time PCR (Applied Biosystems) method.

Data from genotyping, was evaluated statistically by SPSS v.11.5 packet program. It has detected not to be meaningful difference in genotype frequency between healthy and patient people of EDNRA gene (*rs1801708*, *rs5333*) polymorphisms ($p>0,05$). When it is compared allele frequency between healthy and patient group, there was not a direct association between healthy people and patients.

As a result, there weren't association between EDNRA gene *rs1801708*, *rs5333* polymorphisms and migraine. This study was designed to investigate the genetic basis of the vascular hypothesis and endothelial function role in the pathophysiology of migraine. So far, there is no study of patients with migraine on EDNRA in the Turkish population. So, this study is thought to find out the etiology of the disease and to contribute the literature.

Key words: Migraine, EDNRA, Endothelin Receptors, Real Time PCR, polymorphism.

1. GİRİŞ

Migren, mide bulantısı, kusma, fotofobi, fonofobiyle eşlik eden genellikle tek taraflı baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur. Tüm dünyada yetişkin nüfusun %11'ini etkilemektedir. Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (IHS)'nin Baş Ağrısı Sınıflama Komitesi tarafından 2013 yılında hazırlanan 3.Versiyon (ICHD-III) e göre sınıflandırılmaktadır. IHS nin yaptığı bu sınıflandırmada migren, primer baş ağrısı sınıfında yer almaktadır. Başlıca auralı ve aurasız migren olarak ikiye ayrılmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar migren oluşumunda yer alan vasküler hipotez üzerine yoğunlaşmaktadır. Endotelin ise vasküler endotelyal hücreler ve birçok diğer hücre tipi tarafından üretilen, dominant vazokonstriksiyon aktivitesi ve mitojenik etki gösteren bir endojen polipeptittir. Birçok pozitif inotropik ve kronotropik etkilere sahiptir, sempatik ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemlerini uyarır ve homeostazı değiştirir.

EDNRA geni 4q31.22'de lokalize olup en güçlü vazokonstriktör olan Endotelin geni tarafından kodlanan ve genin biyolojik etkilerini sağlayan bir reseptör gendir. Bu gende meydana gelen tekli nükleotid polimorfizmlerinin migren oluşumunda etkin olabileceğinden yola çıkarak, *EDNRA* genindeki tekli nükleotid değişimleri ile migren hastalığı arasında bir ilişkinin var olup olmadığını araştırmayı planladık. Şu ana kadar Türk popülasyonunda migren tanısı olan hastalarda *EDNRA* geni ile ilgili bir polimorfizm çalışması bulunmamaktadır. Bu tez çalışması bu konuda yapılacak ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Yapılacak olan tez çalışması ile amaçlanan nörovasküler bir santral sinir sistemi bozukluğu olan migrende, vasküler hipotezin temelinde yatan endotel disfonksiyonunun genetik kökenlerini araştırmaktır. *EDNRA* SNP'lerinin migren patofizyolojisine önemli katkısı bulunacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Migren

2.1.1. Migrenin Tanımı

Migren; mide bulantısı, kusma, fotofobi, fonofobiyle eşlik eden genellikle tek taraflı baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur (1). Migren damarlarda meydana gelen vazokonstriksiyon ve dilatasyonlarla vasküler sistemle ve kranial meninkslerde meydana gelen nörojenik enflamasyonlar ve kortikal yayılan depresyon mekanizmasıyla nöronal sistemle ilişkilidir (2). Baş ağrıları içinde önemli bir yer tutan migreni tanımlamada Uluslararası Başağrısı Derneği (International Headache Society)'nin yaptığı sınıflandırma kullanılır. IHS nin yaptığı bu sınıflandırmada migren, primer baş ağrısı sınıfında yer almakta olup başlıca auralı ve aurasız olarak ikiye ayrılır (3). Migren, günlük yaşamda karşılaşılan sıradan baş ağrılarından farklı olarak uzun saatler süren, ağrının şiddeti genellikle değişen, ataklar esnasında ve sonrasında eşlik eden çeşitli semptomlarla seyretmektedir (4).

Bir migren atağında başlıca 4 dönem vardır;

1. Başağrısından saatler veya günler önce ortaya çıkan uyarıcı faz,
2. Başağrısının hemen öncesinde yer alan aura fazı,
3. Başağrısı fazı
4. Başağrısının iyileşme fazı (5).

Bazı hastalar da baş ağrısı başlamadan önce, saatler veya günler süren, uyarıcı semptomlardan oluşan bir faz bulunmaktadır. Bu uyarıcı belirtiler hiperaktivite, hipoaktivite, depresyon, huzursuzluk, uykuya meyil, fotofobi, fonofobi, konsantrasyon güçlüğü, esneme, aşırı uyku, disfazi, hiperaktivite, öfori, aşırı konuşma, yerinde duramama, belirli gıdalar için istek, üşüme hissi, iştahsızlık, beceriksizlik, diyare ve konstipasyon, susama, sık idrara çıkma, sıvı retansiyonu yorgunluk ve boyun sertliği ve/veya ağrısıdır (5).

2.1.2. Migrenin Tarihçesi

İlk uygarlıklardan beri bilinen en eski ve yaygın hastalıklardan biri olan migren, MÖ Mısır papirüslerine kadar dayanmaktadır (6). Baş ağrısını konu alan bir Sümer epik şiiri de bulunmaktadır (6). MÖ 1200'den kalma eski bir Mısır baş ağrısı reçetesi olan ve MÖ 2500'den kalma belgelere dayandığı söylenen bir Ebers Papirüsü, migren, nevralsi, saplanıcı baş ağrılarını tanımlamaktadır (7). Hatta MÖ 7000 yılına ait kafataslarında ağrıyı gidermek amacı ile yapılan trepanasyon işlemine dair kafataslarında delikler gibi bazı bulgular bulunmuştur (7). Hipokrat MÖ 400 yılında başağrısına öncülük edebilecek görsel aurayı ve ağrıya eşlik eden kusma gibi eşlikçileri

belirtmiştir. Hipokrat, bu ağrıyı genellikle sağ gözde ışık parlamasının ardından şakaklarda başlayan daha sonra tüm başa ve boyuna yayılan şiddetli ağrı olarak tanımlamıştır (7). MS 2.yy. da Aretaeus genelde başın bir tarafında hissedilen, bulantı ile birlikte olan ve ağrısız dönemlerin takip ettiği bir baş ağrısı tanımlamasını yapmış ve bu tanımlama ile migrenin kâşifi olarak kabul edilmiştir (6). Migren, terim olarak ilk kez MS yaklaşık 200 yılında Yunanca “hemikrania” kelimesinden türetilerek kullanılmaya başlanmış, “kör baş ağrısı”, “safralı baş ağrısı” gibi adlandırmalar da yapılmıştır (6,7). MS 250 yılında Celsus migren ile ilgili duygu değişikliklerini ve hassasiyetlerini de tanımlamıştır (7).

2.1.3. Migrenin Epidemiyolojisi

Çocukluk çağında, adolesan veya erişkin yaşta başlayabilen migrenin görülme sıklığında farklılıklar görülse bile oldukça yaygındır, Kafkas nüfusunun %12'sinde yetişkin kadınların %18 ve yetişkin erkeklerin %6'sında olduğu düşünülmektedir (8). Kadınlarda görülme sıklığının erkeklere oranla fazla olmasında yumurtalık hormonlarının katkısının olabileceği düşünülmektedir (8). Migrenin prevalansı yaş ve cinsiyete göre değişmekte olup, erkeklerde auralı migren insidansı 5 yaş civarında 6.6/1000 iken, aurasız migren insidansı 10–11 yaşları arasında 10/1000 görülmektedir (9). Kadınlarda ise auralı migren insidansı 12–13 yaşlar arasında 14.1/1000, aurasız migren insidansı 14–17 yaşları arasında 18.9/1000 değişmektedir (9). Genellikle migren, en yaygın olarak yetişkinliğin en verimli yılları olan 20-50 yaşlarında görülmektedir (10).

Birçok ülkede artık temel bir sağlık sorunu olarak görülen baş ağrısı hakkında giderek artan bir farkındalık oluşmaktadır (10). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2000 yılı raporunda migren, iş yapamama ve iş gücü kaybına neden olan yaygın hastalıklar içinde ilk 20 de erkeklerde 19. sırada, kadınlarda 9. sırada yer almaktadır (11). Şiddetli bir migren atağı sırasında iş yapamama, aktif psikoz, tetrapleji ve demans düzeyinde kabul edilmektedir (11). Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar migrenin yüksek prevalans, yüksek sosyo-ekonomik ve kişisel etkileri olduğunu belgelemiştir (12). Küresel Hastalık Yüğü (GBD) 2010 verilerine göre, migren, üçüncü en yaygın hastalık ve dünya çapındaki iş yapamama nedenlerinin arasında spesifik olarak yedinci sırada yer almaktadır (12).

Çizelge 2.1: 2013 Küresel Hastalık Yüğü Raporu İş Yapamama Hali ile Geçirilen Yaşam Yılları (YLDs)'na en çok neden olan 20 hastalık (13).

Küresel Hastalık Yüğü (GBD) 2013'te İş Yapamama Hali ile Geçirilen Yaşam Yılları (YLDs)'na en çok neden olan 20 hastalık	YLDs
1. Bel Ağrıları	72,318,000
2. Majör Depresyon	51,784,000
3. Demir eksikliği anemisi	36,663,000
4. Boyun ağrısı	34,348,000
5. Diğer işitme kayıpları	32,580,000
6. Migren	28,898,000
7. Diyabet	29,518,000
8. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	26,131,000
9. Anksiyete bozuklukları	24,356,000
10. Diğer kas-iskelet hastalıkları	22,644,000
11. Şizofreni	15,204,000
12. Düşmeler	12,818,000
13. Osteoartrit	12,811,000
14. Gözün kırılma ve lokasyon hataları	11,257,000
15. Astım	10,596,000
16. Distimi	9,849,000
17. Bipolar bozukluk	9,911,000
18. Aşırı ilaç kullanımına bağlı baş ağrısı	9,846,000
19. Diğer zihinsel ve madde kullanım bozuklukları	9,257,000
20. Dermatit	9,278,000

Migren artık dünya çapında iş yapamama halinin altıncı en yüksek nedenidir ve aşırı ilaç kullanımına bağlı baş ağrısı ile birlikte topluca baş ağrıları, 38.744.000 YLDs ile üçüncü sırada yer almaktadır (13).

2.1.4. Migrenin Sınıflandırılması

Migren ilk olarak 1988 yılında Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (IHS) Baş Ağrısı Sınıflama Komitesi tarafından ICHD-I olarak sınıflandırılmıştır (12). Daha sonra tanı ve sınıflandırma ölçütlerindeki bazı kriterler gözden geçirilmiş ve 2004 yılında IHS Baş Ağrısı Sınıflama Komitesi tarafından ICHD-II sınıflaması yayınlanmıştır (3). Uluslararası Sağlık Örgütü'nün (WHO) 11.

Revizyonu Uluslararası Hastalık Sınıflandırması (ICD-11) ile uyumlu hale getirilerek yapılan son değişiklik ve düzenlemelerle günümüzde geçerli olan sınıflandırma Uluslararası Baş Ağrısı Derneği'nin Baş Ağrısı Sınıflama Komitesi 3.Versiyon'u ICHD-III dur (14). Bu sınıflandırmaya göre primer baş ağrıları;

1. Migren
2. Gerilim tipi baş ağrısı (TTH)
3. Trigeminal Otonomik Bozukluklar (TACs)
4. Diğer Primer Baş Ağrıları

Olarak başlıca 4 gruba ayrılmaktadır.

Migren; başlıca 6 ana sınıfa ayrılmaktadır;

1. Aurasız migren
2. Auralı migren
3. Kronik migren
4. Migren komplikasyonları
5. Olası migren
6. Migren ile ilişkili olabilen epizodik sendromlardır (14).

2.1.4.1. Aurasız Migren

Yaygın migren ya da hemikranya simpleks olarak da adlandırılan aurasız migren 4-72 saat süren ataklar halinde tekrarlayan migren hastalığının en yaygın formudur. Tipik özellikleri; ağrının tek taraflı lokalizasyonu, zonklama şeklinde hissedilmesi, orta ya da ağır şiddette seyretmesi, rutin fiziksel hareketlerle kötüleşmesi, fotofobi, fonofobi ve bulantının eşlik edebilmesidir.

Tanı kriterleri:

- A.** B-D kriterlerine uyan en az beş atak
- B.** 4-72 saat süren baş ağrıları (tedavi edilmemiş veya başarısız tedavilerde)
- C.** Aşağıdaki 4 kriterden en az 2 tanesini içeren baş ağrısı
 1. Tek taraflı konumlu
 2. Tekrarlayan şekilde olma
 3. Orta veya şiddetli ağrı
 4. Rutin fiziksel aktivite (örneğin yürüme ya da tırmanma merdivenler) ile kötüleşen ağrı
- D.** baş ağrısı esnasında aşağıdakilerden en az biri gerçekleşmeli:
 1. Bulantı ve/veya kusma

2. Fotofobi ve fonofobi

E. ICHD-3 göre daha başka bir hastalık tanısı almamış olma (14).

2.1.4.2. Auralı Migren

Genellikle tek taraflı oluşan, yavaş yavaş gelişen baş ağrısını takip eden belirli bir süre ortaya çıkan tamamen geri dönüşümlü, görsel, duyuşsal ve diğer merkezi sinir sistemi semptomları ile eşlik eden tekrarlayan baş ağrısıdır.

Tanı kriterleri:

A. B ve C kriterlerine uyan en az iki atak

B. Aşağıdaki tam olarak geri dönüşlü aura semptomlarından bir ya da daha fazla içermesi:

1. Görsel
2. Duyusal
3. Konuşma ve / veya dil
4. Motor
5. Beyin sapı
6. Retinal

C. Aşağıdaki dört özellikten en az ikisini içermesi:

1. En az bir aura belirtisinin 5 dakikanın üzerinde yavaş yavaş yayılması, ve/veya iki veya daha fazla semptomun arka arkaya meydana gelmesi
2. Her bir aura semptomu 5-60 dakika sürmesi
3. En az bir aura semptomu tek taraflı olan
4. Auranın baş ağrısına eşlik eden veya takip eden 60 dakika sürmesi

D. ICHD-3 göre başka bir hastalık tanısıyla daha iyi açıklanamayan ve geçici iskemik ataklar dışında olmalıdır (14).

2.1.4.2.1. Baziler Tip Migren

Aura belirtileri açıkça beyin sapından köken alan ancak hiçbir motor zayıflıkla ilişkisi olmayan migren tipidir.

Tanı kriterleri:

A. B-D kriterlerini yerine getiren en az iki atak

B. Auranın, görsel, duyuşsal ve/veya konuşma/dil semptomlarını içermesi, herbirinin tamamen geri dönüşümlü olması, ama hiçbir motor veya retinal belirtilerle ilgili olmaması

C. Aşağıdaki beyin sapından köken alan belirtilerden en az ikisini içeren:

1. Konuşma bozukluğu
2. Başdönmesi
3. Kulak çınlaması
4. İşitme kaybı
5. Şaşılık
6. Ataksi
7. Bilinç düzeyinde azalma

D. Aşağıdaki dört özellikten en az iki tanesi içermesi:

1. Bir aura belirtisi en az 5 dakika boyunca yavaş yavaş yayılır ve/veya iki ya da daha fazla semptomunun arka arkaya meydana gelmesi
2. Bireyde aura semptomunun 5-60 dakika sürmesi
3. En az bir aura semptomu tek taraflı
4. Baş ağrısını takip eden 60 dakikada auranın eşlik etmesi

E. ICHD-3 göre başka bir hastalık tanısıyla daha iyi açıklanamayan ve geçici iskemik ataklar dışında olmalıdır (14).

2.1.4.2.2. Hemiplejik Migren

Duyu kayıbdan, güçsüzlüğü ayırt etmek zor olabilmesine rağmen motor güçsüzlükleri içeren auralı migren sınıfıdır. Plejik birçok dilde felç anlamına gelmektedir, ama çoğu atakta motor güçsüzlük ile karakterizedir. Bazı hastalarda, motor zayıflık haftalar boyu sürebilmektedir. Afazi her zaman tek taraflı belirtisi olarak kabul edilir; konuşma bozukluğu olabilir veya olmayabilir (14).

Tanı kriterleri:

A. B ve C kriterlerini yerine getiren az iki atak

B. Aşağıdaki her iki özelliği de içermesi:

1. Tamamen geri dönüşümlü motor zayıflık
2. Tamamen geri dönüşümlü, görsel, duyuusal ve/veya konuşma/dil bozuklukları

C. Aşağıdaki dört özellikten en az iki tanesini içermesi:

1. Bir aura belirtisi en az 5 dakika boyunca yavaş yavaş yayılır ve/veya iki ya da daha fazla semptomunun arka arkaya meydana gelmesi
2. Motor olmayan aura semptomu 5-60 dakika, ve motor semptomların 72 saatten az sürmesi
3. En az bir aura semptomu tek taraflı
4. Baş ağrısını takip eden 60 dakikada auranın eşlik etmesi

D. ICHD-3 göre başka bir hastalık tanısıyla daha iyi açıklanamayan ve geçici iskemik ataklar dışında olmalıdır (14).

2.1.4.2.3. Ailesel Hemiplejik Migren

Motor güçsüzlük içeren ve en az bir birinci veya ikinci derece akrabasında motor güçsüzlük ile ilişkili auralı migren varlığı olan migren sınıfıdır.

Tanı kriterleri:

A. Hemiplejik migren kriterlerini içermek

B. En az bir birinci ya da ikinci dereceden akrabalarda hemiplejik migren kriterlerini yerine getiren atakların olması

Yeni genetik veriler Ailesel hemiplejik migren (FHM) için daha önce mümkün olduğundan daha kesin bir tanım sağlamıştır. Spesifik alttipleri tanımlanmıştır:

FHM1 için 19. kromozomun kalsiyum voltaj kapılı kanalı alt birimi alfa 1 A (CACNA1A) bir kalsiyum kanalı kodlayan geninde mutasyonlar tespit edilmiştir (15). FHM2 için 1. kromozom üzerinde Na⁺/K⁺ ATPaz taşıma alt birimi alfa 2 (ATP1A2) kodlayan geninde mutasyonlar tespit edilmiştir (15).

FHM3 için 2. kromozomun sodyum voltaj kapılı kanalı alfa alt birimi 1 (SCN1A) bir sodyum kanalı kodlayan geninde mutasyonlar tespit edilmiştir (15).

Ailesel hemiplejik migren (FHM) epilepsi ile karıştırılabilmekte ve doğru şekilde tedavi edilememektedir. FHM ataklarını, hafif kafa travmasında tetikleyebilmektedir. FHM yaşayan ailelerin yaklaşık %50'sinde, migren ataklarından bağımsız kronik ilerleyici serebellar ataksi de ortaya çıkabilmektedir (14).

2.1.4.3. Kronik Migren

Baş ağrısının 3 aydan daha fazla süredir ayda 15 gün ve üzeri olduğu ağrının özelliğinin en az 8 gün olduğu migren sınıfıdır (14).

Tanı kriterleri:

A. Baş ağrısı (gerilim tipi gibi ve / veya migren benzeri) 3 aydan fazla süredir ayda 15 gün olmalı B ve C kriterlerini sağlamalıdır.

B. Aurasız migren hastalarında B-D kriterlerini en az beş atak, Auralı migren hastalarında B ve C kriterlerini karşılayan en az beş atak olmalıdır.

C. 3 aydan fazla süredir aşağıdakilerden herhangi birinin yerine getirilmesi:

1. Aurasız migren için C ve D kriterleri.

2. Auralı Migren için B ve C kriterleri.

3. Hastanın migrenin başlangıcında alınan bir triptan ve ergot türevi ile rahatlama olduğuna inanması (14).

2.1.4.4. Migren Komplikasyonları

Migren atağının 72 saatten fazla sürdüğü zayıflatıcı bir migren sınıfıdır.

Tanı kriterleri:

- A. Baş ağrısı atakları B ve C kriterlerini yerine getirmelidir.
- B. Aurasız ve auralı migren hastalarında süreleri ve şiddeti dışında atakların tipik olması.
- C. Aşağıdaki özelliklerin her ikisi de:
 1. 72 saatten fazla süredir aralıksız devam etmesi.
 2. Ağrı ve ağrıyla ilgili semptomların zayıf düşürücü olması.
- D. ICHD-3 göre başka bir hastalık tanısıyla daha iyi açıklanamamalıdır (14).

2.1.4.5. Olası Migren

Daha önce migrenöz bozukluk olarak kullanılan olası migren sınıflandırmasıdır.

Tanı kriterleri:

- A. Baş ağrısı atakları B ve C kriterlerini yerine getirmelidir.
- B. Aurasız ve auralı migren hastalarında süreleri ve şiddeti dışında atakların tipik olması.
- C. Aşağıdaki özelliklerin her ikisi de:
 1. 72 saatten fazla süredir aralıksız devam etmesi.
 2. Ağrı ve ağrıyla ilgili semptomların zayıf düşürücü olması.
- D. ICHD-3 göre başka bir hastalık tanısıyla daha iyi açıklanamamalıdır (14).

2.1.4.6. Migren ile İlişkisi Olabilen Epizodik Sendromlar

Daha önce çocukluk periyodik sendromları olarak kullanılan migren sınıfıdır. Bu hastalar auralı veya aurasız migren hastaları olabilirler. Çocukluk dönemi olmasına rağmen, yetişkinlerde de görülebilmektedir. Ayrıca hastalarda yol tutması, uyurgezerlik, uykuda konuşma, gece terörü ve brüksizm dahil bir çok periyodik uyku bozuklukları atakları da oluşabilmektedir (14).

2.2. Migrenin Patofizyolojisi

Migrenin etiyolojisinde poligenetik ve multifaktöriyel etkilerin olduğu düşünülmektedir (16). Migren, altyapısında güçlü genetik yatkınlık olmasına rağmen, nadir bir alt tipi FHM dışında, her migren tipine özgü spesifik gen henüz belirlenememiştir (16, 17). Vasküler teoriye göre migrende ağrının kan damarlarının genişlemesinden kaynaklandığını ve auranın damarlardaki

kasılmalar sonucu oluştuğu ile sürülmüştür. Manyetik rezonans anjiyografi ile spontan migren ataklarını içeren görüntülerde, hiçbir ekstrakranial arter gevşemesi görülmemiş ve sadece minimal intrakranial arter genişlemeleri tespit edilmiştir (17). Mekanizma, birincil nöronal disfonksiyon sonucunda uyaranlara giderek artan bir duyarlılık gibi görünmektedir. (18). Birincil olayda beyin sapındaki *loqus ceruleus*'tan çıkıp beynin diğer bölgelerine difüz edebildiği düşünölmektedir (19).

Migren patofizyolojisi artık daha iyi bilinen bir nörolojik bozukluktur (20). Migren belirtileri, kranial meninkslerde meydana gelen nörolojik ve vasküler iki sistemin etkileşimi sonucu oluştuğu için 'nörovasküler' kökenli olarak ifade edilmektedir (21). Bazı önemli olaylar Kortikal Yayılan Depresyon ve trigeminovasküler sisteminin aktivasyonu ile nörojenik inflamasyon, meningeal damarlarda değişikliklere yol açmaktadır (22). Goadsby ve ark. (2009)'nın saptaması genetik mutasyonların, bireylerin migren geliştirme olasılığını etkilediğini ve kranial damarların trigeminal sinir donanımı dahil bir dizi beyin yapılarını etkilediğini düşünmektedir (23, 24).

2.2.1. Vasküler ve Nörojenik Teoriler

Vasküler teori Thomas Willis tarafından güçlü klinik gözlemler ve titiz anatomik diseksiyonlar yapılarak tanımlanmıştır. Onun teorisine göre migrende ağrı serebral ve meningeal arterlerde damar genişlemesi yüzünden oluşmaktadır (20, 25). 20. yüzyılda ise Wolff'un çalışmaları vasküler teoriyi geliştirmiştir. 1930-1950'lerde Wolff tarafından laboratuvarda yapılan çalışmalar sonucu migrenin vasküler bir olay olduğu ve ilk olarak intrakranial damarlardaki kasılma ve ardından damarların genişlemesi sonucu oluştuğu fikri öne sürülmüştür (25). Bu teori ile tutarlı olarak verilen güçlü bir vazokonstriktör olan ergotaminin hastalarda bir rahatlatma sağladığı görülmüştür (26). Ayrıca bir vazodilatör olan nitrogliserinin migreni uyarıcı etkisi gözlenmiş, bu da vasküler teorisinin kanıtı olarak alınmıştır (27). Daha sonra triptanların (serotonin reseptör agonistleri) etki mekanizması ile migren tedavisinde köklü değişiklikler olmuştur ve son zamanlarda, kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) agonistlerinin, kranial vazokonstriksiyon yoluyla belirtileri hafifletebileceğini düşündürmektedir (27, 28).

Amin ve ark. (20) tarafından 2013 yılında yüksek çözünürlüklü manyetik rezonans anjiyografi görüntüleme tekniği kullanarak yapılan çalışmada spontan tek taraflı migren atakları sırasında, vazodilatasyon ile vazoaaktif maddelerin salınımının beraber olması migren patofizyolojisinde anahtar bir fizyolojik olay olmasına rağmen dilatasyon periferik ve santral ağrı yollarının aktifleşmesine neden olmamaktadır. Trigeminal afferentlerden nöropeptid ve proinflamatuvar maddelerin salınımı meninkslerde vasküler değişikliklere eşlik eder, trigeminovasküler sistem içinde periferik ve merkezi nöronlar duyarlılığı ağrı duyumunu başlatır

(20). Bu vasküler olaylar migren atağının nasıl başladığını ve sürekliliğini nasıl devam ettiğini netleştirmek yani tüm sürecini anlamada önemlidir (1, 2).

2.2.2. Trigeminovasküler Sistem

Trigeminovasküler sistem (TGVS) ekstra ve intra kranial kan damarlarını içeren trigeminal sinir ve sinir liflerinden ve beyin sapından oluşmaktadır (29). Bu sistemin, vasküler tonusun düzenlenmesinde ve ağrı sinyallerinin iletilmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Migren ağrısının başlamasında trigeminal sinir uçlarından kimyasal aktivite kaskadını bu sistemin aktivasyonunun başlattığı düşünülmektedir. Trigeminal duyuşal sinir sistemi çeşitli vazoaaktif nöropeptidleri içermektedir (30). Nöropeptidler vazodilatasyona neden olan önemli moleküllerdir bunlar: kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP), nörokinin A, nitrik oksit (NO) ve pitüiter adenilat siklaz aktive edici peptid kalsitonin (PACAP), P maddesi (SP) dir. Bu maddelerin salınımı enflamasyona, kan damarlarının genişlemesine ve ağrının ağırlaşmasına neden olur (29, 30). Tam olarak TGVS, ektrakraniyal yumuşak dokuların kaslar, göz, kulak, deri, derialtı dokusu, burun boşlukları, arterler, periost gibi ve aynı zamanda intrakranial yapıların, venöz sinüsler, vagus ve glossofarengeal sinirlerin periferik sonlandırmalarında bulunmaktadır (31).

2.2.3. Kortikal Yayılan Depresyon

Kortikal yayılan depresyon, ilk kez 1943 yılında Harvard Üniversitesi'nde epilepsi üzerine doktora araştırması yapan nörofizyolog Aristides Leao tarafından tanımlanmış elektrofizyolojik bir olaydır (31). Fonksiyonel beyin görüntüleme çalışmalarıyla kortikal yayılan depresyon (CSD), kan akımı ve beyin aktivitesindeki değişiklikler net olarak gösterilmiştir (32-34). Kortikal yayılan depresyon serebral korteks üzerinde dakikada 2-5 mm oranda yayılan ve 15-30 dakika süren yoğun bir dalga olarak tanımlanmaktadır ve nöral aktivitenin baskılanmasını takip eden bir süre iyon konsatrasyonlarının (Ca^{+2} , Na^{+} , K^{+}) bozulmasına yol açmaktadır (35, 36). CSD, nöral, vasküler ve enflamatuar bir dizi etkinlik başlatarak ağrı, trigeminovasküler sisteminin aktivasyonu ve duyarlılığa neden olmaktadır (37, 38).

Kortikal yayılan depresyonun, migrende auraya neden olduğu (32), trigeminal sinir afferentlerini aktive ettiği (39, 40) matriks metalloproteinaz aktivasyonu ve regülasyonu ile kan beyin bariyerinin geçirgenliğini değiştirdiği düşünülmektedir (41). Kortikal yayılan depresyon ile trigeminal afferentlerin aktivasyonu, merkezi ve periferik refleks mekanizmalarıyla ağrıya duyarlı meninkslerde inflammatuar değişikliklere neden olarak baş ağrısına neden olduğu düşünülmektedir (38). Ağrı duyarlı trigeminal afferent nöronlar, kortikal yayılan depresyon ile aktive edildiğinde moleküler kaskad şeklinde önce nöronal pannexin-1 büyük kanallarının açılması ardından kaspaz-1'in aktivasyonu ile proenflamatuar aracılardan salınması ve ardından astrositlerde Nükleer Faktör Kappa B aktivasyonu ve pial damarların etrafındaki trigeminal sinir liflerine inflammatuar sinyal iletimi olduğu düşünülmektedir (40, 41). Aurasız migrende kortikal yayılan depresyon ve

depolarizasyonun beynin bilinçli algılanan bölgelerinde (örneğin, beyincik) olmamasının neden olabileceği düşünülmektedir (42).

2.3. Migren ve Genetik

2.3.1. Aile ve İkiz Çalışmaları

Migrenin kompleks bir rahatsızlık olduğu, oluşumunda genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonlarının etkili olduğu düşünülmektedir. Etiyolojisinde ailesel yatkınlığın olduğu, genetik olarak klasik kalıtım ile açıklanamadığı ve bunları analiz etmek için aile ve ikiz çalışmalarının önemli klasik yöntemler olduğu düşünülmektedir (43-45). Ulrich ve ark. (43) yaptıkları çalışmada 1953 ve 1960 yılları arasında Danimarka’ da doğan 2026 tek yumurta ve 3334 aynı cinsiyetten çift yumurta ikizlerinden oluşmaktadır. Probandlar arası uyum oranı tek yumurta ikizlerinde kolerasyon 0.68 olarak saptanmış, beklenildiği gibi tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (43). Migrene genetik ve çevresel etkileri, ülkeler arasındaki yaygınlığı ve kalıtımı araştırmak için Avustralya, Danimarka, Finlandiya, İsveç, UK ve Hollandayı kapsayan altı ülkedeki 29,717 ikiz çiftiyle yapılan bir çalışmada sırasıyla %32 Danimarkalı ve %34 Hollandalı kadınlarda en yaygın olduğu, en az yaygınlığın %13 genç ve %10 yaşlı Finlandiyalı gruplarda olduğu tespit edilmiştir (46). Finlandiya ve İsveç düşük yaygınlık ve kalıtıma sahipken, Danimarka ve Hollanda yüksek yaygınlık ve kalıtıma sahip bulunmuştur (46). Diyet ya da düşük sıcaklıklar gibi çevresel faktörlerin Finlandiya ve İsveç gibi yaygınlığı düşük olan ülkelere migrene karşı koruyucu olabileceği düşünülmüş, genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir (46).

2.3.2. Migren ve Gen Polimorfizmleri

Migrenle ilgili ilk genetik çalışma, migrenin nadir alt tipi olan FHM üzerinedir. FHM patogeneğinde tip 1, 2 ve 3 ile CACNA1A, ATP1A2 mutasyonlar ve SCN1A genleri sırası ile tanımlanmıştır (47). CACNA1A voltaj kapılı nöronal kalsiyum kanalının ekspresyonu ile merkezi sinir sistemi (CNS) boyunca Cav2.1 (P/Q türü) 'in bir alt birimini kodlar. Bu gende migrenin klinik seyrini etkileyen 21 mutasyon tespit edilmiştir (47). ATP1A2 sodyum-potasyum pompasının alt birimini kodlar ve bu genin içinde hastalığın seyrini etkilemeyen 30 mutasyon bulunmuştur (48). FHM ile ilişkili son gen, SCN1A, nöronal voltaja bağımlı sodyum (Nav1.1) kanalının alt birimini kodlar (49). FHM ile yapılan genetik çalışmalar iyon taşıyıcı genler ve nörotransmitter yollarının migren patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (50, 51). Migrenin geniş bir genetik heterojenite göstermesi oligogenik/poligenik olması muhtemeldir (51). Auralı ve aurasız migrenle

ilgili yapılan moleküler genetik çalışmalarda en sık incelenen genler homosistein (Hs), serotonin (5-HT), hipokretin-1 ve glutamat genleridir (52).

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), MTHFR geni tarafından kodlanır homosistein metabolizmasında anahtar bir enzimdir, homosisteinin metionine dönüşmesi için gereklidir (52). Homosistein potansiyel olarak toksik bir amino asittir ve fazla miktarı vasküler doku yenilenmesine neden olmaktadır. Migren atağının başlaması ve devamında beyindeki oksijen akışının azalması, homosistein ile ilişkili endotelial işlev bozukluklarının oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir (53). MTHFR, rs1801133 (C677T) en yaygın polimorfizmi, sadece migrene özgü değildir, aynı zamanda kalp hastalıkları, nöral tüp defekti, inme, yüksek kan basıncı, glokom ve diğer bazı durumlarda da yer almaktadır (2, 54, 55). Bu polimorfizm, enzimin katalitik etki alanı içinde yer alan pozisyon 222'deki alaninin valin ile yer değiştirmesiyle oluşmaktadır. Sonuç olarak, bu yer değişikliği proteinin kuaterner yapısını değiştirmekte ve enzimin aktivitesi azalmaktadır. MTHFR ortalama aktivitesi CC genotipi ile kıyaslandığında, TT varyantı taşıyıcılarda % 30 ulaşır, CT genotipi taşıyan bireylerde ise % 65 tir (2, 56, 57). Genetik değişim varlığı doğrudan kan homosistein seviyelerinin yükselmesine yol açar. Bu da migren ve kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olan hafif hiper homosistein, olarak bilinen bir durumdur. Kafkas ve Moğol toplumlarında yapılan çalışmalara göre, TT genotipi MO alt türü etkilemez iken, MA riskini önemli ölçüde artırmaktadır (53, 56). Güncel meta-analiz çalışmaları bu hipotezi doğrulamaktadır (54, 57). Ek olarak alınan B vitaminlerinin (B6, B9, B12) artan homosistein için bir çare olabileceği düşünülmektedir. Altı aylıktan uzun süre içinde günlük B vitaminleri takviyesinin baş ağrısı yoğunluğunu ve homosistein düzeyini azalttığı gösterilmiştir (57).

KCNK18 (potasyum kanal alt familyası elemanı 18) geni Lafreniere ve ark. (59) tarafından auralı migren ile kuşaklarca aktarılan ilk migren geni olarak tanımlanmıştır. Bu gen, iki gözenekli potasyum kanalı TRESK'i kodlar. En ilgi çekici varyant, bir çerçeve kayması mutasyonudur ve ilk transmembran bölgede TRESK proteinin erken kesilmesine yol açar. Yabani tip kanalın dominant-negatif baskılanmasıyla bu mutasyon sonucu fonksiyonel olmayan bir protein oluşur. Fonksiyonel analizler; mutant TRESK alt birimlerini ifade eden nöronların eşik üstü uyaranlara cevaben aksiyon potansiyeli başlatılması için bir alt akım eşiği ve daha yüksek bir pik frekansına sahip olduğunu ortaya koymuştur (59, 60). Mutasyon sonucu trigeminal sinirde nöronların hipereksitabilite olduğu ve muhtemelen trigeminal nosiseptif yolunda migren baş ağrısının duyarlılığına bir artış olduğu görülmüştür (60). TRESK'in, yeni analjezik geliştirilmesi için potansiyel bir hedef olabileceği düşünülmektedir (60).

Serotonerjik sistemin migren patogenezinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (61). 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptör agonistlerinin migren farmakoterapisi üzerinde etkili olduğu bilinmekteyken; 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} ve 5-HT_{2C}'lerin çok sayıda polimorfizmlerinin etkisi hala araştırılmaktadır (61). Ayrıca 5-HT'nin varyantlarından SLC6A4 transporter geni analiz edilmiş ve bu gende iki işlevsel polimorfizm gözlenmiştir. Bunlardan biri değişken sayıda ardışık

tekrar dizileri (VNTR) polimorfizmi olarak nitelendirilmekte, 17 bp uzunluğunda ve ikinci intronda bulunmaktadır. 2.10 ve 2.12 varyantlarının ikisinde migren hastalarında yaygın görülmesine rağmen yapılan meta-analiz çalışmasında sadece 2.12 varyantı ile migren arasında bir ilişki gösterilmektedir (62). Buna karşılık, ekleme/silme polimorfizmi 5-HTTLPR geninin düzenleyici bölgesinde uzun varyant L ve kısa varyant S olarak, 44 bp uzunluğunda iki alelik formda bulunmaktadır. Sağlıklı popülasyonda S alelinin sıklığı % 42-43 arasında değişmektedir. Meta-analizlerde, aile çalışmalarında olduğu gibi genel popülasyonda 5-HTTLPR polimorfizmleri ile migren arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki gösterilmemiştir (61, 62). Bununla birlikte, Schurks ve ark. (63) tarafından S aleli taşıyan Avrupalı kadınların taşımayan Avrupalı kadınlara göre iki kat migren geliştirmesinin muhtemel olduğunu göstermektedir.

HCTR1 (hipokretin reseptör 1) migrenle ilişkisi olduğu düşünülen bir diğer gen dir. Hipokretin (Oreksin) sistem nöropeptid transmitterleri hipokretin-1, hipokretin-2 ve G-protein bağlı reseptörleri içermektedir. 408. pozisyonda yer alan izolösin ile valinin değişikliğe yol açan rs2271933 polimorfizminin MO için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir (64). GG genotipi taşıyıcıları ile karşılaştırıldığında hastalığın, AA genotipine sahip olan bireylerde, iki kat fazla olduğu görülmüştür (64). rs227193 polimorfizmi için A alleli sıklığının farklı popülasyonlar arasında değiştiği gösterilmiştir (64). Avrupa popülasyonunda A alleli % 37 bulunurken, Asya ve Afrika popülasyonlarında % 70'den fazlaya ulaştığı gösterilmiştir (64). rs10914456 ve rs4949449 polimorfizmleri ile migren arasında bir ilişki tespit edilmemiştir (65). Hipokretin sisteminin ağrı modülasyonu, otonom sistemin düzenlenmesi ve stres yanıtı gibi birçok işlevi bulunmaktadır. Yapılan bazı çalışmalara göre, hipokretin-1 ağrı, otonomik değişiklikler ve primer baş arasında bir ilişki vardır (65, 66). Sıçan nöropatik ağrı modelinde yapılan çalışmalar posterior hipotalamus içine hipokretin-1 mikroenjeksiyonunun dural ve elektrik stimülasyonu için yanıtı azaltarak analjezik bir etkiye neden olduğunu göstermektedir (67, 68). Hipokretin-1'in TGVS üzerine kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP) salımı, indirgenmiş glutamat ve küçük düzey GABA (γ -aminobutirik asit) salımını azaltarak etki ettiği düşünülmektedir (68). Migren tedavisinde hipokretin sistemini hedef alan yeni yöntemlerin kullanılabileceği de düşünülmektedir (69).

Glutamat CNS'de uyarıcı bir nörotransmitterdir ve CSD duyarlılığı arttırarak TGVS aktivite ettiği düşünülmektedir. GRIA1-GRIA4 genleri AMPA reseptörünün dört tip alt birimini (GluR1-GluR4) kodlamaktadır (70). Formicola ve ark. (71) tarafından GRIA1 rs548294 ve rs2195450 polimorfizmleri ve MA arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bu grup rs548294 değişkeninin önceden MO ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bazı SNP'lerin ortak bir mekanizma sonucu hem MA ile hemde MO ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (71, 72). Ayrıca, düzenleyici bölgelerde olan polimorfizmlerin (rs2195450 ve rs3761555) promotorlara bağlanma yerlerini değiştirilebildiklerini böylece transkripsiyonu ve bu genlerin ekspresyonunu azaltmakta olduğu düşünülmektedir (70, 73).

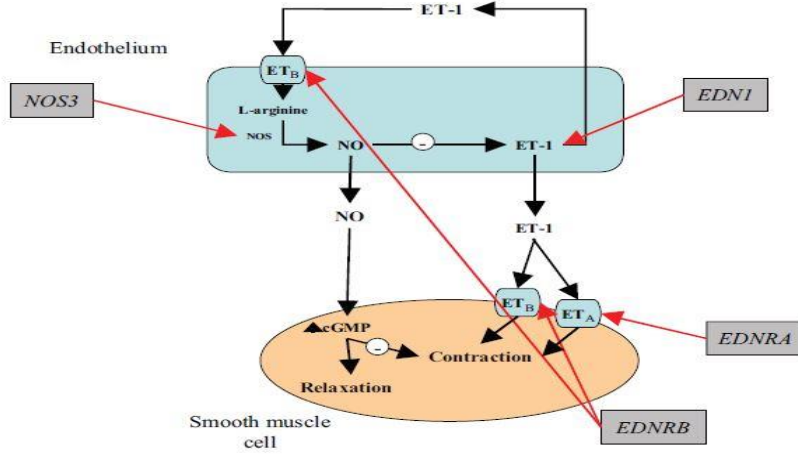
Migren ile ilişki olabileceği düşünülen başka bir gen grubu presinaptik membran ile sinaptik veziküllerin bağlantılarının birleştiği yerde sinir sistemine özel proteinler olan sintaksinler olarak düşünülmektedir (74). STX1A geninde çeşitli SNP'ler incelenmiştir. rs941298'in TT genotipi MO ile istatistiksel olarak anlamlı alelik ilişki göstermiştir (75). Haplotip analiziyle rs6951030'un G alelinin hem MA hem de genel migren için koruyucu olduğu gösterilmiştir (76). rs2293489 ilişkili bulunurken, rs4363087 ve rs3793243 varyantları ve migren arasında ilişki saptanmamıştır (75-77). Bütün bu çalışmalar, STX1A geninin migren için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Migren esnasında intra kraniyal damar kasılması ve ardından ekstra kraniyal damar gevşemesinin acıya neden olduğu düşünülmektedir. Trombosit aktivasyonu ve plazmanın pıhtılaşmasının da migren atakları sırasında arttığı göz önüne alındığında, vasküler endotelial fonksiyonu etkileyen genlerin serebral kan akımı değişikliklerinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (78). Bu nedenle endotelial fonksiyona katılan genler, özellikle vasküler tonusu düzenleyenler, migrene yatkınlık için aday genler olarak düşünülmektedir (79-81). Son zamanlarda yapılan çalışmalar migrenin kompleks, heterojen ve nörovasküler özellikte olduğunu desteklemektedir. Bu çalışmada amacımız, nörovasküler bir santral sinir sistemi bozukluğu olan migrende, vasküler hipotezin temelinde yatan endotel fonksiyonunun genetik kökenlerini araştırmaktır. Bu nedenle Endotelin Reseptör A geninde seçtiğimiz polimorfizmleri Mersin ve İstanbul popülasyonlarında incelemiş bulunmaktayız.

2.3.3. Endotelin Geni

1988 yılında, Japon bilim adamı Yanagisawa ve ark. (82) tarafından domuz aortik endotelial hücre kültürü ortamından adı endotelin (Endotelin, EDN) olan aktif bir peptit, saflaştırılmış ve izole edilmiştir.

Endotelin 21 aminoasit içeren, molekülünde iki disülfid köprüsü bulunan vazokonstrüktör bir peptittir. Aynı zamanda nöronal etkileri de bulunmaktadır. Endotelinin ET-1, ET-2 ve ET-3 olmak üzere üç farklı formu vardır ve reseptörleri ETA, ETB ve ETC dir. ET-1 geni Kromozom 6p23-p24 üzerinde EDN1 geni tarafından kodlanır. EDN1 geni 5 ekzondan oluşur ve genomik DNA 6836 nükleotid uzunluğundadır (83).



Şekil 2.1: Endotelial Fonksiyonu Kodlayan Aday genler (84).

Endotelin 1 (ET-1), vasküler endotelial hücreler ve birçok diğer hücre tipi tarafından üretilen, dominant vazokonstriksiyon aktivitesi ve mitojenik etki gösteren bir endojen polipeptittir (85, 86). Kalp üzerinde pozitif inotropik ve kronotropik etkilere sahiptir, sempatik ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemlerini uyarır ve homeostazı değiştirir (86). ET-1 biyolojik etkilerini Endotelin tip A (ETA), endotelin tip B (ETB), gibi farklı reseptörler ile göstermektedir. Bu reseptörlerden ETA reseptörleri vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilmektedir. ET-1 (5, 85, 86).

ET-1 geninin transversiyon, transisyon, insersiyon ve tekrarlanan nükleotid polimorfizmi gibi bir çok varyantı incelenmiş, özellikle hipertansiyon, koroner hastalıklar, anjin, akut koroner sendromu gibi kardiyovasküler sistem hastalıkları ile ilişkili olanlar ve astım, pulmoner ödem, işitme bozukluğu, obezite ve uyku apnesi gibi farklı birçok hastalık ile ilgili literatür bulunmaktadır (86-93).

İlk olarak, endotelin dönüştürücü enzim (ECE), büyük endotelini biyolojik aktiviteye sahip olan peptidlere dönüştürür ve ardından G protein bağlı reseptörler; endotelin reseptör A (EDNRA) ve endotelin reseptör B (EDNRB) aracılığıyla vücutta biyolojik etkilerini gösterir. Endotelin sistemi EDN, EDNRA, EDNRB ve ECE tarafından oluşmaktadır. Moleküler biyoloji teknikleri ve EDN sistemin farmakolojik inhibisyonu ile yapılan çalışmalar EDN-1 in vivo kardiyovasküler dengeyi koruduğunu göstermektedir (87, 88). Ayrıca, EDN-1 hipertansiyon, glomerüler skleroz, ateroskleroz, kalp yetmezliği gibi arterlerde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açarak önemli bir rol oynar (87-89).

EDN-1 rs5370 (Lys198Asn) polimorfizmi ile yapılan çalışmalar hipertansiyon, vücut kitle indeksi, yüksek dansiteli lipoprotein düzeyine sahip koroner kalp hastalığı ve iskemik inme olan hastalar ile ilişkili olduğunu göstermiştir (89-92).

EDN-1 rs1800541 polimorfizmi ile İngiltere ve Norveç popülasyonlarında yapılan bir çalışmada bu polimorfizmin astımla ilişkisi gösterilmiştir (93).

Panoulas ve ark. (94) yaptıkları çalışma ile romatoid artrit hastaları rs1800541 ve rs5370 polimorfizmleri T-T haplotip taşıyanlarda kan basıncı, tansiyon, nabızda artış olabileceği gösterilmiştir.

EDNRA vazokonstriksiyon ve hücre çoğalmasına, EDNRB ET-1 temizlenmesi, endotelial hücrelerin hayatta kalmasına ve nitrik oksit ve prostasiklin salınmasına aracılık eder. EDNRA ve EDNRB in damarlar üzerine etkileri karşıttır (95).

EDNRA rs5333 (His323His) gen polimorfizmi ile erkeklerin karotis intima-media ortalama kalınlığı arasında anlamlı bir ilişkili bulunmuştur (96).

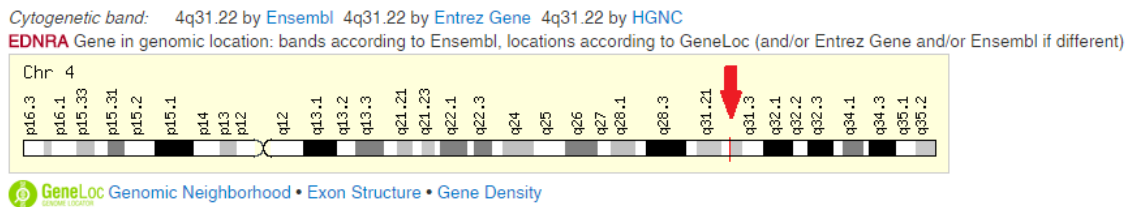
EDNRA rs5335 polimorfizmi akciğer fonksiyonu, hipertansiyon ile ilişkili, EDNRB geni rs5351 polimorfizmi ile erkek üst kol ve ayak bileği arasındaki nabız dalga hızı arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur (96, 97, 98).

EDNRA G-231-A polimorfizmleri EDNRA geninin 5' translayona uğramamış bölge (UTR) içersindedir. 5'-UTR, polimorfizmlerinin işlevsel sonuçları gen transkripsiyonlarını düzenleyici diziler ve gen ekspresyonu seviyesindeki farklılıklar ile ilişkili olabilir. Ayrıca, 5'- ve 3'-UTR polimorfizmleri yeni uç uca eklenen bölgeler oluşturabilir ve böylece reseptör işlevini etkileyebilir. Bu polimorfizmler, mRNA stabilitesi üzerinde önemli etkileri olabilir ve böylece fonksiyonel reseptörün toplam miktarına etki edebilirler. Ayrıca, reseptör-ligand etkileşimlerini de değiştirebilirler (99, 100). Aydın ve ark. (99) yaptıkları çalışma sonucuna göre EDN1 5665 ve -1370 ile Hashimoto tiroiditi hastalığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, EDNRA +70 polimorfizmi G allelinin Hashimoto tiroiditi hastalığında 40 yaşından önce erken başlangıca karşı koruyucu olduğunu gösterilmiştir.

Ogiuri ve ark. (101) yaptıkları çalışma sonucuna göre de EDNRA geni -231 G aleli taşıyan metabolik sendromlu kişilerde, kalp krizine karşı koruyucu bir etki olduğu gösterilmiştir.

2.3.4. EDNRA Geni

EDNRA geni 4q31.22'de lokalizedir. Bu gende 8 ekzon ve 7 intron yer almaktadır (şekil 2.2) (102).



Şekil 2.2: Endotelin Reseptör A geninin 4. kromozom üzerindeki lokalizasyonu (102).

Primer uzatma deneyleri ile belirlenen transkripsiyon başlangıç bölgesi, metiyonin başlatma kodununun 502 bp üstünde yer almaktadır (103). Hosoda ve ark. (103) 1992 yılında insan EDNRA genini izole etmişlerdir. Southern blot analizleri, tekli kopyada mevcut olduğunu göstermiştir. Northern blot analizleri 4.3 kb mRNA, çok çeşitli insan dokularında en yüksek seviyede aortta ve mezengial hücrelerde olduğunu göstermiştir (103). Endotelin reseptör A (ETA, EDNRA) geni vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilir. Bu gen, endotelin-1 için uzun süreli vazokonstriksiyonu sağlayan reseptör görevi olan bir peptidi kodlamaktadır. Bu reseptör Guanin-nükleotid-bağlayıcı (G) proteinler ile etkileşerek fosfatidilinositol kalsiyum ikincil haberci sistemini aktive eder (104).

Tzourio ve ark. (105), Nantes, Fransa'da 1.188 bireyin katıldığı popülasyon temelli bir çalışma ile migren ve endotelin sisteminin, gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 140 katılımcıya (%11.9) migren tanısı konmuştur. Sadece EDNRA A-231G polimorfizmi ile migren arasında anlamlı bir ilişkili tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada migren nöbetleri esnasında ve arasında plazma ET-1 düzeyinde artış olduğu bulunmuştur. Auralı ve aurasız migren arasındaki ET-1 düzeylerinde de hiçbir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu yüzden ETA polimorfizmi ve migren arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (105).

2.3.5. Endoteliyal Disfonksiyon

Özellikle auralı migren, bazı ciddi damar bozuklukları (iskemik inme, kalp krizi, iskemi yüzünden ölüm, koroner yeniden damarlanma ve göğüs sıkışması gibi) ile ilgili riski artırdığı düşünülmektedir (106, 107). Bu durum migrende vasküler mekanizmanın önemini açıkça göstermektedir.

Endoteliyal disfonksiyonun migren ve felç arasında bağlayıcı bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (108). Endotelyal disfonksiyon vazodilatör faaliyetlerinde azalma, endotel kökenli vazokonstiktörlerde artış ve damarsal vasküler reaktivite sonucu bozuklukla karakterizedir. Bu durum proimflamatuvar ve proliferatif aşamada ateroskleroz durumuna yol açabilmektedir (108). Migrende endoteliyal disfonksiyon markerleri, yüksek vWF antijeni, vWF aktivitesi, yüksek duyarlılık C-reaktif proteini ve düşük nitrat düzeyleri bulunmuştur (108, 109). Endotelyal progenitör hücre sirkülasyon (EPC) çalışmaları migrende hastalık süresi uzadıkça, migrenle EPC sayısı ve fonksiyonunda azalma olduğunu göstermiştir (110, 111). Bir başka çalışmada EPC sayısı azalmamıştır fakat aktif EPC sayısı migrenlilerde daha yüksek olduğu anlaşılmıştır (112). Dolaşımdaki endotelyal mikropartiküller MA ile kadınlarda yükselmiştir bu endotel aktivasyonunun migren patofizyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (113). Migrende sistemik ve serebral endoteliyal disfonksiyon arasındaki ilişkinin önemli olduğu düşünülmektedir (106). Gelecekte, migrenlilerin inme riskini azaltmak için, serebral endoteliyal disfonksiyonunda araştırılması gerektiği düşünülmektedir (106).

2.3.6. Migren ile İlişkili Biyokimyasal Markerlar

Uluslararası Sağlık Biyomarker Tanımlamaları Çalışma Grubu enstitüsünün 1998 yılında önerdiği tanımına göre, bir biyomarker; terapötik müdahaleler için normal biyolojik süreçlerin bir göstergesiymiş gibi objektif olarak ölçülen ve değerlendirilen patojenik prosesler ya da farmakolojik yanıtlarla karakteristiktir. Biyomarkerlar, tanı, terapötik risk, ilerleme ve/veya belirti göstergeleri olarak ayrılabilirler (114).

İdeal bir biyomarker özellikleri:

- Yüksek hassasiyet ve özgüllük
- Yüksek öngörü değeri
- Analitik kararlılık
- Analizleri nispeten kolay ve ucuz
- Tekrarlanabilir metod (115).

Genetik varyantların ve yeterli çalışmanın olmaması nedeniyle sadece migrene özgü biyomarkerlar bulunmamaktadır (115).

Biyokimyasal çalışmalar özellikle MO migrende nöromodülatör ve nörotransmitterlerin sentezinde metabolik anormallikler olduğunu göstermektedir (116). Örneğin, tirozin metabolik yolu noradrenalin (NE) ve dopamin (DA)'in eser aminlerle (triamin, oktopamin ve sinefrin) birlikte anormal düzeyde üretimine sebep olduğu düşünülmektedir (116). Bu durum CNS'de bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ve daha yüksek glutamat konsantrasyonu ile ilişkilendirilmektedir (117). Bu nörotransmitterler ve nöromodülatörlerin ağrı yollarındaki dengesiz seviyeleri sinaptik dopaminerjik ve noradrenerjik yarıklarda CGRP 'den salınan TGVS' yi aktive edebileceği düşünülmektedir. Bu olayın, doğrudan migren krizini indükleyebileceği düşünülmektedir (117).

CGRP, ağrı iletimi ve inflamasyon artışı ile bağlantılıdır (118). CGRP'nin TGVS aktivasyonuna karşılık olarak şiddetli migren atakları sırasında salındığı düşünülmektedir (119). CGRP'nin infüzyonu MA hastalarında migren benzeri atakları tetiklediği gösterilmektedir (120). CGRP'nin tükürük ve plazma seviyeleri migren ataklı hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında hastalarda daha yüksek bulunmuştur (121). Kültüre edilmiş trigeminal nöronlarla yapılan bir çalışma, migren farmakoterapilerinin TNF- α , bu peptidin transkripsiyonu uyarabilmesine rağmen hem CGRP transkripsiyonunu hem de CGRP salınımını azaltabileceğini göstermektedir (122). Diğer bir çalışmaya göre tükürük seviyesindeki CGRP'nin artışı rizatriptana daha iyi bir yanıt ile ilişkilidir ve CGRP'nin, terapötik bir marker olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (123).

Glutamat'ın TGVS ve CSD içeren yolları aktive edilebileceği düşünülmektedir. Glutamat migrenlilerde özellikle kronik migreni olanlarda plazma, trombositler ve beyin-omurilik sıvısında (BOS) artmış konsantrasyonlarda bulunmaktadır (124). Birçok araştırmaya göre glutamat alımı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MO'da azalma olurken, MA'yı artırabildiği düşünülmektedir

(124-127). Plazma glutamat konsantrasyonunun azalması MO'lu hastalarda profilaksi olumlu yanıt göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (127).

Plazma trombositlerinden salınan 5-HT'nin aura mekanizmasında yer alabileceği düşünülmektedir. Izzati-Zade (128) tarafından aura atakları sırasında trombositlerde depolanmış 5-HT'lerin azaldığı gözlenmiştir. Migren atakları arasında, 5-HT plazma seviyesinin azaldığı ve ilgili metabolit hidroksi indol asetik asit konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (129, 130). Bu durum ataklar esnasında ise tersine çevrilir. 5-HT'nin düşük konsantrasyonunun CSD ile indüklenen trigeminovasküler nosiseptif yolağının aktivasyonunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (130).

Kronik migren hastalarında hipokretin-1 düzeyi yüksek konsantrasyonda ve ağrı kesicilerin kullanımı ile aralarında bir kolerasyon gözlenmiştir (131). Yüksek hipokretin-1 düzeyinin migren krizinin erken aşamaları ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (132).

2.8. Migren Tedavisi

Migrenin başarılı yönetimi doktor ve hasta arasında etkin bir ittifak kurulmasına dayandırılmaktadır. Tanının dikkatli bir şekilde hastaya açıklanması ve doğru anlaşılması gerekmektedir. Baş ağrısı günlüğü planlama ve değerlendirilmesi tedavi için çok değerli bir araç olabilmektedir. Baş ağrısının olduğu günler, ağrı şiddeti, ilaç kullanımı ve yanıtı, hastanın yaşam tarzı ve davranışların diyet, uyku, egzersiz, migreni tetikleyiciler gibi ağrı bilgilerinin dikkatli ve ulaşılabilir bir ağrı kaydının tutulması önleyici stratejilerin ihtiyacını belirlemede ve tedavi sonuçlarını değerlendirmesinde önemli olabilmektedir (133).

Engellilik ölçekleri, örneğin Migren İş Yapamama Değerlendirmesi Skoru (MIDAS) baş ağrısının günlük yaşamı üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılmakta ve çok yardımcı olduğu düşünülmektedir (134).

Hastaların biofeedback yöntemi, gevşeme terapisi ve bilişsel davranışçı terapiler gibi migrenin önlenmesinde etkin olabilecek farmakolojik olmayan yaklaşımlara teşvik edilmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir (135). Morgan ve ark.(135) yaptıkları çalışma ilaç tedavisine ek olarak gevşeme ve bilişsel davranışçı terapi (CBT) gibi davranışsal müdahalelerin migren tedavisinin etkinliğini arttırdığını göstermektedir.

Migren tedavisi başlıca akut ve önleyici tedaviler olarak ayrılmaktadır (136). Mevcut akut tedaviler; Analjezikler ve NSAID ilaçlar, Antiemetikler, Barbitüratlar, Selektif 5HT1 Agonistleri gibi zamanla artmış bulunmaktadır. Şu anda, önleyici migren tedavisi spesifik (Ergot türevleri ve Triptanlar) ya da spesifik olmayan (Analjezikler ve Steroidal olmayan anti-enflamatuar ilaçlar) olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak Beta Blokerler, Antidepresanlar, Antiepileptik ilaçlar kullanılmaktadır (136). Akut semptomatik tedavi optimize edilebilir olsa da, migren, kronik ve ilerleyici potansiyel durum olmaya devam edebilmektedir (136).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denek Grubu

Çalışma grubumuza Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran ve ICHD-3 tanı kriterlerine göre Migren tanısı almış, 18-65 yaş aralığındaki başka hiçbir nörolojik hastalığa sahip olmayan 184 hasta dahil edildi.

Kontrol grubu, kendisinde migren veya herhangi başka bir nörolojik hastalık tanısı konmamış, 18-65 yaş aralığındaki 184 sağlıklı bireyden oluşturuldu.

Çalışmamızda proje destek miktarı ile ilgili malzeme yetersizliği nedeniyle hasta grubumuzdan 150 birey ile kontrol grubumuzdan 150 bireyin analizi yapılabildi.

Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireylerden çalışmaya dahil olmayı kabul ettiklerine dair etik kurulda belirtilen yönergelerle uygun bir biçimde hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formunu okuyup imzalamaları istendi. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden her bireyden 6-7 ml periferik kan alınarak 1 ml, % 2'lik EDTA içeren santrifüj tüplerine konularak DNA eldesine kadar +4 °C'lik buzdolabında saklandı.

3.2. Kullanılan Gereçler

3.2.1. Cihazlar

- ABI Prism 7500 Real Time-PCR System (Applied Biosystems) cihazı
- Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)
- Santrifüj (Nüve NF-800)
- Etüv (Nüve EN-500)
- Otoklav (Nüve OT 4060 V)
- Vorteks (VELP)
- Mikropipet Seti (Eppendorf)
- Derin Dondurucu (Arçelik-2031D)
- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF).

3.2.2. Kimyasal Maddeler

- EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Sigma E-5134)
- TrisHCL (Tris-Hidroklorid) (Sigma T-7149)
- DNA izolasyon kiti (Nucleospin)
- SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)
- Absolute Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Proteinaz K (MBI Fermentas E00491)
- Steril distile su (Respiflo 21000)
- Amonyum asetat (AMRESCO MW 77.08)
- 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems), 40X Assay Mix (Applied Biosystems, 4351379) (*rs1801708*; C_8869375_10, *rs5333*; C_1736670_1_).

3.2.3. Çözeltiler

Bu çalışmada Manuel DNA izolasyonu ve Kit Yöntemi kullanıldı.

Manuel DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler;

- Nüklei Lizis Buffer çözeltisi
- 1.576 g Tris-HCl (Tris Hidroklorikasit)
- 23.4 g NaCl (Sodyum Klorür)
- 0.7 g Na₂EDTA (Disodyum Etilendiamin tetraasetik asit)
- %10 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Çözeltisi
- 10 M Amonyum Asetat Çözeltisi (148 g Amonyum Asetat, 200 ml distile su ile 200 ml'ye tamamlanır)
- Proteinaz K (Fermentas) (Liyofilize 100 mg proteinaz-K, 10 ml steril distile su ile çözüldü).

3.3. DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol bireylerine ait EDTA'lı tüplere alınmış periferik kandan kit ve manuel yöntem kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi (*Nucleospin Genomic Dna From Blood Macherey-Nagel Germany*) ve Miller tuz çöktürme yöntemi kullanıldı.

3.3.1. Miller Tuz Çöktürme Yöntemi

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden DNA izolasyonu için 6-7 ml periferik kan alındı. Periferik kanın 4-5 ml'si, içinde 1 ml EDTA bulunan 15 ml'lik polipropilen santrifüj tüplerine konularak +4°C'de saklandı. Aşağıdaki DNA izolasyon basamaklarına geçildi (kalan örneklerin DNA eldesi, kit izolasyonu ile gerçekleştirildi) (137).

1. Gün Basamağı:

1. Periferik kan örnekleri, steril soğuk distile su ile 10 ml'ye tamamlandı ve 2-3 dk hızlı olarak çalkalandı.

2. Çalkalandıktan sonra 10 dk 2000 rpm'de santrifüjlenerek; santrifügasyon sonrasında, süpernant kısımları transfer pipeti yardımıyla atıldı. Pellet üzerine steril soğuk distile su ilave edilerek 12 ml'ye tamamlandı.

3. Soğuk distile su eklenen tüpler tekrar hızlı olarak çalkalandı ve 10 dk 2000 rpm'de santrifüj edildi.

4. Supernatant kısım; berrak bir görüntü alana kadar steril soğuk distile su ile yıkama işlemleri yaklaşık 4-5 kere tekrarlandı. Yıkama işlemi sonunda tüm eritrositlerin parçalanarak uzaklaşması sağlandı.

5. Supernatant kısım berraklaştıktan sonra, pelet üzerine 3 ml nüklei lizis tampon eklendi.

6. Nüklei lizis tampon eklenen tüpler yaklaşık 15-20 defa çalkalandı.

7. Tüplere 200 µl % 10'luk SDS ve 150 µl proteinaz-K eklenerek yavaşça çalkalandı.

8. Bir gece 37°C'de etüvde inkübe edildi.

2.Gün Basamağı:

1. İnkübasyon sonrası alınan tüpler; 55 °C'de 1 saat bekletildi.

2. Tüplere 2 ml, 6 M Amonyum asetat eklendi ve karıştırıldıktan sonra 10 dk oda ısısında bekletildi.

3. Tüpler 15 dk 3500 rpm'de santrifüjlendi.

4. Supernatant transfer pipetiyle yeni bir tüpe alındı ve üzerini tamamlayacak şekilde, soğuk absolü etanol (% 99,8) eklenerek, DNA'nın yoğunlaşması sağlandı.

5. Absolü etanol içinde; yoğunlaşıp görülebilir hale gelen DNA mikropipet yardımıyla, dikkatlice mikropipet ucuna sarılacak şekilde alınarak daha önce 500 µl steril distile su konulan ependorf tüplere aktarıldı. 37°C'lik etüvde bir gece bekletilerek, DNA'ların çözünüp homojen hale gelmesi sağlandı. Moleküler analize kadar 4°C'de saklandı.

3.3.2. Kit Yöntemi

1. 200 µl periferik kan alınıp 1.5'lik ependorf tüplere, mikropipet yardımıyla aktarıldı.
2. 25 µl proteinaz K ve Buffer B3 solüsyonu, 200 µl periferik kanın bulunduğu tüpe eklenerek, 10-20 sn. hızlıca vortekslendi.
3. 70 °C'lik etüvde 10-15 dk. bekletildi.
4. Örnekler etüvden çıkarıldıktan sonra 210 µl absölü etanol eklenerek hızlıca vortekslendi.
5. 1,5'lik tüplerdeki örnekler mikropipet yardımıyla filtreli tüplere aktarılarak, mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
6. Santrifüjden çıkarılan filtreli tüplerin toplama tüpleri atılarak yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Örneklerin üzerine mikropipet yardımıyla 500 µl BW (wash buffer) eklendi. Mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
7. Santrifüjden çıkarılan filtreli tüplerin toplama tüpleri atılarak tekrar yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Örnekler üzerine 600 µl Buffer B5 solüsyonu eklenerek mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında toplama tüplerinin içi bir kaba boşaltılarak, filtreli tüpler tekrar toplama tüplerine koyuldu ve 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
8. Santrifüj sonrasında filtreli tüpler yeni 1,5'lik ependorf tüplerine koyuldu ve toplama tüpleri atıldı. 70 °C'lik etüvde bir saat bekleyen Buffer BE (Elüsyon Buffer), etüvden alındı. Filtreli tüplere örnek başına 200 µl BE eklenerek, örnekler oda ısısında 1dk. bekletildi. Bekletildikten sonra tüpler, 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi (izolasyona başlamadan önce Buffer BE (Elüsyon Buffer) 70 °C'lik etüvde bir saat bekletildi).
9. Santrifüj sonrasında DNA örneği filtreli tüpten ependorf tüpe birikerek DNA örneği elde edildi. Moleküler analize kadar 4°C'de saklandı.

3.4. EDNRA Geninin Real-Time PCR ile Çoğaltılması

Çalışmamızda *EDNRA* genine ait *rs1801708*, *rs5333* polimorfizmleri, "Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays" kullanılarak Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Polymerase Chain Reaction) sisteminde çoğaltıldı.

3.4.1. EDNRA'da Çalışılan SNP'lerin Özellikleri

Çizelge 3.1. EDNRA genine ait rs1801708 (138)

Genin adı SNP rs no	EDNRA – rs1801708 [Homo sapiens]
Varyant (M>m)	A>G
Çoğaltılan Sekans	TCCCCGGGAGAAGCAGTGCCCAGGA[A/G]GTTTTCTGAAGCCGGGGAAGCTGTG [VIC/FAM]
Çoğaltılan Bölge	GGGGGCGGCAGCTTTGTGCTTTTTAGTGGCCGCGTCCCAGGATAGCTGGAAGGTTAGGACGCT CTTGCGGTCCCAGAGTGAGTGGAAGGTCTGGAGCTTTGGGAGGAGACGGGAGGACAGACTG GAGGCGTGTTCTCCGGAGTTTTCTTTTTCTGTCGAGCCCTCGCGCGCGGTACAGTCATCCCG CTGGTCTGACGATTGTGGAGAGGCGGTGGAGAGGCTTCATCCATCCCACCCGGTCTGTCGCGGG GATTGGGGTCCCAGCGAGACC TCCCCGGGAGAAGCAGTGCCCAGGA[A/G]GTTTTCTGAAGCC GGGGAAGCTGTG CAGCCGAAGCCGCCGCCGCGCGGAGCCCCGGGACACCGGCCACCCTCCGCGC CACCCACCCTCGCCGGCTCCGGCTTCTCTGGCCAGGCGCCGCGCGGACCCGGCAGCTGTCTGC GCACGCCGAGCTCCACGGTCTGGTGAAGTCTTTCTTATCGGGGACTGGGACTGGGGCGGGTGTGC GGGATGGCGGAGACGCTGCCTGGGCCCTCGGTGGGAGAAGACGAGAGCTGGGAACGTTCTG GCCCGACCGCCCTGCAGCTTGGGCGACCCGT

Çizelge 3.2. EDNRA genine ait rs5333 (139)

Genin adı SNP rs no	EDNRA – rs5333 [Homo sapiens]
Varyant (M>m)	C>T
Çoğaltılan Sekans	TTGCTCTTTGCTGGTTCCTCTTCA[C/T]TTAAGCCGTATATTGAAGAAAACCTG [VIC/FAM]
Çoğaltılan Bölge	TAATGCTAATTAGTTACCTGTTATTAAGAGTCATTAGCTAACCCTTTCCCCATGCAGTCACA CTCCACCCCACTACACACACACAGGCAGACTCAGCCACCTACACACACAGCTGCAGACTC AGCTGGCTCACCTCCAGCCAGTTTCCACCTCTCTCCTGGCATATAACCTCCGTCCTGGCCCTAA TAACCAACCTGAGGCCCCCATCCTTCTGGAAGCTGCCAGAAGCATATTAGCAATTCCTTCG TTAGAACACTGACCTTAGAATCTTG AAGAGGTAGAGGCAGTGTAAGCCAGGCTGTTCTCCTGGCTCTTCTTTGAATTATTCTTTCTCT GGTGTCTGCTACTTCTTGGTACTGTAGTTCTTGCATCTAGTATAAAAACTAAATTTGTTGT CCTATTTTTTTCTCACTTTCCTTTAGCGTCGAGAAGTGGCAAAAACAGTTTTCTGCTTGGTTG TAATTT TTGCTCTTTGCTGGTTCCTCTTCA [C/T]TTAAGCCGTATATTGAAGAAAACCTG TGTATAACGAGATGGACAAGAACCGATGTGAAT TACTTAGGTATGATCCTGTGTACTCGCTAGAAAAATTGGAGTTTCTCAGATTTTCATATTTATA ATACTTTTACAAAACAGCTACTCTACATGCCCGTTAGCCCTGAAAATTTAACTGCAAGTT GATTTTTTTCTTTAGCTGACATAGCCTATAACTGATCCCAAAATGTGTGCAAGCCACATCTGT TATCTTGCCCTCCCTCCTGAGGCTGTGCATAAGGGTTTGAGCTAACCACTAGTGATGTATC TGTAAGTGTCTGCAAACTGAACTGCCGTTTAAACAAGCACTTTTACAAAATTTCTAACTG CCACCCATACGAAATGGCTTCTGGGCAAGAAAAATGCTTATTCTAGGAAGAAATGCTAGTGAG CAGATTTTAAACAATATATTCTAATTATTCTACACCATTTTCTTTTGCTCTAGTTTCTTACT

3.4.2. Real Time-PCR Reaksiyon Ortamının Hazırlanması

Her bir polimorfizm için aşağıdaki Real Time-PCR reaksiyon karışımı kullanılmıştır:

- 12.5 µl.....2X TaqMan Universal PCR Master Mix
- 0.5 µl.....40X SNP Genotyping Assay Mix
- 9,5 µl..... Distile Su

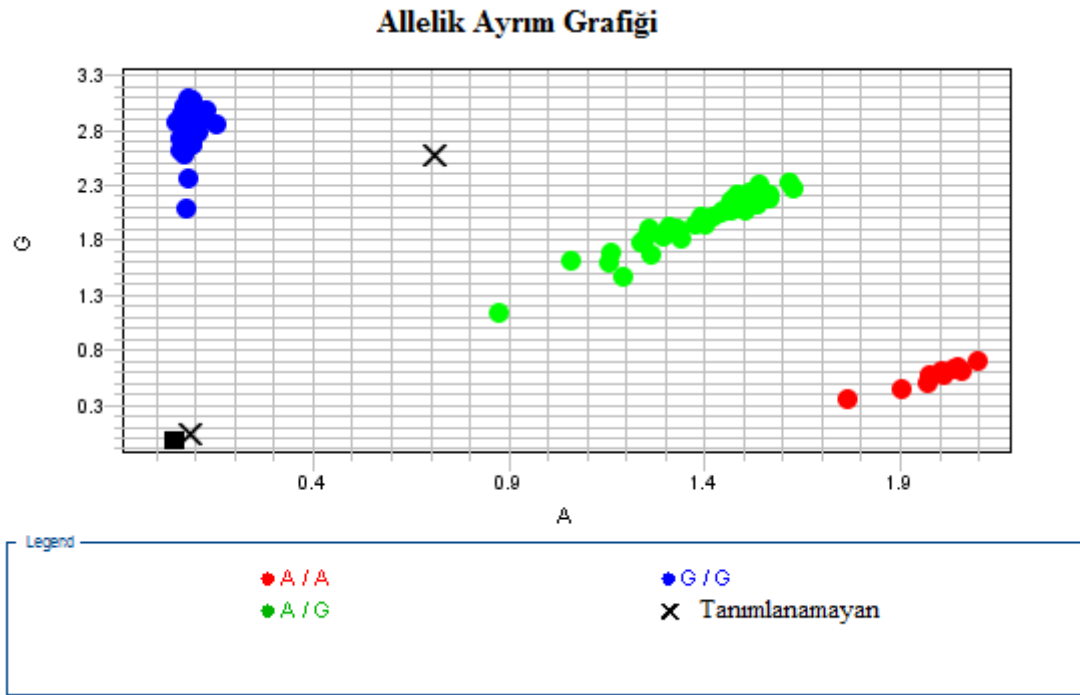
Verilen miktarların her biri çalışmada kullanılacak örnek sayısı ile çarpılarak hazırlandı (Çizelge 3.3). Real Time-PCR reaksiyon karışımı 96 kuyucuklu saydam tabağın (Applied Biosystems) kuyucuklarına dağıtıldı. Her bireye ait DNA örnekleri 2.5 µl olacak şekilde kuyucuklara dağıtıldı. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her bir reaksiyon tabağında örnek DNA içermeyen negatif kontrol kuyucuğu kullanıldı. Reaksiyon karışımı kuyucuklara dağıtıldıktan sonra 96 kuyucuklu tabak için Microamp® TM Optical Adhesive Covers (Applied Biosystems) ile kuyucukların üzeri kaplandı ve Çizelge 3.3'deki protokollere göre SDS 2.0.3 software for allelic discrimination (Applied Biosystems)" programı ayarlanarak tabak cihaza yerleştirildi

Çizelge 3.3. EDNRA genine ait tüm SNP'lerin Real-Time PCR için kullanılan miktar ve protokolleri

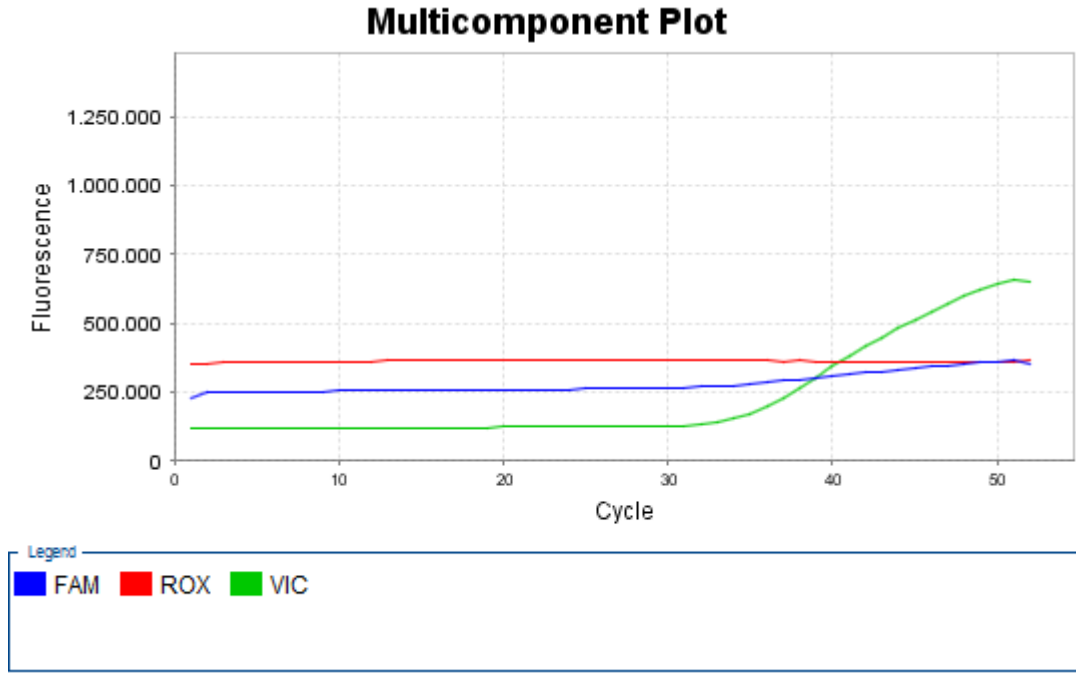
<i>SNP</i>	<i>Protokol</i>	<i>Kullanılan miktar</i>
<i>EDNRA - rs1801708</i>	60°C'de 1 dakika ön inkübasyon1 döngü 95°C'de 10 dakika aktivasyon1 döngü 95°C'de 15 saniye denatürasyon..... 50 döngü 58°C'de 45 saniye bağlanma/uzama.....50 döngü 60°C'de 1 dakika PCR sonrası okuma.....1 döngü	Master mix.....12,5µl Assay mix.....0,5 µl Distile su9,5 µl
<i>EDNRA - rs5333</i>	60°C'de 1 dakika ön inkübasyon..... 1 döngü 95°C'de 10 dakika aktivasyon1 döngü 95°C'de 15 saniye denatürasyon.....50 döngü 53°C'de 1 dakika bağlanma/uzama..... 50 döngü 60 °C 1 dakika PCR sonrası okuma..... 1 döngü	Master mix.....12,5µl Assay mix.....0,5µl Distile su9,5 µl

3.5. Genotip Tayini

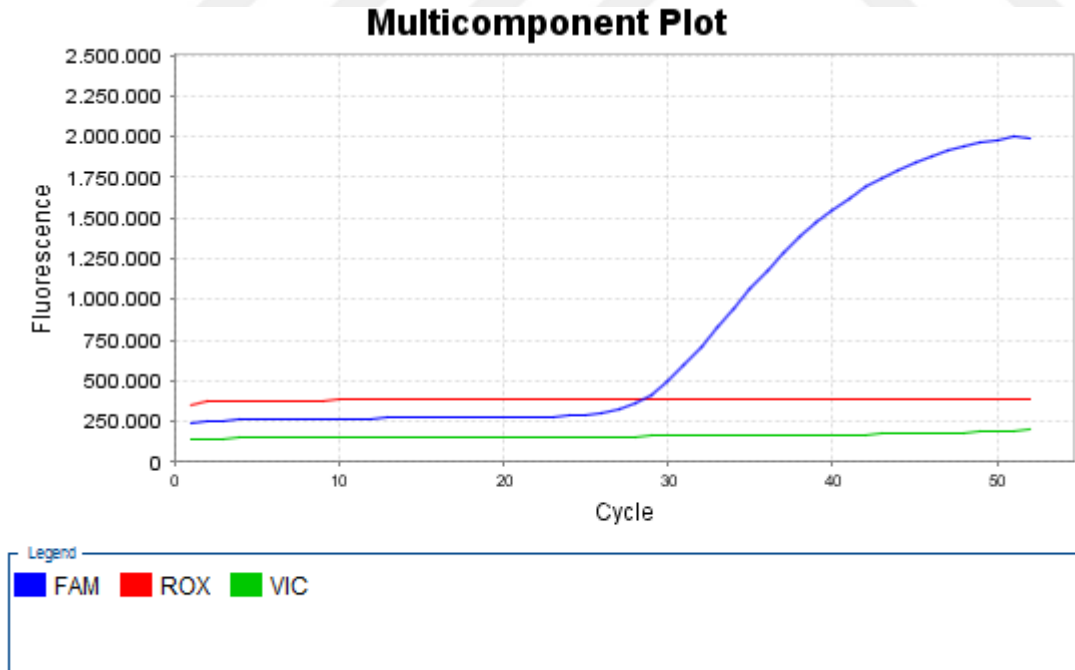
EDNRA gen polimorfizmleri (*rs1801708* ve *rs5333*) için 150 hasta ve 150 kontrol ile yapılan çalışmada, her bir birey için “Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays” sistemine göre Real Time-PCR yöntemiyle genotip tayini yapıldı. *EDNRA* gen polimorfizmlerine ait alleller uygun floresan boya ile işaretlenip (*EDNRA-rs1801708* için A= **VIC**, G= **FAM**, *EDNRA-rs5333* için C= **VIC**, T= **FAM**) elde edilen amplifikasyon eğrileri ile her bir örneğin genotipi tespit edildi (Şekil 3.1).



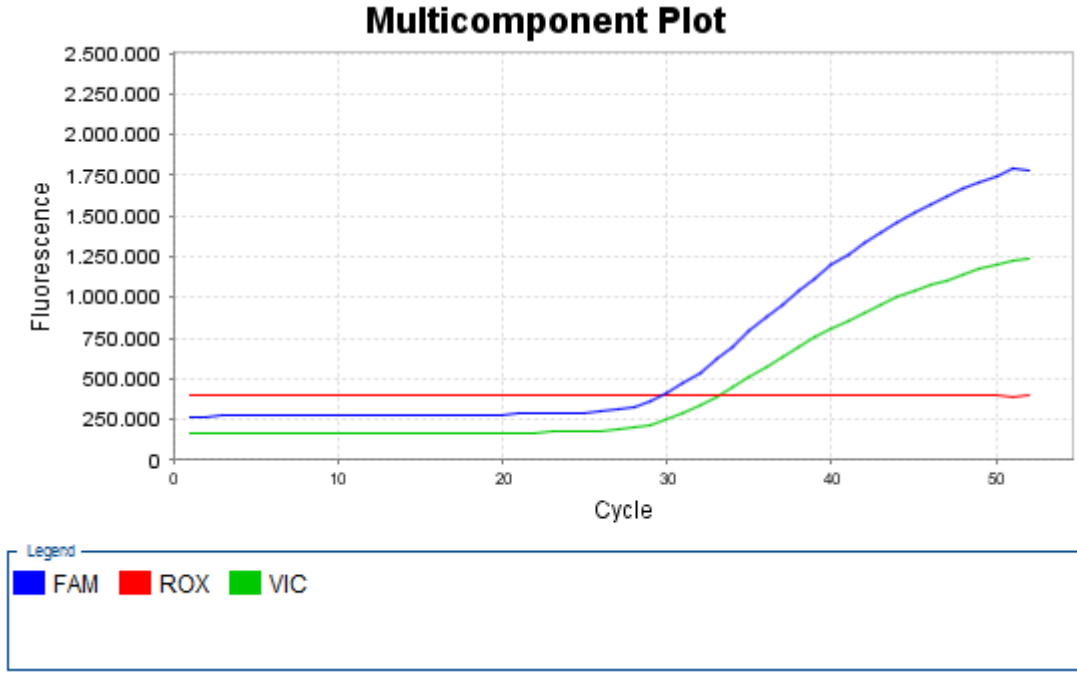
Şekil 3.1. *EDNRA-rs1801708* için TaqMan® MGB proplar (A=**VIC**, G=**FAM**) ile allelik diskriminasyon, elde edilen PCR örneklerinde, hasta gruplarının allel dağılımı. Mavi renkli küreler G/G genotipini, kırmızı renkli olanlar ise A/A genotipini göstermektedir. Yeşil renkli küreler ise heterozigot A/G genotipli örnekleri göstermektedir.



Şekil 3.2. *EDNRA- rs1801708* polimorfizmi A>G için genotipleme sonucunda elde edilen multikomponent grafiğinde homozigot A/A genotipi. Yeşil renkli eğri A allelini (VIC), mavi renkli eğri G allelini (FAM), ve kırmızı renkli yatay çizgi arka plandaki ışımayı belirten ROX referans boyayı temsil etmektedir.



Şekil 3.3. *EDNRA- rs1801708* polimorfizminde genotipleme sonucunda elde edilen multikomponent grafiğinde homozigot G/G genotipi.



Şekil 3.4. *EDNRA*- *rs1801708* polimorfizmi için multikomponent grafiğinde heterozigot A/G genotipi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Migren tanısı almış hastalar ile kontrol grupları arasında *EDNRA* gen polimorfizmlerinin arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla uygulanan istatistiksel testler, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Sürekli değişkenler için iki grup ortalaması karşılaştırmalarında Student's t testi, ikiden fazla grup ortalamalarının karşılaştırmalarında ise ANOVA testi kullanılmıştır ve tanımlayıcı değişkenler ortalama ve standart sapma ile verilmiştir. Kategorik verilerin analizinde ki-kare testi kullanılmıştır ve tanımlayıcı değişkenler frekans (%) ile verilmiştir. Tüm analizlerde $\alpha=0.05$ olarak alınmıştır. Analizler SPSS 11.5 programında yapılmıştır. Allellerin her birinin frekansları hesaplandı ve populasyonun denge durumu Hardy Weinberg ile belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Bakımından Değerlendirilmesi

Bu çalışmada hasta grubunda 150 birey bulunurken, kontrol grubunda ise 150 birey bulunmaktadır. Çalışmamıza 206'ı (%68.6) kadın, 94'ü (% 31.4) erkek olmak üzere toplam 300 birey alınmıştır. Cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde hasta ve kontrol gruplarında bulunan kadınların yaş ortalamaları 37.6 ± 14.0 ve erkeklerin ise 35.0 ± 10.3 olarak hesaplanmış ve cinsiyetler bakımından yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p=0.069$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarındaki kadın ve erkeklerin yaş ortalaması (n= birey/denek sayısı)

	<i>Cinsiyet</i>	<i>n</i>	<i>Yaş Ortalaması</i>	<i>P</i>
Hasta ve Kontrol Grubu	Kadın	206	37.6 ± 14.0	0.069
	Erkek	94	35.0 ± 10.3	

4.1.1. Hasta Grubu

Çalışmamıza 121'i (%58.7) kadın, 29'u (%30.9) erkek olmak üzere toplam 150 hasta dahil edildi. Cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde ise kadınların yaş ortalamaları 40.31 iken, erkeklerin yaş ortalamaları ise 36.17 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

4.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubumuz hasta grubuna cinsiyet ve yaş dağılımına uyacak şekilde oluşturuldu. Cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde ise kadınların yaş ortalamaları 33.84, erkeklerin yaş ortalamaları ise 34.48 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet bakımından değerlendirilmesi, (n=birey/denek sayısı)

<i>Cinsiyet</i>	<i>Hasta</i>		<i>Kontrol</i>		χ^2	<i>P</i>
	<i>n</i>	Yaş ortalaması / (%)	<i>n</i>	Yaş ortalaması / (%)		
Kadın	121	40,31 ± 11,00 / %80,7	85	33,84 ± 16,89 / %56,7	20,078	<0,001
Erkek	29	36,17 ± 10,02 / %19,3	65	34,48 ± 10,48 / %43,3		

4.2. Grupların Genotip Dağılımının Değerlendirilmesi

EDNRA geni üzerinde yer alan 2 polimorfizmin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımları incelenmiş ve bunlara ait istatistikler (sayı ve yüzde) ve p değerleri Çizelge 4.3 ve 4.4’de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde, rs-1801708 polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (p=0,223). Çizelge 4.4 incelendiğinde, rs-5333 polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p=0,817).

4.2.1 EDNRA -rs1801708 Polimorfizmine Ait Genotiplerin Değerlendirilmesi

Hasta grubumuzda G/G genotip sıklığı A/A genotip sıklığından 3,7 kat daha fazla olduğu görüldü. Aynı şekilde G/G genotipinin sıklığı A/G genotipinin sıklığından 1,03 kat daha fazla bulundu. Kontrol grubumuzda ise A/G genotip sıklığı A/A genotip sıklığından 5,3 kat daha fazla olduğu görülürken, A/G genotip sıklığı G/G genotip sıklığından 1,45 kat daha fazla bulundu (Çizelge 4.3). Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (p=0.223).

Çizelge 4.3. ETA geni üzerinde yer alan RS1801708 polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları (n=birey/denek sayısı)

<i>Polimorfizm</i>	<i>Genotip</i>	<i>Hasta</i>		<i>Kontrol</i>		χ^2	<i>P</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
<i>rs1801708</i>	AA	18	12.0	15	10.0	3.005	0.223
	AG	65	43.3	80	53.3		
	GG	67	44.7	55	36.7		

4.2.2. EDNRA- rs5333 Polimorfizmine Ait Genotiplerin Değerlendirilmesi

Hasta grubumuzda T/T genotip sıklığı C/C genotip sıklığından 6,75 kat daha fazla olduğu görüldü. Aynı şekilde T/T genotipinin sıklığı C/T genotipinin sıklığından 1,42 kat daha fazla bulundu. Kontrol grubumuzda ise T/T genotip sıklığı C/C genotip sıklığından 5,76 kat daha fazla olduğu görülürken, T/T genotip sıklığı C/T genotip sıklığından 1,22 kat daha fazla bulundu (Çizelge 4.4). Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0.817$).

Çizelge 4.4. *ETA* geni üzerinde yer alan *rs5333* polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları (n=birey/denek sayısı)

Polimorfizm	Genotip	Hasta		Kontrol		χ^2	P
		n	%	n	%		
rs5333	TT	81	54.0	75	50.3	0.403	0.817
	TC	57	38.0	61	40.9		
	CC	12	8.0	13	8.7		

4.3. Grupların Allel Dağılımının Değerlendirilmesi

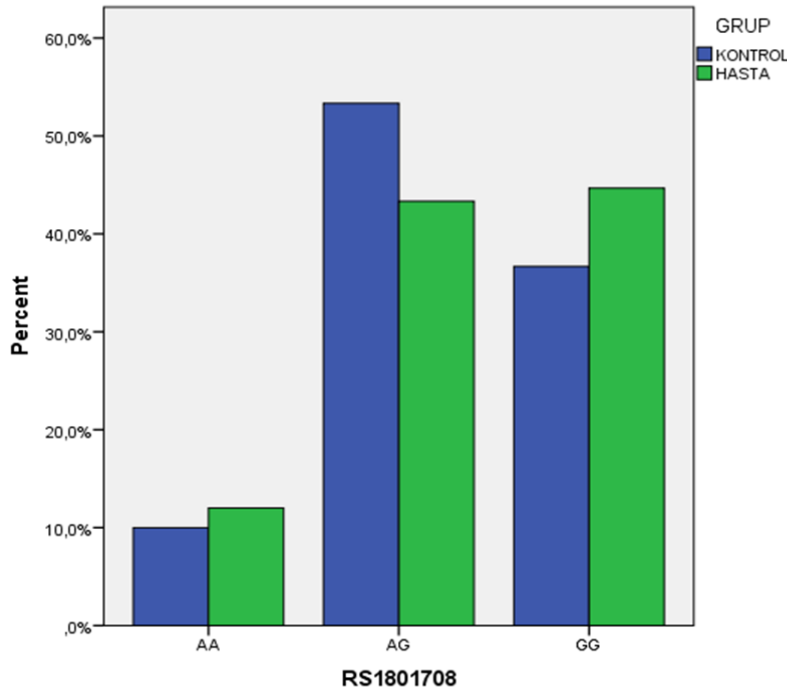
Endotelin reseptör A genine ait 2 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel sayılarının istatistikleri (sayı ve yüzde) Hardy Weinberg dengesine ait ki-kare değeri ve p değeri Çizelge 4.5 ve 4.6'da verilmiştir. Çizelge 4.5 ve 4.6'ya göre sadece *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarının Hardy Weinberg dengesinde olduğu görüldü.

4.3.1. *ETA* -*rs1801708* Polimorfizmine Ait Allellerin Değerlendirilmesi

Hasta grubu içerisinde 'A' ve 'G' allellerinin yüzdesel dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,715$) ; 'A' alleli %0.337 ve 'G' alleli %0.663 olarak belirlendi. Kontrol grubu içerisinde 'A' ve 'G' allellerinin yüzde dağılımı arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.069$) ; 'A' alleli %0.367 ve 'G' alleli %0.633 olarak belirlendi (Çizelge 4.5). Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılım açısından da istatistiki olarak bir fark bulunamadı ($p>0.05$). *rs1787984* polimorfizmine ait A ve G allellerin hasta ve kontrol gruplarına göre yüzdesel dağılımının birbirine yakın olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1)

Çizelge 4.5. *ETA* genine ait *RS801708* polimorfizminin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımının (sayı ve yüzde), hardy weinberg dengesine ait ki-kare ve p değeri. (n=birey/denek sayısı)

<i>rs1801708</i>	n	%	n	%	χ^2	p
	A alleli		G alleli			
<i>Hasta</i>	101	0.337	199	0.663	0.133	0.715
<i>Kontrol</i>	110	0.367	190	0.633	3.300	0.069



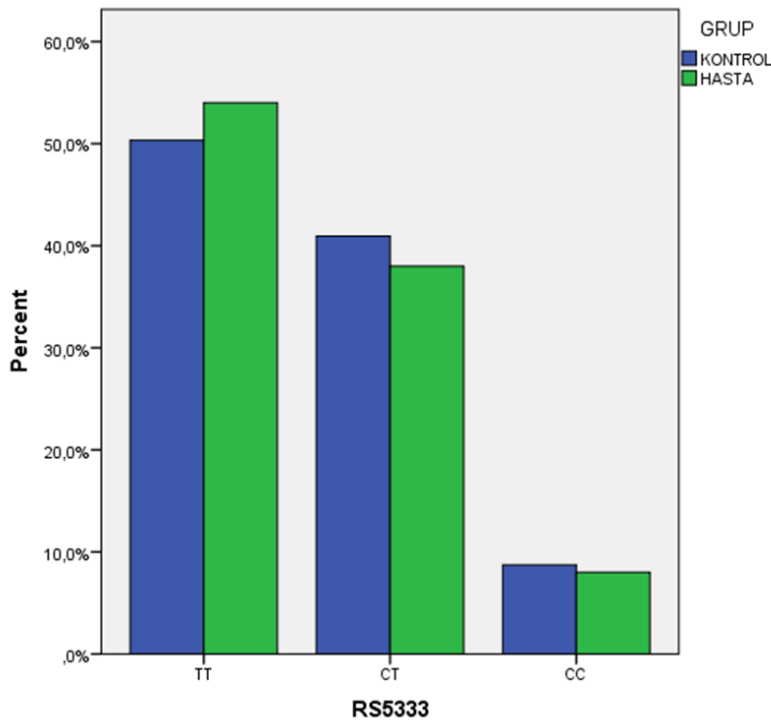
Şekil 4.1 *EDNRA- rs1801708* polimorfizminde A ve G allelerinin hasta- kontrol gruplarına göre yüzdesel dağılımı

4.3.2. *EDNRA -rs5333* Polimorfizmine Ait Allellerin Değerlendirilmesi

Hasta grubu içerisinde ‘T’ ve ‘C’ allellerinin yüzdesel dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.659$) ; ‘T’ alleli %0,730 ve ‘C’ alleli %0,292 olarak belirlendi. Kontrol grubu içerisinde ‘T’ ve ‘C’ allellerinin yüzde dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.905$) ; ‘T’alleli %0,708 ve ‘C’ alleli %0,270 olarak belirlendi (Çizelge 4.6). Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılım açısından da istatistiki olarak bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Çizelge 4.6. *EDNRA* genine ait *rs5333* polimorfizminin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımının (sayı ve yüzde), hardy weinberg dengesine ait ki-kare ve p değeri (n=birey/denek sayısı)

<i>rs5333</i>	n	%	n	%	χ^2	P
	T alleli		C alleli			
<i>Hasta</i>	219	0.730	81	0.292	0.194	0.659
<i>Kontrol</i>	211	0.708	87	0.270	0.014	0.905



Şekil 4.2. *EDNRA-rs5333* polimorfizminde T ve C allelerinin hasta-kontrol gruplarına göre yüzdesel dağılımı

4.4. Hastaların Özgeçmiş ve Soy Geçmiş Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Hasta ve kontrol grubu özgeçmiş ve soy geçmiş değişkenlerine göre karşılaştırılmış olup ve istatistiksel ilişkisi değerlendirildi (Tablo 2).

Çizelge 4.7. Hastaların özgeçmiş ve soy geçmiş özelliklerinin dökümü

Değişken	Hasta (n=)	Kontrol(n=)	p değeri
Çocukken çok kusma karın ağrısı	25 (%16,7)	17 (%11,3)	p=0,183
Küçükken araçta midem bulantısı	81 (%54)	35 (%23,3)	p<0,001
Çocukken ateşli veya ateşsiz havale	11 (%7,3)	15 (%10)	p=0,412
Başın çarpması ciddi bir kaza	28 (%18,7)	21 (%14,0)	p=0,274
Çok hareketli çocuktum	41 (%27,3)	38 (%25,3)	p=0,694
Titiz bir çocuktum	40 (%26,7)	36 (%24,6)	p=0,595
Astım, allerji varlığı	42 (%28,0)	22 (%14,7)	p=0,005
Yüksek tansiyon hastalığı	7 (%4,7)	11 (%7,3)	p=0,331
Şeker hastalığı	1 (%0,7)	4 (%2,7)	p=0,367
Baş dönmesi atağı	54 (%36,0)	4 (%2,7)	p<0,001
Ailede migren öyküsü mevcudiyeti	82 (%54,7)	27 (%18,0)	p<0,001

Bu verilere göre;

Hasta ve kontrol grupları ile küçükken araçlarda mide bulantısı yaşama durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi (p<0,001).

Hasta ve kontrol grupları ile çocukken ateşli veya ateşsiz havale geçirme durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,412).

Hasta ve kontrol grupları ile çocukken çok kusma ve karın ağrısı yaşama durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,183).

Hasta ve kontrol grupları ile başın çarpıldığı ciddi bir kaza yaşama durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi (p=0,274).

Hasta ve kontrol grupları ile çocukken çok hareketli bir çocuk olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,694).

Hasta ve kontrol grupları ile çocukken titiz bir çocuk olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,595).

Hasta ve kontrol grupları ile astım, alerji olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi (p=0,005).

Hasta ve kontrol grupları ile yüksek tansiyon rahatsızlığı olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,331).

Hasta ve kontrol grupları ile şeker rahatsızlığı bulunma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0,367).

Hasta ve kontrol grupları ile baş dönmesi atağı yaşama durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi (p<0,001).

Ailede migren görülme durumu ile migren olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi (p<0,001). Hastalarda kontrollere göre 5,493 kat daha fazla migren tespit edildi (odds ratio:5,493; p<0,001).

Hasta ve kontrol grupları Hardy-Weinberg dengesindedir (p>0.05).

150 migren hastasından 91 (%60,7) hastanın aurasız, 34 (%22,7) hastanın auralı, 15 (%10) hastanın kronik ve geri kalan hastaların diğ er migren tiplerine sahip olduğu belirlenmiştir. Hastaların aydaki atak sıklıklarına bakıldığında 105 (%70) hastanın haftada 1-5, 19 (%12,7) hastanın ayda 6-9 ve 4 (%2,7) hastanın 10-20, 15 (%10) hastanın herg un atak ge irdiği tespit edilmiştir.



5. TARTIŞMA

Migren; mide bulantısı, kusma, fotofobi, fonofobiyle eşlik eden genellikle tek taraflı baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur (1). Migren başlıca 6 gruba ayrılmaktadır; Aurasız migren, Auralı migren, Kronik migren, Migren komplikasyonları, Olası migren, Migren ile ilişkili olabilen epizodik sendromlardır (14).

Yapılan polimorfizm çalışmaları, ailesel hemiplejik migren (FHM) için detaylı alttiplerin belirlenmesini sağlamıştır. FHM1 için, 19. kromozomun kalsiyum voltaj kapılı kanalı alt birimi alfa 1 A (CACNA1A) bir kalsiyum kanalı kodlayan geninde, FHM2 için 1. kromozom üzerinde ATP1A2 kodlayan geninde ve FHM3 için 2. kromozomun sodyum voltaj kapılı kanalı alfa alt birimi 1 (SCN1A) bir sodyum kanalı kodlayan geninde mutasyonlar tespit edilmiştir (15).

Migrenin etyopatogenezinde poligenetik ve multifaktöriyel etkilerin olduğu düşünülmektedir (16). Fakat buna rağmen FHM dışında, her migren tipine özgü spesifik gen henüz belirlenememiştir (16, 17). Vasküler teoriye göre migrende ağrının kan damarlarının genişlemesinden kaynaklandığını ve auranın damarlardaki kasılmalar sonucu oluştuğu ile sürülmüştür.

Goadsby ve ark. (2009) polimorfizmlerin bireylerin migren geliştirme olasılığını etkilediğini ve kranial damarların trigeminal sinir donanımı dahil bir dizi beyin yapılarını etkilediğini öne sürmektedir (23, 24). Trigeminovasküler sistem (TGVS) ekstra ve intra kranial kan damarlarını içeren çeşitli vazoaaktif nöropeptidleri (kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP), nörokinin A, nitrik oksit (NO) ve pitüiter adenilat siklaz aktive edici peptid kalsitonin (PACAP), P maddesi (SP)) içermektedir (30). Bu maddelerin salınımı enflamasyona, kan damarlarının genişlemesine ve ağrının ağırlaşmasına neden olur (29, 30).

İkiz, aile ve evlatlık çalışmaları sonucunda migrenin genetik komponentlerinin olduğu belirlenmiştir (46). Migrenle ilgili ilk genetik çalışma, migrenin nadir alt tipi olan FHM üzerinedir. FHM patogenezinde tip 1, 2 ve 3 ile CACNA1A, ATP1A2 mutasyonlar ve SCN1A genleri sırası ile tanımlanmıştır (47).

Migren esnasında intra kranial damar kasılması ve ardından ekstra kranial damar gevşemesinin acıya neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle endotelial fonksiyona katılan genler, özellikle vasküler tonusu düzenleyenler, migrene yatkınlık için aday genler olarak düşünülmektedir (79-81).

ET-1 geninin transversiyon, transisyon, insersiyon ve tekrarlanan nükleotid polimorfizmi gibi bir çok varyantı incelenmiş, özellikle hipertansiyon, koroner hastalıklar, anjin, akut koroner sendromu gibi kardiyovasküler sistem hastalıkları ile ilişkili olanlar ve astım, pulmoner ödem, işitme bozukluğu, obezite ve uyku apnesi gibi farklı birçok hastalık ile ilgili literatür bulunmaktadır (86-93).

Tzourio ve ark. (105), Nantes, Fransa'da 1.188 bireyin katıldığı popülasyon temelli bir çalışma ile migren ve endotelin sisteminin, gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 140 katılımcıya (%11.9) migren tanısı konmuştur. Sadece EDNRA A-231G polimorfizmi ile migren arasında anlamlı bir ilişkili tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada migren nöbetleri esnasında ve arasında plazma ET-1 düzeyinde artış olduğu bulunmuştur. Auralı ve aurasız migren arasındaki ET-1 düzeylerinde de hiçbir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu yüzden ETA polimorfizmi ve migren arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (105).

EDNRA vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilir. Bu gen, endotelin-1 için uzun süreli vazokonstriksiyonu sağlayan reseptör görevi olan bir peptidi kodlamaktadır. Bu reseptör Guanin-nükleotid-bağlayıcı (G) proteinler ile etkileşerek fosfatidilinositol kalsiyum ikincil haberci sistemini aktive eder. Tzourio ve ark. (105) yaptıkları çalışma migren ve endotelin arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada migren nöbetleri esnasında ve arasında plazma ET-1 düzeyinde artış olduğu bulunmuştur. Auralı ve aurasız migren arasındaki ET-1 düzeylerinde de hiçbir fark olmadığı tespit edilmiştir. Klinik kanıtlar vasküler ağrıda endotelial mekanizmaların rolünü desteklemektedir.

Migren patogenezinde vasküler fonksiyon ve disfonksiyonun rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle endotelial fonksiyona katılan genler, özellikle vasküler tonusu düzenleyenler, migrene yatkınlık için aday genler olarak düşünülmektedir. Endotelin-1 (ET-1) bugüne kadar bilinen, en güçlü damar daraltıcı maddedir ve iki farklı reseptörü endotelin A reseptörü (EDNRA) ve endotelin B tipi reseptörü (EDNRB) tip üzerinden aktivitelerini gerçekleştirmektedir. EDNRA vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilir (87). EDNRA Portekizli aurasız migren hastaları için bir duyarlılık faktörü olarak gösterilmiştir (4). EDNRA -231G> A SNP ve migren arasındaki ilişkiyi araştıran bazı çalışmalar ise farklı sonuçlar göstermiştir. Joshi ve ark. (86) yaptıkları çalışmada migren grubuyla sağlıklı kontroller arasında EDNRA AA genotipi sıklığı açısından önemli bir fark saptandı. Lisi ve ark. (141). yaptıkları bir çalışmada ise EDNRA-231G> A polimorfik varyantı ile migren ve gerilim tipi baş ağrısı (TTH) arasında anlamlı farklılıklar bulunamadı. Migren ile 5-HTT, Tümör nekroz faktör, Cinsiyet hormon reseptörü gibi birçok gen polimorfizmleri ile ilgili meta-analiz çalışmaları yapılmıştır. Miao ve ark. (78) yaptıkları meta-analiz çalışmasında ise migren hastaları ve EDNRA -231G> A polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, TTH hastalar ve sağlıklı kontroller arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Migren riski AA genotipi olan bireylerde, GA ve GG olanlardan yaklaşık 1.36 kat daha fazla bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda rs1801708 polimorfizmi hasta grubumuzda G/G genotip sıklığı A/A genotip sıklığından 3,7 kat daha fazla olduğu görüldü. Aynı şekilde G/G genotipinin sıklığı A/G genotipinin sıklığından 1,03 kat daha fazla bulundu. Kontrol grubumuzda ise A/G genotip sıklığı A/A genotip sıklığından 5,3 kat daha fazla olduğu görülürken, A/G genotip sıklığı G/G genotip sıklığından 1,45 kat daha fazla bulundu. rs-1801708 polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (p=0,223).

Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu sonuçlar migren için özellikle endotelin ve reseptörlerinin rolü bakımından yeni önleyici tedbirler olasılığını düşündürmektedir. Son zamanlarda, yapılan çalışmalar endotelin geninin migren gelişmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir (86, 87, 105). Migrenin multijenerasyon geçişli olduğu 186 erkek ve 252 kadın olmak üzere toplam 438 Finlandiyalı bireyi içeren, bağımsız 50 aile ile yapılan bir çalışmada migren hastaları ile EDNRA 4q28-4q31 lokusu arasında anlamlı ilişkiler tespit edilmiştir (86). EDNRA -231G>A bir polimorfizminin EDNRA geninin transkripsiyonu ve ekspresyon düzeyinin düzenlenmesiyle ilişkili olabileceği ya da yeni ekleme bölgeleri oluşturarak genin işlevini etkileyebileceği düşünülmektedir. Normal tansiyonlu glokom hastası olan 67 Koreli bireyde EDNRA -231 G> A polimorfizmi incelen çalışmada AA genotipine sahip bireylerde daha düşük göz içi basıncı ile ilişkili bulunmuştur (87, 88).

Miao ve ark. (78) yaptıkları çalışmada tüm meta-analizler için olduğu gibi, bazı kısıtlamaları göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Bizim çalışmamızda EDNRA rs5333 polimorfizmine ait genotiplerin değerlendirilmesinde hasta grubumuzda T/T genotip sıklığı C/C genotip sıklığından 6,75 kat daha fazla olduğu görüldü. Aynı şekilde T/T genotipinin sıklığı C/T genotipinin sıklığından 1,42 kat daha fazla bulundu. Kontrol grubumuzda ise T/T genotip sıklığı C/C genotip sıklığından 5,76 kat daha fazla olduğu görülürken, T/T genotip sıklığı C/T genotip sıklığından 1,22 kat daha fazla bulundu. Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Endotelin reseptör A genine ait 2 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel sayılarının istatistikleri *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarının Hardy Weinberg dengesinde olduğu görüldü.

Ayrıca, hastaların özgeçmiş ve soygeçmiş özelliklerinin değerlendirildiğinde, hasta ve kontrol grupları ile küçükken araçlarda mide bulantısı yaşama durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,001$). Bu veriler, ebeveynlerin, özellikle de ailesinde migren hikayesi olanların çocuklarını araç yolculuklarında gözlemlesinin önemini vurgulamaktadır.

Hasta ve kontrol grupları ile baş dönmesi atağı yaşama durumu, ailede migren görülme durumu ile migren olma durumu arasında ve hastalarda kontrollere göre 5,493 kat daha fazla migren tespit edildi (odds ratio:5,493; $p<0,001$). Hasta ve kontrol grupları Hardy-Weinberg dengesindedir ($p>0.05$).

İstatistiksel olarak anlamlı olmasada migrenin genetik kökenine işaret etme konusunda çok önemli bir bulgudur.

Migren genetik-biyolojik kökenli heterojen bir hastalıktır. Migren polimorfizmi ile ilgili bir çok farklı gen çalışılmış olmasına rağmen Endotelin Reseptör A gen polimorfizmleri ile ilgili migren çalışmalarına literatürde çok rastlanmamaktadır. Dolayısıyla bulgularımızı

kıyaslayabileceğimiz araştırma sayısı çok kısıtlıdır. Çalışmalardaki tüm hastalar migren tanı kriterleri ile alınmasına rağmen, klinik spektrumun çok geniş olması yanlış sınıflamalara yol açabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma ile göreceli olarak az sayıda hasta ve kontrol ile gerçekleştirildi. Toplum temelli çalışmalarda yeterli güç için daha fazla sayı gerekebilir. Yaşın heterojenite için bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Migren günlük yaşamda karşılaştığımız sıradan baş ağrılarından farklı olup uzun saatler süren, ağrının şiddeti ve beraberinde yaşanan semptomlar ile fiziksel aktivilerin yapılmasını zorlaştırarak, günlük hayatta yapılan işlerin yapılamamasına dolayısıyla iş kaybına neden olur, geniş kapsamlı olarak sosyo-ekonomik etkileride bulunur böylece migren atakları esnasında ve sonrasında eşlik eden rahatsızlıklarla yaşam kalitesini düşürür (2). Türkiyede Hayran ve ark. (140) yaptıkları çalışmada ise 2000 yılında son bir yıl içinde migren'e bağlı işgücü kaybı, yılda ortalama 5.4 gün olduğu bulunmuştur. Bu iş gücü kaybı günlük asgari ücret üzerinden hesaplandığında bütçeye getirdiği tahmini yük, yılda yaklaşık 270 trilyon TL (200 milyon Dolar) olarak hesaplanmaktadır (140). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2000 yılı raporunda migren, iş yapamama ve iş gücü kaybına neden olan yaygın hastalıklar içinde ilk 20 de erkeklerde 19. sırada, kadınlarda 9. sırada yer almaktadır. *EDNRA* geninde meydana gelen tekli nükleotid değişimlerinin (SNPs), endotel disfonksiyona neden olarak trigeminovasküler ve kortikal yayılan depresyona neden olabileceği hipoteziyle, *EDNRA* geninde *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizmlerini araştırdık.

Çalışmamızda migren tanısı olan 150 hasta ile 150 sağlıklı bireylerde *EDNRA* genine ait *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizmleri, Real-Time-PCR yöntemi kullanılarak araştırıldı. *EDNRA* geninde bulunan *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizmleri, genotip sıklığı ve allel dağılımı bakımından istatistiki olarak anlamlı bulunamadı ($p>0,05$). *EDNRA* geninde, diğer bölgelerdeki polimorfizmlerin hasta sayısının artırılarak araştırılması ve çalışmanın genişletilmesi, *EDNRA*'nın migrenin patofizyolojisindeki vasküler hipotezin önemini anlamımıza yardımcı olabilir. Sonuç olarak, migren patofizyolojisindeki vasküler bileşeni etkileyen endotelin ve reseptörlerinin özellikle *EDNRA*'nın rolünün önemli bilgiler verebileceğine inanıyoruz.

2013-ICHD-III tanı ölçütlerine göre migren 6 ana sınıfa ayrılmaktadır. Çalışmamızdaki hastalar migren'in alttiplerine göre sınıflandırılmayıp migren olarak tek bir çatıda toplandı. migren'nin alttipleri arasında genetik olarak farklılıkların olabileceğinden yola çıkılarak, hastaların migrenin alttiplerine göre sınıflandırılarak toplanması, genotip ve allel dağılımının değerlendirilmesi genetik açıdan hastalığın sınıflandırılmasına katkı sağlayabilir.

Şu anda, migrenin tanısı anket, soru-cevap ve beyin görüntüleme yöntemlerine dayanmaktadır. Migren çevresel faktörler ve tetikleyiciler ile birden fazla genler arasındaki etkileşimin bir sonucudur. Bu hastalıkta rol oynayan genlerin bulunması migren patogenezinde moleküler yollar ile ilgili yeni ufuklara yol açabilir. Polimorfizmler migren hastalarının fenotipik özelliklerini etkileyebilir ve proteinlerin fonksiyonu için farklı sonuçlar doğurabilir. Polimorfizmler MTHFR, GRIA1, GRIA3, KCNK18, HCRT1, SLC6A4, STX1A, CGRP, glutamat, 5-HT ve hipokretin-1 gibi marker olarak kullanılabilir. Bu tür biyomarkerlar biyokimyasal veya moleküler yöntemlerle bireylerin kan veya tükürük örneğinden tespit edilebilir ve migren tanısında yardımcı olacağı düşünülmektedir. Bunlar aynı zamanda ilaç yanıtı izleme, hastalık prognozu ve ilerlemesinde

yardımcı olabilir. Bu tür moleküler faktörlerin bazıları migren ilaç tedavisi için yeni hedef olarak araştırılmaktadır. Ayrıca, nöropeptitlerin ve bunların reseptörlerinin, gelecekte migren profilaksisi ve tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Genetik yatkınlıkların araştırılması, daha iyi terapötik stratejiler geliştirmek açısından çok önemlidir çünkü risk varyantlarının ve etkilerinin hastalığın bireysel, ailesel ve sosyal etkisinden dolayı farklı popülasyonlarda farklılık gösterebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızı önemli kılan bir alan da, *EDNRA* geninde *rs1801708* ve *rs5333* polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda ilk kez araştırılmasıdır. Literatür taraması yapıldığında bu gen bölgeleri ile ilgili yapılan çalışma sayısı yeterli değildir. Dolayısıyla örneklem sayılarının artırılarak endotelin gen bölgesinin marker sayısının da artırılarak daha iyi taranması gerekmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. **Edvinsson L, Villalón CM, MaassenVanDenBrink A.** "Basic mechanisms of migraine and its acute treatment". *Pharmacology & Therapeutics*, **2012**;136(3):319-333.
2. **Gasparini CF, Sutherland HG, Griffiths LR.** "Studies on the Pathophysiology and Genetic Basis of Migraine" *Curr Genomics*, **2013**;14(5):300-15.
3. **Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society.** The International Classification of Headache Disorders. 2nd Ed., *Cephalalgia*, **2004**;24 (Suppl 1) : 16-151.
4. **Lemos C, Neto JL, Pereira-Monteiro J, Mendonça D, Barros J, Sequeiros J, Alonso I, Sousa A.** "A role for endothelin receptor type A in migraine without aura susceptibility? A study in Portuguese patients". *European Journal of Neurology*, **2011**;18(4) :649-55.
5. **Patterson SM, Silberstein SD.** "Sometimes Jello helps: perceptions of headache etiology, triggers and treatment in literature. *Headache*, **1993**;33: 76-81.
6. **Silberstein SD, Lipton RB, Goadsby PJ.** Headache in clinical practice. Isis Medical Media, **1998**; 1-7.
7. **Lyons A, Petrucelli RJ.** *Medicine*. On illustrated history. New York: Herry N. Abrams, Incorporated, **1978**.
8. **Stewart W, Linet MS, Celentano DD, Van Natta M, Ziegler D.** "Age- and sex-specific incidence rates of migraine with and without visual aura". *Am J Epidemiol*, **1991** Nov 15;134(10):1111-20.
9. **Adams RD, Victor M, Ropper AH.** *Principles of Neurology*. 6th Ed., New York: Mc Graw Hill, **1998**;90-95.
10. **Stovner LJ, Zwart JA, Hagen K, Terwindt GM, Pascual J.** Epidemiology of headache in Europe. *Eur J Neurol*, **2006**;13(4):333-45.
11. **Mathers CD, Stein C, Fat DM et al.,** Global Burden of Disease 2000: version 2, methods and results. *World Health Organization*, **2002**, <http://www.fic.nih.gov/dcpp/ppts/gbdpaper.pdf>.
12. **Headache Classification Committee of the International Headache Society.** Classification and diagnostic criteria for headache disorders cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia*, **1988**;8(suppl 7):1-96.
13. **Steiner TJ, Birbeck GL, Jensen RH, Katsarava Z, Stovner LJ, Martelletti P.** Headache disorders are third cause of disability worldwide. *J Headache Pain*, **2015**.

14. **Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society.** The International Classification Of Headache Disorders. 3rd Ed., (beta version) **2013**; *Cephalalgia*, 33(9), 629–808.
15. **Bjornsson, A., Gudmundsson, G., Gudfinnsson, E., Hrafnisdottir, M., Benedikz, J., S., Skuladottir B., Kristjansson, Frigge, M., L., Z Kong, Stefansson, K., and Gulcher, J. R.,** Localization of a Gene for Migraine without Aura to Chromosome 4q21. *Am. J. Hum. Genet.* **2003**; 73:986–993.
16. **Ducros A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG.** The genetics of migraine. *Lancet Neurology* **2002**; 1:285.
17. **Amin FM, Asghar MS, Hougaard A, et al.** Magnetic resonance angiography of intracranial and extracranial arteries in patients with spontaneous migraine without aura: a cross-sectional study. *Lancet Neurol* **2013**; 12:454.
18. **Welch KM, Barkley GL, Tepley N, Ramadan NM.** Central neurogenic mechanisms of migraine. *Neurology* **1993**; 43:S21.
19. **Weiller C, May A, Limmroth V, et al.** Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med* **1995**; 1: 658.
20. **Villalon, C. M, Centurion, D, Valdivia, L. F, de Vries, P, Saxena, P. R.** Migraine: pathophysiology, pharmacology, treatment and future trends. *Curr. Vasc. Pharmacol*, **2003**, 1(1), 71-84.
21. **Tajti J, Pardutz A, Vamos E, Tuka B, Kuris A, Bohar Z, Fejes A, Toldi J, Vecsei L.** Migraine is a neuronal disease. *J. Neural Transm*, **2011**, 118(4), 511-524.
22. **Dalkara T, Zervas N T, Moskowitz M A.** From spreading depression to the trigeminovascular system. *Neurol. Sci*, **2006**, 27 (Suppl 2) 86-90.
23. **Goadsby P J, Charbit A R, Andreou A P, Akerman S, Holland P R.** Neurobiology of migraine. *Neuroscience*, **2009**; 161(2), 327-341.
24. **Levy D.** Migraine pain and nociceptor activation--where do we stand? *Headache*, **2010**; 50(5), 909-916.
25. **Eadie, M. J.** The pathogenesis of migraine - 17th to early 20th Century understandings. *J. Clin. Neurosci.*, **2005**, 12(4), 383-388.
26. **Baron, E. P.; Tepper, S. J.** Revisiting the role of ergots in the treatment of migraine and headache. *Headache*, **2010**, 50(8), 1353-1361.

27. **Spierings, E. L.** Migraine: migraine headache pathogenesis in historical perspective. *Rev. Neuro. Dis.*, **2009**, 6(2), 77-80.
28. **Humphrey P P.** The discovery and development of the triptans, a major therapeutic breakthrough. *Headache*, **2008**; 48(5), 685-687.
29. **May A, Goadsby P J.** The trigeminovascular system in humans: Pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab*, **1999**; 19(2), 115-127.
30. **Samsam M, Covenas R, Ahangari R, Yajeya Javier J.** Major Neuroanatomical and Neurochemical Substrates Involved in Primary Headaches. **2010**; 1-58.
31. **Teive, H. A.; Kowacs, P. A.; Maranhao Filho, P.; Piovesan, E. J.; Werneck, L. C.** Leao's cortical spreading depression: from experimental "artifact" to physiological principle. *Neurology*, **2005**, 65(9), 1455-1459.
32. **Hadjikhani, N.; Sanchez Del Rio, M.; Wu, O.; Schwartz, D.; Bakker, D.; Fischl, B.; Kwong, K. K.; Cutrer, F. M.; Rosen, B. R.; Tootell, R. B.; Sorensen, A. G.; Moskowitz, M. A.** Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, 98(8), 4687-4692.
33. **Borsook, D.; Hargreaves, R.** Brain imaging in migraine research. *Headache*, **2010**, 50(9), 1523-1527.
34. **Sprenger, T.; Borsook, D.** Migraine changes the brain: neuroimaging makes its mark. *Curr. Opin. Neurol.*, **2012**, 25(3), 252-262.
35. **Moskowitz, M. A.** Genes, proteases, cortical spreading depression and migraine: impact on pathophysiology and treatment. *Funct. Neurol.*, **2007**, 22(3), 133-136.
36. **Eikermann-Haerter, K.; Moskowitz, M. A.** Animal models of migraine headache and aura. *Curr. Opin. Neurol.*, **2008**, 21(3), 294-300.
37. **Moskowitz, M. A.** Molecular mechanism of migraine. *Rinsho Shinkeigaku*, **2008**, 48(11), 798.
38. **Bolay, H.; Reuter, U.; Dunn, A. K.; Huang, Z.; Boas, D. A.; Moskowitz, M. A.** Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat. Med.*, **2002**, 8(2), 136-142.
39. **Moskowitz MA, Nozaki K, Kraig RP.** Neocortical spreading depression provokes the expression of c-fos protein-like immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis via trigeminovascular mechanisms. *J Neurosci* **1993**; 13:1167.

40. **Karatas H, Erdener SE, Gursoy-Ozdemir Y, et al.** Spreading depression triggers headache by activating neuronal Panx1 channels. *Science* **2013**; 339:1092.
41. **Y, Qiu J, Matsuoka N, et al.** Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. *J Clin Invest* **2004**; 113:1447.
42. **Takano T, Nedergaard M.** Deciphering migraine. *J Clin Invest* **2009**; 119:16.
43. **Ulrich, V., Gervil, M., Kyvik, K. O., Olesen, J., & Russell, M. B.** The inheritance of migraine with aura estimated by means of structural equation modelling. *Journal of Medical Genetics*, **1999**; 36, 225-227.
44. **Russell MB, Olesen J.** Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* **1995**; 311:541-4.
45. **Stewart WF, Sta Va J, Lipton RB, Ottoman R.** Familial risk of migraine: a population-based study. *Ann Neurol* **1997**;41: 166-72.
46. **Mulder EJ, Van Baal C, Gaist D, Kallela M, Kaprio J, Svensson DA, Nyholt DR, Martin NG, MacGregor AJ, Cherkas LF, Boosma DI, Palotie A.** Genetic and environmental influences on migraine: a twin study across six countries. *Twin Res.* **2003**;6(5):422-31.
47. **Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, et al.** Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell.* **1996**; 87: 543-552.
48. **de Fusco M, Marconi R, Silverstri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P, Casari G.** Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet.* **2003**; 33: 192-196.
49. **Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, Ferrari MD, Herzog J, van den Maagdenberg AM, Pusch M, Strom TM.** Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet.* **2005**; 336: 371-377.
50. **de Vries B, Frants RR, van den Maagdenberg AMJM.** Molecular genetics of migraine. *Hum Genet.* **2009**; 126: 115-132.
51. **Montagna P.** Migraine: a genetic disease? *Neurol Sci.* **2008**; 29: 47-51.
52. **Moll S, Varga EA.** Homocysteine and MTHFR Mutations. *Circulation.* **2015**; 132: 6-9. doi: 10.1161/circulationaha.114.013311.

53. **Lea RD, Ovcarić M, Sundholm J, MacMillan J, Griffiths LR.** The methylenetetrahydrofolate reductase gene variant C677T influences susceptibility to migraine with aura. *BMC Medicine*. **2004**; 2: 3. doi: 10.1186/1741-7015-2-3
54. **Rubino E, Ferrero M, Rainero I, Binello E, Vaula G, Pinessi L.** Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with migraine: a meta-analysis. *Cephalalgia*. **2009**; 29: 818-825. doi: 10.1111/j.1468-2982.2007.01400.x
55. **Casas JP, Bautista LE, Smeeth L, Sharma P, Hingorani AD.** Homocysteine and stroke: Evidence on a causal link from mendelian randomisation. *Lancet*. **2005**; 365: 224-232. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17742-3.
56. **Liu A, Menon S, Colson NJ, Quinlan S, Cox H, Peterson M, Tiang T, Haupt LM, Lea RA, Griffiths LR.** Analysis of the MTHFR C677T variant with migraine phenotypes. *BMC Res Notes*. **2010**; 3: 213-218. doi: 10.1186/1756-0500-3-213
57. **Schürks MM, Rist PM, Kurth T.** MTHFR 677C>T and ACE D/I polymorphisms in migraine: a systematic review and meta-analysis. *Headache*. **2010**; 50:588-599.
58. **Lea R, Colson N, Quinlan S, Macmillan J, Griffiths L.** The effects of vitamin supplementation and MTHFR (C677T) genotype on homocysteine-lowering and migraine disability. *Pharmacogenet Genomics*. **2009**; 19: 422-428.
59. **Lafreniere RG, Cader MZ, Poulin J-F, Andres-Enguix I, Simoneau M, Gupta N, Boisvert K, Lafreniere F, McLaughlan S, Dube M-P, Marcinkiewicz MM, Ramagopalan S, Ansorge O, et al.** A dominant-negative mutation in the TRESK potassium channel is linked to familial migraine with aura. *Nat. Med*. **2010**; 16: 1157-60.
60. **Kowalska M, Prendecki M, Kozubski W, Lianeri M, Dorszewska J.** Molecular factors in migraine. *Oncotarget*, **2016**; doi:10.18632/oncotarget.9367.
61. **Hamel E.** Serotonin and migraine: biology and clinical implications. *Cephalalgia*. **2007**; 27: 1295-1300.
62. **Liu H, Liu M, Wang Y, Wang XM, Qiu Y, Long JF, Zhang SP.** Association of 5-HTT gene polymorphisms with migraine: A systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*. **2011**; 305: 57-66.
63. **Schürks M, Rist PM, Kurth T.** 5-HTTLPR polymorphism in the serotonin transporter gene and migraine: a systematic review and meta-analysis. *Cephalalgia*. **2010**; 30: 1296-1305.
64. **Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, et al.** Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*. 1998; 92: 573-585.

65. **Rainero I, Rubino E, Gallone S, Fenoglio P, Picci LR, Giobbe L, Ostacoli L, Pinessi L.** Evidence for an association between migraine and the hypocretin receptor 1 gene. *J Headache Pain.* **2011**; 12: 193-199.
66. **Thompson MD, Xhaard H, Sakurai T, Rainero I, Kukkonen JP.** OX1 and OX2 orexin/hypocretin receptor pharmacogenetics. *Front neurosci.* **2015**; 8: 57.
67. **Yamamoto Y, Saito O, Shono K, Aoe T, Chiba T.** Antimechanical allodynic effect of intrathecal and intracerebroventricular injection of orexin-A in the rat neuropathic pain model. *Neurosci Lett.* **2003**; 47: 183-186.
68. **Holland PR, Akerman S, Goadsby PJ.** Orexin 1 receptor activation attenuates neurogenic dural vasodilation in an animal model of trigeminovascular nociception. *J Pharmacol Exp Ther.* **2005**; 315: 1380-1385.
69. **Hoffmann J, Suprongsinchai W, Akerman S, Andreou AP, Winrow CJ, Renger J, Hargreaves R, Goadsby PJ.** Evidence for orexinergic mechanisms in migraine. *Neurobiol Dis.* **2015**; 74: 137-143.
70. **Vikelis M, Mitsikostas DD.** The role of glutamate and its receptors in migraine. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* **2007**; 6: 251-257.
71. **Formicola D, Aloia A, Sampaolo S, Farina O, Diodato D, Griffiths LR, Gianfrancesco F, Di Iorio G, Esposito T.** Common variants in the regulative regions of GRIA1 and GRIA3 receptor genes are associated with migraine susceptibility. *BMC Med Genet.* **2010**; 11: 103.
72. **Nyholt DR, Gillespie NG, Heath AC, Merikangas KR, Duffy DL, Martin NG.** Latent class and genetic analysis does not support migraine with aura and migraine without aura as separate entities. *Genet Epidemiol.* **2004**; 26: 231-244.
73. **Maher BH, Lea RA, Follett J, Cox HC, Fernandez F, Esposito T, Gianfrancesco F, Haupt LM, Griffiths LR.** Association of a GRIA3 Gene Polymorphism With Migraine in an Australian Case-Control Cohort. *Headache.* **2013**; 53: 1245-1249.
74. **Teng FYH, Wang Y, Tang BL.** The syntaxins. *Genome Biol.* **2001**; 2: 3012 1-3012 7.
75. **Corominas R, Ribasésa M, Cuenca-Leóna E, Narberhaus B, Serrad SA, del Toroa M, Roiga M, Fernández-Fernández JM, Macayaa A, Cormand B.** Contribution of syntaxin 1A to the genetic susceptibility to migraine: A case-control association study in the Spanish population. *Neurosci Lett.* **2009**; 455: 105-109.
76. **Lemos C, Pereira-Monteiro J, Mendonça D, Ramos EM, Barros J, Sequeiros J, Alonso I, Sousa A.** Evidence of Syntaxin 1A Involvement in Migraine Susceptibility. A Portuguese Study. *Arch neurol.* **2010**; 67: 422-427.

77. **Tropeano M, Wöber-Bingöl C, Karwautz A, Wagner G, Vassos E, Campos-de-Sousa S, Graggaber A, Zesch HE, Kienbacher C, Natriashvili S, Kanbur I, Wöber C, Collier DA.** Association analysis of STX1A gene variants in common forms of migraine. *Cephalalgia*. **2012**; 32: 203-212.
78. **Miao J, Wang F, Fang Y.** Association of 231G>A polymorphism of endothelin type A receptor gene with migraine: a meta-analysis. *J Neurol Sci*. **2012**; 323(1-2):232-5.
79. **Iizuka T, Takahashi Y, Sato M, Yonekura J, Miyakawa S, Endo M, et al.** Neurovascular changes in prolonged migraine aura in FHM with a novel ATP1A2 gene mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **2012**; 8: 205-12.
80. **Tietjen GE, Herial NA, Utley C, White L, Yerga-Woolwine S, Joe B.** Association of von Willebrand factor activity with ACE I/D and MTHFR C677T polymorphisms in migraine. *Cephalalgia* **2009**; 29: 960-8.
81. **Yu JC, Pickard JD, Davenport AP.** Endothelin ETA receptor expression in human cerebrovascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* **1995**;116:2441-6.
82. **Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., et al.** A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, **1988**; 332(6163), 411–415.
83. **Inoue, A., Yanagisawa, M., Takuwa, Y., Mitsui, Y., Kobayashi, M., Masaki, T.** The human preproendothelin-1 gene: complete nucleotide sequence and regulation of expression. *J. Biol. Chem.* **1989**; 264: 14954-14959.
84. **Leah R. MacClellan, Timothy D. Howard, John W. Cole, O. Colin Stine, Wayne H. Giles, Jeffery R. O'Connell, Marcella A. Wozniak, Barney J. Stern, Braxton D. Mitchell, Steven J. Kittner.** Relation of Candidate Genes that Encode for Endothelial Function to Migraine and Stroke: The Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke*. **2009**; 40(10): 550–557.
85. **Liwei, Hang, Jianzhong, Zhou, Zhen, Wang, et al.** Association between genetic polymorphism of ET-1 and hypertensive ischemic stroke. *Journal of Southwest University*, **2009**; 31(01), 116–121.
86. **Tikka-Kleemola P, Kaunisto MA, Hämäläinen E, Todt U, Göbel H, Kaprio J, Kubisch C, Färkkilä M, Palotie A, Wessman M, Kallela M.** Genetic association study of Endothelin-1 and its receptors EDNRA and EDNRB in migraine with aura. *Cephalalgia* **2009**; 29(11):1224-3.
87. **Zhang L, Sui R.** Effect of SNP polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB gene on ischemic stroke. *Cell Biochem Biophys*, **2014**; 70(1):233-9.
88. **von Websky, K. , Heiden, S. , Pfab, T. , et al.** Pathophysiology of the endothelin system—Lessons from genetically manipulated animal models. *European Journal of Medical Research*, **2009**; 14(1), 1–6.

89. **Jin, J. J. , Nakura, J. , Wu, Z. , et al.** Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension*, **2003**; 41(1), 163–167.
90. **Barath, A. , Endreffy, E. , Bereczki, C. , et al.** Endothelin-1 gene and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in adolescents with juvenile and obesity-associated hypertension. *Acta Physiologica Hungarica*, **2007**; 94(1–2), 49–66.
91. **Pare, G., Serre, D., Brisson, D., et al.** Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-1 and high-density lipoprotein cholesterol. *American Journal of Human Genetics*, **2007**; 80(4), 673–682.
92. **Liwei, Hang, Jianzhong, Zhou, Zhen, Wang, et al.** Association between genetic polymorphism of ET-1 and hypertensive ischemic stroke. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, **2009**; 31(01), 116–121.
93. **Zhu, G., Carlsen, K., Carlsen, K. H., et al.** Polymorphisms in the endothelin-1 (EDN1) are associated with asthma in two populations. *Genes and Immunity*, **2008**; 9(1), 23–29.
94. **Panoulas, V. F., Douglas, K. M., Smith, J. P., et al.** Polymorphisms of the endothelin-1 gene associate with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *Endothelium*, **2008**; 15(4), 203–212.
95. **Mazzuca, M. Q., & Khalil, R. A.** Vascular endothelin receptor type B: Structure, function and dysregulation in vascular disease. *Biochemical Pharmacology*, **2012**; 84(2), 147–162.
96. **Yasuda, H., Kamide, K., Takiuchi, S., et al.** Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension[J]. *Journal of Human Hypertension*, **2007**; 21(11), 883–892.
97. **Darrah, R., McKone, E., O'Connor, C., et al.** EDNRA variants associate with smooth muscle mRNA levels, cell proliferation rates, and cystic fibrosis pulmonary disease severity. *Physiological Genomics*, **2010**; 41(1), 71–77.
98. **Rahman T, Baker M, Hall D H et al.** Common genetic variation in the type A endothelin-1 receptor is associated with ambulatory blood pressure: A family study. *Journal of Human Hypertension*, **2008**; 22(4), 282–288.
99. **Aydin AF, Vural P, Oruç ÇU, Doğru-Abbasoğlu S, Özderya A, Karadağ B, Uysal M.** The evaluation of endothelin 1 (EDN1) and endothelin receptor type A (EDNRA) gene polymorphisms in Hashimoto's thyroiditis. *Int Immunopharmacol*, **2014**; 21(1):181-5.
100. **Sonenberg N.** mRNA translation: influence of 5' and 3'-untranslated regions. *Curr Opin Genet Dev.*, **1994**; 4: 310–5.

101. **Ogiuri M, Kato K, Yokoi K, Itoh T, Yoshida T, Watanabe S, et al.** Associations of genetic variants with myocardial infarction in Japanese individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* **2009**;206:486–93.
102. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=EDNRA&keywords=EDNRA> Erişim tarihi: 15.07.2016.
103. <http://www.omim.org/entry/131243> Erişim tarihi: 13.07.2016.
104. **Hosoda K, Nakao K, Tamura N, Arai H, Ogawa Y, Suga S, Nakanishi S, Imura H.** Organization, structure, chromosomal assignment, and expression of the gene encoding the human endothelin-A receptor. *J. Biol. Chem*, **1992**;267: 18797-18804.
105. **Tzourio C, El Amrani M, Poirier O, Nicaud V, Bousser M G, Alperovitch A.** Association between migraine and endothelin type A receptor (ETA -231 A/G) gene polymorphism. *Neurology*, **2001**;56: 1273-1277.
106. **Lee Mi Ji, Lee Chungbin, Chunga Chin-Sang.** The Migraine–Stroke Connection. *J Stroke*, **2016**; 18(2): 146–156.
107. **Malik R, Freilinger T, Winsvold BS, Anttila V, Vander Heiden J, Traylor M, et al.** Shared genetic basis for migraine and ischemic stroke: a genome-wide analysis of common variants. *Neurology*, **2015**; 84:2132-2145.
108. **Tietjen GE, Herlitz NA, White L, Utey C, Kosmyna JM, Khuder SA.** Migraine and biomarkers of endothelial activation in young women. *Stroke*, **2009**; 40: 2977-2982.
109. **Tietjen GE, Al-Qasbi MM, Athanas K, Dafer RM, Khuder SA.** Increased von Willebrand factor in migraine. *Neurology*, **2001**; 57: 334-336.
110. **Rodriguez-Orsio X, Sobrino T, Brea D, Martinez F, Castillo J, Leira R.** Endothelial progenitor cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology*, **2012**; 79: 474-479.
111. **Lee ST, Chu K, Jung KH, Kim DH, Kim EH, Choe VN, et al.** Decreased number and function of endothelial progenitor cells in patients with migraine. *Neurology*, **2008**; 70:1510-1517.
112. **Oterino A, Toriello M, Palacio E, Quintanilla VG, Ruiz-Lavilla N, Montes S, et al.** Analysis of endothelial precursor cells in chronic migraine: a case-control study. *Cephalalgia*, **2013**; 33:236-244.
113. **Perko D, Pretnar-Oblak J, Sabovic M, Zvan B, Zaletel M.** Endothelium-dependent vasodilatation in migraine patients. *Cephalalgia*, **2011**;31:654-660.

114. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* **2001**; 69: 89-95.
115. **Mayeux R.** Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx.* **2004**; 1: 182-188.
116. **D'Andrea G, D'Arrigo A, Dalle Carbonare M, Leon A.** Pathogenesis of migraine: role of neuromodulators. *Headache*, **2012**; 52: 1155-1163.
117. **D'Andrea G, D'Amico D, Bussone G, Bolner A, Aguggia M, Saracco MG, Galloni E, De Riva V, Colavito D, Leon A, Rosteghin V, Perini F.** The role of tyrosine metabolism in the pathogenesis of chronic migraine. *Cephalalgia*, **2013**;33: 932-937.
118. **Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R.** Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol*, **1988**; 23: 193-196.
119. **Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R.** Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol.* **1990**; 28: 183-187.
120. **Hansen JM, Hauge AW, Olesen J, Ashina M.** Calcitonin generelated peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura. *Cephalalgia Int J Headache.* **2010**; 30: 1179-1186.
121. **Durham P, Papapetropoulos S.** Biomarkers Associated With Migraine and Their Potential Role in Migraine Management. *Headache.* **2013**; 53: 1262-1277.
122. **Durham PL.** Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) and Migraine. *Headache.* **2006**; 46: S3-S8.
123. **Cady RK, Vause CV, Ho TW, Bigal ME, Durham PL.** Elevated saliva calcitonin gene-related peptide levels during acute migraine predict therapeutic response to rizatriptan. *Headache.* **2009**; 49: 1258-1266.
124. **Peres MF, Zukerman E, Senne Soares CA, Alonso EO, Santos BF, Faulhaber MH.** Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine. *Cephalalgia.* **2004**; 24: 735-739.
125. **Vaccaro M, Riva C, Tremolizzo L, Longoni M, Aliprandi A, Agostoni E, Rigamonti A, Leone M, Bussone G, Ferrarese C.** Platelet glutamate uptake and release in migraine with and without aura. *Cephalalgia.* **2007**; 27: 35-40.
126. **Sarchielli P, Mancini ML, Floridi A, Coppola F, Rossi C, Nardi K, Acciarresi M, Pini LA, Calabresi P.** Increased levels of neurotrophins are not specific for chronic migraine: evidence from primary fibromyalgia syndrome. *J Pain.* **2007**; 8: 737-745.

127. **Ferrari A, Spaccapelo L, Pinetti D, Tacchi R, Bertolini A.** Effective prophylactic treatments of migraine lower plasma glutamate levels. *Cephalalgia*. **2009**; 29: 423-429.
128. **Izzati-Zade KF.** The role of serotonin in the pathogenesis and clinical presentations of migraine attacks. *Neurosci Behav Physiol*. **2008**; 38: 501-505.
129. **Sicuteri F, Testi A, Anselmi B.** Biochemical investigations in headache: increase in hydroxytryptindoleacetic acid excretion during migraine attacks. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. **1961**; 19: 55-58.
130. **Ferrari MD, Odink J, Tapparelli C, Van Kempen GM, Pennings EJ, Bruyn GW.** Serotonin metabolism in migraine. *Neurology*. **1989**; 39: 1239-1242.
131. **Tsujino N, Sakurai T.** Orexin/Hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacol Rev*. **2009**; 61: 162-176.
132. **Sarchielli P, Rainero I, Coppola F, Rossi C, Mancini M, Pinessi L, Calabresi P.** Involvement of corticotrophin-releasing factor and orexin-A in chronic migraine and medication-overuse headache: findings from cerebrospinal fluid. *Cephalalgia*. **2008**; 28: 714-722.
133. **Antonaci F, Ghiotto N, Evangelista M,** An overview of the treatment options for acute migraine. *Eur Neurol Rev*, **2011**; 6(4):273-277.
134. **Stewart WF, Lipton RB, Whyte J et al.** An international study to assess reliability of the migraine disability assessment (MIDAS) score. *Neurology*, **1999**; 53: 988-994.
135. **Morgan M, Cousins S, Middleton L, Warriner-Gallyer G, Ridsdale L.** Patients' experiences of a behavioural intervention for migraine headache: a qualitative study. *J Headache Pain*, **2015**; 17(1):16.
136. **Antonaci F, Ghiotto N, Wu S, Pucci E, Costa A.** Recent advances in migraine therapy. *Springerplus*, **2016**; 17:5:637.
137. **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **1988**; 16(3):1215
138.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=rs1801708 Erişim tarihi: 19.07.2016.
139. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5333 Erişim tarihi: 20.07.2016.
140. **Hayran O, Zarifoğlu M, Siva A.** Baş ağrısı Epidemiyolojisi. Erdine S (Ed). *Ağrı* **2000**; 181-183.

141. **Lisi V, Garbo G, Battistella P, Micciché F, Stecca A, Terrazzino S, Franzoi M, Tripoli E, Leon A, Clementi M.** Endothelin receptor A -231 G>A polymorphism: no linkage to primary pediatric headache. *Headache*, **2006**;46(3):486-91



EKLER

EK-1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Yapılması planlanan çalışmada, migren ile ilişkili olabileceği düşünülen genetik değişimlerden EDNRA gen polimorfizmleri araştırılacaktır.

Bu çalışmanın amacı; EDNRA genlerinde meydana gelen SNP'lerin migren hastalığında etkin olabileceğinden yola çıkılarak bu yolağın oluşumunda yer alan polimorfik değişimlerin migren hastalığı oluşturma riski arasında bir ilişkinin var olup olmadığının belirlenmesidir. EDNRA genine ait SNP'lerin migren hastalığının etiyolojisine katkı sağlaması açısından önemlidir. Yapılacak çalışmanın ilaç tedavisi için yeni hedeflerin belirlenmesinde ve genetik yatkınlığın tanımlanması açısından katkıda bulunacağı ve bir yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dallarının ortak katılımlarıyla gerçekleştirilecek olan bu araştırmaya katılımlarınızın araştırmanın başarısı için önem taşıdığını belirtmek istiyoruz.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof.Dr.Aynur ÖZGE, Doç.Dr.Derya UĞURLU ULUDÜZ veya onların görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda eğer doktorunuz uygun görürse araştırmaya dahil olacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu araştırmayı yapabilmek için kolunuzdan 10 ml kadar kan almamız gerekmektedir.

Kan alınması sırasında iğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Çok az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu araştırmaya katılımlarınız için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. Araştırmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Bu araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine araştırmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekme hakkına da sahipsiniz

Gönüllünün sorumlulukları, kolundan 10 ml (1-2 tüp) kan vermektir. Araştırma için istenilen sorulara doğru cevap vermelidir.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı tarafından migren tanısı konulmuş 184 birey ile migren hastalığı olmayan 184 bireye ait kan örnekleri bu araştırmaya konu olacaktır. Bu bireylere ait kan örnekleri toplanacak ve venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirilecektir. İzole edilen

DNA'lardan RealTime-PCR yöntemi ile genotipleme yapılacaktır. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilecektir.

Araştırmadan makul ölçüde beklenen yararlarla ilgili olarak gönüllü açısından hedeflenen herhangi bir klinik yarar yoktur gönüllüler bu durum hakkında bilgilendirilecektir. Gönüllünün araştırmaya katılımı isteğe bağlıdır ve gönüllünün istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir.

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisinin söz konusu erişime izin vermiş olacaktır.

İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacaktır, kamuoyuna açıklanamayacaktır; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliğinin gizli kalacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllünün veya yasal temsilcisinin zamanında bilgilendirilecektir.

Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi olay hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Prof.Dr.İ.Ömer BARLAS 0533 269 69 12, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında Prof.Dr.Aynur ÖZGE 0532 662 31 80, ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında Doç.Dr.Derya UĞURLU ULUDÜZ 0532 213 39 16 numaralarından ulaşabilecektir.

Gönüllünün araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre, 3 aydır.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı minimum 368' dir.

Gönüllülerden elde edilecek olan Biyolojik Materyal olan periferik kandan izole edilen DNA'lardan RealTime-PCR yöntemi ile genotipleme yapılacaktır.

Biyolojik materyallerin analizleri yurtdışında yapılmayacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ	
Adı , Soyadı	
Tel numarası	
Tarih	
İmza	
HEKİM	
Adı , Soyadı	
Tel numarası	
Tarih	
İmza	
GÖRÜŞME TANIĞI	
Adı , Soyadı	
Tel numarası	
Tarih	
İmza	

- Migren Tanısı Almış Bireylerde EDNRA Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması konulu çalışma kapsamında alınan biyolojik örneklerin (kan)
- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)
- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı alınmak suretiyle yapılacaktır.

EK-2 Etik Kurul Onayı

T.C. MERSİN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
27/11/2014	22	2014/259

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. İ. Ömer BARLAS'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Migren Tanısı Almış Hastalarda Endotelin Reseptör A Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 25/11/2014 tarihinde sunulan Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar İçin Başvuru Formu ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkan

İmza
Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU KILINÇ
Başkan Yrd.

İmza
Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE
Raportör

(Katılamadı)
Prof. Dr. Aylin ERTEKİN YAZICI
Üye

İmza
Prof. Dr. Hasan Erdal DORUK
Üye

İmza
Prof. Dr. Murat ÖZEREN
Üye

İmza
Prof. Dr. Mehmet Sami SERİN
Üye

İmza
Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ
Üye

İmza
Prof. Dr. Sabire YURTSEVER
Üye

İmza
Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN
Üye

İmza
Yrd. Doç. Dr. Oya ÖGENLER
Üye

İmza
Yrd. Doç. Dr. Nalan TİFTİK
Üye

(Katılamadı)
Uzm. Dr. Kıvılcım EREN ERDOĞAN
Üye

İmza
Hürrem Betül LEVENT ERDAL
Üye

(Katılamadı)
Lale DAĞLI
Üye


Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkan
ASLI GİBİDİR

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Migren Tanısı Almış Hastalarda Endotelin Reseptör A Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Mersin Üniversitesi Çiftlikköy Kampüsü Prof. Dr. Uğur ORAL Kültür Merkezi Zemin Kat , 33343, Yenışehir/Mersin
	TELEFON	0 324 361 00 01 / 4417
	FAKS	0 324 241 00 92
	E-POSTA	meukaek@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. İ.Ömer BARLAS			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ	---			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
Diğer ise belirtiniz: - Kan, idrar, doku, görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleri ile yapılacak araştırma - Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyal ile yapılacak araştırma					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama		
	SIGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER: GİRİŞİMSİZ OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	☒				
	ARAŞTIRMACILARIN ÖZ GEÇMİŞİ	☒				
	3 ADET LİTERATÜR	☒				

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN

Etik Kurul Başkanı

İmza:



Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Migren Tanısı Almış Hastalarda Endotelin Reseptör A Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	---

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: <u>2014-259</u>	Tarih: <u>27/11/2014</u>
	Yukarıda bilgileri verilen başvuruya dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmış etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumundan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN	Farmakoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Bölümü Farmakoloji ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Olgun HALLIOĞLU KILINÇ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Nimet KARAGÖLLE	Biyomühendislik	MEÜ Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Aylin ERTEKİN YAZICI	Psikiyatri	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Psikiyatri ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Hasan Erdal DORUK	Üroloji	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji Ab.D	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Murat ÖZEREN	Kalp Damar Cerrahisi	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kalp Damar Cerrahisi ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Sami SERİN	Mikrobiyoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Lütfiye TAMER GÜMÜŞ	Biyokimya	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Sabire YURTSEVER	İç Hastalıkları Hemşireliği	MEÜ Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü İç Hastalıkları Hemşireliği ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN	Biyoistatistik	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyoistatistik ve Tıbbi Bilgisi ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Oya ÖGÖNLER	Tıp Tarihi ve Etik	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıp Tarihi ve Etik ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Nalan TİFTİK	Farmakoloji	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Farmakoloji ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Uzm. Dr. Kıvanç EREN ERDOĞAN	Patoloji	Mersin Devlet Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Yüksek Şehir Plancısı Hüsnü Betül LEVENT ERDAL	Şehir ve Bölge Planlama/Uluslararası Proje Yönetimi	Mersin Ticaret ve Sanayi Odası Projesi Müdürlüğü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Avukat Lale DAĞLI	Hukuk	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Etik Kurul Başkanı
İmza:



Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Yozgat'ta doğdu. İlkokul ve orta okulu Mersin Gazi Paşa İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise eğitimini Mersin Hacı Sabancı Lisesi'nde tamamladı. 2013 yılının mayıs ayında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2013 yılı eylül ayında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladı. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime devam etmektedir.

