



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİGRENDE ÜROTENSİN-II Thr21Met ve Ser89Asn
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

Betül OZAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK

Gaziantep

2015

Gaziantep
2015



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİGRENDE ÜROTENSİN-II Thr21Met ve Ser89Asn
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

Betül OZAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK

Gaziantep
2015

**T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİGRENDE ÜROTENSİN-II Thr21Met ve Ser89Asn
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

Betül OZAN

Tez Savunma Tarihi: 23.10.2015
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Cahit BAĞCI
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK

Yard. Doç. Dr. Hakim ÇELİK

BEYAN

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

23.10.2015

Betül OZAN

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı danışman hocam **Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK**'e

Bilimsel kimliği ve hayata bakış açısı ile her zaman örnek alacağım, yüksek lisans eğitimim de ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam **Prof. Dr. Cahit BAĞCI** 'ya

Tez çalışmam süresince her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım **Prof. Dr. Ramazan BAL, Doç. Dr. Tuncer DEMİR, Yrd. Doç. Dr. Davud Sinan KAPLAN** 'a

Tez çalışmama bilgi ve desteğiyle olumlu katkılarından dolayı değerli hocam **Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK** 'e

Tez çalışmamın deneysel aşamasında hoşgörü ve tecrübelerini esirgemeyen **Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU, Doç. Dr. Remzi YİĞİTER** ve doktora öğrencisi **Muhammad SAFDAR** 'a

Tez çalışmasına yapmış olduğu finansal destek için **Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu** 'na,

Tez çalışmam süresince manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen abim **Şerafettin KORKMAZER** 'e

Sonsuz sevgileri, fedakarlıkları ve destekleri ile bütün yaşamımda ve elbette tüm eğitim sürecimde yanımda olan canım aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGE VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	vii
RESİM LİSTESİ	ix
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Migren	5
2.1.1. Baş ağrısı tanımı ve tarihçesi	5
2.1.2. Baş ağrılarının sınıflandırılması	6
2.1.3. Migren tanımı ve sınıflandırması	7
2.1.3.1. Aurasız migren (Yaygın, Olağan, Common Migren, Hemikraniya Simpleks)	9
2.1.3.2. Auralı migren (Klasik Migren, Oftalmik, Hemiparestetik, Hemiplejik ya da Afazik Migren)	9
2.1.3.3. Migren varyantları	10
2.1.4. Migrenin epidemiyolojisi	12
2.1.5. Migren atağını tetikleyen faktörler	13
2.1.6. Migren atağının dönemleri	14
2.1.7. Migren patofizyolojisi	18
2.1.8. Migrenin genetiği	22
2.2. Ürotensin II	25
2.2.1. Ürotensin II'nin keşfi ve moleküler yapısı	25
2.2.2. Ürotensin II reseptörü (UTR)	27
2.2.3. Ürotensin II geni	27
2.2.4. Ürotensin related peptid (URP)	28
2.2.5. UII'nin etkileri	29

2.3. Genetik Polimorfizm Kavramı	34
2.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	35
2.3.2. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi	36
3. MATERYAL ve METOD	38
3.1. Hasta Grubunun Oluşturulması	38
3.2. Hastalardan Kan Numunelerinin Toplanması	38
3.3. Kan Numunelerinden DNA Eldesi	38
3.4. DNA'ların Kalite ve Miktar Tayinler	39
3.5. Primerlerin Tasarlanması	40
3.6. UTS2 Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması	40
3.6.1. Ekzon 1 (rs228648) PZR işlemi	40
3.6.2. Ekzon 4 (rs2890565) PZR işlemi	42
3.7. Elektroforez	43
3.7.1. Agaroz jel elektroforezi	43
3.7.1.1. Tris-borik asit-EDTA (TBE) tampon	43
3.7.1.2. Agaroz jelde yürütme	44
3.8. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm Analizi (RFLP)	45
3.8.1. Ekzon 1 (rs228648) enzim kesim işlemi	46
3.8.2. Ekzon 4 (rs2890565) enzim kesim işlemi	46
3.9. İstatistiksel Analiz	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	57
6. KAYNAKLAR	59
7. EKLER	70

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AMPP	Amerikan Migren Prevelansı ve Önleme Çalışması
<i>ATP1A2</i>	Na^+ / K^+ Taşıyıcı ATPaz Alfa 2 Polipeptit
Bç	Baz Çifti
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
<i>CACNA1A</i>	Voltaj-Bağımlı, P / Q Tipi Kalsiyum Kanal Alfa 1A Altbirimi
CBF	Serebral Kan Akımı
CHF	Kronik Kalp Yetmezliği
<i>CGRP</i>	Kalsitonin Geni ile İlişkili Peptit
<i>GPCR/ GPR14</i>	G Protein Eşi Reseptör
CSD	Kortikal Yayılan Depresyon
CTZ	Kemoreseptör Tetikleyici Bölge
dATP	Deoxyadenosine Triphosphate
dCTP	Deoxycytidine Triphosphate
dGTP	Deoxyguanosine Triphosphate
dNTP	Deoksinükleosid Trifosfat
dTTP	Deoxythymidine Triphosphate
DA	Dopamin
DR	Diyabetik Retinopati
<i>DRD</i>	Dopamin Reseptör Geni
<i>DRD2</i>	Dopamin Reseptör D2
<i>DRD3</i>	Dopamin Reseptör D3
<i>DRD4</i>	Dopamin Reseptör D4
EAAT1	Uyarıcı Amino Asit Taşıyıcı 1
EDHF	Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
<i>ET-1</i>	Endotelin-1
FHM	Ailesel Hemiplejik Migren

FHM1	Ailesel Hemiplejik Migren Tip 1
FHM2	Ailesel Hemiplejik Migren Tip 2
FHM3	Ailesel Hemiplejik Migren Tip 3
<i>hUII</i>	İnsan Ürotensin-II
hUTR	İnsan Ürotensin Reseptörü
HT	Hipertansiyon
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
ICHD-III	Uluslararası Baş ağrısı Sınıflandırma Ölçeği 3
IHS	Uluslararası Baş ağrısı Cemiyeti
IL-6	İnterlökin 6
<i>LRP1</i>	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör
	İlişkili Protein 1
MA	Auralı Migren
MO	Aurasız Migren
M.Ö	Milattan Önce
M.S	Milattan Sonra
MTHFR	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
MTDH	Metadherin
NCBI	ABD Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
NO	Nitrik Oksit
NYHA	New York Kalp Cemiyeti
<i>PACAP</i>	Pitüiter Adenilat Siklaz Aktive Peptit
PACE	PARma CEfalea, or 'Headache in Parma'
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PZR- RFLP	PZR-Restriksiyon Parça Uzunluk
	Polimorfizmi
RE	Restriksiyon Enzimi
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
PRDM16	PR Etkileşimli Domain 16
<i>SCN1A</i>	Sodyum Kanalı, Voltaj Bağımlı, Tip I Alfa
	Altbirim

SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
Ser89Asn / S89N	Serin89Asparajin Polimorfizmi
SG	Soygeçmiş
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
SP	P Maddesi
SST	Somatostatin
TBE	Tris-Borik Asid-EDTA
TGVS	Trigeminovasküler Sistem
Thr21Met / T21M	Threonin21Metionin Polimorfizmi
<i>TRPM8</i>	Transient Receptor Potential Melastatin 8
<i>UI</i>	Ürotensin-I
<i>UTS2</i>	Ürotensin-II
<i>URP</i>	Ürotensin ile İlişkili Peptid
UTR	Ürotensin Reseptör
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VSMC	Vasküler Yumuşak Kas Hücresi
5-HT	Serotonin

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Yaşa ve cinsiyete göre migren prevalansı	12
Şekil 2.2. Migren atağının dönemleri	15
Şekil 2.3. Görsel aura tipleri	16
Şekil 2.4. Migren patogeneğinde vasküler teori	19
Şekil 2.5. Migren patogeneğinde nörojenik teori	20
Şekil 2.6. Migren patofizyolojisi şematik gösterimi	21
Şekil 2.7. Migren mutasyonlarında etkili merkezi glutamat sinapsı	24
Şekil 2.8. Teleost balık ürofiz kaudal nörosekretuar sisteminin organizasyonu ve vasküler bağlantıları	25
Şekil 2.9. İnsanda ve çeşitli hayvanlarda UII peptidlerin yapısı	26
Şekil 2.10. <i>UTS2</i> geninin kromozom 1p36 üzerine lokalize olan iki transkript varyantı	28
Şekil 2.11. <i>UTS2</i> ve <i>URP</i> aminoasit birleşimi	29
Şekil 2.12. İnsülin aktivitesi ve metabolik sendrom ile ilişkili glikoz metabolizmasında <i>UTS2</i> 'nin rolü	30
Şekil 2.13. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) aşamaları	36
Şekil 2.14. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi şematik gösterimi	37
Şekil 4.1. Migren ve kontrol grubu cinsiyet dağılımı	48
Şekil 4.2. Migren grubunda soygeçmiste migren öyküsü	49
Şekil 4.3. Migren ve kontrol grubu sigara ve alkol kullanımı	49
Şekil 4.4. Migren tipleri	50
Şekil 4.5. Migren ve kontrol gruplarında <i>UTS2</i> geni ekzon Thr21Met polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları	51
Şekil 4.6. Migren ve kontrol gruplarında <i>UTS2</i> geni ekzon Ser89Asn polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları	54

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. ICHD-III Baş ağrısı sınıflaması	7
Tablo 2.2. ICHD-III Migren sınıflaması	8
Tablo 2.3. Migren ataklarını tetikleyici faktörler	14
Tablo 2.4. Migrenin prodrom dönemi semptomları	15
Tablo 2.5. Migren baş ağrısına eşlik eden semptomlar	17
Tablo 2.6. Migren ağrısını azaltan faktörler	18
Tablo 2.7. İnsanlarda, farklı hastalık durumları ve sağlıklı kontrollerde plazma <i>UTS2</i> düzeyleri	32
Tablo 3.1. <i>UTS2</i> geninin ekzonlarına göre tasarlanan primerlerin özellikleri	40
Tablo 3.2. <i>UTS2</i> geninin ekzon 1 bölgesinin PZR bileşenleri ve eklenen miktarlar	41
Tablo 3.3. <i>UTS2</i> geni ekzon 1 bölgesi PZR koşulları	41
Tablo 3.4. <i>UTS2</i> geninin ekzon 4 bölgesinin PZR bileşenleri ve eklenen miktarlar	42
Tablo 3.5. <i>UTS2</i> geni ekzon 4 bölgesi PZR koşulları	43
Tablo 3.6. TBE Tamponu Bileşenleri	44
Tablo 3.7. Restriksiyon enzimlerin kesim noktası ve çalıştığı sıcaklık	45
Tablo 3.8. Ekzon 1 kesim PZR miktarları	46
Tablo 3.9. Ekzon 4 kesim PZR miktarları	47
Tablo 4.1. Migren ve kontrol gruplarında <i>UTS2</i> geni ekzon Thr21Met polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları	51
Tablo 4.2. Thr21Met Polimorfizmi MA ve MO genotip ve allel frekansları Dağılımı	52
Tablo 4.3. Migren ve kontrol gruplarında <i>UTS2</i> geni ekzon Ser89Asn polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları	53
Tablo 4.4. Ser89Asn Polimorfizmi MA ve MO genotip ve allel frekansları dağılımı	55

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Nanodrop spektrofotometre	39
Resim 3.2. Ekzon 1 (rs228648) PZR sonucu	44
Resim 3.3. Ekzon 4 (rs2890565) PZR sonucu	45
Resim 4.1. <i>UTS2</i> Thr21Met (rs228648) polimorfizminin NlaIII enzimi ile kesim sonuçları %3'lük agaroz jel görüntüsü	56
Resim 4.2. <i>UTS2</i> Ser89Asn (rs2890565) polimorfizminin RsaI enzimi ile kesim sonuçları %3'lük agaroz jel görüntüsü	56

ÖZET

MİGRENDE ÜROTENSİN-II Thr21Met ve Ser89Asn POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

Betül OZAN

Yüksek Lisans Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı: Doç. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK

23.10.2015, 71 sayfa

Tekrarlayan baş ağrısı atakları ve sinir sisteminin aşırı duyarlılığı şeklinde kendini gösteren migren, farklı klinik bulgularla belirlenen yaygın bir nörovasküler beyin hastalığıdır. Moleküler mekanizması ve genetiği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmanın amacı, migren hastalarında Ürotensin-II geninin Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri için genotip dağılımları ve alel frekansları analiz etmektir. Migrenli 146 hasta Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri ile 154 yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubu genotipleri karşılaştırıldı. *UTS2* geni polimorfizmlerinin tespiti, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) - restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi tekniği ile elde edilmiştir. Genotip dağılımları ve Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri için alel frekansları, gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermedi. Ayrıca, migrenin auralı ve aurasız alt grupları genotip ve alel frekansları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık görülmedi. Bu, *UTS2* gen Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmlerinin Türk toplumunda migren risk faktörleri olmadığını gösteren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Aura, migren, ürotensin-II, *UTS2* gen, polimorfizm.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE UROTENSIN-II GENE Thr21Met ve Ser89Asn POLYMORPHISMS IN MIGRAINE

Betül OZAN

MS Thesis, Department of Physiology
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK
23.10.2015, 71 pages

Migraine is a common neurovascular brain disorder with heterogeneous clinical presentation, including recurrent headache attacks and hypersensitivity of various functional systems of the nervous system. The molecular mechanisms and genetics of migraine have not yet been fully clarified. The objective of this study was to analyze the genotype distributions and allele frequencies for urotensin-II gene (*UTS2*) Thr21Met and Ser89Asn polymorphisms among the migraine patients. A total of 146 patients with migraine were genotyped for the Thr21Met and Ser89Asn polymorphisms and compared with 154 age and sex-matched healthy controls. The detection of *UTS2* gene polymorphisms was achieved with polymerase chain reaction (PCR) - restriction fragment-length polymorphism (RFLP) analysis technique. Neither genotype distributions nor the allele frequencies for the Thr21Met and Ser89Asn polymorphisms showed a significant difference between the groups. Additionally, there were no marked differences in genotype distribution or allele frequencies for the migraine without aura and migraine with aura subgroups when compared to control group. This is the first study to show that the *UTS2* gene Thr21Met and Ser89Asn polymorphisms are not risk factors for the migraine in the Turkish population.

Keywords: Aura, migraine, urotensin-II, *UTS2* gene, polymorphism.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Migren; bulantı, kusma, fotofobi, fonofobi ve şiddetli tekrarlayan baş ağrısı ile karakterize edilen, semptomların süresi ve sıklığı, etkilenen kişiler arasında büyük farklılıklar gösteren kompleks bir nörolojik bozukluktur (1). Migren baş ağrısı, hastaların büyük çoğunluğunun günlük yaşantısını kısıtlayan sık ve şiddetli ataklara neden olur (2). Migren klinik olarak auralı migren (MA) ve aurasız migren (MO) olmak üzere iki temel alt tipe ayrılmıştır (3). Migren, toplumun yaklaşık %12'sini etkiler ve görülme sıklığı erkeklere göre kadınlarda 3-4 kat daha yüksektir (4). Migren etiyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Kalıtımın migren patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Etkilenen bireylerin yaklaşık %50'sinin birinci derece akrabaları da migrenlidir (5). Son genom çalışması, migren ve 3 SNP arasındaki zayıf ilişkiyi kanıtlar niteliktedir. (rs2651899, *PRDM16*; rs10166942, *TRPM8*; rs11172113 *LRP1*) (6). Hastalığın büyük bir genetik bileşeni olmasına rağmen söz konusu genlerin türü ve numarası halen belirsizdir.

İnsan ürotensin-II (hU-II), bir öncül prohormonun proteolitik bölünmesi ile üretilen 11 aminoasitten oluşan bir peptittir. *UTS2*, insan arter ve ven damarlarında güçlü vazokonstriksiyona neden olur. Vazokonstriktör etkisi endotelin-1 den daha kuvvetlidir (7). Hipertansiyon, ateroskleroz, kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, diyabet, böbrek yetmezliği ve metabolik sendrom da dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkta *UTS2* plazma seviyeleri yüksek bulunmuş ve *UTS2* ekspresyonunun da arttığı kanıtlanmıştır (8). Ürotensin II, ekstrasellüler matriks üretimi, gelişmiş vazokonstriksiyon, vasküler yumuşak kas hücresinde (VSMC) hiperplazi ve endotel hücrede aşırı geçirgenliğe katkıda bulunabilir (9). U-II, mitojeniktir, arteriyel düz kas hücresi çoğalmasını ve yayılmasını indükler, ancak apoptozisi engeller (10,11). Ayrıca, VSMC de hipoksi ile *UTS2* ekspresyonu artar (12).

Ürotensin II peptidi kodlayan gen 1p36 kromozom bölgesinde yer alır ve 5 ekzon içerir (13). Son genom-boyu bağlantısı çalışmalarında da kromozom1p36 migren duyarlılık odağının biri olarak tanımlandı (14,6).

Migren hastalarında *UTS2* gen polimorfizmlerinin rolünü araştıran herhangi bir çalışma yoktur. Bu nedenle, Türk popülasyonunda *UTS2* gen Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri ve migren arasındaki olası ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Migren

2.1.1. Baş ağrısı tanımı ve tarihçesi

Uluslararası ağrı araştırmaları derneği (IASP) ağrıyı, vücudun herhangi bir yerinden başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleri ile ilgili, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu olarak tanımlamıştır (15).

İnsanın varolduğu tarihten beri süregelmekte olan baş ağrısı, genel hasta poliklinikleri ve nöroloji polikliniklerine başvuran hastaların en yoğun şikayetlerinden olup, bu durum baş ve çevresinde ağrıya duyarlı yapıların çok olması ile kısmen açıklanabilir. Saçlı deri, deri altı yağ dokusu ve arterleri, baş ve boyun kasları, periost, göz kulak, burun yapıları, sinüsler, dişler, 5.9.10. kafa çiftleri ve ilk üç servikal spinal sinirin ekstrakranial kısımları ekstrakranial; İntrakranial arterlerin proksimal kısımları (Willis poligonu çevresi), meningial arterler, venöz sinüsler, büyük venler, kaide durası, tentorium serebelli, falks serebri, 5,9,10. sinirler ve ilk üç servikal spinal sinirin intrakranial kısımları ise intrakranial ağrıya duyarlı yapılardır. Beyin parankimi, duranın ve pianın büyük bölümü, kemik yapı, ependim ve koroid pleksuslar ağrıya duyarlı olmayan yapılardır (16).

Herhangi bir baş ağrısının tahmin edilen hayat boyu prevalansı erkeklerde %90 olup, kadınlarda %95'ten fazladır (17).

Migren ve diğer başağrıları ile ilgili ilk yazılı kaynak olan Mezopotamya'daki Leyden papirüslerinde, tedavi için doğa üstü güçlerden yararlanıldığı anlaşılmıştır. Kapadokya'da yaşayan Areteaus'un eserlerinde ve mısır papirüslerinde (M.Ö 1550) unilateral ağrı ve beraberinde terleme, bulantı ve kusma "heterokrania" terimi ile ifade edilmiştir (18). M.S. 2. yy'de Galen "heterokrania" kelimesine eş anlamlı, Yunanca'da yarım baş ağrısı anlamına gelen, "hemikrania" kelimesini kullanmış, migrenin semptomlarını da ayrıntılı anlatmıştır (19). Tek taraflı baş ağrısı anlamında, Yunanca olan "hemicrania" daha sonra "hemigranea", "emigrania", "megranea" ve "megrim" terimleri kullanılmıştır. Günümüzde ise Fransızca'dan gelen "migraneur" teriminden dönüştürülerek "migren" olarak adlandırılmıştır (16).

10. yy'de İbni Sina koku, ses ve ışığa olan algının artarak migren oluşumuna neden olabileceğini ifade etmiştir. Orta çağın sonunda yapılan anatomik çalışmalarda falks serebrinin beyni ikiye ayırdığı ve bu nedenle migrenin tek taraflı olabileceği düşünülmüş ve arterden gelen ağrının zonklayıcı, sinirden gelen ağrının sıkıştırıcı tipte algılandığı ileri sürülmüştür (18).

Rey ve Wolf yaptıkları çalışmalarla, intra ve ekstrakranial ağrıya duyarlı yapılardaki değişimlerin baş ağrısına sebep olduğunu açıklamışlardır (20). 19. yy'de Graham ve Wolf ergotaminlerin dilate temporal arter üzerine olan vazokonstriktör etkilerini göstermişlerdir. Wolf migren ve diğer baş ağrısı tiplerini ayrıntılı olarak inceleyen ilk araştırmacı olup, diğer araştırmacılar ile bir araya gelerek Ad Hoc komitesini oluşturup baş ağrılarının sınıflandırılmasında öncü olmuştur (18).

2.1.2. Baş ağrılarının sınıflandırılması

Hastalıkların tanımlanıp sınıflandırılması uzun çaba gerektiren bir iş olmasına rağmen, hekimler arasındaki tanı farklılığını minimum düzeye indirmek için kaçınılmaz bir yöntemdir (21).

İlk defa 1962'de Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü Ad Hoc Komitesi, kontrollü klinik çalışmalar ve çeşitli baş ağrılarının profilaksisi ve tedavisi amacıyla baş ağrılarını sınıflandırmıştır (22). Bu sınıflama 1988'de Uluslararası Baş ağrısı Cemiyeti (IHS) tarafından değiştirilmiş ve 1999 yılında tekrar gözden geçirilerek 2. Sürümü "Cephalalgia Dergisi'nde" 2004 yılında yayımlanmıştır (23). 2010 yılındaki son düzenlemelerle 3.sürüm yine "Cephalalgia Dergisi'nde" yayımlanmıştır (Tablo 2.1) (24).

Tablo 2.1. ICHD-III Baş ağrısı sınıflaması (24).

A-PRİMER (BİRİNCİL) BAŞAĞRILARI 1- Migren 2- Gerilim Tipi Baş ağrısı 3- Küme ve diğer otonomik trigeminal başağrıları 4- Diğer primer başağrıları
B-SEKONDER (İKİNCİL) BAŞAĞRILARI 5- Kafa veya boyun travması ile ilgili başağrıları 6- Servikal vasküler bozukluklarla ilgili başağrıları 7-Nonvasküler intrakranial bozukluklarla ilgili başağrıları 8- Maddelerle veya bırakılmaları ile ilgili başağrıları 9- Enfeksiyonla ilgili başağrıları 10- Homöostaz bozukluklarına bağlı başağrıları 11-Kranium, boyun, göz, kulak, burun, sinüs, diş, ağız veya diğer yüz veya kranyal yapılarla ilgili baş ve yüz ağrıları 12- Psikiyatrik bozukluklara bağlı başağrıları
C- KRANİYAL NEVRALJİLER, SANTRAL VE FASİYAL AĞRILAR VE DİĞER BAŞAĞRILARI 13- Diğer başağrıları, Nevraljiler ve nöropati

2.1.3. Migren tanımı ve sınıflaması

Migren, gastrointestinal, nörolojik ve otonomik değişikliklerin görüldüğü, kısıtlılığın da çeşitli kombinasyonlarda eşlik ettiği, primer epizodik bir baş ağrısı bozukluğudur (25,26). Migren bireyin hayat kalitesi ve iş gücünü düşüren, prevalans ve insidansı yüksek olan bir hastalık olup (27), nedeni tam olarak bilinmemektedir ve sınıflaması tanılayıcı terimlere dayanmaktadır. Laboratuvar tetkikleri, fizik ve nörolojik muayene migrenlilerde normal tespit edilip, ikincil başağrıları dışlamak için değerlendirilir (28). 1988 yılında IHS tarafından belirlenen migren kriterlerine göre olgular migrenli olmasına rağmen bu kriterleri taşımamaktaydı.

B

u durum beraberinde tanı kriterlerinde düzenleme gerektirdi ve 2004 yılındaki düzenlemeyle migren başağrısı tanı kriterlerinde değişiklikler yapıldı (29). Uluslararası Başağrısı Derneği tarafından Başağrısı sınıflama tanı kriterlerinin 2010 yılında son şekli yayımlandı (Tablo 2.2) (30).

Tablo 2.2. ICHD-III Migren Sınıflaması (30).

1. Aurasız migren
2. Auralı migren
 - 2.1 Tipik auralı migren
 - 2.1.1 Ağrılı tipik aura
 - 2.1.2 Ağrısız tipik aura
 - 2.2 Beyin sapı auralı migren
 - 2.3 Hemiplejik migren
 - 2.3.1. Ailesel hemiplejik migren (FHM)
 - 2.3.1.1. Ailesel hemiplejik migren tip 1 (FHM1)
 - 2.3.1.2. Ailesel hemiplejik migren tip 2 (FHM2)
 - 2.3.1.3. Ailesel hemiplejik migren tip 3 (FHM3)
 - 2.3.1.4. Ailesel hemiplejik migren, diğer gen lokusları
 - 2.3.2 Kazanılmış hemiplejik migren
 - 2.4 Retinal migren
3. Kronik migren
4. Migren komplikasyonları
 - 4.1 Migren statusu
 - 4.2 Enfarkt olmadan kalıcı aura
 - 4.3 Migrenöz enfarkt
 - 4.4 Migren aurasının tetiklediği nöbet
5. Olası migren
 - 5.1 Aurasız olası migren
 - 5.2 Auralı olası migren
6. Migrenle ilişkili olabilecek epizodik sendromlar
 - 6.1 Tekrarlayıcı gastrointestinal bozukluk
 - 6.1.1 Siklik kusma sendromu
 - 6.1.2 Abdominal migren
 - 6.2 Benign paroksizmal vertigo
 - 6.3 Benign paroksizmal torticollis

2.1.3.1. Aurasız migren (yaygın, olağan, common migren, hemikraniya simpleks)

Tanım: Ataklarla başlayan, 4-72 saat süren, genellikle tek taraflı, zonklayıcı, orta veya şiddetli, günlük bedensel aktiviteyle artış gösteren, fonofobi, fotofobi, bulantı ve kusmanın eşlik ettiği tekrarlayan ataklarla karakterize bir baş ağrısı bozukluğudur (31). Migren baş ağrılarının ortalama %85'i aura içermez (32).

Aurasız migren tanı ölçütleri (24).

- A. B-D'ye uyan en az 5 atağın olması
- B. Baş ağrısı ataklarının 4–72 saat sürmesi (tedavisiz veya başarısız tedaviyle)
- C. Baş ağrısında aşağıdaki özelliklerden en az ikisi bulunur:
 - Unilateral lokalizasyon
 - Zonklayıcı nitelik
 - Orta ya da şiddetli derecede ağrı
 - Merdiven çıkma ya da benzeri günlük fizik aktiviteler ile ağırlaşma
- D. Ağrı sırasında aşağıdakilerden en az biri bulunur:
 - Bulantı ve / veya kusma
 - Fotofobi ve fonofobi
- E. Altta yatan başka bir sebep olmaması

2.1.3.2. Auralı migren (klasik migren, oftalmik, hemiparestetik, hemiplejik ya da afazik migren)

Tanım: Geri dönüşümlü fokal nörolojik belirtilerin görüldüğü, tekrarlayıcı ataklarla karakterize baş ağrısı bozukluğudur. Hastaların yaklaşık %8'inde baş ağrısından yaklaşık 1 saat önce aura görülür ve bu hastaların %99'u görsel aura içerir. Aura belirtilerini genellikle aurasız migren tipi baş ağrısı izler (33).

Auralı migren tanı ölçütleri (24).

- A. B-D'ye uyan en az 2 atağın olması
- B. Aura aşağıdaki özelliklerden en az birini kapsar
 - Görsel belirtiler
 - Duyusal belirtiler
 - Konuşma ve/veya dil bozuklukları

- Motor belirtiler
- Beyin sapı belirtiler
- Retinal belirtiler

C. Aşağıdakilerden en az ikisi vardır:

- En az bir aura belirtisinin ≥ 5 dakikada yavaşça gelişmesi ve/veya farklı aura belirtilerinin ardışık olarak ≥ 5 dakikada oluşması
- Her bir belirtinin ≥ 5 ve ≤ 60 dakikada sonlanması (her aura için ayrı süre geçmesi gerekmektedir)
- En az bir aura belirtisinin unilateral olması (afazi her zaman unilateral belirti olarak kabul edilmektedir, dizartri kabul edilir veya edilmeyebilir)
- Başağrısının aura esnasında veya aurayı izleyen 60 dakika içerisinde başlaması

D. Diğer ICHD-3 kısıtları ile karşılanamaması ve geçici iskemik atağın dışlanmış olması

2.1.3.3. Migren varyantları

Baş ağrısı özellikleri migrene benzeyen ancak, uzamış vizüel auralı paroksizmal epizodlar, atipik duysal ya da motor aura, konfüzyon, dizartri, fokal nörolojik belirti, gastrointestinal belirtiler gibi uzun süren aura belirtileriyle karakterize migren durumu, migren varyantları olarak tanımlanabilir. Hemiplejik migren, baziler migren, çocukluk çağı periyodik sendromları, retinal migren, komplike migren, oftalmoplejik migren ve vestibüler migren “migren varyantları” arasında yer alır (34,35).

1. Beyin sapı auralı migren (eski adıyla baziler migren- bickerstaff migren baziller arter migreni)

Beyin sapından kaynaklanan aura belirtileri olup, motor belirtiler gözlenmez (24).

Prodromal evrede, iki taraflı görsel belirtiler, dizartri, tinnitus, işitme azlığı, vertigo, çift görme, bilateral parestezi, parezi, şuur bozukluğu gibi beyin sapı ve her iki hemisferden köken alan aura belirtilerinden en az ikisinin bir arada bulunduğu migren ataklarıdır. Bir aura belirtisi 5-60 dakika olup, ard arda gelişen farklı aura belirtileri içerir (36). Baziler migren sıklıkla adolesan çağıdaki kızlarda ve genç kadınlarda görülür (34).

2. Ailesel hemiplejik migren (FHM)

Nadir görülen, geri dönüşümlü, değişebilen şiddette kas gücü kaybı şeklinde auranın olduğu, genetik olarak heterojen, otozomal dominant geçişli bir migren alt grubudur. Olguların birinci veya ikinci derece yakınlarından en az birinde motor güçsüzlük şeklinde auranın bulunması FHM tanısını düşündürür (29,37). Ailesel hemiplejik migrenlilerin çoğunda ek nörolojik semptomlar görülmez, fakat birkaç hastada kalıcı serebellar belirtiler gelişebilir (38).

Tanı ölçütleri (24).

A. B ve C'ye uyan en az iki atak vardır.

B. Aura, tamamen geriye dönen motor güçsüzlük ve aşağıdakilerden en az birini içerir:

- Geriye tam dönebilen görme, duyu ve konuşma bozuklukları
- Geriye tam dönebilen motor güçsüzlük

C. Aşağıdakilerden en az ikisinin bulunması:

1. En az bir aura belirtisinin ≥ 5 dk'da ilerleyerek gelişmesi ve/veya farklı aura belirtilerinin ≥ 5 dk'da arka arkaya gelişmesi
 2. Her non-motor aura belirtisinin 5-60 dk içinde sonlanması, motor belirtilerin 72 saatten kısa sürmesi
 3. Aurasız migrenin B ve D ölçütlerini tam dolduran baş ağrısının auranın 60 dk'sı içinde başlaması
 4. En az bir aura belirtisinin unilateral olması (afazi her zaman unilateral belirti olarak kabul edilmektedir, dizatri kabul edilir veya edilmeyebilir)
- D. Diğer ICHD-3 kriterleri ile karşılanamaması ve geçici iskemik atak ile inmenin dışlanmış olması

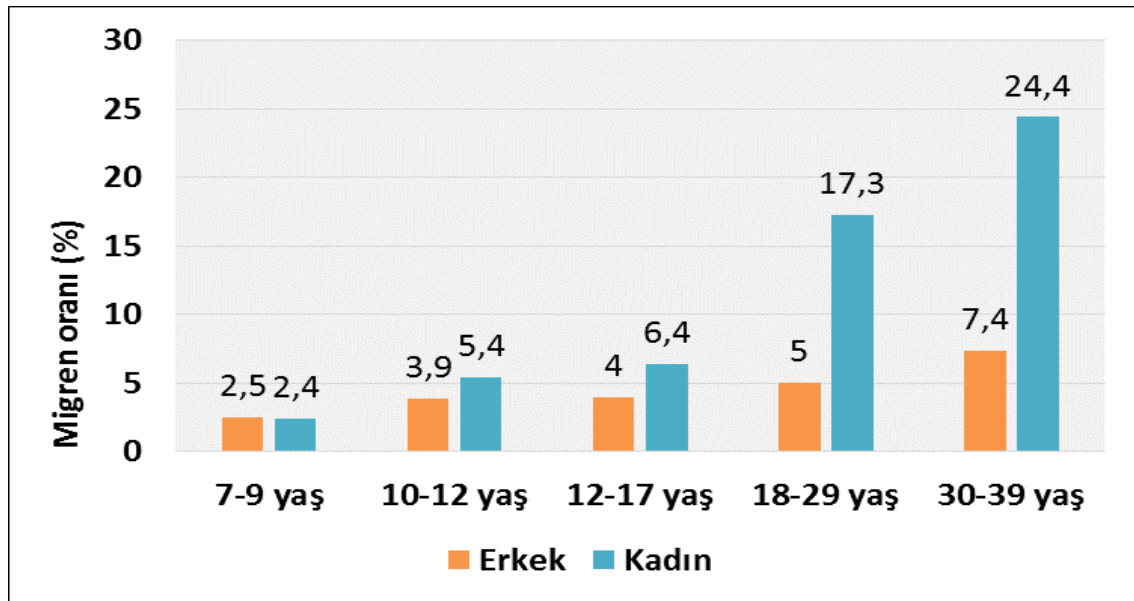
3. Retinal migren

Migren baş ağrısının eşlik ettiği, tekrarlayan monoküler skotom veya körlüğü içeren görme bozuklukları tablosuyla karşılaşılır (39). Baş ağrısı olmayan olgular bulunmasına karşın, bu olgularda migren tanımlanamayabilmektedir (24). Nadir de olsa migrene bağlı kalıcı monoküler görme kaybı tanımlanmıştır (40). Migren baş ağrısı, görme bozukluğu ile aynı anda başlayabilir ve süresi birkaç saniye ile 1 saat arasında değişebilir. Ataklar arasında normal oftalmolojik muayene söz konusu olup, oküler veya yapısal bozuklukların dışlanması gerekir (41).

2.1.4. Migrenin epidemiyolojisi

Migren genel popülasyonun %15-20'sini etkiler (27). Migren prevalansı yaş, cinsiyet, ırk, genetik, çevresel ve sosyokültürel faktörler gibi birçok neden tarafından etkilenmektedir (42).

Birçok ağrı bozukluğu kadınlarda erkeklere göre daha yaygındır (43). Stewart ve ark. migrenin yaşam boyu insidansının, kadınlarda %43 erkeklerde %18 olduğunu belirtmektedir (44). Amerikan Migren Prevalansı ve Önleme Çalışması (AMPP) II, 2.3:1 kadın-erkek oranı ile kadınlar da migren prevalansının daha yüksek olduğunu göstermiş, son PACE çalışmalarında migren prevalansı kadınlarda %29.7 ve erkeklerde %11.4 olarak netleştirilmiştir (45). Prevalans oranları ve yaş, tutarlılık göstermez. 7-9 yaş arasındaki çocuklarda migren, kız ve erkekleri aynı oranda etkilerken (%2,5 erkek, %2,4 kız), ileri yaş gruplarında kadınları erkeklerden daha fazla etkiler (10-12 yaş: %3.9 erkek, %5,4 kız; 13-15 yaş: %4.0 erkek, %6.4 kız) (46,47). Ergenlikte, aurasız migren sıklığı erkeklerde kadınlara oranla daha az artar. Kadınların 30'lu ve 40'lı yaşlarında migren prevalansı pik yapar ve sonraki yıllarda, özellikle menopozdan sonra kademeli bir düşüş gözlenir. Erişkin erkeklerde, prevalans artışı daha kademelidir, migrenin zirveye çıktığı ve düşüşte olduğu yaş kadınlarla benzerdir fakat mutlak değerler her yaş için daha düşüktür (Şekil 2.1) (46-48).



Şekil 2.1. Yaşa ve cinsiyete göre migren prevalansı (49).

Auralı migren dikkate alındığında, Stewart ve ark. yaşam boyu prevalansı %5, erkek-kadın oranını 1:2 olarak ifade etmiştir (50), ve PACE çalışması ile bir yıllık prevalans erkeklerde %3.3 ve kadınlarda %5,3 (45) bulunmuştur.

Migrenin klinik olarak kadınlar ve erkeklerde görülme sıklıklarındaki farklılıklar menstrüasyona bağlı olabilir. Mestrual migrenli kadınların %84'ünün daha az sosyal aktivitelerde bulunabildiği, %81'i günlük ev işlerini gerçekleştirmekte güçlük çektiği, %58'inin ailesel faaliyetlerinin kısıtlandığı, %55'inin spor faaliyetlerinde bulunamadığı ve %45'i için çalışma engeli oluşturduğu rapor edilmiştir (51).

Migren prevelansı ırklara göre değişim gösterebilir. Örneğin beyaz Amerikalılarda migren prevelansı %20.4, Afrika kökenli Amerikalılarda %16.2 ve Asya kökenli Amerikalılarda %9.2 olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmaya göre, Kafkas kökenli beyaz ırkda bu oran %20.4, siyahilerde %16.2 ve Asyalılarda %4.8 bulunmuştur (27).

2.1.5. Migren atağını tetikleyen faktörler

Migren ataklarının büyük bölümü kendiliğinden ortaya çıkmakla birlikte, birçok iç ve/veya dış tetikleyici faktör migren ataklarının başlamasıyla ilişkilendirilmiştir (Tablo 2.3) (52,53). Atakları tetikleyici faktörlerin aurasız migrende %90, auralı migrende %60 oranında etkili olduğu kaydedilmiştir (54).

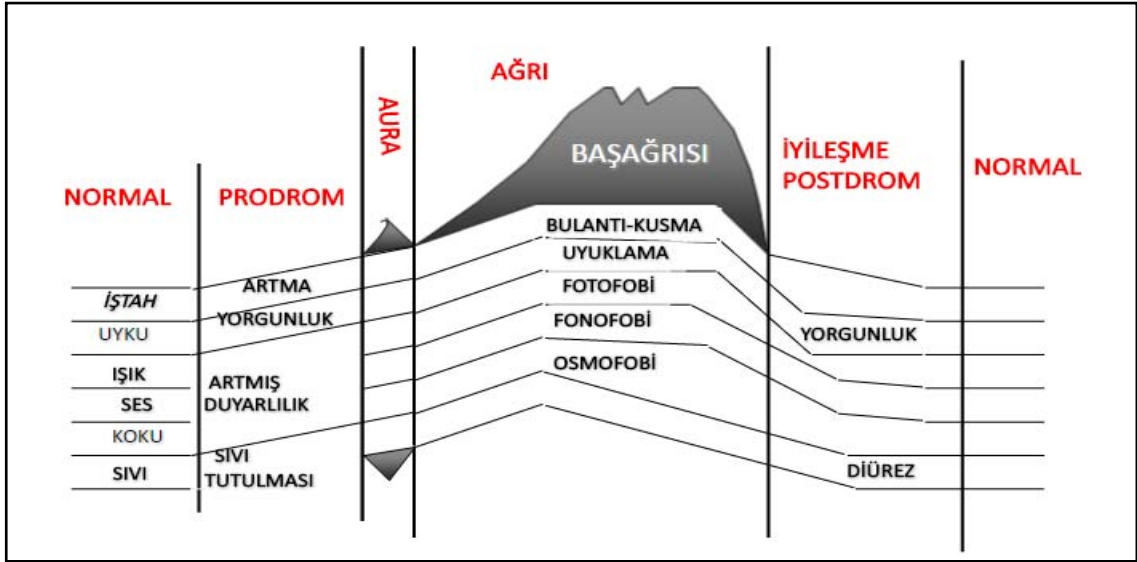
Tablo 2.3. Migren ataklarını tetikleyici faktörler

- Açlık, öğün atlama
- Alkollü içecekler
- Hormonal tedavi
- Uyku düzeninde sapmalar (fazla yada az uyuma)
- Bazı besinler (yumurta, alkol, kafein, çikolata, kabuklu deniz hayvanları, fermente gıdalar, vb.)
- Stres durumu
- Menstruasyon
- Parlak ışıklar, yüksek sesler, duman ve güçlü kokulara maruz kalma
- Aşırı yorgunluk (özellikle güneş veya sıcağa maruz kalma)
- Hava değişimi

Ergenlik dönemindeki kızlarda baş ağrısı görülme oranlarındaki net artışlar, kadın cinsiyet hormonlarının migren tetikleyici etmenler arasında olduğunu düşündürmektedir (47). Kadınlarda yaşam boyu migren prevalansı, yumurtalık steroid düzeylerindeki dalgalanmalarla ilişkilidir. Serumdaki yumurtalık hormon düzeylerinin sabit olduğu ergenlik öncesi ve menopoz sonrası migren atakları seyrek olmakla birlikte, Östradiol/östrojen ve progesteron serum düzeyleri; mestruasyon, gebelikte ilk üç ay ve doğum esnası gibi dönemlerde aniden düştüğünde migren frekansı artmaktadır (55).

2.1.6. Migren atağının dönemleri

Migrenin tanımlanmış 4 evresi prodrom, aura, baş ağrısı ve postdrom (iyileşme) evreleridir. (Şekil 2.2). Çoğu olguda birden fazla evre görülse de migren tanısı için mutlaka bulunması gereken bir evre yoktur (56).



Şekil 2.2. Migren atağının dönemleri (57).

1. Prodromal dönem

Hastaların %20-60'ında baş ağrısından önceki saatler veya günler içinde öncü fenomenler görülür. Hastalar genellikle duygu durumlarında veya davranışlarında ani ortaya çıkan ve psikolojik, nörolojik, bünyesel veya otonomik özellikler gösterebilen tipik bir değişiklikten yakınır (58). Bu prodrom belirtilerin, frontal loblar ve hipotalamus başta olmak üzere santral noradrenerjik sistemler, serebral hemisferler ve "loqus ceruleus" da değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir (56).

Tablo 2.4. Migrenin prodrom dönemi semptomları (16).

- . Huzursuzluk, aşırı duyarlılık, tepkisellik, depresyon
- . Öfori, kelime bulmakta güçlük
- . Durgunluk, donukluk, konsantrasyon ve dikkatte azalma, düşüncede yavaşlama
- . Artmış, ışık-ses-koku hassasiyeti
- . Esneme, uyuma isteği, yorgunluk
- . Ense sertliği
- . Açlık, susama, tatlı yeme isteği, iştahsızlık ya da aşırı yemek yeme
- . Vücutta su tutulması, sık idrara çıkma
- . Karında şişlik, kabızlık yada ishal

2. Aura dönemi

Migren aurası, bir atağın öncesinde, beraberinde ve nadiren sonrasında görülen fokal nörolojik belirtilerin bir karışımıdır. Çoğu 5-20 dakika içinde gelir ve sıklıkla 60 dakikadan kısa sürer. Aura döneminde, kortikal ve beyin sapı bozuklukları ile uyumlu belirtiler ortaya çıkar (59).

Baş ağrısı sıklıkla auranın bitiminden sonraki 60 dakika içinde ortaya çıkarsa da bazen birkaç saat gecikebilir veya hiç olmayabilir. Prospektif bir çalışmada baş ağrısının aurayı %80 oranında izlediği gösterilmiştir (60). Görsel bozukluklar, tek taraflı uyuşma veya karıncalanmalarla şekillenen somatosensoriyel semptomlar, tek taraflı pareziler ve kelime bulma güçlüğü veya afaziye andıran konuşma bozuklukları tipik aura semptomları arasında sayılabilir. Nadiren baş dönmesi, işitsel veya koku halüsinasyonları da görülür (61). Vertigo da aura olarak değerlendirilebilmektedir (62)

Görsel aura en sık görülen aura tipidir. Görsel belirtiler çoğunlukla hemianopik özellikte olup, pozitif ve negatif belirtiler şeklinde gelişebilir. Pozitif belirtiler, yanıp sönen ışık parlamaları (fotopsi) ya da şekilsel özellikler taşıyan ve "scintillating scotoma" (fortifikasyon spektrumu) olarak adlandırılan komplike tipte görsel hallüsinasyonlar ile karakterizedir. Şekilsel olarak yarımay üzerinde dizili gibi görülen tırtıklı kenarlar veya zigzag çizgiler şeklinde görülen halüsinasyonlar genellikle görme alanı merkezinden başlayarak kenarlara doğru ilerleme gösterir. Negatif belirtiler ise hemianopik bir görme bulanıklığı ile karakterize olup, hastalar tarafından "gözümün önünde tül perde varmış gibi" ya da "buzlu cam arkasından bakıyormuş gibi" şeklinde tariflenir (56). Görsel aura tipleri Şekil 2.3'de gösterilmiştir (57).



a. Zigzag yapı

b. Pozitif skotom

c. Negatif skotom

d. Tek taraflı algı kaybı

Şekil 2.3. Görsel aura tipleri (57).

3. Başağrısı dönemi

Başağrısı genelde enseden, başın arkasından veya bir tarafından hafif bir ağrı veya ağırlık şeklinde belli belirsiz bir ağrı olup, lokalizasyonu net değildir. Ağrının başlangıç dönemi olarak bilinir ve kısa sürelidir, migren atağı tedavisi için en uygun dönem olarak kabul edilir (16).

Başlangıç döneminin ardından, tek taraflı, zonklayıcı, orta-ağır şiddette ve fiziksel aktivite ile şiddetlenen tipik baş ağrısı dönemi başlar. IHS kriterleri açısından migrenin tanısı için bunların hepsinin bulunması gerekmez.

Ağrı başlangıçtan itibaren %40 oranında iki yanlı olabilir. En sık sabaha karşı 05:00 ile öğlen 12:00 arasında başlar. Başlangıç genelde kademelidir. Başlangıçtan sonra 2-12 saat içerisinde en yüksek düzeye ulaşır. Hastaların %85'inde ağrı zonklayıcı olarak tanımlanır ve 4-72 saat sürer (63).

Migren ağrısı tek başına görülmeyip, nörolojik, otonomik, emosyonel belirtiler de eşlik edebilir (Tablo 2.5). Ağrı, fiziksel aktiviteyle şiddetlenir ve istirahat gerektirir (Tablo 2.6). Bir süre sonra ağrı giderek hafifler ve şekil değiştirip künt bir ağrıya dönüşerek sonlanır (16).

Tablo 2.5. Migren baş ağrısına eşlik eden semptomlar

. İştahsızlık	. Yorgunluk	. Ataksi	. Terleme
. Kusma	. Depresyon	. Kabızlık	. Çarpıntı
. Bulantı	. Öfke	. İdrar retansiyonu	. Titreme
. İshal	. Mental küntlük	. Hipertansiyon	. Tahammülsüzlük
. Skotom	. Halsizlik	. Hipotansiyon	. Parestezi
. Bulanık görme	. Huzursuzluk	. Ensede ağrı/sertlik	. Unutkanlık
. Fotofobi	. Hipomani	. Ağlama	. Diğer
. Fonofobi	. Baş dönmesi	. Taşikardi/Bradikardi	

Tablo 2.6. Migren ağrısını azaltan faktörler

. Uyku . Karanlık ve sessiz ortam . Baş sıkma . Bol oksijenli hava	. Soğuk kompres . Başını yıkama . Kusma
--	---

4. Postdrom dönemi

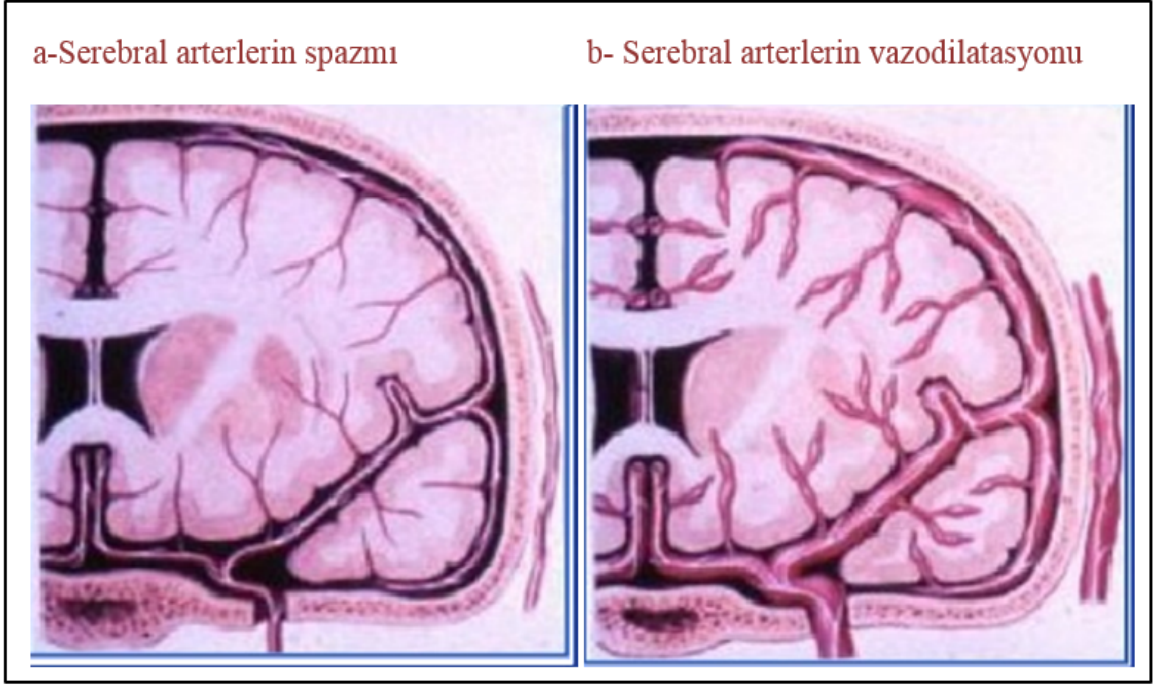
Baş ağrısından sonra, atağın yükü kaybolarak, yerini bir rahatlama hissine bıraksa da, hastalar genellikle kendilerini yorgun, bitkin, huzursuz hissederek ve konsantrasyonda güçlük çekebilirler. İştahsızlık yerini acıkma hissine bırakır, özellikle tatlı yeme isteği belirir. Kişiler bu dönemde sık idrara çıkma isteği duyabilir ve kafatasında duyarlılık ve ruhsal durum değişiklikleri olabilir (64,58).

2.1.7. Migren patofizyolojisi

Migren baş ağrısı nedeni bilinmemekle birlikte, etyopatogenezini açıklayabilmek için farklı teoriler öne sürülmüştür. Bu teoriler arasında, vasküler teori, kortikal yayılan depresyon teorisi, steril inflamasyon teorisi, genetik faktörler, serotonin, nitrik oksit, kalsiyum kanal bozukluğu, periakvaduktal gri madde işlev bozukluğu, mitokondriyal disfonksiyon, otonom sinir sistemi fonksiyon bozukluğu ve dopaminerjik sistem bozuklukları yer alır.

Tüm bu teorilere rağmen migren fizyopatolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ve buna yönelik çalışmalar devam etmektedir (65).

Tarihsel olarak, migren etiyolojisini açıklayan vasküler teori ve nöronal teori önerilmiştir. Thomas Willis vasküler teoriyi ilk kez tanımlamış ve baş ağrısına, serebral ve meningeal arterlerde vazodilatasyonun neden olduğunu savunmuştur (66). 20. yüzyılda Graham ve Wolff'un çalışmaları ile vasküler teori yeniden tanımlanmış ve auranın, intrakraniyal arterlerde vazokonstriksiyona; baş ağrısının ise eksternal ve internal karotis arterlerinin dallarında aşırı genişlemeye bağlı olarak oluştuğu bildirilmiştir (Şekil 2.4) (67).



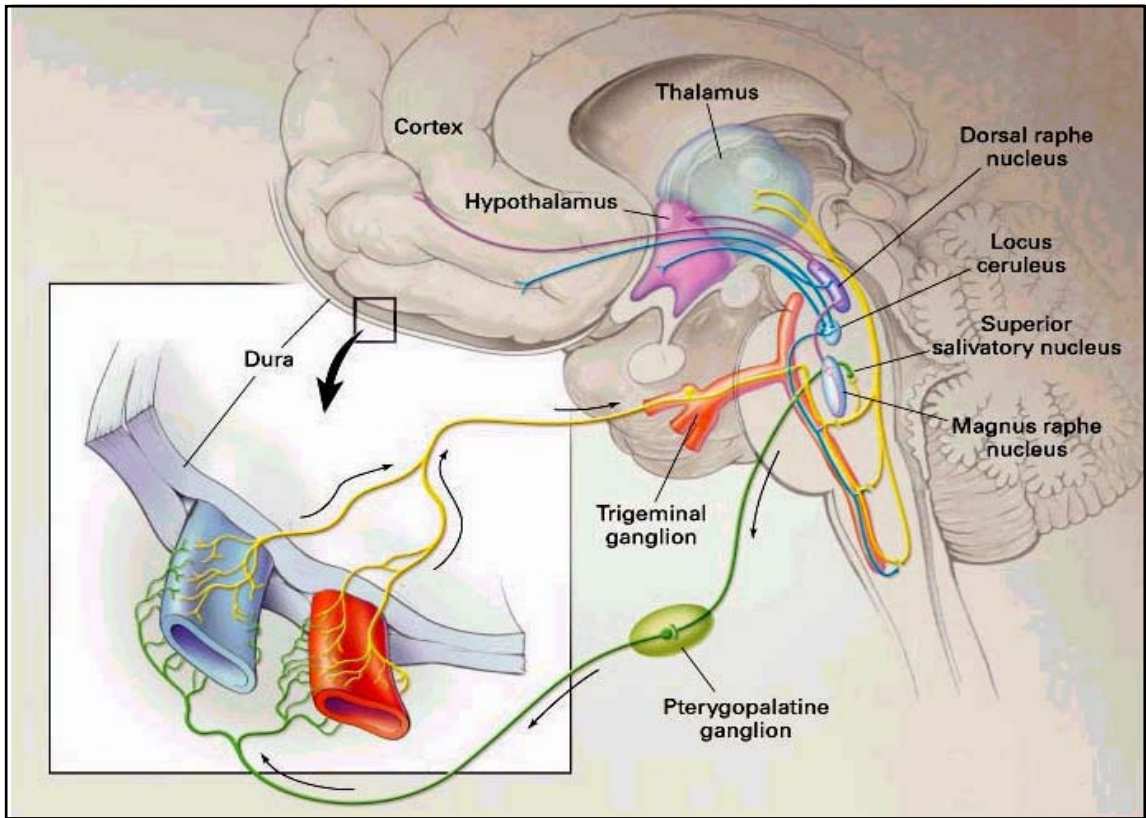
Şekil 2.4. Migren patogenezinde vasküler teori (a: Aura fazı; b: Baş ağrısı dönemi) (68).

Bu teori ile uyumlu olarak ağrının zonklayıcı etkisine karşı, güçlü bir vazokonstriktör olan Ergotamine'in verilmesi ile hastalarda bir rahatlama gözlenmiştir (69). Ayrıca nitrogliserin'in bir vazodilatör olarak baş ağrısını başlatması, migrenin vasküler nitelikte olduğunu kanıtlamıştır (70). Son olarak triptanların etki mekanizmasının aydınlatılması (serotonin reseptör agonistler), migren tedavisinde devrim yaratmıştır ve yakın zamanda

CGRP agonistlerinin kraniyal vazokonstriksiyonu, migren semptomlarının kontrol edilebileceğini düşündürmüştür (71).

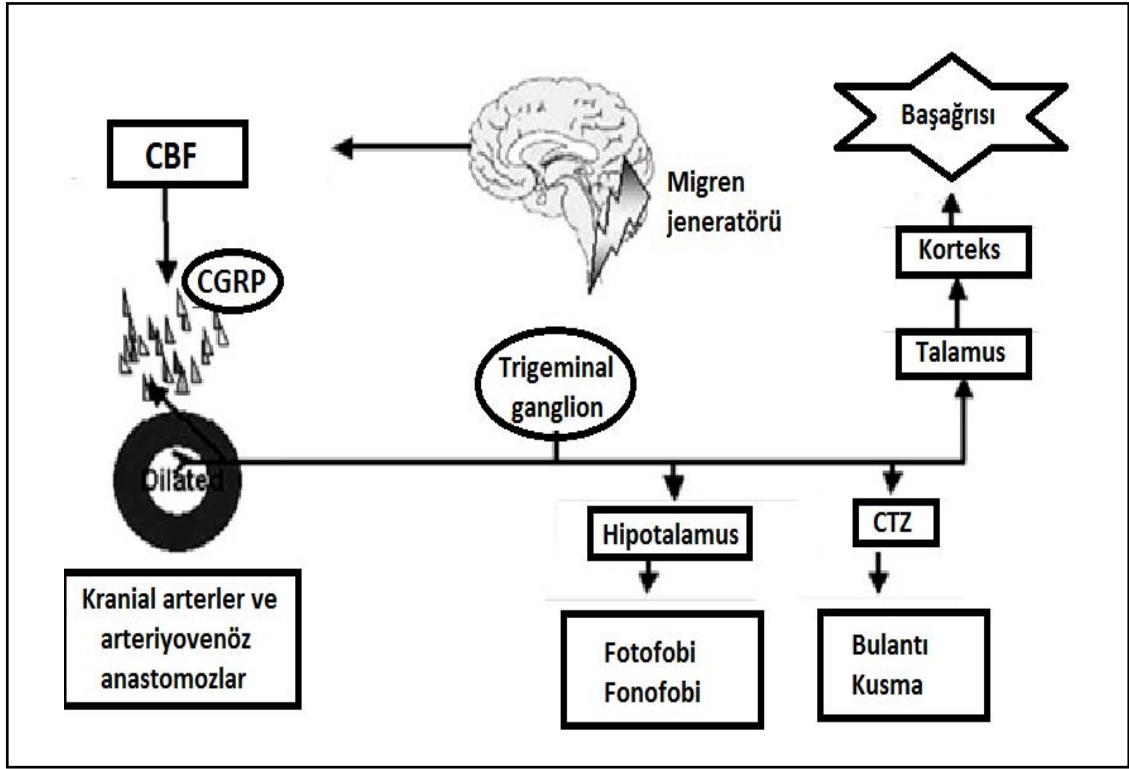
Daha yakın zamanda Amin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek çözünürlüklü manyetik rezonans anjiyografi görüntüleme tekniği kullanılarak, ani tek taraflı migren atakları sırasında, vazodilatasyon ile birlikte vazoaktif maddelerin serbestlenmesi, migren patofizyolojisinde önemli bir fizyolojik olay olup, dilatasyonun periferik ve santral ağrı yollarının nedeni olmadığını göstermiştir (72). Vasküler değişimlerle birlikte meninkslerin trigeminal afferentlerden nöropeptidler ve proinflamatuar maddelerin salınımı ve trigeminovasküler sistem içinde periferik ve santral nöronların sensitizasyonu ile ağrı hissinin başladığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, vasküler teori migren patofizyolojisini aydınlatmada yetersiz kalmıştır (73).

1944 yılında Leao ve geçtiğimiz dekatta da Lauritzen ve Olesen migren için nörojenik teoriyi öne sürmüşlerdir (74). Bu teori, migren ağrısının trigeminovasküler sistemin aktivasyonu ile bağlantısına odaklanır (73) ve auranın nörolojik semptomlarının nedeni olarak kortikal yayılan depresyon olgusunu işaret eder (75). Nörojenik teoriye göre; aura döneminden, rafe nükleusunda ve lokus seruleusta başlayan deşarjlar sorumludur. Bu deşarjlar bölgesel bir kan akımı azalmasına neden olurlar. Bölgesel kan akımı azalması nöronal depresyona sebep olur ve bu nöronal depresyon da öne doğru yayılarak “yayılan depresyon dalgası”nı oluşturur (Şekil 2.5) (74).



Şekil 2.5. Migren patogenezinde nörojenik teori (76).

Patofizyolojik değişikliklerin, beyin sapında kanallardan iyon kaçışını takiben, serebral kan akımında bir azalma, muhtemelen kortikal yayılan depresyon nedeniyle ve daha sonra *CGRP* gibi nöropeptidlerin serbestlenmesi ve kranial ekstraserebral kan damarlarının genişlemesinden kaynaklandığı sanılıyor. Bu kan damarlarında artan pulsasyon, trigeminovasküler sistemi uyarır, periferik ve santral sensitizasyonu takiben baş ağrısı ve ilişkili semptomlara (mide bulantısı, kusma, fono ve / veya fotofobi) neden olur (Şekil 2.6) (77,78).



Şekil 2.6. Migren patofizyolojisi şematik gösterimi (CTZ: kemoreseptör tetikleyici bölge) (77).

Nöropeptidler, vazodilatasyona neden olan ve kan akım hızını artırıcı etki yapan, meninkslerin vasküler yapılarının çevresinde inflamatuvar yanıtla birlikte meningeal damar sisteminde ödem oluşturan, baş ağrısından sorumlu olduğuna inanılan moleküllerdir (79). Trigeminovasküler sistem, SP, CGRP, nörokinin A, NO ve PACAP dahil birçok vazoaaktif nöropeptid içerir, bunların salınımı, kan damarlarının dilatasyonu ve inflamasyonuna ve ağrı etkisinin artmasına neden olur (80).

Trigeminovasküler sistemin periferel bağlantı uçları, kaslar, göz, kulak, deri, derialtı dokusu, burun boşlukları, arterler, periost ve aynı zamanda intrakranial yapılarda, ya da venöz sinüsler, vagus ve glossofaringeal sinirler gibi ekstrakraniyal yumuşak dokulara uygun yer alır (73).

Kortikal yayılan depresyon ilk defa, Harvard Üniversitesi'nde epilepsi üzerine doktora araştırma yapan, Brezilyalı nörofizyolog olan Aristides Leao tarafından 1943 yılında tanımlanmış elektrofizyolojik bir olaydır (81). Fonksiyonel beyin görüntüleme çalışmaları ile migrenlilerde kan akımı ve beyin aktivitesindeki değişiklikler açıkça gösterilmiş olup, CSD'yi işaret etmektedir (82-84).

CSD, oksipital korteksten başlayıp 15-30 dakika süren 2-5mm / dakika hızla serebral korteks boyunca ilerler ve bu baskılanmış nöral aktivitenin bir süre devam etmesi iyonik gradyanların (Ca^{++} , Na^+ , K^+) bozulmasına neden olur (85,86). Benzer olaylar da inme ve beyin hasarı bildirilmiştir (75). CSD, trigeminovasküler sistemin aktivasyonu ve sensitizasyonunu artırıp, nöral, vasküler ve enflamatuvar bir dizi olayı başlatarak ağrıya neden olur (87). Yeni yapılan bir çalışma, CSD'nin HMGB1 salınımı ve kaspaz-1 aktivasyonu sonucu nöronların Pannexin1 mega kanalı açmasıyla, parankimal inflamatuvar yolakları ve devamlı trigeminal aktivasyonu başlatarak, kalıcı ağrı için uyarıcı olabileceğini göstermiştir (88). CSD yaygın olarak, hastalar ve hayvan modellerinde deneysel kanıtlara dayalı görsel auraların nedeni kabul edilmektedir; ancak henüz ağrının nedeni olduğu konusunda görüş birliği yoktur. CSD auralı migrenlilerde meydana gelse de migrenlilerin %70' inin baş ağrılarının sebebini açıklayamamaktadır (89).

Dopaminerjik sistemin de migrende etkili olduğuna ilişkin çalışmalar mevcuttur. Dopamin ve reseptörlerinin etkileşiminin migrenlilerin yaşadığı bazı prodromal belirtilere aracılık ettiği bilinmektedir. Dopamin reseptör antagonistleri, migren de rahatlama etkisi göstermekte ve DA reseptörleri, migren ağrı mekanizmasında etkili trigeminovasküler sistemin bir parçasıdır (90). Ayrıca, migrenlilerin lenfositlerinde dopamin reseptörleri olan DRD3 ve DRD4 yoğunluğunda bir artış rapor edilmiş ve DA agonistlerinin migrene sebep olabileceği bildirilmiştir (91,92).

2.1.8. Migrenin genetiği

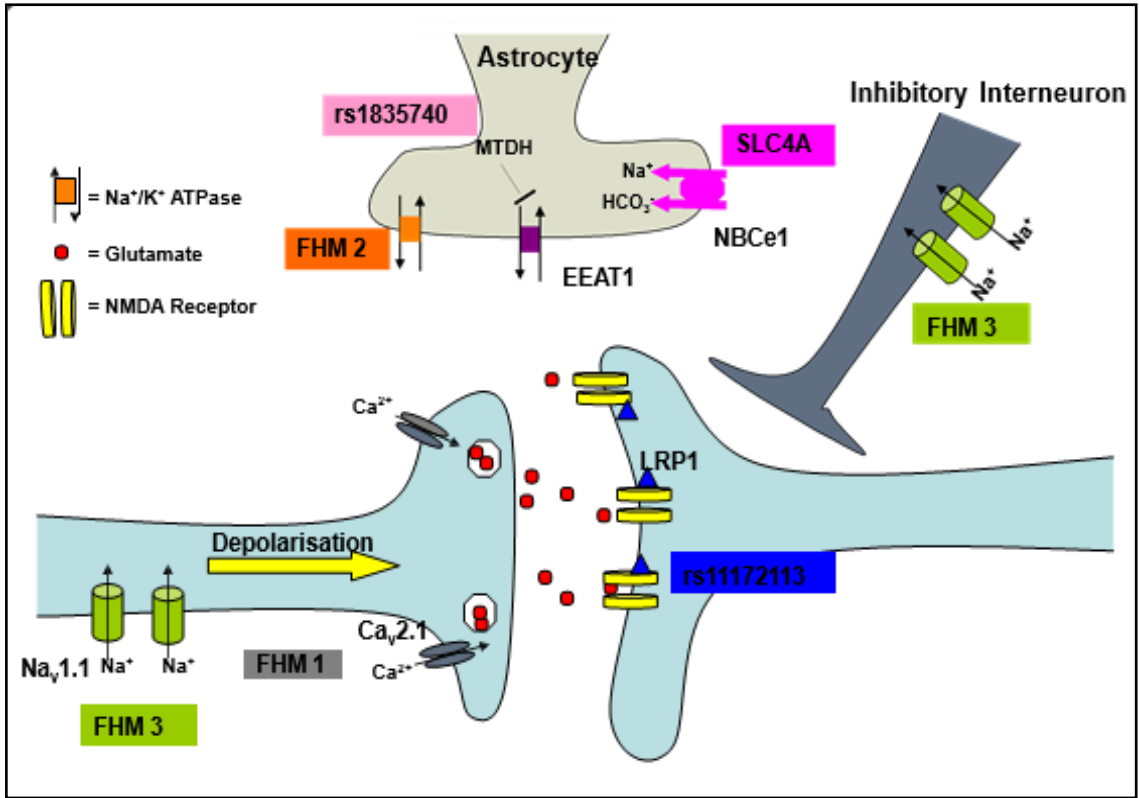
Genetik çalışmalar hastalığın patolojisini içeren genler üzerinde odaklanmış olup, nörolojik, vasküler, hormonal ve son zamanlarda mitokondriyal fonksiyonların da rol aldığı genlere yönelik çalışmalar devam etmektedir (93).

Migren baş ağrısı, multifaktöriyel genetik ve çevresel faktörlerin etki ettiği, geniş yelpazede klinik özellikler barındıran kompleks bir hastalıktır (94). Migrenin ailesel kümelenme gösterebildiği ilk kez 1870'de Tissot tarafından bildirilmiştir (56).

Migren güçlü bir genetik bağlantıya sahip nöral olayların sonucudur (95). Genetik epidemiyoloji çalışmalarında aurasız migrenli kuşağın birinci dereceden akrabalarında risk 1,9 kat artmışken auralı migrenlilerde riskin 4 kat arttığına bulunması, auralı migrende genetik etkinin daha güçlü olduğunu göstermektedir (63).

Auralı migrenin nadir görülen alt grubu olan FHM, genetik olarak heterojen, otozomal dominant geçişlilik gösterir. Bugüne kadar FHM1, FHM2, FHM3 olmak üzere 3 tip FHM tanımlanmıştır. FHM1'de P/Q tipi (CaV2.1) nöronal voltaj kapılı Ca^{++} kanallarının α -1 alt ünitesini kodlayan, kromozom 19p13.1'e lokalize olmuş *CACNA1A* geninde en az 21 farklı mutasyon (96-98), FHM2'de Na^+/K^+ ATP az pompalarının α -2 alt ünitesini kodlayan, kromozom 1q 21-23'e lokalize *ATP1A2* geninde 30'dan fazla mutasyon (99) ve FHM3'de Nav1.1 nöronal voltaj kapılı Na^+ kanallarının α -1 alt ünitesini kodlayan, kromozom 2q24'de lokalize *SCN1A* geninde mutasyonlar (100) tespit edilmiştir.

FHM genleri (dolayısıyla migren) ortak olarak bir kanalopati fikrini işaret eder. Ailesel hemiplejik migren alt tipi 1 (FHM1) ilişkili mutasyonlar, Cav2.1 kanallarında presinaptik terminallerden glutamat salınımını artırır ve Ca^{+2} salınımı da artar. FHM2 de görülen, Na^+ / K^+ ATPaz işlevi kaybı, dolaylı glutamat astrosit alımını azaltır, sonuç olarak, sinaptik aralıkta nörotransmitterlerin seviyeleri artar. FHM3 ilişkili mutasyonlar inhibitör salınımını azaltabilir veya presinaptik aksiyon potansiyeli üretimini güçlendirebilir. *SLC4A4* mutasyonlar glia aracılı asit sekresyonunu inhibe eder ve bu yüzden serbest N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri inhibe olur. EAAT1 aktivitesi, beyindeki en önemli glutamat taşıyıcı olup, doğrudan dizideki bir mutasyon ile ve dolaylı MTDH upregülasyonu tarafından etkilenir, rs1835740'ın rapor edilen mutasyonunun muhtemel bir sonucudur. LRP1 glutamat sinyalizasyonda rol üstlenir ve doğrudan, in vitro olarak, NMDA bağımlı kalsiyum salınımını modüle ettiği gösterilmiştir (Şekil 2.7) (101).



Şekil 2.7. Migren mutasyonlarında etkili merkezi glutamat sinapsı (102) .

Çeşitli 5-HT reseptörleri incelenmiştir ve insan serotonin taşıyıcı *SLC6A4* geni, migren ve kromozom 17q11.2 de lokalize olduğu bildirilmiştir (103).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) polimorfizminin ve mutasyonlarının, migrene yatkınlığı arttırdığı yönünde çeşitli çalışmalar mevcuttur (104).

Östrojen reseptör 1 *G594A* polimorfizminin de migrene yatkınlık oluşturduğu bildirilmiştir (105).

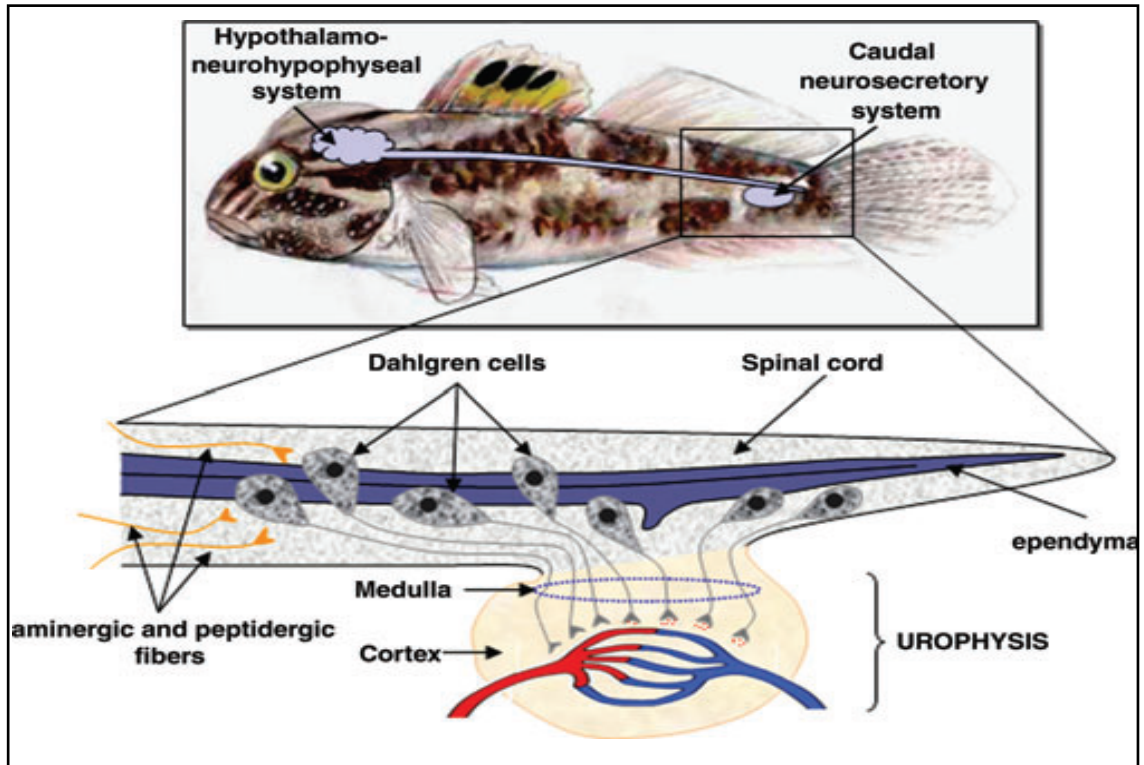
DA reseptörleri, DA taşıyıcı protein ve DA sentezi ve metabolizmasında yer alan enzimler de dahil olmak üzere dopaminerjik sistemin proteinleri kodlayan genler üzerinde genetik çalışmalar mevcuttur. Migren de dopaminin rolüne dair bir çalışma da, Dopamin D2 reseptörü (DRD2) kodlayan gen de (rs61689984) bir polimorfizmin migrene yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (106).

2.2. Ürotensin II

2.2.1. Ürotensin II'nin keşfi ve moleküler yapısı

Ürotensin II ilk olarak 1969'da *Goby Gillichthys mirabilis* adında kemikli bir balığın (teleost) kaudal nörosekretör sisteminden izole edilmiştir (107).

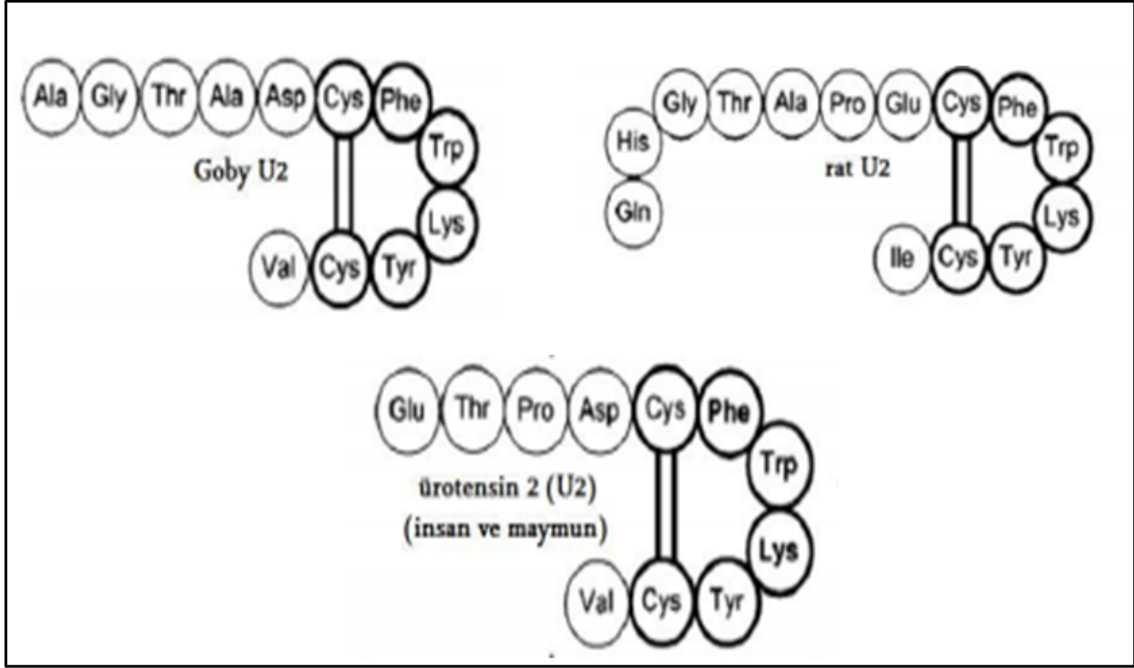
Teleost balık kaudal nörosekretör sistemi, lineer olarak omurilik ventral bölgesinde düzenlenen, “ürofiz” olarak adlandırılan lobüler organındaki magnoselüler nöronlar (Dahlgren hücreleri) topluluğundan oluşmaktadır (Şekil 2.8) (108).



Şekil 2.8. Teleost balık ürofiz kaudal nörosekretuar sisteminin organizasyonu ve vasküler bağlantıları (108).

Ürofizler, ürotensin olarak adlandırılan, biyolojik açıdan aktif birkaç peptid barındırır. Karl Lederis ve Howard Bern, iki nöropeptid tanımlamışlardır. Ürotensin I (UI), başlangıçta *white sucker* adı verilen *Catostomus commersoni* balığının ürofizinden izole edilmiş bir peptittir (109), buna karşın kortikotropin salıcı hormon paraloğu olduğu ortaya çıkan UTS2, *Goby Gillichthys mirabilis*'in ürofizinden izole edilmiş, somatostatin ile bazı yapısal benzerlikleri olan, döngüsel bir peptit olarak

tanımlanmıştır. Daha sonra, *UTS2*, sazan balığı, kurbağa, tavuk gibi hayvanların yanında sıçan, maymun, fare ve insan gibi memelilerde de genellikle farklı aminoasit sayı ve dizilişinde izole edilmiş, tüm bu canlılardaki *UTS2*'nin yapısında benzerlikler bulunmuştur. İnsan ürotensin II'nin yapısı H-Glu-Thr-Pro-Asp-cyclo [Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys]-Val-OH şeklindedir (Şekil 2.9) (110).



Şekil 2.9. İnsanda ve çeşitli hayvanlarda *UTS2* peptidlerin yapısı (110).

(**Ala**, Alanin; **Gly**, Glisin; **Thr**, Threonin; **Ala**, Alanin; **Asp**, Aspartik asit; **Cys**, Sistein; **Phe**, Fenilalanin; **Trp**, Triptofan; **Lys**, Lizin; **Tyr**, Tirozin; **Val**, Valin; **Pro**, Prolin; **Glu**, Glutamik asit; **İle**, İzoleusin; **His**, Histidin; **Gln**, Glutamin).

İnsan ürotensin II, büyük bir öncül molekül olan pre-pro ürotensin II molekülünden üretilen, on bir amino asitlik döngüsel bir peptiddir (111).

İnsanda birçok dokudan ürotensin II mRNA'sı izole edilmiş olup, kalp ve damar sistemlerinde ve en fazla da omurilik de eksprese edildiği gösterilmiştir (111,112).

İnsan ürotensin II, Sazan balığıyla %25 oranında sekans benzerliği göstermiş olup, Ames ve ark. tarafından, *hU11* peptidi kodlayan, 688 bç büyüklüğünde komplementer DNA dizisi izole edilmiştir (7). Vücutta ürotensinin üretim yerleri tam olarak bilinmemekle birlikte, yapılan bir dizi çalışmada, beyin, omurilik, böbrek ve iskelet

kasında eksprese olduğu (113) ve kardiyovasküler sistemde miyokardiyum, atriyum, ventriküller ve vasküler endoteliyal düz kas hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir (114).

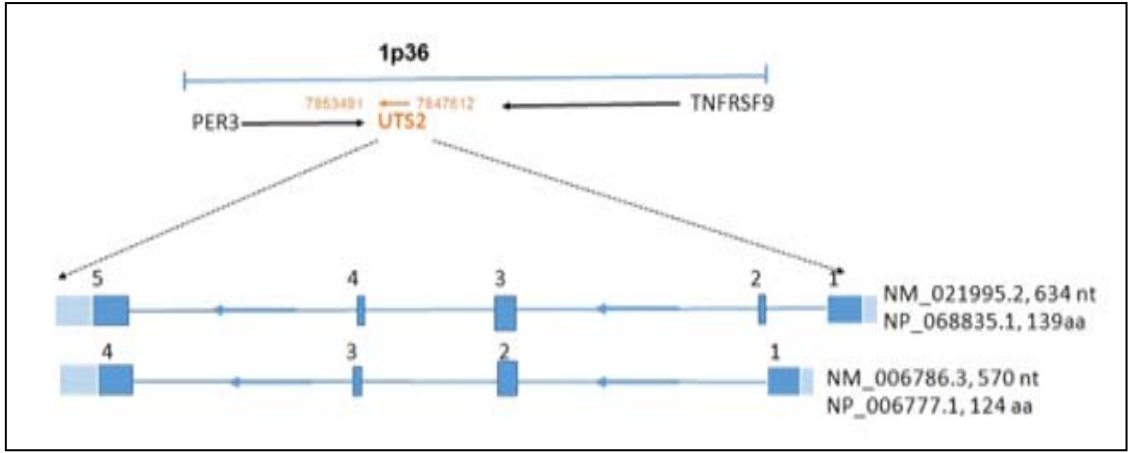
İnsanda ürotensin II'nin plazma seviyesi pikomolar düzeyde olup, örneğin elde edildiğı vücut bölgesine göre değışkenlik gösterir. Plazma seviyeleri cinsiyet yönünden belirgin bir farklılık göstermese de, kadınlarda ürotensin II seviyelerinin daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (112).

2.2.2. Ürotensin II reseptörü (UTR)

Ürotensin II peptidi izole edildiğinde hedef reseptör bilinmiyordu (7). Ames ve ark. *UTS2*'nin bir orphan G protein eşı reseptörün (GPCR) endojen ligandı olduğu göstermiştir. Bu reseptör, G protein coupled reseptör (GPCR) veya GPR14 (veya SENR) olarak adlandırılmıştır. Şimdiler de ise “UT reseptör (UTR)” adıyla bilinmektedir (115). İnsan ürotensin II reseptörü (hUTR) rodopsin benzeri G protein eşı reseptörler ailesinin bir üyesidir (116). Rekombinant ve doğal UT reseptörün aktivasyonu, G-proteinlerinin “Gq/11” ailesine bağlantısı nedeniyle, hücre içi kalsiyumda bir artışa neden olduğu bilinmektedir (117,118). Kısaca, ürotensin II'nin etkisi, çeşitli dokularda eksprese edilen UTR'ye bağlanması suretiyle gözlenir (119).

2.2.3. Ürotensin II geni

Ürotensin II, *U2* geni tarafından kodlanır ve kromozom 1p36.23'te lokalizedir ve beş ekzon içerir. Üç farklı transkriptle üç farklı *U2* preproteini kodlanır. Bunlardan ikisi kısa mRNA içerip, 124 ve 139 aminoasitlik iki farklı preproteini kodlar (Şekil 2.10). Üçüncü varyant ise daha uzundur ve karboksi ucu 139 aa içeren varyanttan farklı olan 139 amino asitlik bir preproteini kodlar (120).



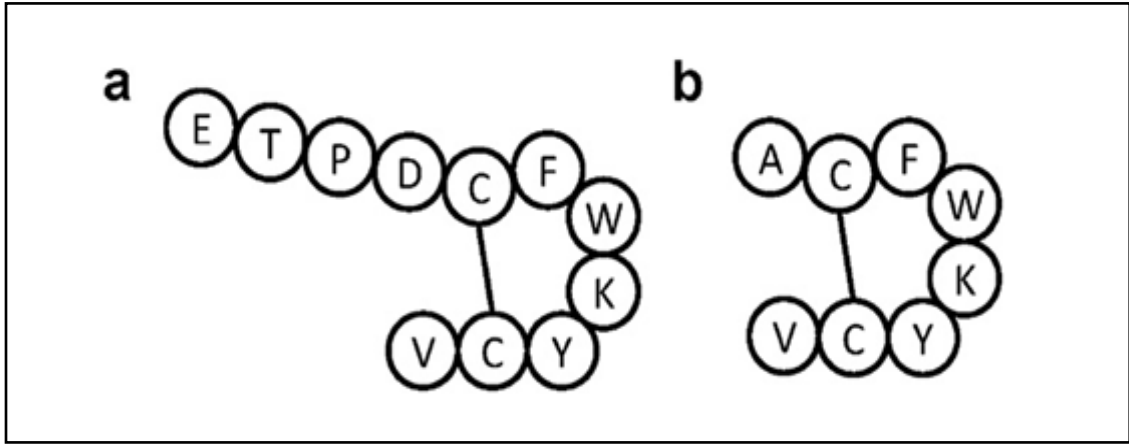
Şekil 2.10. *UTS2* geninin kromozom 1p36 üzerine lokalize olan iki transkript varyantı

US National Center for Biotechnology Information (NCBI) verilerine göre, İnsan *UTS2* geninde 60'ın üzerinde tek nükleotid polimorfizmi (SNP) not edilmiştir. Bu SNP lerin üç tanesi ürotensin II gen sekansında aminoasit değişimi göstermiştir (13).

2.2.4. Ürotensin related peptid (*URP*)

Ürotensin II'nin kurbağa beyinde ilk karakterizasyonundan on yıl sonra (121) ilk kez sıçan beyi ekstraktından, ürotensin II related peptid (*URP*) olarak adlandırılan bir paralog peptid izole edilmiştir (122). Memelilerde, *UTS2* ve *URP* genleri, öncelikle beyin sapı ve omurilik motor nöronlar da ekspresse edilmiştir. Bununla birlikte fare beyinin locus coeruleus veya dorsal çekirdek gibi bazı bölgelerinde *UTS2* ve *URP* gen ekspresyonu tanımlanamamıştır (123). *URP* cDNA; ilk olarak sıçan, fare ve insanda (124), sonra da tavuk da klonlanmıştır. Siklik bir oktapeptid olan *URP*, insan ve kemirgen *UTS2*'sinin C-terminal bölgesinden yalnızca bir aminoasitlik fark gösterir (Şekil 2.11) (125). *URP*, *UTS2* ile aynı halkasal yapıdadır ve onun homologudur. *URP*, *UTS2*'den daha küçüktür, sekiz amino asit içerir (şekil 6) ve benzer mRNA dağılımı gösterir; ancak omurilik de *UTS2* mRNA ekspresyonu fazla iken, *URP* de ekspresse edilmez.

Ürotensin Related Peptid'in *UTR* eksprese eden hücrelerde kalsiyum mobilizasyonunu uyardığı, insan ve sıçan *UTR*'sine bağlanarak aktive olduğu gösterilmiştir (126). Buna ek olarak, her iki peptid de etkilerini, bir *GPCR* aracılığı ile gösterirler.

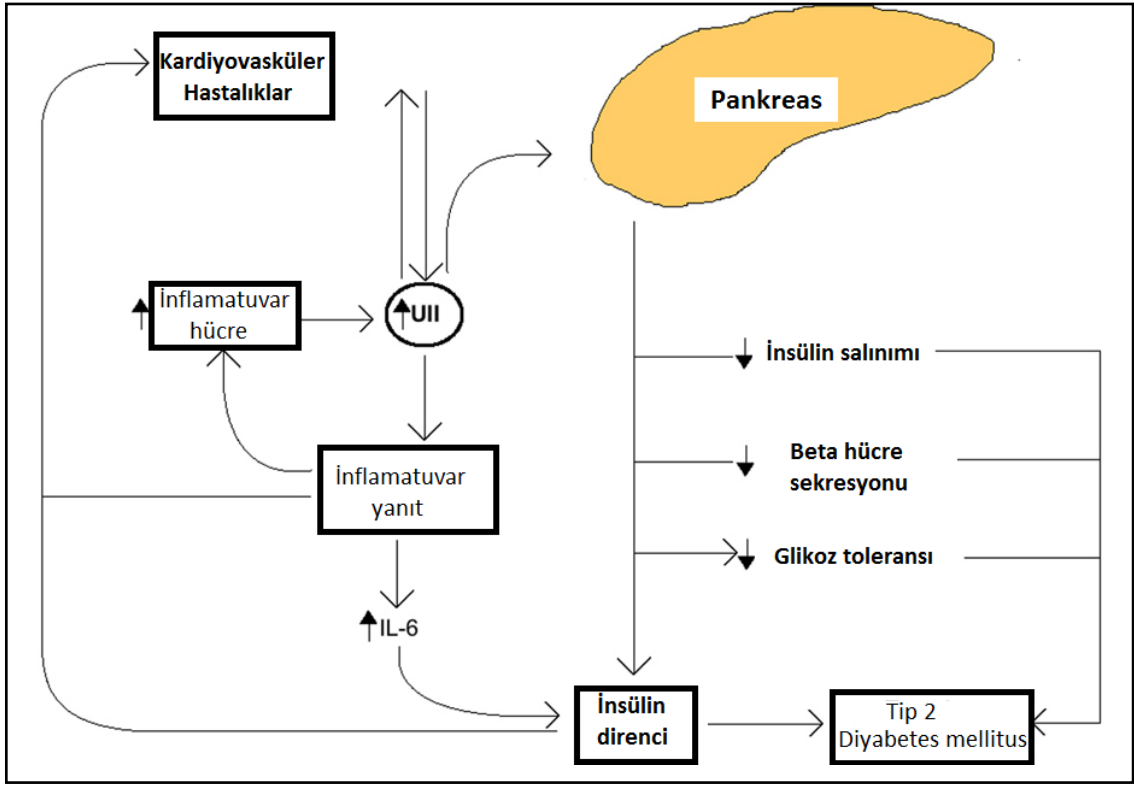


Şekil 2.11. UTS2 (a) ve URP (b) aminoasit birleşimi (127).

(E, Glutamik asit; T, Threonin; P, Prolin; D, Aspartik asit; C, Sistein; F, Fenilalanin; W, Triptofan; K, Lizin; Y, Valin; A, Alanin)

2.2.5. Ürotensin II'nin etkileri

Ürotensin II'nin bugüne kadar keşfedilmiş en güçlü endojen vazokonstriktör olduğu bilinmektedir. UTS2'nin fizyolojik mekanizması, endotelin-1 ile benzerdir (112). İnsanlarda arter ve ven de güçlü vazokonstriksiyon oluşturur. UTS2'nin ET-1 (ET-1) den, arterlerde 50 kat, venlerde ise 10 kat daha etkili bir vazokonstriktör olduğu bulunmuştur (128). *hU11* ve reseptörü (UTR), periferik damarlar, kalp ve böbrek de (129), UTRmRNA kalp ve pankreasta fazlaca eksprese edilmiş, buna ek olarak UTS2 ve UTR kalp ve büyük arterlerde de yüksek ekspresyon göstermiştir. Ürotensin II ve reseptörünün, kardiyovasküler sistemin fizyolojisi ve patofizyolojisinde etkileri olabileceğine dair çeşitli kanıtlar mevcuttur (129-131), insan küçük pulmoner ve abdominal arterler gibi bazı izole damarlarda güçlü vazodilatör etki de tanımlanmıştır (132). Ürotensin II'nin, endotel bağımlı vazodilatatör ve endotelden bağımsız vazokonstriktör etkileri bulunmakta (128,132,133) ve net etkinin bu ikisi arasındaki dengeye bağlı olabileceği düşünülmektedir (128). UTS2'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri, canlı türüne, söz konusu vasküler yatağın tipine, reseptör yoğunluğuna ve doza bağımlı olarak değişmektedir (136). Kalp yetmezliği veya hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda bir konstriksiyon gözlenirken, sağlıklı gönüllülerde UTS2'nin vazodilatasyon yaptığı gözlenmiştir (135). Buna ek olarak, UTS2 sisteminin aktivasyonunun, metabolik sendrom gelişimi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Şekil 2.12) (136).



Şekil 2.12. İnsülin aktivitesi ve metabolik sendrom ile ilişkili glikoz metabolizmasında *UTS2*'nin rolü (140).

İnsan Ürotensin II ve reseptörü, merkezi sinir sisteminin sorumlu olduğu beyin sapı ve medulla oblongata gibi bölgelerde de bulunmaktadır. Sıçanlarda, medulla oblongata'nın A1 bölgesine *UTS2*'nin mikroenjeksiyonu, hipotansiyon ve kalp atım hızını yavaşlatıcı yanıtla sonuçlanırken, medulla A2 bölgesine *UTS2* uygulanması, ortalama arteriyel kan basıncı veya kalp atış hızı üzerinde hiçbir etki oluşturmamıştır. Bununla birlikte, merkezi uygulama taşikardi meydana getirmiştir (138).

Tavşan aorta ve koroner arterleri kullanılarak kontraktıl yanıtlar incelendiğinde, *UTS2* pulmoner arter veya kulak arter / ven de hiçbir yanıt vermemiştir (139). Diğer türler de, bu dokular da *UTS2*'nin cevabı heterojeniktir. Sıçanda, aort arkının daha distalinde aort da, azalmış *UTS2* reaktivitesi gözlenir. *UTS2*, abdominal aort da çok az yanıt verir ya da hiç yanıt oluşturmazken, torasik aort, sıçan karotit arterinden daha büyük bir tepki üretir (140). Bu azalmış yanıt, azalmış UTR ekspresyonu ile ilişkilidir (141). *UTS2*'nin kontraktıl yanıtları, insan vasküler dokusunda da incelenmiş ve venöz dokularda bu yanıt gözlenmiştir (142).

Sıçanlarda, *UTS2* gen ekspresyonu, sakral kord motor nöronlarında da rapor edilmiş (143) ve ürotensin II immünoaktivitesi omurilik ve beyin sapında saptanabilmiştir (144). *UTS2* omurilik nöronlarında hücre içi kalsiyumu artırdığından, UTR, fonksiyonel olarak aktif görünmektedir (145). Yine birçok doku ve organın düzenlenmesinde işlevsel role sahip olan *hUll* (146), endokrin, kardiyovasküler, renal ve bağışıklık fonksiyonları düzenleyici etkileri de bulunmaktadır (147). *UTS2*'nin, kardiyovasküler hastalıklar ve fibrozis (148), renal fibrozis (149), ve hepatik fibrozis (150) de temel rol alabileceğini ve kollajen üretimini artırdığı gösterilmiştir (151)

Pek çok çalışma ile çeşitli hastalıklarda, hasta ve sağlıklı bireylerde ürotensin II peptit seviyeleri belirlenmiştir (Tablo 7). Bazı çalışmalarda, kan basıncının bir fonksiyonu olarak *UTS2*'nin artabileceği belirtilmiştir. Normotansif ve hipertansif hastalarda plazma ve beyin omurilik sıvısı (BOS) *UTS2* konsantrasyonları karşılaştırılmış ve BOS düzeyleri, kan plazmasına göre ~ %15 daha düşük bulunmuştur. *UTS2* konsantrasyonları normotansif kontrollere kıyasla hipertansif hastalarda artmamışken, BOS *UTS2* konsantrasyonu ve ortalama kan basıncı arasında hipertansif grupta pozitif korelasyon gözlenmiştir (Tablo 2.7) (152).

Tablo 2.7. İnsanlarda, farklı hastalık durumları ve sağlıklı kontrollerde plazma *UTS2* düzeyleri (135).

Hastalık	Sağlıklı Kontrol	Hasta
Kronik kalp yetmezliği	9.16 pg·ml ⁻¹ (6.6 pmol·l ⁻¹)	30.6 pg/ml (22 pmol/l)
Akut miyokard infarktüsü	0.58 pg·ml ⁻¹ (0.42 fmol·ml ⁻¹)	1.94 pg/ml (1.40 fmol/ml)
Konjestif kalp yetmezliği	84–11 pg·ml ⁻¹	Değişmemiş-ılımlı ve şiddetli konjestif kalp yetmezliğinde
Konjestif kalp yetmezliği	4.35 pg·ml ⁻¹	1.41 pg/ml
Konjestif kalp yetmezliği	22.7 pg·ml ⁻¹ —Bünyeye bağlıdır. Aortik Kökenli bir değer.	230.9 pg/ml—Aortik kökenli
Koroner kalp hastalığı	3.20 pg·ml ⁻¹	1.61 pg/ml
Kronik kalp yetmezliği	3290 pg·ml ⁻¹ —istirahatte	2990 pg / ml-geri kalanında
Konjestif kalp yetmezliği	0.84 pg·ml ⁻¹	1.17 pg / ml-orta 1.49 pg / ml-şiddetli
Akut koroner sendrom	3300 pg·ml ⁻¹	3450 pg/ml—stabil arter hastalığı / 2530 pg/ml—akut koroner sendrom
Koroner arter hastalığı	1409 pg·ml ⁻¹	Artmıştır—kompleks alt gruplama analizi
İskemik kardiyomiyopati	1137 pg·ml ⁻¹	NYHA I 1884 pg/ml / NYHA II 2294 pg/ml NYHA III 4822 pg/ml / NYHA IV 6631 pg/ml
Kalp yetmezliği	2.6 pg·ml ⁻¹ (1.9 pmol·l ⁻¹)	5.4 pg/ml (3.9 pmol/l)
Konjenital kalp hastalığı (çocuklar)	1.18 pg·ml ⁻¹ (0.85 pmol·l ⁻¹)	2.9 pg/ml (2.09 pmol/l)
Hipertansiyon	12.2 pg·ml ⁻¹ (8.8 pM)	18.9 pg/ml (13.6 pM)
Siroz ve hipertansiyon	3600 pg·ml ⁻¹ (3.6 ng·ml ⁻¹)	Merkezi venöz-1290 ug / ml (1,29 ng / ml) Venöz kan 1100 ug / ml (1.1 ug / ml)
Hipertansiyon	Plazma, 11.85 pg·ml ⁻¹ BOS, 8.24 pg·ml ⁻¹ Cord, 10.10 pg·ml ⁻¹	Plazma, 9.29 pg/ml BOS, 8.73 pg/ml Cord, 13.10 pg/ml
Böbrek fonksiyon bozukluğu	6.11 pg/ml(4.4 fmol/ml)	Diyaliz olmadan - iki kat yükselmiş Diyaliz-üç kat yükselmiş
Diyabet	7.22 pg/ml (5.2 fmol·ml ⁻¹)	Kreatinin klirensi ≥ 70 ml/min, 15.13 pg/ml (10.9 fmol/ml) Kreatinin klirensi ≥ 30 ml/min and <70 ml/min, 15 pg/ml (10.8 fmol/ml) Kreatinin klirensi <30 ml·min ⁻¹ , 22.1 pg/ml (15.9 fmol/ml)
Diyabet	6.11 pg·ml ⁻¹ (4.4 fmol U-II·ml ⁻¹)	Nonproteinürik—10.8 pg/ml (7.8 fmol U-II/ml) / Proteinürik—10.1 pg/ml (7.3 fmol U-II/ml)
Nefrotik sendrom (çocuklar)	37.31 pg·ml ⁻¹ (Hastanın düzelmesi)	31.09 pg / ml (atak)
Son safhadaki böbrek hastalığı	3100 pg·ml ⁻¹	6500 pg/ml- son safhada
Son safhadaki böbrek hastalığı	3300 pg·ml ⁻¹	5300 pg/ml - Kardiyovasküler etkinlikle 7100 pg/ml - Kardiyovasküler etkinlik yokken
Pre-eklampsi	Plazma, 23.05 pg·ml ⁻¹ BOS, 19.27 pg·ml ⁻¹	Plazma, 21.88 pg/ml BOS, 17.87 pg/ml
Pre-eklampsi / eklampsi	3.93 pg·ml ⁻¹	10.11 pg/ml

U-II düzeyleri pg·ml⁻¹ normalize edilmiş; verilerin orijinal sunumu parantez içinde verilmiştir.

İnsan kalbinde *UTS2*'nin ve kronik HF'li sıçan kalbinde *URP*'nin gen ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (153,154). *UTS2*, kardiyovasküler fonksiyonu ayarlamak için G protein çifti, urotensin II reseptörlerini harekete geçirir.

Aynı zamanda vasküloprotektif ve vaskülopatik etkilerin her ikisinden sorumlu tutulmuştur (127). Bu vasküler faaliyetlere ek olarak, *UTS2*, insan sağ atriyal trabekül de pozitif inotrop ve aynı zamanda aritmojenik aktivite sergiler (155).

Plazma ürotensin II seviyesi, diyabetik olan hastalarda proteinüri varlığı veya yokluğundan bağımsız olarak yükselmiştir (156). Bu artışın sebebi hiperglisemi olmayıp, *UTS2* ve UTR'nin pankreatik hücrelerce eksprese edilmesi, somatostatin (*SST*) ve glukagon seviyelerini etkilemeden insülin salınımını inhibe etmesiyle ilişkilendirilmektedir (157). Yine bir başka çalışma da, Tip 2 diyabetli hastalarda plazma ve idrar ürotensin II düzeyi, normal böbrek fonksiyonu olanlara göre böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda daha yüksek olduğu görülmüştür (156). Diyabetik nefropatili hastaların nefrektomisinden elde edilen tübüler epitel hücreleri, *UTS2* ve UTR'nin aşırı ekspresyonunu göstermiştir (158).

Ağır DR'lilerde *UTS2*'nin yüksek plazma seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir (159).

Koyunlara *UTS2*'nin intraserebroventriküler uygulanması, hipertansiyon ve hiperglisemiye neden olduğunu göstermiştir (160). Tip 2 diyabetli hastalarda artmış plazma ürotensin II düzeyleri, metabolik sendrom fenotipi ile ilişkili olduğu bulunmuş (161), olup ürotensin sistemi blokajının, DR ve diyabet ile ilişkili komplikasyonlar için umut verici bir tedavi stratejisi haline gelebileceği düşünülmektedir (162).

Ürotensin II, hücre geçirgenliğinin uyarılması, proliferasyonu (11,163), VSMC göçü (164) ve ekstraselüler matriks (165) üretimi sonucu anjiyogenez gelişiminde anahtar rol alır. Vasküler düz kas hücrelerinde üretilen vazokonstriktif etki de UTR'ye bağlanma sonucu bir dizi yolak rol alır. Yapılan çalışmalar, PLC / IP3 ve kalmodülin bağımlı-miyozin hafif zincir kinaz bağımlı yolaklar aracılığıyla kalsiyum salınımına işaret etmektedir. ERK ve RhoA / Rho kinaz yolları vasküler düz kas migrasyonu ve proliferasyonunda etniken, kalsiyum salınımında da kısmen görev alır (166). Vazodilatör etkiler ise, ürotensin II aracılığı ile endotelial hücrelerde hücre içi kalsiyumun artışı ile endotel kaynaklı vazodilatörler olan nitrik oksit (NO), prostoglandin E2 ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) salınımı sonucu meydana gelir (166-168).

Ürotensin II'nin, VSMC'lerde "nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz"ı aktive ettiği bilinmektedir (169). Artan oksidatif stresin, DR gelişimine önemli ölçüde etken olduğu öne sürülmüştür (170,171).

Ayrıca, *UTS2* "klasik tipte olmayan" pro-anjiyojenik sitokin olarak karakterize edilmiş ve insan vasküler endotel hücrelerinde peptidin anjiyojenik etkisi, VEGF indüksiyonu ile doğrudan ve dolaylı ilişkili bulunmuş (172). VEGF'nin, retinopatinin erken aşamalarında gelişimine aracı olabileceğini göstermiştir (173).

Görüldüğü üzere, ilgili doku ve koşulların değişmesiyle *UTS2*'nin çok farklı, hatta şaşırtıcı yanıtları ile karşılaşılabilir. Bu durum, *UTS2*'nin aydınlatılamayan birçok özelliğinin varlığını düşündürmektedir.

2.3. Genetik polimorfizm kavramı

İki insan genomunun karşılaştırılmasıyla, genomlar arasında %99.9 benzerlik olduğu bilinmektedir. Geriye kalan %0.1'lik fark, bireysel genotipik ve fenotipik farklılıklardan sorumlu tek nukleotid polimorfizmi (SNP) dir. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm adını alır (174).

Polimorfizmler her zaman kalıtsal bir hastalığı işaret etmeyebilir. Bazı gen polimorfizmleri bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte, bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken risk faktörü olarak değerlendirilebilmektedir (175).

İnsan genomunda yer alan DNA polimorfizm örnekleri (176).

- Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi incelemesi (Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP)
- Basit dizi tekrarları incelemesi (Simple Sequence Repeats: SSR)
- Değişken sayıda ardışık dizi tekrarları incelemesi (Variable Number of Tandem Repeats: VNTR)

şeklinde üç yöntemle değerlendirilir.

2.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, DNA polimeraz enzimi (Taq polimeraz), eşit konsantrasyonda dört çeşit deoksinukleozid trifosfat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), katalizör amaçlı katyonlar (Mg) ve tamponlar (Tris-CI) ve tek zincirli oligonükleotidler (primer) varlığında, uygun sıcaklık değişimleriyle, kalıp DNA' dan (tDNA), hedeflenmiş DNA dizisinin in vitro koşullarda klonlanması işlemidir.

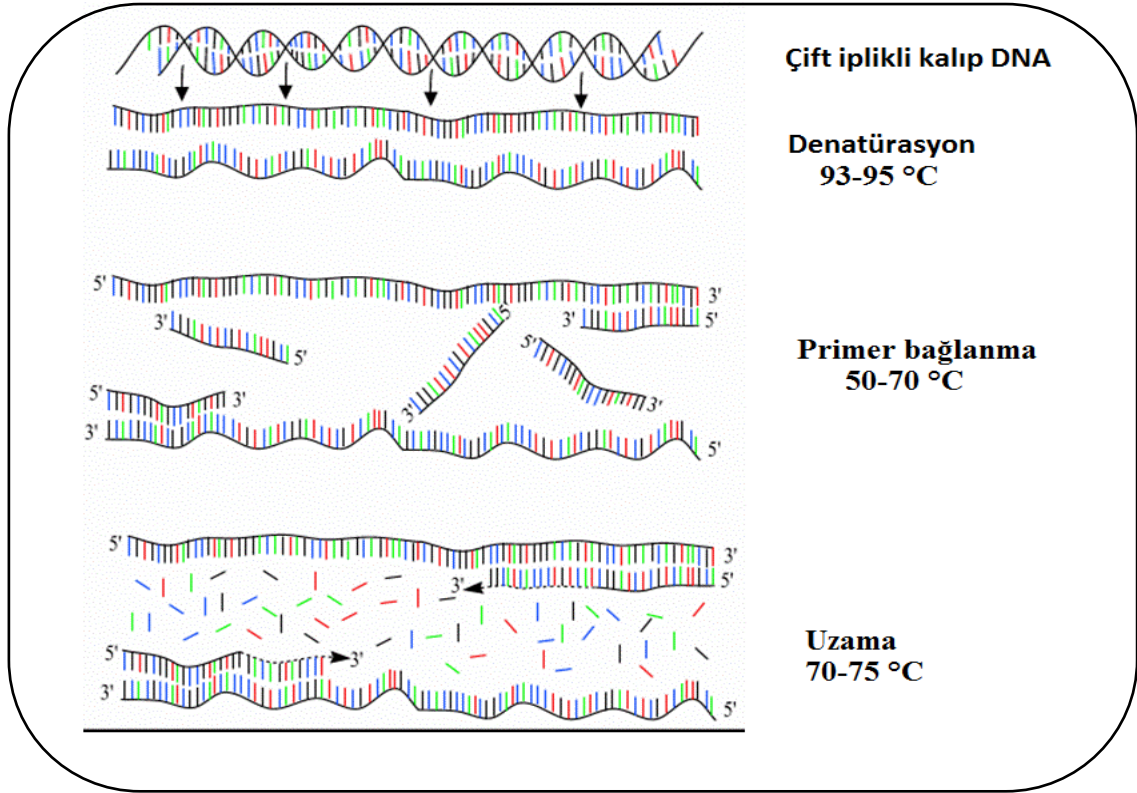
PZR, uygulanan sıcaklıklar ve gerçekleşen işlemler bakımından üç aşamalı bir süreçtir:

1- Denatürasyon: Yaklaşık 93-95 °C'de gerçekleşir, DNA denatüre edilir ve tek zincirli hale dönüştürülür.

2- Bağlanma: 50-70 °C arasında gerçekleşen ve primerlerin hedef DNA'ya bağlanmasının gerçekleştiği basamaktır. Reaksiyon sıcaklığı 94 °C'den bağlanma sıcaklığına düştüğünde tek zincirli oligonükleotidler (primerler) kalıp DNA üzerindeki komplementerleri olan sekansa sahip bölgelere "3' ucu" yönünden yapışırlar.

3- Uzama: 70-75 °C arasında gerçekleşir ve yeni DNA dallarının elde edildiği aşamadır. Sıcaklık kullanılan DNA polimeraz enziminin en aktif olduğu seviyeye çıkarılır. Bu sıcaklık Taq polimeraz için 72 °C'dir. Primerler kalıp DNA sekansı boyunca (kalıp DNA'nın 3'→5' yönünde) reaksiyon ortamında mevcut nükleotidler ve DNA polimeraz enzimini kullanarak uzamayı gerçekleştirirler.

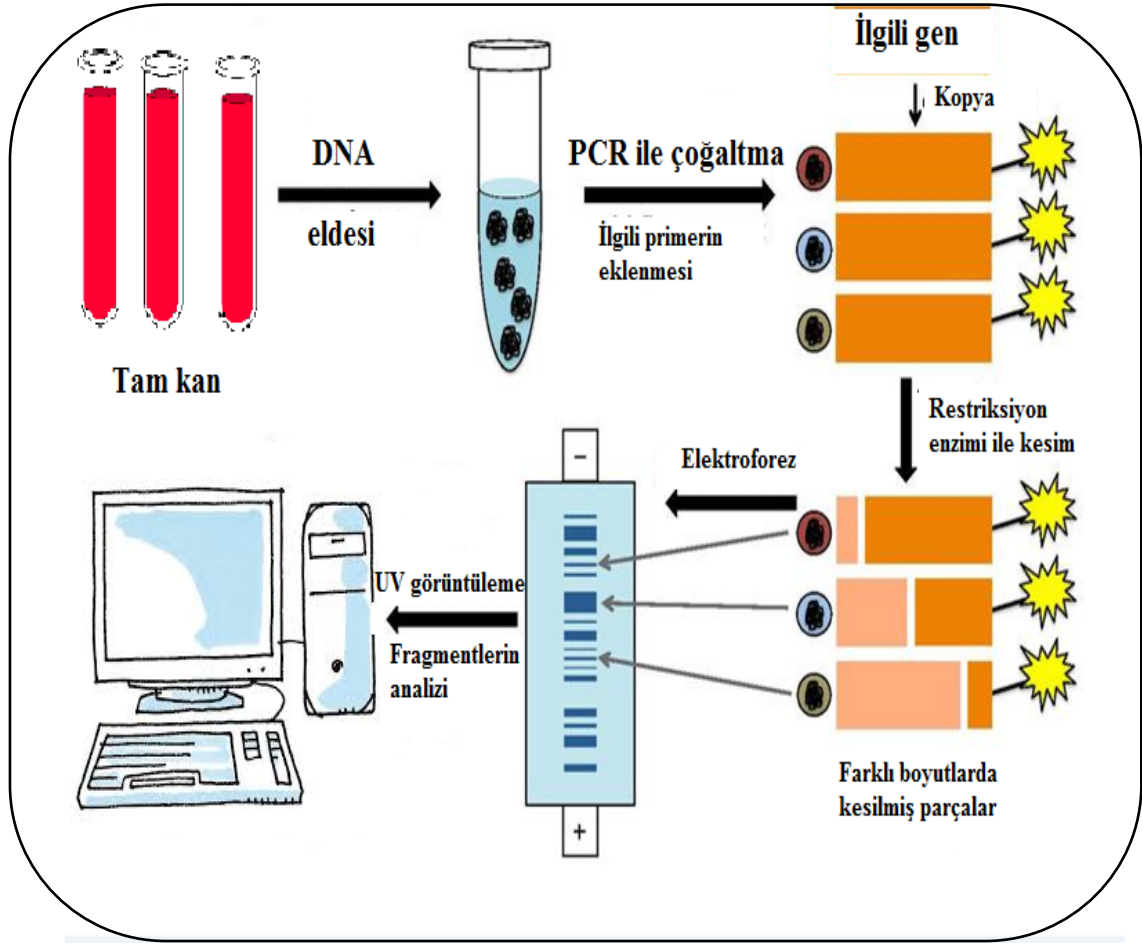
Bu üç aşama yaklaşık olarak 20 – 40 defa tekrarlanır. Böylece her döngüde hedef bölge milyonlarca kez çoğaltılmış olur (Şekil 2.13) (177-179).



Şekil 2.13. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) aşamaları (180).

2.3.2. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi

RFLP, polimorfizm çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. En basit DNA polimorfizmi tek baz değişikliğidir. Tek nükleotid polimorfizmleri Southern blot yöntemi ve polimeraz zincir reaksiyonunun ardından restriksiyon enzim kesimi yöntemi olmak üzere iki şekilde belirlenebilir. İlgili DNA uygun restriksiyon enzimi (RE) ile kesilir ve Southern bolt ile membrana transfer edilir. Denatürasyonla tek zincirli hale getirilir. İncelenen bölgenin yanındaki tek kopya diziye komplementer olan işaretli proba hibridize edilir. PZR-RFLP yöntemine göre ise, polimorfik bölgeyi içine alan primerler kullanılarak PZR aracılığıyla bölge çoğaltılır. Uygun restriksiyon enzimi ile PZR ürününün kesiminin ardından elde edilen fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütülür ve analiz edilir (Şekil 2.14) (181,182).



Şekil 2.14. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi şematik gösterimi (183).

Restriksiyon enzimleri DNA molekülünde spesifik tanıma dizilerine sahiptir. DNA molekülünde kalıttan veya yeni bir mutasyondan kaynaklanan dizi, spesifik kesim bölgelerinin kaybolmasına veya ortaya çıkmasına sebep olacak ve sonuç olarak varyasyonlar jel ortamından tespit edilecektir. Restriksiyon enzim tanıma bölgeleri 4-8 baz uzunluğunda olabilir. RFLP tekniğinde yüzlerce enzim tanıma şansı olduğu için, verilen DNA fragmentinin geniş analizi mümkün olur (184).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Hasta Grubunun Oluşturulması

Çalışma grubu, 146 migren hastası ve 154 migren geçmişi olmayan sağlıklı gönüllü bireylerden oluşturuldu. Klinik nöroloji uzmanı tarafından sözlü görüşme yoluyla tipik migrenli bireylere MA veya MO tanısı kondu. Soru formu, Uluslararası Başağrısı Derneği (IHS) yönergeleri eksiksiz kullanılarak hazırlandı. Migren tipleri ve sıklığı, geçmiş tıbbi öyküsü, hipertansiyon öyküsü, eşlik eden ilaç öyküsü ve ilgili aile öyküsü gibi demografik bilgiler ve klinik veriler toplandı. Tüm hastalar için kraniyal manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı beyin tomografi ve biyokimyasal laboratuvar testlerinin sonuçları da değerlendirildi. Kontrol grubu da nöroloji uzmanı tarafından bir ankete tabi tutuldu. Yaş ve cinsiyeti eşleşen kontrol grubu, migren ya da diğer nörolojik hastalıklar yönünden herhangi bir klinik bulgu veya aile öyküsü içermemesine dikkat edildi. Kontrol grubuna diyabetes mellitus, koroner arter hastalığı, hipertansiyon, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, ya da genetik bozukluklar ile bir öyküsü olmayan sağlıklı bireyler alındı. Katılımcıların tümü Kafkas kökenlidir ve aynı coğrafi bölgede (Güneydoğu/Türkiye) bulunmaktadır. Tüm migren hastaları, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde kayıtlıdır. Tüm konularda tıbbi muayeneler yapıldı Bu vaka-kontrol alışması Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Helsinki Bildirgesi kurallarına uygun olarak yürütülmüştür. Onay numarası: 17.12.2013/436 Bilimsel Arastırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından BAP TF.15.01 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.2. Hastalardan Kan Numunelerinin Toplanması

Venöz kan örnekleri (10 ml), 2 mg / ml EDTA (etilendiamintetraasetik asit)'lı steril silikonlu vacutainer tüpleri içine rotensin II gen polimorfizmi moleküler analizi için alındı. Toplandıktan hemen sonra, tam kan, kullanılana kadar -20   C'de saklandı.

3.3. Kan Numunelerinden DNA Eldesi

Migren hastaları ve kontrol grubu bireylerden alınan kan örneklerinden tuzla çöktürme/kloroform yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır.

-20 °C'deki EDTA'lı tüplerdeki kan örnekleri oda sıcaklığına çıkartılıp, çözülmesi sağlandı. Daha sonra, EDTA'lı tüplerden alınan 5 ml kan örnekleri 15 ml'lik yeni tüplere aktarıldı. 15 ml'ye kadar üzeri soğuk su ile tamamlandı. 4000 rpm'de 25 dakika boyunca santrifüj edildi. 6 ml'ye kadar dökülüp, üzeri tekrar soğuk su ile tamamlandı. 4000 rpm'de 25 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi. Alt kısımda oluşan pelletin üzerine 3 ml üre içeren parçalama çözeltisi koyuldu. Pelletin Üzerine 400 µl %20'lik SDS ve 100 µl proteinaz K eklendi. Tüpler 37 °C' de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün, tüpleri 2 ml 5 M NaCl eklenip, tüpler çalkalandı ve oda koşullarında 20 dakika bekletildi. Daha sonra, tüplerin içerisine 8 ml kloroform eklendi ve 4000 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi. Tüplerin içerisinde 3 tabaka oluştu. En üst tabaka alınıp, yeni bir tüpe aktarıldı. Üzerine 15 ml'yi tamamlayacak kadar soğuk %96'lık etil alkol koyuldu. Bu aşamada, DNA görüldü. DNA alınıp, 1,5 ml'lik tüplere aktarıldı. DNA'lar %70'lik etil alkol ile yıkandı. Daha sonra, 13,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. DNA' yı %70'lik alkol ile yıkama işlemi üç kez tekrar edildi. Tüpler kurumaya bırakılarak, alkolün buharlaşması sağlandı. DNA'lar kurutulduktan sonra, 300 µl steril su eklendi ve DNA'lar 4 °C' de çözündü ve -20 °C'ye kaldırıldı.

3.4. DNA' ların Kalite ve Miktar Tayinleri

Elde edilen DNA örneklerinin, Nanodrop spektrofotometrede her örnek için miktar ve kalite tayini yapılmıştır (Resim 3.1). PZR tepkimeleri için DNA yoğunluklarına göre gerekli olan seyreltmeler yapılmıştır.



Resim 3.1. Nanodrop spektrofotometre

3.5. Primerlerin Tasarlanması

Ürotensin II geninin iki polimorfik bölgesini (Thr21Met ve Ser89Asn) kapsayan İki primer seti kullanıldı. Thr21Met bölgenin amplifikasyonu için kullanılan primer seti Wenyi ve ark ile aynıdır (13). Ser89Asn bölgenin amplifikasyonu için kullanılan primer, Premiere v.5.0 (Biosoft International, USA) yazılımı kullanılarak dizayn edilmiştir. PZR primer setleri nükleotid dizileri, amplikonlar ve bağlanma sıcaklıkları verileri *tablo 3.1* de listelenmiştir.

Tablo 3.1. UTS2 geninin ekzonlarına göre tasarlanan primerlerin özellikleri

Referans SNP No.	Konum	Amino asit Değişimi	Nükleotid dizileri (5'→3')	Uzunluk (bp)	Bağlanma sıcaklıkları (°C)
rs228648	Exon 1	Thr21Met	GGAAACCAACGTATTTTCATC GCAAAAGAGGCAACTTACAGC	141 bp	55°C
rs2890565	Exon 4	Ser89Asn	GTGCCTGTCTGTCTGCATTCA GAGTCCTGTAAAACCAGTACAG	263 bp	57.7°C

3.6. UTS2 Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması

Ürotensin II geninin ekzon bölgelerine ait primerler kullanılarak, her ekzon bölgesi için primerlerin bağlanma sıcaklıkları ve MgCl₂ miktarlarının belirlemek amacıyla iyileştirme (gradient) çalışmaları yapıldı. Optimizasyon işlemlerinin ardından hasta grupları için Ekzon 1 ve Ekzon 4 bölgelerinin ayrı ayrı PZR protokolleri oluşturularak PZR işlemi gerçekleştirildi. PZR tepkimeleri için “Applied Biosystem GeneAmp® PCR System 9700 PCR” cihazı kullanıldı.

3.6.1. Ekzon 1 (rs228648) PZR işlemi

Reaksiyonlar 5 µl DNA ve 20 µl karışım (reaction mix) olacak şekilde toplam 25 µl hacimde belirlendi. PZR reaksiyonu karışımı *tablo 3.2* ‘deki gibidir.

Tablo 3.2. UTS2 geninin ekzon 1 bölgesinin PZR bileşenleri ve eklenen miktarlar

PZR bileşenleri	Miktar (µl)
10X PZR tampon	2.5
25 mM MgCl ₂	1.1
2 mM dNTP	1.5
10 pm ileri primer	0,125
10 pm geri primer	0,125
Steril su	14,45
Taq polimeraz enzimi	0,2
DNA	5
Toplam hacim	25

Karışım 0,2'lik PZR tüplerine aktarılarak reaksiyon işlemine geçildi. Uygun program ayarlanarak toplam döngü sayısı 30 olarak belirlendi. *Tablo 3.3* de belirtilen şartlar dikkate alındı.

Tablo 3.3. UTS2 geni ekzon 1 bölgesi PZR koşulları.

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denatürasyon	95	4 dk.	1
2.denatürasyon	95	30 sn	
Primer Bağlanma	55	30 sn	30
Uzama	72	30 sn	
Son Uzama	72	4 dk	1
Bekleme	4	∞	

3.6.2. Ekzon 4 (rs2890565) PZR işlemi

Ekzon 4 bölgesi PCR karışımı *tablo 3.4* 'deki gibidir.

Tablo 3.4. *UTS2* geninin ekzon 4 bölgesinin PZR bileşenleri ve eklenen miktarlar.

PZR bileşenleri	Miktar (µl)
10X PZR tampon	2.5
25 mM MgCl ₂	1.7
2 mM dNTP	1.8
10 pm ileri primer	0,125
10 pm geri primer	0,125
Steril su	13,55
Taq polimeraz enzimi	0,2
DNA	5
Toplam hacim	25

Karışım 0,2'lik PZR tüplerine aktarılarak reaksiyon işlemine geçildi. Uygun program ayarlanarak toplam döngü sayısı 32 olarak belirlendi. *Tablo 3.5* de belirtilen şartlar dikkate alındı.

Tablo 3.5. UTS2 geni ekzon 4 bölgesi PZR koşulları.

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denatürasyon	95	4 dk.	1
2.denatürasyon	95	30 sn	
Primer Bağlanma	57.7	30 sn	32
Uzama	72	30 sn	
Son Uzama	72	4 dk	1
Bekleme	4	∞	

3.7. Elektroforez

Elektroforez, yüklü moleküllerin dogrusal elektrik akımı yardımı ile birbirinden ayrılması için kullanılan fiziksel bir ayırım yöntemidir (177). Elektriksel alandaki moleküller yüklerine göre pozitif (anot) veya negatif (katot) kutba doğru hareket ederler. Nükleik asitler (DNA) yapısındaki fosfat grubu negatif yüklü olduğundan anota doğru hareket eder (185). Çalışmamızda agaroz jel elektroforez metodu kullanıldı.

3.7.1. Agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, PZR reaksiyonlarının verimliliğini ve RFLP analizlerinin sonuçlarını değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır.

3.7.1.1. Tris-borik asit-EDTA (TBE) tampon

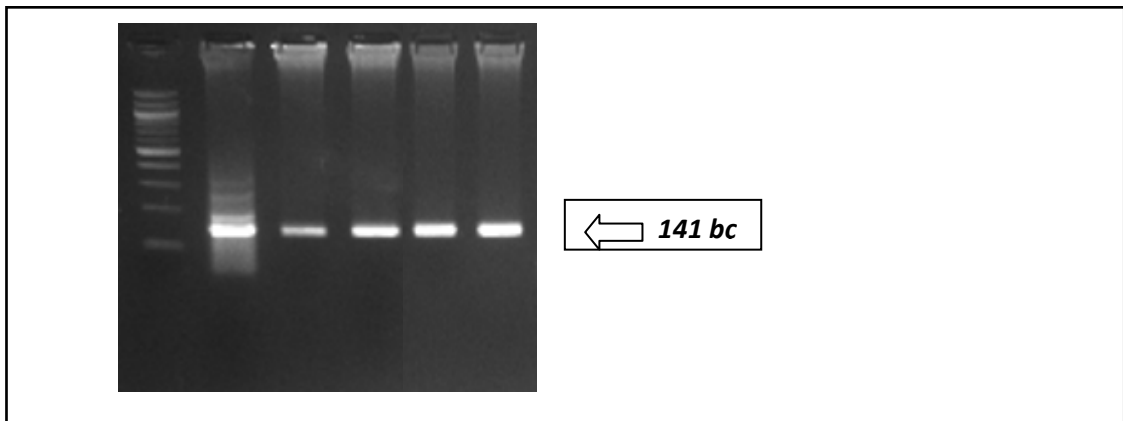
Bu çalışmada elektrolit çözeltisi olarak TBE (Tris-Borik asit-EDTA) çözeltisi kullanıldı. Çözelti 10X yoğunlukta, pH 8.0 olacak şekilde hazırlandı ve son hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı. İyice çözdürülerek 10XTBE homojenize edildi. Bu stok çözeltiden 100 ml alınıp distile su ile 1 litreye tamamlanarak 1X yoğunlukta TBE elde edildi. Bu çözelti hem elektroforez tankına konulmuş hem de agarozu eritmek için kullanılmıştır. Stok TBE karışım miktarları *tablo 3.6* da belirtilmiştir.

Tablo 3.6. TBE Tamponu Bileşenleri

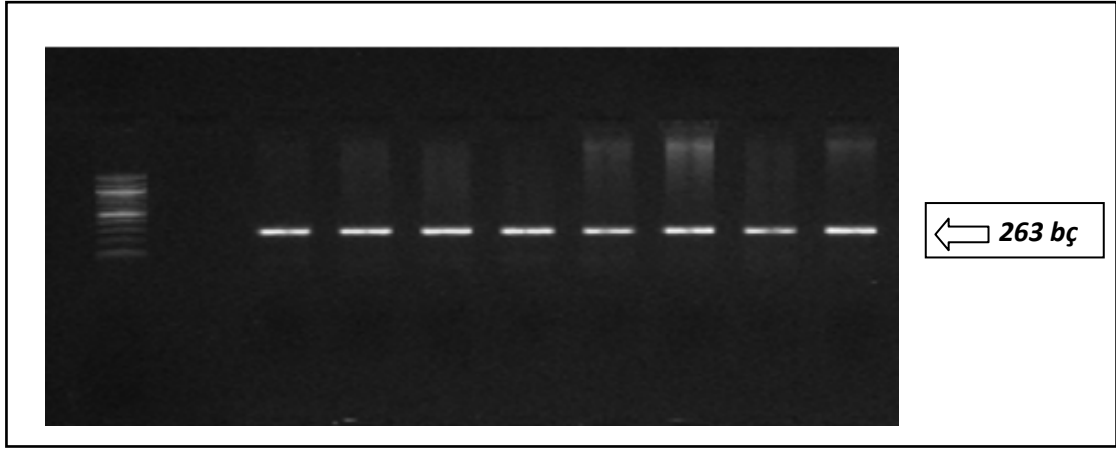
10X TBE Bileşenler	Miktar (g)
Tris Base	108
Borik Asit	55
EDTA	7.5
Distile Su	1 lt'ye tamamlanır.

3.7.1.2. Agaroz jelde yürütme

Polimer zincir reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerin 5 µl'si, 6 µl *loading-dye* ile muamele edildi. En baştaki kuyucuğa 2.5 µl 100-1000 bp aralığında marker olmak üzere örnekler kuyucuklara yüklendi, etidyum bromür kullanılarak hazırlanan %2'lik agaroz jel üzerinde 140 Volt'ta 30 dakika yürütüldü. Oluşan bantlar UV görüntüleme cihazı ile (EC⁺Imaging System, UK) görüntülendi. Çıkan sonuca göre enzim kesim işlemine geçildi. *UTS2 geni* ekzon bölgelerinin PZR bantları görüntüleri *resim 3.3* ve *resim 3.4* de gösterilmiştir.



Resim 3.2. Ekzon 1 (rs228648) PZR sonucu (M:Marker (100 bp))



Resim 3.3. Ekzon 4 (rs2890565) PZR sonucu (M:Marker (100 bç))

3.8. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm Analizi (RFLP)

RFLP yöntemi kullanılarak, *UTS2* geninin her iki ekzonunun çoğaltılan PZR ürünleri, uygun restriksiyon enzimleri ile kesilerek agaroz jel elektroforezi ile fragmentleri analiz edildi.

Kullanılan restriksiyon enzimleri, baz dizilişleri ve optimum çalıştıkları sıcaklık değeri *tablo 3.7* de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. Restriksiyon enzimlerin kesim noktası ve çalıştığı sıcaklık

Kullanılan RE	Kesim Noktası	Çalıştığı Sıcaklık	İnkübasyon Süresi
NlaIII	5'-CA↓TG-3' 3'-GT↑AC-5'	37°C	16 saat
RsaI	5'-GT↓AC-3' 3'-CA↑TG-5'	37°C	16 saat

3.8.1. Ekzon 1 (rs228648) enzim kesim işlemi

Ekzon 1 bölgesi için *NlaIII* adlı kesim enzimi kullanılarak PZR ürünlerinin kesim işlemi yapıldı. Bu işlem için *tablo 3.8* de belirtilen protokol uygulandı.

Tablo 3.8. Ekzon 1 kesim PZR miktarları

PCR bileşenleri	Miktar (µl)
10X NEBuffer	2.2
Steril su	2.35
NlaIII enzim	0.45
PZR ürünü	20
Toplam Hacim	25

Hazırlanan karışım 0,2'lik PZR tüplerine konularak 37 °C de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresi sonunda restriksiyon endonükleazların aktivitesini sonlandırmak amacıyla örnekler 65 °C' de 20 dakika bekletildi. DNA fragmanları üzerine 6 µl loading dye eklenerek, ilk kuyucuğa 100-1000 bp uzunluğunda 2.5 µl marker, ikinci kuyucuğa kontrol amaçlı, kesilmemiş PZR ürünü ve sonraki kuyucuklara kesim ürünleri yüklenerek %3'lük agaroz jelde 160 Volt da 50 dakika yürütüldü. Kesim sonucu oluşan bantlar UV görüntüleme cihazı ile (EC⁺Imaging System, UK) görüntülendi (Resim 4.1).

3.8.2. Ekzon 4 (rs2890565) enzim kesim işlemi

Ekzon 4 bölgesi için *RsaI* adlı kesim enzimi kullanılarak PZR ürünlerinin kesim işlemi yapıldı. Bu işlem için *tablo 3.9* da belirtilen protokol uygulandı.

Tablo 3.9. Ekzon 4 kesim PZR miktarları

PCR bileşenleri	Miktar (µl)
10X NEBuffer	2.0
Steril su	2.65
RsaI enzim	0.35
PZR ürünü	20
Toplam Hacim	25

Hazırlanan karışım 0,2'lik PZR tüplerine konularak 37 °C de 16 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda restriksiyon endonükleazların aktivitesini sonlandırmak amacıyla örnekler 65 °C de 20 dakika bekletildi. DNA fragmanları üzerine 6 µl loading dye eklenerek, ilk kuyucuğa 100-1000 bp uzunluğunda 2.5 µl marker, ikinci kuyucuğa kontrol amaçlı, kesilmemiş PZR ürünü ve sonraki kuyucuklara kesim ürünleri yüklenerek %3'lük agaroz jelde 160 Volt da 40 dakika yürütüldü. Kesim sonucu oluşan bantlar UV görüntüleme cihazı ile (EC⁺Imaging System, UK) görüntülendi (Resim 4.2).

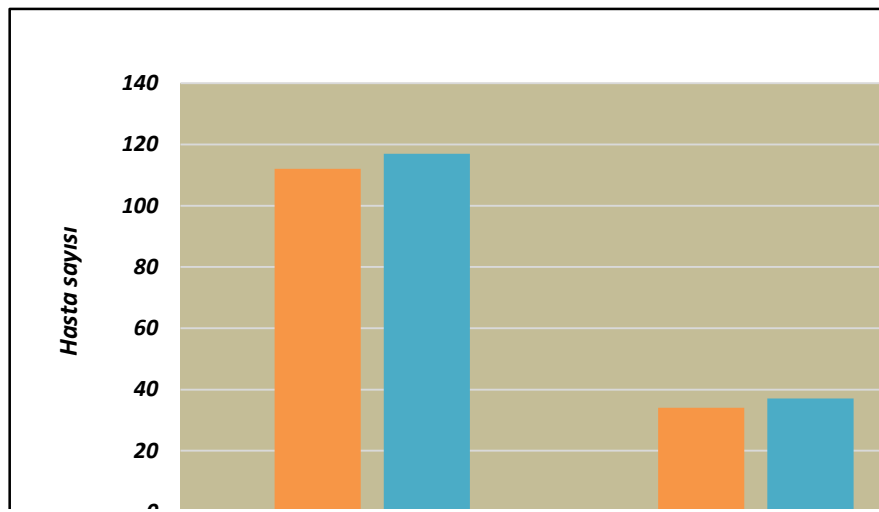
3.9. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ S.D. veya yüzde olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz, GraphPad InStat kullanılarak gerçekleştirildi (version 3.05, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Polimorfizmler ki-kare testi kullanılarak gözlenen ve beklenen genotip frekansları karşılaştırılarak Hardy-Weinberg Dengesi sapma için test edildi. Genotip ve allel frekansları farklılıkların anlamlılık hesaplanması için, ki-kare testi veya Fisher kesin olasılık testi kullanıldı; ve her iki grubun ortalama değerleri arasındaki farklılıkların karşılaştırılmaları için, Student t testi kullanılmıştır. Hastalığın risk göstergesi %95 güven aralığı olasılık oranı olarak hesaplanmıştır. P değerleri 0.05 den az ise ($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya; klinik olarak migren tanısı konmuş 146 hasta ile kontrol grubunu oluşturan 154 sağlıklı birey olmak üzere toplam 300 kişi alındı.

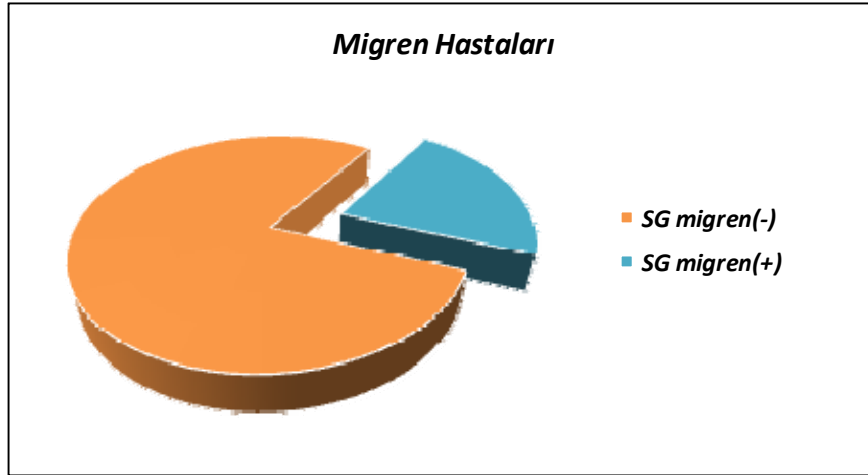
Migren hastalarının; 112'si kadın (%76.7) ve 34'ü erkek (%23.3) olarak belirlendi. Kontrol grubu ise 117'si kadın (%76.0) ve 37'si erkek (%24.0) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet yönünden anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.9884$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Migren ve kontrol grubu cinsiyet dağılımı

Migren grubunda yaş ortalaması 33.8 ± 9.9 (16-56) yıl, kontrol grubunda ise 33.4 ± 8.8 (16-52) yıl idi. Her iki grup arasında yaş yönünden anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.7114$).

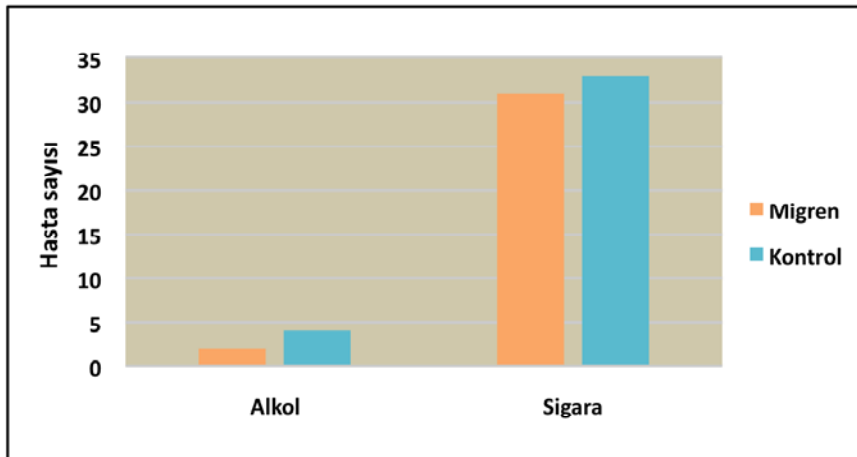
Hasta grubunun özgeçmişinde 13 hastada (%8.9) hipertansiyon (HT) öyküsü vardı. Hasta grubunun soygeçmişlerine (SG) bakıldığında 31 hastanın (%21.2) birinci derece yakınında migren öyküsü vardı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Migren grubunda soygeçmiste migren öyküsü

Migrenli hastaların son altı aydaki migren atak sıklıklarına bakıldığında 80 hastada (%54.8) haftada 1-3, 55 hastada (%37.7) ayda 1-3, 11 hastada (%7.5) daha seyrek sıklıkta (<1-3/ Ay) idi.

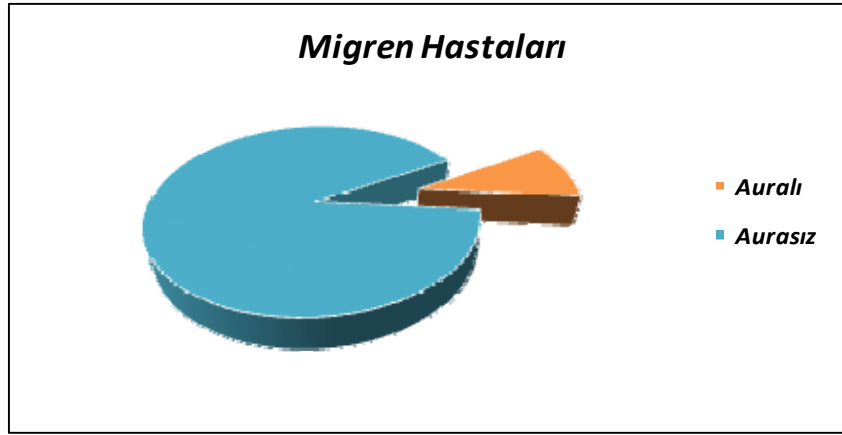
Migren grubunda alkol kullanan birey sayısı 2 (%1.4), kontrol grubunda ise 4 (2.6) kişi idi. Alkol kullanımında hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.6850$) (Şekil5). Hasta grubunda 31 (%21.2) kişi günlük düzenli olarak sigara kullanırken, kontrol grubunda 33 (%21.4) bireyin sigara kullandığı saptandı. Sigara içiminde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.9670$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Migren ve kontrol grubu sigara ve alkol kullanımı

Hastaların atak sırasında yaşadığı semptomlar sorgulandığında; 146 (100.0) hastada fotofobi ve yine 146 (100.0) hastada mide bulantısı semptomu mevcuttu. 145 (%99.3) hastada fonofobi semptomu mevcutken, 1 (%0.07) hastada fonofobi şikayeti yoktu. 143 (%97.9) hastada kusma semptomu mevcutken, 3 (%2.1) hastada kusma şikayeti saptanmadı.

Migren hastaları bas ağrısı tipi açısından sorgulandığında, 146 hastanın 132'si (%90.4) aurasız ve 14'ü (%9.6) auralı migrenliydi (Şekil 4.4)



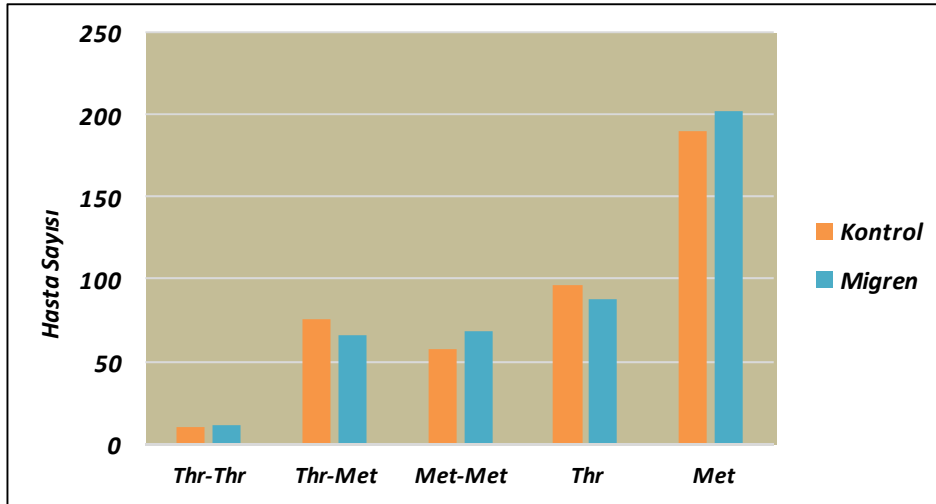
Şekil 4.4. Migren tipleri

Hasta grubu ile kontrol grubu *UTS2* geni Thr21Met polimorfizmi için Thr-Thr, Thr-Met ve Met-Met genotip frekanslarına göre karşılaştırıldığında migren grubundaki 145 hastada *UTS2* genotip dağılımları; 11 hasta (%7.6) Thr-Thr, 66 hasta (%45.5) Thr-Met, 68 hasta (%46.9) Met-Met olarak saptandı. Buna karşılık kontrol grubunda 143 bireyde Thr-Thr, Thr-Met ve Met-Met genotipleri sırasıyla 10 (%7.0), 76 (%53.1), 57 (%39.9) olarak bulundu. Migrenli grup ile kontrol grubu genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.2424$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.5).

Allel frekansları bakımından her iki grup karşılaştırıldığında; migren grubunda Thr alleli 88 (%30.3) ve Met alleli 202 (%69.7) olarak saptanırken kontrol grubunda Thr alleli 96 (%33.6), Met alleli 190 (%66.4) olarak saptandı. Thr ve Met allel frekansları bakımından kontrol ve migren hasta grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p=0.4595$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.5).

Tablo 4.1 Migren ve kontrol gruplarında *UTS2* geni ekzon Thr21Met polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

	N	Genotip n (%)			P	Allel n (%)		P
		Thr-Thr	Thr-Met	Met-Met		Thr	Met	
Kontrol	143	10 (7.0)	76 (53.1)	57 (39.9)	>0.05	96 (33.6)	190 (66.4)	>0.05
Migren	145	11(7.6)	66 (45.5)	68 (46.9)		88 (30.3)	202 (69.7)	



Şekil 4.5. Migren ve kontrol gruplarında *UTS2* geni ekzon Thr21Met polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Thr21Met polimorfizmi için, kontroller ve MA veya kontroller ve MO arasında genotip dağılımı veya allel frekansları anlamlı bir farklılık göstermedi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Thr21Met Polimorfizmi MA ve MO genotip ve allel frekansları dağılımı

Genotip/ Alleler	Kontrol (n=143) n (%)	Migren (n=145) n (%)	P	OR (95% CI)
MO		(n=131)		
MM	57 (39.9)	61 (46.6)		
MT	76 (53.1)	61 (46.6)	0.3091	0.750 (0.458 - 1.229)
TT	10 (7.0)	9 (6.8)	0.8072	0.841 (0.319 - 2.220)
M	190 (66.4)	183 (69.8)		
T	96 (33.6)	79 (30.2)	0.4446	0.854(0.596-1.225)
MA		(n=14)		
MM	57 (39.9)	7 (50.0)		
MT	76 (53.1)	5 (35.7)	0.3690	0.536 (0.162 - 1.775)
TT	10 (7.0)	2 (14.3)	0.6272	1.629 (0.295 - 9.000)
M	190 (66.4)	19 (67.9)		
T	96 (33.6)	9 (31.1)	1.0000	0.938 (0.409 - 2.151)

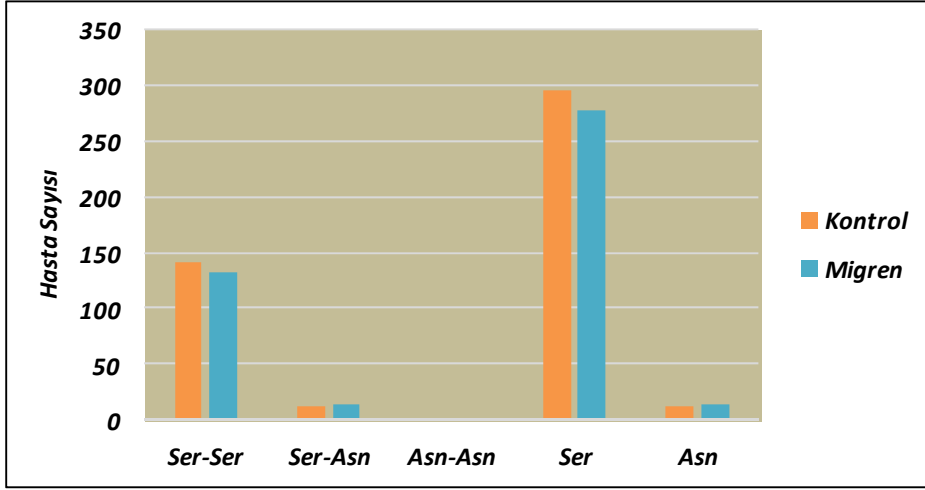
OR, Olasılık oranı; CI, güven aralığı; MA, Auralı migren; MO, Aurasız migren

Hasta grubu ile kontrol grubu *UTS2* geni Ser89Asn polimorfizmi için Ser-Ser, Ser-Asn ve Asn-Asn genotip frekanslarına göre karşılaştırıldığında migren grubundaki 146 hastada *UTS2* genotip dağılımları; 132 hasta (%90.4) Ser-Ser, 14 hasta (%9.6) Ser-Asn, 0 hasta (%0.0) Asn-Asn olarak saptandı. Buna karşılık kontrol grubundaki 154 bireyde Ser-Ser, Ser-Asn ve Asn-Asn genotipleri sırasıyla 142 (%92.2), 12 (%7.8) ve 0 (%0.0) olarak bulundu. İlginçtir ki kontrol ve hasta gruplarında Asn-Asn genotipi bulunamadı. Migrenli grup ile kontrol grubu genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.6826$) (Tablo 4.3) (Sekil 4.6).

Allel frekansları bakımından her iki grup karşılaştırıldığında; migren grubunda Ser alleli 278 (%95.2) ve Asn alleli 14 (%4.8) olarak saptanırken kontrol grubunda Ser alleli 296 (%96.1), Asn alleli 12 (%3.9) olarak saptandı. Ser ve Asn allel frekansları bakımından kontrol ve migren hasta grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p=0.6895$) (Tablo 4.3) (Sekil 4.6).

Tablo 4.3. Migren ve kontrol gruplarında *UTS2* geni ekzon Ser89Asn polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

	N	Genotip n (%)			P	Allel n (%)		P
		Ser-Ser	Ser-Asn	Asn-Asn		Ser	Asn	
Kontrol	154	142 (92.2)	12 (7.8)	0 (0.0)	>0.05	296 (96.1)	12 (3.9)	>0.05
Migren	146	132 (90.4)	14 (9.6)	0 (0.0)		278 (95.2)	14 (4.8)	



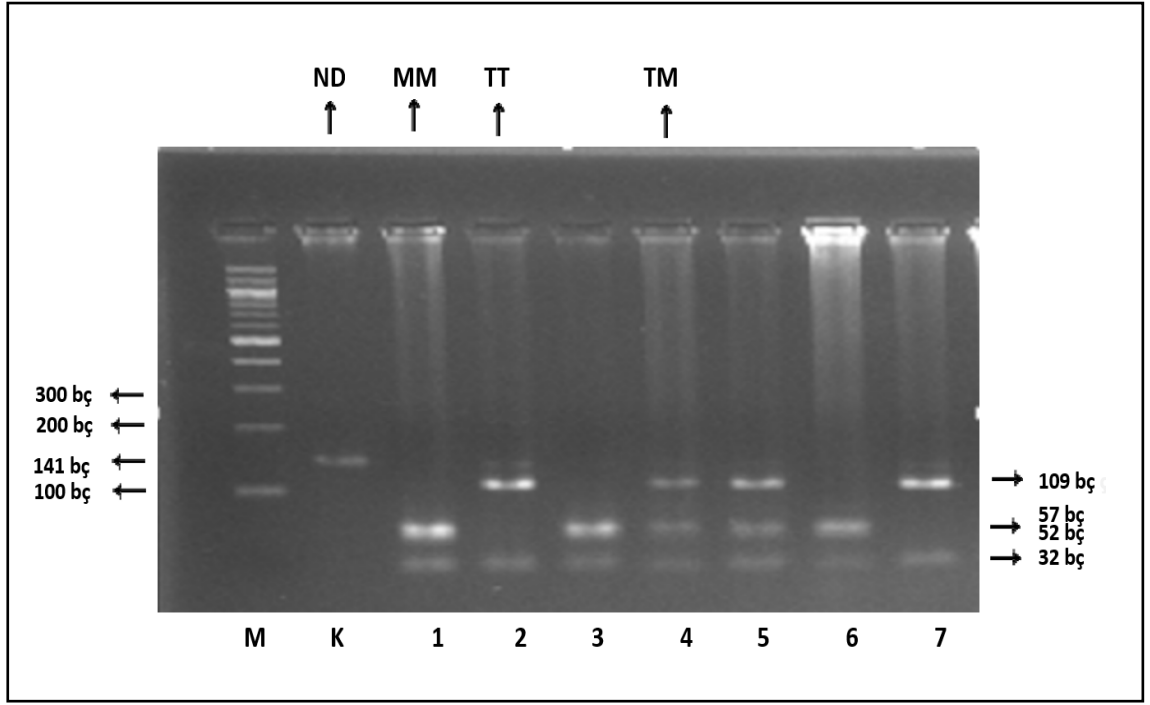
Şekil 4.6. Migren ve kontrol gruplarında *UTS2* geni ekzon Ser89Asn polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Ser89Asn polimorfizmi için, kontroller ve MA veya kontroller ve MO arasında genotip dağılımı veya allel frekansları anlamlı bir farklılık göstermedi (Tablo 4.4).

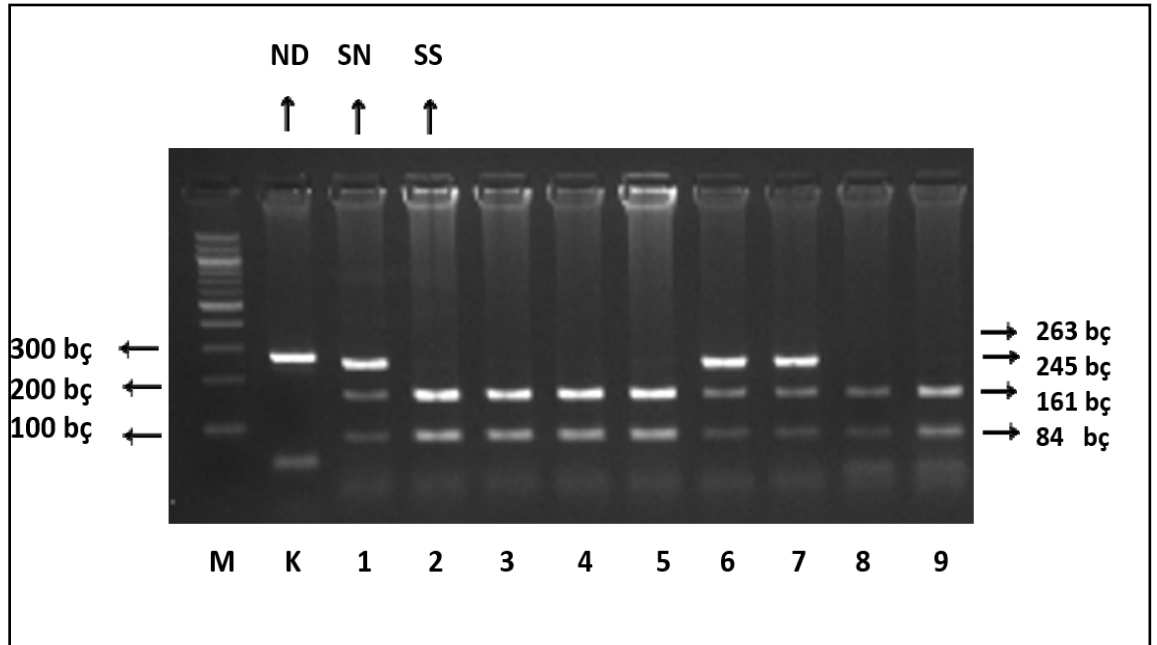
Tablo 4.4. Ser89Asn Polimorfizmi MA ve MO genotip ve allel frekansları dağılımı

Genotipler/ Alleler	Kontrol (n=154) n (%)	Migren (n=146) n (%)	P	OR (95% CI)
MO		(n=132)		
SS	142 (92.2)	119 (90.2)		
SN	12 (7.8)	13 (9.8)	0.6753	1.293 (0.568 - 2.940)
NN	0 (0.0)	0 (0.0)		
S	296 (96.1)	251 (95.1)		
N	12 (3.9)	13 (4.9)	0.6824	1.278 (0.573 - 2.851)
MA		(n=14)		
SS	142 (92.2)	13 (92.9)		
SN	12 (7.8)	1 (7.1)	1.0000	0.910 (0.110 - 7.569)
NN	0 (0.0)	0 (0.0)		
S	296 (96.1)	27 (96.4)		
N	12 (3.9)	1 (3.6)	1.0000	0.914 (0.114 - 7.300)

OR, Olasılık oranı; CI, güven aralığı; MA, Auralı migren; MO, Aurasız migren



Resim 4.1. *UTS2* Thr21Met (rs228648) polimorfizminin NlaIII Enzimi ile Kesim Sonuçları % 3'lük agaroz jel görüntüsü. (ND: Normal Değer).



Resim 4.2. *UTS2* Ser89Asn (rs2890565) polimorfizminin RsaI Enzimi ile Kesim Sonuçları % 3'lük agaroz jel görüntüsü (ND: Normal Değer).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Migren, beyin fonksiyonu ve bağlantısında değişiklikleri kapsar. Migrenin vaskülatür olarak önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Örneğin, migren hastaları migren olmayanlarla karşılaştırıldığında, migrenlilerde iskemik inme görülme riski yaklaşık iki kat daha fazladır (186) ve değişmiş vasküler reaktivite, başka hastalığı olmayan migrenli gençler de bile görülebilir (187). Kronik migrenli hastalarda arteriyel duvar sertliğinin artışı ve endotelial bozukluğu olduğu kanıtlanmıştır (188). Nitrik oksit (NO), migren patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir. NO, serebral arterlerdeki nörojenik dilatasyonun önemli mediyatörüdür (189) ve migrenden kaynaklanan ağrıya etki eden anahtar molekül olarak ortaya çıkmaktadır (190). Migren ataklarının intra ve ekstrakraniyal arter dilatasyonu ile ilişkisi, NO kaynaklı olabilir (191). *UTS2* düşük konsantrasyonlarda da endotelial bağımlı olarak vazodilatasyona neden olur. Ürotensin II'nin endotel bağımlı vazodilatör etkileri, NO salınımı, prostaglandinler ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör ile meydana gelir (112). Bıçak ve ark. yaptığı çalışmada, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, migren hastalarının plazmasında *UTS2*'nin düşük seviyelerde olduğu bildirilmiştir (65). Lateral serebral ventriküle *UTS2* uygulaması, sıçanlarda serebral kan akımında kademeli ve uzun süreli artışa neden olabilir. *UTS2* aynı zamanda bir iskemik hasarı takiben iskemik serebral zararı şiddetlendirir (192). Ürotensin II'nin noradrenerjik nöronlarda, norepinefrin, dopamin ve serotonin salınımını uyardığı ortaya konmuştur (193). Bu bulgular, *UTS2*'nin migren patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Moleküler modelleme analizi, bu iki polimorfizmin komşu rezidüleriyle etkileşimde olduğunu gösterdi. Yedi veya 25 rezidü değişikliği Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri ile gözlemlendi (162).

Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri ile etkilenen *UTS2*'nin yapısı, işlevi veya plazma seviyeleri halen bilinmemektedir ve başka çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışma ile, migren hastalarında *UTS2* gen polimorfizmi ilk kez araştırılmıştır.

Migren ve incelenen Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik saptanmamıştır.

Bizim verilerimiz, ürotensin II geninin Thr21Met ve Ser89Asn polimorfizmlerinin migrenli Türk hastalarda duyarlı gen olmayabileceğini gösterdi. Bu sonuçlar, *UTS2* genindeki genetik polimorfizmlerin, migrenin bireysel yatkınlığı ile ilişkili olamayacağı anlamına gelmektedir.

Bu bulguları doğrulamak için, daha büyük popülasyonlar ve etnik gruplar ile ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Kapsamlı çalışmaların, sonucu değiştirebileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Pietrobon D, Moskowitz MA. Pathophysiology of migraine. *Annu Rev Physiol* 2013;75:365-91.
2. Bigal ME, Rapoport AM, Lipton RB, Tepper SJ, Sheftell FD. Assessment of migraine disability using the migraine disability assessment (MIDAS) questionnaire: a comparison of chronic migraine with episodic migraine. *Headache* 2003;43:336-42.
3. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. *Cephalalgia* 2004;24 Suppl 1:9-160.
4. Lipton RB, Bigal ME. The epidemiology of migraine. *Am J Med* 2005;118 Suppl 1:3S- 10S.
5. Mulder EJ, Van Baal C, Gaist D, Kallela M, Kaprio J, Svensson DA, et al. Genetic and environmental influences on migraine: a twin study across six countries. *Twin Res* 2003;6:422-31.
6. Chasman DI, Schürks M, Anttila V, de Vries B, Schminke U, Launer LJ, et al. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population. *Nat Genet* 2011;43:695-8.
7. Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, et al. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* 1999;401:282-6.
8. Ong KL, Wong LY, Cheung BM. The role of urotensin II in the metabolic syndrome. *Peptides* 2008;29:859-67.
9. Russell FD. Emerging roles of urotensin-II in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther* 2004;103:223-43.
10. Sauzeau V, Le Mellionnec E, Bertoglio J, Scalbert E, Pacaud P, Loirand G. Human urotensin II-induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-kinase. *Circ Res* 2001;88:1102-4.
11. Shi L, Ding W, Li D, Wang Z, Jiang H, Zhang J, et al. Proliferation and anti-apoptotic effects of human urotensin II on human endothelial cells. *Atherosclerosis* 2006;188:260-4.
12. Hongfang J, Bailin C, Bin Z, Chunyu Z, Xinmin L, Weijin Z, et al. Effects of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary vascular structural remodeling. *Life Sci* 2006;78:1299-309.
13. Wenyi Z, Suzuki S, Hirai M, Hinokio Y, Tanizawa Y, Matsutani A, et al. Role of urotensin II gene in genetic susceptibility to Type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia* 2003;46:972-6.
14. Anttila V, Winsvold BS, Gormley P, Kurth T, Bettella F, McMahon G, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new susceptibility loci for migraine. *Nat Genet* 2013;45:912-7.
15. Aydın I. Ağrının Patofizyolojisi. *Türk Fiz. Tıp Rehab. Derg.* 2005;51 (özel ek B):8-13.
16. Swanson WJ, Dodick WD, Capoblanco JD. Headache and Other Craniofacial Pain. In: *Neurology in Clinical Practice* (third ed.), Bradley GW, Daroff BR, Fenichel MG, Marsden DC, Butterworth-Heinemann. 2000;73: 1829-1878.

17. Boes CJ, Capobianco DJ, Cutrer FM, Dodick DW. Headache and other craniofacial pain. İçinde Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J (Ed.). Neurology In Clinical Practice, 5th edition. Philadelphia: Elsevier; 2008. s. 2011-59.
18. Berkson J: limitation of application of fourfold table analysis to hospital data. Biochemists Bull 1946;2:47-53
19. Saip S. Küme Bas Ağrısı ve diğer seyrek görülen Primer Bas Ağrıları. Siva A, Hancı M.(ed). Bas, Boyun, Bel Ağrıları. D.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Yayınları, İstanbul. No:30. 2002; 55-67.
20. Zenbilci N. Sinir sistemi hastalıkları (3. Baskı) sy. 471
21. Çelebi A, Özcan H. Baş ağrıları, kranial nevraljiler ve yüz ağrılarının sınıflandırılması ve tanı kriterleri. Uluslararası Baş ağrısı Derneği, Baş ağrıları Sınıflama Komitesi Orhanlar matbaası, 1990.
22. Ostfeld AM. The Ad Hoc Committee on headache classification. Cephalalgia 1993; 13 (suppl 12):12.
23. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders. 2d ed. Cephalalgia 2004; 24(suppl 1):1-232.
24. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders: 3rd edition. Cephalalgia. 2013;33:629-808.
25. Andrew J Dowson. The diagnosis of migraine and the other primary headaches. In: Andrew J Dowson. Your Questions answered migraine and other headaches (1st ed), London, Churchill Livingstone. 2003;60-77.
26. Silberstein SD. Migraine. Lancet 2004;363(9406):381-391
27. Lipton RB, Stewart WF, Diamond S, Diamond ML, Reed M. Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. Headache 2001;41:646-657
28. Rasmussen BK. Migraine and tension-type headache are separate disorders. Cephalalgia 1996; 16: 218-20.
29. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders, 2nd edn. Cephalalgia 2004;24(suppl 1):1-160.
30. Morris Levin, MD, The International Classification of Headache Disorders, 2013: 3rd Edition (ICHD III) Headache currents-Clinical review, Changes and Challenges s:1383-1395.
31. International Headache Society: Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. Cephalalgia volume 2003;24 (suppl 1);24-36
32. 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);9-96.
33. Kirchmann M. Migraine with aura: new understanding from clinical epidemiologic studies. Curr Opin Neurol 2006; 19: 286-93.
34. Srinivasa R, Kumar R. Migraine variants and beyond. J Assoc Physicians India 2010;58 Suppl:14-7.
35. Solomon S. Migraine variants. Curr Pain Headache Rep 2001;5(2):165-9.
36. Kirchmann M, Thomsen LL, Olesen J. Basilar-type migraine: clinical, epidemiologic, and genetic features. Neurology. 2006 Mar 28;66(6): 880-886.
37. Thomsen LL, Eriksen MK, Roemer SF, Andersen I, Olesen J, Russell MB. A population-based study of familial hemiplegic migraine suggests revised diagnostic criteria. Brain 2002; 125:1379-91.

38. Ducros A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. The genetics of migraine. *Lancet Neurol* 2002; **1**: 285–93.
39. Lee AG, Brazis PW, Miller NR. Posterior ischemic optic neuropathy associated with migraine. *Headache* 1996;36: 506.
40. Beversdorf D, Sommel E, Allen C, et al. Recurrent branch retinal infarcts in association with migraine. *Headache*.1997;37: 396.
41. Evans RW, Grosberg BM. Retinal migraine: migraine associated with monocular visual symptoms. *Headache*. 2008 Jan;48(1): 142-145.
42. Siva A. Basağrısı Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri* 2: 94-97, 2003.
43. Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL 3rd (2009) Sex, gender, pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J Pain* 10:447–485
44. Stewart WF, Wood C, Reed ML, Roy J, Lipton RB (2008) Cumulative lifetime migraine incidence in women and men. *Cephalalgia* 28:1170–1178
45. Ferrante T, Castellini P, Abrignani G, Latte L, Russo M, Camarda C, Veronesi L, Pasquarella C, Manzoni GC, Torelli P (2012) The PACE study: past-year prevalence of migraine in Parma's adult general population. *Cephalalgia* 32(5):358–365
46. Bille B (1962) Migraine in school children. *Acta Paediatr Scand* 51:1–151
47. MacGregor EA, Rosenberg JD, Tobias Kurth T (2011) Sex-related differences in epidemiological and clinic-based headache studies. *Headache* 51:843–859
48. Lipton RB, Bigal ME, Diamond M, Freitag F, Reed ML, Stewart WF (2007) Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology* 68:343–349
49. Cinzia Finocchi, Laura Strada. Sex-related differences in migraine. *Neurol Sci* (2014) 35 (Suppl 1):S207–S213
50. Stewart WF, Linet MS, Celentano DD, Van Natta M, Ziegler D (1991) Age- and sex-specific incidence rates of migraine with and without visual aura. *Am J Epidemiol* 134:1111–1120
51. Granella F, Sances G, Allais G, Nappi RE, Tirelli A, Benedetto C et al (2004) Characteristics of menstrual and nonmenstrual attacks in women with menstrually related migraine referred to headache centres. *Cephalalgia* 24:707–716
52. Zarifoglu M, Siva A. Bas Ağrıları. In: Oğul E. *Klinik Nöroloji*, İstanbul, Nobel&Günes Kitabevi, No: 1, 2002: 107-121.
53. JD Bartleson, FM Cutrer - *Diagnosis and treatment*, Minnesota Medicine, 2010: 37-39
54. Zarifoğlu M. Basağrıları. *Đinde: Klinik Nöroloji*, Oğul E. (ed.). 2002; Nobel & Günes, İstanbul, 105-130.
55. Pringsheim T, Gooren L (2004) Migraine prevalence in male to female transsexuals on hormone therapy. *Neurology* 63:593–594
56. Silberstein SP, Lipton RB, Goadsby PJ ve ark. (Çev. Ed. Ertas ve ark), *Klinik Uygulamalarda Bas Ağrısı*, Yelkovan Yayıncılık İletişim ve Reklam Hizmetleri Ltd. Sti, İstanbul. 2004;47-112.
57. Cady RK. Early intervention in the treatment of migraine. *Headache Qtrly*. 2001; 12(suppl 1):3-8.
58. Silberstein SD, Lipton RB, Goadsby PJ. *Headache in Clinical Practice*. Second edition. ISIS Medical Media. Oxford: 11-91, 1998.
59. Liv GT, Schatz NJ, Galetta SL, Farror JT, Raps EC. Persistent positive visual phenomena in migraine. *Neurology*.1995; 45: 664-669.

60. Jensen K, Tfelt-Hansen P, Lauritzen M, Olesen J. Classic migraine, a prospective recording of symptoms. *Acta Neurol Scand.* 1986;73:359-362.
61. Evans RW, Mathew MT. Handbook of Headache. Lippincott Williams & Wilkins. Second Edition. Çeviri Editörü: Mustafa Ertas. 1999;28-60.
62. Siva A. Baş, Boyun, Bel ağrıları. DÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli tıp Eğitim Etkinlikleri. No:30. Mayıs 2002;39-50.
63. Russel MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *British Medical Journal.* 1995; 311: 541-544.
64. Mac Gregor A. (2004) Kadınlarda Migren (Çev.Ed.:Afsar N.), AND Yayıncılık, 1.Basım, İstanbul.
65. Bıçak U, Karabiber H, Ozerol Hİ, Aslan M, İlhan A, Yakinci C. Possible pathogenic link between migraine and urotensin-II. *J Child Neurol* 2008;23:1249-53.
66. Rapoport, A.; Edmeads, J. Migraine - The evolution of our knowledge. *Arch. Neurol.*, 2000, 57(8), 1221-1223.
67. Eadie, M. J. The pathogenesis of migraine - 17th to early 20th Century understandings. *J. Clin. Neurosci.*, 2005, 12(4), 383-388.
68. Wolff, H.G. Headache and other head pain. Oxford University Press, New York; 1963 (p. 31-9, 25-31).
69. Baron, E. P.; Tepper, S. J. Revisiting the role of ergots in the treatment of migraine and headache. *Headache*, 2010, 50(8), 1353-1361.
70. Spierings, E. L. Migraine: migraine headache pathogenesis in historical perspective. *Rev. Neuro. Dis.*, 2009, 6(2), 77-80.
71. Humphrey, P. P. The discovery and development of the triptans, a major therapeutic breakthrough. *Headache*, 2008, 48(5), 685-687.
72. Amin, F. M.; Asghar, M. S.; Hougaard, A.; Hansen, A. E.; Larsen, V. A.; de Koning, P. J. H.; Larsson, H. B. W.; Olesen, J.; Ashina, M. Magnetic resonance angiography of intracranial and extracranial arteries in patients with spontaneous migraine without aura: a cross-sectional study. *Lan. Neurol.*, 2013, 12(5), 454-461.
73. Edvinsson, L.; Villalon, C. M.; MaassenVanDenBrink, A. Basic mechanisms of migraine and its acute treatment. *Pharmacol. Ther.*, 2012, 136(3), 319-333.
74. Adams RD, Victor M. Principles of neurology, 7th edition, Mc Graw Hill international editions. 2001, Chapter 10,175-204.
75. Moskowitz, M. A. Molecular mechanism of migraine. *Rinsho Shinkeigaku*, 2008, 48(11), 798.
76. Peter J. Goadsby, M.D., D.Sc., Richard B. Lipton, M.D., and Michel D. Ferrari, M.D., Ph.D[B1]. Migraine — Current Understanding and Treatment, *N Engl J Med* 2002; 346:257-270
77. Saxena, P.R., Tfelt-Hansen, P., 2006. Triptans, 5-HT1B/1D receptor agonists in the acute treatment of migraines. In: Olesen, J., Goadsby, P.J., Ramadan, N.M., Tfelt-Hansen, P., Welch, K.M.A. (Eds.), *The Headaches*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
78. Edvinsson, L., 2004. Blockade of CGRP receptors in the intracranial vasculature: a new target in the treatment of headache. *Cephalalgia* 24, 611-622.
79. Moskowitz, M. A. Defining a pathway to discovery from bench to bedside: The trigeminovascular system and sensitization. *Headache*, 2008, 48(5), 688-690.

80. Samsam, M.; Covenas, R.; Ahangari, R.; Yajeya Javier, J., Major Neuroanatomical and Neurochemical Substrates Involved in Primary Headaches. 2010; 1-58.
81. 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.
82. 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.
83. Borsook, D.; Hargreaves, R. Brain imaging in migraine research. *Headache*, 2010, 50(9), 1523-1527.
84. Sprenger, T.; Borsook, D. Migraine changes the brain: neuroimaging makes its mark. *Curr. Opin. Neurol.*, 2012, 25(3), 252-262.
85. Moskowitz, M. A. Genes, proteases, cortical spreading depression and migraine: impact on pathophysiology and treatment. *Funct. Neurol.*, 2007, 22(3), 133-136.
86. Eikermann-Haerter, K.; Moskowitz, M. A. Animal models of migraine headache and aura. *Curr. Opin. Neurol.*, 2008, 21(3), 294- 300.
87. 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.
88. Karatas, H.; Erdener, S. E.; Gursoy-Ozdemir, Y.; Lule, S.; Eren- Kocak, E.; Sen, Z. D.; Dalkara, T. Spreading Depression Triggers Headache by Activating Neuronal Pannx1 Channels. *Science*, 2013, 339(6123), 1092-1095.
89. Claudia F. Gasparini, Heidi G. Sutherland and Lyn R. Griffiths, Studies on the Pathophysiology and Genetic Basis of Migraine, 2013, 300-315
90. Bergerot, A.; Storer, R. J.; Goadsby, P. J. Dopamine inhibits trigeminovascular transmission in the rat. *Ann. Neurol.*, 2007, 61(3), 251-262.
91. Barbanti, P.; Fabbrini, G.; Ricci, A.; Pascali, M. P.; Bronzetti, E.; Amenta, F.; Lenzi, G. L.; Cerbo, R. Migraine patients show an increased density of dopamine D3 and D4 receptors on lymphocytes. *Cephalalgia*, 2000, 20(1), 15-19.
92. Barbanti, P.; Bronzetti, E.; Ricci, A.; Cerbo, R.; Fabbrini, G.; Buzzi, M. G.; Amenta, F.; Lenzi, G. L. Increased density of dopamine D-5 receptor in peripheral blood lymphocytes of migraineurs: A marker for migraine? *Neurosci. Lett.*, 1996, 207(2), 73-76.
93. King, R. A.; Rotter J. I.; G., M. A., The Genetic Basis of Common Diseases. Oxford University Press: Oxford, 2002.
94. Bolay H, Moskowitz MA (2005) The neurobiology of migraine and transformation of headache therapy. In: Waxman S (ed) 'Neuroscience, Molecular Medicine and the Therapeutic Transformation of Neurology', Elsevier, Oxford, pp 107-123
95. Parsons, A. A.; Strijbos, P. J. The neuronal versus vascular hypothesis of migraine and cortical spreading depression. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2003, 3(1), 73-77.
96. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL4A. *Cell Tiss Res*. 1996;87:543-552.

97. Joutel A, Bousser MG, Biousee V. A gene for familial hemiplegic migraine maps to chromosome 19. *Nat Genet.* 1993;5:40-45.
98. Ducros A, Deiner C, Joutel A, et al. The clinical spectrum of familial hemiplegic migraine associated with mutations in a neuronal calcium channel. *N Engl J Med.* 2001;345:17-24.
99. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, et al. Haploin- sufficiency of ATP1A2 encoding the Na(+)/K(+) pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet.* 2003;33:192-196.
100. Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, et al. Muta- tion in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet.* 2005;366:371-377.
101. Ferrari MD, Goadsby PJ: Migraine as a cerebral ionopathy with abnormal central sensory processing. Edited by: Gilman S. *Neurobiology of Disease.* New York, NY: Elsevier; 2006:333-348.
102. <http://dorotheacarney.com/picsnda/familial-hemiplegic-migraine>
103. Hamel, E. Serotonin and migraine: biology and clinical implications. *Cephalalgia*, 2007, 27(11), 1293-1300.
104. Lea RA, Ovcarić M, Sundholm J, Solyom L, Macmillan J, Griffiths LR. Genetic variants of angiotensin converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reductase may act in combination to increase migraine susceptibility. *Brain Res Mol Brain Res.* 2005;136(1-2):112-117.
105. Colson NJ, Lea RA, Quinlan S, MacMillan J, Griffiths LR. The estrogen receptor 1 G594A polymorphism is associated with migraine susceptibility in two independent case/control groups. *Neurogenetics.* 2004;5(2):129-133.
106. Peroutka, S. J.; Wilhoit, T.; Jones, K. Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Neurology*, 1997, 49(1), 201-206.
107. Onan D, Hannan RD, Thomas WG (2004) Urotensin II: the old kid in town. *Trends Endocrinol Metab* 15:175–182.
108. Zelnik, P.R. & K. Lederis. 1973. Chromatographic separation of urotensins. *Gen. Comp. Endocrinol.* 20: 392–400.
109. Lederis, K., A. Letter, D. McMaster, *et al.* 1982. Complete amino acid sequence of urotensin I, a hypotensive and corticotrophin-releasing neuropeptide from catostomus. *Science* 218: 162–164.
110. D. Pearson, J.E. Shively, B.R. Clark, I.I. Geschwind, M. Barkley, R.S. Nishioka and H.A. Bern, Urotensin II: a SST-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 77 (1980): 5021-5024.
111. Coulouarn Y, Lihmann I, Jegou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC, et al. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneu- rons of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(December (26)): 15803–8.
112. Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010; 298(5):R1156-72. Review.
113. Moulder, K.L. & Mennerick, S. Reluctant vesicles contribute to the total readily releasable pool in glutamatergic hippocampal neurons. *J Neurosci* 25, 3842-50 (2005).

114. Sara, Y.Mozhayeva, M.G., Liu, X. & Kavalali, E.T. Fast vesicle recycling supports neurotransmission during sustained stimulation at hippocampal synapses. *J Neurosci* 22, 1608-17 (2002).
115. Douglas SA, Ohlstein EH (2000) Urotensin receptors. In: Girdlestone D (ed), *The IUPHAR compendium of receptor characterisation and classification*. IUPHAR Media, London, pp 365–372
116. Lavecchia A, Cosconati S, Novellino E. Architecture of the human urotensin II receptor: comparison of the binding domains of peptide and non-peptide urotensin II agonists. *J Med Chem*. 2005; 48(7):2480-92.
117. Camarda V, Guerrini R, Kostenis E, Rizzi A, Calo G, Hattenberger A, Zucchini M, Salvadori S, Regoli D (2002) A new ligand for the urotensin II receptor. *Br J Pharmacol* 137: 311–314
118. Douglas SA, Naselsky D, Ao Z, Disa J, Herold CL, Lynch F, Aiyar NV (2004) Identification and pharmacological characterization of native, functional human urotensin-II receptors in rhabdomyosarcoma cell lines. *Br J Pharmacol* 142:921–932.
119. Proulx CD, Holleran BJ, Lavigne P, Escher E, Guillemette G, Leduc R. Biological properties and functional determinants of the urotensin II receptor. *Peptides*. 2008; 29(5):691-9.
120. Sáez ME, Smani T, Ramírez-Lorca R, Díaz I, Serrano-Ríos M, Ruiz A, Ordoñez A. Association analysis of urotensin II gene (UTS2) and flanking regions with biochemical parameters related to insulin resistance. *PLoS One*. 2011 ; 6(4):19327.
121. Conlon, J.M., F. O'Harte, D.D. Smith, *et al.* 1992. Isolation and primary structure of urotensin II from the brain of a tetrapod, the frog *Rana ridibunda*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 188: 578–583.
122. Sugo, T., Y. Murakami, Y. Shimomura, *et al.* 2003. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310: 860–868.
123. C. Dubessy, D. Cartier, B. Lectez, C. Bucharles, N. Chartrel, M. Montero-Hadjadje, P. Bizet, D. Chatenet, H. Tostivint, E. Scalbert, J. Leprince, H. Vaudry, S. Jégou, I. Lihrmann, Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction, *J. Neurochem.* 107 (2008) 361– 374.
124. T. Sugo, Y. Murakami, Y. Shimomura, M. Harada, M. Abe, Y. Ishibashi, C. Kitada, N. Miyajima, N. Suzuki, M. Mori, M. Fujino, Identification of urotensin II related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265 (2003) 123–129.
125. Tostivint, H., L. Joly, I. Lihrmann, *et al.* 2006. Comparative genomics provides evidence for close evolutionary relationships between the urotensin II and somatostatin gene families. *Proc.Natl.Acad. Sci.USA* 103: 2237–2242.
126. Sugo T, Murakami Y, Shimomura Y, Harada M, Abe M, Ishibashi Y, *et al.* Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 310:860-8.
127. Russell FD. Urotensin II in cardiovascular regulation. *Vasc Health Risk Manage* 2008;4(4):775–85.

128. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: Receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2000;131:441-6
129. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N, Hirata Y (2001) Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens* 19:2185–2190
130. Yoshimoto T, Matsushita M, and Hirata Y. Role of urotensin II in peripheral tissues as an autocrine/paracrine growth factor. *Peptides*. 2004; 25(10):1775-81. Review.
131. Douglas SA, Ohlstein EH. Human urotensin-II, the most potent mammalian vasoconstrictor identified to date, as a therapeutic target for the management of cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*. 2000; 10(6):229-37. Review.
132. Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, Ohlstein EH, Berry C, Kirk A, Richardson M, MacLean MR (2001) Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280:H925–928
133. Bottrill FE, Douglas SA, Hiley CR, White R. Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *Br J Pharmacol* 2000;130(August (8)):1865–70.
134. Tölle M, van der Giet M. Cardiorenovascular effects of urotensin II and the relevance of the UT receptor. *Peptides*. 2008; 29(5):743-63. Review.
135. John McDonald, Madura Batuwangala, and David G. Lambert. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth* 21;2007:378–389.
136. Ong KL, Wong LY, Man YB *et al*. Haplotypes in the urotensin II gene and urotensin II receptor gene are associated with insulin resistance and impaired glucose tolerance. *Peptides* 2006;27:1659–1667.
137. Pierre-Olivier Barrette and Adel Giaid Schwertani. A closer look at the role of urotensin II in the metabolic syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012; 3: 165.
138. Lin Y, Tsuchihashi T, Matsumura K, Abe I, Iida M (2003) Central cardiovascular action of urotensin II in conscious rats. *J Hypertens* 21:159–165.
139. Camarda V, Rizzi A, Calo G, Gendron G, Perron SI, Kostenis E, Zamboni P, Mascoli F, Regoli D (2002) Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 365:141–149
140. Douglas SA, Sulpizio AC, Piercy V, Sarau HM, Ames RS, Aiyar NV, Ohlstein EH, Willette RN (2000) Differential vasoconstrictor activity of human urotensin-II in vascular tissue isolated from the rat, mouse, dog, pig, marmoset and cynomolgus monkey. *Br J Pharmacol* 131:1262–1274.
141. Itoh H, McMaster D, Lederis K (1988) Functional receptors for fish neuropeptide urotensin II in major rat arteries. *Eur J Pharmacol* 149:61–66
142. Douglas SA (2003) Human urotensin-II as a novel cardiovascular target: “heart” of the matter or simply a fishy “tail”? *Curr Opin Pharmacol* 3:159–167.
143. Coulouarn Y, Fernex C, Jegou S, Henderson CE, Vaudry H, Lihmann I (2001) Specific expression of the urotensin II gene in sacral motoneurons of developing rat spinal cord. *Mech Dev* 101: 187–190
144. Dun SL, Brailoiu GC, Yang J, Chang JK, Dun NJ (2001) Urotensin II-immunoreactivity in the brainstem and spinal cord of the rat. *Neurosci Lett* 305:9–12

145. Filipeanu CM, Brailoiu E, Le Dun S, Dun NJ (2002) Urotensin-II regulates intracellular calcium in dissociated rat spinal cord neurons. *J Neurochem* 83:879–884.
146. Yoshimoto T, Matsushita M, Hirata Y. Architecture of the human urotensin II receptor: comparison of the binding domains of peptide and non-peptide urotensin II agonists. *J Med Chem.* 2005; 48(7):2480-92.
147. P.P. Jani, H. Narayan, L.L. Ng. The differential extraction and immunoluminometric assay of Urotensin II and Urotensin-related peptide in heart failure. *Peptides.* 40:2013; 72–76.
148. Bousette N, Giaid A. Urotensin-II and cardiovascular diseases. *Curr Hypertens Rep* 2006;8:479-83.
149. Tian L, Li C, Qi J, Fu P, Yu X, Li X, et al. Diabetes-induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF-beta-1-mediated renal fibrosis and dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;295:1234-42.
150. Kemp W, Kompa A, Phrommintikul A, Herath C, Zhiyuan J, Angus P, et al. Urotensin II modulates hepatic fibrosis and portal hemodynamic alterations in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;297:762-7.
151. Tran L, Kompa AR, Kemp W, Phrommintikul A, Wang BH, Krum H. Chronic urotensin-II infusion induces diastolic dysfunction and enhances collagen production in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:608-13.
152. Thompson JP, Watt P, Sanghavi S, Strupish JW, Lambert DG (2003) A comparison of cerebrospinal fluid and plasma urotensin II concentrations in normotensive and hypertensive patients undergoing urological surgery during spinal anesthesia: a pilot study. *Anesth Analg* 97:1501–1503
153. Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. *Lancet* 2002;359(June (9322)):1990–7.
154. Nakayama T, Hirose T, Totsune K, Mori N, Maruyama Y, Maejima T, et al. Increased gene expression of urotensin II-related peptide in the hearts of rats with congestive heart failure. *Peptides* 2008;29(May (5)):801–8.
155. Russell FD, Molenaar P, O'Brien DM (2001) Cardiostimulant effects of urotensin-II in human heart in vitro. *Br J Pharmacol* 132:5–9.
156. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O (2003) Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)* 104:1–5.
157. Marco J, Egido EM, Hernández R, Silvestre RA. Evidence for endogenous urotensin-II as an inhibitor of insulin secretion: study in the perfused rat pancreas. *Peptides.* 29: 852–858, 2008.
158. Langham RG, Kelly DJ, Gow RM *et al.* Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2004;44:826–831.
159. Suguro T, Watanabe T, Kodate S *et al.* Increased plasma urotensin-II levels are associated with diabetic retinopathy and carotid atherosclerosis in Type 2 diabetes. *Clin Sci* 2008;115:327–334.
160. Watson AM, Lambert GW, Smith KJ, May CN. Urotensin II acts centrally to increase epinephrine and ACTH release and cause potent inotropic and chronotropic actions. *Hypertension* 2003;42:373–379.

161. Gruson D, Rousseau MF, Ketelslegers JM, Hermans MP. Raised plasma urotensin II in type 2 diabetes patients is associated with the metabolic syndrome phenotype. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2010;12:653–660.
162. Okumus S, Igci YZ, Taskin T, Oztuzcu S, Gurler B, Eslik Z, Gogebakan B, Coskun E, Erbagci İ, Demiryurek S, Cengiz B, Demiryurek AT. Association Between Thr21Met and Ser89Asn Polymorphisms of the Urotensin-II (*UTS2*) Gene, Diabetes Mellitus, and Diabetic Retinopathy. *Current Eye Research*, 2012; 37(10): 921–929.
163. Gendron G, Simard B, Gobeil F Jr, Sirois P, D'Orléans-Juste P, Regoli D. Human urotensin-II enhances plasma extravasation in specific vascular districts in Wistar rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2004;82:16–21.
164. Matsusaka S, Wakabayashi I. Enhancement of vascular smooth muscle cell migration by urotensin II. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2006;373:381–386.
165. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG *et al.* Direct actions of urotensin II on the heart: implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Res* 2003;93:246–253.
166. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A, Katagiri T. Human urotensin II as a link between hypertension and coronary artery disease. *Hypertens Res.* 29: 375–387, 2006.
167. Ishihata A, Sakai M, Katano Y (2006) Vascular contractile effect of urotensin II in young and aged rats: influence of aging and contribution of endothelial nitric oxide. *Peptides* 27:80–86.
168. Papadopoulos P, Bousette N, Al-Ramli W, You Z, Behm DJ, Ohlstein EH, Harrison SM, Douglas SA, Giaid A. Targeted overexpression of the human urotensin receptor transgene in smooth muscle cells: effect of UT antagonism in ApoE knockout mice fed with Western diet. *Atherosclerosis.* 204: 395–404, 2009.
169. Djordjevic T, BelAiba RS, Bonello S, Pfeilschifter J, Hess J, Görlach A. Human urotensin II is a novel activator of NADPH oxidase in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:519–525.
170. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999;48:1–9.
171. El-Remessy AB, Behzadian MA, Abou-Mohamed G, Franklin T, Caldwell RW, Caldwell RB. Experimental diabetes causes breakdown of the blood-retina barrier by a mechanism involving tyrosine nitration and increases in expression of vascular endothelial growth factor and urokinase plasminogen activator receptor. *Am J Pathol* 2003;162:1995–2004.
172. Albertin G, Guidolin D, Sorato E, Oselladore B, Tortorella C, Ribatti D. Urotensin-II-stimulated expression of pro-angiogenic factors in human vascular endothelial cells. *Regul Pept* 2011;172:16–22.
173. Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES *et al.* Intravitreal injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. *Ophthalmology* 1996;103:1820–1828.
174. Sato S, Ikegaki I, Asano T, Shimokawa H. Antiischemic properties of fasudil in experimental models of vasospastic angina. *Jpn J Pharmacol.* 2001;87:34–40.
175. Cullis CA. The use of DNA polymorphisms in genetic mapping. *Genet Eng (NY).* 2002;24:179–89.

176. Sugimoto M, Nakayama M, Goto TM, Amano M, Komori K., Kaibuchi K. Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;361:462-7.
177. Sambrook J., Russel D.W., 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual: Third Edition*, New York; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2229 p.
178. Passarge E., 2001. *Color Atlas of Genetics*, Second Edition. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany.
179. Reece R. J., 2004. *Analysis of Genes and Genomes*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England.
180. <http://genotyping.files.wordpress.com/2007/03/pcr.gif>
181. Lüleyp H.Ü., *Moleküler Genetik Esasları*, 1. Baskı, Nobel Kitabevi, Adana, 2008.
182. Strachan, T., Read, A.P., 1999, *Human Molecular Genetics 2*, 2nd Edition, BIOS Scientific Publishers, Ltd., Oxford, UK, Treatment. *Ann Surg*, 116 (6), 801-815 p.
183. <http://vanzaakijn.blogspot.com.tr/2015/06/restriction-fragment-length.html>
184. Nussbaum, R.L., Meinness, R.R., Willard, H.F., Cornelius, F.B.III., 2005, Thompson & Thompson *Tıbbi Genetik*, 6. Baskı, Gunes Kitabevi Ltd. Sti., Saunders.
185. Barril P and Nates S. Gel electrophoresis – Principles and Basics: In Tech.2012215. Schürks M, Rist PM, Bigal ME, Buring JE, Lipton RB, Kurth T. Migraine and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2009;339:b3914.
186. Schürks M, Rist PM, Bigal ME, Buring JE, Lipton RB, Kurth T. Migraine and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2009;339:b3914.
187. Vanmolkot FH, Van Bortel LM, de Hoon JN. Altered arterial function in migraine of recent onset. *Neurology* 2007;68:1563-70.
188. Jiménez Caballero PE, Muñoz Escudero F. Peripheral endothelial function and arterial stiffness in patients with chronic migraine: a case-control study. *J Headache Pain* 2013 31;14:8.
189. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
190. Thomsen LL, Olesen J. Nitric oxide theory of migraine. *Clin Neurosci* 1998;5:28-33.
191. Olesen J, Thomsen LL, Lassen LH, Olesen IJ. The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches. *Cephalalgia* 1995;15:94-100.
192. Chuquet J, Lecrux C, Chatenet D, Leprince J, Chazalviel L, Roussel S, et al. Effects of urotensin-II on cerebral blood flow and ischemia in anesthetized rats. *Exp Neurol* 2008;210:577-84.
193. Ono T, Kawaguchi Y, Kudo M, Kushikata T, Hashiba E, Yoshida H, et al. Urotensin II evokes neurotransmitter release from rat cerebrocortical slices. *Neurosci Lett* 2008;440:275-9.

7. EKLER

Ek: 1- Migren sorgulama formu

Ad-Soyad:			
Yazışma Adresi:		Tel No:	
Cins:	1-E	Medeni Durum:	1-Evli 2-Bekar
Yaşı: 1-15-25 2-26-35 3-36-45 4-46-55 5-56-65			
Eğitim Durumu: 1-ilköğretim 2-lise 3-YO			
Alkol	Kullanımı:1-E	Sigara Kullanımı:1-E miktar/gün 2-H	
Oral kontraseptif kullanımı:1-H 2-E hangi preparat/ kaç yıl			
ÖZGEÇMİŞ: 1-Yok			
		İlaç kullanıyormu? İsimleri	
2-HT			
3-KAH			
4-Böbrek hastalığı			
5-DM			
6-İnfeksiyon hastalığı			
7-Strok			
8-Endokrin hastalık			
9-Diğer			
10-Birden fazla hastalık			
SOYGEÇMİŞ: 1-yok (Kimlerde)			
2-HT			
3-KAH			
4-Böbrek hastalığı			
5-DM			
6-Migren			
7-Strok			
8-Endokrin hastalık (DM dışı)			
9-infeksiyon hastalığı			
10-Diğer			
11-Birden fazla hastalık			
Migren için ilaç kullanıyormu? Şu anda kesmiş olsa bile son altı ay içinde kullanmış			
Profilaktik tedavi: 1-E 2-H			
Profilaktik tedavi ayrıntı:			
İsim	Doz	Başlama zamanı	Kesme zamanı
1-SSRI			
2-Antiepileptik			
3-Beta blokör			

4-Ca kanal			
5-TCA			
6-Diğer			

Atak tedavi: 1-E 2-H			
Atak tedavi ayrıntı:			
İsim	Doz	Başlama zamanı	Kesme zamanı
1-NSAİİ			
2-Triptanlar			
3-Ergo			
4-Diğer			
Baş ağrısının tipi: 1-auralı migren 2-aurasız migren			
Baş ağrısı atakları: 1-genellikle çok şiddetli 2-genellikle şiddetli 3-genellikle dayanılabilir 4-genellikle hafif 5-belli olmaz			
Migren atakları için sıklık (son 6 ay) 1-haftada 1-3 2- ayda 1-3 3-daha seyrek			
Tipik baş ağrısı ataklarının başlama yaşı: 1-15-25 2-26-35 3-36-45 4-46-55 5-56-65			
Provake eden faktörler:			
1-yok 5-uykusuzluk 9-birden fazla	2-sinirlenme 6-menstrüasyon	3-üzülme 7-beslenme	4-yorgunluk 8-diğer
Çocukluk döneminde migren eşdeğeri var mı? (araç tutması, karın ağrısı atakları, paroksizmal otonomik disfonksiyon belirtileri vb)			
Baş ağrısı ataklarına eşlik eden otonomik bulgu:			
1-yok 2-var			
Atakalar sırasında ses rahatsızlığı:		Ataklar sırasında ışık rahatsızlığı:	
1-yok 2-var		1-yok 2-var	
Ataklar sırasında bulantı:		Ataklar sırasında kusma:	
1-yok 2-var		1-yok 2-var	
Baş ağrısı ataklarında mood değişikliği (sinirlilik, sevinç, umutsuzluk, bitkinlik, öfke vb)- burada ağrı nedeniyle duyulan sıkıntı ayırt edilmeli; sorulan şey ağrıdan bağımsız ve ağrı şiddetiyle uyumsuz duygudurum değişiklikleri 1-yok 2-bazen var 3-her zaman var			
Fizik muayene: 1-normal 2-patolojik			
Nörolojik muayene: 1-normal 2-patolojik			
Kranial MRG/BBT: 1-normal 2-patolojik			

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Malatya'nın Merkez ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya'da tamamladı. 2002 yılında İnönü Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında lisans eğitime başladı. 2006 yılında mezun oldu. 2006 yılı güz döneminde İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Biyoloji öğretmenliği tezsiz yüksek lisansa başladı. 2008 yılı bahar döneminde mezun oldu. 2010 yılı Güz döneminde Gaziantep Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu'nda 2 yarıyıl İngilizce hazırlık okudu. 2011 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı.