



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

**CHRNA7 GENİ KOPYA SAYISI
VARYASYONLARI (CNV), GEN EKSPRESYONU
VE MİGREN RİSKİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Mehmet Fatih ÖZALTUN
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sırma GEYİK**

Haziran 2020

T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

CHRNA7 GENİ KOPYA SAYISI
VARYASYONLARI (CNV), GEN EKSPRESYONU
VE MİGREN RİSKİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Fatih ÖZALTUN
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Sırma GEYİK

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TF.UT.19.28 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

CHRNA7 GENİ KOPYA SAYISI VARYASYONLARI (CNV), GEN EKSPRESYONU VE MİGREN
RİSKİ

DR. MEHMET FATİH ÖZALTUN

Tarih 05.06.2020

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof.Dr.Can DEMİREL
Dekan
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof.Dr. Semih GİRAY
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç.Dr. Sırma GEYİK
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Doç. Dr. Sırma Geyik

2. Doç Dr. Yusuf İnanc

3. Prof. Dr. Mustafa Gökçe

Doç. Dr. Sırma GEYİK
G.U.İ. Nöroloji A.B.D.
Dip. No: 113475

Doç.Dr.Yusuf İNANC
G.U.T.F. Nöroloji A.B.D.
Dip. Tezci No: 117423

Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE
K.S.Ü. Tıp Fakültesi Nöroloji
Dip. No: 651
İth. No: 43117 - 56609

I. ÖNSÖZ

Asistan hekimlik süresi boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, değerli hocalarım Prof. Dr. Semih Giray, Prof. Dr. Aylin Akçalı, Doç. Dr. Sırma Geyik, Doç. Dr. Yusuf İnanç'a,

Asistanlığım boyunca hastane ve sosyal hayatta her zaman bana desteğini hissettiren, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Nöroloji asistanları başta olmak üzere kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Birlikte çalıştığımız ve çalışmaktan keyif aldığımız ; klinik, poliklinik, yoğun bakımda çalışmakta olan hemşire, teknisyen, sağlık memuru, sekreter, personel arkadaşlarıma,

Tez dönemi boyunca yaptığı yardım ve katkılardan dolayı tez hocam Doç. Dr. Sırma Geyik ve Doç. Dr. Şenay Görücü Yılmaz'a,

Tez dönemi boyunca destek ve katkıları olan, ihtiyacım olduğu anda beni yalnız bırakmayan isimlerini tek tek yazamadığım meslektaşlarıma,

Her zaman yanımda olduklarını hissettiren, zor zamanlarımda arkamda olduklarını bildiğim canım aileme, eşime Tuğba Özaltun ve oğlum Enes Özaltun'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Fatih ÖZALTUN

Gaziantep 2020

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. ÖZET	iv
IV. ABSTRACT	v
V. KISALTMALAR	vi
VI. TABLO LİSTESİ	vii
VII. ŞEKİL LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Migren	5
2.1.1 Baş ağrısı ve Migren	5
2.1.2 Tarihçesi	7
2.1.3 Epidemiyoloji	7
2.1.4 Migrenin Genetiği	8
2.1.4 Migren Patofizyolojisi	10
2.1.5 Migren Sınıflandırması ve Tanı kriterleri	13
2.1.5.1 Migren Sınıflaması	13
2.1.5.2 Aurasız Migren	15
2.1.5.3 Auralı Migren	16
Kronik Migren	17
2.2 CHRNA7 Geni	17
2.2.1 Kopya Sayısı Varyasyonları (Copy Number Variation-CNV)	17
2.2.2 CHRNA7 Geni	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
4. BULGULAR	27
4.1 Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	27

4.2 CNV Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	28
4.3 <i>CHRNA7</i> geni ekspresyon sonuçları ve CNV sayılarının ölçümlerinin değerlendirilmesi	29
4.4 Klinik değişkenlerin ve <i>CHRNA7</i> geni ekspresyon düzeylerinin ölçümlerinin değerlendirilmesi	30
4.5 Klinik değişkenlerin <i>CHRNA7</i> geni ve CNV sayıları ölçümlerinin değerlendirilmesi	35
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	54

III. ÖZET

CHRNA7 GENİ KOPYA SAYISI VARYASYONLARI (CNV), GEN EKSPRESYONU VE MİGREN RİSKİ

Dr. Mehmet Fatih ÖZALTUN
Uzmanlık Tezi, Nöroloji Anabilim Dalı
Tez danışmanı: Doç. Dr. Sırma Geyik
Haziran 2020, 65 sayfa

Migren çok sık rastlanan bir baş ağrısıdır. Ağrı karakteri gereği migren atağı, kişide işlev ve işgücü kaybına yol açar. Bu yüzden de mutlak tedavi edilmesi gerekir. Migren etyopatogenezi üzerine bir çok teori öne sürülmüştür. Günümüzde en çok nöroinflamasyon üzerinde durulmaktadır.

CHRNA7 bir nikotinik asetilkolin reseptörünün $\alpha 7$ subüniti kodlayan gendir. Bu genin ürünün yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar olduğu saptanmıştır. Migrenle ilişkili CNV'ler (Kopya Numarası Varyasyonları) ve ilgili genin ekspresyonu migrenle ilişkili genetik mekanizmalarını anlamak için öznel ve biyobelirteç ölçümlerinin kullanılmasından faydalanacaktır. Migren ile bir ilişki gözlenmesi, migrenin genetik temeli bakımından önemlidir. Bu çalışma ile CNV değişimlerinin normal sayıya ulaştırılabilmesi ve migren hastalarının refahını iyileştirmeyi amaçlayan stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olmak amaçlanmaktadır

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji kliniğine başvuran 102 adet Migren hastası ve 120 adet sağlıklı gönüllü dahil edildi. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında, hastalardan alınan kan ile elde edilen lenfositler üzerinden CHRNA7 geni ve CNV ekspresyon analizleri yapıldı.

Migren hastalığında CNV'lerin durumu ve CNV'lerin üzerinde bulunduğu genin ekspresyonuna etkisi hastalığın tüm klinik bulgularıyla birlikte analiz edilmiştir. Migren hastalarımızda sağlıklı kontrol bireylerine göre azalan kopya sayısı ve artan kopya sayıları ile migren olma riski arasında ilişki tespit edilmiştir. CHRNA7 geni ekspresyon düzeyine gen üzerindeki CNV sayılarının etkisi incelendiğinde istatistiksel olarak ilişki gözlenmemiştir. klinik değişkenlerin ekspresyon üzerinde etkisi olabileceğini fakat CNV sayılarında direkt etkisi olmadığını göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma migren gelişimi için bir temel oluşturduğundan ve migrenin genetik mekanizmasına ilişkin bir kavrayış kazandığından değerlidir. Bu bulgulara dayanarak, migrenli bireylerin yaşam kalitesini ve günlük yaşam aktivitelerini iyileştirmek için tedavi stratejileri geliştirmek için normal aralıktaki CNV'nin son derece önemli olduğunu önerebiliriz.

Anahtar kelimeler: Migren, İnflamasyon, Chrna7, CNV

IV. ABSTRACT

CHRNA7 GENE COPY NUMBER VARIATIONS (CNV), GENE EXPRESSION, AND MIGRAINE RISK

Mehmet Fatih ÖZALTUN, MD
Specialty Thesis in Medicine, Department of Neurology
Advisor: Assoc. Prof. Sırma Geyik, MD
June 2020, 65 pages

Migraine is a common headache disorder typically characterized by recurrent episodes of headache, impairment of function and loss of work productivity, and it needs to be treated. Although several theories have been proposed to date, neuroinflammation has been mostly implicated in the etiopathogenesis of migraine.

The CHRNA7 gene encodes alpha (α)-7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor. Previous studies have demonstrated that the gene product of CHRNA7 has anti-inflammatory properties. In the present study, we aimed to investigate the underlying genetic mechanism of CHRNA7 gene copy number variations (CNVs) and gene expression in migraine patients based on the subjective parameters and biomarkers to gain a better understanding of the relationship between the CHRNA7 gene and migraine. This study included a total of 102 patients with migraine and 120 healthy individuals at Gaziantep University, Faculty of Medicine, Neurology outpatient clinic. Blood samples were collected at the Medical Biology Laboratory, and CHRNA7 gene and CNV-expression association analyses were performed in lymphocytes.

The status of CNVs and the effect of the related gene on gene expression were examined along with clinical findings. Compared to healthy controls, there was a significant correlation between the decreased and increased CNVs and development of migraine in the patient group ($P < 0.05$). However, there was no statistically significant correlation between the level of CHRNA7 gene expression and CNVs, indicating that clinical parameters might affect the gene expression, although no direct effect on the CNVs was observed.

In conclusion, this study is valuable, as it provides a basis for migraine development and gains an insight into the genetic mechanism of migraine. Based on these findings, we can suggest that the CNV within the normal range is of utmost importance to develop treatment strategies to improve the quality of life and daily living activities of individuals with migraine.

Anahtar kelimeler: Migraine, inflammation, Chrna7, CNV

V. KISALTMALAR

HIS : International Headache Society

CNV : Kopya sayısı varyasyonu

CHRNA7 : Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7

$\alpha 7$ nAChR: Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7 Subunit

BOS : Beyin Omurilik Sıvısı

DNA : Deoksiribonükleik Asit

PET : Pozitron emisyon tomografisi

YLD : Küresel düzeyde engellilik

IASP: The International Association for the Study of Pain

IHS: Uluslararası Baş ağrısı Cemiyeti (International Headache Society)

FHM: Familial hemiplejik migrende

CSD: Kortikal yayılım gösteren depresyon

WHO: Dünya sağlık örgütü

MA: Auralı Migren

MO: Aurasız Migren

ADHD: Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu

VI. TABLO LİSTESİ

TABLO 1 ICHD-III BAŞ AĞRISI SINIFLAMASI 2018.....	13
TABLO 2 MİGREN SINIFLAMASI ICHD-III 2018.....	14
TABLO 3 YILLARA GÖRE MİGREN SINIFLAMASI	15
TABLO 4 MİGREN HASTA VE KONTROL GRUBUNDA CHRNA7 GENİ EKSPRESYON, MİNİMUM, MAKSİMUM VE P DEĞERLERİ.....	27
TABLO 5 MİGREN HASTA VE KONTROL GRUBUNDA CHRNA7 GENİ CNV SAYILARI VE P DEĞERLERİ.	29
TABLO 6 MİGREN HASTA VE KONTROL GRUBUNDA CHRNA7 GENİ EKSPRESYONU VE CNV SAYILARI ORTALAMA, MEDYAN VE P DEĞERLERİ.....	30
TABLO 7 . MİGREN HASTA KLİNİK DEĞİŞKENLERİNİN VE CHRNA7 GEN EKSPRESYON ÖLÇÜMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.	31
TABLO 8 MİGREN HASTALARINDA AĞRI SIKLIĞININ ÇOKLU DEĞERLENDİRİLMESİ.	34
TABLO 9 MİGREN HASTALARINDA AĞRI SIKLIĞININ ÇOKLU DEĞERLENDİRİLMESİ.	34
TABLO 10 KLİNİK DEĞİŞKENLER VE CHRNA7 GENİ CNV SAYILARININ ÖLÇÜMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	36

VII. ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL 1 TRİGEMİNAL AĞRI YOLAKLARI.....	6
ŞEKİL 2 KORTİKAL YAYILMA DEPRESYONU, TRİGEMİNAL SİSTEMİN AKTİVASYONU.....	11
ŞEKİL 3 KOPYA SAYISI DEĞİŞİMLERİ VE BİREYLER ARASINDAKİ FARKLILIKLAR.	18
ŞEKİL 4 MİGREN HASTA VE KONTROL GRUBUNDA CHRNA7 GENİ EKSPRESYON ÖLÇÜMLERİ. .	28
ŞEKİL 5 MİGREN HASTALARINDA AĞRI SIKLIĞI VE CHRNA7 GENİ EKSPRESYON ÖLÇÜMLERİ..	33
ŞEKİL 6 MİGREN HASTALARINDA AĞRI KESİCİ MİKTARI VE CHRNA7 GENİ EKSPRESYON ÖLÇÜMLERİ.....	33



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Migren, belirtileri genellikle şiddetli ve tekrarlanan baş ağrısı, mide bulantısı ve kusma olan bir rahatsızlıktır. Migren ağrıları genellikle 4-72 saat sürer ve bireyin iş yapabilirliğini olumsuz etkiler. (1) Stres, hava değişimi, menstruasyon, aşırı uyku veya yetersiz uyku en sık rastlanan tetikleyici nedenleridir. Belirtileri hastadan hastaya büyük oranda değişebilir. Migren tedavisinde çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçlar migreni tedavi etmez ancak atak sıklığını azaltabilir veya atağın daha kolay atlatılmasını sağlayabilir. Vakaların yaklaşık yarısında migren kalıtsaldır.

Migren, genellikle başın bir tarafında ve sıklıkla mide bulantısı, kusma (fotofobi) ve / veya fonofobinin eşlik ettiği şiddetli, zonklayan baş ağrısı saldırıları olarak kendini gösteren yaygın ve engelleyici bir durumdur. Nüfus temelli çalışmalar, migren baş ağrısının erkeklerin % 6-7'sini, kadınların% 15-18'ini, çocukların % 1 ile 1-23'ünü etkilediğini göstermektedir. Migren kronik bir hastalık olarak kabul edilir. Küresel düzeyde engellilik (YLD'ler) nedeniyle kaybedilen yaşamın 20. nedenidir ve toplam küresel YLD'lerin% 1,4'ünü oluşturur. Migren yükü kadınlarda (toplam küresel YLD'lerin% 2'sinde) daha yüksektir ve bu da kadınlarda 9. en önemli engellilik sebebidir ve doğrudan ve dolaylı sağlık hizmetlerinde yalnızca Avrupa'ya 27 milyar Avro, ABD'ye 24 milyar dolara mal olmaktadır. Migrenin kesin mekanizmaları ve patofizyolojisi hala bilinmese de, Wolf'un vasküler migren teorisi 1940'lardan bu yana hâkimdir. Kraniyal vaskülatürdeki vazokonstriksiyonun oligemiyi başlattığını ve bir aura oluşturacak kadar ciddi olabilecek beyin kan akışında bir düşüşe yol açtığını varsaydı. Vazokonstriksiyon sonrası intrakraniyal veya ekstrakraniyal kan damarlarındaki telafi edici vazodilatasyon, sırayla baş ağrısını tetikleyen perivasküler ödem ve iltihaplanma ile sonuçlanır. Bir başka hipotez, migren aurasının, trigeminovasküler afferentleri aktive eden ve baş ağrısı gelişimi ile uyumlu bir dizi kortikal meningeal ve beyin sapı olayını uyandıran yoğun bir nöronal aktivite dalgası olan kortikal yayılma depresyonundan kaynaklandığı ortaya çıkmıştır. Bu karmaşık beyin hastalığı, hormonlar ve stres dahil olmak üzere hem genetik hem de çevresel

faktörlerden güçlü bir şekilde etkilenir. Trombositlerdeki nitrozatif ve oksidatif stresin, özellikle migren atakları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Son on yıl boyunca, çok sayıda çalışma, vasküler, nörotransmitter ve hormonla ilişkili genler dahil migren duyarlılığında yer alan birçok aday genin belirlenmesiyle, bu hastalığın çok yönlü poligenik karakterini göstermiştir.

Kopya sayısı değişimi (CNV), genomun bölümlerinin tekrarlandığı ve genomdaki tekrar sayısının insan popülasyonundaki bireyler arasında değiştiği bir olgudur. Kopya sayısı değişimi, bir yapısal değişiklik türüdür: özellikle, önemli sayıda baz çiftini etkileyen bir çoğaltma veya silme olayı türüdür. Bununla birlikte, modern genom araştırmalarının çoğunlukla insan genomlarına odaklanmasına rağmen, E. Coli’de dahil olmak üzere diğer çeşitli organizmalarda kopya sayısı değişiklikleri meydana gelmektedir. Son araştırmalar, insan genomunun yaklaşık üçte ikisinin tekrarlardan oluştuğunu göstermektedir ve insan genomunun % 4.8-9.5’i kopya sayı varyasyonları olarak sınıflandırılabilir.

Kopya numarası değişimleri kısa tekrarlar ve uzun tekrarlar olarak iki gruba ayrılabilir. Bununla birlikte, iki grup arasında net bir sınır yoktur ve sınıflandırma ilgilenilen yerin niteliğine bağlıdır. Kısa tekrarlar, esas olarak bi-nükleotit tekrarlarını (örneğin iki A-C-A-C-A-C ... yinelenen nükleotit) ve tri-nükleotit tekrarlarını içerir. Uzun tekrarlar, tüm genlerin tekrarlarını içerir. Tekrarın büyüklüğüne dayanan bu sınıflandırma, en belirgin sınıflandırma türüdür; büyüklük, tekrarların ortaya çıkmasına neden olabilecek mekanizma türlerinin incelenmesinde ve bu tekrarların fenotip üzerindeki muhtemel etkilerinde önemli bir faktördür.

Kopya sayısı varyasyonları, Otizm, şizofreni ve entellüktüel yetersizliği (ID) içeren çoklu nöropsikiyatrik koşullarda etkilidir. (2) Kromozom 15q13 böyle CNV’ler için sıcak noktadır. Bu CNV’lerin pek çok çeşidi nöropsikiyatrik düzensizliğe sahip bireylerde aşırı bir biçimde temsil edilir. İnsan beynindeki $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptör için kodlanan kolinerjik resptör nikotinik alfa alt ünitesi alfa 7 (Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7 Subunit-CHRNA7) geninin dozaj duyarlılığı, bilişsel ve davranışsal fenotiplerin majör sorumlusudur. CHRNA7’nin 0-4 arası kopyasına sahip bireyler klinik olarak ciddiye sahiptir.

Kromozom 15q13 bölgesindeki kopya sayısı varyasyonları (Copy Number Variation-CNV), çeşitli nöropsikiyatrik hastalıklarda etkilidir. Kromozom 15'in proksimal kısmı genomun en az stabil bölgelerinden birisidir. Bu durum kromozomal mikrodelesyonlara ve duplikasyonlara sebep olur. Bu segmentin duplikasyonları otizm, öğrenme güçlüğü ve kasılma nöbetleri ile ilişkilidir. 15q13.3'deki CNV'ler açıkça eksik baskınlığı gösterir. CHRNA7 geni, hastalarda gözlenen nöropsikiyatrik fenotiplerde majör role sahiptir. Bu genin kodladığı $\alpha 7$ nikotinik asetilkolinin reseptörünün ($\alpha 7$ nAChR) aktivasyonu nöroinflamasyon cevabını azaltabilir. Nöroinflamasyon kronik migrenin patogenezinde hayati role sahiptir.

Kronik migrenli hastalar fonksiyonel yetersizlik gösterirler ve tedaviye cevapsız bir gruptur. Migrenin patofizyolojik mekanizmaları komplekstir ve henüz net olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar, proinflamatuvar sitokin düzeylerinin kronik migrende arttığını ve inflamatuvar genlerin transkripsiyonunun kronik migren hastalarında upregüle olduğunu göstermiştir. Bu bulgular kronik migrenin patogenezinin merkezinde yer alan inflamasyona ve özellikle nöroinflamasyona işaret etmektedir. İn vivo ve in vitro deneyler proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu hızlandıran astrosit ve mikroglianin aktivasyonunun payı olduğunu kanıtlamıştır. Mikrogliyal aktivasyon akut ağrı ile ilişkilidir. Ayrıca, hem mikroglia hem de astrositlerin yakın zamanda migren gibi kortikal yayılan depresyonla ilişkili hastalıklara katıldığı gösterilmiştir. $\alpha 7$ nAChR nöronal korunmaya katılır ve aktivasyonu nöroinflamasyonda antiinflamatuvar etki gösterir. Dolayısıyla aktive edilmiş $\alpha 7$ nAChR'nin glial aktivasyonun inhibisyonuna ve ayrıca kronik migren koşullarının düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. $\alpha 7$ nAChR, CHRNA7 geni tarafından kodlanır ve gen üzerindeki CNV düzensizlikler migrenle ilişkili olabilir. Bu reseptörler, nöronal gelişim, dikkat, hafıza ve öğrenme gibi süreçlerde kritik rol oynar. $\alpha 7$ nAChR, hipokampal katmanlarda baskındır. Fakat fare modellerinde beyin dokusu ve insan periferik kan lenfositlerinde $\alpha 7$ nAChR ekspresyonu ile ilgili yapılan histolojik çalışmalarda iki doku arasında benzerlik olduğu tespit edilmiştir. (3) CHRNA7 geninin eksprese ettiği bu reseptörün fonksiyonunu etkileyecek CNV değişimleri bir beyin hastalığı olan migrende periferik kan lenfositleri kullanılarak hastalık ile ilişkisi ortaya konulabilir.

Bu gözlemler göz önüne alındığında; CNV’lerdeki duplikasyonlar, silinmeler ya da 0-4 arası derecelendirme ile bulunacak tekrar sayılarının ciddiyeti, progresyonu, tanısı ve/veya tedavisinde terapötik bir hedef olabileceğini düşünmekteyiz.

Periferik kan, hastalıkların tanısında önemli bir biyolojik işarettir. Hastalığın genetik faktörlere bağlı kısmından sorumlu olabilecek CHRNA7 geninin ekspresyon düzeyinin ölçülmesi, CNV’lerin etkisi altında olduğunu gösterecektir. Migren’in progresyonu ve yetişkin nörogenezi üzerine etkilerini ortaya koyabilir ve hastalığın tespitinde veya progresyonundaki süreci ulaşılabilir bir dokudan belirleme imkanı sağlayabilir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Migren

2.1.1 Baş ağrısı ve Migren

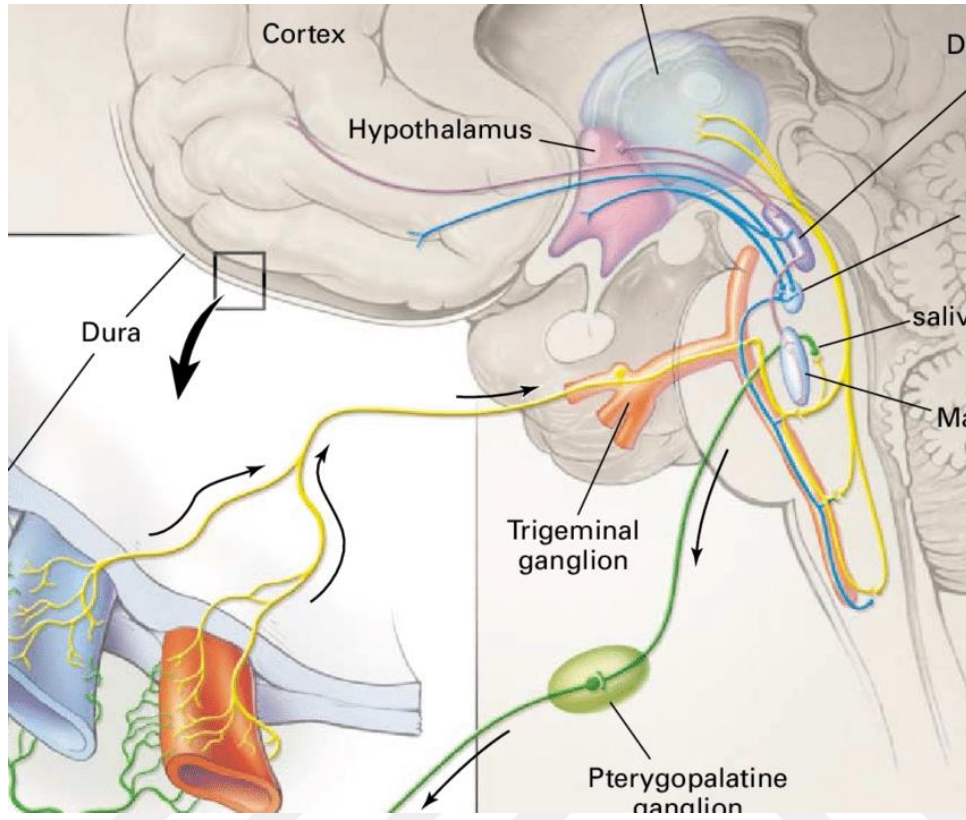
Ağrı, Uluslararası Ağrı Sınıflandırmaları Birliği (The International Association for the Study of Pain - IASP) tarafından; var olan veya olası doku hasarı ile birlikte ya da bu hasar ile ortaya çıkan duyuşsal ve emosyonel bir deneyimdir” şeklinde tanımlanmıştır. Bu ağrı tiplerinden biri olan baş ağrısı da dünyada en sık karşılaşılan ağrı tiplerinden birisidir. Bir insanın ömrü boyunca baş ağrısı yaşama oranı kadınlarda %95, erkeklerde %90’dır. (4)

Ağrı intrakranial yada ekstrakranial yapılardan kaynaklanabilir. Kranial yapıların hepsi ağrıya duyarlı değildir. Ağrıya duyarlı intrakranial yapılar; dural arterler, arterlerin Wills poligonuna yakın kısımları, dura materin bir kısmı, büyük venöz sinüsler, tentorium, 5, 9,10. kranial sinirler ve 1,2,3. servikal sinirlerdir. Ekstrakranial bölgede ise; baş, boyun ve yüzün çizgili kasları, nazal septum ve paranasal sinüslerin membranı, dişler, orbita ve gözler, baş ve yüzdeki arteriollerdir.

Ağrıya duyarlı olmayan yapılar ise beyin parankimi, dura mater ve pia materin bir kısmı, ventriküllerdeki ependimal kısımlar ve plexus corioideuslardır.

Tentorium cerebellinin üstünde kalan intrakranial yapıların, ekstrakranial yüz ve saçlı derinin ağrı duyusu genellikle trigeminal sinir aracılığıyla periorbital, temporal ve frontal bölgede hissedilir. İntrakranial infratentorial bölgenin ağrı duyusu ise 9.(nervus glossofaringeus) ve 10.(nervus vagus) aracılığı ile talamusa iletilir.(resim 1) (5) Talamustan beyne iletilen duyuşsal bildirimler de ağrı olarak anlaşılır.

Ağrı oluşumu, ağrıya duyarlı olan bölgelerin inflamasyon, kompresyon, traksiyon gibi irritative durumlardan etkilenme sonucunda gerçekleşir. (6)



Şekil 1 Migren Patofizyolojisi (7)

Baş ağrısı insanların yaşadığı en sık ağrı çeşitlerinden biridir. Uluslararası Baş ağrısı Cemiyeti (IHS) sınıflamasına göre baş ağrısı; primer baş ağrısı, sekonder baş ağrısı, kranial nöropatik ağrılar olmak üzere 3 gruba ayrılır. Migren çok sık karşılaşılan bir baş ağrısı türüdür ve primer baş ağrısı grubuna dahildir. Primer baş ağrısı altta yatan sebebin belli olmadığı baş ağrısı çeşididir. (8) Ailesel özelliği olan büyük ölçüde zonklayıcı ve tek taraflı olan bir baş ağrısıdır.

Ağrı genellikle şiddetli, tek taraflı ve zonklayıcı karakterdedir. Aura denilen nörolojik semptomlar eşlik edebilir. Migren ağrısı genellikle 4-72 saat kadar sürebilir. Şiddetli olan bu ağrı işlev kaybına yol açar. İlaçlar migreni tedavi etmez, sadece semptomatik tedavi sağlarlar.

Adölesan ve erken erişkin yaşlarda başlar. İleri yaşlarda sıklığı azalır. Migrenin %90'ından fazlasının başlangıç yaşı 30 yaşından öncedir. Genç kadınlarda sıklıkla baş ağrısı menstural dönemdedir.

2.1.2 Tarihçesi

Baş ağrısı binlerce yıldır insanların en çok karşılaştığı hastalıklardan biridir. İlk olarak milattan önce 7000 (M.Ö. 7000) yıllarına ait kafataslarında trepanasyon denilen bir yöntem ile insan kafataslarına ağrı gidermek için delikler açıldığına dair kanıtlar bulunmuştur. M.Ö. 1200 yıllarına ait Mısır uygarlığına ait Ebers Papirüsü Migren'den bahsetmiştir. M.Ö. 400 yıllarında Hipokrat migren ağrısını ve görsel aurayı tanımlamıştır. (9) Aretaeus tek taraflı baş ağrısı ve bulantıya yol açan ağrısız dönemleri de olan bir hastalığı M.S. 2. Yüzyılda tanımlamış, “heterocrania” terimini kullanmış ve migrenin kaşifi olarak görülmüştür. (10) Galen baş ağrısı çeşitlerinden bahsetmiş ve migreni ayrıntılı olarak anlatmıştır. İlk olarak yine Galen tarafından kullanılan heterocrania ile eş anlamlı olan “hemicrania” terimi zamanla yozlaşarak hemigranea ve son olarak fransızcadan köken alan “migraine” kelimesine dönüşmüştür. (11) 10. yüzyılda İbni Sina baş ağrılarının koku ses ışık gibi uyaranlarla tetiklenebileceğinden bahsetmiştir. 1600'lü yıllarda Thomas Willis tarafından beyne giden kan akımı miktarındaki ani artış, damarların genişlemesi ve çevre sinirlere bası yapması sonucu baş ağrısı olduğu hipotezi öne sürülmüştür. (12) Migrendeki görsel aura 18. Yüzyılda fortifikasyon spektrumu ile Fathergill tarafından tarif edilmiş ve 20. Yüzyılda ergotaminler migren ağrısı için kullanılmaya başlanmıştır. Yine 20. Yüzyılda migren patofizyolojisine dair hipotezler sunulmuştur. Wolff, Graham vasküler teoriden, Leao kortkal yayılma depresyonunu öne sürmüştür. (13) Birçok farklı baş ağrısı spektrumlarının tariflenmesi sonucu 1988'de Uluslararası Baş Ağrısı Cemiyeti (International Headache Society-IHS) tarafından klinik ve fizyopatolojik özelliklerine göre başağrısı sınıflaması yayınlanmış ve 2013'te düzenlemeler yapılmıştır. (14) Günümüzde baş ağrısı tanı ve tedavisinde kullanılmaktadır.

2.1.3 Epidemiyoloji

Ülkemizde yapılan geniş bir epidemiyoloji çalışmasında migren sıklığı %16.4 olarak saptanmıştır. (15) Migrenin yaşam boyu prevalansı kadınlarda %25, erkeklerde %8 olarak bulunmuştur. Bu hastaların %10 kadarı kronik migrenlidir. Kronik migren

20-50 yaşları arasında en sık görülür. (15) Baykan ve ark.'nın yaptığı 5 yıllık prospektif çalışma sonucunda Türkiye'de migren insidansının % 2.38 olduğu görülmüştür. (16)

Migren sıklığı yaşa ve cinsiyete göre değişkenlik göstermektedir. Migrenin en sık görüldüğü yaş aralığı 25-55 yaştır. (17) Yaş dağılımına göre 3-7 yaş içerisinde %3, 7-11 yaş içerisinde %4-11, buluş çağında ise %8-23'lük oranlar göstermektedir. (18)

Cinsiyet gözönünde bulundurulduğunda prepubertal dönemde migren sıklığı erkeklerde kadınlardan biraz daha fazladır. Puberte ile birlikte her yaşta kadınlarda erkeklere oranla daha fazla görülür. (19) Kadınlarda ergenlik döneminin başlamasıyla vücutta menstrasyon siklusuna bağlı olarak östrojen düzeyinde değişim ile migrenin tetiklendiği düşünülmektedir. (20) Erişkin yaşlarda, tüm ırksal ve etnik gruplardaki ve farklı bölgelerdeki çalışmalarda migren kadınlarda erkeklerden 2-3 kat daha sık görülmektedir. Kadın/Erkek migren prevalansı yaklaşık 2.8'dir, 40-45 yaşları arasında 3.3 şeklinde pik yapar ve menapoz döneminden sonra bu oran 2'e düşer .

Migrenin toplumlara göre de prevalansı değişmektedir. En sık olarak beyaz ırkta, ikinci olarak siyah ırk, en az asya ırkında görülmektedir. Amerikalılarda beyaz ırkta migren görülmesi %20,4 iken Afrika kökenlilerde %16,2 ve Asya kökenlilerde %9,2 olarak saptanmıştır. (21)

Sosyoekonomik açıdan değerlendirildiğinde ekonomik düzeyi yüksek olan insanlarda migren hastalığının görülme oranı daha az, ekonomik düzeyi düşük olan kişilerde ise migrenin görülme sıklığı daha fazladır. (22) Hem Amerika'da hem de ülkemizde yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar saptanmıştır.

Ailede migren geçmişinin olması gelecekte ve diğer aile üyelerinde migren görülme riskini 2-4 kez arttırdığı saptanmıştır. (23) Ailesel migren öyküsünün risk arttırması migrenin temelinde genetik faktörlerin olduğunun bir kanıtıdır.

2.1.4 Migrenin Genetiği

Kompleks genetik bir hastalık olarak kabul gören migren oluşumunda genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı düşünülmektedir. İlk kez 1870 yılında Tissot, migrenin ailesel kümelenme gösterebildiğine dikkat çekmiştir. (24) Tek yumurta ikizlerinin çift yumurta ikizlerine göre 2 kat daha fazla migren riskine sahip olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda aurasız migrenlilerin birinci kuşak akrabalarında riskin 1.9 , auralı migrenlilerde ise 4 kat arttığı gösterilmiştir. (25) (26)

Auralı ve Aurasız migrenin altta yatan genotipik faktörlerinin farklı olduğu düşünülmektedir ve henüz aurasız migren için net genotipik faktörler ortaya konulmuş değildir.

Otozomal dominant geçiş gösteren ve auralı migrenin de bir alt grubu olan Familial hemiplejik migrende (FHM) ise iyon kanalı pompaları ile ilişkili üç tip mutasyon (FHM1 :CACNA1A, FHM2:ATP1A2, FHM3: SCN1A) gösterilmiştir. 19. Kromozom bulunan CACNA1A geni nöronal P/Q tipi kalsiyum kanallarının $\alpha 1a$ alt ünitesini kodlayan gendir ve ailevi hemiplejik migrenli ailelerinin yarısında bulunan bu mutasyon sinaptik aralığa fazla glutamat salınımına neden olduğu gösterilmiştir (FHM1). Birinci kromozomda bulunan astrositlere ait Na/K ATPase $\alpha 2$ gen mutasyonu ise sinaptik aralıktan glutamat geri alımını dolaylı olarak azalttığı saptanmıştır (FHM2). Bu iki mutasyonun da ortak yanı; beyinde kortikal yayılım gösteren depresyon (CSD) oluşumunu kolaylaştırmaları ve eksitabilitiyi arttırmalarıdır. Buradan yola çıkarak migren fizyopatolojisinde diğer kanal ve reseptör patolojilerinin olabileceği düşünülmektedir. Bu gibi genetik lokusların saptanması migrende genetik faktörler üzerindeki araştırmaların artmasına neden olmuştur.

Migren patogenezi araştırılması sırasında nörotransmitter fonksiyon, vasküler ve hormonal fonksiyonlar üzerinde durulmuştur ve migrene yatkınlık yarattıkları belirlenmiştir. Nörotransmitter açısından araştırılan dopaminerjik ve serotoninerjik sistemde D2 ve D4 dopamin reseptör gen polimorfizmlerinin aurasız migrenle ilişkili olduğu saptanmıştır. (27) (28) Yine vasküler fonksiyon için önemli olan metilen tetrahidrofolat redüktaz'ın (MTHFR) 677 T ve 1298C mutasyonlarının migren için önemli olduğu gösterilmiştir. Migrende vasküler fonksiyon bozukluğu ile ilgili diğer saptanan genler anjiyotensin-1 converting enzim (ACE) geni D alleli ve endotelin tip A reseptör (ETA) geninin A allelidir. (29) (30)

Bayanlarda sık görülmesi üzerine hormonlar üzerine yapılan araştırmalarda Östrojen reseptör 1 G594A polimorfizminin de migrene yatkınlık yarattığı bildirilmiştir. (31)

Son yıllarda migrendeki genetik payını göstermek için katekol-O-metiltransferaz (COMT), dopamin, serotonin (5-HT), Tümör Nekroz Faktörü (TNF), Interlökin-6 (IL-6) ile ilgili çeşitli genetik araştırmalar yapılmıştır.

Serotonin transport gen 2.10 allelin varlığının migren sıklığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. (32)

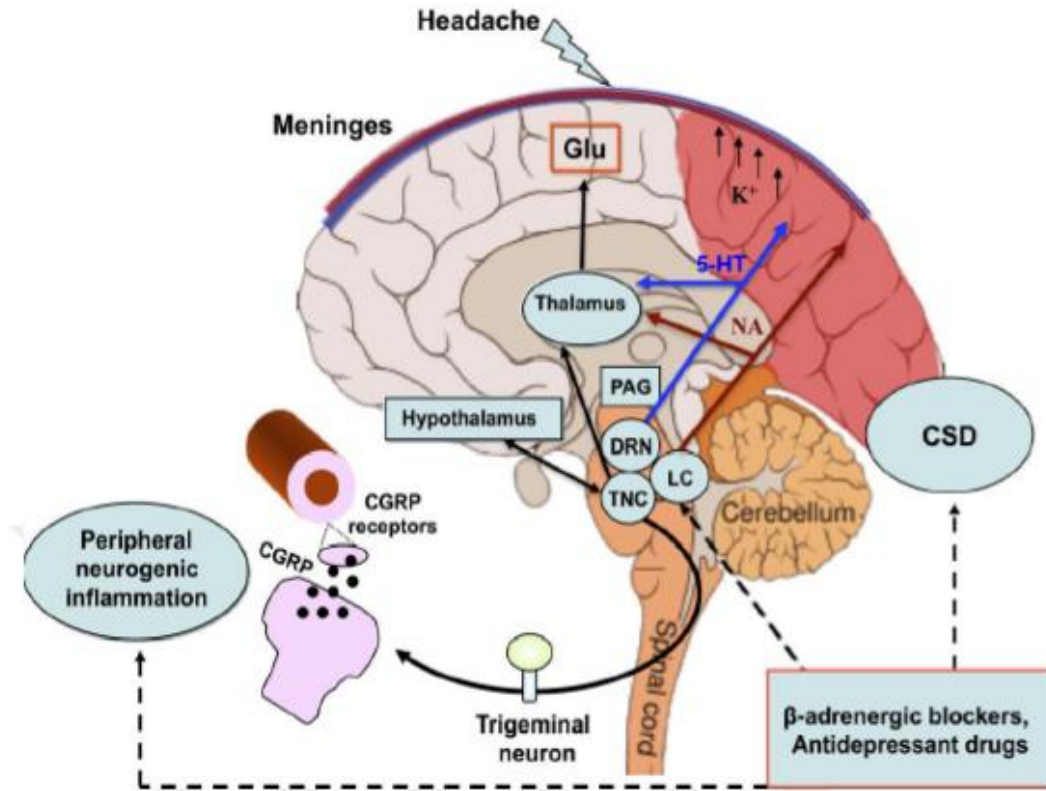
Borroni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, auralı migren için eNOS genindeki Glu298Asp polimorfizminin bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. (33)

İndüklenmiş nitrik oksit sentetaz (iNOS) geni, COMT genotipleri, apolipoprotein e (APOE) gen polimorfizmleri ve interlökin-6 (IL-6) gen polimorfizmleri ile migren arasında anlamlı ilişkiler bildirilmemiştir. (34) (35)

2.1.4 Migren Patofizyolojisi

Migrenin genetik, endojen ve ekzojen faktörler sonucu ortaya çıktığı aşıkardır. 1970'lere kadar kabul gören vasküler teori migren semptomlarının hiperemi ve iskemi sonucu ortaya çıktığını savunmuştur. Şu anda etkinliği en az olan kuvvetli vazokonstriktör ilaçların geliştirilmesine ışık tutmuştur. Bölgesel kan akımı çalışmalarında görme korteksinden başlayan ve 2-3mm/dk hızında öne doğru yayılan kortikal bir hipoperfüzyon olduğunu göstermiştir. Fakat bu hipoperfüzyon %25-30 düzeylerinde bulunmuştur ve iskemi denilebilecek kadar belirgin bir azalma değildir. Aynı zamanda bu hipopefüzyon yayılımı serebral arterlerin topografisinden bağımsız dalga benzeri bir yayılım göstermektedir. Aurasız migrende de akım anormallikleri görülmemiştir. Sadece vazokonstriksiyon ve vazodilatasyonun migrende temel neden olmadığı açıktır.

Patofizyolojik süreç aydınlatılabilmiş değildir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucu nörovasküler disfonksiyon, nörojenik inflamasyon ve kortikal yayımlı depresyon mekanizmalarının birlikte oluşturduğu, trigeminal sinir ağrı yollarının periferik ve santral bileşenlerinin rol oynadığı, kompleks patofizyolojiye sahip nörovasküler bir hastalık olarak tanımlanmıştır. (36) Ağrı periferik vasküler sinir terminallerinin duyarlılaşması ile ilişkili görülmektedir. Santral sinir sisteminin aktivasyonu olayın ilk basamağı olarak kabul edilir. Bu aktivasyon sonrasında komşu serebral bölgelerde kortikal olarak yayılan bir depresyon oluşur. Bu kortikal yayılan depresyon sonucunda kanda potasyum ve glutamat seviyeleri yükselir ve kalsiyum seviyesi düşer. (37) Migrende görülen çatallaşma spektrumu kenarları parlak olup yavaşça genişleyen bir skotom olup bu kortikal depresyon ile açıklanmıştır.



Şekil 2 Kortikal yayılma depresyonu, Trigeminal sistemin aktivasyonu (Costa et al. 2013)

Bu değişimin pial damarlara komşu olan trigeminovasküler sistemi aktive edebileceği öne sürölmektedir. (38) Bu aktivasyon trigeminal sinir hücreleri tarafından vazodilatasyon ve nörojenik inflamasyonu uyarır. Genişleyen kan damarlarının sinir sonlanmaları uyarması sonrasında CGRP, Nörokinin A, P maddesi gibi maddeler kana salınarak inflamasyonu başlatır. Günümüzde bu maddelerin salınmasını hedef alan ilaç çalışmalarıda yürütölmektedir. Nöropeptit salınımı sonrasında başlayan inflamasyonla uyarılan trigeminal periferik duyu nöronları ağrıyı beyin sapına iletir. Yine trigeminal nörolar ile nükleus traktus solitariusa iletilen uyarıların bulantı ve kusma ile ilişkili olduğu söylenmektedir. Tekrar eden ağrı, enflamasyon ve santral trigeminal nöronların duyarlılaşması, rostral beyin sapında yer alan periaquaduktal bölgede bulunan glial hücrelerin duyarlılaşmasına neden olur. (39) Bu bölge inen ağrı yolaklarının bulunduğu bölgedir. Zamanla bu yapılar duyarlı hale gelir ve periferden bir uyarı gelmese dahi kendi kendine aktive olabilmektedirler. (40) Bu da santral sinir sistemine kan-beyin bariyerini aşıp giremeyen triptanların bu aşamada neden etkisiz kaldıklarını açıklamaktadır.

Üst beyin sapında bulunan dorsal rafe nükleuslarına elektriksel uyarı yapılması migren benzeri baş ağrıları oluşturabilir. Pons ve orta beyin yapılarında migren atağı sırasında artmış kan akımı saptanmıştır. Bu artmış kan akımının sebebi muhtemelen dorsal rafe nükleusları ve lokus seruleustaki artmış hücre aktivitesinden kaynaklanır. Bu hücrelerden serebral kan damarlarına uzanan ve kan akımını değiştiren projeksiyonlar bulunmaktadır. Bu da migrendeki vasküler değişimler için nöral substratların etkili olabileceğini göstermektedir. Dorsal rafe nükleusları derin uyku sırasında aktive olmazlar bu yüzden de migrene uykunun iyi gelmesi bunu desteklemektedir.

Bir dönem seratonin reseptörleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. 5HT reseptörlerinin periferik etkilerini antagonize eden metiserjid isimli ilaç piyasaya çıkmıştır fakat daha sonra yapılan çalışmalar ile seratonin düzeyi ile migren arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Triptanların ortaya çıkması ve seratonin reseptörleri üzerine etki göstermesi ile ilgi yeniden artmıştır. 14 farklı seratonin reseptörü olmasına karşın günümüzde sadece 5HT1B'nin etkili olduğu fikri benimsenmiştir.

Migren atağı sırasında yapılan bir çalışmada PET ile beyin sapı kan akımının artmış olduğu görölmüş ve yapılan sumatriptan enjeksiyonu ile bu kan akımının değişmediği gözlenmiştir. Bazı antimigren ilaçların migren seyrini değiştiremediğini göstermiştir.

Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda inflamasyonu tetikleyen endotelin, nörokinin, selektif 5HT1D antagonistlerinin inflamatuvar süreci durdurmadığı gösterilmiştir.

2.1.5 Migren Sınıflandırması ve Tanı kriterleri

2.1.5.1 Migren Sınıflaması

Dünya sağlık örgütü'nün (WHO) ICD-11 ile tanımladığı baş ağrısı grubu, Dünya Baş ağrısı Cemiyeti (IHS) tarafından 2013'te yayınlanan ICHD-3 beta yayının ardından 2018 yılında ICDH-3 olarak son güncelleme ile tanımlanmış ve yayınlanmıştır. Burada baş ağrıları genel olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bunlar; primer baş ağrıları, sekonder baş ağrıları, ağrılı kranyal nöropatiler, diğer yüz ve baş ağrılarıdır.

Tablo 1 ICHD-III Baş ağrısı sınıflaması 2018

ICHD-III
<i>Primary headaches</i> 1. Migraine 2. Tension-type headache 3. Trigeminal autonomic cephalalgias 4. Other primary headache disorders <i>Secondary headaches</i> 5. Headache attributed to trauma or injury to the head and/or neck 6. Headache attributed to cranial or cervical vascular disorder 7. Headache attributed to non-vascular intracranial disorder 8. Headache attributed to a substance or its withdrawal 9. Headache attributed to infection 10. Headache attributed to disorder of homeostasis 11. Headache or facial pain attributed to disorder of the cranium, neck, eyes, ears, nose, sinuses, teeth, mouth, or other facial or cervical structures 12. Headache attributed to psychiatric disorder <i>Painful cranial neuropathies, other facial pains and other headaches</i> 13. Painful cranial neuropathies and other facial pains 14. Other headache disorders

Migren grubu ise kendi içerisinde aşağıdaki tabloda gösterilen şekilde sınıflanmıştır.

Tablo 2 Migren Sınıflaması ICHD-III 2018

Classification	
ICHD-3 code	Diagnosis
1.	Migraine
1.1	Migraine without aura
1.2	Migraine with aura
1.2.1	Migraine with typical aura
1.2.1.1	Typical aura with headache
1.2.1.2	Typical aura without headache
1.2.2	Migraine with brainstem aura
1.2.3	Hemiplegic migraine
1.2.3.1	Familial hemiplegic migraine (FHM)
1.2.3.1.1	Familial hemiplegic migraine type 1 (FHM1)
1.2.3.1.2	Familial hemiplegic migraine type 2 (FHM2)
1.2.3.1.3	Familial hemiplegic migraine type 3 (FHM3)
1.2.3.1.4	Familial hemiplegic migraine, other loci
1.2.3.2	Sporadic hemiplegic migraine (SHM)
1.2.4	Retinal migraine
1.3	Chronic migraine
1.4	Complications of migraine
1.4.1	Status migrainosus
1.4.2	Persistent aura without infarction
1.4.3	Migrainous infarction
1.4.4	Migraine aura-triggered seizure
1.5	Probable migraine
1.5.1	Probable migraine without aura
1.5.2	Probable migraine with aura
1.6	Episodic syndromes that may be associated with migraine
1.6.1	Recurrent gastrointestinal disturbance
1.6.1.1	Cyclical vomiting syndrome
1.6.1.2	Abdominal migraine
1.6.2	Benign paroxysmal vertigo
1.6.3	Benign paroxysmal torticollis

Migrenin daha önceki yıllardaki sınıflaması ile günümüz sınıflaması aşağıdaki tabloda paylaşılmıştır. Görülmektedir ki Migren henüz tam tanımlanamamış ve üzerinde halen birçok çalışma gerçekleştirilen bir hastalıktır. Gün geçtikçe farklı tipler tanımlanmakta ve altta yatan etyoloji hipotezleri yetersiz kalmakta ve yeni görüşler doğmaktadır. Ailesel tanımlanan migren çeşitleride zeminde genetik değişkenlerin rol aldığını göstermektedir. Halen etkin genetik faktörler tam aydınlatılabilmiş değildir.

Tablo 3 Yıllara Göre Migren Sınıflaması

1. MİGREN.		
ICHD-I (1988)	ICHD-II (2004)	ICHD-3 (2018)
1.1 Aurasız Migren	1.1 Aurasız Migren	1.1 Aurasız Migren
1.2 Auralı Migren	1.2 Auralı Migren	1.2 Auralı Migren
1.3 Oftalmoplejik Migren	1.3 Çocukluk çağıının periyodik sendromları	1.2.1 Tipik auralı migren
1.4 Retinal Migren	1.4 Retinal Migren	1.2.1.1 Baş ağrılı tipik auralı migren
1.5 Çocukluk çağıının periyodik sendromları	1.5 Migren komplikasyonları	1.2.1.2 Baş ağrısız tipik auralı migren
1.6 Migren komplikasyonları	1.6 Olası Migren (yeni eklenmiştir)	1.2.2 Beyinsıgı auralı migren
1.7 Migrenöz bozukluklar (yeni sınıflamada ekler bölümüne alınmıştır)	13.17 Oftalmoplejik Migren (nevrалjiler bölümüne kaydırılmıştır)	1.2.3 Hemiplejik migren
		1.2.3.1 Ailevi hemiplejik migren (FHM)
		1.2.3.1.1 Ailevi hemiplejik migren tip-1 (FHM1)
		1.2.3.1.2 Ailevi hemiplejik migren tip-2
		1.2.3.1.3 Ailevi hemiplejik migren tip-3
		1.2.3.1.4 Diğer odakteki ailevi hemiplejik migren
		1.2.3.2 Sporadik hemiplejik migren
		1.2.4 Retinal migren
		1.3 Kronik migren
		1.4 Migren komplikasyonları
		1.4.1 Migren statusu
		1.4.2 İnfarktsız ısranlı migren aurası
		1.4.3 Migrenöz infarkt
		1.4.4 Nöbeti tetikleyen migren aurası
		1.5 Olası migren
		1.5.1 Olası aurasız migren
		1.5.2 Olası auralı migren
		1.6 Migren ile ilişkili olabilen epizodik sendromlar
		1.6.1 Tekrarlayıcı gastrointestinal bozukluk
		1.6.1.1 Sıklık kusma sendromu
		1.6.1.2 Abdominal migren
		1.6.2 Benign paroxysmal vertigo
		1.6.3 Benign paroxysmal torticollis

Tablolarda görüldüğü üzere çok sayıda migren alt grubu tanımlanmaktadır. Bu kısımda en sık görülen Auralı Migren, Aurasız Migren, Kronik Migren tanı kriterlerine yer verilecektir.

2.1.5.2 Aurasız Migren

En sık görülen migren çeşidi olmakla birlikte IHS'nin üzerinde en çok uzlaşılan tanımlamadır. (41) En hafif migren formlarından biridir. Bu grupta tekrarlayan baş ağrılarından önce fokal nörolojik bozulma yoktur. Uluslararası Başağrısı topluluğuna göre 2018 tanı kriterleri ve klinik özellikler şu şekildedir;

- A. B–D ölçütlerini karşılayan en az 5 atak
 - B. Tedavi edilmeksizin 4-72 saat sürmesi
 - C. Bu dört özellikten en az 2'sinin eşlik etmesi
- 1.Unilateral lokalizasyon

2. Zonklayıcı özellik
3. Orta veya ağır şiddette ağrı
4. Yürümek, merdiven çıkmak gibi rutin fiziksel aktiviteler ile ağrının alevlenmesi

D. Ağrıyla birlikte aşağıdaki özelliklerden en az birinin olması

1. Bulantı ve/veya kusma
2. Fotofobi ve/veya fonofobi

E. Tüm bu belirtilerin başka bir ICHD-3 tanısını desteklemiyor olması

2.1.5.3 Auralı Migren

Daha önceleri Klasik Migren, Oftalmik, Hemiparestetik, Hemiplejik yada Afazik Migren şeklinde de tanımlanan migren grubu %10 sıklıkta görülmektedir. Tekrarlayan ataklarla seyreden, dakikalar süren , tek taraflı, tamamen geri dönebilen, sensöriyel, vizüel yada diğer santral sinir sistemi semptomları gösterebilen bir aura sonrasında aurasız migren baş ağrısı ile devam eder. Aura genellikle 5- 60 dk sürer. %60 kadar bir oranda vizüel semptomlar görülür ve oksipital lob nöronlarının işlev bozukluğundan kaynaklanır. Küçük bir parasantral skotom şeklinde başlayıp C şeklinde genişler. Genişleyen dış kenarda parlak açılar oluşur ve skotom periferik doğru ilerleyerek renkli hale gelir ve periferik görme alanı üzerinden kaybolur. Duyusal semptomlar ikinci sıklıkta görülür ve genellikle hemihipoestezi şeklindedir. (42) Fokal nörolojik belirtiler prodromal dönemden çok baş ağrısı sırasında görülür.

Tanı kriterleri;

- A. B–C ölçütlerini karşılayan en az 2 atak
- B. Takip eden tamamen reversibl aura semptomlarından bir veya daha fazlasının olması
 1. Görsel
 2. Duyusal
 3. Konuşma ve/veya lisan
 4. Motor
 5. Beyinsapı
 6. Retinal
- C. Takip eden 4 özellikten en az 2'sinin eşlik etmesi
 1. En az bir aura semptomunun aşamalı olarak 5 dakika içinde ortaya çıkması veya süreç içinde 2 veya daha fazla semptom gelişmesi

2. Her bir aura semptomunun 5–60 dakika içinde sonlanması
 3. En az 1 aura semptomunun unilateral olması
 4. Aura sürecinde veya takipeden 60 dk içinde migren özelliğinde baş ağrısının başlaması
- D. Tüm bu belirtilerin başka bir ICHD-3 tanısını desteklemiyor olması

Kronik Migren

Türkiyede yapılan bir çalışmada kronik migren prevalansı %1.4-2, insidansı %0.066 olarak belirlenmiştir. (43) Bigal ve arkadaşlarının 8.219 kişiyi içeren geniş çaplı bir epizodik migren çalışmasında 1 yıl içerisinde hastaların %2.5'unun kronik migrene ilerlediği görülmüştür. (44) Yine Scher ve arkadaşları tarafından kronik migren başlangıcında olası risk faktörlerini belirlemek için tasarlanmış bir çalışmada 1 yıl boyunca epizodik migrene sahip kişilerin %3'ünde kronik migrene dönüştüğü saptanmıştır. (45)

Tanı kriterleri;

A. Migren veya GTB özelliğinde baş ağrısının 3 ay süreyle ayda ≥ 15 gün sürmesi

B ve C kriterlerinin karşılanması

B. Hastanın 1.1 *Aurasız Migren* için B-D kriterlerini en az 5 atakta karşılamış olması ve/veya 1.2 *Auralı Migren* B-C kriterlerini en az 2 atakta karşılamış olması

C. 3 ay süreyle ayda en az 8 gün için aşağıdakilerden en az birinin karşılanmış olması;

1. 1.1 Aurasız Migren için C-D kriterleri

2. 1.2 *Auralı Migren* B-C kriterleri

3. Triptan veya ergo cevabı nedeniyle hastanın migren başlangıcı olduğuna inanılması

D. Tüm bu belirtilerin başka bir ICHD-3 tanısını desteklemiyor olması

2.2 CHRNA7 Geni

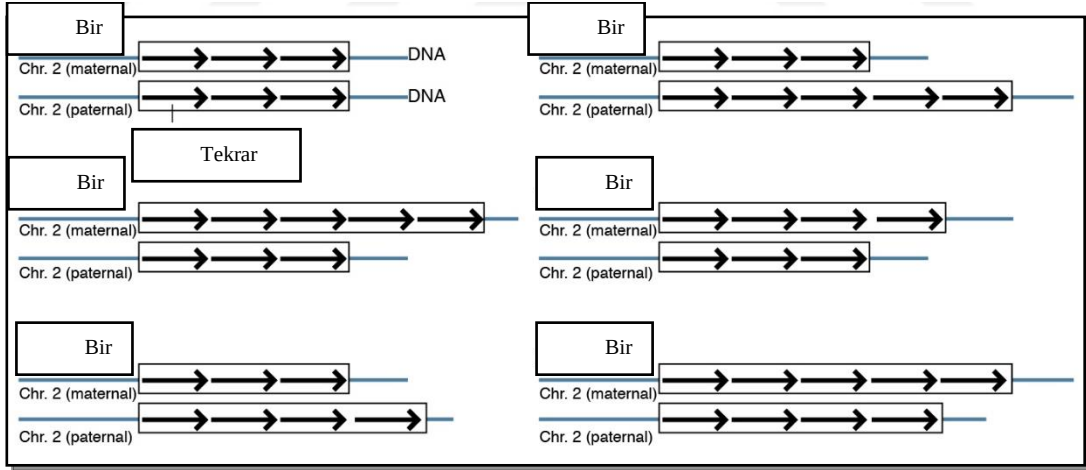
2.2.1 Kopya Sayısı Varyasyonları (Copy Number Variation-CNV)

Bir bireyin genomunda bulunan spesifik bir genin kopya sayısını içeren genetik özelliği ifade eder. DNA segmentlerinin eklenmesi, silinmesi ve çoğaltılması da dahil olmak üzere genetik varyantlara topluca CNV denir. CNV'ler bireyler arasındaki

genetik varyasyonun önemli bir kısmını oluşturur. İnsan Genom Projesinin tamamlanmasından sonra genomun genetik materyal kazanımları ve kayıpları yaşadığı tespit edildi.

Kopya sayılarının hastalıklara katkısının ne ölçüde olduğu net olarak bilinmemektedir. Ancak bazı kanserlerin belirli genlerin yüksek kopya sayıları ile ilişkili olduğu uzun zamandır bilinmektedir. “Kopya numarası değişkeni” de denir. CNV’ler bireyler arasında farklılık gösterir. Kopya sayısı varyasyonu, bazı bireylerde üç hatta dört kat bir DNA dizisine sahip olduğumuz bir yapısal varyasyon türüdür. Yerleşmiş oldukları kromozomal bölgeye baktığımızda, normal insanlardaki kopya sayısında bir değişiklik gözlemleriz. Bazen bu kopya sayısı varyantlarının genleri, bazen birkaç geni de içerebilir, kişinin normal gen yerine dört genin olduğunu ve başka birinin üç ve başka birinin beşine sahip olduğu anlamına gelebilir (Şekil-3). Bazı durumlarda bu genler doza duyarlı fonksiyonlarda yer alıyorsa (46) ve dokuya spesifik (47) olduklarında hastalık riski oluşması veya direkt hastalıkla ilişkili olması gibi bir sonuç görebiliriz.

Şekil 3 Kopya sayısı değişimleri ve bireyler arasındaki farklılıklar.



CNV’lerin oluşumu ile ilgili kesin kanıtlar olmamakla birlikte homolog ve non-homolog temelli 2 mekanizma önerilmektedir (48). Kopya sayısı varyasyonlarına ek olarak delesyon ve inversiyonlara neden olan bir mekanizma, alelik olmayan homolog rekombinasyondur (49). Bu rekombinasyon mayozda meydana gelir, homolog kromozomlar eşleşir ve Holliday bağlantılarına (dört DNA ipliği arasında oluşan

hareketli bir bağlantı) yol açan iki uçlu çift sarmallı kopmalar oluşur. Bu mekanizma yolunda gitmediğinde Holliday kavşaklarının oluşumu sırasında, çift sarmallı kopmalar yanlış hizalanır ve çapraz geçiş aynı kromozom üzerinde alelik olmayan pozisyonlara iner. Kavşaklar açıldığında, eşit olmayan çaprazlama, iki homolog kromozom arasında genetik materyalin transferine izin verir ve sonuç olarak, DNA'nın her iki homolog üzerindeki bir kısmı tekrarlanır (49). Tekrarlanan bölgeler artık bağımsız olarak ayrılmadığından, kromozomun kopyalanan bölgesi miras kalır. Kopya sayısı varyasyonuna yol açabilen ve homolog rekombinasyona bağlı olarak gerçekleşen mekanizma, kopmaya bağlı replikasyon olarak bilinir (50). Genomda beklenmedik bir şekilde meydana gelen çift sarmallı kopmalarda, hücre kopmanın onarımına aracılık eden mekanizmaları aktive eder. Allelik olmayan homolog rekombinasyona benzer olarak kopmaların onarımı sırasındaki hatalar, genomun belirli bir bölgesinin kopya sayısında artışa neden olabilir. Çift sarmallı bir kırılmanın onarımı sırasında, kırık uç orijinal sarmala yeniden katılmak yerine homolog kromozomunu istila edebilir (50). Belirli bir bölgenin fazladan bir kopyasının başka bir kromozoma aktarılması bir çoğaltma olayına yol açar. Ayrıca, hücre bölünmesi sırasında kardeş kromatidlerin ayrılmasını düzenleyen kohezin proteinleri, kromatidleri kenetleyerek çift uçlu kopmalarla onarım sistemine yardımcı olur ve uçların kromozom istilasına uğramasını önler. Ribozomal RNA'nın aktivasyonu gibi herhangi bir nedenle kohezin aktivitesi etkilenirse, çift sarmallı onarım hatalarında lokal bir artış olabilir (51). CNV'e neden olan diğer olası mekanizma non-homolog temellidir ve non-homolog uç birleştirme (non-homologous end joining) adını alır (52). DNA zincirleri onarıldığında çoğu zaman onarılan zincirde delesyonlar veya eklenmeler meydana gelebilir.

CNV'lerin hastalıkta ve sağlıkta çeşitliliğinin ortaya konulmasında iki genel yöntem kullanılmaktadır. Birinci teknik hibridizasyon temelli eşleştirme; bir bireye ait örnekte dublike veya delesyona uğrayan herhangi bir bölgenin, referans genoma göre o bölgeye benzer DNA duplikasyonu veya delesyonuna sahip olması gerçeğini kullanır. Sonuç olarak bu yöntem nispi DNA içeriğindeki bu farklılıkları tespit etmeyi amaçlamaktadır. İkinci teknik ikili uç eşlenmesi; doğrudan kopyaları ve delesyonları algılamaz, bunun yerine bir örnekten alınan genin referans genoma göre boyutundaki uzunluk farklılıklarını algılar. Çok büyük görünen parçalar duplikasyon veya insersiyon içermelidir, çok küçük parçalar ise delesyon içermelidir. CNV'leri doğrulamak için

kantitatif PCR ve floresan in situ hibridizasyon gibi yöntemler kullanılabilir (53). Göreceli olarak DNA içeriğinin karşılaştırılmasına odaklanan yöntem (hibridizasyon temelli eşlenme) mikro dizilemeye (microarray) dayanmaktadır. Bu yöntem, örnek bir bireyin floresan olarak etiketlenmiş DNA'sının, genomun farklı bölgelerinden tasarlanan bir diziye hibridleşmesine izin vererek kopya sayısı farklarını saptar (53).

2.2.2 CHRNA7 Geni

CHRNA7, nikotinik asetilkolin reseptörlerinin (nAChR'ler) alfa 7 alt birimini kodlar. Nikotinik asetilkolin reseptörleri, ligand kapılı iyon kanalları ailesini temsil eder ve sisloop reseptörü süper ailesinin üyeleridir (54). Bu iyon kanalları beyinde yüksek ekspresyona sahip olmakla birlikte CHRNA7 ekspresyonu hipokampusta en yüksek seviyededir (55). Hem presinaptik hem de postsinaptik olarak yer alan alfa 7 nAChR'ler sinapslarda sinyal iletimine aracılık etmesinin yanında, hem inhibitör hem de uyarıcı nörotransmitter salınımının düzenlenmesinde önemlidir (56). CHRNA7 geninin kromozomal yerleşimi 15q13.3'dür. 15q13.3 mikro duplikasyonu, 46 kromozomdan (kromozom 15) birinin küçük bir ekstra parçasının bulunduğu çok nadir bir genetik durumdur. Ekstra parça, kromozom 15 üzerinde q13.3 olarak bilinen bölgeden gelir. Ekstra kromozom parçası çok küçüktür ve bu nedenle mikro duplikasyon olarak adlandırılır. 15q13.3 mikro duplikasyonları hakkında bilinenlerin çoğu, genetik test için sevk edilen bireylerin incelenmesinden elde edilmiştir. Bunun nedeni gelişimsel gecikme, olağandışı davranış veya bir sağlık sorunu olabilir; bazen de 15q13.3 mikro duplikasyon ailenin başka bir üyesinde tespit edilmiştir (57). Baz çiftleri, DNA'daki merdiven benzeri yapısının "basamaklarının" sonunu oluşturan kimyasallardır. Kromozom 15'in diyagramında, kromozom bantları, uzun kolun kısa kolla bulunduğu noktadan dışarı doğru numaralandırılır. Bir kromozomun bir segmentinin fazladan bir kopyası mevcut olduğunda bir çoğaltma meydana gelir. 15q13.3 replikasyonu olan bireylerde, kromozom 15'in uzun kolu (q) içinde küçük bir miktar tekrarlanır. 15q13.3 bandının bir kopyası olan insanlar tipik olarak yaklaşık 1.5 milyon baz çiftine (Mb) kopyalanır (58). Genle ilgili medikal sonuçlara baktığımızda ilk olarak karşımıza nadir bir kromozomal düzensizlik olan mikroduplikasyon sendromu çıkar. Bu duplikasyona sahip bazı bireyler herhangi bir medikal ve davranışsal probleme sahip değilken diğer bazı bireylerde gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik, iletişim güçlükleri, davranışsal ve psikiyatrik problemler (otistik özellikler, duygusal yetersizlik, dikkat eksikliği

hiperaktivite, şizofreni gibi), beslenme problemleri, insomnia, hipotoni ve nöbetler izlenebilir (59). CHRNA7 genindeki kopya sayısı ile klinik ciddiyet arasındaki ilişki değerlendirildiğinde 0-4 arası derecelendirmeye göre 0; homozigot delesyonu, 1; heterozigot delesyonu, 2; normal, 3; heterozigot duplikasyonu, 4; triplikasyon veya homozigot duplikasyonu ifade etmektedir. CHRNA7'i kapsayan CNV'ler nöropsikiyatrik hastalıklarda etkilidir. CHRNA7'nin dozaj duyarlılığı kopya sayısının kaybedilmesi ile birlikte penetrant ve klinik olarak daha ciddi sonuçlar doğurmaktadır (57).

Gen ekspresyon özellikleri, insan fenotipik varyasyonunun karmaşıklığı ve çeşitliliği için bir destek görevi görür ve bu nedenle, CNV'lerin gen düzenlemesindeki varyasyon üzerine etkisinin kapsamlı bir araştırması, karmaşık özelliklerin genetik temelini anlamamız için derin sonuçlar doğurabilir (60). İnsan populasyonlarındaki fenotipik varyasyonun genetik temelini anlamak, günümüzde insan genetiğinin ana hedeflerinden biridir. Artan kopya sayısının pozitif ekspresyonla (61) (62) veya negatif (63) gen ekspresyon seviyeleriyle (örneğin, transkripsiyonel bir represörün delesyonu) gen ekspresyonunu artırmaya yardım edeceğine dair kanıtlar sunulmuştur, ancak bu tür büyük genetik varyantların nispi katkısı (yani CNV'ler) ve fenotipik varyasyona göre daha küçük varyantlar (yani SNP'ler) değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada, migren hastalarında 15q13.3 lokasyonundaki CHRNA7 genindeki CNV'lerin genin ekspresyonu ile ilişkisini tespit edilmesi, hastalığın genetik-klinik aksisindeki bağlantısı ve hastalığın tedavisindeki yeni hedef olma potansiyeli araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kontrol-Hasta Gruplarının Oluşturulması

Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF.UT.19.28 nolu proje olarak desteklenen araştırmamız için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı. Hasta grubu Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Ana Bilim Dalı'na başvuran ve takibi yapılan, ICHD-3 tanı kriterlerine göre Migren tanısı alan bireylerden oluşturuldu. Sağlıklı kontrol grubu ise yine aynı kliniğe başvuran ailesinde Migren dâhil herhangi bir nöropsikiyatrik hastalık tanısı almamış bireylerin seçilmesiyle oluşturuldu. Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireylerden çalışmaya dâhil olmayı kabul ettiklerine dair etik kurulda belirtilen yönergelerle uygun bir biçimde hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formu alındı. Bu çalışmaya, hasta grubu olarak Migren hastası 102 bireyden, kontrol grubu olarak 120 sağlıklı bireyden olmak üzere toplam 222 birey dahil edildi. Her bireyden rutin kan tüpleri olan K3 EDTA içeren tüplere kan örnekleri alındı. Tam kandan DNA ve RNA elde edildi. Hasta ve kontrol örneklerine ait moleküler analizler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışmaya toplam 161 kadın, 61 erkek katıldı. Katılanların yaş aralığı 19 ile 60 arasındaydı.

Periferik Kandan RNA ve DNA Elde Edilmesi

Periferik kandan RNA eldesi için modifiye Trizol yöntemi (64), DNA eldesi için ise DNA izolasyon kiti kullanıldı (65). Kontrol ve hasta gruplarına ait kan örnekleri, RNA ve DNA elde edilene kadar -20 °C'de saklandı. Örnekler oda ısısına getirildikten sonra RNA ve DNA eldesi için 500'er µl kullanıldı.

RNA İzolasyonu

- 1- 1.5 ml'lik eppendorf mikro santrifüj tüpüne 500 µl tüm kan örneği konuldu. Kan örneği başına trizol (TRI®Reagent T9424 SIGMA) eklenerek vortekslendi.

- 2- Oda ısısında 5 dak. Bekletildi.
- 3- Trizolün 1 ml'si başına 0,2 ml chloroform eklendi ve 15 saniye vortekslendi.
- 4- 13,000 rpm'de 10 dak +4°C'de santrifüjlendi.
- 5- Üstte oluşan sıvı faz başka bir tüpe alındı.
- 6- Sıvı fazın üzerine 1 ml trizol başına 0,5 ml isopropanol eklendi.
- 7- Oda ısısında 10 dak bekletildi.
- 8- 13,000 rpm'de 10 dak +4°C'de santrifüjlendi.
- 9- Süpernatant atıldı ve pelet 1 ml trizol başına 1 ml %75 EtOH ile yıkandı ve vortekslendi.
- 10- 13,000 rpm'de 10 dak +4°C'de santrifüjlendi.
- 11- Süpernatant atıldıktan sonra pelet 5-10 dakika oda ısısında kurutuldu ve distile su içinde çözüldü. Kullanıma kadar -20°C'de saklandı.

DNA izolasyonu

- 1- Steril bir mikrosantrifüj tüpüne 500 µL kan örneği eklendi.
- 2- Numuneye 20 µL Proteinaz K (kit ile birlikte verildi) eklendi.
- 3- Numuneye 20 µL RNaz A (kitle birlikte verildi) eklendi, kısa süre iyice karıştırıldı, vortekslendi ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
- 4- 200 µL PureLink® Genomik Liziz / Bağlama Tamponu eklendi ve homojen bir çözelti elde etmek için vortekslendi.
- 5- Protein lizisini desteklemek için 55 ° C'de 10 dakika inkübe edildi.
- 6- Lizata 200 µL %96'lık etanol eklendi. Homojen bir çözelti elde etmek için 5 saniye vortekslenerek iyice karıştırıldı.
- 7- 2. PureLink® Genomik Liziz / Bağlama Tamponu ve etanol ile hazırlanan lizat (~ 640 µL) PureLink® Spin Kolonuna eklendi.
- 8- Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10,000 × g'de santrifüjlendi.
- 9- Toplama tüpü atıldı ve döndürme kolonu kitle birlikte verilen temiz bir PureLink® Koleksiyon Tüpüne yerleştirildi.
- 10- Kolona etanol ile hazırlanan 500 µl Yıkama Tamponu 1'den eklendi.
- 11- Kolon 1 dakika boyunca oda sıcaklığında 10,000 × g'de santrifüjlendi.
- 12- Toplama tüpü atıldı ve döndürme kolonu kitle birlikte verilen temiz bir PureLink® toplama tüpüne yerleştirildi.

- 13- Kolona etanol ile hazırlanmış 500 µl Yıkama Tamponu 2'den eklendi.
- 14- Kolon 3 dakika boyunca oda ısısında maksimum hızda santrifüjlendi. Toplama tüpü atıldı.
- 15- Spin kolonu steril bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- 16- Üzerine 50 µl PureLink® Genomik Elüsyon Tamponu eklendi.
- 17- Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. Kolon oda sıcaklığında 1 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlendi. Filtreli tüp atıldı. Kalan tüp saflaştırılmış genomik DNA içermektedir. Kullanıma kadar -20 °C'de saklandı.

Spektrofotometrik ölçümler

DNA veya RNA'nın nicelendirilmesi için spektrofotometredeki okumalar 260 nm ve 280 nm dalga boylarında alınmalıdır. 260 nm'deki okuma, numunedeki nükleik asit konsantrasyonunun hesaplanmasını sağlar.

DNA miktarı ve kalitesinin analiz edilmesi

PureLink® Genomik DNA Saflaştırma Kiti ile saflaştırıldıktan sonra saflaştırılmış DNA'nın verimi 260 nm'de UV absorbansı ile tahmin edildi. Numuneler, 100 µl'de 1 µl seyreltildi, böylece seyreltme faktörü 100 oldu. 100 µl'nin tamamı spektrofotometre küvetine konuldu. Okunan DNA konsantrasyon;

OD₂₆₀ x 50 ng / µl x seyreltme faktörü

Eğer OD₂₆₀ = 1.6 ise konsantrasyon; 1.6 x 50 ng/µl x 100 = 8000 ng/µl veya 8 ug/µl şeklinde hesaplandı.

RNA miktarı ve kalitesinin analiz edilmesi

- 1- RNA örneklerinin yanı sıra onları buz üzerinde elüte etmek için kullanılan su spektrofotometreye getirildi.
- 2- Yazılımın talimatları izlenerek 2 µl elüsyon suyu (boş) yüklendi ve sistem başlatıldı.
- 3- Bilgisayarın ayarı RNA olarak değiştirildi ve boş düğmeyi tıklatıldı. 2 µL örnek yüklendi ve ölçüm düğmesine tıklandı.
- 4- Okuma tamamlandıktan sonra, A₂₆₀/A₂₈₀ ve A₂₆₀/A₂₃₀ oranları ve geri kazanılan RNA miktarı (ng/µL cinsinden) kaydedildi.
- 5- Örneklerin absorbansı seyreltme faktörü ile 40µg RNA / mL ile çarpıldı. Denklem:

RNA konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$) = (OD_{260}) x (seyreltme faktörü) x (40 μg RNA / ml) / (1 OD_{260} birimi)

Örneğin: Örneğimiz 1:40 ve absorbans değerimiz 0.08 ise,
 $0.08 \times 40 \times 40 = 128 \mu\text{g/ml} = 0.13 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ çarpıldı.

cDNA (komplementer DNA) elde edilmesi

Elde edilen RNA örnekleri üreticinin protokolüne göre RT kiti (Quantitect®, Reverse Transcription Kit, Qiagene, 205313) kullanılarak gerçekleştirildi. 20 μl PCR reaksiyonu, toplam 10 ng RNA, 5x HiSpec Tampon, 10x Nükleik Karışımı, Ters Transkriptaz Karışımı ve RNAz içermeyen su ile hazırlandı. Reaksiyon, otomatik bir Termal Döngüleyici, Veriti (Applied Biosystem, Foster City, Kaliforniya, ABD) kullanılarak, 16 ° C'de 30 dakika, 42 ° C'de 30 dakika, 85 ° C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra hemen buz üzerine alınarak – 20 °C'de ekspresyon işlemine kadar muhafaza edildi.

Kantitatif karşılaştırmalı CT ($\Delta\Delta\text{CT}$) gerçek zamanlı PCR

Kantitatif karşılaştırmalı CT ($\Delta\Delta\text{CT}$) gerçek zamanlı PCR, Rotor-Gene Q Yazılımı 2.3 Analysis Software kullanılarak Rotor-Gene Q Gerçek Zamanlı PCR Sisteminde (Qiagen) gerçekleştirildi. CHRNA7 gen ekspresyonu için endojen kontrol RNA olarak b-Aktin (ACTB) kullanıldı. Elde edilen RNA'lar için bir referans insan RNA kontrolü (Life Technologies; AM7155) kullanıldı. 25 μl PCR, 5 μl RT-PCR ürünleri, 2X SYBRGreen Evrensel PCR Ana Karışımı (Qiagen) ve her bir primerden 900 nM (CHRNA7 ve ACTB) (Qiagen) olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyonlar, 96 °C 'lik bir ön inkübasyon plakasında 95 °C'de 10 dakika süreyle 1 döngü için inkübe edildi, 95 °C' de 15 saniye, 55 °C'de 30 saniye ve 70 °C'de 340 saniye 40 döngü olacak şekilde programlandı. Tüm reaksiyonlar üç kez gerçekleştirildi. $\Delta\Delta\text{CT}$ değerleri kullanıldı ve $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ ile hesaplandı (66).

Kopya Sayısı Varyasyonlarının (Copy Number Variation) Analizi

Elde edilen DNA örnekleri kopya sayısı analizleri için CHRNA7 (Thermo Fisher Scientific, 4400291) ve referans geni TERT (Thermo Fisher Scientific, 4403316) için kit protokolüne göre hazırlandı. Real-Time PCR analizi 8,8 μl reaksiyon karışımında

5,5µl 2x Master mix, 0,55 µl 20xTaqMan copy number Assay, 0,55 µl 20x TaqMan Copy Number Reference Assay ve 2,2 µl RNAz içermeyen su ile hazırlandı. Hazırlanan karışım örnek tüplerine dağıtıldı ve her örneğe ait dilüe edilmiş DNA örneklerinden 8µl eklenerek 10 µl'e tamamlandı. Reaksiyon Real-Time PCR cihazında (Rotor Gene-Q, Qiagen) 95 °C'de 10 dak 1 döngü, 95 °C'de 15 saniye ve 60 °C'de 60 saniye 40 döngü olacak şekilde analiz edildi. Elde edilen veriler referans gene göre standart curve analizi ile kopya sayısı 2 olan TERT genine karşı analiz edildi ve sonuçlar $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (66) kullanılarak hesaplandı. Elde edilen veriler referans gene göre RNA kat değerleri ile karşılaştırılarak 1-5 arası kopya sayısı olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analizler

Veriler önce analize uygun olacak şekilde normalleştirildi. Başlangıçta karşılaştırma amacıyla çeşitli yöntemler kullanarak tek değişkenli analiz gerçekleştirildi. Modeller daha sonra, sistemler ve kontroller arasındaki farkların önemli bir oranını açıklamamış olan sistematik olarak düşen değişkenler ile rafine edildi. Modeller, olasılık testi Bayes bilgi ölçütleri kullanılarak karşılaştırıldı. Analizler, Stata sürüm 11 (StataCorp, Texas, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Migren hastaları ve kontroller arasındaki cinsiyet dağılımını belirlemek için ki-kare testi kullanıldı. Çalışmanın temel amacı, deneklerin durumunun sağlıklı bir kontrole karşı bir Migren hastası olduğunu tahmin edebilecek RNA'ı ve genin içerisindeki tekrara sayıları ile patolojisi arasındaki ilişkiyi tanımlamaktır. Bu nedenle; yaş, cinsiyet, Migren hastalığı evresi, eşlik eden ilaçlar ve hastalıklar gibi potansiyel karıştırıcı ortak değişkenleri kontrol ederken adım adım lojistik regresyon kullandık. RNA ifade verisinin birleşme analizleri, başlangıçta yukarıdaki ko-değişkenler hesaba katılırken tek değişkenli bir öngörücü olarak girildi. Ardından lojistik regresyon analizlerinde RNA ekspresyon verisinin bir prediktör değişkeni olarak girildiği daha nüanslı iki değişkenli analizler gerçekleştirdik. Bulgular, iki kuyruklu p değerleri (0.05'ten düşükse anlamlı olarak ilan edildi), % 95 güven aralıkları (CI), olasılık oranları ve pseudo R^2 tarafından ölçülen her değişkenin, belirli bir RNA değişkeni ile Migren'e karşı durumu kontrol edildi.

4. BULGULAR

4.1 Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

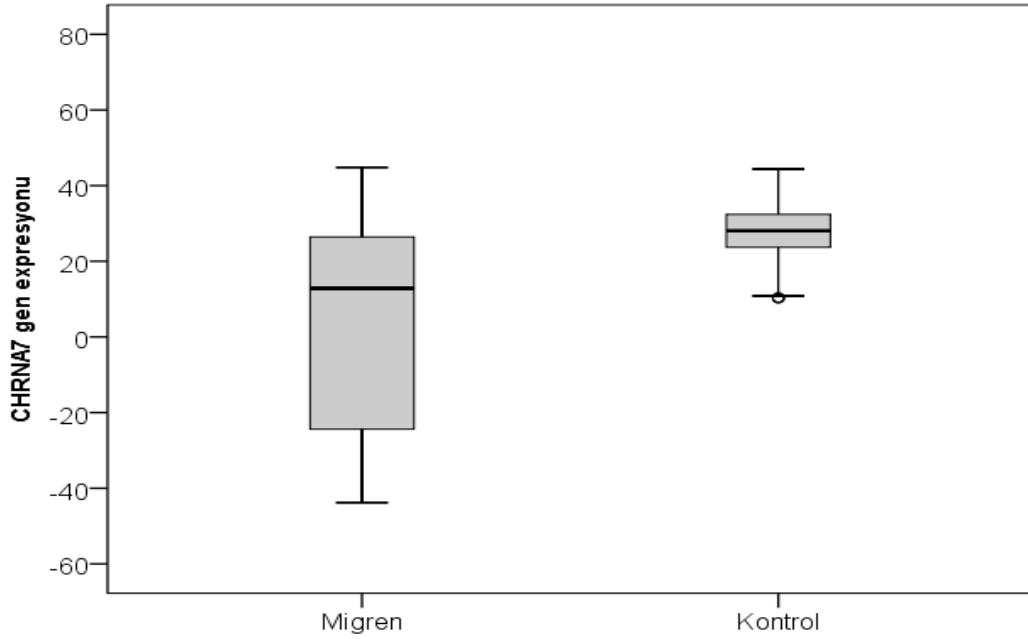
Migren hastalığının genetik etiyolojisinde yer alan *CHRNA7* geni ekspresyon düzeyleri kontrol ve hasta gruplarındaki dağılımları incelenerek bunlara ait P değerleri ve tanımlayıcı istatistikler hesaplandı (Tablo A). Tablo incelendiğinde *CHRNA7* geni (ACTB kontrol genine göre) ekspresyon düzeyleri bakımından kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$).

Kontrol grubunda 120 birey, hasta grubunda ise 102 birey değerlendirilmeye alındı. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin $\Delta Ct = 27.45$ hasta grubunda $\Delta Ct = 6.44$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre 4.26 kat azalma olduğu bulundu (Tablo 4) (Şekil 4).

Tablo 4 Migren hasta ve kontrol grubunda CHRNA7 geni ekspresyon, minimum, maksimum ve P değerleri

Gen	Grup	N	Ortalama ± SS	Medyan (Min - Max)	OR [%95 GA]	P
<i>CHRNA7</i>	Kontrol	120	27.45 ± 8.78	28.09 (10.19 - 44.39)	1 (referans)	0,001
	Migren	102	6.44 ± 27.29	12.85 (-43,78 - 44,78)	0,94 [0,92-0,96]	

$P < 0,05$ düzeyinde anlamlı; Mann Whitney U testi. N: Birey sayısı, OR: Odds oranı, GA: Güven aralığı.



Şekil 4 Migren hasta ve kontrol grubunda *CHRNA7* geni ekspresyon ölçümleri.

4.2 CNV Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Migren hastalığının genetik etiyolojisinde yer alan *CHRNA7* geni kopya sayısı varyasyonunun kontrol ve hasta gruplarındaki dağılımları incelenerek bunlara ait P değerleri ve tanımlayıcı istatistikler hesaplandı. Migren hastalığının etiyolojisinde görevli *CHRNA7* genindeki kopya sayısı varyasyon analizlerinde hasta grubunda azalmış ve artmış kopya sayısı varyasyonu kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). Migren hastalarında *CHRNA7* genindeki azalmış CNV sayısı (< 2) kontrollere göre daha düşüktür (Tablo 5). Gendeki azalmış kopya sayısı normal kopya sayısına göre eksilme yani delesyon olduğunu ifade etmektedir.

Tablo 5 Migren hasta ve kontrol grubunda *CHRNA7* geni CNV sayıları ve P değerleri.

CNV sayısı	Grup		OR[%95 GA]	P
	Kontrol N (%)	Migren N (%)		
Azalmış (<2)	30 (25.0)	72 (70.6)	23.66 [9.75-57.41]	0,001
Normal (=2)	69 (57.5)	7 (6.9)	1(Referans)	
Artmış (>2)	21 (17.5)	23 (22.5)	10.79 [4.06-28.68]	0,001

P<0.05 düzeyinde anlamlı, N: Birey sayısı, OR: Odds oranı, GA: Güven aralığı.

4.3 *CHRNA7* geni ekspresyon sonuçları ve CNV sayılarının ölçümlerinin değerlendirilmesi

Migren hastalarında etkisi bilinen *CHRNA7* geninin *ACTB* kontrol genine göre elde edilen ekspresyon verileri ve gendeki kopya sayısı değişimlerinin ilişkisi incelenerek ortalama, medyan ve p değerleri hesaplandı. Hem migren hem de kontrol grubunda gen ekspresyon düzeyleri kopya sayılarına göre istatistiksel olarak anlamlı değildir (P>0.05). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da ortalamalar dikkate alındığında; CNV kopya sayıları ve *CHRNA7* gen ekspresyon verileri arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Hastalarda azalmış kopya sayısı olduğu durumda (<2), ekspresyon değeri (6.49 ± 27.94) ile kontrollere göre, kopya sayısının az olduğu durumda (<2), ekspresyon değeri (27.73 ± 9.96) arasında anlamlı bir düşüş vardır (4.27 kat). Ancak migrenli bireyler arasındaki azalmış, normal ve artmış kopya sayıları ile ekspresyon değerleri ile ilişkisi bakımından farklılık gözlenmemiştir (Tablo 6). CNV sayılarındaki değişim genin ekspresyonunu etkilememiştir.

Tablo 6 Migren hasta ve kontrol grubunda *CHRNA7* geni ekspresyonu ve CNV sayıları ortalama, medyan ve P değerleri

Grup	CNV	N	Ortalama±SS	Medyan (Min-Max)	P
Kontrol	Azalmış (<2)	30	27.73 ± 9.96	27.99 (10.43 -44.39)	0.981
	Normal (=2)	69	27.22 ± 7.67	28.2 (10.33 -43.97)	
	Artmış (>2)	21	27.83 ± 10.71	27.71 (10.19 -43.55)	
Migren	Azalmış (<2)	72	6.49 ± 27.94	12.82 (-43.78 -44.78)	0.940
	Normal (=2)	7	5.98 ± 28.2	19.05 (-30.08 -36.99)	
	Artmış (>2)	23	6.42 ± 26.14	12.77 (-43.21 -43.38)	

P<0,05 düzeyinde anlamlı. N: Birey sayısı.

4.4 Klinik değişkenlerin ve *CHRNA7* geni ekspresyon düzeylerinin ölçümlerinin değerlendirilmesi

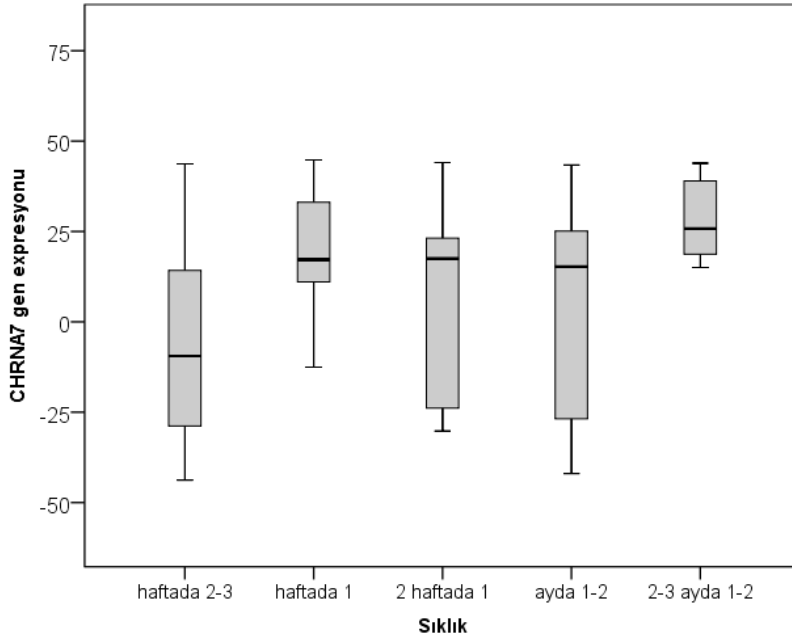
Migren hastalarının klinik değişkenleri ve *CHRNA7* geni ekspresyon düzeyleri ölçümü arasındaki ilişki incelenerek ortalama, medyan ve P değerleri hesaplandı. Klinik değişkenler; sigara kullanımı, diabet, hipertansiyon, A. Migren, saf auralı veya aurasız migren, süre, taraf, yer, başlangıç, otonom, fonofobi, fotofobi, şiddet, sıklık, MİDAS ölçeği, provoke, ruh hali, eş değeri ve ağrı kesici kullanım özellikleri *CHRNA7* geni ekspresyon düzeylerine göre değerlendirildi. Sıklık (P=0.008) ve ağrı kesici kullanımı (P=0.009), ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 7) (Şekil 5). Sıklığı haftada 2-3 olan 32 bireyde ekspresyon düzeyi haftada 1 (N=23), 2 haftada 1 (N=9), ayda 1-2 (N=30), 2-3 ayda 1-2 (N=8) olan bireylere göre oldukça düşüktür (-5.93 ± 27.12). *CHRNA7* gen ekspresyonundaki düşüşün ağrı sıklığı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ağrı kesicileri (türüne ve alınan doza bakılmaksızın) günde birkaç kez kullanan 23 bireyde ($-8,23 \pm 28,93$), ayda birkaç tane ya da daha az kullanan 41 ($6,07 \pm 28,07$) ve haftada birkaç tane kullanan 38 ($15,72 \pm 21,47$) bireye göre gen ekspresyon düzeyi düşüktür (Tablo 7) (Şekil 5, 6). Gen ekspresyonundaki düşüşün ağrının sıklığını etkilediği, ağrı kesicilerin kullanımının ve sıklığının gen ekspresyonunu azalttığı ve diğer hasta karakteristiklerinin gen ekspresyonu ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 7 . Migren hasta klinik değişkenlerinin ve CHRNA7 gen ekspresyon ölçümlerinin değerlendirilmesi.

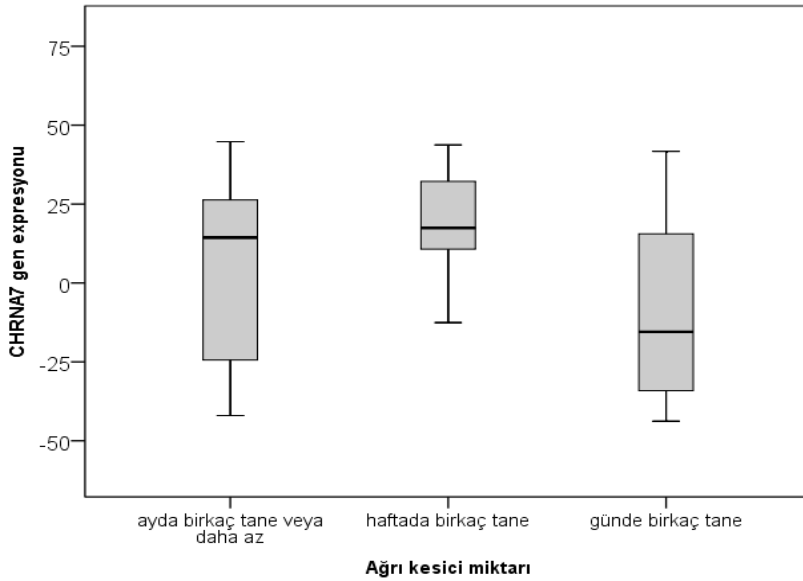
Hasta karakteristikleri	N	Ortalama±eiSS	Medyan (Min-Max)	P
Sigara				0.776
Evet	24	6.36 ± 27.59	13.58 (-35.77 -44.53)	
Hayır	78	6.46 ± 27.38	12.82 (-43.78 -44.78)	
Diyabet				0.926
Var	6	4.78 ± 24.8	14.76 (-28.04 -32.64)	
Yok	96	6.54 ± 27.55	12.85 (-43.78 -44.78)	
Hipertansiyon				0.385
Var	7	13.84 ± 26.63	16.5 (-24.4 -44.78)	
Yok	95	5.89 ± 27.4	12.77 (-43.78 -44.53)	
Auralı Migren				0.336
Var	60	4.47 ± 27.21	11,94 (-43.21 -44.53)	
Yok	42	9.26 ± 27.48	14.83 (-43.78 -44.78)	
Migren Tipi				0.085
Saf Auralı	43	2.08 ± 25.42	12.12 (-43.78 -41.72)	
Saf Aurasız	59	9.61 ± 28.37	15.03 (-43.21 -44.78)	
Ağrı Süresi				0.682
12 saatten az	26	6.29 ± 24.28	13.25 (-30.08 -41.7)	
12-24 saatten az	35	10.13 ± 28.68	17.91 (-43.78 -44.78)	
24-48 saat	29	4.57 ± 30.03	12.01 (-43.21 -44.53)	
48-72 saat	12	0.48 ± 23.84	11.64 (-30.23 -41.19)	
Ağrı Tarafı				0.892
Tek taraflı	52	5.61 ± 27.58	12.08 (-43.21 -44.53)	
İki taraflı	32	6.91 ± 27.89	15.57 (-43.78 -44.78)	
Belli olmaz	18	8.01 ± 26.81	13.58 (-37.8 -43.71)	
Başlangıç Yeri				0.204
Enseden başlar	42	10.34 ± 24.49	17.57 (-36.3 -44.53)	
Şakaklardan başlar	43	5.76 ± 29.61	12.12 (-43.78 -44.78)	
Lokalize edilemez	17	-1.49 ± 27.47	11.31 (-43.21 -43.71)	
Başlangıç biçimi				0.861
Genellikle birden şiddetli başlar	32	5.34 ± 26.33	12.57 (-43.17 -43.71)	
Genellikle Hafif başlar şiddetlenir	62	6.88 ± 27.52	13.66 (-43.78 -44.78)	
Belli olmaz	8	7.44 ± 32.67	18.81 (-35.76 -41.72)	
Otonom bulgu				0.124
Eşlik etmez	29	13.17 ± 24.79	17.49 (-36.3 -44.08)	
Eşlik eder	73	3.76 ± 27.93	12,03 (-43.78 -44.78)	
Fonofobi				0.379
Her zaman	76	8.38 ± 25.94	13.35 (-43.78 -44.78)	

Bazen	19	3.88 ± 32.04	17.49 (-43.21 -43.71)	
Yok	7	-7.72 ± 27.28	-23.88 (-32.46 -32.64)	
Fotofobi				0.530
Her zaman	70	4.72 ± 27.22	12.39 (-43.78 -44.53)	
Bazen	26	10.81 ± 27.66	18.03 (-33.48 -44.78)	
Yok	6	7.53 ± 29.14	17.08 (-32.44 -38.66)	
Ağrı Şiddeti				0.752
Genellikle çok şiddetli	45	4.46 ± 29.01	12.65 (-43.21 -44.78)	
Genellikle şiddetli	43	6.26 ± 25.34	12.03 (-43.17 -44.53)	
Genellikle dayanılabilir	10	11.17 ± 32.8	25.35 (-43.78 -43.88)	
Belli olmaz	4	18.87 ± 13.28	13.25 (10.31 -38.66)	
Ağrı Sıklığı				0.008
Haftada 2-3	32	-5.93 ± 27.12	-9.43 (-43.78 -43.71)	
Haftada 1	23	16.42 ± 24.11	17.21 (-35.76 -44.78)	
2 haftada 1	9	8.13 ± 27.62	17.49 (-30.23 -44.08)	
Ayda 1-2	30	6.95 ± 26.78	15.29 (-41.99 -43.38)	
2-3 ayda 1-2	8	23.41 ± 21.4	25.77 (-2.49 -43.88)	
MİDAS skoru				0.260
0-5 gün yeti yitimi (çok az)	40	10.65 ± 26.8	1.78 (-41.99 -44.08)	
6-10 gün (hafif)	21	8.55 ± 27.62	14.63 (-35.76 -44.78)	
11-20 gün (orta)	35	2.82 ± 26.39	11.5 (-43.21 -43.72)	
21gün ve üzeri (ağır)	6	-7.94 ± 33.95	-1488 (-43.78 -44.53)	
Provoke eden faktör				0.625
Var	85	7.23 ± 26.19	12.92 (-43.78 -44.53)	
Yok	17	2.51 ± 32.85	11.85 (-43.17 -44.78)	
Mood değişikliği				0.153
Var	82	4.7 ± 27.7	12.08 (-43.78 -44.53)	
Yok	20	13.57 ± 24.91	17.57 (-4.99 -44.78)	
Migren Eşdeğeri				0.891
Var	35	5.68 ± 28.51	14.63 (-43.17 -44.53)	
Yok	67	6.83 ± 26.84	12.71 (-43.78 -44.78)	
Ağrıkesici kullanımı				0,009
Ayda birkaç tane veya daha az	41	6.07 ± 28.07	14.39 (-41.99 -44.78)	
Haftada birkaç tane;	38	15.72 ± 21.47	17.43 (-28.92 -43.72)	
Günde bir kaç tane	23	-8.23 ± 28.93	-15.48 (-43.78 -41.72)	

P<0,05 düzeyinde anlamlı; Mann Whitney U, Kruskal Wallis test. N: Birey sayısı.



Şekil 5 Migren hastalarında ağrı sıklığı ve *CHRNA7* geni ekspresyon ölçümleri.



Şekil 6 Migren hastalarında ağrı kesici miktarı ve *CHRNA7* geni ekspresyon ölçümleri.

Ağrı sıklığının hafta ve aya göre Dunn testi ile çoklu karşılaştırılması yapılarak kategorilere göre P değeri hesaplandı. Daha önce gen ekspresyon düzeyinin azalmasının etkilediği haftada 2-3 olarak görülen ağrı sıklığı çoklu karşılaştırmada hem haftada 1 ($P=0.004$) hem de 2-3 ayda 1-2 ($P=0.003$) olan ağrı sıklığı birlikteliğini de etkilemiştir.

Çoklu analizlerde de ağrı sıklığının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8). Bu anlamlılık haftada 2-3 olan ağrı sıklığı ile birlikteliklerinden kaynaklanmaktadır.

Tablo 8 Migren hastalarında ağrı sıklığının çoklu değerlendirilmesi.

Kategoriler	P
Haftada 2-3 - Ayda 1-2	0.051
Haftada 2-3 - 2 Haftada 1	0.121
Haftada 2-3 - Haftada 1	0.004
Haftada 2-3 - 2-3 Ayda 1-2	0.003
Ayda 1-2 - 2 Haftada 1	0.815
Ayda 1-2 - Haftada 1	0.292
Ayda 1-2 - 2-3 Ayda 1-2	0.081
2 Haftada 1 - Haftada 1	0.605
2 Haftada 1-2 - 3 Ayda 1-2	0.212
Haftada 1-2 - 3 Ayda 1-2	0.326

P<0,05 düzeyinde anlamlı; Dunn testi.

Ağrı kesici alım sıklığının gün, hafta ve aya göre Dunn testi ile çoklu karşılaştırılması yapılarak kategorilere göre P değeri hesaplandı. Ayda birkaç tane ve daha az (P=0.035) ile haftada birkaç tane (P=0.002) alım sıklığı ile ilgili çoklu analizlerde ağrı kesici alım sıklığının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 9). Bu anlamlılık günde birkaç tane alım sıklığı ile birlikteliklerinden kaynaklanmaktadır. Haftada birkaç tane ve ayda birkaç tane veya daha az olan çoklu karşılaştırma sonuçları anlamlı değildir (P=0.246)

Tablo 9 Migren hastalarında ağrı sıklığının çoklu değerlendirilmesi.

Kategoriler	P
Günde birkaç tane-ayda birkaç tane veya daha az	0.035
Günde birkaç tane-haftada birkaç tane	0.002
Ayda birkaç tane veya daha az-haftada birkaç tane	0.246

P<0,05 düzeyinde anlamlı; Dunn testi.

4.5 Klinik değişkenlerin *CHRNA7* geni ve CNV sayıları ölçümlerinin değerlendirilmesi

Migren hastalarının klinik değişkenleri ve *CHRNA7* geni CNV sayıları arasındaki ilişki incelenerek P değerleri hesaplandı. Klinik değişkenler; sigara kullanımı, diabet, hipertansiyon, A. Migren, saf auralı veya aurasız migren, süre, taraf, yer, başlangıç, otonom, fonofobi, fotofobi, şiddet, sıklık, MİDAS ölçeği, provoke, ruh hali, eş değeri ve ağrı kesici kullanım özellikleri *CHRNA7* geni CNV sayılarına göre değerlendirildi. DM ($P=0.019$) ve fotofobi ($P=0.015$) ile CNV sayıları arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 10). DM ile *CHRNA7* geni ekspresyon düzeyleri arasında ilişki bulunmazken gen üzerindeki CNV sayısı ile DM arasında anlamlı ilişki bulunması diabet olmama durumunun etkisi nedeniyle ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bu sonuç diyabetin etkisinin dışlanabilmesi için önemli bir kanıttır. Yine fotofobi ile azalmış CNV sayısına sahip hastalarda kopya sayısı delesyonu ile fotofobi arasında ilişki olması delesyona bağlı olarak ortaya çıkmış olabileceğini göstermiştir. Diğer değişkenler ile CNV sayıları ilişkili olmadığı gibi etkili de değildir ($P<0.005$). Bu sonuç klinik değişkenlerin ekspresyon üzerinde etkisi olabileceğini fakat CNV sayılarında direkt etkisi olmadığını göstermiştir.

Tablo 10 Klinik değişkenler ve CHRNA7 geni CNV sayılarının ölçümlerinin değerlendirilmesi.

Klinik Değişkenler	CNV sayıları			P
	Azalmış (<2) N (%)	Normal (=2) N (%)	Artmış (>2) N (%)	
Sigara				0.292
Evet	20 (27.8)	1 (14.3)	3 (13.0)	
Hayır	52 (72.2)	6 (85.7)	20 (87.0)	
Diyabet				0.019
Var	4 (5.6)	2 (28.6)	0 (0.0)	
Yok	68 (94.4)	5 (71.4)	23 (100.0)	
Hipertansiyon				0.632
Var	4 (5.6)	1 (14.3)	2 (8.7)	
Yok	68 (94.4)	6 (85.7)	21 (91.3)	
Auralı Migren				0.491
Var	40 (55.6)	4 (57.1)	16 (69.6)	
Yok	32 (44.4)	3 (42.9)	7 (30.4)	
Migren Tipi				0.682
Saf Auralı	29 (40.3)	4 (57.1)	10 (43.5)	
Saf Aurasız	43 (59.7)	3 (42.9)	13 (56.5)	
Ağrı Süresi				0.681
12 saatten az	20 (27.8)	2 (28.6)	4 (17.4)	
12-24 saatten az	24 (33.3)	1 (14.3)	10 (43.5)	
24-48 saat	21 (29.2)	3 (42.9)	5 (21.7)	
48-72 saat	7 (9.7)	1 (14.3)	4 (17.4)	
Ağrı Tarafı				0.436
Tek taraflı	39 (54.2)	2 (28.6)	11 (47.8)	
İki taraflı	22 (30.6)	4 (57.1)	6 (26.1)	
Belli olmaz	11 (15.3)	1 (14.3)	6 (26.1)	
Başlangıç Yeri				0.135
Ensedden başlar	26 (36.1)	4 (57.1)	12 (52.2)	
Şakaklardan başlar	35 (48.6)	3 (42.9)	5 (21.7)	
Lokalize edilemez	11 (15.3)	0 (0.0)	6 (26.1)	
Başlangıç biçimi				0.923
Genellikle birden şiddetli başlar	22 (30.6)	2 (28.6)	8 (34.8)	
Genellikle Hafif başlar şiddetlenir	44 (61.1)	5 (71.4)	13 (56.5)	
Belli olmaz	6 (8.3)	0 (0.0)	2 (8.7)	
Otonom bulgu				0,425
Eşlik etmez	18 (25.0)	2 (28.6)	9 (39.1)	

Eşlik eder	54 (75.0)	5 (71.4)	14 (60.9)	
Fonofobi				0.149
Her zaman	53 (73.6)	5 (71.4)	18 (78.3)	
Bazen	15 (20.8)	0 (0.0)	4 (17.4)	
Yok	4 (5.6)	2 (28.6)	1 (4.3)	
Fotofobi				0.015
Her zaman	48 (66.7)	3 (42.9)	19 (82.6)	
Bazen	22 (30.6)	2 (28.6)	2 (8.7)	
Yok	2 (2.8)	2 (28.6)	2 (8.7)	
Ağrı Şiddeti				0.667
Genellikle çok şiddetli	31 (43.1)	4 (57.1)	10 (43.5)	
Genellikle şiddetli	30 (41.7)	3 (42.9)	10 (43.5)	
Genellikle dayanılabilir	9 (12.5)	0 (0.0)	1 (4.3)	
Genellikle hafif	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Belli olmaz	2 (2.8)	0 (0.0)	2 (8.7)	
Ağrı Sıklığı				0,243
Haftada 2-3	21 (29.2)	2 (28.6)	9 (39.1)	
Haftada 1	20 (27.8)	0 (0.0)	3 (13.0)	
2 haftada 1	4 (5.6)	1 (14.3)	4 (17.4)	
Ayda 1-2	23 (31.9)	3 (42.9)	4 (17.4)	
2-3 ayda 1-2	4 (5.6)	1 (14.3)	3 (13.0)	
MİDAS skoru				0.277
0-5 gün yeti yitimi (çok az)	27 (37.5)	5 (71.4)	8 (34.8)	
6-10 gün (hafif)	14 (19.4)	1 (14.3)	6 (26.1)	
11-20 gün (orta)	26 (36.1)	0 (0.0)	9 (39.1)	
21gün ve üzeri (ağır)	5 (6.9)	1 (14.3)	0 (0.0)	
Provoke Eden Faktör				0.758
Var	61 (84.7)	6 (85.7)	18 (78.3)	
Yok	11 (15.3)	1 (14.3)	5 (21.7)	
Mood değişikliği				0.216
Var	55 (76.4)	7 (100.0)	20 (87.0)	
Yok	17 (23.6)	0 (0.0)	3 (13.0)	
Migren eşdeğeri				0.189
Var	26 (36.1)	4 (57.1)	5 (21.7)	
Yok	46 (63.9)	3 (42.9)	18 (78.3)	
Ağrıkesici kullanımı				0.821
Ayda birkaç tane veya daha az	27 (37.5)	4 (57.1)	10 (43.5)	
Haftada birkaç tane	27 (37.5)	2 (28.6)	9 (39.1)	
Günde birkaç tane	18 (25.0)	1 (14.3)	4 (17.4)	

*0,05 düzeyinde anlamlı Ki-kare testi. N: Birey sayısı.

5. TARTIŞMA

Monojenik migren rahatsızlıkları, bireyler ve aileler üzerinde büyük bir etkiye sahiptir, ancak nadirdir. Migrenin çoğunluğu poligeniktir, yani genlerdeki çoklu değişkenlerin altta yatan riske katkıda bulunduğu karmaşık bir hastalıktır ve her biri genellikle nispeten küçük bir etkiye sahiptir. Hastalığa yatkınlık ayrıca bu genetik varyasyonların birbirleriyle olduğu kadar çevresel ve yaşam tarzı faktörleriyle etkileşiminin bir sonucudur. Migrene ortak olarak katkıda bulunan lokus ve genleri keşfetmek, esas olarak, migren vakalarının kohortları ve migren dışı kontroller arasında, ilişkisiz bireylerden oluşan, genlere bağlı genetik varyantların allel frekanslarındaki farklılıkları bulmaya dayanan Mendel bozukluklarına farklı yaklaşımlar gerektirir. Ortak genetik varyasyon büyük ölçüde SNP'lerden, küçük insersiyon (ilave) veya delesyonlardan (silinme), kısa tandem tekrarlarından ve kopya sayısı varyantlarından oluşur. Migren de dâhil olmak üzere özellikleri ve bozuklukları etkileyen varyantları belirleme çabalarının çoğu, artan veya azalmış migren riski sağlayan SNP'lere odaklanmıştır. Çoğu lokus için etki büyüklükleri genellikle küçüktür. Anlamlılık eşiklerini geçen sonuçları sağlam bir şekilde elde etmek için çok sayıda kişinin genotiplenmesini gerektirir. (67) Fakat her zaman SNP'lerin hastalığın doğasını ortaya çıkarmada yeterli olmayabilir. Bu durumda yapısal varyasyonları açıklayabilecek CNV'ler gibi diğer genetik işaretlere ihtiyaç vardır (68). Varyant sayısını daraltmak için bundan sonra bir filtreleme işlemi gereklidir. Bu birkaç şekilde yapılabilir. Hepsi genetik bilgi içeren birkaç mevcut veri tabanına bağımlıdır. Bu veri tabanları, farklı çalışmalar tarafından tespit edilen SNP'ler ve kopya numarası varyantları (CNV'ler) gibi yapısal varyantların koleksiyonlarından oluşur. Varyantlar için sıcak noktalar hastalıkla ilişkisi yakın olan lokasyonlardır. CNV'ler, diploid durumdan sapmalara neden olan genomik dizinin kazançlarını (kopyaları veya eklemelerini), kayıplarını (delesyonlarını) veya karmaşık yeniden düzenlemelerini içeren yaygın bir yapısal genomik varyasyon kaynağıdır. Ortalama olarak, her bireyin benzer kazanç ve kayıp oranları ile birlikte >1000 CNV'ye sahip olduğu ve ~ 10 megabaz (Mb) genomik sekans içerdiği tahmin edilmektedir (69). Bu veriler aile tabanlı çalışmalardan elde edildiğinde riskli varyantlar, kuşaklara aktarımları ve aktarım özellikleri takip edilerek hastalığın davranışı ortaya çıkarılabilir (70). Yine ikiz çalışmaları da CNV'lerin migrene katkısı olduğunu göstermiştir (71). Migrendeki CNV'ler çeşitli mekanizmalarda negatif sonuç

vermekle birlikte (72) literatürde hem CNV'lerin migrendeki durumu hem de *CHRNA7* genindeki CNV sayısı ve genin ekspresyonu ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Genin duplikasyonu delesyonuna göre literatürde daha az yer bulmaktadır (73) (74) (75) (76). $\alpha 7$ nAChR'in ligand kapılı iyon kanalı olduğunu ağrı da dahil bazı nörolojik hastalılarda etkili olduğunu daha önce belirtmiştik. Ağrının pek çok çeşidi ve kaynağı olmakla birlikte bu reseptöre bağlı olarak meydana gelen nöropatik ağrıda sebep olarak transgenik farelerde bu reseptörün etkisinin ortadan kaldırılması ile ağrının geliştiği gösterilmiştir.

Nikotin ve nikotinik asit agonistleri ile ilgili hayvan modeli çalışmaları analjeziklerin potansiyel etkisini ortaya koymuştur. Bu agonistler periferel ve MSS'de geniş ölçüde dağılmış olan nAChR'ler üzerinde etkilidir. Orta beyin ve medulla gibi ağrıya yatkın bölümleri de içeren MSS'de daha fazla ifade edilir. Ayrıca otonomik ganglia, nöronal olmayan hücreler ve periferel sinir sisteminde de bulunur. Klinik çalışmalarda potansiyel bir hedeftir. Çalışmanın sonuçlarına göre $\alpha 7$ nAChR'ler eksikliği veya fonksiyon kazancı akut mekanik ve termal uyaranlara karşı duyarlılıkları azaltmamıştır. $\alpha 7$ nAChR eksikliği inflamatuvar kronik ağrı davranışlarını şiddetlendirirken, $\alpha 7$ nAChR fonksiyon kazancı bu yanıtları kısmen tersine çevirmiştir. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, en azından kısmen $\alpha 7$ nAChR'lerine bağlı olan kronik nöropatik ve inflamatuvar mekanizmaların geliştirilmesinde nikotinik yolların rolünü kuvvetle göstermektedir (77). Migren hastalarımızda sağlıklı kontrol bireylerine göre azalan kopya sayısı ve artan kopya sayıları ile migren olma riski arasında ilişki tespit edilmiştir.

CNV'ler fenotipi etkileyebilir ve genlerin işlevini bozarak ve/veya gen dozajını değiştirerek doğrudan hastalığa neden olabilir (78). Ayrıca CNV'ler, resesif mutasyonun maskesini kaldırarak veya düzenleyici elementleri silerek aleller arasındaki iletişimi değiştirerek pozisyon etkileri yoluyla gen ekspresyonunu dolaylı olarak etkileyebilir (79). Klinik kullanım için tespit edilen her CNV yorumlanmalı (80) ve patojenik veya yüksek riski iyi huylu varyantlardan ayırmaları gerekir. Ancak, CNV'lerin yorumunun büyük ölçüde klinik endikasyonlara bağlı olduğunun altı çizilmelidir. Klinisyenlerin, sonucun doğru yorumlanmasını sağlamak için yeterince ayrıntılı klinik fenotipler sağlamaları gerekir (81).

Genler literatürde patojenik olarak raporlandığında varyantların doğasının araştırılması önem taşır. Mutasyon nedeniyle klinik fenotip ile ilişkilendirilen genin kopya sayısı kazancı olması farklı bir klinik tabloya bağlı olabilir. Bozukluklar genellikle dozaj dengesizliği yerine fonksiyon mutasyonlarının kazanılmasından kaynaklanır. Bu nedenle, bu tür genleri içeren CNV'lerin klinik önemi olmayabilir veya tamamen farklı bir fenotipe neden olabilir (örn. FGFR1'deki mutasyonlar iskelet displazisine yol açarken delesyonlar Kallmann sendromu ile ilişkilidir) (82). Bir genin sadece bir kısmını içeren kopya sayısı kazançları, genin bozulmasına veya kodlama dizisinin değişmesine neden olabilir (83). Resesif hastalıklarla ilişkili genlerin silinmesi, genin ikinci kopyası üzerinde mutasyona işaret edebilir. Sadece intronik sekansları içeren küçük varyantların gen fonksiyonu üzerinde hala bir etkisi olabilir. Bununla birlikte, tespit edilen CNV içindeki genler literatürde patojenik olarak rapor edilmediğinde ve genin rolü sadece tahmin edilen gen fonksiyonuna veya model organizmalarda karakterize edilen fonksiyona dayanır, varyant insan popülasyonunda iyi bir şekilde karakterize edinceye kadar patojenite ile ilgili sonuçlar çıkarılamaz. Ayrıca CNV frekansları popülasyonlar arasında da farklılık gösterir. Frekansı %1'den düşük olduğunda nadir, %1'den yüksek olduğunda yaygın olarak değerlendirilir (84). CNV'lerin her iki tipi de anormal fenotipli hastalarda olduğu kadar normal popülasyonda da meydana gelebilir (85). Migren hastalarımızdaki CNV kromozom 15q13.3 yerleşimli bir kazanç + kayıp (Gain + Loss) alt tipi gösterir. Kazançlarla ilgili yapılan çalışmalar mikroduplikasyonları işaret etmektedir. Çeşitli gelişme gerilikleri veya mental retardasyon olgularının yanı sıra otizm spektrum düzensizliği bipolar, anksiyete gibi hastalıklarda bu kazançlara rastlanmıştır (86). Bu CNV'e ait kayıplar mikrodelesyon olarak tespit edilmiştir. Erken başlangıçlı obsesif kompulsif hastalarında kalıtsal formu tespit edilmiştir (87). *CHRNA7* genindeki bu CNV'nin hastalıklarla direkt ilişkisi açık değildir. Fakat klinik fenotipler bu ilişkiyi özelleştirebilir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre artmış ve azalmış kopya sayılarının migrenle ilişkili olabileceğini söyleyebiliriz. Her iki şekilde de genin dozajının değişmesi sebebiyle fonksiyonu da değişecektir. Genin ürünü bir reseptör fonksiyonu olduğuna göre reseptörün ifadesinin azalması ile fazla olması iyon geçişi için deregülasyona yol açar.

Klinik fenotipler açısından değerlendirdiğimizde sigara kullanımı CNV sayısı ile ilişkili değildir. Sigaranın gen ekspresyonunu etkilediği bilinmektedir (88). Sigara kullanımı çeşitli hastalıklar eşliğinde değerlendirildiğinde, sigaranın CNV sayılarını değiştirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (89). İlişki kopya sayısının fazla olması ile bağlantılıdır. Migren grubumuzda azalan kopya sayısına sahip bireylerin fazla olması artan kopya sayısında sahip bireylerin az olması nedeniyle CNV sayıları sigara kullanma ile ilişkili değildir.

Diyabet, CNV sayıları ile ilişkili olmakla birlikte tipi de önem taşımaktadır. Ayrıca prediktif bir işaret olabileceği de düşünülmektedir (90). CNV'ler, genomun % 9 ile %18'inde bulunur ve mRNA'nın ve lokalizasyonlarının yakınında bulunan genler tarafından kodlanan proteinlerin ekspresyon seviyelerini değiştirebilir (91). Tip-2 diyabet hastalarında riskli genler için yapılan kopya sayısı araştırmaları *EGFR*, *E2F1*, *PPP1R3A*, *HLA* ve *TSPAN8*'in önemli olduğunu göstermiştir. Genlerden bazıları pankreatik ekzokrin hücrelerinin siklusunun kontrolünden, bazıları da pankreatik beta hücrelerinin sürdürülebilirliğinin düzenlenmesinden, T2DM ise diyabetik hastalarda korneal patolojiden sorumludur (92). CNV'ler multifaktöriyel bir hastalıkta farklı klinik bulgularla bağlantılı olabilirler. İndüklenmiş pluripotent kök hücreler ve nöral progenitör kök hücrelerde *CHRNA7* geni CNV'leri 15q13.3 bölgesinde mikrodelsiyon ve mikroduplicasyonu için bir tarama yapılmıştır. Diyabetin de aralarında bulunduğu pek çok hastalığın kalsiyum alım mekanizmasındaki reseptöre bağlı hataları ile ilişkili sonuçlar elde edilmiştir (93). Migren grubumuzdaki hastaların 6 birey dışında diyabet öyküsü bulunmaması CNV sayısının hastalıktaki etkisinin net olarak ortaya konulabilmesi ve etken olabilecek bir faktörün dışlanması bakımından önemlidir. Sonuçlarımızda diyabetin getirmiş olabileceği bir etki bulunmamaktadır ve azalan ve artan sayılara sahip migren hastalarında anlamlılığı diyabete karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir ($P=0.019$).

Hipertansiyon ve CNV bağlantısı için direkt hipertansiyon hastalarında bu gene ait CNV çalışılmamıştır ancak başka hastalıklarla birliktelik gösterdiği durumlar ya da başka genlerle ilişkili CNV'lerin kayıplarını içeren sonuçlar mevcuttur (94). Migren grubumuzda CNV'lerin etkisinin bulunduğu hipertansiyon hikâyesi olmaması etkisinin dışlanabilmesi bakımından önemlidir ve CNV sayıları ile migren olma riski arasında ilişki bulunmaması beklenen bir sonuçtur.

CNV'ler, ebeveynlerden aktarılabilen veya de novo olarak meydana gelebilen büyük genomik segmentlerin kopya sayısındaki değişimler olarak tanımlanır (95). Kopya sayısı varyasyonuna, belirli bir kromozom içindeki bir gen segmentinin kopyalanması veya silinmesi neden olur. Bununla birlikte, birçok durumda, silme ve çoğaltma işlemleri aynı lokasyonda bulunabilir. CNV'ler hastalıkla ilişkili olduklarında germ line değişim söz konusu ise sonraki kuşaklara aktarılması mümkündür. CNV'ler kişiler arasında farklılık gösterir. Bu durum CNV polimorfizmi olarak isimlendirilir (96). Bir CNV de novo ortaya çıkabilir veya maternal veya paternal kromozomlardan miras alınabilir. (Bazı durumlarda, bir CNV her iki ebeveynden de miras alınabilir.) Bir de novo CNV kendiliğinden ortaya çıkar ve her iki ebeveynden de aktarılmaz. Bununla birlikte, hem maternal hem de paternal olarak kalıtsal Ailese çeşitli derecelerde patojenik risk sağladığı düşünülmektedir. Ailesel CNV'ler aktarımı ve hastalığın niteliği hakkında bilgi verir.

Migren grubumuzda aile hikâyesi bulunan 40 birey, aile hikâyesi bulunmayan 32 birey bulunmaktadır. İlişki bulunmaması çalışılan bu CNV için ailesel aktarım olmadığını düşündürmektedir.

Migren tipleri ile CNV ilişkisi incelendiğinde auralı bireyler aurasız bireylerin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. CNV sayılarının migren tipleriyle ilişkili olmaması hasta tiplerinin sayısal farklılığından kaynaklanabilir. Literatürde CNV ve migren formları ilişkili çalışma bulunmamaktadır. Kopya sayıları delesyonu veya duplikasyonun migrenin multifaktöriyel olduğu, ağrının süresi, sıklığı, şideti, MİDAS ölçeği, mood, migren eşdeğeri, ağrı kesici kullanımı ve bulunduğu yer gibi parametrelerle ilgili olmadığı düşünüldüğünde klinikten bağımsız bir genetik bağlantı sergilemediği için migren formları ile ilişkili olmadığı söylenebilir.

Migrenin klinik bulguları arasında yer alan fotofobi yalnız başına bir hassasiyet olduğu gibi aynı zamanda bağlı maküla dejenerasyonu gibi hastalıklarla da birlikteliği söz konusudur (97). Migren grubumuzda göz kusurları varlığı sorgulanmamıştır. Fakat 102 kişilik grupta migrene eşlik eden ciddi ışıksal görme bozuklukları sayısının anlamlılığı etkileyecek düzeyde yüksek olması ihtimali olmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle migren hastalarında her zaman fotofobi şikayeti bulunan birey sayıları incelendiğinde CNV sayısındaki azalma ve artma ile fotofobi arasında ilişkili olması

önemlidir ve literatürde de ilk bulgudur. Fotofobi migren belirtilerinden birisidir. Baş ağrısı sınıflandırmasında migrene işaret eden en önemli kriterlerden birisidir. Literatürde tek başına fotofobi ile CNV'lar arasındaki bağlantıyı araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Işık retina yoluyla beyne giden görsel yollarla taşınır. Retinada görmeden sorumlu hücreleri koniler ve görmeye katılmayan ancak ışığı algılayan melanopsin sistemi vardır. Bu hücreler beyin merkezlerindeki trigeminal sisteme bağlanır ve dolayısıyla ağrıya neden olabilir (98). İkinci derece nöronlar olarak isimlendirilen sinyali spinal korddan talamusa taşıyan nöronların aktivasyonu, nosiseptif bilginin merkezi sinir sistemine iletilmesinde presinaptik olarak etki gösteren $\alpha 7$ -nikotinik asetilkolin (nACh) reseptörleri aracılığıyla modüle edilebilir (99). Periferik duyarlılaşmanın yanı sıra, ikinci dereceden trigeminal nöronların sürekli aktivasyonu, nosiseptif olmayan uyarılar ağrı ürettiğinde migrenlilerde merkezi duyarlılaşmaya dönüşür. Bu duyarlılaşmaya glutamat resptör aktivasyonu da eklenir. Trigeminal sistemin daha fazla aktivasyonu ve duyarlılaşması sinyali talamustan primer sensör kortekse taşıyan üçüncü dereceden nöronların duyarlılaşmasına neden olabilir. Bu durum fotofobi, fonofobi, ve ozmofobi dâhil olmak üzere diğer migren semptomlarına yol açar (100). Bu yolakta önemli yere sahip olduğu izlenen *CHRNA7* geni için CNV sayılarının kayıp ve kazancı bu resptörlerin fonksiyon kaybı ile ilişkili olarak hastalarda fotofobi semptomlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. *CHRNA7* geni ekspresyon düzeyine gen üzerindeki CNV sayılarının etkisi incelendiğinde istatistiksel olarak ilişki gözlenmemiştir. Migren hastalarındaki azalan kopya sayısına sahip bireylerde gen ekspresyon seviyesi kontrollere göre oldukça düşüktür. Yine artmış kopya sayısına sahip migren hastalarında ekspresyon düzeyi kontrollere göre oldukça düşüktür. Sonuçlar migren hastalarında *CHRNA7* geni CNV bölgesinde kazanç ve kayıp ile genin ekspresyonu arasında bağlantı olabileceğine işaret etmektedir. Grup sayılarının artırılması bağlantının ortaya çıkarılmasına yardımcı olabilir.

Genomlarımızın DNA dizisindeki farklılıklar, benzersizliğimizi artırır. Bu değişiklikler hastalığa yatkınlık dâhil çoğu özelliği etkiler. CNV'ler genellikle genleri kapsadığından, hem insan hastalıklarında hem de ilaç tepkisinde önemli rollere sahip olabilirler (101). Hastalıklarla bağlantısının ortaya çıkarılması hem tedavi süreçleri hem de oluş mekanizmalarının düzeltilebilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Migren (OMIM-157300), tipik olarak şiddetli, nörojenik ağrı ve hafif yorgunluktan birkaç gün veya hafta süren felçlere kadar değişen nörolojik semptomlarla karakterize karmaşık bir nörolojik sendromdur. Dünya Sağlık Örgütü tarafından toplumun en külfetli nörolojik bozukluğu ve dünya çapında en büyük altıncı yetilerin kaybedilmesi nedeni olarak sıralanmaktadır (102). Migren, auralı (MA) ve aurasız (MO) olmak üzere 2 temel alt tipe sahiptir ve ağrıya eşlik eden veya öncesinde görsel, işitsel ve motor bozukluklar gibi çeşitli nörolojik semptomların varlığına veya yokluğuna bağlı olarak sınıflandırılır (103). Dünyada nispeten benzer bir yaygınlığa sahiptir ve 2016 yılı itibarıyla dünya istatistiklerine göre Türkiye'deki prevalansı 13,712,859'dur (104). Büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar, tüm kıtalarda, etnik gruplar, yaş aralıkları ve sosyo-ekonomik koşullar arasında nispeten istikrarlı bir yaygınlık olduğunu doğrulamaktadır (105).

Migren sırasında, beynin farklı bölgeleri aktive edilir ve her bir bölge migren patofizyolojisine katkıda bulunur. Bu aktivasyon atakların tetiklenmesi, ağrının meydana getirilmesi veya atak sırasında ortaya çıkan bazı nörolojik semptomlar şeklinde olabilir. Migren birden fazla fazdan oluşabilir. Trigeminal aktivasyon baş ağrısı sırasında meydana gelirken öncesinde yorgunluk, ruh hali değişimi, yeme isteği, esneme, kas hassasiyeti ve fotofobi gibi semptomların baş ağrısından 3 gün öncesine kadar yaşanabileceği bir ön faz söz konusu olabilir (106). Bazı bireylerde aura fazı görsel, duyuşsal, konuşma, dil ve motor rahatsızlıkları ile baş ağrısından hemen önce ve eşzamanlı olarak daha yüksek kortikal fonksiyon bozulmasına neden olabilir. Tüm bu klinik bulgulara ulaşmak için çeşitli görüntüleme teknikleri ile hastaların yapısal ve fonksiyonel beyin değişiklikleri ortaya çıkarılmıştır.

Migrenin tetiklenmesindeki etkenler incelendiğinde duyuşsal, tepkisel ve fizyolojik etkenlerin kaynakları tahmin edilebilir ve hastalığın tedavisinde birçok yaklaşım tek başına ya da kombine uygulamalar şeklinde geliştirilebilir (107). Bununla birlikte bu tetikleyiciler sadece migren hastalarında etkilidir.

Sağlıklı bireylerde olmayan ve her migrenli bireyde rastlanabilen klinik bulguların temelinde genetiğin etkisi yadsınamaz. Genetikte hastalığın temelini ve toplumsal normlardan ne kadar uzak ya da yakın olduğunu tespit etmek için en çok kullanılan aile çalışmaları migrene yatkınlığa sebep olan genetik faktörlerin olduğunu göstermiştir (108).

Bu kadar klinik çeşitliliğin altında büyük olasılıkla birden fazla genetik lokusta küçük etkiye sahip varyantların katkısının bulunduğu monogenik ve poligenik kalıtımın etkisinin olduğu düşünülmektedir. Monogenik ve poligenik kalıttan sorumlu genlerin tespit edilmesi için genetik belirteçlerin bağlantı haritaları (linkage map), aile pedigrilerinden aday genlerin sekans analizi, hücresel ve hayvan modellerinde hastalığın taklit edilmesi gibi yöntemler kullanılır. Son yıllarda keşfedilen yeni nesil sekanslama (Next Generation Sequencing) ile monogenik migrenle ilişkili bozukluklara bağlı varyantların tespit edilmesi hızlanmıştır (109). Poligenik form için büyük gruplar üzerinde vaka-kontrol çalışmaları (Genome wide association), transkriptomik ve fonksiyonel deneyler migrene katkıda bulunan genetik faktörlerin büyük çoğunluğunun anlaşılmasına yardımcı olur (110).

Migrenin temelindeki genetik kanıtlar tek bir gendeki mutasyonların neden olabileceği Hemiplejik ve Ailesel Hemiplejik Migren gibi nadir kalıtsal migren bozuklarından elde edilmiştir (111). Bu tiplerden primer sorumlu genler içerisinde *CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A*, *KCKNA18*, *PRRT2*, *CSNK1D*, *TREX1*, *COL4A1*, *NOTCH3* genleri, metabolik yolları ve bu genlere ait çeşitli polimorfizmler ve mutasyonlar yer alır (112). Bilinen genlerin yanı sıra aday gen çalışmaları da migrenin kompleks doğasının aydınlatılmasında geniş yer tutmaktadır.

Kolinerjik Reseptör Nikotinik Alfa 7 Alt Birimi (*CHRNA7*) aynı zamanda nAChR α 7 olarak bilinen ve aynı isimle protein kodlayan bir gendir. Bu gen ile ilişkili hastalıklar arasında epilepsi, idiyopatik jeneralize epilepsi ve kromozom 15q13.3 delesyon sendromu yer alır. İlişkili yollara (pathway) bakıldığında zaman ilaç metabolizması-sitokrom P450 ve kimyasal sinapslar üzerinden geçiş dikkat çekmektedir.

Nikotinik asetilkolin reseptörü ligand kapılı iyon kanallarının bir üyesidir. Reseptör asetilkolini bağladığında iyon kanalının tüm alt birimleri açılır ve plazma zarına iyon iletilir. *CHRNA7* myoklonik epilepsi (113), şizofreni (114), Alzheimer (115), bağımlılık (116) ve otizm (117) gibi hastalıklarda çalışılmıştır ve terapötik bir hedef olarak görülmektedir. 15q13.3 mikrodelsyon sendromu nadir bir genetik bozukluktur. Bozukluğa kromozomun 15q kolu üzerindeki mikroskobik düzeyde delesyonlar neden olur. *CHRNA7*, bu lokusta en küçük mikrodelsyonları içeren vakalarda tamamen silinmiş tek gendir.

Etkilenen bireyler, genellikle gelişimsel gecikme/zihinsel engellilik, epilepsi ve otizm spektrum bozukluğunu içeren değişken nörolojik ve davranışsal fenotipler gösterir. Hastalarda kısa dikkat süreleri, agresif davranışları, duygu durum bozuklukları veya şizofreni vardır. Davranışsal çalışmalar, CHRNA7 eksik farelerin dikkat eksiklikleri olduğunu, ancak başlangıçtaki davranışsal yanıtlar, öğrenme, bellek ve sensorimotor geçitlerin normal olduğunu göstermektedir.

Kronik migrenli hastalarda yapılan çalışmalar pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinin bu hastalarda arttığını göstermiştir. Çünkü inflamatuvar genlerin transkripsiyonu upregüledir (118). In vivo ve in vitro deneyler, astrosit ve mikroglia aktivasyonunun, pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu hızlandırdığını ve ilgili genlerin migrene katkısı olduğunu göstermiştir (119) ve mikroglial aktivasyon ile akut ağrı uyarılır. Ayrıca, hem mikroglia hem de astrositlerin migren gibi depresyonla ilişkili kortikal yayılan hastalıklara katıldığı gösterilmiştir (120) (121).

Kolinerjik antiinflamatuvar yolağın aktivasyonu migrene profilaktik bir yaklaşımdır. Çalışmalar $\alpha 7nAChR$ 'nin nöronal korumaya katkısı olduğunu göstermektedir (122). $\alpha 7nAChR$ aktivasyonu, nöroinflamasyonda önemli anti-inflamatuvar etkiler gösterir ve $\alpha 7nAChR$ agonistlerinin ayrıca kronik nöropatik ağrıdaki hiperaljezik etkileri hafiflettiği gösterilmiştir (123). Hipokampus uzun zamandır bilişle ilişkilendirilir fakat giderek daha fazla çalışma hipokampusun migrende rol oynadığını göstermiştir (124). Bu reseptörle yapılan çalışmalar ağrının azaldığı yönünde veriler sunmaktadır.

Migrenin genetik temelini aydınlatılmasında genellikle tek nükleotid polimorfizm (Single nucleotide polymorphism-SNP) çalışmalarından yararlanılmıştır. Kuşkusuz, CNV'ler giderek tıbbi genetik konusunda önemli araştırmaların odağıdır ve araştırmaları, psikiyatrik ve nörogelişimsel fenotiplerin genetik temellerini karakterize etme çabalarında özellikle önemli olmuştur. CNV'ler; genellikle referans genomuna göre bireyler arasında kopya sayısı değişkenliğini gösteren 1 kb büyüklüğündeki genomik segmentler olarak tanımlanır (125). Kromozom 15q13, alelik olmayan homolog rekombinasyonu (NAHR) kolaylaştıran düşük kopya tekrarlı (LCR) elemanların varlığı nedeniyle bu CNV'ler için bir sıcak noktadır. Bu CNV'lerin birçoğu nöropsikiyatrik bozukluğu olan bireylerde aşırı temsil edilmiştir; ancak değişken ekspresyon ve eksik penetrasyon yaygın olarak görülür. CHRNA7 geninin dozaj

hassasiyetinin, gözlemlenen bilişsel ve davranışsal fenotiplere büyük bir katkısı olduğu ileri sürülmüştür, çünkü tüm 15q delesyonları ve kopyaları için en küçük örtüşme bölgesini temsil etmektedir.

Sıfırdan dörde kadar CHRNA7 kopyasına sahip olan bireyler literatürde bildirilmiştir ve delesyonlar genellikle daha şiddetli ve daha yüksek penetran fenotiplere neden olan bir dizi klinik şiddeti temsil etmektedir. CNV'ler, otizm spektrum bozukluğu (ASD), şizofreni ve zihinsel yetersizlik (ID) dahil olmak üzere birçok nöropsikiyatrik durumda gösterilmiştir. 15q13.3 bölgesindeki CNV'ler eksik penetrans gösterirler ve delesyonlar vakaların yaklaşık %80'inde nöropsikiyatrik fenotiplere ve en çok daha düşük penetrasyona sahip kopyalara neden olur (126). Bu CNV'lerin bulunduğu CHRNA7 geni ise hastalarda gözlenen nöropsikiyatrik fenotiplerde majör role sahiptir.

Bu tezde Migren hastalığında CNV'lerin durumu ve CNV'lerin üzerinde bulunduğu genin ekspresyonuna etkisi hastalığın tüm klinik bulgularıyla birlikte analiz edilmiştir. Daha önce de bahsedilen reseptör mekanizmasında önemli yere sahip gen ifadesinin tespit edilmesi ve kopya sayısı ile ilişkisinin gösterilmesi migrenin genetiğinde ve patolojisindeki etkilerini ortaya koyabilecektir. En önemlisi terapötik hedef olma potansiyelini artırabilecektir. Geni seçme sebeplerimiz arasında tüm bu bilgiler ışığında terapötik potansiyeli olması, ekspresyon düzeyinin ve CNV sayısının etkili olabileceğinin ön görülmesi yer almaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda nikotin sakızının analjezik etkisinin gösterildiği uygulamalarla nAChR α 7 reseptörü üzerindeki etkisi sonucu ağrının azaldığının tespit edilmesi bu reseptörün davranışının migrenle ilgili olabileceği konusundaki iddiamızı güçlendirmektedir (127).

Migren hasta grubumuzda elde ettiğimiz ekspresyon verileri literatürde ilk olması bakımından önem taşımaktadır. Birçok nörolojik ve psikiyatrik hastalıkta etkisi ortaya konulmuş olmasına rağmen migrende karakterize edilmemiştir.

CHRNA7 protein ekspresyonu adrenal bez, paratiroid bezi ve ovaryumda en yüksek düzeyde, hipokampusta orta düzeyde ifade edilmektedir (128). Genin ekspresyonunun azalması fonksiyonunun azalması demektir ve şizofreni, bipolar düzensizlik, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (ADHD), Alzheimer, otizm ve epilepsi gibi pek çok hastalıkla ilişkilidir. Genin ekspresyonunun regüle edilmesi ve fonksiyonu karmaşıktır. Ebevyenlerin genlerinin kısmi duplikasyonu ya da delesyonunu içeren farklı mekanizmalar mevcuttur.

$\alpha 7nAChRs$ 'ler pre-ve post-sinaptik olarak yerleşim gösterebilir. Ayrıca çeşitli beyin kökenli hastalıklarla ilişkili olarak periferik kanda da ifadesi mevcuttur ve genellikle downregüledir (129) (130). *CHRNA7* geni CNV'leri için hem delesyon hem de duplikasyona sahip olan hastalarda benzer nöropsikiyatrik fenotip sergiledikleri tespit edilmiştir. Bu sonuç insan beyninin *CHRNA7* dozajına duyarlı olduğunu göstermektedir (131).

Periferik kan örneklerini çalıştığımız migren grubumuzda *CHRNA7* geni bahsedilen çalışmalarda diğer hastalıklarda olduğu gibi downregüledir. Tüm kanda ekspresyonu bulunduğu gibi migren hastalarında da anlamlı derecede ekspresyonu azalmıştır. Genin aktivitesinin kaybolması, normalde aktive durumda nöroinflamatuvar cevabı azaltan $\alpha 7nAChR$ 'nın bu etkisinin kaybolarak migrenin oluşumuna yol açması demektir. Sonuç olarak *CHRNA7* geninin ekspresyonunun azalması, $\alpha 7nAChR$ 'ın inaktivasyonu ile migrenin oluşuma katkıda bulunabilir.

Migren hastalarına ait klinik değişkenler incelendiğinde sigara kullanımı, diyabet, hipertansiyon gibi ek etkenlere maruz kalan birey sayısı grubumuzda oldukça azdır ve gen ekspresyonunu etkilemediği izlenmektedir.

Sigara kullanan migren hastalarında atakların baş ağrısını tetiklediğini bilinmektedir (132). Buna dayanarak içen hasta sayısının da az olması ve bu etkenin dışlanabilmesi için hasta seçiminde de dikkat edilen bir nokta olması sebebiyle gen ekspresyonu üzerinde bir etkisi bulunmadığı söylenebilir.

Ayrıca migren insülin direnci ve tip 2 diyabet ile de ilişkilidir (133). Fakat genetik çalışmalarda hastalık sebebi araştırılırken ilgilenilen genin etkisini azaltacak altta yatan diğer sebeplerin dışlanması oldukça önemlidir. Grubumuzda diyabetli hasta sayısı 6'dır ve gen ekspresyonu ile ilişkili değildir.

Migren ve hipertansiyon birlikteliğinde migren hipertansiyonun bir semptomu olarak yer alır. Ayrıca kan basıncının kontrol edilememesi migrenin sıklığını ve ciddiyetini artırır (134). Sadece 7 hastamızda hipertansiyon söz konusudur ve bu durum hem grubun sterilitesini hem de bu faktörün dışlandığını göstermektedir. Dolayısıyla genin down-regülasyonu ile ilişkisi bulunmamaktadır.

Tek genlerde (monojenik) mutasyonların neden olduğu nadir migren bozukluklarının yanı sıra birçok gendeki (polijenik) polimorfizmlerle ilişkili yaygın migrenin ailesel kümelenmesi kadar güçlü bir genetik temele sahiptir. Genetik temelin

kesin olarak spesifik bir mutasyona veya polimorfizme bağılı olduğu durumda sonraki kuşaklara aktarılma ihtimali de söz konusudur.

Ayrıca migren tipleri bakımından incelendiğinde epidemiyolojik çalışmalar ayrıca auralı migrenin ailelerde aurasız migrenden daha derin bir şekilde kümелendiğini göstermiştir. Migrenin yaygın olan formlarının kalıtsallığını değerlendirmek için yapılan bir çalışmada auralı pediatrik migren hastaları ve aile hikâyesi arasındaki ilişki araştırılmıştır (135). Bu hastaların ailesinde migren öyküsü olması, aurasız pediatrik migren hastalarına göre daha büyük olasılıktır. Ayrıca migrenin ebeveyn öyküsü olan çocuklarda aile öyküsü negatif olan çocuklara göre daha genç yaşta ortaya çıktığı gösterilmiştir (136).

Genetik temel hala bilinmemekle birlikte, yukarıda belirtilen çalışmaların bulguları, MA ve MO arasındaki kalıtım paterni farklılıkları ve kuşaklar arasındaki başlangıç yaşındaki farklılıkları ortaya koyan migrenin kalıtsallığını vurgulamaktadır. Ayrıca birinci derece akrabalarının auralı ve aurasız migren riskinde artış olduğu bulunmuştur (137). Bununla birlikte, bu çalışmaların önemli bir sınırlaması, aura ve aile öyküsüne dayalı gruplamalar ile hasta gruplama yöntemidir. Grubumuzda aile öyküsü olan 60 birey, olmayan 42 birey bulunmaktadır. Fakat *CHRNA7* geni ekspresyonu ile aile öyküsü arasında ilişki bulunmamaktadır. Migrenden primer sorumlu olmayan ancak multifaktöriyel olarak etkisi bulunabilecek bir genidir ve hastalıkla ilişkisini gösteren mutasyon, polimorfizm gibi kesin sonuçlar bulunmamaktadır ve aile öyküsü ile bağlantılı olmaması beklenen bir sonuçtur.

Migren hastalarında cinsiyetin öneminin kadın bireylerde saha fazla olduğunu biliyoruz. Migrende cinsiyetin önemini ortaya koyan tüm çalışmalarda olduğu gibi bu tezde de migren ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($P=0.001$). Kadın cinsiyet hormonlarının migren gelişiminde büyük rol oynadığına ve muhtemelen bu hastalıkta gözlenen cinsiyet farklılıklarına katkıda bulunduğuna inanılmaktadır. Migren prevalansı oranı, yaşam boyu büyük hormonal değişiklik dönemleri ile ilişkili olduğu için görülebilir. Hormonlardaki dalgalanmalardan kaynaklanan migren prevalansındaki değişiklikler, hormonal döngülerin doğası nedeniyle kadınları orantısız olarak etkiler. Genellikle migrenle ilgili genetik çalışmalarda hangi gen söz konusu olursa olsun cinsiyetin ilişkili olması dikkat çekicidir. Böyle bir sonuç kadınlarda migrenin sıklığının genle bağlantısından çok cinsiyet hormonları reseptör bağlanması, çevresel strese

maruziyet ağrı ve strese cevaptaki farklılıklar ve en önemlisi kadının yaşam siklusundaki farklılıklardan (premenopoz, postmenopoz) kaynaklandığını göstermektedir.

Yaklaşık eşit sayıda bireyden oluşan auralı ve aurasız migren tipleri ile *CHRNA7* gen ekspresyonu arasında ilişki bulunmamaktadır. Genlerin etkisi migrenin bu iki tipinden çok ailesel monogenik ve poligenik şekilde izlenir. Hemiplejik migren nadir bir auralı migren tipidir. İyon kanallarını ve proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar hastalığa sebep olur. Hücrel ve hayvan modellerindeki fonksiyonel çalışmalar, genel olarak beyni kortikal yayılan depresyona daha yatkın hale getiren mutasyonların, aura semptomlarıyla çakıştığı düşünülen bir fenomen olan glutamaterjik nörotransmisyon ve kortikal hipereksitabilite ile sonuçlandığını göstermektedir.

CHRNA7 gen ekspresyonu ile migrenin tipleri arasında bu mekanizmalar üzerinden gerçekleşen bir ilişki bulunmadığı ve genin down-regülasyonunun tipleri arasında bir farklılık gözetmediği düşünülmektedir. Migren hastalarımızın ağrının süresi, bulunduğu taraf, yeri, başlangıç biçimi, otonominin eşlik etmesi, fonofobi, fotofobi, şiddeti, MİDAS ölçeği, provoke eden faktör varlığı ya da yokluğu, mood değişikliği ve migren eşdeğeri öyküsü gibi klinik bulguları ile gen ekspresyonu arasında ilişki bulunmamaktadır. Bu nitelikler hastalığın kesin belirleyici olmadığı ve primer derecede genler üzerinden çalışan bir mekanizmaya sahip olmamaları sebebiyle gen ekspresyonu ile ilişkili değildir.

Baş ağrısı ataklarının sıklığı, yaklaşık olarak haftada bir kez veya ayda bir ila yılda bir kez ve süre olarak bir saat kadar az bir süre ile üç gün arasında değişir. Migren ataklarının sıklığındaki değişkenlik, hem birey tarafından taşınan genetik bileşen hem de çevresel tetikleyici faktörlerle ilişkilidir (138).

Gen ekspresyonu çevresel ve endojen olaylara göre dalgalanır ve bu nedenle migren atağı sırasında değişiklikleri ortaya çıkarması muhtemeldir. Gen ekspresyonunun zaman içindeki dalgalanma özelliği, zamansal bir tasarımı mümkün kılar, yani hastalık semptomlarının dalgalanması sırasında gen ekspresyonundaki değişiklikleri takip eder. Böylece, bireysel zamansal değişikliklerin analizi migren atağında yer alan moleküler mekanizmaları inceleme imkânı verir. Fakat multifaktöriyel bir hastalıkta direkt sorumlu geni ve atak sırasındaki değişimleri bulmak güçtür. Migren atakları sırasında ve atak dışında RNA ekspresyonundaki değişimlerin ölçüldüğü bir çalışmada gendeki

değişimlerden dolayı iyonların transmembran taşınımı ve strese cevap gibi moleküler mekanizmaların değiştiği tespit edilmiştir (139). Buradaki bulgular migrenin sıklığı ve *CHRNA7* gen ekspresyonu arasındaki ilişki bakımından haftada bir iki ağrı sıklığı bulunan bireylerde gen ekspresyonunun oldukça azaldığı izlenmektedir. Dolayısıyla migren sıklığı ile gen ekspresyonu arasındaki bağlantı bu çalışmada net olarak izlenebilmektedir. Genin ekspresyonunun önemli derecede azalması metabolik yolaktaki mekanizmaların fonksiyon kaybına uğramasından kaynaklanabilir. *CHRNA7* geni üzerindeki mutasyon ve polimorfizmlerden ziyade genin dozajını değiştiren gen duplikasyonu ve delesyonu daha fazla ön olana çıkmaktadır.

Gendeki nadir bir delesyon gelişme geriliği ve zihinsel yetersizlik ile ilişkilendirilmiştir (140). Genin duplikasyonu ise otizm ve zihinsel yetersizlik bulunan 2 hastada tespit edilmiştir (141). Genin yerleşim bölgesi olan 15q13.3 mikrodelesyonu ise nörogelişimsel fenotiplerle bağlantılıdır. Gen üzerinde belirgin bir mutasyon ve polimorfizm (çoğunlukla ekspresyondaki değişimlerin sebebidirler) bulunmaması gen ekspresyonundaki düşüşün bu iki problemten değil CNV'ler ya da epigenetik elemanlar ya da düzenleyici diğer faktörlerden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Ağrı kesicilerin gen ekspresyonu üzerindeki etkileri daha açıktır. Günde birkaç tane ağrı kesici kullanan bireylerde *CHRNA7* gen ekspresyon düzeyi oldukça düşüktür ve bu iki parametre arasında güçlü bir ilişki mevcuttur ($P=0.009$). Ağrı kesici kullanımının sıklığı kadar ağrı kesicinin tipi de önem taşımaktadır. Ağrı kesiciler ile birlikte antienflamatuvar kombinasyonların eşlik etmesi gen ekspresyonu farklı düzeylerde değiştirebilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Migrene yatkınlık genetik varyasyonların birbirleriyle olduğu kadar çevresel ve yaşam tarzı faktörleriyle etkileşiminin bir sonucudur.
2. Literatürde hem CNV'lerin migrendeki durumu hem de *CHRNA7* genindeki CNV sayısı ve genin ekspresyonu ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.
3. $\alpha 7nAChR$ 'in ligand kapılı iyon kanalıdır, ağrı da dahil bazı nörolojik hastalılarda etkilidir.
4. $\alpha 7nAChR$ eksikliği inflamatuvar kronik ağrı davranışlarını şiddetlendirirken, $\alpha 7nAChR$ fonksiyon kazancı bu yanıtları kısmen tersine çevirmiştir.
5. Migren hastalarımızda sağlıklı kontrol bireylerine göre azalan kopya sayısı ve artan kopya sayıları ile migren olma riski arasında ilişki tespit edilmiştir. Ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre 4.26 kat azalma olduğu bulundu.
6. Migren hastalığının etiyolojisinde görevli olduğu düşünülen *CHRNA7* genindeki kopya sayısı varyasyon analizlerinde, hasta grubunda azalmış ve artmış kopya sayısı varyasyonu kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). Migren hastalarında *CHRNA7* genindeki azalmış CNV sayısı (< 2) kontrollere göre daha düşüktür. Gendeki azalmış kopya sayısı normal kopya sayısına göre eksilme yani delesyon olduğunu ifade etmektedir.
7. Hem migren hem de kontrol grubunda gen ekspresyon düzeyleri kopya sayılarına göre istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P > 0.05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da ortalamalar dikkate alındığında; CNV kopya sayıları ve *CHRNA7* gen ekspresyon verileri arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Hastalarda azalmış kopya sayısı olduğu durumda (< 2), ekspresyon değeri (6.49 ± 27.94) ile kontrollere göre, kopya sayısının az olduğu durumda (< 2), ekspresyon değeri (27.73 ± 9.96) arasında anlamlı bir düşüş vardır (4.27 kat). Ancak migrenli bireyler arasındaki azalmış, normal ve artmış kopya sayıları ile ekspresyon değerleri ile ilişkisi bakımından farklılık gözlenmemiştir.

- 8.** Migren grubumuzda aile hikâyesi bulunan 40 birey, aile hikâyesi bulunmayan 32 birey bulunmaktadır. İlişki bulunmaması çalışılan bu CNV için ailesel aktarım olmadığını düşündürmektedir
- 9.** Migren tipleri ile CNV ilişkisi incelendiğinde; auralı bireyler aurasız bireylerin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. CNV sayılarının migren tipleriyle ilişkili olmaması hasta tiplerinin sayısal farklılığından kaynaklanabilir.
- 10.** Gen ekspresyonundaki düşüşün ağrının sıklığını etkilediği, ağrı kesicilerin kullanımının ve sıklığının gen ekspresyonunu azalttığı ve diğer hasta karakteristiklerinin gen ekspresyonu ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.
- 11.** DM ($P=0.019$) ve fotofobi ($P=0.015$) ile CNV sayıları arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır.
- 12.** DM ile *CHRNA7* geni ekspresyon düzeyleri arasında ilişki bulunmazken gen üzerindeki CNV sayısı ile DM arasında anlamlı ilişki bulunması diyabet olmama durumunun etkisi nedeniyle ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bu sonuç diyabetin etkisinin dışlanabilmesi için önemli bir kanıttır.
- 13.** Fotofobi ile azalmış CNV sayısına sahip hastalarda kopya sayısı delesyonu ile fotofobi arasında ilişki olması delesyona bağlı olarak ortaya çıkmış olabileceğini göstermiştir.
- 14.** Diğer değişkenler ile CNV sayıları ilişkili olmadığı gibi etkili de değildir ($P<0.005$). Bu sonuç klinik değişkenlerin ekspresyon üzerinde etkisi olabileceğini fakat CNV sayılarında direkt etkisi olmadığını göstermiştir.
- 15.** Genomlarımızın DNA dizisindeki farklılıklar, benzersizliğimizi artırır. Bu değişiklikler hastalığa yatkınlık dâhil çoğu özelliği etkiler. CNV'ler genellikle genleri kapsadığından, hem insan hastalıklarında hem de ilaç tepkisinde önemli rollere sahip olabilirler. Hastalıklarla bağlantısının ortaya çıkarılması hem tedavi süreçleri hem de oluş mekanizmalarının düzeltilebilmesi bakımından önem taşımaktadır.
- 16.** Migren hasta grubumuzda elde ettiğimiz ekspresyon verileri literatürde ilk olması bakımından önem taşımaktadır. Birçok nörolojik ve psikiyatrik hastalıkta etkisi ortaya konulmuş olmasına rağmen migrende karakterize edilmemiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Current Diagnosis And Treatment. Neurology. Lange Medical Books. Edited By John C. M. Brust 2007: 64- 69.
2. GILLENTINE, Madelyn A., et al. CHRNA7 copy number gains are enriched in adolescents with major depressive and anxiety disorders. Journal of affective disorders, 2018, 239: 247-252.
3. Liu, Qing, et al. "α7 Nicotinic acetylcholine receptor-mediated anti-inflammatory effect in a chronic migraine rat model via the attenuation of glial cell activation." Journal of Pain Research 11 (2018): 1129.
4. Boes CJ, Capobianco DJ, Cutrer FM, Dodick DW. Headache and other craniofacial pain. İcinde Bradley Wg, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic j (Ed) Neurology in Clinical Practice, 5 th edition Philadelphia: Elseiver 2008:2011-2059.
5. J Goadsby, Peter & Lipton, Richard & D Ferrari, Michel. (2002). Migraine — Current Understanding and Treatment. The New England journal of medicine. 346. 257-70. 10.1056/NEJMra010917.
6. Özer C. Birinci basamakta baş ağrılı hastaya yaklaşım. Aile Hekimliği Dergisi; 2006; Eylül-Ekim: 60-62.
7. Goadsby, Peter & Lipton, Richard & Ferrari, Michel. (2002). Migraine — Current Understanding and Treatment. The New England journal of medicine. 346. 257-70. 10.1056/NEJMra010917.
8. 2. The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). Cephalalgia. 2013;33(9):629-808.
9. Silberstein SP, Lipton RB, Goadsby PJ ve ark. (Çev. Ed. Ertas ve ark), KlinikUygulamalarda Bas Ağrısı, Yelkovan Yayıncılık İletişim ve Reklam HizmetleriLtd. Sti, İstanbul. 2004;47-112.
10. İltuş F. Migrende 24 saatlik yaşam kalitesi ölçeğinin Türkiye’deki geçerlilik ve güvenilirliği. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2007.
11. Demirel H. Migren ve epizodik gerilim tipi baş ağrılarının hematolojik parametrelerle ilişkisi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Nöroloji Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2007.

12. Saip S. Küme Bas Ağrısı ve diğer seyrek görülen Primer Bas Ağrıları. Siva A,Hancı M.(ed). Bas, Boyun, Bel Ağrıları. İ.Ü. Cerrahpasa Tıp Fakültesi SürekliTıp Eğitimi Yayınları, İstanbul. No:30. 2002; 55-67 .
13. Bradley WG, Daroff BR, Fenichel GM, Jankovic J, Ed: Tan E, Özdemir SE Neurology in Clinical Practice. 5. Baskı, Ankara: Kalkan Matbaacılık, 2008;134-210, 2011-2059.
14. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Öğretim Üyeleri, Ed: Öge EA, Baykan B. Nöroloji. İkinci baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2011; 373-393.
15. Ertas M. Migren Türkiye Klinikleri J Neur 2003; 1: 116-123.
16. Baykan B, Ertas M, Karli N, et al. Migraine incidence in 5 years: a population-based prospective longitudinal study in Turkey. J Headache Pain 2015; 16: 103.
17. Lipton, Rb., Stewart, Wf., Von Korff, M.: Burden Of Migraine: Societal Costs And Therapeutic Opportunities. Neurology, 1997;48 (Suppl 3): S4-9.
18. Lewis Ad, Winner P: Migraine, Migraine Variants, And Other Primary Headache Syndromes. In: Winner P, Rothner Ad (Eds). Headache İn Children And Adolescents. Bc Decker Inc, London, 2001; 60-86.
19. Lipton RB, Bigal ME, Hamelsky S, Scher AI. Headache: Epidemiology and Impact. İcinde Silberstein SD, Lipton RB, Dodick DW (Ed) Wolff's Headache and Other Head Pain, 8 th Edition New York Oxford University Press. 2008: 45-62.
20. Lipton Rb, Bigal Me The Epidemiology Of Migraine. Am J Med 2005; 118(1): 3s–10s.
21. Bolay H, Dalkara T. Birincil Bağağrılarının Fizyopatolojisi. Sayı Editörü: Vural O. Bağ Ağrısı Özel Sayısı, Türkiye Klinikleri, Cilt/Vol:1 Sayı/No:2 Ağustos 2003. Sayfa: 98-102.
22. Ertas M., Baykan B., Kocasoy Orhan E., Zarifoglu M., Karli N., Saip S. ve ark., One-Year Prevalence And The İmpact Of Migraine And Tension-Type Headache İn Turkey: A Nationwide Home-Based Study İn Adults J Headache Pain. Published Online .
23. Bolay H, Dalkara T. Birincil Bağağrılarının Fizyopatolojisi. Sayı Editörü: Vural O. Bağ Ağrısı Özel Sayısı, Türkiye Klinikleri, Cilt/Vol:1 Sayı/No:2 Ağustos 2003. Sayfa: 98-102.

24. Silberstein SP, Lipton RB, Goadsby PJ ve ark. (Çev. Ed. Ertas ve ark), Klinik Uygulamalarda Baş Ağrısı, Yelkovan Yayıncılık İletişim ve Reklam Hizmetleri Ltd. Sti, İstanbul. 2004;47-112.
25. Hauge, A. W., Kirchmann, M. ve Olesen, J. (2011). Characterization of consistent triggers of migraine with aura. *Cephalalgia*, 31(4), 416-38.
26. www.istabip.org.tr/media/upload/deta/kg/cilt20sayi3/3_genetik_agri.pdf (Aydınlı I, Keskinbora K. Genetik, ağrı ve analjezi, 2010).
27. Zompo M, Cherchi A, Palmas M et al. Association between dopamine receptor genes and migraine without aura in a Sardinian sample. *Neurology* 1998; 51: 781-786.
28. Mochi M, Cevoli S, Cortelli P, et al. A genetic association study of migraine with dopamine receptor 4, dopamine transporter and dopamine-beta-hydroxylase genes. *Neurol Sci.* 2003; 23: 301–305.
29. Tzourio C, El Amrani M, Poirier O et al. Association between migraine and endothelin type A receptor (ETA -231 A/G) gene polymorphism. *Neurology* 2001; 56: 1273-1277.
30. Hisanori K, Fusayasu E, Ijiri T. Association of the insertion-deletion polymorphism of the angiotensin-I converting enzyme gene in patients of migraine with aura. *Neurosci Lett.* 2005; 374: 129-131.
31. 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):129-33.
32. Yılmaz M, Erdal ME, Herken H, Osman C, Çataloluk O, Barlas Ö, Bayazit YA. Significance of serotonin transporter gene polymorphism in migraine. *Journal of the Neurological Sciences.* 2001; 186 :27–30.
33. Borroni B, Rao R, Liberini P, Venturelli E, Cossandi M, Archetti S, Caimi L, Padovani A. Endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) polymorphism is an independent risk factor for migraine with aura. *Headache.* 2006; 46(10) :1575-9.
34. Emin Erdal M, Herken H, Yılmaz M, Bayazit YA. Significance of the catechol- O-methyltransferase gene polymorphism in migraine. *Brain Res Mol Brain Res.* 2001; 94 (1-2):193-196.

35. Rainero I, Salani G, Valfre W, Savi L, Rivoiro C, Ferrero M et al. Absence of linkage between the interleukin-6-gene (-174G/C) polymorphism and migraine. *Neurosci Lett*. 2003; 343 (3):155-158.
36. Sherifa A. Hamed. The vascular risk associations with migraine: Relation to migraine susceptibility and progression. *J.Atherosclerosis*. 2009; 205 (1): 15-22.
37. Xiao Y1, Richter JA, Hurley JH. Release of glutamate and CGRP from trigeminal ganglion neurons: Role of calcium channels and 5-HT1 receptor signaling. *Mol Pain*. 2008;16;4:12.
38. Dalkara T, Zervas NT, Moskowitz MA. From spreading depression to the trigeminovascular system. *Neurol Sci*. 2006;27 Suppl 2:S86-90.
39. Weiller C, May A, Limmroth V, Jüptner M, Kaube H, Schayck RV, Coenen HH, Diener HC. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med* 1995;1(7):658-660.
40. Knight YE, Bartsch T, Kaube H, Goadsby PJ. P/Q-type calcium-channel blockade in the periaqueductal gray facilitates trigeminal nociception: a functional genetic link for migraine? *J Neurosci* 2002;22(5):RC213.
41. Zenbilci N. Sinir Sistemi Hastalıkları, 3. baskı, s 471.
42. Emre M (ed.) (2013), Nöroloji Temel Kitabı.İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri, , s 131-42.
43. Baykan B, Ertas M, Karli N, et al. Migraine incidence in 5 years: a population-based prospective longitudinal study in Turkey. *J Headache Pain* 2015; 16: 103.
44. Bigal ME, Lipton RB. Modifiable Risk Factors for Migraine Progression; *Headache* 2006;46: 1334-43.
45. Scher AI, Stewart WF, Ricci JA ve ark. Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain* 2003;106(1-2): 81-9.
46. Rice AM and McLysaght. Dosage sensitivity is a major determinant of humancopy number variant pathogenicity. *Nature Communications*. 2017;8(1):1-11.
47. O'Huallachain M, Karczewski KJ, Weissman SM, Urban AE, and Snyder MP. Extensive genetic variation in somatic human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109:18018–18023.

48. Hastings PJ, Lupski JR, Rosenberg SM, Ira G. Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews Genetics*. 2009;10(8):551-564.
49. Palacios R, Palacios-Flores K, Flores M, and Davila G. Rearrangements. Reference Module in life Science. 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.06999-5.
50. Anand RP, Lovett ST, and Haber JE. Break-Induced DNA Replication. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2013;5(12):a010397.
51. Kobayashi T and Ganley AR. Recombination regulation by transcription-induced cohesin dissociation in rDNA repeats. *Science*. 2005;309(5740):1581-1584.
52. Lieber MR. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(1):1-5.
53. Schrider DR and Hahn MW. Gene copy-number polymorphism in nature. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2010;277(1698):3213-3221.
54. Schaaf CP. Nicotinic acetylcholine receptors in human genetic disease. *Genetics in Medicine*. 2014;16(2014):649–656.
55. Murray TA, Liu Q, Whiteaker P, Wu J, and Lukas RJ. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunits with a C2 cytoplasmic loop yellow fluorescent protein insertion form functional receptors. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2009;30:828-841.
56. Albuquerque E, Pereira E, Alkondon M, and Rogers S. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*. 2009;89:73–120.
57. Gillentine M and Schaaf CP. The Human Clinical Phenotypes of Altered CHRNA7 Copy Number. *Biochemical Pharmacology*. 2015;97(4):1-11.
58. Flomen RH, Davies AF, Di Forti M, La Cascia C, Mackie-Ogilvie C, and et al. The copy number variant involving part of the $\alpha 7$ nicotinic receptor gene contains a polymorphic inversion. *European Journal of Human Genetics*. 2008;16:1364-1371.
59. Szafranski P, Schaaf CP, Person RE, Gibson IB, Xia Z, Mahadevan S, and et al. Structures and molecular mechanisms for common 15q13.3 microduplications involving CHRNA7: benign or pathological? *Hum Mutat*. 2010;31(7):840-850.
60. Gamazon ER and Stranger BE. The impact of human copy number variation on gene expression. *Briefings in Functional Genomics*. 2015;14(5):352–357.

61. McCarroll SA, Hadnott TN, Perry GH, Sabeti PC, Zody MC, Barrett JC, and et al. Common deletion polymorphisms in the human genome. *Nat Genet.* 2006;38(1):86-92.
62. Somerville MJ, Mervis CB, Young EJ, Seo EJ, del Campo M, Bamforth S, and et al. Severe expressive-language delay related to duplication of the Williams-Beuren locus. *N Engl J Med.* 2005;353(16):1694-701.
63. Lee JA, Madrid RE, Sperle K, Ritterson CM, Hobson GM, Garbern J, and et al. Spastic paraplegia type 2 associated with axonal neuropathy and apparent PLP1 position effect. *Ann Neurol.* 2006;59(2):398-403.
64. Matthew B. Avison. Measuring gene expression. Chapter: 2, Isolation and analysis of RNA, pp:56, New York, NY: Taylor & Francis Group, 2007. isbn:0415374723.
65. Thermo Fisher Scientific, K182002.
66. Livak KJ, and Schmittgen TD. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods* 25, 402–408.
67. van den Maagdenberg A, Nyholt DR, Anttila V (2019) Novel hypotheses emerging from GWAS in migraine? *J Headache Pain* 20(1):5.
68. Di Lorenzo C, Grieco GS, Santorelli FM. Migraine headache: a review of the molecular genetics of a common disorder. *J Headache Pain.* 2012 Oct; 13(7): 571–580.
69. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, et al. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet* 2015; 16:172–183.
70. Hansen RD, Christensen AF, Olesen J. Family studies to find rare high risk variants in migraine. *J Headache Pain.* 2017; 18(1): 32.
71. Sutherland H, Griffiths. Genetics of Migraine: Insights into the Molecular Basis of Migraine Disorders. *Headache: The Journal of Head and Face Pain* 57.4 (2017): 537-569.
72. Andres-Enguix I, Shang L, Stansfeld J, Morahan JM, Sansom MSP, Lafrenière RG. Functional analysis of missense variants in the TRESK (KCNK18) K⁺ channel. *Scientific Reports*, 2012; 2:237.

73. Stewart LR, Hall AL, Kang SH, Shaw CA, Beaudet AL. High frequency of known copy number abnormalities and maternal duplication 15q11-q13 in patients with combined schizophrenia and epilepsy. *BMC Med Genet*. 2011 Nov 25; 12():154.
74. Shen Y, Dies KA, Holm IA, Bridgemohan C, Sobeih MM, Caronna EB. Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics*. 2010 Apr; 125(4):e727-35.
75. Miller DT, Shen Y, Weiss LA, Korn J, Anselm I, Bridgemohan C. Microdeletion/duplication at 15q13.2q13.3 among individuals with features of autism and other neuropsychiatric disorders. *J Med Genet*. 2009 Apr; 46(4):242-8.
76. Van Den Bossche MJ, Johnstone M, Strazisar M, Pickard BS, Goossens D, Lenaerts AS. Rare copy number variants in neuropsychiatric disorders: Specific phenotype or not? *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2012 Oct; 159B(7):812-22.
77. Alsharari SD, Freitas K, Damaj MI. Functional role of alpha7 nicotinic receptor in chronic neuropathic and inflammatory pain: Studies in transgenic mice. *Biochemical Pharmacology* 86 (2013) 1201–1207.
78. McCarroll SA, Hadnott TN, Perry GH, Sabeti PC, Zody MC, Barrett JC. Common deletion polymorphisms in the human genome. Altshuler DM, International HapMap Consortium. *Nat Genet*. 2006; 38(1):86-92.
79. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006; 7(2):85-97.
80. South ST, Brothman AR. Clinical laboratory implementation of cytogenomic microarrays. *Cytogenet Genome Res*. 2011; 135(3-4):203-11.
81. Vermeesch JR, Brady PD, Sanlaville D, Kok K, Hastings RJ. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat*. 2012 Jun; 33(6):906-15.
82. Wilkie AO. Bad bones, absent smell, selfish testes: the pleiotropic consequences of human FGF receptor mutations. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005; 16(2):187–203.
83. Swensen JJ, Keyser J, Coffin CM, Biegel JA, Viskochil DH, Williams MS. Familial occurrence of schwannomas and malignant rhabdoid tumour associated with a duplication in SMARCB1. *J Med Genet*, 2009; 46:68–72.
84. Valsesia A, Macé A, Jacquemont S, Beckmann JS, Kutalik Z. The growing importance of CNVs: new insights for detection and clinical interpretation. *Front Genet*, 2013; 4:92.

85. Valsesia A, Stevenson BJ, Waterworth D, Mooser V, Vollenweider P, Waeber G. Identification and validation of copy number variants using SNP genotyping arrays from a large clinical cohort. *BMC Genomics*, 2012;13:241.
86. Szafransk P, Schaaf CP, Person RE, Gibson IB, Xia Z, Mahadevan S. Structures and Molecular Mechanisms for Common 15q13.3 Microduplications Involving CHRNA7: Benign or Pathological? *Hum Mutat*. 2010; 31(7): 840–850.
87. Cappi C, Hounie AG, Mariani DB, Diniz JB, Silva ART, Reis VNS. An Inherited Small Microdeletion at 15q13.3 in a Patient with Early- Onset Obsessive-Compulsive Disorder. *PloS One*, 2014; 9(10):e1101986.
88. Mexal S, Berger R, Logel J, Ross RG, Freedman R, Leonard S. Differential Regulation of $\alpha 7$ Nicotinic Receptor Gene (CHRNA7) Expression in Schizophrenic Smokers. *J Mol Neurosci*. 2010 Jan; 40(1-2): 185–195.
89. Huang YT, Lin X, Liu X, Chirieac LR, et al. Cigarette smoking increases copy number alterations in nonsmall-cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Sep 27; 108(39): 16345–16350.
90. Yan YX, Li JJH, Xiao HB, Wang S, He Y, Wu LJ. Association Analysis of Copy Number Variations in Type 2 Diabetes-Related Susceptible Genes in a Chinese Population. *Acta Diabetol*, 2018;55(9):909-916.
91. Ramírez-Valverde AG, Antúnez-Ortiz DL, Méndez-Beleche A, Flores-Afaro E, Ascencio-Montiel IJ, Cruz M. Copy Number Variation: Markers and Predictors for Type 2 Diabetes. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015; 53(3):348-55.
92. Prabhanjan M, Suresh RV, Murthy MN, Ramachandra NB. Type2 diabetes mellitus disease risk genes identified by genome wide copy number variation scan in normal populations. *Diabetes Res Clin Pract*, 2016;113:160-70.
93. Gillentine MA, Yin J, Bajic A, Zhang P, Cummock S, Kim JJ, Schaaf CP. Functional Consequences of CHRNA7 Copy-Number Alterations in Induced Pluripotent Stem Cells and Neural Progenitor Cells. *Am J Hum Genet*. 2017 Dec 7; 101(6): 874–887.
94. Iyer J, Girirajan S. Gene discovery and functional assessment of rare copy-number variants in neurodevelopmental disorders. *Brief Funct Genomics*, 2015;14(5):315-28.
95. Liu Y, Liu J, Lu J, Peng J, Juan L, et al. Joint detection of copy number variations in parent-offspring trios. *Bioinformatics*. 2016 Apr 15; 32(8): 1130–1137.

96. Jang GH, Christie JD, Feng R. A method for calling copy number polymorphism using haplotypes. *Front Genet.* 2013; 4: 165.
97. Kubista K, Tosakulwong N, Wu Y, et al. Copy number variation in the complement factor H-related genes and age-related macular degeneration. *Molecular vision* 17(227):2080-92.
98. Olesen J. A neural pathway for photophobia in migraine. *Nature Reviews Neurology*, 2010;6:241-242.
99. McGehee DS, Heath MJ, Gelber S, Devay P, Role LW. Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. *Science.* 1995; 269(5231):1692-6.
100. Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ, Bajwa ZH. An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol.* 2000; 47(5):614-24.
101. Gamazon ER, Stranger BE. The impact of human copy number variation on gene expression. *Briefings in Functional Genomics*, 14(5), 2015, 352–357.
102. GBD 2016 Headache Collaborators. Global, regional, and national burden migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology.* 2018; 17(11):954-976.
103. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd Edition. *Cephalalgia.* 2018;38(1):1-211.
104. GBD 2016 Headache Collaborators. Global, regional, and national burden ve migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology.* 2018; 17(11):954-976.
105. Adams AM, Serrano D, Buse DC, Reed ML, Marske V, Fanning KM, Lipton RB. The Impact of Chronic Migraine: The Chronic Migraine Epidemiology and Outcomes (CaMEO) Study Methods and Baseline Results. *Cephalalgia.* 2015;35(7):563-78.
106. Dodick DW A phase-by-phase review of migraine pathophysiology. *Headache.* 2018; 58(Suppl 1):4–16.
107. Sutherland HG, Albury CL, Griffiths LR. Advances in genetics of migraine. *The Journal of Headache and Pain.* 2019; 20:72.

108. Hansen RD, Christensen AF, Olesen J. Family studies to find rare high risk variants in migraine. *J Headache Pain*. 2017; 18(1): 32) ve ikiz (Yang Y, Zhao H, Heath AC, Madden PAF, Martin NG, Nyholt DR. Shared genetic factors underlie migraine and depression.
109. Maksemous N, Smith RA, Sutherland HG, Maher BH, Ibrahim O, Nicholson GA, et al. Targeted next generation sequencing identifies a genetic spectrum of DNA variants in patients with hemiplegic migraine. *Cephalalgia Reports*. 2019; 2:1-9.
110. van den Maagdenberg AMJM, Nyholt DR, Anttila V. Novel hypotheses emerging from GWAS in migraine? *The Journal of Headache and Pain*. 2019; 20(5):1-7.
111. Di Lorenzo C, Grieco GS, Santorelli FM. Migraine headache: a review of the molecular genetics of a common disorder. *J Headache Pain*. 2012; 13:571–580.
112. Sutherland HG, Griffiths LR. Genetics of Migraine: Insights into the Molecular Basis of Migraine Disorders. *Headache*. 2017;57:537-569.
113. Taske N, Williamson M, Makoff A, Bate L, Curtis D, Kerr M, et al. Evaluation of the positional candidate gene CHRNA7 at the juvenile myoclonic epilepsy locus (EJM2) on chromosome 15q13-14. *Epilepsy Research* 49(2):157-72.
114. Stephens SH, Logel J, Barton A, et al. Association of the 5'-upstream regulatory region of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor subunit gene (CHRNA7) with schizophrenia. *Schizophrenia Research* 109(1-3):102-12.
115. Sawamura N, Ju Y, Asahi T. Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7 as a target molecule of Arctic mutant amyloid β . *Neural Regen Res*. 2018; 13(8): 1360–1361.
116. De Luca V, Wong AHC, Muller DJ, Wong GWH, Tyndale RF, Kennedy JL. Evidence of Association between Smoking and alpha7 Nicotinic Receptor Subunit Gene in Schizophrenia Patients. *Neural Regen Res*. 2018; 13(8): 1360–1361.
117. Bacchelli E, Battaglia A, Cameli C, Lomartire S, Tancredi R, Thomson S, Sutcliffe JS, Elena Maestrini. Analysis of CHRNA7 Rare Variants in Autism Spectrum Disorder Susceptibility. *Am J Med Genet A*. 2015;167A(4):715-23.
118. Perry CJ, Blake P, Buettner C, et al. Upregulation of inflammatory gene transcripts in periosteum of chronic migraineurs: implications for extracranial origin of headache. *Ann Neurol*. 2016;79(6):1000–1013.

119. Eising E, de Leeuw C, Min JL, Anttila V, Verheijen MH, et al. Involvement of Astrocyte and Oligodendrocyte Gene Sets in Migraine. *Cephalalgia*. 2016;36(7):640-7.
120. Shibata M, Suzuki N. Exploring the role of microglia in cortical spreading depression in neurological disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37(4):1182–1191.
121. Ghaemi A, Alizadeh L, Babaei S, et al. Astrocyte-mediated inflammation in cortical spreading depression. *Cephalalgia*. 2018 ;38(4):626–638.
122. Dajas-Bailador FA, Lima PA, Wonnacott S. The $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor subtype mediates nicotine protection against NMDA excitotoxicity in primary hippocampal cultures through a Ca^{2+} dependent mechanism. *Neuropharmacology*. 2000;39(13):2799–2807.
123. Bagdas D, Wilkerson JL, Kulkarni A, et al. The $\alpha 7$ nicotinic receptor dual allosteric agonist and positive allosteric modulator GAT107 reverses nociception in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *Br J Pharmacol*. 2016;173(16):2506–2520.
124. Schwedt TJ, Chong CD, Chiang CC, Baxter L, Schlaggar BL, Dodick DW. Enhanced pain-induced activity of pain-processing regions in a case-control study of episodic migraine. *Cephalalgia*. 2014;34(12):947–958.
125. Gu W, Lupski JR. CNV and nervous system diseases – what's new? *Cytogenet Genome Res*. 2009 Mar; 123(1-4): 54–64.
126. Szafranski P, Schaaf CP, Person RE, Gibson IB, Xia Z, Mahadevan S, et al. Structures and molecular mechanisms for common 15q13.3 microduplications involving CHRNA7: benign or pathological? *Hum Mutat*. 2010; 31:840–50.
127. Liu Q, Liu C, Jiang L, Li M, Long T, He W, et al. $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor-mediated anti-inflammatory effect in a chronic migraine rat model via the attenuation of glial cell activation. *J Pain Res*. 2018; 11: 1129–1140.
128. The Human Protein Atlas. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000175344-CHRNA7/tissue>.
129. Ren C, Tong Y, Li J, Lu Z, Yao Y. The Protective Effect of Alpha 7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Activation on Critical Illness and Its Mechanism. *Int. J. Biol. Sci*. 2017;13:46-56.
130. Jones IW, Westmacott A, Chan E, et al. Nicotinic Acetylcholine Receptor Expression in Alzheimer's Disease: Receptor Densities in Brain Regions of the APP(SWE) Mouse Model and in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Journal of Molecular Neuroscience* 30(1-2).

131. Gillentine M, Schaaf CP. The Human Clinical Phenotypes of Altered CHRNA7 Copy Number. *Biochem Pharmacol.* 2015; 97(4): 352–362.
132. López-Mesonero et al. Smoking as a precipitating factor for migraine: a survey in medical students. *The Journal of Headache and Pain*, 2009; 10 (2):101.
133. Fagherazzi G, El Fatouhi D, Fournier A, et al. Associations Between Migraine and Type 2 Diabetes in Women Findings From the E3N Cohort Study. *JAMA Neurol.* 2019;76(3):257-263.
134. Prentice D, Heywood J. Migraine and Hypertension. Is There a Relationship? *Aust Fam Physician.* 2001;30(5):461-5.
135. Genizi J, Khourieh Matar A, Zelnik N, Schertz M, Srugo I. Frequency of pediatric migraine with aura in a clinic-based sample. *Headache.* 2016;56(1):113–7.
136. Eidlitz-Markus T, Haimi-Cohen Y, Zeharia A. Association of age at onset of migraine with family history of migraine in children attending a pediatric headache clinic: a retrospective cohort study. *Cephalalgia.* 2015;35(8):722–7.
137. Lemos C, Castro MJ, Barros J, Sequeiros J, Pereira-Monteiro J, Mendonça D, et al. Familial clustering of migraine: further evidence from a Portuguese study. *Headache.* 2009;49(3):404–11.
138. Montagna P. Migraine a genetic disease. *Neurol. Sci.* 2008;29 Suppl 1: 47–51.
139. Kogelman JSA, Falkenberg K, Buil A, Erola P, et al. Changes in the gene expression profile during spontaneous migraine attacks. *bioRxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.08.898239>.
140. Mikhail FM, Lose EJ, Robin NH, Descartes MD, et al. Clinically Relevant Single Gene or Intragenic Deletions Encompassing Critical Neurodevelopmental Genes in Patients With Developmental Delay, Mental Retardation, and/or Autism Spectrum Disorders. *Am J Med.*
141. Leblond CS, Heinrich J, Delorme R, et al. Genetic and Functional Analyses of SHANK2 Mutations Suggest a Multiple Hit Model of Autism Spectrum Disorders. *PLoS Genet.* 2012;8(2):e1002521.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	CHRNA7 geni kopya sayısı varyasyonları (CNV), Gen Ekspresyonu ve Migren Riski
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	170

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep
	TELEFON	0342 360 12 00-Dahili 4800
	FAKS	-
	E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Sırma GEYİK
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Nöroloji
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	
	DESTEKLEYİCİ	
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐
		FAZ 2 ☐
		FAZ 3 ☐
		FAZ 4 ☐
		Gözlemsel ilaç çalışması ☐
		Tıbbi cihaz klinik araştırması ☐
		In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları ☐
		İlaç dışı klinik araştırma ☒
		Diger ise belirtiniz :
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZLİ ☐ ULUSAL ☒ ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diger ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diger ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diger ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diger ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama		
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☐				

Gaziantep Üniversitesi
Etik Kurul Başkanlığı
ASLI GİBİDİR

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	CHRNA7 geni kopya sayısı varyasyonları (CNV), Gen Ekspresyonu ve Migren Riski
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	170

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2019/170	Tarih: 17.04.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmancının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmancının/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr.Aysun BARANSEL ISIR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr.Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Muradiye NACAK	TIBBİ FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜRÖLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMATOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Umut ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DİŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Uzm. Dr. Günay KOZAN	KULAK, BURUN, BOĞAZ HASTALIKLARI	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Emine Aybiken YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Recep TÖRK	BANKACI (Kamu Yönetimi)	Ziraat Bankası Gaziantep Bölge Yöneticisi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIRElder Terlan Aldın
M. Fatih Ergülhan
16.05.19