



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MİGREN VE LEPTİN DÜZEYİ İLE LEPTİN G2548A VE
A19G GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

TEZ YÖNETİCİSİ

PROF. DR. DENİZ TUNCEL

DR. RAMAZAN ŞENCAN

UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ-2016

Bu araştırma 2015/1-78D kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü imam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

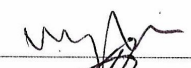


KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

Tıp Fakültesi Dekanlığı'na

Arş. Gör. Dr. Ramazan ŞENCAN tarafından hazırlanan "Miğren Hastalarında Leptin Düzeyi ile Leptin G2548 ve A19G Polimorfizmi Arasındaki İlişki" adlı bu tezin Tıpta Uzmanlık tezi olarak uygun olduğunu onaylım.

Prof. Dr. Deniz TUNCEL
Danışman

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık tezi olarak 18/01/2016 tarihinde kabul edilmiştir.

Tez Değerlendirme Jüri Tutanağı:			İmza:
Başkan	Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE	Nöroloji A.D. Başkanı	
Üye	Prof. Dr. Deniz TUNCEL	Nöroloji A.D. Öğr. Üyesi	
Üye	Doç. Dr. Aylin AKÇALI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji A.D. Öğretim Üyesi	

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Tarih 18/01/2016

Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN

Dekan V.

Bu tez, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım ve basım yönergesine uygundur.

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım anabilim dalı başkanımız saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa Gökçe'ye,
Tezimin tüm aşamalarında büyük emekleri olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Deniz Tuncel'e,
İhtisas eğitimimde büyük katkıları olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih Koçtürk ve Yrd. Doç. Dr. Yılmaz İnanç hocalarıma,
Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Erdem Özyurt, Dr. Sabriye Özçekiç ve Dr. Songül Bavli ile bu süreçte emeği geçen tüm hemşire ve personellerimize,
Tez sürecinde katkılarından dolayı Prof. Dr. Ramazan Güneşar, Prof. Dr. Fatma İnanç Tolun, Doç. Dr. Selma Güler, Dr. İbrahim Halil İnanç, Dr. Özgür Ersoy, Bekir Mehmet Kelleci ve İbrahim Seyfettin Çelik'e
Hayat yoldaşım ve sevgili eşim Burcu Şencan'a ve sevgili kızım Hatice Neva Şencan'a,
Benim üzerimde en fazla emeği olan canım annem, babam ve sevgili kardeşlerime,
Saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Ramazan Şencan

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
GRAFİKLER VE RESİMLER DİZİN.....	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Migren	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Migren kliniği.....	5
2.1.4. Migren sınıflaması.....	7
2.1.5. Migren patofizyolojisi.....	11
2.1.6. Migren genetiği	15
2.2 Leptin	16
2.2.1 Genel bilgiler	16
2.2.2. Leptin reseptörü.....	18
2.2.3. Leptinin santral ve periferik etkileri	20
2.2.4. Leptin G2548A ve A19G gen polimorfizmi	24
2.3. Leptin Ve Migren.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Gereç	28
3.1.1. Örneklerin toplanması.....	28
3.1.2. Beden kitle indeksinin (BKİ) ölçümü	28
3.1.3. Kullanılan cihazlar	28
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler	29

3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Serum leptin düzeyi ölçümü.....	30
3.2.2. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü.....	30
3.2.3. Deneylede kullanılan solüsyonların hazırlanması.....	30
3.2.3.1. Stok solüsyonlar.....	30
3.2.3.2. DNA Ekstraksiyon Solüsyonları	31
3.2.3.3. Elektroforetik analiz solüsyonları.....	32
3.2.4. DNA ekstraksiyonu.....	33
3.2.5. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi	34
3.2.6. PCR-RFLP (Polimer Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi) yöntemi ile leptin geninin (LEP) promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin belirlenmesi	34
3.2.7. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi	36
3.2.8. Leptin geni promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile saptanmasında kullanılan primer dizileri.....	36
3.2.9. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi.....	36
3.3. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR	50
7. KAYNAKLAR	51

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Migrende başlıca prodromal belirtiler (34)	5
Tablo 2. Primer Baş ağrıları (16).....	7
Tablo 3. Baş ağrısı bozuklukları sınıflaması (16)	8
Tablo 4. Migren sınıflaması (16).....	8
Tablo 5. Migren ile ilişkili kromozomal lokuslar (87)	16
Tablo 6. LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği reaksiyon karışımı	35
Tablo 7. LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizmi için PCR programı	35
Tablo 8. LEP promoter bölgesindeki 2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin gösterilmesi için kesim reaksiyonu karışımı	37
Tablo 9. Migrenli hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında Leptin Geni -2548 G/A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması	40
Tablo 10. Migrenli kadın ve kontrol grubu kadınlar arasında Leptin Geni -2548 G/A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması	41
Tablo 11. Migrenli hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında Leptin Geni -19 A/G genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması	42
Tablo 12. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin ve leptin düzeylerinin karşılaştırılması	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Leptinin yapısı (94)	17
Şekil 2. Leptin reseptör izoformları (104).....	18
Şekil 3. leptinin reseptör düzeyinde etki mekanizması (108).....	19
Şekil 4. Leptinin santral sinir sistemi üzerine etkileri (109)	21

GRAFİKLER VE RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. Hasta kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Gen 2548 G/A genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir Bant 100 bç.).....	38
Resim 2. Kontrol kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni -2548 G/A genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir bant 100 bç.).....	39
Resim 3. Hasta kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Gen 19 A/G genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir Bant 100 bç.).....	39
Resim 4. Kontrol kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni -19 A/G genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir bant 100 bç.).....	40
Grafik 1. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Grafik 2. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki leptin düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Grafik 3. Migren hastaları ve kontrol grubunda -2548 G>A polimorfizminin karşılaştırılması.....	45
Grafik 4. Migren hastaları ve kontrol grubunda -19 A>G gen polimorfizminin karşılaştırılması.....	45

KISALTMALAR

NO	: Nitrik Oksit
CGRP	: Calcitonin Gene-Related Peptid
CACNA1A	: Calcium Channel, Voltage-Dependent, P/Q type, Alpha 1A Subunit
ATP1A2	: ATPase, Na ⁺ /K ⁺ Transporting, Alpha 2 (+) Polypeptide
SCNA1	: Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Alpha Subunit
IL	: İnterlökin
JAK-STAT	: Janus Kinaz and Signal Transducer and Activator of Transcription
TAG	: Triacylglycerol
COX	: Cyclooxygenase
CRP	: C-Reaktif Protein
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
NHL	: Non Hodgkin Lymphoma
OSHK	: Oral Squamöz Hücreli Kanser

ÖZET

MİGREN İLE LEPTİN DÜZEYİ VE LEPTİN G2548A VE A19G GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Giriş ve amaç: Migren trigeminovasküler sistemdeki anormalliğin neden olduğu bilinen kronik epizodik bir baş ağrısı sendromu olup, yüksek prevalansı ve işgücünde neden olduğu kayıp dolayısıyla en önemli hastalıklardan biridir. Migrenin obezite, leptin hormonu ve immun sistemle muhtemel ilişkisi son yıllarda ilgi çekmektedir. Leptin hormonu ise antiobezite hormonu olup, mutasyonu ve eksikliği obezite ile sonuçlanmaktadır. Leptinin ayrıca son yıllarda immun sistem ve migrenle ilişkisinde sık çalışılan konulardandır. Ancak migren-leptin hormonu düzeyi ilişkisi ile ilgili sonuçlar çelişkili olup, genetik defekti ile ilgili ise daha önce bir çalışma yapılmamıştır. 2548 ve 19 ise leptin geni üzerinde hormonun salgılanmasını sağladığı düşünülen bölgelerdir. 2548 bölgesinin promotor olduğu düşünülmektedir. 19 ise ekson bölgesidir ve leptinin mRNA'nın üretilmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Bu yüzden çalışmamızda özellikle leptin geninin bu bölgelerini seçtik.

Gereç ve yöntem: Çalışmamıza Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğine ayaktan başvuran 50 kadın ve 12 erkek migren hastası ile 46 kadın ve 14 erkek sağlıklı kontrol alındı. Her iki grubun vücut kitle indeksleri kayıt altına alındıktan sonra, her iki gruptan sabah 08.30-09.30 saatleri arasında mor renkli EDTA'lı tüpe ve jelli sarı biyokimya tüpüne açlık kanı alındı. Jelli tüp ile LDL, HDL, trigliserit ve mikroeliza kit ile leptin hormon düzeyi çalışıldı. Mor renkli tüpte primer ile işaretlenen G2548A ve A19G bölgeleri PCR ile çoğaltılarak saf DNA elde edildi. Daha sonra uygun enzimlerle kesilerek agaroz jel üzerinde yürütme yöntemi uygulandı ve sonuçlar fotoğraflandı. G2548A için jel üzerinde yürütülen bantlar GG, GA veya AA olarak, A19G için yürütülen bantlar ise AA, AG, GG polimorfizmi olarak tanımlanıp istatistiksel anlamlılığı araştırıldı.

Sonuçlar: Hasta ve sağlıklı kontrol grubu yaş ve cinsiyet dağılımı eşit ve dengeli biçimde sağlandıktan sonra VKİ, LDL, HDL, trigliserit, Leptin düzeyi, G2548A ve A19G polimorfizmi ve allel dağılımı açısından karşılaştırıldı.

- Her iki grupta LDL, HDL ve trigliserit ortalamaları açısından anlamlı fark

bulunamadı

- VKİ kadın hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. Erkek hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı.
- Leptin ortalaması kadın hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti.
- Erkek hasta ve kontrol grubu arasında ise istatikselsel olarak anlamlı fark bulunamadı.
- G2548A polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grupları arasında GG, GA, AA genotip dağılımı açısından istatikselsel olarak anlamlı fark bulunamadı.
- G ve A allel dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatikselsel açıdan anlamlı fark bulunamadı.
- A19G polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grupları arasında AA, AG, GG genotip dağılımı açısından istatikselsel olarak anlamlı fark bulunamadı.
- A ve G allel dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatikselsel açıdan anlamlı fark bulunamadı

ABSTRACT

RELATIONSHIP MIGRAINE WITH LEPTIN LEVELS AND LEPTIN G2548A AND A19G GEN POLIMORPHISMS

Introduction and Purpose: Migraine is known as a chronic episodic headache syndrome caused by an abnormality of trigeminovascular system. Because of its high prevalence and causing loss of labour productivity, it is one of the most important disease. In recent years relationship of migraine between obesity, leptin hormone and immune system has taken many interests. Leptin hormone is an anti-obesity hormone and lack or mutation of leptin gene results in obesity. Also the relationship leptin between migraine and immune system is one of the frequently investigated subjects. But datas about relationship between leptin and migraine are conflicting. Up to date, there is no study about genetic defect of leptin encoding gene. 2548 and 19 are the genomic regions on leptin gene which are thought to provide excretion of this hormone. It is thought that 2548 is the promoting zone. The region 19 is an exon region that plays role of producing leptin's mRNA. For that reason, we investigated that regions of leptin gene.

Materials and Methods: For our study, we chose 50 female, 12 male patients who have diagnosis of migraine and also 46 female, 14 male healthy individuals as a control group who are accepted in Outpatients Clinics of Department of Neurology, Kahramanmaraş Sütçü İmam University Hospital. After both group's body mass indexes were enrolled, we got appetite blood samples into two types of tubes (purple tube which contains EDTA and yellow tube contains gel) at 8: 30-09: 30 a.m. LDL, HDL, Triglycerid, Leptin hormone levels were measured in yellow tubes. In purple one G2548A and A19G regions were multiplied by PCR and so that we obtained pure DNA molecules. We carried out cutting procedure with restriction enzyme then made agarose gel electrophoresis and the results were photographed. The described bands on gel for G2548A polymorphism were as GG, GA or AA and for A19G were as AA, AG and GG. We looked for (evaluated) statistical meanings for those polymorphisms.

Results: After patients and healthy groups were arranged equally according to their age and sex, they were compared about their BMI, LDL, HDL, Triglycerid, Leptin levels, G2548A and A19G polymorphisms and genetic allele distributions.

- There was no statistical significance between two groups about mean LDL, HDL and triglycerid levels.
- BMI (body mass index) was higher in female patient group than control group. That was statistically meaningful. There was no statistical significance between male patient and control group.
- Mean leptin levels were higher in female patient group than control group. There was no statistical significance between male patient and control group.
- For G2548A gene polymorphism there was no statistical significance about GG, GA, AA genotype distribution between patient and control groups.
- There was no statistical significance for two groups about G and A allele distributions.
- For A19 gene polymorphism there was no statistical significance about AA, AG, GG genotype distributions between two groups.
- There was no statistical significance for two groups about G and A allele distributions.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Migren otonomik bulgularla seyreden kronik epizodik bir nörolojik sendromdur (1). Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu (International Headache Society)'nin sınıflandırmasına göre primer baş ağrıları içinde yer almaktadır. Auralı ve aurasız olmak üzere iki ana formu bulunmaktadır. Aurasız formu çalışmalar arasında farklılıklar olmakla birlikte tüm migrenlilerin % 80 ini oluşturmaktadır (2). Migren baş ağrısı sendromları içinde şüphesiz en sık görülen hastalıktır (3). Dünya popülasyonunun yaklaşık % 15'ini yani yaklaşık bir milyar kişiyi etkilemektedir (4). Baş ağrısı için acil başvurularında en sık nedenidir (5). Migren baş ağrıları içinde en fazla, tüm hastalıklar içinde ise yedinci sırada iş görmezliğe neden olan hastalıktır (6). Bu denli önemli bir hastalığın altında yatan patofizyolojinin aydınlatılması ve buna uygun tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinde bir o kadar önemlidir.

Migren etyolojisi multifaktöryeldir, genetik ve çevresel etmenlerin birleşiminden meydana gelmektedir (7). Patogenezinde ise daha önceleri saf bir vasküler teori ön planda iken son zamanlarda kompleks nöral, vasküler ve inflamatuvar mekanizmalar daha fazla ön plana çıkmaktadır (1,8). Patogenezinde inflamatuvar markerlerin rolü, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, artmış homosistein düzeyleri, B12 ve folat eksikliği, NO, obezite, leptin gen mutasyonu veya reseptör direncinin etkileri suçlanmaktadır (1,7,9,10,11).

Leptin ob gen ürünü olan adiposit derive bir hormondur. Yeme davranışı ve enerji dengesinde major bir dengeleyici faktördür. Leptin hormonu hipotalamusta yüksek merkezler aracılığı ile obeziteyi engeller (12). Leptin yokluğu veya reseptör direnci obezite ile sonuçlanır. Vücut kitle indeksi (VKİ) ile migren prevalansı arasındaki ilişki net gösterilememesine karşın obezitenin migrenin epizodik formunun kronik forma dönmesi için risk faktörü olduğu bildirilmiştir (13). Leptinin bunun dışında migrenle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Migren patogenezinde ile leptin arasındaki ilişki net bilinmemektedir ve migrenlilerde leptin seviyesi ile ilgili kesin bilgiler bulunmamaktadır, ancak migrenli hastalarda leptin seviyesinin daha düşük olduğu ve proflaktik tedavi sonrası yükselme gözlemlendiğine dair çalışma yayınlanmıştır (14). Daha önce migren hastalarında leptin geni ile ilgili yapılmış bir çalışma

bulunmamaktadır. Biz burada leptin kan düzeyinin ve muhtemel leptin geni promotor G2548A bölgesi ile leptin sekresyonunda yine rolü olduğu düşünölen ekson A19G bölgesinin polimorfizminin migren üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Migren

2.1.1. Tanımı

Migren şiddet, sıklık ve süre bakımından farklılıklar gösterebilen, yineleyici ataklarla karakterize, sıklıkla başın bir tarafına lokalize olan, pulsatil karakterde, ataklara sıklıkla bulantı ve kusma ile ışık ve sese karşı hassasiyetin de eşlik edebildiği primer baş ağrısı türüdür (15).

2.1.2. Epidemiyoloji

Migren Global Burden of Disease Survey (Evrensel Hastalık Yüğü Anketi) 2010'a göre dünya genelinde prevalans açısından üçüncü sırada, iş görmezliğe neden olan hastalıklar arasında ise yedinci sırada bulunmaktadır (16).

Migren prevalansı yaş ve cinse göre değişmektedir. Ergenlik öncesinde migren prevalansı erkeklerde kızlara göre daha yüksektir. Puberte sonrasında kızlardaki prevalansı erkeklere oranla daha hızlı artar. Prevalansdaki bu yükseliş yaklaşık kırklı yaşlara kadar sürer, daha sonra ise azalmaya başlar. En sık başlangıç yaşı ikinci ve üçüncü dekattır. Elli yaş üzerinde migren ataklarının ilk kez başlamasına %2 oranında rastlanır. Tüm çalışmalar migrene kadınlarda daha sık rastlandığını göstermektedir; erkek kadın oranı 1: 2-3'tür (17). Kadınlarda daha sık görülmesinin nedeni kesin olarak bilinmemesine rağmen, kadın cinsiyet hormonlarının bu durumla ilişkili olduğu düşünülmektedir (18). Yaşam boyu prevalans erkeklerde %8, kadınlarda %25'tir (19). Ülkemizdeki prevalans çalışmalarına bakıldığında Marmara, Orta Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde prevalans %11.4-14.7 arasında değişmekte, Ege, Akdeniz ve Doğu-Güneydoğu Anadolu'da ise artmakta ve %20.6-%24 gibi değerlere ulaşmaktadır (20). Yine aynı çalışmada bu tür baş ağrısının eriskin kadınlarda %12-24, erkeklerde ise %5-12 oranında görüldüğü saptanmıştır (20). Ülkemizde yapılan başka bir baş ağrısı epidemiyolojisi çalışmasında ise, 15-55 yaş grubunda migren prevalansı %16.4 olarak bulunmuş olup, bu oran kadınlarda %21.8, erkeklerde %10.9 olarak belirlenmiştir (21) Irklar arasında da prevalansta belirgin farklılıklar vardır. Kadınlar arasında migrenin

görülme oranı beyaz ırkta %20.4 iken, siyahlarda %16.2, Asyalı'larda ise %4.8'dir (22). Stewart ve arkadaşlarının Amerika'da yaptığı bir çalışmada ise beyaz kadınlarda (%20,4), Afrikalı (%16,2) ve Asyalı (%9,2) kadınlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Erkeklerde de benzer bulgular elde edilmiştir. Bu çalışma sonucunda irksal özelliklere dikkat çekilmiş ve genetik yatkınlık desteklenmiştir (23). Çocuklarda migren prevalans değerleri %3–10.6 arasında değişmektedir (24). Migrenin auralı ve aurasız formlarını epidemiyolojik çalışmalarda her zaman belirleyebilmek kolay görünmemektedir, bununla birlikte güvenilirliği yüksek çalışmalarda migrenlilerin %25-30'unun auralı olduğu saptanmıştır (25). Auralı migren için pik insidansın erkeklerde 5 yaş, kızlarda 12–13 yaşlarda görüldüğü; aurasız migrenin ise erkeklerde 10–11, kızlarda 14–17 yaşlar arasında olduğu saptanmıştır. Böylece migren erkeklerde kadınlara oranla daha erken başlamaktadır. Aurasız migren de auralı migrene oranla daha geç ortaya çıkmaktadır (26).

Toplumumuzda migrenin en çok görüldüğü yaş grubunun ise 30–39 arası olduğu belirtilmektedir (25). Remisyonlar genellikle 5.ve 6. dekatlarda olup, kadınlarda menapoz ile büyük oranlarda düzelleme görülmektedir (27). Aile bireylerinden birinde migren olması, o ailenin diğer fertlerinde migren bulunma olasılığını 2–4 kat arttırmaktadır (25). Hastaların %15'i yılda 8 ila 14, %9'u ise 14'ten fazla atak geçirir. Atak şiddeti hastaların %85'inde ağır, %15'inde ise daha hafif düzeydedir (28). Ortalama atak süresi 24 saattir. Hastaların en azından %10'u haftada bir atak yaşarlar. % 20 olguda 2-3 gün süren ataklar olur (29). Migrenin kişilik özelliklerinin irdelendiği bir çalışmada bu hastaların genellikle ayrıntılara önem veren, obsesif, titiz, aşırı kontrollü, mükemmeliyetçi ve mücadeleci kişiler olduğu ifade edilmiştir (30). Başka bir çalışmada öğrenim düzeyi düşük, eşinden ayrılmış veya dul olanlarda migren daha yüksek oranlarda bulunmuş, kırsal veya kent yerleşimli yaşam ve genelde sosyoekonomik düzey açısından migren prevalansında önemli farklılık gösterilememiştir (20).

Migrenle ilgili bir başka önemli konuda bu hastalığın toplumda bilinirliği ile ilgilidir. Türk Baş Ağrısı Epidemiyolojisi Çalışmasının en önemli verilerinden biri baş ağrıyan kişilerin ilk olarak hangi doktora gittikleri sorusuna verdikleri yanıttır. Buna göre ülkemizde baş ağrıyanların %36.9'u öncelikle bir nöroloğa, %27.8'i bir dahiliye, %16.3'ü bir Kulak-burun-boğaz (KBB), %12'side bir nöroşirürji uzmanına başvurmuştur. Birinci basamak hekimlere başvuranların oranı ise sadece %16.3'tür (31). Ülkemizde baş ağrısı nedeni ile doktora başvuranların oranı ise %38.9 olarak

bulunmuştur. Bu oran kadınlarda %46.1, erkeklerde %30.1 dir. Migren'lilerin doktora başvuru oranı %47.1'e yükselmektedir, Migrenlilerin %75.4'ünde, gerilim tipi baş ağrısı olanların ise sadece yarısında doğru tanıya varılmaktadır (20).

2.1.3. Migren kliniği

Bir migren atağı başlıca dört evreden oluşmaktadır:

1. Prodrom (öncü) evresi
2. Aura evresi
3. Baş ağrısı evresi
4. İyileşme (ağrı sonrası) evresi

1. Prodromal evre : Prodromal semptomlar eksitator ve inhibitör olarak ikiye ayrılır (32). Eksitator olanlar irritabilite, hiperaktivite, obsesyonel davranışlar, hazır cevaplılık, aşırı esneme, fotofobi, fonofobi, osmofobi, allodini, ense sertliği, aşırı yeme isteği, barsak hareketlerinde artma, sık idrar yapma ve aşırı su içme isteğidir. İnhibitör belirtiler ise içe kapanıklık, hareketsizlik, sakarlık, göz kapaklarında ağırlık, gözlerde çökme, yüzde solukluk, yorgunluk, dikkat toplamada güçlük, disfazi, yoğunlaşma bozukluğu, düşüncede yavaşlama, genel kas güçsüzlüğü, üşüme hissi, iştahsızlık, kabızlık, karında şişlik ve su retansiyonudur (32,33). En sık gözlenen öncü belirtiler; yorgunluk (%72), yoğunlaşma güçlüğü (%51) ve ense sertliği (%50) olarak tanımlanmaktadır (33). Genel prodromal belirtiler tablo 1'de özetlenmiştir (34).

Tablo 1. Migrende başlıca prodromal belirtiler (34)

Ruhsal belirtiler	Nörolojik belirtiler	Genel sistemik belirtiler
Huzursuzluk	Fotofobi	Ensedede gerginlik hissi
Uykuya meyil	Fonofobi	Yiyeceklere aşırı istek
Depresyon	Konsantrasyon güçlüğü	Üşüme hissi
Hiperaktivite	Esneme	İştahsızlık
Öfori	Aşırı uyku	Beceriksizlik
Aşırı Konuşma	Disfazi	Diyare ve konstipasyon
Yerinde duramama		Susama
		Sık idrara çıkma
		Sıvı retansiyonu

2. Aura : Bir migren atağının öncesinde, beraberinde veya nadiren sonrasında görülen fokal nörolojik belirtilerin (pozitif veya negatif) bir kombinasyonu olarak tanımlanır. Aura belirtileri genellikle 5 ila 20 dakika içinde gelişip ve sıklıkla 60 dakikadan kısa sürmektedir (35). Genellikle baş ağrısından önce başlar, ancak nadir olarak baş ağrısıyla birlikte de başlayabilir veya 60 dakikadan uzun sürebilir. Bazen de aurayı baş ağrısı takip etmeyebilir. Aura bulguları çoğunlukla görsel bulgulardır. Görsel aura bulguları bulanık görme (%54), yarı alanda (bazen tüm görme alanında) küçük parlak noktalar (%47,5), zigzag şeklinde çizgiler (%41,8), ışık çakmaları veya parlak ışıklar (%38,5), karanlık noktalar (%33,6), titreşen ışıklar (%30,3) ve genellikle hemianopsinin olduğu görme alanı defekti (%23,8) şeklindedir. Daha seyrek olarak sinek uçuşmaları, metamorfopsi (cisimleri eğri görme), makropsi, mikropsi ve telopsi (görüntü mesafe algılama kusuru) görülebilir. Görsel auralardan daha seyrek görülen; duysal (hemihipoestezi veya parestezi), motor (hemiparezi veya pleji), afazi, oftalmopleji ve beyin sapı işlev bozukluğu (baziler belirtiler; çift görme, bulantı, kusma, baş dönmesi, motor ve duysal belirtiler, dizartri gibi bulguların birkaçı) şeklindeki auralarda klinikte kendini gösterebilir ve bunlara görsel bulgular eşlik edebilir veya etmeyebilir (36,37). Auralı migren prevalansı kadın ve erkekte yaklaşık olarak eşit ve %30'dur (38). Auralı migren hastalarının en az bir ataklarında olmak üzere % 99'u görsel, %54'ü sensoryel ve %32'i afazik aurayı belirti olarak tariflemektedir (39). Sensoryel aura olarak parestezi sırasında uyuşukluk elden başlar, yukarıya kola yayılır, ardından yüze atlayarak dudakları ve dili etkilemektedir, bacak nadiren etkilenmektedir, duysal auralar genelde görsel auraları takip eder ve %18 hastada motor bulgularla birlikte görülür (40)

3.Ağrı fazı : Ağrı genellikle 4 saatten daha uzun ve 72 saatten daha kısa sürelidir (atak ilacı kullanılmadığında) (35). Migrenin tipik baş ağrısı tek taraflı, zonklayıcı, orta-ağır şiddettedir ve fiziksel aktivite ile şiddetlenir. Hastaların %40'unda iki yanlıdır (41). Uyku çoğunlukla ağrıyı dindiricidir (42). Hastaların %15'inde ağrı devamlı aynı taraftadır (side-lock) (37). Ağrı frontotemporal ve oküler bölgede daha yaygındır, daha sonra oksipital ve paryetal bölgelere yayılabilir (37). Ataklar sırasında ağrı %85 zonklayıcı tarzdadır, %50 olguda ise en azından bazı ataklarında zonklayıcı olmayan ağrı tariflenmektedir. Ağrı %80 olguda ciddi düzeyde iken, %20 olguda daha hafif düzeydedir (37). Atakların %30'unda bulantı, %90'ında fotofobi, %80'inde fonofobi eşlik etmektedir (38). Hastaların %53,7'i ağrı atakları sırasında uyku bozukluğu

yaşamakta veya yatak istirahati ihtiyacı hissetmektedir, hastaların %35,1'i üç aylık dönemde en az bir gün günlük aktivitelerde kısıtlama olduğunu bildirmektedir (37).

4.İvileşme (ağrı sonrası, postdrom) evresi: Ağrıyı takip eden bu dönemde hasta yorgunluk, bitkinlik ve tedirginlik hisseder. Bazen öfori de oluşabilir. Kas ağrıları ve diürez gibi değişikliklerde görülebilir. Ağrı sonrası evre saatler veya gün boyu sürebilir. Migren atağı sırasında baş ağrısının neden olduğu yetersizlikler dikkate alınırken ağrıdan sonraki bu dönem de göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü baş ağrısının olmadığı bu evrede hasta bu belirtiler nedeniyle hala normal günlük işlevlerine dönemeyebilir (36,43).

2.1.4. Migren sınıflaması

Uluslararası Başağrısı Topluluğu'nun Başağrısı Bozuklukları Sınıflama Komitesi (Classification of Headache Disorders Committee) 2013 yılında 3 yıllık bir çalışma sonrasında üçüncü kez baş ağrısı sınıflaması yayınlamıştır (16). Baş ağrıları toplamda ondört başlık altında sınıflanmıştır. Primer baş ağrıları ise dört alt başlık içinde sınıflanmıştır. Migren bu sınıflamada primer baş ağrıları içinde yer almıştır. Bu sınıflama 2004 yılında yayınlanan ikinci sınıflamadan bazı yönleriyle ayrılmaktadır. İkinci sınıflamada migren alt grubu içinde ayrı bir başlık altında yer alan Retinal migren yeni sınıflamada Auralı migren alt başlığı içinde yer almıştır. Eski sınıflamada migren komplikasyonları alt başlığında yer alan kronik migren yeni sınıflamada migren alt başlığı altında ayrı bir başlık olarak yer almıştır. Migren öncülü olan çocukluk çağı yaygın periyodik sendromları alt başlığı isim olarak migrene eşlik edebilen periyodik sendromlar olarak güncellenmiştir. Bu başlık içine iyi huylu tekrarlayıcı tortikoliz alt başlık olarak eklenmiştir.

Tablo 2. Primer Baş ağrıları (16)

1.Migren
2.Gerilim tipi baş ağrısı
3.Trigeminal otonomik sefaljiler
4.Diğer Primer baş ağrısı bozuklukları

Tablo 3. Baş ağrısı bozuklukları sınıflaması (16)

1. Migren
2. Gerilim tipi baş ağrısı
3. Trigeminal otonomik sefaljiler
4. Diğer primer baş ağrıları
5. Baş ve/veya boyun travması ile ilişkili baş ağrısı
6. Kranial ve/veya servikal vasküler hastalıklarla ilişkili baş ağrısı
7. Vasküler olmayan intrakranial hastalıklarla ilişkili baş ağrısı
8. Madde veya çekilmesi ile ilişkili baş ağrısı
9. Enfeksiyon ilişkili baş ağrısı
10. Homoeostasis bozukluğu ile ilişkili baş ağrısı
11. Kranial, boyun, göz, kulak, burun, sinüs, diş ve ağız veya diğer fasiyal ve servikal yapılardan kaynaklanan baş veya fasiyal ağrı
12. Psikiyatrik hastalıklarla ilişkili baş ağrısı
13. Ağrılı kranial nöropatiler ve diğer fasiyal ağrılar
14. Diğer baş ağrısı hastalıkları(başka yerde sınıflandırılmayan)

Tablo 4. Migren sınıflaması (16)

1.1 Aurasız migren
1.2 Auralı migren
1.2.1 Tipik auralı migren
1.2.1.1 Baş ağrılı tipik aura
1.2.1.2 Baş ağrısız tipik aura
1.2.2 Beyinsapı auralı migren
1.2.3 Hemiplejik migren
1.2.3.1 Ailesel hemiplejik migren
1.2.3.1.1 Ailesel hemiplejik migren tip 1
1.2.3.1.2 Ailesel hemiplejik migren tip 2
1.2.3.1.3 Ailesel hemiplejik migren tip 3
1.2.3.1.4 Ailesel hemiplejik migren, diğer
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 İnfarkt olmadan inatçı aura
1.4.3 Migrenöz infarkt
1.4.4 Migren aurası-tetiklenmiş nöbet
1.5 Muhtemel migren
1.5.1 Aurasız muhtemel migren
1.5.2 Auralı muhtemel migren
1.6 Migrenle ilişkili olabilecek epizodik sendromlar
1.6.1 Tekrarlayan gastrointestinal bozukluklar
1.6.1.1 Siklik kusma sendromu
1.6.1.2 Abdominal migren
1.6.2 İyi huylu paroksizmal vertigo
1.6.3 İyi huylu paroksizmal tortikoliz

Aurasız migren (önceki isimleri yaygın migren, hemicrania simplex) (16):

4-72 saat arasında süren tekrarlayıcı baş ağrısı hastalığıdır. Tipik olarak unilateral karakterde, zonklayıcı, orta ve ağır şiddette, rutin fiziksel aktivite ile agreeve olan, bulantı ve kusma ve/veya fotofobi ve fonofobi ile karakterizedir.

Tanı kriterleri

A. B-D kriterlerini dolduran 5 atak olmalı

B. Baş ağrısı atağı 4-72 saat sürmeli (tedavi edilmemiş veya başarılı biçimde tedavi edilmemiş)

C. Baş ağrısı aşağıdaki 4 kriterin en az ikisini taşımalı

1.Unilateral

2.Pulsatil karakterde

3.Orta veya ağır şiddette ağrı

4.Rutin fiziksel aktivitelerle agreeve olma

D. Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az biri olmalı

1.Bulantı ve/veya kusma

2.Fotofobi ve fonofobi

E. ICHD 3 kriterlerine göre daha uygun başka bir tanı ile açıklanamaz olmalı

Auralı Migren (önceki isimleri klasik migren, oftalmik, hemiparestetik, hemiplejik vada afazik migren, komplike migren) (16):

Dakikalar süren rekürren ataklar, tek taraflı tamamen geri dönüşümlü görsel, duyuşal veya diğer santral sinir sistemi bulguları gelişir, bu bulgular yavaşça yerleşir ve takiben baş ağrısı veya diğer migren ilişkili semptomlar gelişir.

Tanı kriterleri

A. B-C kriterlerini dolduran en az iki atak olmalı

B. Aşağıdaki tamamen geri dönüşümlü aura semptomlarının bir veya daha fazlası olmalı

1. Görsel

2. Duyusal

3. Konuşma ve/veya dil

4. Motor

5. Beyin sapı

6. Retinal

C. Aşağıdaki dört bulgudan en az iki tanesi olmalı

1. En az bir aura aşama aşama 5 dakika veya üzerinde bir sürede gelişmeli ve/veya iki veya daha fazla semptom arka arkaya gelişmeli

2. Her bir aura semptomu 5-60 dakika arasında sürmeli

3. En az bir aura semptomu tek taraflı olmalı

4. Baş ağrısı auraya eşlik etmeli veya aurayı 60 dakika içinde takip etmeli

Kronik Migren (16):

3 aydan daha fazla bir süre için her ay içinde 15 veya daha fazla gün başağrısı olması ve bu başağrısının 8 gününün migrenle ilişkili olması olarak tanımlanır (16).

Tanı ölçütleri

A. Üç ay veya daha fazla süre için ve her ay içinde 15 günden fazla süren B ve C kriterlerinin tamamını içeren baş ağrısı olması

B. Aurasız migrenin B-D kriterlerini tam anlamıyla dolduran en az 5 atak ve/veya auralı migren B ve C kriterlerini tam anlamıyla dolduran 5 atak

C. Üç ay içerisinde her ay için en az 8 gün aşağıdaki kriterlerden herhangi birini karşılamalı

1. Aurasız Migrenin C ve D kriterleri
2. Auralı migrenin B ve C kriterleri
3. Hasta tarafından başlangıçta migren olduğuna inanılması ve ergo/triptan türevi bir ilaçla şikayetlerin rahatlamaı

Migren Komplikasyonları (16):

Migren Statusu: Migren atağının 72 saatten uzun sürmesi

Infarkt gelişmeden Uzamış aura: Migren aurasının nörogörüntüleme de infarkta neden olmadan 1 hafta veya daha uzun sürmesi

Migrenöz infarkt: Bir veya daha fazla migren aura semptomu ile ilişkili beyin görüntüleme de tespit edilen iskemik beyin lezyonu olması

Migren aurasının tetiklediği nöbet: Herhangi bir epileptik nöbet çeşidi olabilir, nöbet migren aurası sırasında veya sonrasında 1 saat içinde olmalıdır.

2.1.5. Migren patofizyolojisi

Migrenin kesin patofizyolojisi bilinmemektedir (44). Bununla birlikte çeşitli teoriler öne sürülmektedir. Vasküler, integre nörovasküler, biyokimyasal ve trombositik teoriler ortaya atılmış olup bununla birlikte son yıllarda elde edilen bilgiler ışığında integre nörovasküler teori ön plana çıkmaktadır (45,46).

1.Vasküler teori

Klasik ya da vasküler migren hipotezi migreni kranial damar sistemindeki vazokonstriksiyonun tetiklediği basit bir vazospastik bozukluk olarak ele alır. Kranial damarlardaki vazospazm ve vazodilatasyonu takiben migren ataklarının ortaya çıktığını ileri süren teoridir. İntrakranial vazokonstriksiyon ile indüklenen iskeminin auradan sorumlu olduğuna ve vazokonstriksiyona reaksiyon olarak oluşan vazodilatasyon ve ardından gelişen perivasküler nosiseptif sinirlerin aktivasyonunun baş ağrısına neden olduğu düşünülür. İlk olarak 1938'de Graham ve Wolff tarafından ergotaminin vazokonstriksiyon yoluyla migrene etkili olduğunun gösterilmesi ile desteklenmiştir. (45,47). Farmakolojik çalışmalar sonunda migrenin vasküler teorisiyle ilgili güçlü kanıtlar elde edilmiş, serotonin (5-HT), histamin, katekolaminler, prostoglandinler gibi

birçok vazoaktif maddenin rolü üzerinde durulmuştur (48,49). Son zamanlarda elde edilen bilgiler ışığında saf vasküler teoriden uzaklaşmıştır (45).

2. Biyokimyasal Teori

Biyokimyasal teori atak sırasında kan serotonin düzeylerinde azalma görülmesi üzerine oluşturulmuştur (46,50). Serotonin düzeyinin düşürülmesi ile atağın başlatılabilmesi ve intravenöz 5-HT uygulanması ile atağın sonlandırılabilmesi de bu teoriyi desteklemektedir (51). Serotonin düzeyindeki düşüşün kranial damarlarda vasodilatasyona ve ağrı kapısının açılması ile ağrı algısında artışa neden olduğu düşünülmektedir (52,53). Bu değişikliklerin serotonin serbestleştirici faktörden kaynaklandığı veya bozulmuş trombosit fonksiyonundan oluştuğu, bunun da serebral damarlarda anormal vazomotor cevaplara sebep olduğu ileri sürülmektedir (49). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri, serotonin salgılatıcılar, serotonin yapıtaşları ve serotonin reseptör agonistleri gibi santral serotonin nörotransmisyonu üzerinde etkileri olan ilaçların migren hastalarında yararlı etki göstermesi biyokimyasal teoriyi destekleyen diğer bulgulardır. Farmakolojik çalışmalarda ilaçların beyin 5-HT düzeyini rafe nükleuslarının ateşlenmesini yavaşlatarak azalttığı tespit edilmiştir. Beyindeki serotonin düzeyindeki azalma zararlı uyarılara beynin duyarlılığını artırır ve beraberinde hiperaljeziye sebep olur (54).

3. Trombositik Teori

Kandaki serotoninin büyük bölümü trombositlerde depolanmakta olup, salındığında serebral damarlarda vazodilatasyona neden olmaktadır (46). Trombositik teori bu bilgilerden yola çıkarak oluşturulmuştur. Bu teoriye göre migrenin trombosit fonksiyon bozukluğu sonucu ortaya çıktığı öne sürülmektedir (46,55). Trombosit fonksiyon bozukluklarının migren aurasında patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmektedir. Migren hastalığından muzdarip kişilerde trombositlerin içerdiği granüller ve bunların sekresyon anormallikleri ile ilgili olarak çalışmalar devam etmektedir (56). Sağlıklı kontrol grubu ile hastalar karşılaştırıldığında hastaların trombosit granüllerinin glutamik ve aspartik asit gibi uyarıcı aminoasitleri daha fazla içerdiği bildirilmektedir. Migren atağı sırasında bu uyarıcı granüller beyin dolaşımına serbestleşmektedir (57). Bu uyarıcı moleküllerin santral dolaşıma salınımı kortikal yayılan depresyonun başlaması ve ilerlemesinde gerekli olabilir. Bazı yazarlar migren atağının doğuşunda bu mekanizmanın temel bir rol oynadığını ileri sürmektedirler (58). Bu temelde yapılan retrospektif bir analizde asetil salsilik asit (ASA)'in atak sıklığı ve aura

uzunluğunu azalttığına dair sonuç yayınlanmıştır ve bu azalma diğer profilaktik terapilerden daha belirgindir (59).

4. Birleşik nörovasküler teori

Son yıllarda bu teori daha fazla dikkat çekmektedir (45). Bu teoriye göre migren başağrısında nöronal aktivasyona ikincil olarak vasküler değişikliklerin geliştiği düşünülmektedir. Nöral olaylar sonucunda ağrıya duyarlı yapıların kan damarları dilate olmakta bu ise daha fazla trigeminal sinir aktivasyonu ve ağrıya yol açmaktadır (60). Bu şekilde migren ana belirti ve bulgularının oluşumunda, trigeminal ağrı yollarının periferik ve santral bileşenlerinin rol oynadığı karmaşık bir patofizyolojik mekanizma bulunmaktadır (61). Yüz ve baştaki duyuşal uyarının büyük kısmı trigeminal sinir yoluyla santral sinir sistemine (SSS) iletilir. Trigeminal sinirin oftalmik dalı beyin zarlarından pia, araknoid ve dura materdeki damarlar ile intrakraniyal damarların proksimal kısımlarını innerve etmektedir. Bu perivasküler innervasyon nedeniyle meninksler ve büyük damarlar ağrıya hassas iken bundan yoksun beyin parankiminde ağrı duyusu bulunmamaktadır. Küçük çaplı trigeminal liflerin bir bölümü aksonal dallanma yoluyla hem pia-araknoid hem de dural damarları innerve etmektedir. Trigeminal sinirin periferik aksonlarının aktivasyonu ağrı duyusunu trigeminal ganglion ve santral aksonları aracılığıyla 2. nöronlarını oluşturan C2 den bulbusa dek uzanan trigeminal nucleus caudalis (TNC) iletilir. Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu bir yandan da antidromik olarak içerdiği nöropeptidlerin (CGRP ve substance P) perivasküler alana salınması ile vazodilatasyon, kan akımı artışı ve protein ekstravazasyonuna yani nörojenik inflamasyona neden olur. Bu vazodilatasyon ve ödem perivasküler trigeminal aksonların daha fazla uyarılmasına ve daha fazla ağrıya yol açmaktadır (62). Nörojenik inflamasyon triptanlarla bloke edilebilmektedir (45). Yapılan çalışmalarda substans P'nin esas fonksiyonunun plazma ekstravazasyonu, CGRP'in ise arteriel vazodilatasyon ve kan akışının artırılması olduğu gösterilmiştir. CGRP intrakraniyal arterlerde en güçlü vazodilatördür (63). Kaudal trigeminal çekirdekte yükselen ağrı duyusu beyinsapında orta hatta çapraz yaptıktan sonra trigeminal lemniskusu oluşturur ve talamusun ventral posteromedial çekirdeğinde sonlanır. Birincil somatosensoryel korteks ve singulat kortekse ulaşır. Ağrı ile birlikte oluşan ızdırıp, duygudurum ve hislerden ise talamusun intralaminer nükleusu, amigdala ve insuler korteksi içine alan farklı bir yolağın uyarılması sorumludur (62). Talamustan kortekse giden üçüncü sıra nöronların uyarılması ise migrenin fotofobi, fonofobi,

ozmofobi ve nosiseptif olmayan uyarının ağrı yaratması anlamına gelen allodiniden sorumludur. Allodini migren atakları sırasında olusabilir ve genellikle kafa derisi, yüz ve bazen de ekstremiteleri etkiler (64). Migren ağrısının boyun ve omuzlarda da hissedilmesinin nedeni ise servikal köklerin trigeminal sinirin spinal bölümünün inen liflerini de taşımasına bağlanmaktadır (53,65). Tahminen migren ağrıları atakların %75'inde boyun bölgesinde içermektedir(66).

Migren hastalarının yaklaşık %20'i aura semptomları tarif etmektedir (67). Aura semptom ve bulgularının oluşmasında kortikal yayılan depresyonun etkili olduğu artık bilinmektedir (68,69). İlk kez 1944 yılında Leao tarafından tanımlanmıştır (70). Kortikal yayılan depresyon (KYD) beyin korteksinde 2-5 mm/dk hızında ilerlemektedir. KYD'den vazokonstrüksiyon ve oligemi sorumludur. Bunun tersi olarak ağrıdan ise vazodilatasyon ve hiperperfüzyon sorumludur (71). Trigeminal sinirin veya parasempatik sinir liflerinin kesilmesi, gecikmiş kan akım artışının ortadan kalkması ile sonuçlanır. Bu da yayılan depresyonun trigeminovasküler sisteme olan etkisini ve migrende gözlenen vasküler değişikliklerin nöronal kökenli olduğunu düşündürmektedir (69). Yakın dönemde KYD'nin trigeminal ve parasempatik aktivasyon yoluyla, orta meningeal arterde uzun süreli kan akımı artışı, duramatere plazma proteinlerinin ekstravazasyonu ve nöronal eksitasyona neden olduğu gösterilmiştir(72). Bu düşünce, nöronal eksitasyon için düşmüş olan eşığı restore etmenin veya başka bir deyişle CSD oluşumunu inhibe etmenin, hastaların migren aurasını önleyebileceği, dolayısıyla da migren ağrısını engelleyebileceği fikrini doğurmuştur. Nitekim nöronal eksitabilitenin modülasyonu migren profilaksi tedavisinde sık kullanılan propranolol, topiramet, valproat ve amitriptilin gibi ilaçların ortak özelliğidir (73). Nöronal iktal ve interiktal hipereksitabilite varlığını destekleyen başka çalışmalarda mevcuttur. Migrenli beyinlerdeki hipereksitabilitenin nedenleri arasında düşük magnezyum seviyeleri, yüksek kalsiyum ve glutamat seviyeleri, mitokondriyal disfonksiyon, nitrik oksit (NO) ile ilişkili disfonksiyon, kanalopati ve intrakortikal inhibitör süreçlerdeki yetmezliklerde (GABA aktivitesini artıran ilaçların migrende yarar sağlaması) ek olarak sıralanabilir (52,74).

2.1.6. Migren genetiği

Uzun yıllardır pek çok çalışmada migrenin ailesel geçiş özellikleri, ikizler arasında migren birlikteliği ve migrenin belli kromozom bölgelerine bağlantı gösterip göstermediği incelenmiştir ve incelenmeye devam etmektedir (75).

Migrenin genetik temelini tartışmaya açan en güçlü kanıt nadir otozomal dominant bir hastalık olan ailesel hemiplejik migrendir. Yakın dönemde yapılan genetik çalışmalarda AHM'nin üç tipi tanımlanmıştır. AHM1'de kromozom 19p13'te yer alan CACNA1A geninde anormal mutasyon gösterilmiştir. Bu anormal mutasyon P/Q tipi kalsiyum kanalları ile ilişkilidir. Bu tip kanallar 5 hidroksitriptamin (5-HT) salınımını bozarak kişiyi migren ataklarına yatkın hale getirebilirler. Bir diğer olası mekanizma da bu kanallardaki bozukluğun migren atağının kendiliğinden sonlanma mekanizmalarında bozulmaya neden olmasıdır. AHM2'de ise kromozom 1q21-23'te ATP1A2 geninde mutasyon gösterilmiştir. Bu gen sodyum-potasyum ATPaz pompası ile ilişkilidir (18,76). AHM tip 3 ise voltaj bağımlı sodyum kanalını kodlayan kromozom 2q24'te lokalize SCNA1 genindeki mutasyondan kaynaklanır. Sonuçta hızlı sodyum kanalının inaktivasyonunu önleyerek nörona sürekli sodyum girmesine sebep olur ve beyni uzamış KYD'ye duyarlı kılar (77).

Genetik epidemiyoloji çalışmalarında, aurasız migrenlilerin birinci dereceden akrabalarında risk 1,9 kat artmışken, auralı migren riskinin 4 kat artmış olması, auralı migrende kalıtsal etkinin daha güçlü olduğunu düşündürmektedir (78). Auralı migren için yapılan ikiz çalışmasında da monozigotik ikizlerin dizigotik ikizlerden yüksek konkordans gösterdiği saptanmıştır (79).

Son yıllarda migrendeki genetik yatkınlığı ortaya koymak için katekol-Ometiltransferaz (COMT), dopamin, serotonin (5-HT), tümör nekroz faktör (TNF), Interlökin-6 (IL-6) ile ilgili çeşitli genetik araştırmalar yapılmıştır. 5-hidroksitriptamin transporter gen regulator (5-HTTLPR) bölge polimorfizm çalışmalarında serum 5-HT düzeylerinin düşük olduğu ve bu düşüklüğün migrenlilerdeki düşük trombosit 5-HT ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (80). COMT genotipleri, indüklenmiş nitrik oksit sentetaz (iNOS) geni, dopamin reseptör genleri, apolipoprotein E (APOE) ve IL-6 gen polimorfizmleri ile migren arasında ise anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (81,82). 5-HT2A reseptör genlerinde CC genotipi ile auralı migren, CT ve TT genotipleri ile aurasız migren arasında anlamlı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (83). TNF B1 ve B2 allellerinin aurasız migrenlilerde daha sık olduğu ve benzer şekilde glutatyon S

transferaz M1 (GSTM1) allelinin de aurasız migrenlilerde daha sık olduğu belirtilmiştir (84,85). Aurasız migren ile anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) DD geni arasında bağlantı olduğu bildirilmiştir (86). Migrenin genetik bağlantısına iyi bir örnekte, 5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) genidir. Birçok çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi T aleli ile migren arasındaki ilişki gösterilmiştir (87). Vries ve ark. 2009 yılında migren ve tespit edilen kromozomal lokusları tablo halinde bildirmiştir (87).

Tablo 5. Migren ile ilişkili kromozomal lokuslar (87)

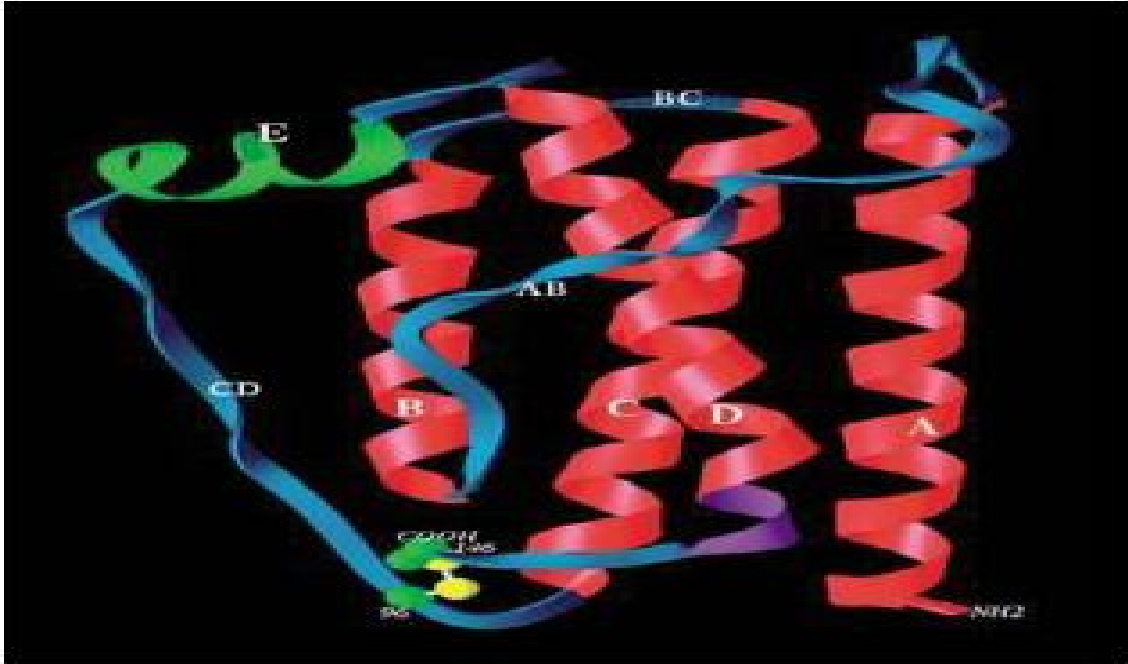
Kromozomal lokus	Fenotip
4q24	MA
4q21	MO
6p12.2-p21.2	MA/MO
11q24	MA
14q21.2-q22.3	MO
10q22-q23	MA
Xq25-q28	MA/MO
15q11-q13	MA
MA: auralı migren	MO: aurasız migren

2.2 Leptin

2.2.1 Genel bilgiler

Leptin glikolize olmayan peptid yapıda bir antiobezite hormonudur (88). Leptin hormonu 167 a.a. içermektedir (89). Molekül ağırlığı 16Kda olup, insanlarda 7.kromozomun uzun kolunda bulunan (7q31) ob geni tarafından mRNA'ya kodlanarak üretilmektedir. Ob geni; 3 exon ve 2 introndan oluşmaktadır (90,91). Zhang ve arkadaşları 1994 yılında uzun süren yağ hücresi kültürü çalışmaları sonucu ob genini izole etmişler ve leptinin ob geni tarafından yağ hücresinde üretildiğini ve plazmada belirli bir kan seviyesi oluşturduğunu göstermişlerdir (92).Leptin 4 anti paralel alfa sarmal demet motifi içeren üç boyutlu bir yapıdan oluşmaktadır (93). Leptinin dörtlü alfa sarmal yapısı şekil 1'de gösterilmektedir (94). Tamamı değil, ancak çoğu özellikle subkütan adipoz dokudan salgılanmaktadır. Bir miktar gastrik epitelyum, ince barsak, kalın

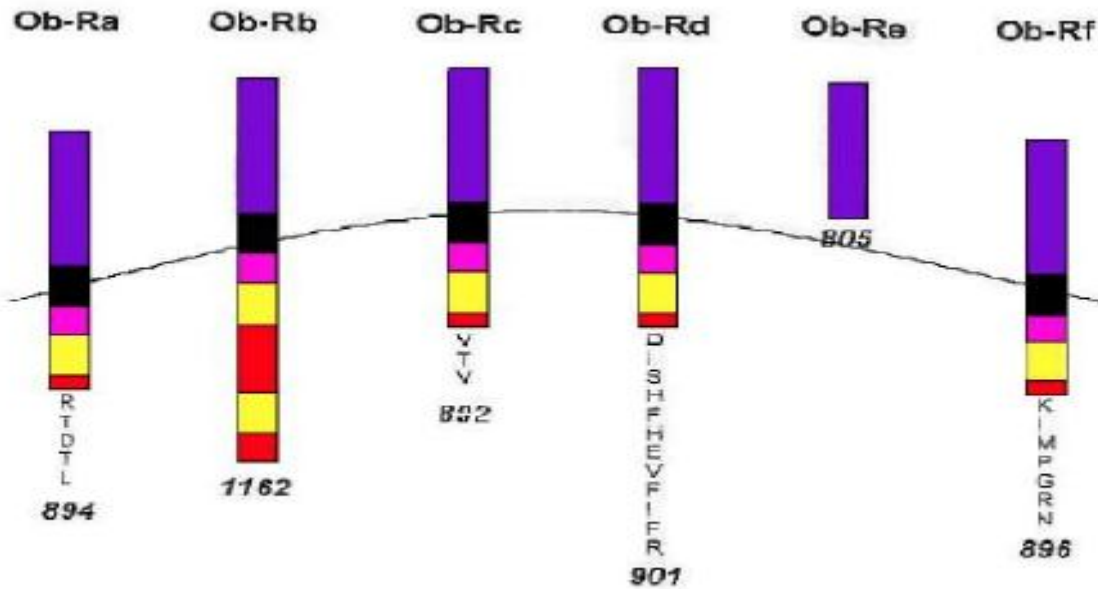
barsak, iskelet kası, hipofiz, kalp, kemik, akciğer, gebeliğin son ayında plasenta ve saç follikülü gibi fetal doku hücreleri, koryokarsinoma hücreleri, karaciğer, timus, dalak, over ve meme bezi tarafından da salgılandığı gösterilmiştir (88,91). Leptin yapısal olarak IL6 ve IL11 ile benzerlik göstermektedir (95). Kanda serbest ve bağlı olmak üzere iki formda bulunur. Aktivitesinden serbest formunun sorumlu olduğu düşünülmektedir (96). Leptin salınımı; günde 30 pulse olmakta ve her pulse yaklaşık 48 dakika kadar sürmektedir. Bu ritmik salınım, yeme zamanlarına göre; yemeklerden 3-4 saat sonra sekresyon artışı gelişmesi ile değişmektedir (91). Gece (00: 00-04: 00) pik yaparken, sabah saatlerinde en düşük düzeylere inmektedir. Sinha ve arkadaşları, insanlardaki gece leptin artışının; uyku esnasındaki iştah baskılanmasını açıklayabileceğini söylemişlerdir. Bununla beraber, uykusuzluk leptin sekresyonundaki diüurnal varyasyonları değiştirmez (97). Dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır, yarı ömrü obezlerde değişmez ve kanda diurnal ritmi devam eder (98). Normal sağlıklı yetişkinlerde fizyolojik serum düzeyleri 5-20 ng/ml arasında değişmektedir (96). Ayrıca, aynı yaş ve vücut ağırlık indeksine sahip bireyler incelendiğinde, kadınlarda leptin konsantrasyonu erkeklerden daha fazladır (99). Leptinin kısa yarılanma ömrü etkili renal klirens ile belirlenir. Hem egzogen hem endojen leptin, glomerüler filtrasyonu takip eden renal tübüllerde metabolik degradasyonu ile uyumlu yüksek kapasiteli sature olmayan bir yolla kandan hızlıca temizlenir (100).



Şekil 1. Leptinin yapısı (94)

2.2.2. Leptin reseptörü

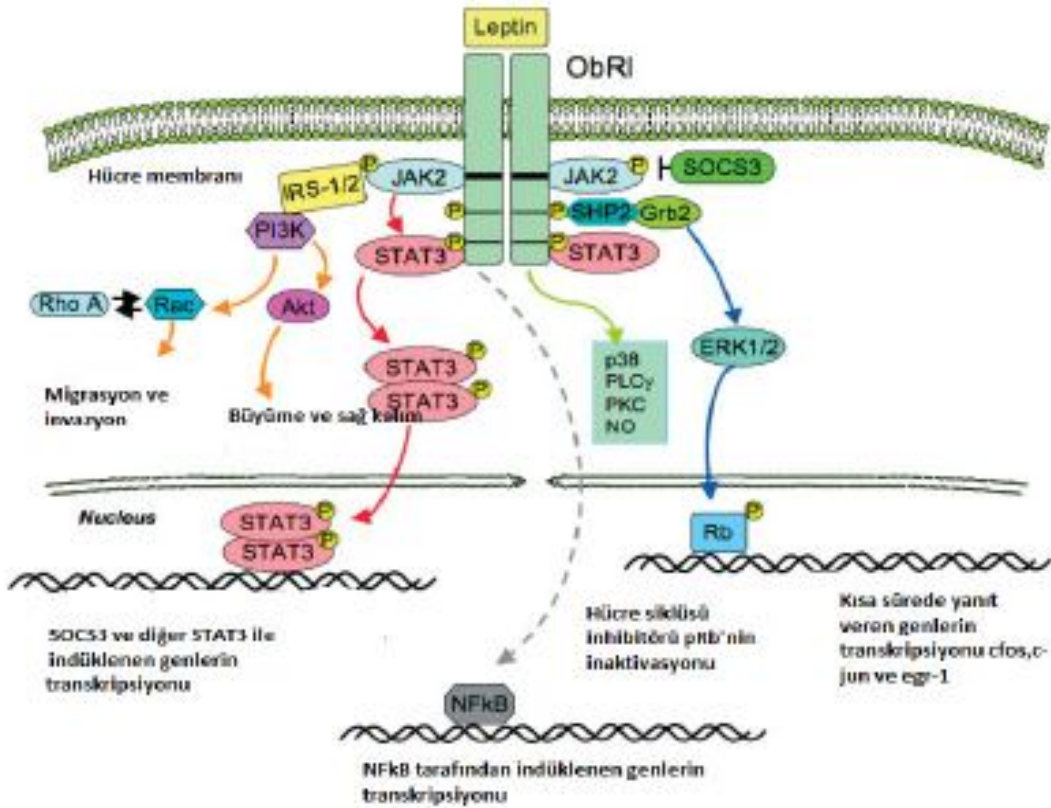
Tartaglia insanlarda ve farelerde leptin reseptörlerini 1995 yılında ilk defa ortaya koymuştur (101). Lee 1996 yılında yaptığı çalışmada db/db farelerde leptin reseptörlerinde mutasyon olduğunu göstermiştir (102). Leptin reseptörü aynı zamanda interlökin-2, interferon ve büyüme hormonu reseptörünüde içeren sınıf I sitokin reseptörüdür. Leptinin vücutta ob-Ra, ob-Rb, ob-Rc, ob-Rd, ob-Re, ob-Rf olmak üzere altı ayrı reseptörü tanımlanmıştır (103). Tek bir genin beyin ve diğer dokularda çeşitli leptin reseptörlerinin (Ob-R) izoformlarını kodladığı bilinmektedir (103). Leptin reseptör izoformları şekil-1'de gösterilmiştir (104).



Şekil 2. Leptin reseptör izoformları (104)

Reseptörlerin; 840 a.a'ten oluşan extrasellüler alanı, 34 a.a'ten oluşan transmembran alanı ve bu 6 reseptör izoformlarının her biri için karakteristik değişken intrasellüler alanı vardır (88). Kısa izoformlar olan ObRa, ObRc ve ObRd'in kan-beyin bariyerini geçerek leptin iletiminde görev aldığı düşünülmektedir (105). ObRe kanda dolaşan serbest leptin izoformunu bağlayarak onu biyolojik olarak inaktif bir halde tutar ve bu şekilde kanda bağlı izoform serbest izoformdan daha fazla miktarda bulunur (106). Biyolojik olarak aktif olan ObRb ise JAK-STAT sinyal mekanizması için gerekli olan izoformudur (106). Leptin reseptörleri yüksek miktarda hipotalamusun arkuat nükleusunda, akciğer, karaciğer, dalak, böbrekler, adrenal bez ve genital bezlerden

salınırken, daha düşük miktarlarda yağ hücrelerindeki içeren periferik dokulardan salınmaktadır (106). Leptinin ObRb reseptörüne bağlanmasının ardından signal transducer and activator of transcription (STAT) 1, 3, 5 ve 6, phosphoinositide 3-kinase (PI3K), mitogen activated protein kinases (MAPK) 1 ve 2, insulin receptor substrate-1 (IRS-1) ve PI3K ilişkili IRS-2 aktivasyonu meydana gelmektedir (106). Bu aktivasyonda JAK2 oto ve çapraz fosforilasyon ile aktive edilir. Sonrasında aktive JAK2'in leptin reseptörünün hücre içi domenini tirozin kalıntılarında fosforillemesi olayı gerçekleşir. Fosforile reseptörün STAT faktöründe bağlanma bölgeleri oluşturması (Bu bağlanma bölgeleri özellikle JAK2' nin substratı olan STAT3 için sağlanır) sonrası STAT3'ün fosforillenerek homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere nükleusa iletilmesi ve sitokin ile ilişkili genlerin transkripsiyonunun modülasyonunda görev alması ile sonuçlanmaktadır (107,108). Leptinin reseptör seviyesinde etki mekanizması şekil 2'de gösterilmiştir (108).

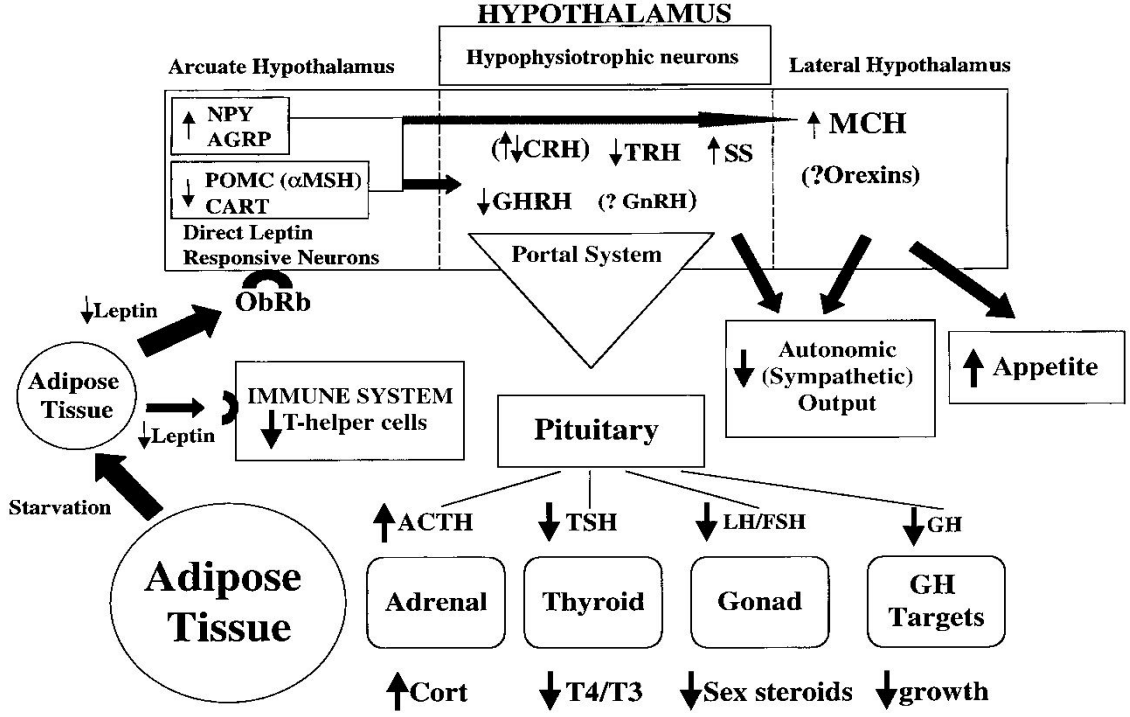


Şekil 3. leptinin reseptör düzeyinde etki mekanizması (108)

2.2.3. Leptinin santral ve periferik etkileri

1. Leptinin santral aktivitesi:

Leptinin keşfi enerji depoları ile yeme davranışı ve enerji dengesini düzenleyen hipotalamus arasındaki ilişki ile ilgili yeni bir bakış sağlamıştır. Ventrobazal hipotalamik lezyonlar tıpkı ob/ob ve db/db farelerdeki gibi enerji denge bozukluğuna yol açmaktadır. Bu lezyon sonucunda azalmış enerji harcaması, yeme davranışında artma, yağ dokusunda artma meydana gelmektedir. Leptin duyarlı nöronlar arkuat, ventromedial ve dorsomedial nükleuslarda bulunmaktadır. Neuropeptide Y (NPY) ve agouti-related peptide (AgRP) medial arkuat nükleusta aynı nöronlardan salgınır. Proopiomelanocortin (POMC) ve cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) ise lateral arkuat nükleustan birlikte salgınır. NPY beslenmeyi sitümüle ederken, a-MSH (POMC'un ürünü) ve CART ise beslenme davranışını inhibe eder. AgRP ise a-MSH'ı inhibe ederek beslenmeyi sitümüle eder bu yüzden oreksijenik etki gösterir. Leptinin yeme davranışı üzerine olan etkisine bunların dışında orexigenic etkisi olan melanin concentrating hormone (MCH) ve oreksin/hipokretin gibi hormonları salgılayan diğer hipotalamik nöronlarda duyarlı olabilir. Beyinde leptinin etkilerine kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH), kolesistokinin (CCK), glukagon benzeri peptid (GLP-1), ürokortin, bombesin ve serotonininde aracılık ettiği düşünülmektedir. Leptin eksikliğinde beyinde NPY ve MCH artış gösterir ve yeme davranışını sitümüle ederler. Leptin verilince bu yanıt azalır. Anoreksijenik hormonlar olan POMC ve CART ise leptin verilince artmaktadır. Serotonin 5-HT_{2C} reseptör mutasyonunun hiperfaji, gecikmiş obezite ve hiperleptinemi ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Leptin seviyesindeki azalma Troptropin serbestleştirici hormon (TRH) düzeyini kısmen azaltarak troid fonksiyonlarını baskılar. Leptin ayrıca gonodotropin serbestleştirici hormon (GnRH) salgılanmasını sitümüle etmektedir. Leptinin CRH üzerindeki etkisi ile ilgili düşünceler ise çelişkilidir. Bazı çalışmalar leptinin CRH'ı stimüle ettiği ile ilgili sonuçlar yayınlarken bazıları bu sonuçları desteklememektedir (109). Serum leptin konsantrasyonu büyüme hormonu eksikliğinde artmış bulunurken, akromegali gibi büyüme hormon fazlalıklarında ise düşmektedir (110). Leptinin santral sinir sistemi üzerinden yaptığı etkiler şekil 4'de özetlenmiştir (109).



Şekil 4. Leptinin santral sinir sistemi üzerine etkileri (109)

2. Leptin ve obezite ilişkisi:

Leptin peptit yapıda antiobez ve antisteatik bir hormondur (88). Araştırmacıların leptini ilk izole ettikleri yer yağ dokusu olmuştur ve çoğunlukla da yağ dokusundan salgılanmaktadır (88,92). Vücut ağırlığında %10 azalma, plazma leptin düzeyinde %53'lük azalmaya karşılık gelirken; vücut ağırlığında %10 artış, plazma leptin düzeyinde %300'lük artışa yol açmaktadır (111,112). Vücut ağırlığında değişiklik yapmayan 24 saat süren açlık ise, serum leptin seviyesinde %30 kadar azalmaya yol açarken; tek bir gün aşırı yemek yemek, serum leptinini 6 saat içinde yaklaşık %50 artırmaktadır (97,111). Bununla birlikte aynı vücut kitle indeksine sahip kişilerde farklı leptin düzeylerinin tespit edilmesi leptin düzeyini etkileyen başka faktörlerin olduğunu bize göstermektedir (113). Leptinin esas fonksiyonu yeme davranışı ve kilo alımını engellemesi ve vücut yağ kitlesini azaltmasıdır (106). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda; obez bireylerde vücut kütlesi ile orantılı artmış kan leptin düzeyleri bulunmuştur ve büyük çoğunluğunun serbest formda olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu, obez bireylerdeki esas sorunun leptin eksikliği değil, leptin direnci olduğu düşüncesini getirmektedir. Bu nedenle hiperleptinemi sıklıkla obezitede bulunan leptin direnci ile birliktelik göstermektedir (114). Obeziteye neden olan leptin direnci ile ilgili olarak çeşitli mekanizmalar öne sürülmektedir. Bu mekanizmalar leptin sentez ve

sekresyonunda disregülasyon, leptinin beyine taşınmasında anormallik, leptin reseptöründe ve reseptör sonrası sinyalde anormallik olarak tartışılmaktadır (109).

Leptin, c-AMP bağımlı protein kinaz aktivitesini arttırarak ve asetil Koenzim A karboksilazı inhibe ederek yağ asidi oksidasyonunu artırır ve TAG sentezini azaltır. Bu yolla leptin hem yağ dokusunda, hem de iskelet kasında lipid depolanmasını azaltır. Bunu sadece serbest yağ asiti oksidasyonunu azaltarak değil, aynı zamanda TAG hidrolizini de arttırarak yapar (115). Yağ dokusu enerji fazlalığı durumlarında nonadipoz dokularda TAG'ın ektopik fazladan birikimini engellemek için leptin sekrete ederler. Ancak, obezite gibi bozulmuş leptin aktivasyonu durumunda; karaciğer, iskelet kası, kalp ve pankreas gibi yağ asidi fazlalığını depolamaya adapte olmayan non- adipoz doku ve organlarda ektopik trigliserid birikimi olmaktadır (116,117). Leptin aynı zamanda protein ve kolesterol yapımı azaltırken, glikolizi ise arttırmaktadır (118). Leptinin ayrıca insülinin bazı etkilerini antagonize ettiği bilinmektedir (119). Leptin doz bağımlı olarak hücreye glukoz alımını ve hücrenin insülin duyarlılığını azaltmakta ve direncini arttırmaktadır. Bu durum sonuç olarak glikojen sentezini ve lipogenezi engellemektedir. Leptin ayrıca doz bağımlı olarak insülinin reseptörüne bağlanmasını ve insülinin uyardığı glukozdan serbest yağ asiti sentezinide engellemektedir. Leptin direkt etkiyle ise lipolizi tetiklemektedir. İnsülin leptin üretimini sitümüle ederken bunun tersi olarak leptin insülin sentezini inhibe etmektedir. Leptin rezistansı olan insanlarda ise hiperinsülinemi gelişmektedir (106). Leptinin farelerde yağ hücresi apoptozisini tetiklediği de gösterilmiştir (109).

3. Leptin ve vasküler sistem:

Leptin ekspresyonu; otonom sinir sistemi, immün sistem ve endokrin sistemin diğer unsurları tarafından düzenlenmekte olup bu sistemler üzerinde etki göstermektedir (120). Leptin vasküler sistem üzerinde birçok mekanizma ile etki göstermektedir. Bir etkisi sempatik sistem ve hipertansiyon üzerinedir. Leptin hipotalamusta sempatik sinir sistemi aktivasyonuna etki ederek kan basıncını arttırıcı etki göstermektedir (121). Bu etkisini CRH'ı arttırarak yapmaktadır (122). Leptin hem sistolik hemde diyastolik tansiyon üzerine hipertansif etkisini göstermektedir (123). Leptinin santral etkisinin dışında periferik olarak da vasküler kompliyansı azaltarak kan akımına direnci artırıp hipertansiyona neden olduğu gösterilmiş bunun sonucunda kardiyak iş yükünü arttırdığı ve kardiyovasküler olay riskini arttırdığı gösterilmiştir (124). Obezlerde ve gebelerde görülen hipertansiyonunun da artmış leptin düzeyi ile birliktelik göstermesi bu

mekanizmayı desteklemektedir (123,125,126). Bunun dışında leptinin anjiyogenezini artırdığı, trombosit agregasyonuna neden olduğu, arteriyel tromboz formasyonu ve inflamatuvar vasküler yanıtı neden olduğu gösterilmiştir (127, 128). Kalori kısıtlaması sonrası leptin seviyesinin düşmesinin trombosit aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (129). Leptinin ayrıca aterosklerotik süreçle ilişkili olduğu gösterilmiştir (126). Düz kas hücre hipertrofiğinde vasküler komplikasyonlara aracılık etmektedir (130). Leptinin intima media tabakasına hücre göçüne neden olarak plak rüptürüne neden olduğu gösterilmiştir (131). Leptinin vasküler kalsifikasyona neden olduğu gösterilmiştir (132). Bu patofizyolojik mekanizmalar sonucunda leptinin

- Tip 2 DM, HT, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve MI gelişiminde rol oynayabileceği (130, 133, 134)
- Sol ventrikül hipertrofiğine neden olduğu (124)
- Hemorajik ve iskemik inme için bağımsız bir risk faktörü olduğu (135, 136)
- Kronik kalp yetmezliği ilişkili olduğu (137)
- Kardiyak ölüm ve koroner revaskülarizasyon ihtiyacı ile ilişkili olduğu (138) gösterilmiştir.

4. Leptin ve immün sistem:

Leptinin kendisi sınıf I sitokin reseptör ailesine mensup glikoprotein yapıda bir hormondur (139, 140). Yapılan çalışmalar leptinin immün fonksiyonlar konusunda çok geniş bir rolünün olduğunu göstermektedir. Leptinin fagositlerinin aktivasyonuna neden olduğu, eikosanoitlerin sentezini uyardığı, makrofaj ve monositlerde nitrik oksit ve bazı pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezini uyardığı, savunma hücrelerinin kemotaksisini uyardığı ve nötrofillerden reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmektedir (141-145). Bunun yanında, doğal katil hücrelerde; sitotoksite, aktivasyon, farklılaşma ve proliferasyonu etkilediği belirtilmiştir (146). Yağ dokusu hücre kültürü çalışmalarında, prostoglandin E₂'nin leptin sekresyonunu stimüle ettiği ve leptin üretimindeki artışın COX2 inhibitörleri tarafından bastırıldığı gösterilmiştir (147). Leptin sitokin olarak timik homeostazı etkiler. Diğer proinflamatuvar sitokinler gibi T helper 1 (TH1) hücre diferansiyasyonuna yardımcı olur ve hayvanlarda deneysel olarak oluşturulmuş hastalıklarda otoimmün yanıtların başlatılmasında ve modülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (148). Bakteri/virus ürünleri proinflamatuvar sitokinlerin (IL'ler, tümör nekroz faktörü-alfa-TNF α , interferonlar)

yapımını uyarır. Sitokinler de yağ dokusunda leptin ekspresyonunu artırır. Hem mikrobik ürünler, hem de oluşan sitokinler ve leptin gıda alımını azaltır. Bu nedenle, inflamasyon ve enfeksiyon sırasında gelişen anoreksiden özellikle TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın sorumlu olduğu ve sitokinlerin bu etkilerinde kısmen leptinin aracılık ettiği düşünülmektedir (149). Leptin yara iyileşmesini de faydalı bir biçimde etkilemektedir. Leptin eksikliği, direnci veya malnutrisyon immun yetmezliğe ve yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır. Leptin seviyesindeki azalma ile CRP düzeyinde azalmanın paralellik gösterdiği bildirilmiştir (150, 151). Migren hastalarında sitokin seviyelerinin yüksek olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiş, bu çalışmalarda verilen inflamatuvar sitokinlerin hastada ağrı başlamasına ve sinir terminallerinde sensitizasyona neden olduğu ortaya konulmuştur. Yine benzer çalışmalarda migren hastalarında yükselmiş inflamatuvar sitokin düzeylerinin siproheptadin, propranolol, amitriptilin ve flunarizin tedavisi sonrası düştüğü bildirilmiştir. Aynı şekilde fareler üzerinde yapılan çalışmalarda leptinin artmış düzeylerinin farelerde ağrıya karşı sensitizasyonda artışa neden olduğu gösterilmiş ve ibuprofen tedavisi sonrası bu etkinin ve leptin düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir (152). Yine bazı çalışmalarda migren hastalarında leptin düzeylerinin ve inflamatuvar sitokinlerin birbirine paralel biçimde artış gösterdiği bildirilmiştir (153).

2.2.4. Leptin G2548A ve A19G gen polimorfizmi

Leptin geninin G2548A polimorfizmi 2548 pozisyonundaki nükleotid üzerinde guanin-adenin geçişini ifade etmektedir (154). Leptin G2548A polimorfizminin migren ile ilişkisi daha önce çalışılmamıştır, ancak obezite, metabolik sendrom, psikiyatrik hastalar, KOAH, kardiyovasküler olaylarla ve kanserle olan ilişkileri çalışılmıştır.

Leptin G548A açısından baktığımızda gen araştırmalarının çoğunun bu polimorfizm üzerinde yoğunlaştığı bilinmektedir (155). Obezite ve leptin ile G2548A polimorfizminin ilişkisi ile ilgili sonuçlar çelişkilidir (156). Mammes ve arkadaşları AA genotipinin yüksek leptin seviyeleri ile ilişkili olduğunu ve düşük kalorili diyetle rağmen düşük kilo kaybı ile ilişkili olduğunu bulmuştur (154). Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada erkeklerde AA genotipini yağ kütelleri düzeltildikten sonra yüksek leptin seviyesi ile ilişkili bulmuşlardır (157). Bir başka çalışmada Hoffstedt ve arkadaşları kadınlarda BMI düzeltildikten sonra AA genotipinde olanlarda yüksek leptin seviyeleri ortaya koymuşlardır (156). Bu iki çalışmanın tersine ise Le Stunff ve arkadaşları obez

kızlarda AA genotipinde olanların düşük serum leptin düzeyine sahip olduklarını tespit etmiştir (158). Bir başka çalışmada kuzey Amerikan Kafkas kadınlarda GA genotipi ciddi obezite ile ilişkili bulunmuştur (159). Duarte ve arkadaşları G2548A polimorfizminin obezite riskini % 58 oranında artırdığını tespit etmişler, leptin ve reseptör polimorfizmlerinin enerji homeostazisi ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (160). Boumaiza ve arkadaşları Tunus’lu hastalarda G2548A polimorfizminin metabolik sendrom ve obezite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (160). Bir çalışmada AA polimorfizminin obezlerde obez olmayanlara göre daha sık olduğu gösterilmiş (%28.12 vs %13.6) ve GG allel sıklığının obez olmayanlarda obez olanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (%49.12 vs %29.38). Bu çalışmacılar yorum olarak A varyantının yağ dokudan leptin ekspresyonunu ve sekresyonunu etkileyebileceğini söylemişlerdir. Yine bir başka çalışmada A allelinin artmış yiyecek artışı ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir.(161). Buna zıt bir biçimde Tayvan’da yapılan bir çalışmada GG allelinin ciddi obezite ile ilişkili olduğu bulunmuştur(162). Bunu destekler biçimde başka bir çalışmada GG taşıyıcılığının yüksek leptin seviyeleri ile birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (161). Sağlıklı genç popülasyonda yapılan bir araştırmada GA genotipinin obeziteyle ilişkisiz olduğu bildirilmiştir(163). Türkiye’de yapılan bir çalışmada G2548A polimorfizminin obezite için marker olamayacağı söylenmiştir (160). Bir başka çalışmada benzer şekilde G2548A polimorfizminin metabolik sendromla ilişkili olmadığı bulunmuştur (164). Şizofreni hastalarında yapılan bir çalışmada antipsikotik alanlarda kilo alımının AA allelini taşıyanlarda G allelini taşıyanlara göre daha fazla kilo alımının olduğu gösterilmiştir (164). Çinlilerde yapılan bir çalışmada KOAH ile ilişkisine bakıldığında AA ve GA genotiplerinin KOAH ciddiyeti ile ilişkili olduğu hatta hastalık ciddiyeti için bir marker olarak kullanılması gerektiği söylenmiştir (165). Koroner girişim yapılan hastaların restenoz açısından değerlendirildiğinde G2548A polimorfizimleri arasında bir farklılık bulunamamış ancak AA ve GA genotiplerinin vasküler olaylarla daha fazla ilişkili olduğu bulunmuştur (166). Kanseri ile G2548A polimorfizmi arasındaki ilişkide homojen değildir ve buradada farklı sonuçlar elde edilmektedir. 1593 NHL hastasının olduğu bir çalışmada GA ve AA genotiplerinin GG genotipine göre daha sık olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada G2548A ve LEPR Q223R polimorfizmi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (167). 16 çalışma, 6569 hasta ve 8405 kontrolün değerlendirildiği bir meta-analizde G2548A polimorfizminin tüm kanser türleri için artmış yakalanma riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıntılı olarak bakıldığında özellikle prostat kanseri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Etnik

köken açısından bakıldığında bu sıklığın Kafkas ve Afrika kökenlilerde daha belirgin olduğu görülmüş, ancak diğer ırklarda bu özellik istatistiksel açıdan dikkate değer bulunmamıştır (168). Bunun dışında 15 çalışma, 6860 hasta ve 7956 kontrolün değerlendirildiği bir meta-analizde G2548A polimorfizmi açısından AA genotipinin AG/GG e göre ve A genotipinin G e göre artmış kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiş, subgruplara bakıldığında NHL, ağız, prostat ve akciğer kanseriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada A genotipinin G e göre Kafkaslarda daha sık olduğu görüldü ancak Asyalılarda bu ayrıma gidilemedi(169).

A19G polimorfizmi açısından bakıldığında ise 19. Pozisyonda adenin-guanin geçişini ifade etmektedir. 19 bölgesi ayrıca ekson bölgesidir ve leptinin mRNA olgunlaşmasında ve salınmasında rol oynar (170). A19G ile ilgili olarak migren ile ilişkisini değerlendiren bir çalışma daha önce yapılmamıştır. Rusya'da yapılan bir çalışmada A19G polimorfizmi metabolik açıdan sağlıklı ve hasta obezlerde karşılaştırılmış anlamlı fark bulunamamış (171). Çin'de yapılan bir çalışmada A19G polimorfizmi ile obezite ve yağ kütlesi arasındaki ilişki karşılaştırılmış ancak anlamlı fark bulunamamış (172). Benzer şekilde Çin'de yapılan bir çalışmada obez ve non- obez grupta A19G polimorfizmi karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunamamış (173). Benzer şekilde Japonya'da yapılan bir çalışmada obez ve obezolmayan grupta A19G polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunamamış (174). İtalya'da A19G bölgesinde A ve G allelleri obez ve obez olmayan gruplar arasında karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunamamış (175). Açlık insülini ile A19G polimorfizminin karşılaştırdığı bir çalışmada anlamlı fark bulunamamış (176). Çin'de periton diyalizi yapılan hastalarda leptin düzeyi, VKİ ve A19G polimorfizmi karşılaştırılmış, AA polimorfizmi yüksek leptin, VKİ ve açlık kan glukozu ile ilişkili bulunmuş ancak mortalite ile arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (170). Bir çalışmada Leptin düzeyinin AA polimorfizmi olanlarda daha düşük olduğu, yine aynı çalışmada meme dokusunda AG polimorfizmi olanlarda leptinin daha düşük olduğu görülmüş ve bunun artmış meme kanseri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (177). Kanser ve A19G polimorfizminin karşılaştırıldığı bir çalışmada AG polimorfizminin non-hodgkin lenfoma ve foliküler kanseri azalttığı ancak diffüz büyük B hücreli kanserde ise anlamlı fark bulunmadığı bildirilmiştir (178). Irksal olarak allel dağılımının değerlendirildiği bir çalışmada G allelinin Finlilerde, Fransız ve İtalyanlara nazaran daha fazla olduğu bildirilmiştir (179)

2.3. Leptin Ve Migren

Son yıllarda leptin hormonuna karşı baş ağrısı ve özellikle migren grubunda ilginin artmasının nedeni özellikle bu hormonun obezlerde ve kadınlarda daha yüksek miktarda bulunması ve bu iki grubun baş ağrısı ve migren hastalığından daha fazla etkilendiğinin bilinmesi, bunun yanında leptinin yaptığı inflamatuvar modülasyonun baş ağrısını tetikleyebileceği ve migrende bir etken olabileceği hipotezinden kaynaklanmaktadır. Nitekim farelerde yapılan bir çalışmada leptin enjekte edilmesinin ağrı hassasiyetinde artışa neden olduğu ve ibuprofen verilmesinin leptin düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (1,152,153). Bununla birlikte leptin düzeyi ve migren arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalarda net bir sonuca ulaşılamamakta ve sonuçlar çelişkili olmaktadır. Son yıllarda Avusturya’da yapılmış bir çalışmada obez olmayan migrenli hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda leptin ve insülin düzeyi karşılaştırılmış, hem leptin düzeyinin hemde insülin düzeyinin diyabeti ve obezitesi olmamasına rağmen hasta grubunda daha yüksek olduğu görülmüş, yine aynı çalışmada leptin reseptörü düzeyi her iki grupta benzer oranda bulunmuş, insülin ve leptin yüksekliğinin birbiri ile korele olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar leptine karşı bir rezistansın patofizyolojide rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (180). Çin’de yapılan bir çalışmada ise leptin düzeyi migrenli ve sağlıklı grupta benzer bulunmuş, yine aynı çalışmada obezlerde leptin düzeyinin obez olmayanlara göre daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir (181). Bir başka çalışmada ise bu sonucun aksine migrenli hastada leptin düzeyi proflaktik tedavi sonrası bazal değerlerine göre yükselmiş olarak bulunmuş ve bu durum leptinin bazal düzeyinin düşük olabileceği, inflamatuvar ve ağrı sensitizasyonunda artışa neden olan leptinin tedavi ile yükselmiş değerlerinin leptin direncine neden olmuş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışmada ayrıca leptin düzeyinin yükselmesi hastayı migren hastalığından kurtarmamış, atak sıklığı ve süresi aynı kalmış ancak ağrının ciddiyetinde azalma olduğu görülmüştür (152,153). Yine Türkiye’de yapılan bir başka çalışmada leptin düzeyi migren ve sağlıklı kontrol hastalarında araştırılmış, VKİ’leri aynı olan hasta ve kontrol grupları arasında migrenli olanların leptin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur (1).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örneklerin toplanması

Araştırmaya 50 migren hastası kadın, 46 sağlıklı kontrol kadın; 12 migren hastası erkek, 14 sağlıklı kontrol erkek olmak üzere toplam 122 kişi dahil edildi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji Bölümüne ayaktan başvuran hasta ve kontrol gruplarından araştırma hakkında bilgi verildikten ve yazılı onay alındıktan sonra araştırmaya katılmak isteyenlerden sabah aç karnına EDTA' lı mor renkli hemogram ve jelli sarı renkli biyokimya tüplerine 5'er ml kan alındı. Jelli tüp santrifüj edilerek plazma kısmı ayrıştırılıp analizler yapılana kadar -20 C de saklandı. EDTA'lı tüp de -20 C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. Araştırma kapsamında karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu olanlar, akut veya kronik enfeksiyon hastalığı geçirenler, kalp yetmezliği bulunanlar, psikiatrik hastalığı bulunanlar ve bunun için antidepresan ilaç alanlar, migren için profilaksi alanlar, sigara içenler çalışmaya dahil edilmedi.

3.1.2. Beden kitle indeksinin (BKİ) ölçümü

Bireylerin ağırlıkları kilogram (kg) boyları santimetre (cm) olarak ölçülerek, ağırlığın boyun metre cinsinden karesine bölünmesi ile hesaplanmıştır (WHO Report 1997).

3.1.3. Kullanılan cihazlar

- Pastör fırını (Heraus, Almanya)
- pH metre (Orionstar, Almanya)
- Thermal Cycler (Applied Veriti, Amerika Birleşik Devletleri)
- UV transillumunator (Vilber Laurmat, Fransa)
- UV jel görüntüleme sistemi (Uvitec Cambridge, İngiltere)
- Hotplate (ısıtıcı tabla, Almanya)

- Otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya)
- Soğutmalı santrifüj (Jouan MR 18 12, Fransa)
- Soğutmalı mikrosantrifüj (Kubota, Japonya)
- Elektroforez güç kaynağı (Cleaver, İngiltere)
- Horizontal elektroforez sistemi (Cleaver, İngiltere)
- Hassas terazi (Ohaus, Amerika Birleşik Devletleri)
- UV Spektrofotometre (Nanodrop 2000, Amerika Birleşik Devletleri)
- Etüv (Heal Force, İngiltere)
- Mikrodalga Fırın(Vestel, Türkiye)

3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

- Tris-base (Sigma)
- Boric acid (Sigma)
- Proteinaz-K (Stratagene)
- SDS (Sodiumdodecylsulfate) (Sigma)
- Etil alkol (Merck, Almanya)
- İzozamil alkol (Sigma)
- Sükroz (Sigma)
- NaOH (Sigma)
- 10 X PCR buffer (Iontek ve Fermentas)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- PCR Primerleri (Fermentas)
- Restriksiyon enzimleri (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Ethidium bromide (Sigma)
- Triton X-100 (Prona)
- Agaroz (Sigma)
- EDTA, sodium salt (Sigma)
- dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Chloroform (Sigma)

3.2. Yöntem

3.2.1. Serum leptin düzeyi ölçümü

Serum Leptin düzeylerinin ölçümü için serumlar çözdürülerek oda sıcaklığına getirildi. Leptin düzeylerinin tayini için ise MİCROELİSA esasına dayalı ticari kit (DIAsource Leptin-EASIA Kit KAP2281, Louvain-la-Neuve, Belgium) kullanılmıştır.

3.2.2. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

Serum total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit, VLDL-kolesterol, ölçümleri Siemens kitleri kullanılarak Siemens ADVIA 1800 Chemistry system otoanalizörde (Siemens, Germany) yapılmıştır.

3.2.3. Denevlerde kullanılan solüsyonların hazırlanması

3.2.3.1. Stok solüsyonlar

a) 1M MgCl₂.6H₂O

- 10.16 g MgCl₂.6H₂O
- 40 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Volüm bidistile H₂O ile 50 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısında saklandı

b) 6M NaCl

- 35.06 g NaCl
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Volüm bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısısında saklandı

c) 1M Tris-HCL, pH 7.5

- 12.11 g Tris-base
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü

- pH'lar HCl ile 7.5; 8.3; 8.6' ya ayarlandı
- Volümler bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısısında saklandı

d) 0.5M EDTA, pH 8.0

- 18.61 g disodyum EDTA
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- İçine 2 g NaOH tableti atarak eritildi
- PH 8 yapıldı (2 g NaOH pH'yı 8 yapmaya yeterli)
- Volüm bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısısında saklandı

3.2.3.2. DNA Ekstraksiyon Solüsyonları

a) 5 X Red Cell Lysis Buffer (Eritrosit lizis tamponu)

- 2.5 ml 1M MgCl₂ 6H₂O (final kons. 25 mM)
- 5 ml Triton X-100 (final kons. %5 v/v)
- 6 ml 1M Tris-HCl, PH 7.5 (final kons. 60 mM)
- Sükroz 50 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Bidistile H₂O Triton X-100, MgCl₂ ve Tris-HCl ilave edildi
- Volüm bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Buzdolabında muhafaza edildi.

b) Proteinaz-K (20 mg/ml)

- 100 mg proteinaz-K
- 5 ml bidistile H₂O ilave edildi
- 0.5 ml'lik porsiyonlara ayrıldı
- -20 °C'de muhafaza edildi

c) %10 SDS (Sodiumdodecylsulfate)

- 2 g SDS
- 16 ml bidistile H₂O içinde çözüldü

- Bidistile H₂O ile volüm 20 ml'ye tamamlandı
- Oda ısısında saklandı

d) %70 Etil alkol

- 70 ml %99.5 etil alkol'e
- 30 ml bidistile H₂O eklendi
- -20 °C'de muhafaza edildi

e) 24:1 Kloroform: İzoamil alkol

- 24 ml kloroform + 1 ml izoamil alkol karıştırıldı
- Buzdolabında muhafaza edildi.

3.2.3.3. Elektroforetik analiz solüsyonları

a) 10X TBE (Stok solüsyon)

- 55 g Boric acid (0.9M)
- 40 ml 0.5M EDTA, pH 8.0 (20 mM)
- 108 g Tris-base (0.9M)
- Tris-base ve borik asit 700 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- EDTA eklendi
- Volüm bidistile H₂O ile 1000 ml'ye tamamlandı
- Oda ısısında, plastik bir şişe içinde muhafaza edildi

b) 1X TBE (çalışma solüsyon)

- 50 ml 10X TBE
- 950 ml bidistile H₂O eklendi
- Elektroforez tankına konularak kullanıldı

c) Ethidium bromide solüsyonu (10 mg/ml)

- Ethidium bromide
- 10 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Işık almayan bir cam şişe içinde buzdolabında muhafaza edildi

3.2.4. DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için salting out yöntemi modifiye edilerek uygulandı (Miller ve ark. 1988).

1. 10 ml'lik steril bir tüpe 1ml 5X lysis buffer, üzerine 3 ml bidistile H₂O konup pipetle homojen hale getirildikten sonra bu karışıma 1ml EDTA'lı -20 derecede bekleyen kan örnekleri ilave edilerek tüpün kapağı kapatıldı ve tüp alt-üst edilerek homojen karışım sağlandı.
2. Buz içinde 10 dk. inkübe edildi.
3. +4 °C'de 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı.
4. Dipte kalan pellet üzerine 2 ml bidistile H₂O ve 0.5 ml 5X lysis buffer konulup, pipetleme yapılarak tüpün dibindeki pellet tamamen dağıtılarak homojen hale getirildi.
5. +4 °C'de 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı.
6. Pellet üzerine 1 ml %10 SDS ve 20 mg/ml'lik proteinaz-K'dan 2.5 µl konulup köpük oluşturmadan iyice pipetleme yapılarak pellet tamamen dağıtıldı.
7. 65 °C ye ayarlı etüvde, arada bir hafifçe karıştırarak 15 dk. inkübe edildi.
8. Karışım 10 ml'lik tüpten 2 ml'lik ependorf tüpe aktarılarak buz içinde 5 dk. inkübe edildi.
9. Bu süre sonunda 300 µl sature (6 N) NaCl ilave ettikten sonra tüp bir vorteks yardımıyla iyice çalkalanarak beyaz görünümlü içerik homojen hale getirildi.
10. Buz içinde 5 dk bekletildi.
11. +4 °C'de 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
12. Üst sıvı 2 ml'lik steril bir ependorf tüpe aktarıldı.
13. Bu tüpe 0.5 ml, 24:1 kloroform/izoamil alkol karışımı kondu ve tüp iyice çalkalanarak karışım homojen hale getirildi.
14. +4 °C'de 13.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi.
15. Üst sıvı dikkatli bir şekilde 2 ml'lik steril bir ependorf tüpe aktarıldı.
16. Tüpe 1 ml %99,5'lik etil alkol konularak tüp 8-10 kez yavaşça baş-aşağı çevrilerek DNA'nın presipite olması sağlandı. Bu aşmada DNA yumak şeklinde görüldü
17. +4 °C'de 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek presipite olmuş DNA çöktürüldü.

18. Tüp ters çevrilerek alkol uzaklaştırıldı.
19. Tüpe 1 ml %70 etil alkol konulup, tüp alt-üst edildi.
20. +4 °C'de 13.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra tüp ters çevrilerek alkol uzaklaştırıldı ve tüpün ağzı baş aşağı gelecek şekilde bir kurutma kağıdı üzerine konularak alkolün tamamen uzaklaşması için 15 dk. bekletildi.
21. Tüpe 200 µl steril bidistile H₂O konuldu ve DNA'nın tamamen çözünmesi ve DNaz aktivitesinin ortadan kaldırılması için 75 °C'de 10 dk. bekletildi.

3.2.5. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

Konsantrasyon ölçümü için 1 ml hacimli iki adet quartz tüp alındı. Bunlardan blank olarak kullanılacak olan 1. tüpe 1000 µl, ikinci tüpe ise 990 µl steril bidistile H₂O konuldu. İkinci tüpe ekstrakte edilen genomik DNA'dan 10 µl konulup iyice pipetlenerek homojen hale getirildi. Her iki tüp spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boyunda ayrı ayrı okunduktan sonra DNA konsantrasyonu ve DNA'nın saflığı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu = Absorbans (ABS)₂₆₀ X Sulandırma katsayısı X 50/1000

Örneğin ABS'in 0.09 okunduğunu farzedelim. Bu durumda konsantrasyon şöyle olacaktır:

DNA Konsantrasyonu= 0.09 X 100 X 50/1000 = 0.45 µg/µl (450 ng/µl)

Ekstrakte edilen DNA'nın saflığı ise şu şekilde bulunur: ABS₂₆₀ / ABS₂₈₀

ABS₂₆₀ / ABS₂₈₀ = 1.6- 2.0 aralığında olmalıdır. Bu oran 2.0'ın üzerindeyse RNA, 1.6'in altındaysa protein fazlalığı var demektir. Bu oran 1.5'in altındaysa protein fazlalığından ötürü PCR çalışmasında problemler ortaya çıkabilir. Bizim hasta ve kontrol grubumuzdaki tüm DNA' bu sınırlar içerisindeydi.

3.2.6. PCR-RFLP (Polimer Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi) yöntemi ile leptin geninin (LEP) promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin belirlenmesi

LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin belirlenmesi için Gotoda ve arkadaşlarının uyguladıkları PCR-RFLP tekniği laboratuvar şartlarımıza göre modifiye edilerek uygulanmıştır (Gotoda ve ark. 1997).

Tablo 6. LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Kullanılacak Miktar (μ l)	Final Konsantrasyon
10X PCR tamponu	2.5	1X
Forward primer (5pmol/ μ l)	1	5 pmol
Reverse primer (5 pmol/ μ l)	1	5 pmol
Deoksi NTPs (25 mM)	0.5	0.25 mM
MgCl ₂ (50 mM)	1.5	1.5 mM
Genomik DNA (50 ng/ μ l)	1	50 ng
Taq DNA polimeraz (5U/ μ l)	0.2	1 U
Steril bidistile su	17.3	
Total Hacim	25 μ l	

PCR optimizasyonu için öncelikle tablo 6 ve 7’de verilen PCR karışımı ve amplifikasyon döngüleri kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezinde doğru ve keskin PCR bantları elde edilene kadar gerek PCR miksi ve gerekse de amplifikasyon döngüleri değiştirilerek optimizasyon sağlanmıştır.

Tablo 7. LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizmi için PCR programı

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Initial(ilkdenatürasyon)	94	5 dk	1
Denatürasyon	94	45 s	35
Annealing (primer bağlanması)	52	45 s	35
Extension (zincir uzaması)	72	45 s	35
Final extension	72	7 dk	1

3.2.7. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi Manniatis ve arkadaşlarının yöntemine göre yapılacaktır (Manniatis ve ark. 1982).

1. 0.9 g agaroz tartılarak 100 ml'lik bir Erlenmayere konulup ve 60 ml 1X TBE tamponu eklenip (%2' lik agaroz) ve 10 mg/ml'lik ethidium bromid'den 4 µl ilave edilir.
2. Hotplate (ısıtıcı) üzerinde kaynatılır.
3. Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirilir.
4. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk. bekletilir.
5. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kabı elektroforez tankına yerleştirilir.
6. Jeldeki açılmış olan kuyucuklara 10'ar µl miktarlarda sırasıyla Negatif kontrol (pUC18/Hae III) ve PCR ürünleri applike edilir.
7. Jele elektrik akımı (15Volt/cm) verilerek 15 dk. elektroforez yapılır.
8. Oluşan bantlar jel görüntüleme sisteminde incelenir.
9. PCR amplifikasyonunun istenilen şekilde gerçekleşmemesi halinde optimizasyon sağlanıncaya kadar yukarıdaki işlemler tekrarlanır. Amplifikasyon işlemi istenilen şekilde gerçekleşirse kesim işlemine geçilir.

3.2.8. Leptin geni promoter bölgesindeki -2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile saptanmasında kullanılan primer dizileri

G2548A: Forward: 5' _TTT CTG TAA TTT TCC CGT GAG_3'

Reverse: 5' _AAA GCA AAG ACA GGC ATA AAA A_3'

A19G: Forward: 5' CCC GCG AGG TGC ACA CTG-3';

Reverse: 5'-AGG AGG AAG GAG CGC GCC-3'

3.2.9. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi

LEP promoter bölgesindeki 2548 G>A polimorfizminin belirlenmesi için Hha I ve A19G için TaaI restriksiyon enzimi kullanılacaktır. Kesim işlemi Tablo 8'deki çizelgeye göre yapılacaktır.

Tablo 8. LEP promoter bölgesindeki 2548 G>A ve ekson bölgesindeki -19 A>G polimorfizminin gösterilmesi için kesim reaksiyonu karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (μ l)
Amplifiye ürün (PCR ürünü)	15
Steril bidistile su	75
10X Tampon	2
Restriksiyon enzimi(10 U/ μ l)	0.2

Bu şekilde elde edilen kesim ürünleri %3,5' luk ethidyum bromürlü agaroz jeldeki elektroforez işlemini takiben UV görüntüleme cihazında bantların moleküler ağırlıkları belirlenip LEP promoter bölgesindeki Leptin Geni 2548 G>A ve ekson bölgesi -19 A>G polimorfizmi olup olmadığı oluşan bantlardaki baz çiftlerine bakarak belirlenmiştir.

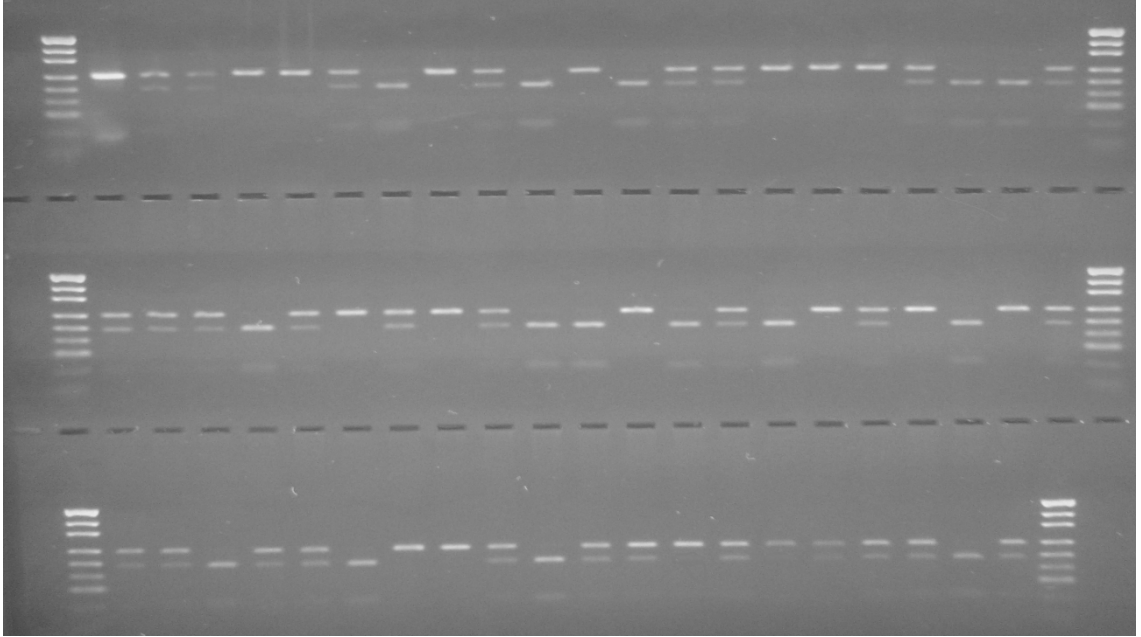
3.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar \pm standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak verilerin değerlendirilmesinde frekans tabloları, independent sample T testi, mann-whitney U testi, ki kare testi kullanılmıştır. p değerinin $\leq 0,05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 17. 0 programı kullanılarak yapılmıştır.

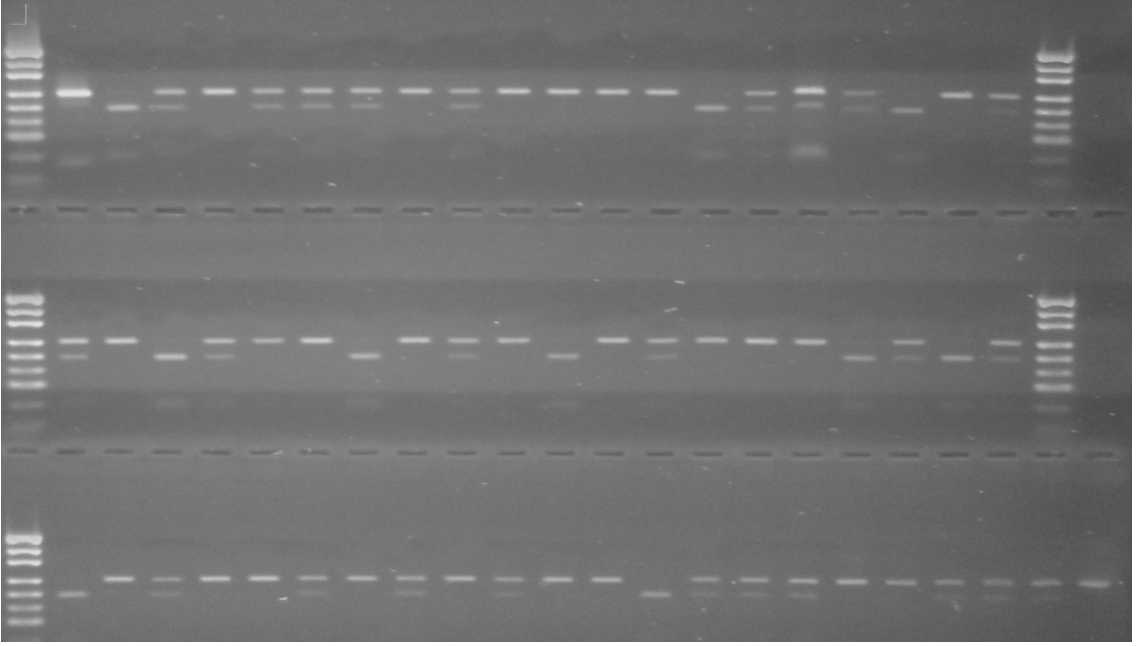
4. BULGULAR

Çalışmamıza gönüllü olarak katılan migrenli ve sağlıklı kontrol hastalarından alınan numunelerin genotip ve allel frekansları Hardy–Weinberg dağılımına uygundu. Bireylerin kişisel biyokimyasal parametreleri ve leptinin genetik polimorfik özellikleri, genotip ve allel frekansların kontrol ve migren grupları arasındaki dağılımları aşağıdaki tablo, resim ve grafiklerle gösterilmiştir. Genotip dağılımında G2548A için GG normal genotipi, GA heterozigot genotipi ve AA ise homozigot genotipi göstermektedir. A19G için ise AA normal genotipi, AG heterozigot genotipi ve GG homozigot genotipi göstermektedir. RFLP görüntülerindeki 242. bant AA genotipi, 181. Bant GG genotipi, oluşan çift bantlar ise GA heterozigot genotipi göstermektedir. A19G için ise 242. Bant GG genotipi, 181 bant AA genotipini, oluşan çift bantlar ise GA heterozigot genotipi göstermektedir.

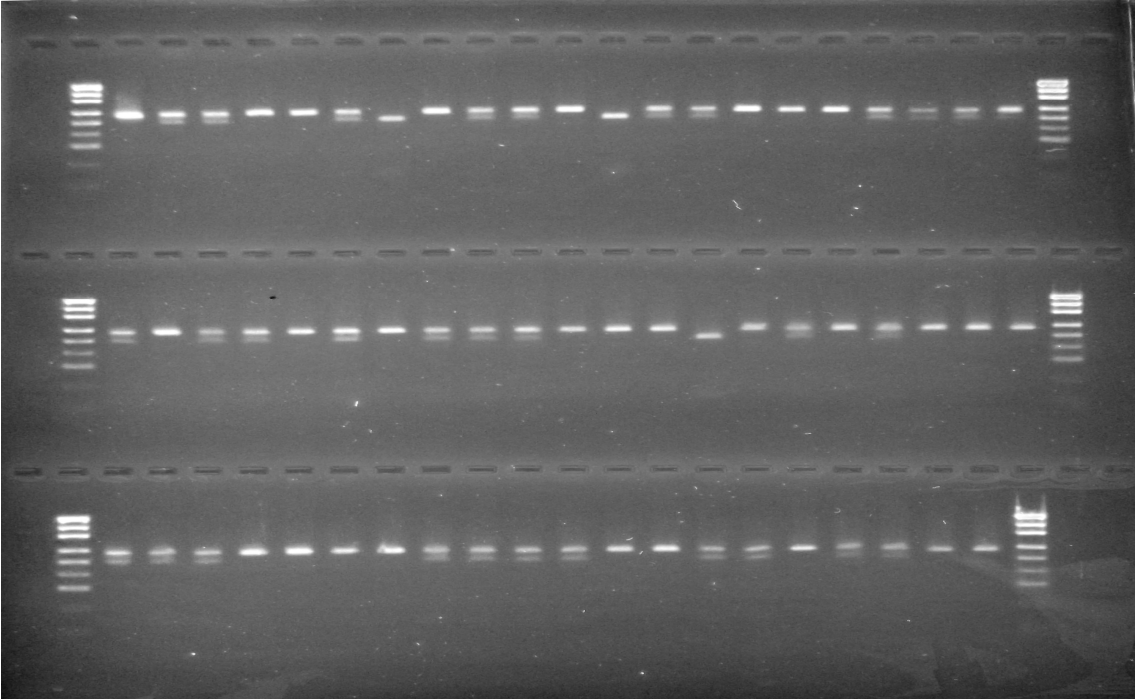
Resim 1. Hasta kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Gen 2548 G/A genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir Bant 100 bç.)



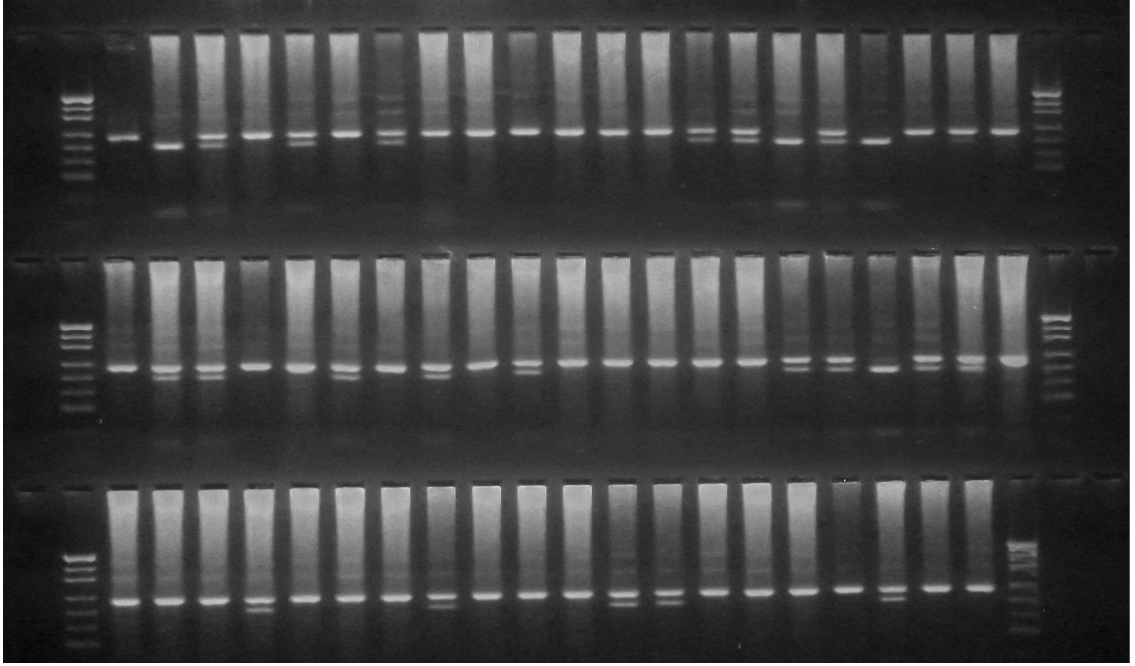
Resim 2. Kontrol kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni -2548 G/A genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir bant 100 bç.)



Resim 3. Hasta kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Gen 19 A/G genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektrofarezi görüntüsü. (Marker: Herbir Bant 100 bç.)



Resim 4. Kontrol kesim sonuçları PCR – RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni -19 A/G genotiplerinin %3,5'luk agaroz jel elektroforezi görüntüsü. (Marker: Herbir bant 100 bç.)



Tablo 9'da görüldüğü gibi, migren ve kontrol grupları arasında LEP geni -2548 G/A genotip dağılımları ve allel frekansları incelendiğinde, migren grubunda bulunan 62 hastanın 14(%22. 6)'ü GG, 30(%48. 4)'u GA, 18(%29)'i ise AA genotipini taşımaktadır. Kontrol grubunda bulunan 60 kişinin ise 10(%16.6)'u GG, 25(%41.7)'i GA, 25(%41. 7)'i AA genotipini taşımaktadır. G ve A allellerinin frekansları ise sırasıyla migrenlilerde %46. 8 ve %53. 2, kontrol grubunda %37. 5 ve %62. 5 olarak bulundu. Migren ve kontrol grupları arasında LEP geni -2548 GG, GA, AA genotipleri ile G ve A allel frekansları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($P>0.05$).

Tablo 9. Migrenli hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında Leptin Geni -2548 G/A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması

Genotip/Allel	Migrenli Hasta (n:62)	Sağlıklı Kontrol (n:60)	P Value (<0.05)
GG	14(%22,6)	10(%16,7)	0.411
GA	30(%48,4)	25(%41,7)	0.456
AA	18(%29,0)	25(%41,7)	0.144
G	58(%46,8)	45(%37,5)	0.143
A	66(%53,2)	75(%62,5)	

Tablo 10’da görüldüğü gibi, kadın migren ve kontrol grubu arasında LEP geni -2548 G/A genotip dağılımları ve allel frekansları incelendiğinde, migren grubunda bulunan 50 kadın hastanın 11(%22)’i GG, 27(%54)’i GA, 12(%24)’i ise AA genotipini taşımaktadır. Kontrol grubunda bulunan 46 kadının ise 8(%17.4)’i GG, 19(%41.3)’u GA, 19(%41.3)’u AA genotipini taşımaktadır. G ve A allellerinin frekansları ise sırasıyla migrenli kadınlarda %48 ve %52, kontrol grubunda %38 ve %62 olarak bulundu. Migrenli kadınlarda ve kontrol grubu arasında LEP geni -2548 GG, GA, AA genotipleri ile G ve A allel frekansları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($P>0.05$).

Tablo 10. Migrenli kadın ve kontrol grubu kadınlar arasında Leptin Geni -2548 G/A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması

Genotip/Allel	Migrenli Kadın(n:50)	Sağlıklı Kontrol Kadın (n:46)	P Value (<0.05)
GG	11(%22.0)	8(%17.4)	0.411
GA	27(%54.0)	19(%41,3)	0.456
AA	12(%24,0)	19(%41,3)	0.144
G	48(%48.0)	35(%38.0)	0.164
A	52(%52.0)	57(%62.0)	

Tablo 11’de görüldüğü gibi hasta ve kontrol grubu leptin geni A19G polimorfizmi ile A ve G alleli açısından incelendiğinde 62 migren hastasının 3 (%4.8)’ü AA, 29 (%46.8)’u AG, 30(%48.4)’u GG ve 60 sağlıklı kontrol grubununun 14 (%6.7)’ü AA, 20 (%33.3)’i AG, 36 (%60)’ı GG olup istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). A ve G alleli açısından incelendiğinde ise migrenli grupta G alleli 89 (%71.8), A alleli 35 (%28.2), kontrol grubunda ise G alleli 92 (%76.7) ve A alleli 28 (%23.3) olup istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$)

Tablo 11. Migrenli hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında Leptin Geni -19 A/G genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması

Genotip/Allel	Migrenli Hasta (n:62)	Sağlıklı Kontrol (n:60)	P Value (<0.05)
AA	3(%4.8)	14(%6.7)	0.715
AG	29(%46,8)	20(%33.3)	0.130
GG	30(%48.4)	36(%60)	0.198
A	35(%28.2)	28(%23.3)	0.383
G	89(%71.8)	92(%76.7)	

Tablo 12’de görüldüğü gibi migrenli ve sağlıklı kontrol grupları karşılaştırıldığında toplam 122 hastanın 60 (%49. 2)’ı sağlıklı kontrol ve 62(%50. 8) ’i ise migren hastalarından oluşuyordu. Migrenli grup 12 erkek (%19.35) ve 50 kadın(%80,65) hastadan, kontrol grup ise 14 erkek(%23. 3) ve 46 kadın(%76.6) sağlıklı kontrolden oluşmaktaydı. Migrenli grubun yaş ortalaması 30.70 ve sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması ise 29.71’idi.

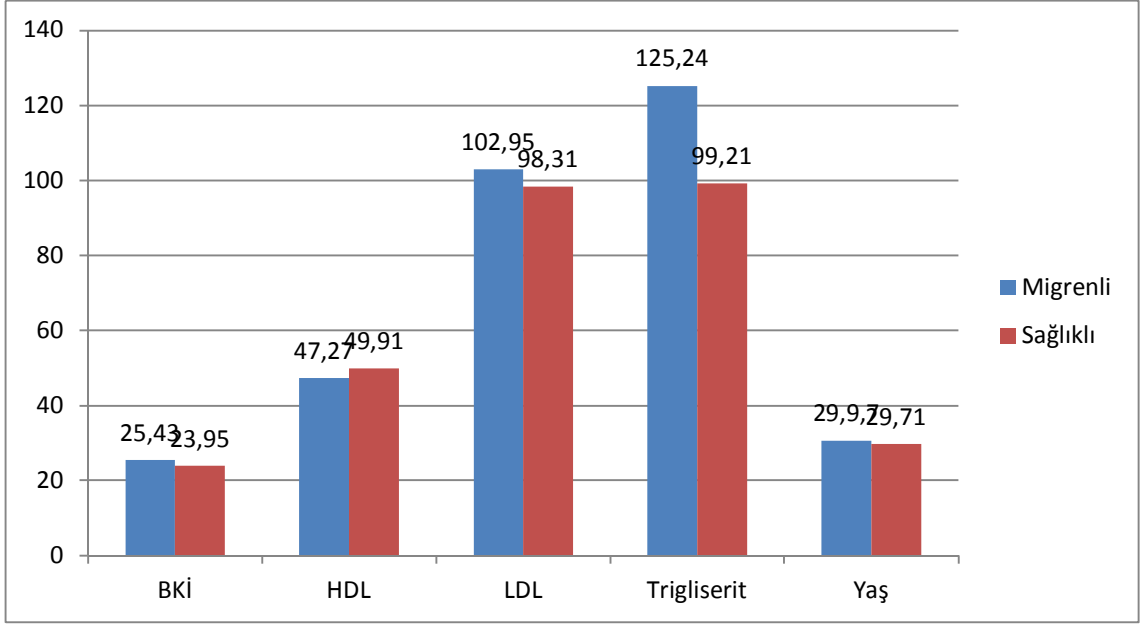
- Migrenli grupta BKİ ortalama $25,43 \pm 5,11$ iken kontrol grubunda $23,95 \pm 3,92$ ’i idi. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark vardı ($p=0.032$). Bu fark kadın migren ve kontrol grubundan kaynaklanıyordu ($p=0.026$). Erkek migren ve kontrol grubu BKİ ortalaması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,103$).
- Migrenli grupta HDL ortalama $47,27 \pm 13,36$ iken kontrol grubunda $49,91 \pm 11,65$ ’idi. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($P=0,639$).
- Migrenli grupta LDL ortalama $102,95 \pm 29,13$ iken kontrol grubunda $98,31 \pm 24,71$ ’idi. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($P=0,259$).
- Migrenli grupta trigliserit ortalama $125,24 \pm 71,18$ iken kontrol grubunda $99,21 \pm 60,29$ ’idi. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,430$).
- Migrenli grupta leptin ortalama $6,96 \pm 4,92$ iken kontrol grubunda $5,16 \pm 4,02$ ’idi. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark vardı ($P=0,023$). Bu fark kadın migren ve kontrol grubundan kaynaklanıyordu ($p=0.028$). Migrenli ve

sağlıklı erkek grubunda ise leptin ortalaması açısından anlamlı fark bulunamadı (p=0.751)

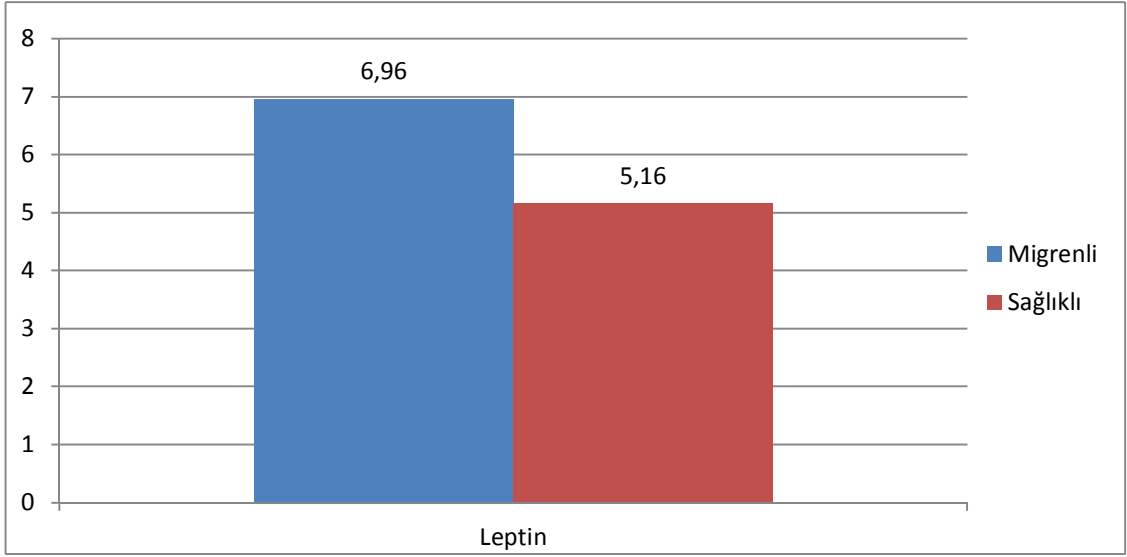
- Erkek ve kadın grupların kendi aralarında HDL, LDL, trigliserit ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05).

Tablo 12. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin ve leptin düzeylerinin karşılaştırılması

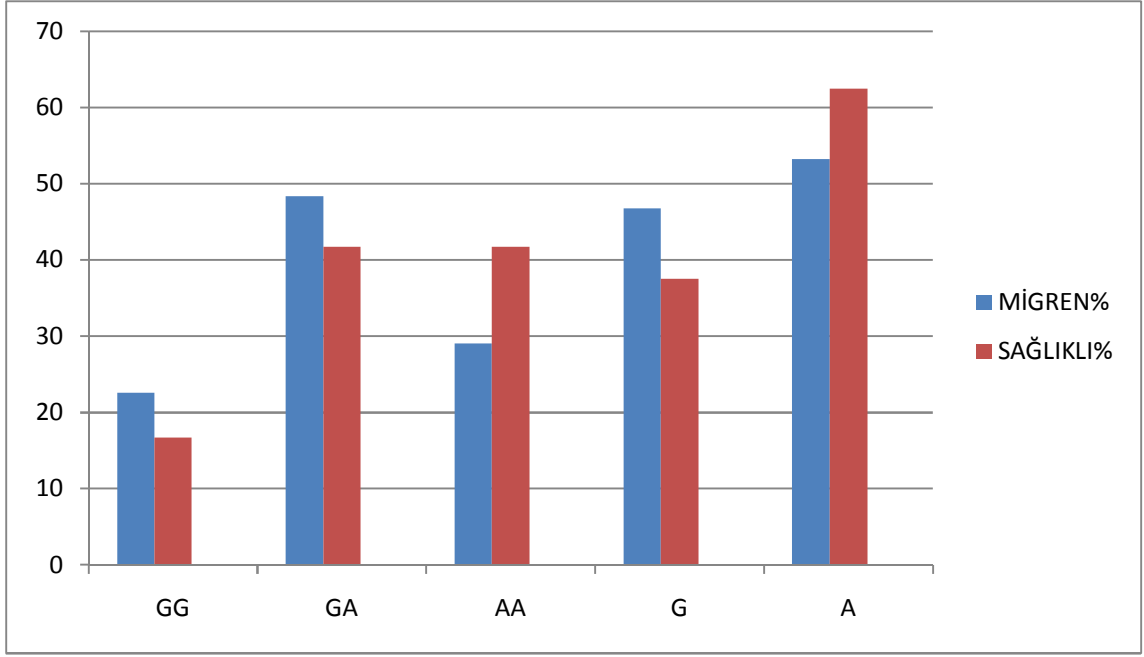
	Migrenli hasta grubu(n:62)	Sağlıklı kontrol grubu(n:60)	P DEĞERİ (<0,05)
Yaş	29.90±7.46	29,71±6,66	P=0.080
VKİ (kg/m²)	25,43±5,11	23,95±3,92	p=0,032
HDL (mg/dl)	47,27±13,36	49,91±11,65	P=0,639
LDL (mg/dl)	102,95±29,13	98,31±24,71	P=0,259
Trigliserit (mg/dl)	125,24±71,18	99,21±60,29	p=0,430
Leptin (ng/ml)	6,96±4,92	5,16±4,02	P=0,023



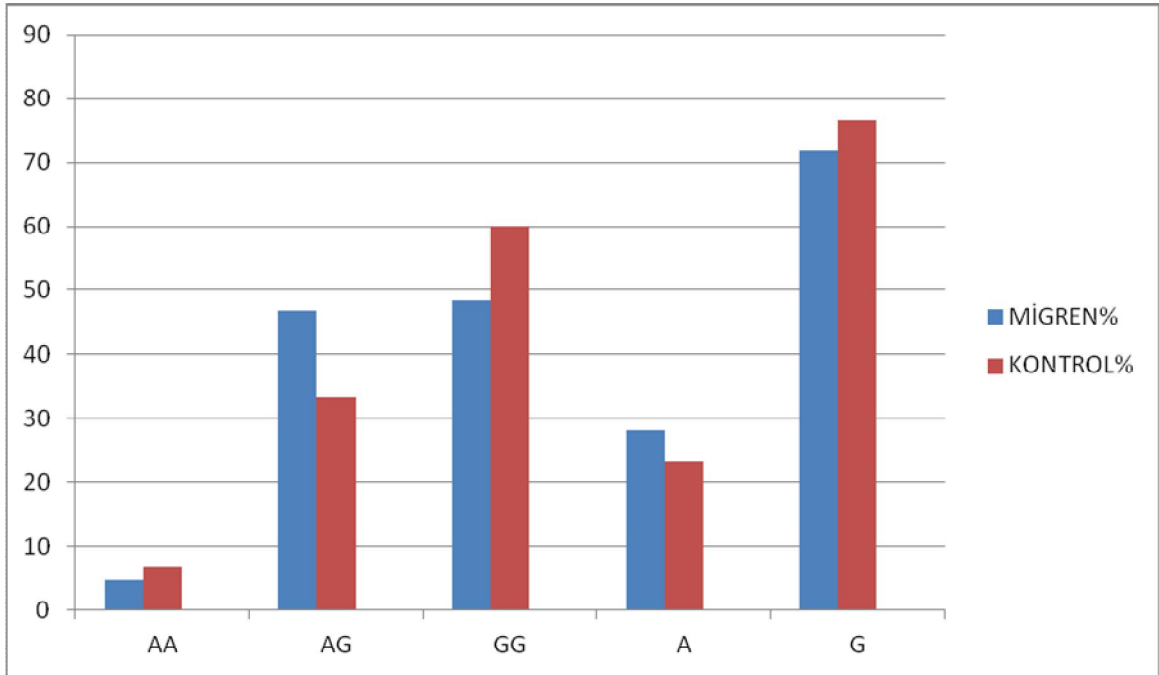
Grafik 1. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin düzeylerinin karşılaştırılması



Grafik 2. Migren ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki leptin düzeylerinin karşılaştırılması



Grafik 3. Migren hastaları ve kontrol grubunda -2548 G>A polimorfizminin karşılaştırılması



Grafik 4. Migren hastaları ve kontrol grubunda -19 A>G gen polimorfizminin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

2010 yılı global hastalık yükü anketine göre migren dünya genelinde prevalansı en yüksek üçüncü hastalık olup, disabiliteye neden olan nörolojik hastalıklar içinde birinci tüm hastalıklar arasında ise yedinci sırada bulunmaktadır(23,181). Migren etyopatogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin birlikteliği olduğu bilinmektedir. Danimarka'da monozigot kadın ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada migren üzerine genetik faktörlerin %61, çevresel faktörlerin ise %39 etkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır(182). Monozigot ve dizigot ikiz çalışmalarında, monozigot ikizlerde migrenin dizigotlara nazaran iki kat daha fazla görülmesi genetik etkiyi desteklemektedir. Yine migrenin topluma nazaran ailesel görülme riskinin auralı migrende 4 kat aurasız migrende ise 1.4 kat fazla olması bu görüşü desteklemektedir. Danimarkalı ve Alman kadınlarda migren prevalansının %32-34 ve Finlandiyalı kadınlarda %10-13 arasında bulunması ise çevresel faktörlerin genetik zemin üzerinde etkin olduğu görüşünü desteklemektedir. Son yıllarda migrenin poli ve monogenik kalıtımı ile ilgili çalışmalar hız kazanmaktadır. Monogenik kalıtımı ile ilgili en bilinen hastalıklar üç tipi ve geni keşfedilmiş olan FHM ve NOTCH geni ilişkili CADASIL olup ACE, MHTFR ve ilişkili daha birçok genle ilgili çalışmalar devam etmektedir (183).

G2548A bölgesi Leptin geninin leptin hormonu üretilmesini sağlayan düzenleyici bölgesi olarak bilinmektedir. Bu sebeple bu bölge ile ilgili olarak birçok hastalıkla ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Ancak migren ile ilişkisini araştıran bir çalışma daha önce yapılmamıştır. Bizim bu çalışmayı yaparken ortaya koyduğumuz hipotez leptinin inflamatuvar süreçlere tetikleyici yönde yaptığı katkı, migren patofizyolojisinde inflamatuvar süreçlerin bilinen etkisi ve leptinin salgılanmasını sağlayan G2548A düzenleyici bölge polimorfizminin bu olaylara yaptığı muhtemel etkiyi ortaya koymaktı (153). Çalışmamızda migren ve sağlıklı kontrol grubunda GG, GA, AA genotipleri ile G ve A allellerinin gruplar üzerine dağılımları incelendi. Migrenli ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Yine kadın hasta ve sağlıklı kadın kontrol grubu incelendiğinde anlamlı fark bulunamadı. G2548A polimorfizmi daha önce obezite, metabolik sendrom, şizofreni hastaları, KOAH, kardiyovasküler olaylarla ve kanserle ilişkisi çalışılmıştır. Obezite ile ilişkisine

bakıldığında çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bir çalışmada G2548A polimorfizmi etnik gruplar arasında farklılık göstermiş ancak VKİ ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır(156). Başka bir çalışmada benzer şekilde G2548A polimorfizmi ile obezite arasında ilişki bulunamamış, yine aynı çalışmada polimorfizm ile leptin düzeyi arasında da ilişki bulunamamış, ancak leptin düzeyi obezlerde anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur(164). Ancak bu çalışmalara zıt biçimde başka bir çalışmada AA polimorfizmi yüksek VKİ ve total kolesterol ve düşük HDL ile ilişkili bulunmuştur (161). Türkiye’de yapılmış başka bir çalışmada ise G2548A polimorfizmi ile obezite arasında ilişki bulunamamış ve G2548A polimorfizminin obezite markeri olamayacağı söylenmiştir (160). Asyalı ırklar üzerinde yapılan bir çalışmada şizofreni hastalarında AA genotipi taşıyan insanların antipsikotiklere bağlı kilo alımının belirgin olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (184). Kanseri çalışmalarında ise iki ayrı çalışmanın birinde GA ve AA genotipleri NHL ile diğerinde ise AA polimorfizmi OSHK ile ilişkili bulunmuştur(167,185)

A19G ile ilgili olarak migren ile ilişkisini değerlendiren bir çalışma daha önce yapılmamıştır. Rusya’da yapılan bir çalışmada A19G polimorfizmi metabolik açıdan sağlıklı ve hasta obezlerde karşılaştırılmış anlamlı fark bulunamamış (171). Çin’de yapılan bir çalışmada A19G polimorfizmi ile obezite ve yağ kütlesi arasındaki ilişki karşılaştırılmış ancak anlamlı fark bulunmamış (172). Benzer şekilde yine Çin’de yapılan bir çalışmada obez ve non- obez grupta A19G polimorfizmi karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunmamış (173). Benzer şekilde Japonya’da yapılan bir çalışmada obez ve obezolmayan grupta A19G polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunamamış (174). İtalya’da A19G bölgesinde A ve G allelleri obez ve obezolmayan gruplar arasında karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunamamış (175). Açlık insülini ile A19G polimorfizminin karşılaştırıldığı bir çalışmada anlamlı fark bulunamamış (176). Çin’de periton diyalizi yapılan hastalarda leptin düzeyi, VKİ ve A19G polimorfizmi karşılaştırılmış, AA polimorfizmi yüksek leptin, VKİ ve açlık kan glukozu ile ilişkili bulunmuş ancak mortalite ile arasında anlamlı ilişki bulunamamış (170). Bir çalışmada Leptin düzeyinin AA polimorfizmi olanlarda daha düşük olduğu, yine aynı çalışmada meme dokusunda AG polimorfizmi olanlarda leptinin daha düşük olduğu görülmüş ve bunun artmış meme kanseri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (177). Kanseri ve A19G polimorfizminin karşılaştırıldığı bir çalışmada AG polimorfizminin non-hodgkin lenfoma ve foliküler kanseri azalttığı ancak diffüz büyük B hücreli kanserde ise anlamlı fark bulunmadığı bildirilmiştir(178). Irksal olarak allel dağılımının değerlendirildiği bir

çalışmada G allelinin Finlilerde, Fransız ve İtalyanlara nazaran daha fazla olduğu bildirilmiştir (179). Bizim çalışmamızda A19G polimorfizmi açısından AA, AG, GG genotipi ile hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı. Bunun dışında A ve G alleli açısından karşılaştırıldığında ise yine hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı.

Leptin hormonunun migren hastalarındaki düzeyleri ile ilgili ise birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Migrende leptin seviyeleri ile ilgili kesin sonuç bulunmamaktadır (1). Leptinin antiinflamatuvar ve migren üzerine faydalı etkileri olabileceğini bildiren çalışmaların yanında pro-inflamatuvar olup migrende tetikleyici olabileceğini bildiren çalışmalarda mevcuttur. Bir çalışmada leptinin inflamatuvar sitokinleri artırdığı bildirilmiş ve intraperitoneal verilen leptinin ağrı duyarlılığında artışa neden olduğu gösterilmiştir (153). Başka bir çalışmada obez olmayan kadın migrenli grup ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmış ve migrenli grupta leptin ve insülin düzeyleri sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (186). Bir başka çalışmada 52 migren hastası ve yaş, cinsiyet ve VKİ açısından eşleştirilmiş 52 sağlıklı hasta karşılaştırılmış ve leptin düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır (181). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise leptin düzeyi açısından VKİ, LDL, HDL ve trigliserit düzeyleri eşleştirilmiş migren ve sağlıklı kontrol grubu arasında migrenli grupta anlamlı derecede düşük bulunmuştur (1). Yine ülkemizde yapılan bir çalışmaya 77 migrenli ve 19 sağlıklı çocuk katılmış, migren için profilaksi alan çocuklarda 4 aylık tedavi sonrası inflamatuvar sitokin düzeyleri azalmış ve leptin düzeylerinde bazal değerlere göre artış saptanmıştır (152). Bizim çalışmamızda migrenli grupta leptin ortalaması kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Bu fark kadın hasta ve kontrol grubundan kaynaklanıyordu ($p<0.05$). Erkek migren ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

VKİ ve lipit profili ile migren arasında ilişki ile ilgili de çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bir çalışmada obezitenin migren prevalansına etkisinin olmadığı ancak obez migrenlilerin kronik migrenden daha fazla muzdarip olduğu söylenmiş, obez migrenlilerde fotofobi ve fonofobinin daha fazla görüldüğü ifade edilmiştir(187). Bir başka çalışmada anorexia nervosa nedeniyle psikiatri kliniğine başvuran 77 hastanın VKİ ortalaması 15.1 olup, bu hastaların %72.3'ünde migren %10.6'ında diğer baş ağrısı tipleri tespit edilmiş ve bu oranlar normal toplum prevalansına göre oldukça yüksek bulunmuştur (188). Bunların dışında yapılan dört çalışmadan ikisinde migren ve

obezite arasında ilişki bulunamamış ancak birinde obezitenin baş ağrısı prevalansı ile pozitif olarak ilişkili bulunmuş, diğer iki çalışmada ise migren prevalansı veya ciddi baş ağrısı ile obezite arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (189). Bir başka araştırmacı ise bu çalışmalar arasındaki farklılığı J şekilli risk eğrisi olarak tanımlamış, buna göre VKİ<18.5 ve VKİ>35 olanlarda migren sıklığı riskinin artmış olabileceğini iddia etmiştir (181). Bizim çalışmamızda VKİ migrenli grupta sağlıklı gruba nazaran ortalama olarak daha yüksek bulundu ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu fark erkek hasta ve kontrol grupları arasında bulunamazken, kadın hasta ve kontrol grubu arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edildi. Lipit profili için ise bizim çalışmamızda LDL, HDL ve trigliserit düzeyleri açısından her iki grup açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı. Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda ise genellikle lipit profili gruplar arasında istatistiksel olarak anlamsız bulunmakta olup bunun hasta ve kontrol gruplarını eşitlemek için vakaların seçilmiş olduğundan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Literatürde Lipit profili ile migren arasında ilişkiyi inceleyen randomize kontrollü çalışma ise bulunamamıştır.

6. SONUÇLAR

Migren dünya üzerinde prevalansı yüksek olması ve üretkenlikte azalmaya neden olması dolayısıyla en önemli hastalıklardan biridir. Bu hastalığın patofizyolojisinin tam anlaşılması ve etyolojisinin aydınlatılması tedavi geleceği açısından oldukça önemlidir. Migren hastalığı saf genetik veya saf çevresel bir hastalık olmayıp, bu iki durumun bir araya gelmesinin bir sonucu olduğu bilinmektedir. Daha önce birçok genle ilişkisini inceleyen çalışmalar yapılmıştır, ancak leptin geni ile ilişkisini araştıran bir çalışma bugüne kadar yapılmamıştır. Bizim çalışmamız bu açıdan önemlidir. Çalışmamız sonucunda biz G2548A; GG, GA ve AA genotipleri ile G ve A alleleri ve A19G; AA, AG, GG genotipleri ile A ve G allellerinin migrenli ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşturmadığını tespit ettik ($p>0.05$). Genetik bir çalışma olarak bizim çalışmamız vaka sayısı açısından yetersiz olup bulduğumuz sonucun yeni çalışmalarla güçlendirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda leptin ve VKİ düzeyleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Bu fark kadın migren ve kontrol grubu arasındaki farktan kaynaklanmaktaydı ($p<0.05$). Erkek migren ve kontrol grubunda VKİ ve leptin ortalaması açısından anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Bu konuda literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bu durum geniş kapsamlı çalışmalar ve meta-analizlerle aydınlatılması gereken bir konu olarak karşımızda durmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Guldiken, B., Guldiken, S., Demir, M., Turgut, N., & Tugrul, A. (2008). Low leptin levels in migraine: a case control study. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 48(7), 1103-1107.
2. Lipton, R. B., Bigal, M. E., Diamond, M., Freitag, F., Reed, M. L., & Stewart, W. F. (2007). Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology*, 68(5), 343-349
3. Shaik, M. M., & Gan, S. H. (2015). Vitamin Supplementation as Possible Prophylactic Treatment against Migraine with Aura and Menstrual Migraine. *BioMed research international*.
4. Stovner, L. J., & Birbeck T. J., Steiner, , G. L. (2013). Migraine: the seventh disabler. *Cephalalgia*, 33(5), 289-290.
5. Friedman, B. W., Hochberg, M. L., Esses, D., Grosberg, B., Corbo, J., Toosi, B. (2007). Applying the International Classification of Headache Disorders to the emergency department: an assessment of reproducibility and the frequency with which a unique diagnosis can be assigned to every acute headache presentation. *Annals of Emergency Medicine*, 49(4), 409-419.
6. Steiner, T. J., Stovner, L. J., & Birbeck, G. L. (2013). Migraine: the seventh disabler. *Cephalalgia*, 33(5), 289-290.
7. M. M. Shaik, & Gan, S. H. (2015). Vitamin Supplementation as Possible Prophylactic Treatment against Migraine with Aura and Menstrual Migraine. *BioMed Research International*.
8. Fabjan, A., Zaletel, M., & Žvan, B. (2015). Is There a Persistent Dysfunction of Neurovascular Coupling in Migraine?. *BioMed Research International*, 2015.
9. Gupta, R., Pathak, R., Bhatia, M. S., & Banerjee, B. D. (2009). Comparison of oxidative stress among migraineurs, tension-type headache subjects, and a control group. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 12(3), 167.
10. Boćkowski, L., Śmigielska-Kuzia, J., Sobaniec, W., Żelazowska-Rutkowska, B., Kułak, W., & Sendrowski, K. (2010). Anti-inflammatory plasma cytokines in

- children and adolescents with migraine headaches. *Pharmacological Reports*, 62(2), 287-291..
11. Levy, D. (2012). Endogenous mechanisms underlying the activation and sensitization of meningeal nociceptors: the role of immuno-vascular interactions and cortical spreading depression. *Current Pain and Headache Reports*, 16(3), 270-277.
 12. Clément, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S., Pelloux, V., Cassuto, D et al. (1998). A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 392(6674), 398-401.
 13. Bigal, M. E., & Lipton, R. B. (2006). Obesity is a risk factor for transformed migraine but not chronic tension-type headache. *Neurology*, 67(2), 252-257.
 14. Berilgen, M. S., Bulut, S., Gonen, M., Tekatas, A., Dag, E., & Mungen, B. (2005). Comparison of the effects of amitriptyline and flunarizine on weight gain and serum leptin, C peptide and insulin levels when used as migraine preventive treatment. *Cephalalgia*, 25(11), 1048-1053.
 15. Lance, J. W. (1993). Current concepts of migraine pathogenesis. *Neurology*, 43(6 Suppl 3), S11-5.
 16. International Headache Society, The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version), *Cephalalgia* 2013; 33(9) 629–808
 17. Rasmussen, B. K. (2001). Epidemiology of headache. *Cephalalgia*, 21(7), 774-777.
 18. Silberstein, S.D., R.B. Lipton, and P.J. Goadsby. *Klinik Uygulamada Baş ağrısı*. (Martin Dunit Ltd. Londra, 2002) Türkçe ed.: Ertaş M, Akman-Demir G. *Yelkovan Yayınları*, 2004; 1-113
 19. Rasmussen, B. K., Jensen, R., Schroll, M., & Olesen, J. (1991). Epidemiology of headache in a general population—a prevalence study. *Journal of Clinical Epidemiology*, 44(11), 1147-1157.
 20. Hayran, O., Zarifoğlu, M., & Siva, A. (2000). Baş ağrısı Epidemiyolojisi. Erdine S (Ed). *Ağrı* 2000; 181, 183.
 21. Siva A. Baş ağrısı epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2003: 1(2):94-7
 22. Gilroy J. *Basic Neurology*. 3. Baskı, USA: McGraw-Hill Inc, 2000:123-148.
 23. Stewart, W. F., Lipton, R. B., & Liberman, J. (1996). Variation in migraine prevalence by race. *Neurology*, 47(1), 52-59.
 24. Lipton RB, Bigal ME. The epidemiology of migraine. *Am J Med* 2005; 118:3-10

25. İrkeç, C. (2003). Migren ve İmmün Sistem. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology*, 1(2), 124-126.
26. Stewart, W. F., Linet, M. S., Celentano, D. D., Van Natta, M., & Ziegler, D. (1991). Age-and sex-specific incidence rates of migraine with and without visual aura. *American Journal of Epidemiology*, 134(10), 1111-1120.
27. Seymour D. (1991). Migraine headaches. *Med Clin North Am*;75:545–65
28. Solomon, G. D. (1993). Therapeutic advances in migraine. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 33(3), 200-209.
29. Lipton, R. B., & Stewart, W. F. (1993). Migraine in the United States: a review of epidemiology and health care use. *Neurology*, 43(6 Suppl 3), S6-10.
30. Balkan S.(1994): Baş ağrıları. In: *Nöroloji Ders Kitabı*. Edited by Yalçınkaya K, Balkan S, Oğuz Y, 1 edn. Ankara: Palme Yayıncılık :251-268
31. Zarifoglu, M., Siva, A., Hayran, O., Selekler, K., İdman, F., Sanca, Y. Ve ark.(1998, April). An epidemiologic study of headache in Turkey: a nationwide survey. In *Neurology* (Vol. 50, No. 4, pp. A225-A225).
32. Lipton, R. B., Stewart, W. F., Diamond, S., Diamond, M. L., & Reed, M. (2001). Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*,41(7), 646-657.
33. Tfelt-Hansen, P. C. (2009). History of migraine with aura and cortical spreading depression from 1941 and onwards. *Cephalalgia*.
34. Stephen D Silberstein, Richard Lipton, Peter J Goadsby (2002). *Headache in clinical practice*
35. Headache Classification Committee of the International Headache Society. (1988). Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia*, 8, 1-96.
36. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Cilt:1, Sayı:2, Ağustos 2003*
37. Evans, R. W. (2014). The clinical features of migraine with and without aura. *Pract Neurol*, 13, 26-32.
38. Lipton, R. B., Scher, A. I., Kolodner, K., Liberman, J., Steiner, T. J., & Stewart, W. F. (2002). Migraine in the United States epidemiology and patterns of health care use. *Neurology*, 58(6), 885-894.

39. Eriksen, M. K., Thomsen, L. L., & Olesen, J. (2005). Sensitivity and specificity of the new international diagnostic criteria for migraine with aura. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 76(2), 212-217.
40. Manzoni, G. C., Farina, S., Lanfranchi, M., & Solari, A. (1985). Classic migraine—clinical findings in 164 patients. *European Neurology*, 24(3), 163-169.
41. Selby, G., & Lance, J. W. (1960). Observations on 500 cases of migraine and allied vascular headache. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 23(1), 23.
42. Jensen K, Tfelt-Hansen P, Lauritzen M, Olesen J.(1986) Classic migraine, a prospective recording of symptoms. *Acta Neurol Scand*: 73: 359-62
43. Lance JW (1998): Mechanism and management of headache. BH, Oxford 158-175,
44. Hargreaves, R. J., & Shephard, S. L. (1999). Pathophysiology of migraine—new insights. *The Canadian Journal of Neurological Sciences*, 26(03), 12-19.
45. Moskowitz, M. A. (1992). Neurogenic versus vascular mechanisms of sumatriptan and ergot alkaloids in migraine. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13, 307-311.
46. Izzati-Zade, K. F. (2008). The role of serotonin in the pathogenesis and clinical presentations of migraine attacks. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 38(5), 501-505.
47. Graham, J. R., & Wolff, H. G. (1938). Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 39(4), 737-763.
48. Silberstein SD (1992). Advances in understanding the pathophysiology of headache. *Neurology*;42:6–10
49. Olsson JE (1991). Neurologic finding in basilar migraine. *Laryngoscope*;101:1–41
50. Arulmozhi, D. K., Veeranjanyulu, A., & Bodhankar, S. L. (2005). Migraine: current concepts and emerging therapies. *Vascular Pharmacology*, 43(3), 176-187.
51. Hamada, J. (2009). [Use of antiepileptic drugs for the preventive treatment of migraine]. *Brain and Nerve= Shinkei kenkyu no shinpo*, 61(10), 1117-1124.
52. Teper SJ, Rapoport A, Sheftell F. (2001) The pathophysiology of migraine. *The Neurologist*;279–85
53. Goadsby, P. J., & Edvinsson, L. (1993). The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Annals of Neurology*, 33(1), 48-56.

54. Panconesi, A., & Sicuteri, R. (1997). Headache induced by serotonergic agonists—a key to the interpretation of migraine pathogenesis?. *Cephalalgia*,17(1), 3-14.
55. Matsunaga, M., Murakami, H., Yamakawa, K., Isowa, T., Kasugai, K., Yoneda, M. et al. (2010). Genetic variations in the serotonin transporter gene-linked polymorphic region influence attraction for a favorite person and the associated interactions between the central nervous and immune systems. *Neuroscience Letters*, 468(3), 211-215.
56. Cananzi, A. R., D'andrea, G., Perini, F., Zamberlan, F., & Welch, K. M. A. (1995). Platelet and plasma levels of glutamate and glutamine in migraine with and without aura. *Cephalalgia*, 15(2), 132-135.
57. Andrea, G. D., Toldo, M., Cortelazzo, S., & Milone, F. F. (1982). Platelet activity in migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 22(5), 207-212.
58. Steiner, T. J., Findley, L. J., & Yuen, A. W. C. (1997). Lamotrigine versus placebo in the prophylaxis of migraine with and without aura. *Cephalalgia*,17(2), 109-112.
59. Anoaica, M. B., Anoaica, P. G., & Popescu, F. (2014). Acetylsalicylic Acid in Migraine with Aura Prevention-a Retrospective Study. *Current Health Sciences Journal*, 40(2), 126.
60. Silberstein, S. D. (2004). Migraine pathophysiology and its clinical implications. *Cephalalgia*, 24(2 suppl), 2-7.
61. Buzzi, M. G., & Moskowitz, M. A. (2005). The pathophysiology of migraine: year 2005. *The journal of Headache and Pain*, 6(3), 105-111.
62. Bolay, H., & Dalkara, T. (2003). Birincil Baş ağrılarının Fiziopatolojisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology*, 1(2), 98-102.
63. Messlinger, K., Fischer, M. J., & Lennerz, J. K. (2011). Neuropeptide effects in the trigeminal system: pathophysiology and clinical relevance in migraine. *The Keio Journal of Medicine*, 60(3), 82-89.
64. Burstein, R., Yarnitsky, D., Goor-Aryeh, I., Ransil, B. J., & Bajwa, Z. H. (2000). An association between migraine and cutaneous allodynia. *Annals of Neurology*, 47(5), 614-624.
65. Goadsby, P. J., Zagami, A. S., & Lambert, G. A. (1991). Neural processing of craniovascular pain: a synthesis of the central structures involved in migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 31(6), 365-371.

66. Kaniecki, R. G., & Totten, J. (2001). Cervicalgia in migraine: prevalence, clinical characteristics, and response to treatment. *Cephalalgia*, 21(4), 296-7.
67. Russell MB, Rasmussen BK, Thorvaldsen P, Olesen J. (1995) Prevalence and sex-ratio of the subtypes of migraine. *Int J Epidemiol.*;24:612–8
68. Goadsby, P. J. (2005). Migraine pathophysiology. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 45(s1), S14-S24.
69. Lauritzen, M. (2001). Cortical spreading depression in migraine. *Cephalalgia*,21(7), 757-760.
70. Leao AAP (1944) Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J Neurophysiol* 7: 359–90
71. Wolff, H. G. (1963). *Headache: and other head pain*. Oxford University Press.
72. Mitsikostas, D. D., & del Rio, M. S. (2001). Receptor systems mediating c-fos expression within trigeminal nucleus caudalis in animal models of migraine. *Brain Research Reviews*, 35(1), 20-35.
73. Ramadan, N. M. (2006). Migraine headache prophylaxis: current options and advances on the horizon. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 6(2), 95-99.
74. Palmer, J. E., Chronicle, E. P., Rolan, P., & Mulleners, W. M. (2000). Cortical hyperexcitability is cortical under-inhibition: evidence from a novel functional test of migraine patients. *Cephalalgia*, 20(6), 525-532.
75. Ferrari, M.D. and J. Han, (2001) Genetics of headache. In: Silberstein SD, Lipton RB, Dalessio DJ, eds. *Wolff's Headache and Other Head Pain*. Oxford University Press: p. 73-84
76. Mathew NT. (2005) Migren, Bölüm 2. Başağrısı El Kitabı. (Lippincott Williams&Wilkins, Philedelphia USA, 2.baskı, 2005) Türkçe Ed.:Ertaş M., Ertaş N.K. Sigma yay. :28-59
77. Sanchez-del-Rio, M., Reuter, U., & Moskowitz, M. A. (2006). New insights into migraine pathophysiology. *Current Opinion in Neurology*, 19(3), 294-298.
78. Russell, M. B., & Olesen, J. (1995). Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ*. 311(7004), 541-544.
79. Ulrich, V., Gervil, M., Kyvik, K. O., Olesen, J., & Russell, M. B. (1999). Evidence of a genetic factor in migraine with aura: A population-based Danish twin study. *Annals of Neurology*, 45(2), 242-246.

80. Juhasz G, Zsombok T, Laszik A, Jakus R, Faludi G, Sotonyi P, et al. (2003) Despite the General correlation of the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism (5-HTTLPR) and platelet serotonin concentration, lower platelet serotonin concentration in migraine patients is independent of the 5-HTTLPR variants. *Neurosci Lett*; 350(1):56-60
81. Erdal, M. E., Herken, H., Yilmaz, M., & Bayazit, Y. A. (2001). Significance of the catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in migraine. *Molecular Brain Research*, 94(1), 193-196.
82. Rainero I, Salani G, Valfre W, Savi L, Rivoiro C, Ferrero M, et al (2003). Absence of linkage Between the interleukin-6 gene (-174 G/C) polymorphism and migraine. *Neurosci Lett*; 343(3):155-8
83. Erdal, M. E., Herken, H., Yilmaz, M., & Bayazit, Y. A. (2001). Association of the T102C polymorphism of 5-HT_{2A} receptor gene with aura in migraine. *Journal of the Neurological Sciences*, 188(1), 99-101.
84. Kusumi, M., Ishizaki, K., Kowa, H., Adachi, Y., Takeshima, T., Sakai, F., & Nakashima, K. (2003). Glutathione S-transferase polymorphisms: susceptibility to migraine without aura. *European Neurology*, 49(4), 218-222.
85. Trabace S, Brioli G, Lulli P, Morellini M, Giacobazzo M, Ciciarelli G, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism in migraine. *Headache* 2002; 42(5):341-5
86. Paterna S, Di Pasquale P, D'Angelo A, Seidita G, Tuttolomondo A, Cardinale A, et al. (2000) Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism determines an increase infrequency of migraine attacks in patients suffering from migraine without aura. *Eur Neurol*; 43(3):133-6
87. De Vries, B., Frants, R. R., Ferrari, M. D., & van den Maagdenberg, A. M. (2009). Molecular genetics of migraine. *Human Genetics*, 126(1), 115-132.
88. Hegyi, K., Fülöp, K., Kovács, K., Tóth, S., & Falus, A. (2004). Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell Biology International*, 28(3), 159-169.
89. Day, C. (2007). Metabolic syndrome, or What you will: definitions and epidemiology. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 4(1), 32-38.
90. Ailhaud, G. (2006). Adipose tissue as a secretory organ: from adipogenesis to the metabolic syndrome. *Comptes Rendus Biologies*, 329(8), 570-577.
91. Aslan, K., Serdar, Z., & Tokullugil, A. H. (2004). Multifonksiyonel hormon: leptin. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 30(2), 113-118.

92. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425-432.
93. Frühbeck, G. (2001). A heliocentric view of leptin. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(03), 301-318.
94. *J BiolChem*, (1998); 273 (52): 35245-35249
95. Öner, C., Avcı, G., & Tosunoglu, F. (2001). Postmenopozal Kadınlarda Obesite, İnsülin Düzeyi ve Kemik Mineral Yoğunluğu Arasındaki İlişkiler. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 47(2), 24-27.
96. Auwerx J, Starls B. Leptin. *Lancet*. Mar (1998) ; 351(9104): 737-42
97. Sinha MK, Caro JF. (1998) Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm.*; 54: 1- 30
98. Pan, W., & Kastin, A. J. (2001). Diurnal variation of leptin entry from blood to brain involving partial saturation of the transport system. *Life Sciences*, 68(24), 2705-2714.
99. Mantzoros, C. S., & Moschos, S. J. (1998). Leptin: in search of role (s) in human physiology and pathophysiology. *Clinical Endocrinology*, 49(5), 551-567.
100. Tu, H., Pan, W., Feucht, L., & Kastin, A. J. (2007). Convergent trafficking pattern of leptin after endocytosis mediated by ObRa–ObRd. *Journal of Cellular Physiology*, 212(1), 215-222.
101. Tartaglia, L. A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., et al. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 83(7), 1263-1271.
102. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carrol KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM: Abnormal Splicing of the Leptin Receptor in Diabetic Mice *Nature* 1996; 379: 632-35
103. Ghilardi, N., Ziegler, S., Wiestner, A., Stoffel, R., Heim, M. H., & Skoda, R. C. (1996). Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(13), 6231-6235.
104. Mercer, J. G., Hoggard, N., Williams, L. M., Lawrence, C. B., Hannah, L. T., Morgan, P. Et al. (1996). Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*, 8(10), 733-735.

105. Kastin, A. J., Pan, W., Maness, L. M., Koletsky, R. J., & Ernsberger, P. (1999). Decreased transport of leptin across the blood–brain barrier in rats lacking the short form of the leptin receptor☆. *Peptides*, 20(12), 1449-1453.
106. Harris, R. B. (2014). Direct and indirect effects of leptin on adipocyte metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(3), 414-423.
107. Gupta, S., Agrawal, S., & Gollapudi, S. (2013). Increased activation and cytokine secretion in B cells stimulated with leptin in aged humans. *Immun Ageing*, 10(3).
108. Garofalo, C., & Surmacz, E. (2006). Leptin and cancer. *Journal of Cellular Physiology*, 207(1), 12-22.
109. Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Leptin. *Annual Review of Physiology*, 62(1), 413-437.
110. Norrelund, H., Gravholt, C. H., Englaro, P., Blum, W. F., Rascher, W., Chistiansen, J. S. Et al.(1998). Increased levels but preserved diurnal variation of serum leptin in GH-deficient patients: lack of impact of different modes of GH administration. *European Journal of Endocrinology*, 138(6), 644-652.
111. Caro, J. F. (1998). Leptin: from 1958 to the present. *Can J Diabetes Care*, 22, 18-23.
112. Bjorbæk, C., & Kahn, B. B. (2004). Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Progress in Hormone Research*, 59, 305-332.
113. Ergün, A. (2005). Yağ Dokusu ve Yağ Hücreleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 25(3), 412-420.
114. Caro, J. F., Kolaczynski, J. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Opentanova, I., Goldman, W. H., ... & Considine, R. V. (1996). Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *The Lancet*, 348(9021), 159-161.
115. Wang, M. Y., Lee, Y., & Unger, R. H. (1999). Novel form of lipolysis induced by leptin. *Journal of Biological Chemistry*, 274(25), 17541-17544.
116. Münzberg, H., Flier, J. S., & Bjorbæk, C. (2004). Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology*, 145(11), 4880-4889.
117. Marsh, A. J., Fontes, M. A., Killinger, S., Pawlak, D. B., Polson, J. W., & Dampney, R. A. (2003). Cardiovascular responses evoked by leptin acting on

- neurons in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus. *Hypertension*, 42(4), 488-493.
118. Shimabukuro M., Koyama K., Chen G., Wang MY., Trieu F., Lee Y., et al. (1997) Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 94: 4637-41,
 119. Nowak, K. W., Maćkowiak, P., Nogowski, L., & Szkudelski, T. (1998). Acute leptin action on insulin blood level and liver insulin receptor in the rat. *Life Sciences*, 63(15), 1347-1352.
 120. Louis, G. W., & Myers Jr, M. G. (2007). The role of leptin in the regulation of neuroendocrine function and CNS development. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 8(2), 85-94.
 121. Beltowski, J. (2006). Role of leptin in blood pressure regulation and arterial hypertension. *Journal of Hypertension*, 24(5), 789-801.
 122. Barba, G., Russo, O., Siani, A., Iacone, R., Farinero, E., Gerardi, M. C., ... & Strazzullo, P. (2003). Plasma leptin and blood pressure in men: graded association independent of body mass and fat pattern. *Obesity Research*, 11(1), 160-166.
 123. Shek, E. W., Brands, M. W., & Hall, J. E. (1998). Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension*, 31(1), 409-414.
 124. Tounian, P., Aggoun, Y., Dubern, B., Varille, V., Guy-Grand, B., Sidi, D., et al. (2001). Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *The Lancet*, 358(9291), 1400-1404.
 125. Vitoratos, N., Chrystodoulacos, G., Kouskouni, E., Salamalekis, E., & Creatsas, G. (2001). Alterations of maternal and fetal leptin concentrations in hypertensive disorders of pregnancy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 96(1), 59-62.
 126. Singhal, A., Farooqi, I. S., Cole, T. J., O'Rahilly, S., Fewtrell, M., Kattenhorn, M., et al. (2002). Influence of leptin on arterial distensibility a novel link between obesity and cardiovascular disease?. *Circulation*, 106(15), 1919-1924.
 127. Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. K., Baker, R. J., Bloom, S. R., & Lechler, R. I. (1998). Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, 394(6696), 897-901.

128. Konstantinides, S., Schäfer, K., Koschnick, S., & Loskutoff, D. J. (2001). Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 108(10), 1533.
129. Canavan, B., Salem, R. O., Schurgin, S., Koutkia, P., Lipinska, I., Laposata, M., et al.(2005). Effects of physiological leptin administration on markers of inflammation, platelet activation, and platelet aggregation during caloric deprivation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(10), 5779-5785.
130. Hardwick, J. C., Van Den Brink, G. R., Offerhaus, G. J., Van Deventer, S. J., & Peppelenbosch, M. P. (2001). Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology*, 121(1), 79-90.
131. Park, H. Y., Kwon, H. M., Lim, H. J., Hong, B. K., Lee, J. Y., Park, B. E., et al.(2001). Potential role of leptin in angiogenesis: leptin induces endothelial cell proliferation and expression of matrix metalloproteinases in vivo and in vitro. *Experimental and Molecular Medicine*, 33(2), 95-102.
132. Reilly, M. P., Iqbal, N., Schutta, M., Wolfe, M. L., Scally, M., Localio, A. R., et al(2004). Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(8), 3872-3878.
133. Seufert, J. (2004). Leptin effects on pancreatic β -cell gene expression and function. *Diabetes*, 53(suppl 1), S152-S158.
134. Werner, N., & Nickenig, G. (2004). From fat fighter to risk factor the zigzag trek of leptin. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(1), 7-9.
135. Söderberg, S., Ahrén, B., Stegmayr, B., Johnson, O., Wiklund, P. G., Weinehall, L., et al (1999). Leptin is a risk marker for first-ever hemorrhagic stroke in a population-based cohort. *Stroke*, 30(2), 328-337.
136. Söderberg, S., Stegmayr, B., Stenlund, H., Sjöström, L. G., Ågren, Å., Johansson, L., et al.(2004). Leptin, but not adiponectin, predicts stroke in males. *Journal of Internal Medicine*, 256(2), 128-136.
137. Leyva, F., Anker, S. D., Egerer, K., Stevenson, J. C., Kox, W. J., & Coats, A. J. S. (1998). Hyperleptinaemia in chronic heart failure. *Eur heart J*, 19, 1547-1551.
138. Wolk, R., Berger, P., Lennon, R. J., Brilakis, E. S., Johnson, B. D., & Somers, V. K. (2004). Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary

- atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 44(9), 1819-1824.
139. Bazan, J. F. (1990). Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(18), 6934-6938.
140. Otero, M., Lago, R., Lago, F., Casanueva, F. F., Dieguez, C., Gómez-Reino, J. J., et al. (2005). Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. *FEBS letters*, 579(2), 295-301.
141. Zarkesh-Esfahani, H., Pockley, G., Metcalfe, R. A., Bidlingmaier, M., Wu, Z., Ajami, A., et al. (2001). High-dose leptin activates human leukocytes via receptor expression on monocytes. *The Journal of Immunology*, 167(8), 4593-4599.
142. Mancuso, P., Canetti, C., Gottschalk, A., Tithof, P. K., & Peters-Golden, M. (2004). Leptin augments alveolar macrophage leukotriene synthesis by increasing phospholipase activity and enhancing group IVC iPLA2 (cPLA2 γ) protein expression. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(3), L497-L502.
143. Raso, G. M., Pacilio, M., Esposito, E., Coppola, A., Di Carlo, R., & Meli, R. (2002). Leptin potentiates IFN- γ -induced expression of nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase-2 in murine macrophage J774A. 1. *British Journal of Pharmacology*, 137(6), 799-804.
144. Caldefie-Chezet, F., Poulin, A., Tridon, A., Sion, B., & Vasson, M. P. (2001). Leptin: a potential regulator of polymorphonuclear neutrophil bactericidal action?. *Journal of Leukocyte Biology*, 69(3), 414-418.
145. Caldefie-Chezet, F., Poulin, A., & Vasson, M. P. (2003). Leptin regulates functional capacities of polymorphonuclear neutrophils. *Free radical research*, 37(8), 809-814.
146. Tian, Z., Sun, R., Wei, H., & Gao, B. (2002). Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 298(3), 297-302.
147. Fain, J. N., Leffler, C. W., Cowan, G. S., Buffington, C., Pouncey, L., & Bahouth, S. W. (2001). Stimulation of leptin release by arachidonic acid and prostaglandin E 2 in adipose tissue from obese humans. *Metabolism*, 50(8), 921-928.

148. La Cava, A., & Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 4(5), 371-379.
149. Fantuzzi, G., & Faggioni, R. (2000). Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology*, 68(4), 437-446.
150. Faggioni, R., Feingold, K. R., & Grunfeld, C. (2001). Leptin regulation of the immune response and the immunodeficiency of malnutrition. *The FASEB Journal*, 15(14), 2565-2571.
151. Monzillo, L. U., Hamdy, O., Horton, E. S., Ledbury, S., Mullooly, C., Jarema, C., et al (2003). Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obesity Research*, 11(9), 1048-1054.
152. Hirfanoglu, T., Serdaroglu, A., Gulbahar, O., & Cansu, A. (2009). Prophylactic drugs and cytokine and leptin levels in children with migraine. *Pediatric neurology*, 41(4), 281-287.
153. B. Lee Peterlin, (2009) The Role of the Adipocytokines Adiponectin and Leptin in Migraine, *J Am Osteopath Assoc.* ;109:314-317
154. Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R., & Giraud, V. (1998). Novel polymorphisms in the 5' region of the LEP gene: association with leptin levels and response to low-calorie diet in human obesity. *Diabetes*, 47(3), 487.
155. Hoffstedt, J., Eriksson, P., Mottagui-Tabar, S., & Arner, P. (2002). A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Hormone and Metabolic Research*, 34(7), 355-359.
156. Sook-Ha Fan and Yee-How Say. (2014) Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population, *Journal of Physiological Anthropology*, 33:15,1-10
157. Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R., Herbeth, B., Siest, G., & Fumeron, F. (2000). Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Annals of Human Genetics*, 64(05), 391-394.
158. Le Stunff, C., Le Bihan, C., Schork, N. J., & Bougnères, P. (2000). A common promoter variant of the leptin gene is associated with changes in the relationship between serum leptin and fat mass in obese girls. *Diabetes*, 49(12), 2196-2200.

159. Li, W. D., Reed, D. R., Lee, J. H., Xu, W., Kilker, R. L., Sodam, B. R., & Arlen Price, R. (1999). Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Annals of Human Genetics*, 63(3), 227-234.
160. Şahin, S., Rüstemoğlu, A., Tekcan, A., Taşliyurt, T., Güven, H., & Yiğit, S. (2013). Investigation of Associations between Obesity and LEP G2548A and LEPR 668A/G Polymorphisms in a Turkish Population. *Disease Markers*, 35(6), 673-677.
161. Imen Boumaiza, Asma Omezzine, Jihe`ne Rejeb, Lamia Rebhi, Amani Ouedrani, Nabila Ben Rejeb.(2012) Relationship Between Leptin G2548A and Leptin Receptor Q223R Gene Polymorphisms and Obesity and Metabolic Syndrome Risk in Tunisian Volunteers, *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, Volume 16, Number 7.
162. Wang, T. N., Huang, M. C., Chang, W. T., Ko, A. M. S., Tsai, E. M., Liu, C. S., et al. (2006). G-2548A polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity*, 14(2), 183-187.
163. Nikos Yiannakouris, Labros Melistas, Mary Yannakoulia, Keisha Munga, Christos S. Mantzoros. (2003), The 2548G/A polymorphism in the human leptin gene promoter region is associated with plasma free leptin levels; interaction with adiposity and gender in healthy subjects. *Hormones*; 2(4): 229-236
164. Suriyaprom, K., Tungtrongchitr, R., & Thawnasom, K. (2014). Measurement of the levels of leptin, BDNF associated with polymorphisms LEP G2548A, LEPR Gln223Arg and BDNF Val66Met in Thai with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr*, 6(1), 6-6.
165. Ye, X. W., Xiao, M., Ye, J., Zhang, X. Y., Xiao, J., Feng, Y. L., & Wen, F. Q. (2011). The polymorphism-2548 G/A in leptin and severity of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *International Journal of Immunogenetics*, 38(1), 45-50.
166. Bienertová-Vašků, J. A., Hlinomaz, O., & Vašků, A. (2007). Are common leptin promoter polymorphisms associated with restenosis after coronary stenting?.*Heart and vessels*, 22(5), 310-315.
167. Skibola, C. F., Holly, E. A., Forrest, M. S., Hubbard, A., Bracci, P. M., Skibola, D. R., ... & Smith, M. T. (2004). Body mass index, leptin and leptin receptor

- polymorphisms, and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13(5), 779-786.
168. He, J., Xi, B., Ruiter, R., Shi, T. Y., Zhu, M. L., Wang, M. Y., et al.(2013). Association of LEP G2548A and LEPR Q223R polymorphisms with cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *PloS one*, 8(10), e75135.
169. Yang, Y., Liu, P., Guo, F., Liu, R., Yang, Y., Huang, C., ... & Cai, M. (2014). Genetic G2548A polymorphism of leptin gene and risk of cancer: a meta-analysis of 6860 cases and 7956 controls. *Journal of BU ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 19(4), 1096.
170. Cao, L., Mou, S., Fang, W., Qi, C., Chang, X., Gu, L. et al (2015). Correlational studies on insulin resistance and leptin gene polymorphisms in peritoneal dialysis patients. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(9), 878
171. Berezina, A., Belyaeva, O., Berkovich, O., Baranova, E., Karonova, T., Bazhenova, E. et al (2015). Prevalence, Risk Factors, and Genetic Traits in Metabolically Healthy and Unhealthy Obese Individuals. *BioMed Research International*, 2015.
172. Fan, S. H., & Say, Y. H. (2014). Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population. *Journal of Physiological Anthropology*, 33(1), 15.
173. Angeli, C. B., Kimura, L., Auricchio, M. T., Vicente, J. P., Mattevi, V. S., Zembruski, V. M.,et al (2011). Multilocus Analyses of Seven Candidate Genes Suggest Interacting Pathways for Obesity-Related Traits in Brazilian Populations. *Obesity*, 19(6), 1244-1251.
174. Mizuta, E., Kokubo, Y., Yamanaka, I., Miyamoto, Y., Okayama, A., Yoshimasa, Y.,et al. (2008). Leptin gene and leptin receptor gene polymorphisms are associated with sweet preference and obesity. *Hypertension Research*, 31(6), 1069-1077.
175. Lucantoni, R., Ponti, E., Berselli, M. E., Savia, G., Minocci, A., Calò, G., et al. (2000). The A19G polymorphism in the 5' untranslated region of the human obese gene does not affect leptin levels in severely obese patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(10), 3589-3591
176. Lakka, T. A., Rankinen, T., Weisnagel, S. J., Chagnon, Y. C., Lakka, H. M., Ukkola, et al. (2004). Leptin and Leptin Receptor Gene Polymorphisms and

- Changes in Glucose Homeostasis in Response to Regular Exercise in Nondiabetic Individuals The HERITAGE Family Study. *Diabetes*,53(6), 1603-1608.
177. Llanos, A. A., Brasky, T. M., Mathew, J., Makambi, K. H., Marian, C., Dumitrescu, R. G., et al. (2014). Genetic Variation in Adipokine Genes and Associations with Adiponectin and Leptin Concentrations in Plasma and Breast Tissue. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 23(8), 1559-1568.
 178. Lin, H. Y., Shi, H., Li, C. Y., Chen, Q. C., Huang, T. B., Liu, P. C., et al. (2014). LEP and LEPR polymorphisms in non-Hodgkin lymphoma risk: A systematic review and pooled analysis. *Journal of BU ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 20(1), 261-268.
 179. Paracchini, V., Pedotti, P., & Taioli, E. (2005). Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 162(2), 101-114.
 180. Bernecker, C., Pailer, S., Kieslinger, P., Horejsi, R., Möller, R., Lechner, A., ... & Gruber, H. J. (2010). GLP-2 and leptin are associated with hyperinsulinemia in non-obese female migraineurs. *Cephalalgia*, 30(11), 1366-1374.
 181. Ligong, Z., Jinjin, Q., Chunfu, C., Congcong, L., & Xiaojun, D. (2015). Effect of Obesity and Leptin Level on Migraineurs. *Medical science monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 21, 3270.
 182. Silberstein, S. D., & Dodick, D. W. (2013). Migraine genetics: part II. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 53(8), 1218-1229.
 183. Persico, A. M., Verdecchia, M., Pinzone, V., & Guidetti, V. (2015). Migraine genetics: current findings and future lines of research. *Neurogenetics*, 16(2), 77-95.
 184. Shen, J., Ge, W., Zhang, J., Zhu, H. J., & Fang, Y. (2014). Leptin-2548g/a gene polymorphism in association with antipsychotic-induced weight gain: a meta-analysis study. *Psychiatria Danubina*, 26(2), 145-151.
 185. Hussain, S. R., Naqvi, H., Gupta, S., Mahdi, A. A., Kumari, P., Waseem, M., & Ahmad, M. K. (2015). A study on oncogenic role of leptin and leptin receptor in oral squamous cell. *Tumor Biology*, 1-9.
 186. Bernecker, C., Pailer, S., Kieslinger, P., Horejsi, R., Möller, R., Lechner, A., ... & Gruber, H. J. (2010). GLP-2 and leptin are associated with hyperinsulinemia in non-obese female migraineurs. *Cephalalgia*, 30(11), 1366-1374.

187. Eiji Kitamura, Naomi Kanazawa and Junichi Hamada. (2015), Hyperleptinemia increases the susceptibility of the cortex to generate cortical spreading depression. *Cephalalgia*, Vol. 35(4) 327–334
188. Ostuzzi, R., D'Andrea, G., Francesconi, F., & Musco, F. (2008). Eating disorders and headache: coincidence or consequence?. *Neurological Sciences*,29(1), 83-87.
189. Peterlin, B. L., Rapoport, A. M., & Kurth, T. (2010). Migraine and obesity: epidemiology, mechanisms, and implications. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 50(4), 631-648.