

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİGREN OLGULARINDA ATAK VE ATAK DIŞI DÖNEMDE  
KAN ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİ VE GENOTİP  
İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Seda ÖZEL**

**TEZ DANIŐMANI**

**Doç. Dr. M. Said BERİLGEN**

**ELAZIŐ**

**2008**

**DEKANLIK ONAYI**

Prof. Dr.....

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_

.....

.....**Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

..... \_\_\_\_\_

**Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca emek ve yardımlarını esirgemeyen bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Bülent MÜNGEN'e, Doç. Dr. Serpil BULUT'a ve aynı zamanda tez danışmanım olan Doç. Dr. M. Said BERİLGEN'e, rotasyonlarım süresince birlikte çalışma fırsatı bulduğum ilgili kliniklerdeki tüm hocalarıma saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin seçim ve laboratuvar aşamasında yardım ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Mine ERİŞİR, Arş. Gör. Ayşe SEYRAN'a, Dr. Ülkü ÖZBEY'e, her türlü laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Prof. Dr. Münir AKTAŞ ve Arş. Gör. M.Fatih AYDIN'a, istatistik bilgilerinden faydalandığım Doç. Dr. İlhami ÇELİK'e, Yrd. Doç. Dr. Gamze KIRKIL'a teşekkür eder, saygı ve şükranlarımı sunarım. Tez çalışmama, FÜBAP-1563 nolu proje kapsamında maddi destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Ayrıca hayatımın her aşamasında maddi manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

<b>1. ÖZET</b> .....	1
<b>2. ABSTRACT</b> .....	2
<b>3. GİRİŞ</b> .....	4
<b>3.1. MİGREN</b> .....	4
3.1.1. Migren Tanımı .....	4
3.1.2. Migren Epidemiyolojisi.....	4
3.1.3. Migren Patogenezi .....	4
3.1.4. Migren Dönemleri.....	6
3.1.5. Sınıflandırma .....	7
3.1.5.1. Auralı Migren.....	9
3.1.5.2. Aurasız Migren .....	9
3.1.6. Migren Tedavisi .....	10
<b>3.2. SERBEST RADİKALLER</b> .....	11
3.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri (Reaktif oksijen türleri).....	12
3.2.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ) .....	13
3.2.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ).....	13
3.2.1.3. Hidroksil Radikali ( $OH^\cdot$ ) .....	14
3.2.1.4. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ ).....	14
3.2.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri.....	15
3.2.2.1. Proteinlere Etkileri .....	16
3.2.2.2. Membran Lipitleri Üzerine Etkileri.....	17
3.2.2.3. Karbonhidratlara Etkileri .....	17
3.2.2.4. Nükleik Asitlere Etkileri.....	17
3.2.3. Etyopatogenezinde Serbest Radikallerin Rol Oynadığı	
İddia Edilen Nörolojik Hastalıklar .....	18
<b>3.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ</b> .....	18
3.3.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar .....	19
3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) .....	19
3.3.1.2. Glutasyon Redüktaz (GR).....	19
3.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	20

3.3.1.4. Katalaz (CAT).....	20
3.3.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	20
3.3.3. Ekzojen Antioksidanlar .....	21
<b>3.4. MİGREN VE GEN POLİMORFİZMİ .....</b>	<b>21</b>
3.4.1. Polimorfizmin Tanımı .....	21
3.4.2. Polimorfizmin Tipleri ve Tıpta Kullanımı .....	22
3.4.3. Migren Genetiği .....	22
3.4.4. Antioksidan Enzimlerin Genetik Yapısı.....	23
3.4.4.1. Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) Enziminin Genetik Özellikleri .....	23
3.4.4.2. Glutasyon Peroksidaz-3 (GSH-Px3) Enziminin Genetik Özellikleri .....	24
3.4.4.3. Katalaz (CAT) Enziminin Genetik Özellikleri .....	25
3.5. Çalışmanın Amacı.....	27
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. BİYOKİMYASAL ANALİZLERDE KULLANILAN METODLAR.....</b>	<b>29</b>
4.1.1. Eritrosit GSH-Px Aktivitesi Ölçümü .....	29
4.1.2. Eritrosit SOD Aktivitesi Ölçümü.....	32
4.1.3. Eritrosit Katalaz Aktivitesi Ölçümü.....	34
4.1.4. Plazma MDA Ölçümü .....	35
4.1.5. Kan GSH Aktivitesi Ölçümü .....	36
<b>4.2. GENETİK ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER.....</b>	<b>37</b>
4.2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	38
4.2.2. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması.....	38
4.2.3. Kandan DNA İzolasyonu .....	38
4.2.4. Kullanılan Primer Dizileri .....	39
4.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Amplifikasyonu.....	41
4.2.6. Deneyleerde Kullanılan Marker DNA'ları Hazırlanması .....	42
4.2.7. Restriksiyon Enzimleri ve Modifikasyon Enzimleri.....	43
4.2.8. Restriksiyon Enzimi ile DNA'nın Sindirim Analizi .....	44
4.2.9. TBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu Hazırlanması .....	44
4.2.9.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması.....	45

4.2.9.2. Agaroz Jel Elektroforezi.....	45
4.2.10. Restriksiyon Endonükleaz Muamelesi ve Fotoğrafların Eldesi.....	45
<b>4.3. İSTATİSTİK ANALİZLER .....</b>	<b>46</b>
<b>5. BULGULAR.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1. ANTİOKSİDAN ENZİMLER (GSH-PX, CAT VE SOD),</b>	
<b>    KAN GSH VE PLAZMA MDA DÜZEYLERİ.....</b>	<b>49</b>
5.1.1. Migrenli Hasta ve Kontrol Grubu Antioksidan Enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD),Kan GSH ve Plazma MDA Düzeyleri .....	49
5.1.2. Migrenli Hasta Atak Dönemi ve Atak Dışı Dönemde Antioksidan Enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), Kan GSH ve Plazma MDA Düzeyleri .....	51
<b>5.2. MİGRENLİ HASTA VE KONTROL GRUBUNDA MN-SOD,</b>	
<b>    GSH-Px3 VE CAT RFLP'LERİNİN GENOTİP VE ALLEL</b>	
<b>    İNSİDANSLARI .....</b>	<b>52</b>
<b>6. TARTIŞMA.....</b>	<b>59</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>64</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>75</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>77</b>

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 1.</b> Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslar arası Sınıflaması (International of Headache Disorders-ICHD-II) 2004.....	8
<b>Tablo 2.</b> Auralı Migren Tanı Kriterleri .....	9
<b>Tablo 3.</b> Aurasız Migren Tanı Kriterleri .....	10
<b>Tablo 4.</b> Reaktif Oksijen Türlerinin Simgeleri ve Elektron Yapıları .....	12
<b>Tablo 5.</b> İnsan Mn-SOD Geninin Toplam Nükleotid Dizisi .....	24
<b>Tablo 6.</b> İnsan GSH-Px 3 Geninin Toplam Nükleotid Dizisi.....	25
<b>Tablo 7.</b> İnsan CAT Geninin Toplam Nükleotid Dizisi .....	26
<b>Tablo 8.</b> Eritrosit GSH-Px Tayini Deney Şeması .....	30
<b>Tablo 9.</b> Hemoglobin Ölçümü Deney Şeması .....	31
<b>Tablo 10.</b> Eritrosit SOD Tayini Deney Şeması .....	33
<b>Tablo 11.</b> Eritrosit CAT Tayini Deney Şeması .....	34
<b>Tablo 12.</b> Plazma MDA Tayini Deney Şeması .....	36
<b>Tablo 13.</b> Kan GSH Tayini Deney Şeması.....	37
<b>Tablo 14.</b> Kullanılan Primerlerde Elde Edilen Amplikon Boyları .....	40
<b>Tablo 15.</b> Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü.....	42
<b>Tablo 16.</b> DNA Boyut Marker Protokolü.....	43
<b>Tablo 17.</b> Çalışma ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Dağılımları.....	47
<b>Tablo 18.</b> Çalışmaya Alınan Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri .....	48
<b>Tablo 19.</b> Hasta ve Kontrol Grubu MDA, GSH, GSH-Px, CAT ve SOD Enzim Düzeyleri.....	49
<b>Tablo 20.</b> Atak Dönemi ve Atak Dışı Dönem MDA, GSH GSH-Px, CAT ve SOD Enzim Düzeyleri .....	51
<b>Tablo 21.</b> Migrenli Hasta ve Kontrol Grubunda Mn-SOD GSH-Px3 ve CAT Gen Polimorfizmlerinin Genotip Dağılımı .....	57
<b>Tablo 22.</b> Migrenli Hasta ve Kontrol Grubunda Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT Gen Polimorfizmlerinin Allel Dağılımı.....	58

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Şekil 1.</b> Serbest oksijen radikallerinin oluşumu .....	15
<b>Şekil 2.</b> Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri .....	16
<b>Şekil 3.</b> Hasta ve kontrol grubu GSH-Px, CAT ve SOD enzim düzeyleri .....	49
<b>Şekil 4.</b> Hasta ve kontrol grubu glutatyon düzeyleri .....	50
<b>Şekil 5.</b> CAT enzimi için Sma I restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri .....	53
<b>Şekil 6.</b> GSH-Px3 için Bsa I restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri .....	54
<b>Şekil 7.</b> Mn SOD için MroN I restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri .....	55



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>A</b>	: Adenin
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumine
<b>BPB</b>	: Brom Phenol Blue
<b>C</b>	: Sitozin
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CGRP</b>	: Calsitonin Gene- Related Peptide
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>dNTP</b>	: Deoksinükleotid Trifosfat
<b>FHM</b>	: Ailesel Hemiplejik Migren
<b>Fe</b>	: Demir
<b>G</b>	: Guanin
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GSH-Px3</b>	: Glutatyon Peroksidaz-3
<b>GST</b>	: Glutatyon S-transferaz
<b>GSSG</b>	: Okside Glutatyon
<b>GR</b>	: Glutatyon Redüktaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HOCl</b>	: Hipoklorus
<b>IHS</b>	: International Headeche Society (Uluslararası Baş ağrısı Derneği)
<b>ICHD</b>	: International Classification of Headache Disorders (Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflaması)
<b>KCN</b>	: Potasyum Siyanid
<b>LOOH</b>	: Lipit Hidroperoksit
<b>mAmp</b>	: Miliamper
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MLT</b>	: Melatonin
<b>Mn-SOD</b>	: Mangan Süperoksit Dismutaz
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>NBT</b>	: Nitroblue Tetrazolium
<b>NKA</b>	: Neurokinin A

<b>NMDA</b>	: N-Metil D-Aspartat
<b>NSAID</b>	: Nonsteroid Antiinflamatuvar
<b>NO</b>	: Nitrik Oxide
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>·OH</b>	: Hidroksil Radikali
<b>O<sub>2</sub><sup>-2·</sup></b>	: Peroksit Radikali
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Singlet Oksijen
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>ROP</b>	: Reaktif Oksijen Partikülleri
<b>r-SOD</b>	: Rekombinant Süperoksit Dismutaz
<b>SDS</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat
<b>SNP</b>	: Single Nükleotid Polymorphism
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SPSS</b>	: Statistical Packages of Social Sciences
<b>T</b>	: Timin
<b>TBA</b>	: Tiobarbitürik Asit
<b>TBARS</b>	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
<b>TBE</b>	: Tris-Borat-EDTA
<b>t-BOOH</b>	: T-Bütil Hidroperoksit
<b>TEP</b>	: Tetra Etoksipropan
<b>TNC</b>	: Trigeminal nükleus caudalise
<b>VIP</b>	: Vazoaktif İntestinal Polipeptid
<b>XC</b>	: Xylene Cyanole

## 1. ÖZET

Primer baş ağrılarının önemli bir grubunu oluşturan migren, en fazla işgücü kaybı yapan baş ağrısıdır. Migren etyopatogenezini araştıran birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen kesin bir sonuca varılamamıştır. Son yıllarda çoğu hastalıkta olduğu gibi migren patogenezinde de oksidatif stresin önemi araştırılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, antioksidan enzimlerden Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT), antioksidan Glutasyon (GSH) ve lipid peroksidasyon ürünü Malondialdehit (MDA)'in migren patogenezindeki rollerini araştırmaktır. Ayrıca Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD), Glutasyon Peroksidaz-3 (GSH-Px3) ve Katalaz (CAT) enzimlerinin gen polimorfizmine bakılarak bu polimorfizmin Türk popülasyonundaki insidansını araştırmaktır.

Çalışmaya 30 kadın ve 10 erkekten oluşan 40 migrenli ve 40 sağlıklı gönüllü alındı. Antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), kan GSH ve plazma MDA düzeylerini, migren hastalarıyla kontrol grubu arasında ayrıca migrenli hastalarda atak ve atak dışı dönemde karşılaştırdık. Migren hastalarıyla kontrol grubu arasında, GSH-Px, CAT, SOD ve GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüklük tespit ettik (GSH, CAT için  $p<0.001$ , GSH-Px için  $p=0.017$ , SOD için  $p=0.04$ ). Migrenlilerde atak ve atak dışı dönemi arasında istatistiksel olarak farklılık yoktu ( $p>0.05$ ). Plazma MDA düzeyinde, migren hastalarıyla kontrol grubu arasında ve migrenlilerde atak dönemi ile atak dışı dönem arasında istatistiksel olarak fark saptamadık ( $p>0.05$ ). Çalışmamızın moleküler kısmında ise; hasta ve kontrol grubu arasında Mn-SOD ve CAT genotipleri için istatistiksel olarak farklılık saptanmamışken, GSH-Px3 genotipinde anlamlı farklılık gözlemlendi. Üç gen için de allel frekansı açısından hasta ve kontrol grubu arasında farklılık yoktu.

Sonuç olarak, migren patogenezinde oksidatif stres ve antioksidan enzimlerin rol oynayabileceğini ve verilerimize göre GSH-Px3 geni polimorfizminin en azından toplumumuz için migrene yatkınlık oluşturabileceğini düşünüyoruz.

**Anahtar kelimeler:** Migren, Mangan Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz-3, Katalaz, Polimorfizm.

## 2. ABSTRACT

### **RELATIONSHIP BETWEEN BLOOD ANTIOXIDANT ENZYME LEVELS AND GENOTYPE DURING MIGRAINE ATTACK AND INITIAL PERIODS IN MIGRAINE CASES**

Migraine, which constitutes an important group of primary headaches, is the headache that causes labor force loss the most. Although many researches have been conducted to research migraine etiopathogenesis, no exact conclusion could be reached yet. In recent years, importance of oxidative stress on migraine pathogenesis like on many diseases is being researched.

The aim of this study is to research the roles of antioxidant enzymes such as Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GSH-Px), Catalase (CAT), antioxidant Glutathione (GSH) and Malondialdehyde (MDA) of a lipid peroxidation product in migraine pathogenesis. Moreover, the incidence of this polymorphism in Turkish population is being researched by looking at the gene polymorphism of the enzymes of Manganese Superoxide Dismutase (Mn-SOD), Glutathione Peroxidase-3 (GSH-Px3) and Catalase (CAT).

40 volunteers, including 30 females and 10 males, suffering from migraine and 40 healthy volunteers have been involved in this study. We compared antioxidant enzymes (GSH-Px, CAT and SOD), blood GSH and plasma MDA levels between patients who suffer from migraine and control group, and also between the attack period and initial period in patients suffering from migraine. We detected a statistically remarkable decrease in GSH-Px, CAT, SOD and GSH levels between the patients suffering from migraine and control group (for GSH, CAT  $p < 0.001$ , for GSH-Px  $p = 0.017$ , for SOD  $p = 0.04$ ). Statistically, there wasn't any difference between attack period and initial period in patients suffering from migraine ( $p > 0.05$ ). As for plasma levels, we haven't found any statistical difference between patients suffering from migraine and control group, and between attack period and initial period in patients suffering from migraine ( $p > 0.05$ ). In the molecular part of our study, we haven't found any statistical difference between patients suffering from migraine and control group for Mn-SOD and CAT genotypes, but found a

remarkable difference for GSH-Px3 genotype. For all of the three genes, there were no difference between the patients and control group in terms of allele frequency.

Consequently, oxidative stress and antioxidant enzymes play an important role in migraine pathogenesis, and according to our data GSH-Px3 gene polymorphism cause an inclination to migraine for our regional community.

**Key words:** Migraine, Manganese Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase -3, Catalase, Polymorphism.

## 3. GİRİŞ

### 3.1. MİGREN

#### 3.1.1. Migren Tanımı:

İnsanları etkileyen ağrılı durumlardan en yaygın olanı baş ağrısıdır ve hekime başvuru nedeni olarak en sık görülen semptomlardan birisidir. Migren baş ağrısı; herediter özellik gösteren, epizodik ataklarla seyreden, sıklıkla unilateral, zonklayıcı vasıfta, ortalama 4-72 saat süren, ataklara sıklıkla bulantı, kusma, ışık ve/veya sese hassasiyetin de eşlik edebildiği bir primer baş ağrısı bozukluğudur.

#### 3.1.2. Migren Epidemiyolojisi:

Migren, baş ağrıları içinde sık rastlanan ve büyük oranda işgücü kaybına sebep olan primer bir baş ağrısıdır. Epidemiyolojik çalışmalar prevalans yüksekliğini, yüksek sosyoekonomik ve bireysel etkilerini belgelemektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından dünya çapında özürlülük yapan hastalıklar arasında 19. sırada belirtilmektedir (1, 2). Migren, büyük çoğunlukla genç ve orta yaşlı bireyleri etkileyen sık karşılaşılan bir durumdur ve kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmektedir. Hastaların %80'inden fazlasında başlangıç 30 yaşından öncedir. Migren genel popülasyonun %10'undan daha fazlasını etkileyen epizodik bir baş ağrısıdır. Ülkemizde 15-55 yaşları arasında %16,4 sıklığında bulunmuş olup, kadınlarda %21, erkeklerde %10,9 olarak belirtilmiştir. Çocuklarda ise migren prevalans değeri %3-6 arasında bildirilmektedir (3, 4).

#### 3.1.3. Migren Patogenezi:

Migren etyopatogenezi araştırılan birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen bu konuda hala kesin bir etyopatogenetik mekanizma ortaya konulamamıştır. Migren patogenezi açıklamaya yönelik birçok teori mevcuttur (5). Öne sürülen teorilerden en çok kabul görenleri vasküler hipotez, nörojenik hipotez ve kortikal yayılan depresyondur.

Migren patofizyolojisini açıklamaya yönelik en eski teori Wolff tarafından ortaya atılan vasküler teoridir (6). Wolff, migren aurasının intraserebral vazokonstriksiyondan kaynaklandığını ve ardından ortaya çıkan baş ağrısında intraserebral arterlerdeki reaktif vazodilatasyon nedeniyle oluştuğunu öne sürmüştür.

Bu teori ağrının zonklayıcı niteliği, ergot uygulanması ile ağrının giderilmesini açıklarken; tedavide kullanılan bazı ilaçların kan damarlarına etkisinin olmayışı, hastaların çoğunda aura olmaması gibi nedenlerle ve yapılan kan akımı çalışmaları ile bu teori desteklenmemiştir (7).

Son yıllarda beyinde sadece vazodilatasyonun değil nöropeptid salınımının da rol oynadığının anlaşılması nedeniyle nörovasküler teori benimsenmeye başlamıştır. Bu teoriye göre, nöral olaylar sonucu ağrıya duyarlı yapılardaki kan damarları dilate olarak ağrıya neden olmaktadır (7). Trigeminal sinirin oftalmik dalı aracılığıyla pia, araknoid ve duramaterdeki damarları ve intrakranial damarların proksimalini uyarmaktadır. Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu ile Calsitonin Gene-Related Peptide (CGRP), Neurokinin A (NKA), Substance P gibi nöropeptidler salgılanır. Bunlar yukarıda bahsedilen damarlar ve yapılarda vazodilatasyon ve protein ekstrasvazasyonuna yol açarak nörojenik inflamasyona neden olurlar. Nöropeptidlerin salınımı endotelial hücreler, mast hücreleri ve trombositleri aktive ederek araziidonik asit metabolitleri, potasyum, histamin ve serotonin gibi ağrı reseptörünü uyaran ürünlerin sentezlenmesiyle sonuçlanır. Trigeminal sinir periferik aksonlarının aktivasyonu ile ağrı duyusu C2'den bulbusa kadar uzanan trigeminal nükleus caudalise (TNC) iletilir. Ağrının TNC'den rostral beyin bölgelerine iletilmesi sırasında beyin sapındaki bağlantılar sebebiyle süperior salivator nükleus uyarılarak pterigopalatin ve otik ganglion aracılığıyla parasempatik aktivasyona (Nitrik Oksit (NO) ve Vazoaktif İntestinal Polipeptit (VIP) salınımı) ve böylece vazodilatasyona neden olmaktadır (7).

Migren baş ağrısını açıklamaya yönelik bir diğer teori de kortikal yayılan depresyondur. İlk olarak 1944'de Leao tarafından tavşan serebral korteksinde tespit edilen ve ardından insan beyinde de olduğu gösterilen bu teoriye kortikal yayılan depresyon denmiştir. Baş ağrısının başlangıcındaki hiperemik fazı, korteks boyunca yayılan kan akımında azalma izler ve bu durum "yayılan oligemi" olarak adlandırılmaktadır. Özellikle auralı migren patofizyolojisini açıklamakta önemli olan bu teoride, yayılan oligemi posterior beyin kan akımında %17-35 oranında azalmaya neden olup bu azalma parietal ve temporal bölgelere de yayılır (8). Oligeminin oluşu ile migrenöz skotomlar aynı zamanda ortaya çıkar ve kan akımındaki azalma 30-60 dakika sürdükten sonra normale döner veya artar. Van Harreveld, kortikal yayılan depresyonda glutamat ve glutamat reseptör agonisti n-metil d-aspartat (NMDA)'nın rolünün olduğunu belirtmiştir.

Bu olayın esası NMDA ve glutamat reseptörlerinin uyarımı sonucu vazodilatatör olan NO aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan vazodilatasyonun ağrıya neden olmasıdır (9). Çoğu hastalığın etyopatogenezinde rol oynadığı tespit edilen oksidatif stresin migren patogenezinde de rol oynayabileceği konusu son yıllarda araştırılmaktadır.

### 3.1.4. Migren Dönemleri:

Bir migren atağı başlıca dört dönemden oluşmaktadır (10):

- 1) **Prodrom dönemi:** Hastaların %20-60'ında baş ağrısından önceki saatler ve günlerde prodrom belirtileri görülmektedir. Migren baş ağrısında görülen prodrom belirtileri; nörolojik, otonom ve sistemik belirtiler olup, bunların başında depresif ruh hali, öforik davranışlar, tepkisellik, durgunluk, konsantrasyonun ve dikkatin azalması gibi nöropsikolojik belirtiler gelmektedir. Ayrıca fonofobi, fotofobi, hiperosmi gibi nörolojik belirtiler ve iştah değişiklikleri, halsizlik, sık idrara gitme gibi sistemik belirtiler de prodrom belirtileri içinde sayılabilir. En sık gözlenen belirtiler, yorgunluk hissi (atakların %72'sinde), konsantrasyon güçlüğü (%51), ense sertliği (%50) dir (7, 10).
- 2) **Aura dönemi:** Aura migren atağının hemen öncesinde veya migren baş ağrısının başlangıcında ortaya çıkan fokal nörolojik (görsel ve/veya duyuşal ve/veya konuşma) belirtilerin karışımıdır. Sıklıkla 5-20 dakika içinde gelişip 60 dakikadan kısa sürer. Aura döneminde beyin kan akımı, klinikle ilişkili etkilenmiş korteks alanında azalma gösterir. Auralar içinde en sık gözlenen görsel auralar; skotomlar, basit ışık çakmaları veya görme alanının hemianopik olarak etkilendiği görme bulanıklığı şeklinde ortaya çıkmaktadır. İkinci bir aura şekli olan duyuşal aurada ise, pareteziler veya uyuşukluk-hissizlik şeklinde belirtiler mevcuttur (11). Hastaların %18'inde motor belirtiler görülür ve genellikle duyuşal belirtilerle birlikte dir. Ayrıca hastaların %17-20'sinde afazik auralar (konuşma bozuklukları) bildirilmiştir (11).
- 3) **Ağrı dönemi:** Tipik migren baş ağrısı zonklayıcı, orta-ağır şiddette, tek taraflı ve fiziksel aktivite ile şiddetlenir. Ağrı enseden, başın arkasından, başın bir tarafından başlar, iki taraflı olabilir (hastaların %40'ında) ya da tek taraflı başlayıp jeneralize hale gelebilir. Ağrı başlangıçtan sonraki 2-12 saat içinde şiddetlenerek atağa dönüşür. Migren atağının süresi erişkinlerde 4-72 saat, çocuklarda ise 1-48 saat arasında değişebilmektedir (11).



Ağrıya hastaların %90'ında bulantı eşlik eder, ancak üçte birinde kusma görülür. Ayrıca fotofobi, fonofobi ve osmofobi şeklinde duyarlılıkta artış görülür (12). Baş ağrısı sırasında iştahsızlık, diyare, tenezm, solukluk, terleme ve poliüri gibi sistemik belirtiler de görülebilir.

**4) Postrom dönemi:** Düzelme fazında ağrı azalır ve kaybolur. Hastaların bazıları kendilerini oldukça iyi hissedebilir, yenilenmişlik hissi, öfori olabilir. Bazıları da yorgun, tükenmiş ve depresif hissedebilir (11).

### **3.1.5. Sınıflandırma:**

Baş ağrısıyla uğraşan hekimler arasında ortak bir dil oluşturmak fikri ilk olarak M.S. ikinci yüzyılda yaşamış olan Kapadokyalı Areteus tarafından ortaya atılmıştır. Günümüzde migren tanısı, her ülkede ve her hekim tarafından Uluslararası Baş ağrısı Derneği (International Headache Society - IHS) tarafından yayınlanan belirli tanısıl kılavuzlar dikkate alınarak konulmaktadır. 1988 yılında Olesen'in başkanlığında oluşturulan "Uluslararası Baş ağrısı Derneğinin Baş ağrısı Sınıflama Komitesi" tarafından tüm baş ağrılarını içeren sınıflandırma ve tanı ölçütleri yayınlanmıştır (13, 14). IHS-1988 sınıflaması bazı baş ağrılarını tanımlamada yetersiz kaldığından zaman içerisinde yenileme ihtiyacı doğmuş ve en son 2004 yılında hem klinik pratikte hemde bilimsel araştırmalarda baş ağrısı bozukluklarının sınıflandırılmasını iyileştirmek için geniş bir grup baş ağrısı bozukluğu tanı kriterleri yayınlanmıştır (15-17). Bu sınıflamaya göre 6 alt tipe ayrılmış olan migren, toplumda daha sık görülmeleri nedeniyle temel olarak auralı ve aurasız migren olmak üzere 2 alt gruba ayrılabilir. Aurasız migren, auralı migrene göre daha siktir ve hastaların yaklaşık %90'ı aurasız migren şeklinde görülmektedir. Migren hastalarının yaklaşık %10 kadarında görülen ve görsel, duyusal, motor veya diğer fokal serebral veya beyin sapı semptomlarından oluşan aura, prodrom safhasının sonunda ortaya çıkar. Aura dönemi yaklaşık 5-20 dakika içinde gelişir ve genellikle süre 60 dakikayı geçmemektedir.

Bizim çalışmamızda migrene yönelik duyarlılık ve seçiciliği daha yüksek olan Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflaması (International Classification of Headache Disorders ICHD-II (2004) ölçütleri (16) kullanılmıştır (Tablo 1). Ayrıca burada toplumda en sık görülen aurasız ve auralı migrenden söz edilecektir.

**Tablo 1.** Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflaması (International Classification of Headache Disorders-ICHD-II) 2004

- 
- 1. Aurasız Migren**
  - 2. Auralı Migren**
    - 2.1. Migren baş ağrılı özgün aura**
    - 2.2. Migren baş ağrısız özgün aura**
    - 2.3. Baş ağrısız özgün aura**
    - 2.4. Familial hemiplejik migren (FHM)**
    - 2.5. Sporadik hemiplejik migren**
    - 2.6. Baziller tip migren**
  - 3. Sıklıkla migren öncülü olan çocukluk çağı periyodik sendromları**
    - 3.1. Döngüsel kusmalar**
    - 3.2. Abdominal migren**
    - 3.3. Çocukluk çağının iyi huylu paroksizmal vertigosu**
  - 4. Retinal migren**
  - 5. Migren komplikasyonları**
    - 5.1. Kronik migren**
    - 5.2. Status migrenozus**
    - 5.3. İnfarktsız ısrarlı aura**
    - 5.4. Migrenöz infarkt**
    - 5.5. Migrenin tetiklediğı nöbet**
  - 6. Olası migren**
    - 6.1. Olası aurasız migren**
    - 6.2. Olası auralı migren**
    - 6.3. Olası kronik migren**
-

### 3.1.5.1. Auralı Migren:

Geride dönebilen, baş ağrısı fazından önce serebral korteks veya beyin sapından kaynaklanan genellikle 5-20 dakika kadar süren ancak 60 dakikadan önce sonlanan fokal nörolojik belirtilerin (görsel ve/veya duyuşsal ve/veya konuşma) ortaya çıktığı ataklarla karakterize yineleyici baş ağrısı bozukluğudur. Aurasız migren özellikleri ile baş ağrısı dönemi sıklıkla aura belirtilerini izleyerek ortaya çıkar (2).

**Tablo 2.** Auralı Migren Tanı Kriterleri

---

**A) B ölçütünü karşılayan en az 2 atak olmalı**

**B) Aşağıdaki özelliklerden en az 3'ü olmalıdır**

1. Bir veya daha fazla sayıda, tümüyle geride dönebilen ve fokal serebral kortikal ve/veya beyin sapı fonksiyon bozukluğuna işaret eden aura belirtilerinin olması
2. Dört dakikadan daha uzun sürede yavaş yavaş gelişen en az bir aura belirtisi ya da 2 veya daha fazla sayıda birbiri ardı sıra gelişen belirtiler
3. Aura belirtileri en fazla 60 dakika sürmeli
4. Baş ağrısı aurayı takiben 60 dakika içinde başlamalı (ağrı aura olmadan önce veya aura ile birlikte başlayabilir).

**C) Baş ağrısı başka bir bozukluğa bağlanamaz**

---

### 3.1.5.2. Aurasız Migren:

4-72 saat süren ataklar halinde kendini gösteren en sık görülen migren alt türüdür. Aurasız migrende ağrının tipik özellikleri; tek taraflı yerleşim, zonklayıcı vasıfta, şiddeti orta veya şiddetli, günlük fiziksel aktivite ile artış, bulantı ve/veya fotofobi ve fonofobi ile birlikteliktir (2).

**Tablo 3. Aurasız Migren Tanı Kriterleri**

---

**A) B-D'yi karşılayan en az 5 atak**

**B) 4-72 saat süren baş ağrısı atakları (tedavi edilmemiş veya tedavi başarısız)**

**C) Baş ağrısı aşağıdaki özelliklerden en az 2'sine sahiptir:**

1. Tek taraflı yerleşim
2. Zonklayıcı nitelik
3. Orta veya şiddetli ağrı
4. Günlük fiziksel aktivite ile artış ya da onlardan kaçınmaya neden olma

**D) Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az biri olmalı:**

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

**E) Aşağıdakilerden en az biri olmalı:**

1. Öykü ve/veya fizik muayene ve/veya nörolojik muayene sekonder bir baş ağrısını düşündürmemeli
2. Öykü ve/veya fizik muayene ve/veya nörolojik muayene sekonder bir baş ağrısını düşündürür fakat uygun incelemelerle böyle bir olasılık dışlanmış olmalı
3. Baş ağrısının böyle bir nedeni olsa dahi migren atağının bu nedenden önce ortaya çıkmış olması/ikisi arasında zamansal ilişki kurulamaması

---

### **3.1.6. Migren Tedavisi:**

Migren baş ağrısı kişinin günlük yaşam kalitesini düşürdüğü ve atak sırasında kişi işini yapamaz duruma geldiğinden migren mutlaka tedavi edilmelidir. Migrenin farmakolojik tedavisi akut ve önleyici (profilaktik) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Önleyici tedavi gerektiren durumları şöyle sıralayabiliriz; çok sık tekrarlayan (haftada ikiden fazla) atağı olan hastalar, akut atak tedavilerine cevapsızlık, akut atak tedavilerinin aşırı kullanımı, hemiplejik migren veya kalıcı nörolojik hasar bırakma riski taşıyan ataklar, akut tedaviye rağmen hastanın günlük yaşam aktivitelerine engel olan migren atağı olan hastalar (18).

Akut tedavi, migren atağı başladıktan sonra atağı geri çevirmek ve ilerlemesini durdurmayı hedefler. Önleyici tedavi ise, o sırada baş ağrısı olsun veya olmasın atakların sıklığı, süresi ve şiddetini azaltmayı hedefler.

Akut tedavide, analjezikler, antiemetikler, anksiyolitikler, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID), steroidler, major tranklizanlar, opioidler ve ayrıca migrene spesifik ergot türevleri ile triptanlar yer almaktadır (19). Önleyici tedavide ise; beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, antidepresanlar, serotonin antagonistleri, antikonvülzanlar ve NSAID'lar sayılabilir (18).

Tedavi planı hastaya özgü olarak seçilmelidir. Sık olmayan hafif-orta atakları olan hastada analjezikler ve NSAID'lar kullanılırken, sık olan hafif-orta atağı olan hastalarda ek olarak önleyici tedavi verilmelidir. Yine sık olmayan orta şiddetli atağı olan hastalarda triptanlar, dihidroergotamin ya da ergotamin, narkotikler kullanılırken, sık olan orta şiddetli atağı olan hastalarda bu tedaviye önleyici tedavi eklenmelidir. Bunların yanı sıra biofeedback, gevşeme tedavisi, stres yönetimi gibi davranışsal tedavi yöntemleri de migren tedavisi içinde yer almaktadır. Ayrıca hastalara uykunun düzenlenmesi, düzenli egzersiz, düzenli öğünler, kafeini sınırlamak, alkolü içkilerden uzak durma gibi önerilerde bulunmaktadır.

### **3.2. SERBEST RADİKALLER**

Serbest radikal, anatomik ya da moleküler yapılarında çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir (20). Bu moleküllere reaktif oksijen partikülleri (ROP) de denilmektedir. ROP, normal hücrel metabolizmanın ürünleridir ve tüm aerobik hücrelerde oksijenden kaynaklanan toksik moleküllerdir (21). Ökaryotik hücreler devamlı olarak fazlaca serbest reaktif oksijen-türevi radikallerle başa çıkmak zorundadırlar. ROP nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan hasarlara oksidatif stres, bu hasarı önleyen veya geciktirebilen maddelere de antioksidanlar denilmektedir (22). Oksidatif stres, yaşayan organizmada metabolik olaylar sırasında oksijenin kullanılmasına bağlı olarak prooksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır.

Reaktif oksijen partikülleri, düşük ya da orta düzeydeki konsantrasyonlarda hücrenin toksinlere karşı fizyolojik cevabında rol almak ve mitojenik aktiviteyi arttırmak şeklinde faydalı etkilere sahipken belli konsantrasyonların üzerinde potansiyel biyolojik hasara sebep olmaktadır (23, 24). Yüksek konsantrasyonlardaki ROP'nin proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücre yapıları üzerine zararlı etkileri olabilir (21, 25).

### 3.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri (Reaktif oksijen türleri):

Organizmada oksijenin kısmi redüksiyonu sonucu çok sayıda ve yüksek konsantrasyonda ROP oluşmaktadır (26). Yaşam sisteminde, radikal ürünler içerisinde oksijenden oluşan radikaller en önemlisidir (27).

Oksidanlar (reaktif oksijen partiküller) tek elektron eksiklikleri nedeni ile başka moleküller ile kolayca elektron alış verişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde, başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir şekilde bileşenler (non-radikaller) olmak üzere iki grupta toplanırlar.

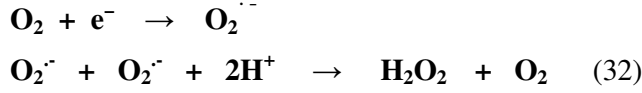
Radikaller	Non-Radikaller
- Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )	- Hidrojen Peroksit
- Hidroksil Radikali ( $\cdot OH$ )	- Lipit Hidroperoksit (LOOH)
- Alkoksil Radikali ( $LO\cdot$ )	- Hipoklorus (HOCl)
- Peroksil Radikali ( $LOO\cdot$ )	- Singlet oksijen ( $^1O_2$ )

**Tablo 4.** Reaktif Oksijen Türlerinin Simgeleri ve Elektron Yapıları (28)

Reaktif Oksijen Türleri	Simgesi	Elektron Yapısı
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	$[\cdot\ddot{O}::\ddot{O}]^{-}$
Hidroksil radikali	$\cdot OH$	$\cdot\ddot{O}:H$
Peroksit radikali	$O_2^{-2}$	$[\cdot\ddot{O}::\ddot{O}\cdot]^{-2}$
Hidrojen peroksit	$H_2O_2$	$H:\ddot{O}::\ddot{O}:H$
Singlet oksijen	$^1O_2$	$\cdot\ddot{O}::\ddot{O}\cdot$

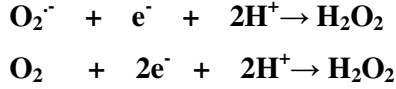
### 3.2.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ):

Moleküler oksijenin nikotinamid adenin dinükleotit fosfat-oksidadaz (NADPH-oksidadaz) veya ksantin-oksidadaz katalizörlüğünde bir elektron indirgenmesi sonucunda büyük bir kısmı mitokondride olmak üzere süperoksit radikali oluşur (28). Kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açmayan ancak hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metallerinin indirgeyicisi olması sebebiyle oksidatif strese yol açabilen bir moleküldür (29, 30). Süperoksit radikali, damar duvarında nitrik oksitin elimine edilmesinde, hücre büyümesi ve farklılaşmasında oluşturulmaktadır (31).



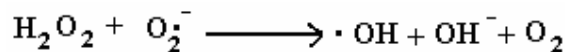
### 3.2.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ):

Moleküler oksijenin 2 elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek  $H_2O_2$  meydana getirir.  $H_2O_2$  membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır (20).



Ancak, biyolojik sistemlerde  $H_2O_2$ 'in asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksid molekülü iki proton alarak  $H_2O_2$  ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu dismutasyon ya spontandır veya süperoksid dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. Süperoksid dismutaz aktivitesi sonucu ortaya çıkan  $H_2O_2$ , katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleriyle su ve oksijene çevrilir (33, 34).

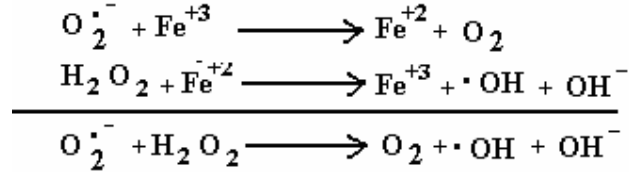
Hidrojen peroksid yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden serbest radikal değildir ancak reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksid ile reaksiyona girer ve en reaktif, zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (20).



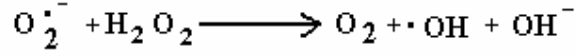
### 3.2.1.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>-</sup>):

Oluştuğu yerde büyük hasara sebep olan, son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Hidroksil radikali üç şekilde oluşmaktadır:

- 1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in geçiş metallere varlığında indirgenmesiyle (**Fenton reaksiyonu**);



- 2) O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe<sup>+3</sup> veya Cu<sup>+2</sup> katalizöründe birbirleri ile reaksiyona girmesiyle meydana gelir (**Haber-Weis reaksiyonu**) (34, 35).



- 3) Yaşayan hücrelerin en önemli unsuru sudur ve X-ışınları veya γ-ışınları gibi iyonize edici radyasyonun suya etkisi de ·OH üretimiyle sonuçlanır (36).



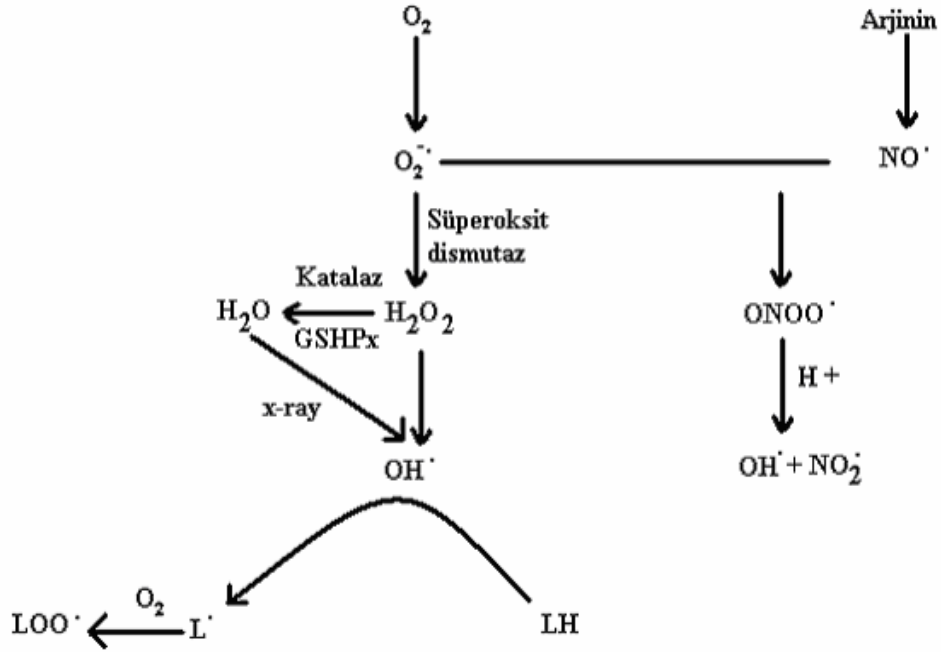
Hidroksil radikali, hücre zarı su içermediğinden başlıca hedefi yağ asidi olup zar lipidlerinin peroksidasyonu ile zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (37). Hidroksil, deoksiribonükleik asitte (DNA) tek yada çift iplik kırılmaları gibi çok önemli hasar yapıcı olaylara neden olarak özellikle çift iplik kırılmalarının hücre tarafından onarılamayan hasarlar oluşturduğu düşünülmektedir. (38, 39).

### 3.2.1.4. Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>):

Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), ortaklanmamış elektronu olmadığından radikal olmayan ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından dolayı serbest radikaller sınıfına dahil edilen bir moleküldür.



Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ya da hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda oluşabileceği gibi oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucunda da meydana gelebilir (40). Singlet oksijenin, DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik olduğu gösterilmiştir.



Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu (28)

### 3.2.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri:

Çevre kirliliği yapan maddelere maruz kalınması, normal metabolizmanın yan ürünü olarak ve radyasyon sonucu oluşan serbest radikaller, oldukça reaktif özellikte olduklarından hücre organellerine zarar verebilirler ve birçok hastalıkta rol oynayabilirler (41). Ateroskleroz, kanser, enflamatuar eklem hastalığı, astım, diyabet ve dejeneratif göz hastalığı, nörolojik hastalıklar, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar ve yaşlanma (42-44) gibi birçok hastalığın serbest radikal reaksiyonlarından kaynaklandığı yönünde kanıtlar bulunmaktadır. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltenebilen bütün hücre elemanları ile etkileşirler.

**Şekil 2.** Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri

### **3.2.2.1. Proteinlere Etkileri:**

Proteinlerin aminoasit içeriği serbest radikal hasarından ne kadar etkileneceğini belirler. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler (34, 45). Serbest radikallerin etkisine bağlı proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler, proteinlerin antijenitesinde değişmeye ve proteolize karşı hassasiyete yol açabilir. Serbest radikaller membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (46, 47).

### **3.2.2.2. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri:**

Biyomoleküller içinde serbest radikallerin etkilerine en hassas olan moleküller lipitlerdir. Doymamış yağ asitlerinden zengin hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitleri serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi peroksidasyon ürünlerini oluşturmaktadırlar (48).

Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyonu hasar vericidir. Çünkü oluşan peroksit radikali, yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ya da yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Bu zincir reaksiyonu, oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder. Bu şekilde yağ asitlerinin kaybı membran hasarına yol açmaktadır (49).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyon ürünlerinden Malondialdehit (MDA), membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açar ve DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek karsinojenik özellik taşımaktadır (34). Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklayabilir.

### **3.2.2.3. Karbonhidratlara Etkileri:**

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileriyle oluşan okzalaldehitler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterirler ve böylece kanser hastalıkları, yaşlanma, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların patogeneizlerinde önemli roller oynarlar (20). Ayrıca serbest radikallerin karbonhidratlara etkileriyle hidrojen peroksit, peroksitler de oluşmaktadır.

### **3.2.2.4. Nükleik Asitlere Etkileri:**

Nükleik asitler de tıpkı lipidler, karbonhidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. Serbest oksijen radikallerinde artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve/veya DNA onarım mekanizmalarında defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır (50, 51). Serbest oksijen radikalleri DNA'nın ana yapı taşı olan pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek zarar vermektedirler.

Memeli hücrelerinde ve bakterilerde oksidatif stres sonucu gelişen DNA hasarı mutajenik etkilere sahiptir ayrıca bozulmuş DNA replikasyonuna bağlı azalmış hücre proliferasyonu ve bozulmuş protein sentezi hasardan sorumludur (52).

### **3.2.3. Etyopatogenezinde Serbest Radikallerin Rol Oynadığı İddia Edilen Nörolojik Hastalıklar:**

Alzheimer hastalığının tanı koydurucu bulgularından olan senil plaklardaki amiloid depoları ve nöronlarda filamentlerin görülmesi hastalığın ROP ile ilişkisini akla getirmektedir (53). Aynı zamanda hastalarda eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin ve membran lipid peroksidasyonunun artışı, antioksidanlardan vitamin A ve vitamin E'nin plazma düzeylerinin düşük olması (54) hastalığın patogenezinde oksidatif stresin etkili olabileceğini göstermektedir.

Down Sendromu; Trizomi 21'li kişilerin eritrositlerinde süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ve ekspresyonunun artmış olması hastalıkta ROP'nin rolünü ortaya koyması açısından önemlidir (55).

Parkinson hastalığındaki nigrostriatal dopaminerjik nöronların hasarından sorumlu mekanizmalardan birisi de ROP ile oluşturulan hasardır (56). Ayrıca bu hastalarda glutatyon konsatrasyonunun substansia nigra da azalmış olarak bulunması da oksidatif stresin hastalığın patogenezinde önemini göstermektedir.

Son yıllarda çoğu hastalıkta olduğu gibi migren patogenezinde de oksidatif stresin önemi araştırılmaktadır. Migrenli hastaların kanlarında antioksidan enzim ve plazma MDA düzeylerinin bakıldığı çalışmalar mevcuttur (57-62). Bütün bu çalışmaların sonuçları migren hastalarında oksidatif stresin önemini ve migren patofizyolojisinde vasküler faktörlerin önemini desteklemektedir (59).

### **3.3. ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ:**

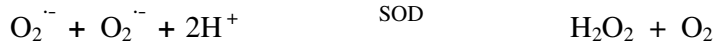
Organizma, serbest radikal kaynaklı oksidatif strese karşı “antioksidan savunma sistemleri” olarak adlandırılan bir takım mekanizmalar geliştirmiştir. Normal şartlar altında vücutta prooksidan ajanlar (ultraviyole, iyonize radyasyon, sigara, çeşitli kimyasal vs.) ile koruyucu antioksidanlar (desferrioksamin, katalaz, vs.) ve zincir kıran antioksidanlar (vitamin A, C, E vs.) arasında bir denge mevcuttur. Bu dengenin prooksidanlar yönünde bozulması oksidatif stres ile sonuçlanmaktadır (63). Antioksidanlar genel olarak endojen ve ekzojen olmak üzere iki grupta incelenmektedir.

### 3.3.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar:

Enzimatik endojen antioksidanlar; SOD, glutatyon redüktaz (GR), GSH-Px, CAT, glutatyon S-transferaz (GST), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidazdır (64).

#### 3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD):

Süperoksit dismutaz enzimi, iki molekül süperoksit radikalini ( $O_2^{\cdot-}$ ) dismutasyona uğratarak  $H_2O_2$  ve moleküler oksijen oluşturur (65). Son ürünü olan  $H_2O_2$  toksik bir ajan olduğundan SOD enzimi tam anlamıyla detoksifiye edici bir enzim değildir. Ancak  $O_2^{\cdot-}$ 'in dismutasyonuna giden enzimatik yolun ilk basamağıdır.



Süperoksit dismutaz enziminin biri prokaryotlarda bulunan aktif bölgesinde demir içeren, diğeri prokaryot ve ökaryot hücrelerin mitokondrisinde manganez içeren, üçüncüsü ise ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında Cu ve Zn içeren olmak üzere aynı kinetiğe sahip üç farklı tipi mevcuttur (66). Süperoksit dismutaz enzimi, vücutta substrat olarak serbest radikalleri kullanan tek enzimdir ve aerobik şartlarda yaşam için gerekli olduğu gösterilmiştir (66).

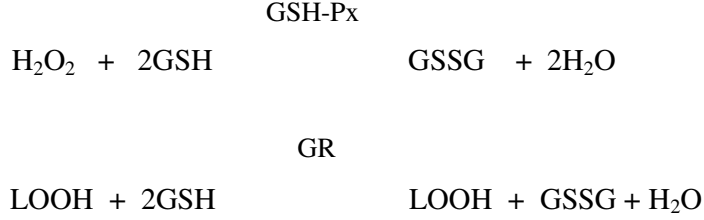
#### 3.3.1.2. Glutatyon Redüktaz (GR):

Glutatyon redüktaz enzimi organizmada yüksek konsantrasyonda oksidatif hasara neden olan ve glutatyon peroksidaz aracılığıyla oluşturulmuş okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü katalize eder. Organizmanın yaşamı için redükte glutatyonun yüksek konsantrasyonları ve okside glutatyonun düşük düzeyleri gereklidir (40).



### 3.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px):

Tetramerik yapıda ve dört adet selenyum atomu ihtiva eden glutatyon peroksidaz enzimi, lipit hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir (67).



Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında oluşan serbest radikal peroksidasyonundan fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller ayrıca GSH-Px enzimi E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda hücre membranının peroksidasyona karşı korunmasında görevlidir (68). Enzim aktivitesi karaciğerde yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kaslarda düşük olarak bulunmuştur (37).

### 3.3.1.4. Katalaz (CAT):

Her birinde protoporfirin halkası ve merkezde demir (Fe) atomu bulunan dört subüniteden oluşan katalaz enzimi, hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan sorumludur. Katalaz karaciğer ve böbreklerde yüksek aktiviteye sahipken, kalp, beyin gibi dokularda düşük aktiviteye sahiptir (69).



### 3.3.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar:

Enzim olmayan endojen antioksidanlar; C vitamini (askorbik asit), E vitamini ( $\alpha$ - tokoferol),  $\beta$ -Karoten (A vitamininin ön maddesi), Melatonin (MLT), GSH, Ferritin, Transferrin ve Laktoferrin'dir.

C vitamini çok güçlü bir indirgeyici ajan olup sulu fazlarda zincir kırıcı antioksidan olarak rol oynar (31). E vitamini de zincir kırıcı antioksidanlardandır ve membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikallerin etkilerinden korur.  $\beta$ -Karoten, güçlü bir singlet oksijen temizleyicisi olmanın yanında zincir kıran bir antioksidan olarak da etki ederek peroksit radikalleri oluşumunu engeller.

Melatonin, hidroksil serbest radikallerini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır ve hücrenin tüm organellerine aynı zamanda çekirdeğine de girebilmesi nedeniyle DNA'yı serbest radikallerin etkisinden korur (70). Glutatyon; aminoasitlerin transportu, hemoglobinin methemoglobine dönüşümünü engellemek, yabancı maddelerin detoksifikasyonu gibi birçok reaksiyonda görev alması nedeniyle çok önemli bir antioksidandır. Ferritin, transferrin ve laktoferrin ise demiri bağlayarak antioksidan etkilerini gösterirler. Bunların dışında hemoglobin, miyogloblin, ürik asit, sistein ve metiyonin, albumin, bilirubin, seruloplazmin, kreatinin ve östrojenler de enzimatik olmayan endojen antioksidanlardan grubunda yer almaktadır (64).

### **3.3.3. Ekzojen Antioksidanlar:**

Bu grupta ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler), kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, nifedipin), non-steroid antienflamatuvar ilaçlar (ibuprofen), demir tutucu ilaçlar (desferroksamin, EDTA), rekombinant SOD (r-SOD), besinlerdeki doğal antioksidanlar (C vitamini, E vitamini ve  $\beta$  karoten), nötrofil adezyon inhibitörleri, asetil sistein, mannitol ve melatonin yer almaktadır (71).

## **3.4. MİGREN VE GEN POLİMORFİZMİ**

### **3.4.1. Polimorfizmin Tanımı:**

Bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülmeyecek oranlarda var olan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki ya da daha fazla genetik özelliğin bir arada oluşumu durumudur. Toplumun %2 veya daha fazlası nadir bir alleli taşıyorsa, bu durum polimorfiktir (72). Polimorfizmin tanımına uygun allel sıklığına ulaşmaya seleksiyon neden olabilir. Aynı genin değişik formları allel olarak adlandırılır.

Bireyler arasındaki polimorfizm, restriksiyon enzimleri kullanılarak, karakteristik uzunlukta "DNA parçacıkları" oluşturularak belirlenebilir. Bu kısa DNA fragmanları, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak amplifiye edilebilir. Enzim ve protein değişkenlikleri ile ilgili araştırmalar, insanda yapısal gen lokuslarının en az %30'unun polimorfik olduğunu göstermiştir (72).

### **3.4.2. Polimorfizmin Tipleri ve Tıpta Kullanımı:**

İnsan DNA'sındaki değişikliklerin %90 kadarı tek baz değişimleri şeklindedir (73) ve bu allellerin frekansı %1'i geçtiği zaman tek baz polimorfizmi (Single Nucleotid Polymorphism, SNP) olarak adlandırılır. SNP'lerin yaklaşık 2/3'si sitozinden timine değişim şeklinde olmaktadır.

Polimorfizmler insan genetik araştırmalarında önemli bir fonksiyon üstlenmiştir. Bir genin farklı kalıtım kalıplarının öngörülebilmesi veya genomun farklı segmentlerinin birbirinden ayırt edilebilmesi önemli bir konudur. Bu açıdan şu anda DNA polimorfizm çalışmalarında ve bulunan polimorfizm sayısında bir patlama yaşanmaktadır. Polimorfizm bu açıdan genetik bir marker gibi görev yapmaktadır. Polimorfizmler; ebeveynlik testi, suçluların tanımlanması, organ transplantasyonu için doku tiplemesi, yetişkin bireylerin diyabet ve kanser gibi, toplumda sık görülen hastalıklara yatkınlığının belirlenmesi, genetik hastalıkların heterozigot taşıyıcılarının tespiti, bir kromozomun özel bir bölgesindeki bir genin bağlantı analizi ile haritalanması gibi birçok alanda kullanıma girmiştir (74, 75). Ayrıca bu polimorfik durumlar hastaların tedavisinde kullanılacak ilaç seçimi ve ilaca cevapta kişiler arası farklılıkları açıklamakta da kullanılmaktadır.

### **3.4.3. Migren Genetiği:**

Migrenin erken yaşlarda ortaya çıkması ve güçlü aile ilişkisi bu hastalıkta genetik faktörlerin önemini akla getirmektedir. Epidemiyoloji çalışmalarında aurasız migren hastalarının birinci dereceden akrabalarında 1,9 kat risk artışı tespit edilmişken, auralı migrende risk 4 kat artmış olarak tespit edilmiştir (76).

Migrenin ailesel kümelenme gösterdiği ilk kez Tissot tarafından 1870 yılında ortaya atılmıştır. Sonrasında migrenin ailesel geçiş özellikleri, ikizler arasında migren birlikteliği ve migrenin belli kromozom bölgelerine bağlantı gösterip göstermediği yapılan çalışmalarla incelenmiştir (77). Ailesel kümelenme çalışmaları ve ikiz çalışmalarında elde edilen tutarsız sonuçlar migrenin genetik çeşitliliği ve tek başına genetik faktörlerin migrenden sorumlu olmadığını göstermiştir.

Ancak otozomal dominant kalıtım gösteren famiyal hemiplejik migren (FHM) için yapılan bağlantı analizi çalışmalarında ailelerin %55'inde 19p13 kromozomunda P/Q tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalının  $\alpha 1$  alt ünitesini kodlayan CACNA1A geninde 4 ayrı mutasyon bulunmuştur. Bu mutasyon sonucu oluşan FHM, FHM-1 olarak adlandırılmaktadır.



Ailelerin %15'inde ise kromozom 1q21-23'te sodyum-potasyum pompasının  $\alpha 2$  alt ünitesini kodlayan ATP1A2 geninde mutasyon olduğu bulunmuş ve FHM-2 olarak adlandırılmıştır. FHM-3 ise voltaj bağımlı sodyum kanalı 1A'yı kodlayan gendeki mutasyon sonucu oluşmaktadır (77).

Migrenin kadınlarda daha fazla görülmesi nedeniyle yapılan genetik çalışmalarda bazı ailelerde X kromozomuna bağlantı gösterilmiştir (78). Ayrıca endotel nitrik oksit sentetaz ve 5-Hidroksitriptamin 2A (5-HT2A) reseptör gen polimorfizmleri ile ilgili yapılan çalışmalarda migrenle herhangi bir ilişki bulunmamıştır (79, 80).

Sonuç olarak migren atağı, baş ağrısına yatkın kılacak yapısal özelliği ailesinden almış bireylerde tetikleyici faktörlerin de etkisiyle ortaya çıkabileceği düşüncesi akla gelmektedir.

### **3.4.4. Antioksidan Enzimlerin Genetik Yapısı:**

#### **3.4.4.1. Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) Enziminin Genetik Özellikleri:**

İnsan Mn-SOD enzimi homotetramerik bir molekül olup her bir alt ünitesi 222 amino asitten oluşmaktadır. Mn-SOD geninin fiziksel yapısı 5 ekson ve 4 intron içermektedir. Genin nükleotid dizisi toplam 977 baz çiftinden oluşmaktadır (Tablo 5). İnsan-fare hibritleriyle yapılan analizlerde bu enzimin geninin 6. kromozomda olduğu bulundu (81). Daha sonra floresan insutu hibridizasyon ve somatik hücre hibrit haritalaması kullanılarak genin 6q25 sublokalisasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (82).

**Tablo 5.** İnsan Mn-SOD Geninin Toplam Nükleotid Dizisi. C: sitozin, A: adenin, G: guanin, T: timin. Tablo Genbank'tan alıntılanmıştır (Gen bankası nükleotid sekansı erişim numarası: M36693)

---

```
1 gcgggcgcg caggagcggc actcgtggct gtggtggctt cggcagcggc ttcagcagat
61 cggcggcatc agcggtagca ccagcactag cagcatggtg agccgggcag tgtgcggcac
121 cagcaggcag ctggctccgg ctttggggta tctgggctcc aggcagaagc acagcctccc
181 cgacctgccc tacgactacg ggcacctgga acctcacatc aacgcgcaga tcatgcagct
241 gcaccacagc aagcaccacg cggcctacgt gaacaacctg aacgtcaccg aggagaagta
301 ccaggaggcg ttggccaagg gagatgttac agcccagaca gctcttcagc ctgcactgaa
361 gttcaatggt ggtggtcata tcaatcatag cattttctgg acaaacctca gccctaacgg
421 tggtagagaa cccaaagggg agttgctgga agccatcaaa cgtgactttg gttcctttga
481 caagttaag gagaagctga cggctgcatc tgttgggtgc caaggctcag gttgggggtg
541 gcttggtttc aataaggaac ggggacactt acaaattgct gcttgtccaa atcaggatcc
601 actgcaagga acaacaggcc ttattccact gctggggatt gatgtgtggg agcacgctta
661 ctacctcag tataaaaatg tcaggcctga ttatctaaaa gctatattgga atgtaataca
721 ctgggagaat gtaactgaaa gatacatggc ttgcaaaaag taaaccacga tcgttatgct
781 gagtatgtta agctctttat gactgttttt gtagtggat agagtactgc agaatacagt
841 aagctgctct attgtagcat ttcttgatgt tgcttagtca cttatttcat aaacaactta
901 atgttctgaa taatttctta ctaaacatth tgttattggg caagtgattg aaaatagtaa
961 atgctttgtg tgattg
```

---

#### **3.4.4.2. Glutasyon Peroksidaz-3 (GSH-Px3) Enziminin Genetik Özellikleri:**

Glutasyon peroksidaz enziminin 4 tipi bulunmaktadır. Ekstraselüler glutasyon peroksidaz olarak adlandırılan GSH-Px3, başlıca plazmada bulunmaktadır. Glutasyon peroksidaz 3 enzimi insanda böbrek, akciğer, kalp ve plasentada eksprese edilmektedir. Enzimi kodlayan gen 5q32-q33.1'de yerleşiktir ve fiziksel yapısı 5 ekzondan oluşmaktadır (83). Memelilerde selenosistein rezidüsü içermekte olan enzim 226 aminoasitten oluşmaktadır. Genin nükleotid dizisi toplam 698 baz çiftinden oluşmaktadır (Tablo 6).

**Tablo 6.** İnsan GSH-Px 3 Geninin Toplam Nükleotid Dizisi. C: sitozin, A: adenin, G: guanin, T: timin. Tablo Genbank'tan alıntılanmıştır (Gen bankası nükleotid sekansı erişim numarası: AF217787)

---

```
1 cgccatggcc cggctgctgc aggcgtcctg cctgctttcc ctgctcctgg ccggttcgt
61 ctgcgagagc cggggacaag agaagtcgaa gatggactgc catggtggca taagtggcac
121 catttacgag tacggagccc tcaccattga tggggaggag tacatcccct tcaagcagta
181 tgctggcaaa tacgtcctct ttgtcaacgt ggccagctac tgaggcctga cgggccagta
241 cattgaactg aatgcactac aggaagagct tgcaccattc ggtctgggtca ttctgggctt
301 tccctgcaac caatttgaa aacaggaacc aggagagaac tcagagatcc ttctaccct
361 caagtatgtc cgaccagtg gaggtttgt ccctaatttc cagctctttg agaaagggga
421 tgtcaatgga gagaaagagc agaaattcta cactttccta aagaactcct gtctcccac
481 ctcgagctc ctgggtacat ctgaccgcct cttctgggaa cccatgaagg ttcacgacat
541 ccgctggaac tttgagaagt tcctgggtgg gccagatggt atacccatca tgcgctggca
601 ccaccggacc acggtcagca acgtcaagat ggacatcctg tctacatga ggcggcaggc
661 agccctgggg gtcaagagga agtaactgaa ggccgctc
```

---

#### **3.4.4.3. Katalaz (CAT) Enziminin Genetik Özellikleri:**

Tüm aerobik hücrelerde bulunan katalaz enzimi tetramerik hemoproteindir. Memelilerde en yüksek miktarda bulunduğu dokular karaciğer, böbrek ve eritrosit iken, en düşük miktarda konnektif dokularda bulunur. Enzimi kodlayan gen 11p13'de yerleşiktir ve fiziksel yapısı 13 ekzondan oluşmaktadır (84). 34 kb uzunluğundaki katalaz geninin nükleotid dizisi, toplam 2306 baz çiftinden oluşmaktadır (Tablo 7).

**Tablo 7.** İnsan CAT Geninin Toplam Nükleotid Dizisi. C: sitozin, A: adenin, G: guanin, T: timin. Tablo Genbank'tan alıntılanmıştır (Gen bankası nükleotid sekansı erişim numarası: 001752)

---

1	ggcaacaggc	agatttgctt	gctgagggtg	gagaccacg	agccgagcc	tctgcagtg
61	ttctgcacag	caaaccgac	gctatggctg	acagccggga	tcccgccagc	gaccagatgc
121	agcactggaa	ggagcagcgg	gccgcgcaga	aagctgatgt	cctgaccact	ggagctggtg
181	accagtagg	agacaaactt	aatgttatta	cagtagggcc	ccgtgggcc	cttcttgctt
241	aggatgtggt	tttactgat	gaaatggctc	atcttgaccg	agagagaatt	cctgagagag
301	ttgtgcatgc	taaaggagca	ggggcctttg	gctactttga	ggtcacacat	gacattacca
361	aatactccaa	ggcaaaggta	tttgagcata	ttgaaagaa	gactcccatc	gcagttcggg
421	tctccactgt	tgctggagaa	tcgggttcag	ctgacacagt	tcgggacct	cgtgggtttg
481	cagtgaatt	ttacacagaa	gatggtaact	gggatctcgt	tggaaataac	acccccattt
541	tcttcatcag	ggatcccata	ttgtttccat	cttttatcca	cagccaaaag	agaaatcctc
601	agacacatct	gaaggatccg	gacatggctc	gggacttctg	gagcctacgt	cctgagcttc
661	tgcatcaggt	ttctttcttg	ttcagtgatc	gggggattcc	agatggacat	gcaccatga
721	atggatatgg	atcacatact	ttcaagctgg	ttaatgcaaa	tggggaggca	gtttattgca
781	aattccatta	taagactgac	cagggcatca	aaaacctttc	tgttgaagat	gcggcgagac
841	ttcccagga	agatcctgac	tatggcatcc	gggatctttt	taacgccatt	gccacaggaa
901	agtacccttc	ctggactttt	tacatccagg	tcatgacatt	taatcaggca	gaaacttttc
961	catttaatcc	attcgatctc	accaaggttt	ggcctcacia	ggactacctt	ctcatcccag
1021	ttggtaaact	ggtcttaaac	cgaatccag	ttaattactt	tgctgaggtt	gaacagatag
1081	ccttcgacct	aagcaacatg	ccacctggca	ttgaggccag	tcctgacaaa	atgcttcagg
1141	gccgcctttt	tgctatcct	gacactcacc	gccatgcctt	gggacctaat	tatcttcata
1201	tacctgtgaa	ctgtccctac	cgtgctcgag	tggccaacta	ccagcgtgac	ggccccgatg
1261	gcatgcagga	caatcagggg	ggtgctccaa	attactacct	caacagcttt	ggtgctccgg
1321	aacaacagcc	ttctgccttg	gagcacagca	tccaatattc	tggagaagtg	cgagagattca
1381	acactgccaa	tgatgataac	gttactcagg	tgccggcatt	ctatgtgaac	gtgctgaatg
1441	aggaacagag	gaaacgtctg	tgtgagaaca	ttgccggcca	cctgaaggat	gcacaaatct
1501	tcatccagaa	gaaagcggtc	aagaacttca	ctgagggtcca	ccctgactac	gggagccaca
1561	tccaggtctt	tctggacaag	tacaatgctg	agaagcctaa	gaatgcgatt	cacacctttg
1621	tgcatgccc	atctcacttg	gcggcaagg	agaaggcaaa	tctgtgaggc	cggggccctg
1681	cacctgtgca	gcgaagctta	gcgttcaccc	gtgtaacctg	ctcatcactg	gatgaagatt
1741	ctcctgtgct	agatgtgcaa	atgcaagcta	gtggcttcaa	aatagagaat	cccactttct
1801	atagcagatt	gtgtaacaat	tttaatgcta	tttccccagg	ggaaaatgaa	ggttaggatt
1861	taacagtcct	ttaaaaaaaa	aatttgtttt	gacggatgat	tggattattc	atttaaaatg
1921	attagaaggc	aagtttctag	ctagaaatat	gattttattt	gacaaaatct	gttgaaatta
1981	tgatgtttta	catatcacct	catggcctat	tatatataaa	tatggctata	aatatataaa
2041	aagaaaagat	aaagatgata	tactcagaaa	tttttatttt	tctaaggctt	tcataggaaa
2101	agtacattta	atacagcagt	gtcatcagaa	gataacttga	gcaccgtcat	ggcttaatgt
2161	ttattcctga	taataattga	tcaaatcctt	ttttttcact	ggagttacat	taatgttaat
2221	tcagcactga	tttcacaaca	gatcaatttg	taattgctta	catttttaca	ataaataatc
2281	tgtacgtaag	aacaaaaaaaa	aaaaa			

---

### **3.5. Çalışmanın Amacı:**

Son yıllarda çoğu hastalıkta olduğu gibi migren patogeneğinde de oksidatif stresin önemi araştırılmaktadır. Bu konuda yapılmış çalışmaların sonuçları migren hastalarında oksidatif stresin önemini ve migren patofizyolojisinde vasküler faktörlerin önemini desteklemektedir.

Bu çalışmada, migren hastalarında atak ve atak dışı dönemde çeşitli metotlarla kan antioksidan enzim düzeyleri ve oksidatif hasarın göstergesi olarak plazma MDA düzeylerinin incelenerek sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması ve ayrıca antioksidan enzimlerin genotipik aktivitelerine moleküler düzeyde bakılması planlandı.

Amacımız, plazma MDA düzeyinin ve kan antioksidan enzim aktivitelerinin ölçülerek bunların migren patogeneindeki rollerini araştırmaktır. Ayrıca, antioksidan enzimlerin gen polimorfizmine bakılarak migren ile ilişkisini ortaya koymak için migrenli hastalar ile sağlıklı kontrol gruplarında bu polimorfizmin Türk popülasyonundaki insidansını araştırmaktır. Böylece Türk popülasyonunda migrenli hastalarda antioksidan enzim polimorfizminin genotipik insidansı araştırılacak ve migren görülme riski ve prognozunun bu polimorfizmle ilişkisinin olup olmadığına bakılacaktır.

Migren patofizyolojisi hala tartışmalıdır ve etyopatogenetik faktörlerin tespit edilmesi çok önemlidir. Migren patofizyolojisinin bilinmesi, migren tedavisi (profilaksi ve atak) için gereklidir. Proje kapsamında sunduğumuz araştırma konusuna ilişkin oldukça sınırlı sayıda literatür kaynağı mevcuttur. Bu nedenle konunun daha geniş sayıda bilimsel çalışma ile desteklenmesi, migren ve oksidatif stres ilişkisinin moleküler genetik boyutunun ve patogeneğinin aydınlatılmasında bilimsel düzeyde anlamlı katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

#### 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Fırat Üniversitesi Hastanesi Acil, Nöroloji ve Baş ağrısı polikliniklerine başvuran ve ICHD (16) ölçütlerine göre “migren baş ağrısı” tanısı alan 40 hasta alındı. Bu grup hastalardan baş ağrısı atağı esnasında ve atak dışında olmak üzere iki kez kan alındı. Kontrol grubu hasta grubu yaş ve cinsiyet dağılımı benzer olan 40 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Kontrol grubundan bir kez kan örneği alındı. Migren baş ağrılı hastaların tanısı nöroloji kliniği baş ağrısı bölümünde çalışan uzmanlar tarafından konuldu. Çalışma öncesi tüm hastaların yazılı onayı alındı (Ek-A). Çalışmaya dahil edilen hastaların detaylı baş ağrısı öyküsü sorgulandı, fizik ve nörolojik muayeneleri yapıldı (Ek-B). Ayrıca son 6 aydır migren profilaksisine yönelik ilaç kullanmakta olan, allerjik ve otoimmün hastalığı olan, kronik ilaç kullanım öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmamız kan antioksidan enzim düzeyleri (GSH-Px, SOD ve CAT), kan GSH ve plazma MDA düzeylerinin biyokimyasal olarak analizlerinin yapıldığı ve sonrasında GSH-Px3, Mn-SOD ve CAT enzimlerinin genotip aktivitelerinin moleküler düzeyde bakıldığı iki aşamadan oluşmaktadır. Çalışmamızda ki analizler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında ve ilgili uzmanların değerlendirmeleriyle yapıldı. Biyokimyasal analizler yapılırken hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerin antekübital veninden kan örnekleri heparinli ve EDTA’lı deney tüplerine alınarak en kısa zamanda laboratuvara getirildi. EDTA’lı deney tüplerindeki tam kan -20°C’de saklandı. Heparinli tüplerdeki kanlar 2500 rpm’de 10 dk santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrılmıştır. Plazması ayrılmış kanlar daha sonra serum fizyolojik ile 3 defa yıkandı ve çalışılmak üzere -20°C’de muhafaza edildi.

Ayrıca moleküler incelemeler için de hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerin antekübital veninden daha önceden hazırlanmış EDTA’lı tüplere 2 ml kan alındı. Kontrol grubu ve hastalardan alınan kan örnekleri +4 °C’de saklanarak en geç 20 gün içerisinde DNA izolasyonu yapıldı. Periferik kandan DNA izolasyonu için yüksek tuz konsantrasyonunda çöktürme metodu uygulandı (85, 86).

## 4.1. BİYOKİMYASAL ANALİZLERDE KULLANILAN YÖNTEMLER METODLAR

### 4.1.1. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü:

Eritrosit GSH-Px aktivitesi ölçümü için Beutler (87) metodu kullanılmıştır. GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vasıtasıyla redükte glutatyonun, okside glutatyona oksidasyonunu katalize eder.

GSH-Px



Burada R-O-O-H bir hidroperoksit olup, t-bütil hidroperoksit (t-BOOH) enzim analizi için en uygun substrattır. GSSG'nin oluşum oranı, glutatyon redüktaz (GR) reaksiyonu vasıtasıyla ölçüldü.

**Ayrıçlar:** Deneyin yapılışında aşağıda belirtilen ayrıçlar kullanıldı.

- 1- Tris tamponu (pH:8.0): 1M Tris-HCl, 5mM EDTA
- 2- Glutatyon (0.1 M)
- 3- Glutatyon redüktaz (10U/ml)
- 4- NADPH (2mM)
- 5- t-bütilhidroperoksit (7mM)

### **Materyal:**

Tam kan saf su ile 1/20 oranında sulandırılarak hemolizat elde edildi. Bu hemolizatta GSH-Px tayini yapıldı. Eritrosit GSH-Px aktivitesi ölçümü, aşağıdaki deney şemasına göre (Tablo 8) hazırlanarak yapıldı.

**Tablo 8.** Eritrosit GSH-Px Tayini Deney Şeması

	<b>Örnek (µl)</b>	<b>Kör (µl)</b>
<b>Tris-EDTA</b>	100	100
<b>Glutasyon</b>	20	20
<b>Glutasyon redüktaz</b>	100	100
<b>NADPH</b>	100	100
<b>Hemolizat</b>	10	–
<b>Su</b>	660	670
37°C’de 10 dk inkübasyon yapılır.		
<b>7mM t-BOOH</b>	10	–

Sistemin optik dansitesindeki azalmanın tespiti için, 340 nm’de 0 ve 2.5 dk’daki absorbanslar kaydedilir.

**Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{Eritrosit GSH-Px (U/g Hb)} = \frac{\frac{OD_2 - OD_1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 10^{-3} \times 0.01}}{\text{Hb (g/ml)}}$$

Eritrosit GSH-Px aktivitesi ölçümünde, sonuçların hesaplanması sırasında kullanılan hemoglobin değeri aşağıda anlatıldığı şekilde ölçülmüştür. Ayrıca eritrosit CAT, SOD ve kan GSH düzeyi ölçümlerinde de hemoglobin değeri bu şekilde ölçülmüştür.



### **Hemoglobin Ölçümü:**

Siyanomethemoglobin yöntemi (88) ile yapılır.

### **Prensip:**

Ferrisiyanür hemoglobindeki  $Fe^{2+}$ 'yi oksitleyerek  $Fe^{3+}$ 'e dönüştürüp methemoglobine dönüşmesini sağlar ve bunu takiben potasyum siyanid (KCN) ile stabil bir pigment olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Oluşan siyanmethemoglobinin sebep olduğu absorbans farkının 546 nm'de okunması ile Hb miktarı tespit edilmiş olur.

### **Ayırıcılar:**

- 1- Drabkin Çözeltisi:** 50 mg KCN, 200 mg  $K_3Fe(CN)_6$  ve 1 g  $NaHCO_3$  tartılarak bir miktar distile suda çözülür ve 1 litreye tamamlanır. Koyu renkli şisede 1 yıl dayanır.
- 2- Hb Standartı:** 18 g liyofilize Hb standartı 100 ml distile suda çözülür. Bu standart 18 g/dl Hb içerir.

**Tablo 9.** Hemoglobin Ölçümü Deney Şeması

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Standart (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Drabkin Çözeltisi</b>	5.0	5.0	5.0
<b>Hemoglobin Standartı</b>	–	0.02	–
<b>Hemolizat</b>	–	–	0.02
<b>Distile su</b>	0.02	–	–

Tüpler iyice karıştırıldı. Oda ısısında 20 dakika bekletildi. 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbansları okundu.

**Hesaplama:**  $g / dl Hb = (\text{örnek absorbans} / \text{standart absorbans}) \times \text{standart konsantrasyonu}$

#### 4.1.2. Eritrosit SOD Aktivitesi Ölçümü:

##### Prensip:

Bu metotta süperoksit dismutaz aktivite ölçümü ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalinin nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgeyerek renk oluşması esasına dayanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikalinin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi 560 nm'de maksimum absorbanans veren mavi renkli formazon oluşumu ile sonlanır.

Ortamda enzim olmadığı durumda bu indirgenme maksimal olup, koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Ortamda SOD varlığında ise enzim süperoksit anyonunu  $H_2O_2$ 'ye çevirmekte böylece NBT indirgenmesi azalmakta ve renk değişikliği meydana gelmemektedir. Renkli formazon oluşumu ortamın enzim konsantrasyonu ile ters orantılı olarak gerçekleşmektedir. Böylece oluşan formazonun 560 nm'de verdiği absorbanstan SOD aktivitesi hesap edilmektedir (89).

##### Ayıracılar:

###### 1- Assay reaktifi

- a) **0.3 mmol/L xanthine**; 9.13 mg alınıp 200 ml distile suda çözüldü. Çözme işlemi birkaç damla 1M NaOH ilavesi ve hafif ısıtılarak yapıldı.
- b) **0.6 mmol/L  $Na_2EDTA$** ; 23 mg alınıp 100 ml distile suda çözüldü.
- c) **150  $\mu$ mol/L NBT**; 12.3 mg alınıp 100 ml distile suda çözüldü.
- d) **400 mmol/L  $Na_2CO_3$** ; 2.54 gr alınıp 60 ml distile suda çözüldü.
- e) **1 gr/L bovine serum albumine (BSA)**; 30 mg alınıp 30 ml distile suda çözüldü.

Hepsi karıştırılır (toplam 490 ml) koyu renkli şişede  $+4^\circ C$ 'de saklandı.

- 2- **2M  $(NH_4)_2SO_4$** ; 2.64 g Amonyum sülfat tartılır bir miktar distile suda çözüldü ve toplam hacim 10ml'ye tamamlandı.
- 3- **Ksantin Oksidaz (167 U/L)**: 10 U/0.5 ml Ksantin oksidaz stok çözeltiden 8.3  $\mu$ l alınıp  $+4^\circ C$ 'de soğutulmuş 991.7  $\mu$ l 2 M  $(NH_4)_2SO_4$  ile karıştırıldı.
- 4- **Kloroform/etanol (3/5) karışımı**: Üç kısım kloroform ile 5 kısım etanol karıştırıldı.
- 5- **0.8 mmol/L  $CuCl_2$  çözeltisi**: 13.6 mg  $CuCl_2$  alınıp bir miktar distile suda çözülerek toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

### **Deneyin yapılışı:**

1/5 oranında dilüe edilmiş eritrosit hemolizatu eşit hacimde kloroform/etanol ile karıştırıldı, vortekste iyice karıştırıldıktan sonra 4 °C'de 3000 rpm'de 45 dakika santrifüje edildi. En üstteki berrak kısım SOD aktivite tayininde kullanılmak üzere reaksiyona bırakıldı. Eritrosit SOD aktivitesi ölçümü, aşağıdaki deney şemasına göre (Tablo 10) hazırlanıp eritrosit SOD tayini yapıldı.

**Tablo 10.** Eritrosit SOD Tayini Deney Şeması

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Assay reaktifi</b>	2.85	2.85
<b>Süpernatant</b>	—	0.10
<b>Distile su</b>	0.10	—
<b>Ksantin oksidaz</b>	0.05	0.05

25°C'de 20 dakika süreyle inkübe edildi. Sürenin sonunda bütün tüplere 1 ml CuCl<sub>2</sub> çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Spektrofotometre 560 nm'de assay reaktifi ile sıfırlanarak kör ve örneklerin absorbanları kaydedildi.

### **Sonuçların Hesaplanması:**

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Absorbans (Kör)} - \text{Absorbans (Örnek)}}{\text{Absorbans (Kör)}} \times 100$$

1 Ünite SOD: NBT indirgenmesini % 50 inhibe eden enzim aktivitesidir.

$$\text{U/ml SOD} = \frac{\% \text{ İnhibisyon}}{50} \times 10 \text{ (sulandırma faktörü)}$$

Gram hemoglobin başına SOD aktivitesi, spesifik aktiviteyi verir ve;

$$\frac{\text{U/ml SOD}}{\text{g/ml Hb}} = \text{formülü ile bulunur.}$$

#### 4.1.3. Eritrosit CAT Aktivitesinin Ölçümü:

##### Prensip:

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maksimum absorpsiyonu 240 nm'de verir. CAT aşağıdaki tepkimeye göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yıkımlayarak H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'e dönüşümünü katalize eder.



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin CAT tarafından yıkım hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin 240 nm dalga boyundaki absorpsiyonunda meydana gelen düşüş ile ölçülür (90).

##### Ayırıcılar:

**50 mM Fosfat Tamponu (pH: 7.0):** 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'tan 600 ml ile 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>'tan 400 ml karıştırıldı (pH kendiliğinden 7'ye gelir).

**30 mM Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** 0.34 ml %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı.

Eritrosit CAT aktivitesi ölçümü, aşağıdaki deney şemasına göre (Tablo 11) hazırlanıp CAT tayini yapıldı.

**Tablo 11.** Eritrosit CAT Tayini Deney Şeması

	Kör (ml)	Örnek (ml)
<b>Fosfat tamponu</b>	1	–
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	–	1
<b>Örnek</b>	2	2

Reaksiyonun başlaması ile absorbanstaki düşüş 30. saniyede kaydedilir.

### Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Log} \frac{A_1}{A_2} \times 2.31$$
$$k/\text{sn} = k \times \text{sn}^{-1} = \frac{\text{Log} \frac{A_1}{A_2} \times 2.31}{30} \times (\text{Sulandırma faktörü})$$
$$k/\text{gr Hb} = \frac{k \times \text{sn}^{-1}}{\text{gr Hb}}$$

#### 4.1.4. Plazma MDA Ölçümü:

##### Prensip:

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin oksidasyonunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm’de ölçülür (91).

##### Ayıraçlar:

- 1- **2-tiyobarbitürik asit (TBA) ayıracı:** 0.67 gr TBA 80 ml %10’luk perklorik asitte çözülür ve 100 ml’ye distile su ile tamamlandı.
- 2- **%10’luk triklorasetik asit solüsyonu**
- 3- **1,1,3,3-tetra etoksipropan (TEP) standart solüsyonu:** TEP 10 ml absolut etanolde çözüldü ve 0.9’luk NaCl ile uygun miktara dilüe edildi.
- 4- **Colour reagent:** 3 kısım triklorasetik asit ayıracı ve 1 kısım TBA ayıracı konularak hazırlandı.

##### Örneklerin Çalışılması:

Ayıraçlar tüplere Tablo 12’de sunulduğu miktarlarda konuldu.

**Tablo 12.** Plazma MDA Tayini Deneş Şeması

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Plazma</b>	–	0.25
<b>Serum fizyolojik</b>	0.25	–
<b>Colour reagent</b>	2.25	2.25

İyice karıştırılıp 100°C’de 20 dk bekleddikten sonra 3000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatanttan 2 ml alınır ve 532 nm’de köre karşı okundu.

#### **Sonuçların Hesaplanması :**

Örnek Absorbansı

$$\text{MDA (nmol/ml)} = \frac{\text{Örnek Absorbansı}}{\text{Standart absorbansı}} \times \text{Standartın konsantrasyonu}$$

#### **4.1.5. Kan GSH Ölçümü:**

##### **Prensip:**

Bu metod 5,5’ dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) eklendiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir (92).

##### **Ayrıraçlar:**

**1- Çöktürücü solüsyon:** 1.67 gr glasiel metafosforik asit, 0.2 gr disodyum EDTA, 30 gr NaCl 100 ml distile suda çözüldü.

**2- Fosfat ayıracı:** 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

**3- DTNB:** 40 mg DTNB %1’lik Na-sitrat çözültisi ile 100 ml’ye tamamlandı.

**4- Glutasyon standartı:** 2 mg/dl

##### **Örneklerin Çalışılması:**

0.2 ml tam kan üzerine 1.8 ml distile su konularak hemolizat hazırlandı. Çöktürücü ilave edilerek 5 dk bekleddikten sonra filtre kağıdından süzüldü. Kan GSH aktivitesi ölçümü aşağıdaki deneş şemasına göre (Tablo 13) hazırlanıp GSH tayini yapıldı.

**Tablo 13.** Kan GSH Tayini Deneş Şeması

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Standart (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Süzüntü</b>	–	–	2
<b>Standart</b>	–	2	–
<b>Çöktürücü</b>	1.2	–	–
<b>Distile su</b>	0.8	–	–
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	8	8	8
<b>DTNB</b>	1	1	1

Karıştırılıp, köre karşı 412 nm’de 4 dk içinde okundu.

**Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{GSH (mg/dl)} = \frac{\text{Örnek absorbansı}}{\text{Standart absorbansı}} \times \text{Standartın konsantrasyonu}$$

Sonuçlar µmol/gHb’e çevrildi.

**4.2. GENETİK ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER**

Mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS, type 157.MP, Germany ve Eppendorf microcentrifuge yupe 5415C, Germany), Elektronik hassas terazi (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan), pH metre (Hana Instruments HI8521 pH meter, Italy), Hız ayarlı vorteks (Labinco 121, The Netherlands), 37 °C’ye ve 65 °C’ye ayarlanabilecek su banyosu (Kötterman labortechnic type 3643, Germany), Etüv (Nüve EN 400), Enjektörler, Pipetler, Elektroforez aparatı (1200V-500mA E815 Belgium), Electrophoresis box (Consort N.V.Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium), Eppendorf Mastercycler gradient (Netheler Mlnz GmbH, 22331 Hamburg, Germany), UV lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraf alma ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France), Steril 1.5 ml, 0.5 ml ve 0.2 ml’lik Eppendorf santrifüj tüpleri.

#### 4.2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler:

İzopropanol, %70'lik etanol, borik asit, EDTA, bromphenol blue, Agaroz, Ethidium bromide, TRIS baz, Magnezyum asetat, SDS (Sodyum dodesil sülfat), Amonyum klorür, Potasyum bikarbonat TRIS-asetat, Deoksinükleotid trifosfat (dNTP) seti (dATP, dGTP, dCTP, DTTP), Distile su, 50 bp ve 100 bp'lik DNA boyut markerları.

#### 4.2.2. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması:

##### Tam Kandan DNA izolasyonu için Kullanılan Solüsyonlar

##### A. Red Cell Lizis Solüsyonu:

##### 500 ml stok için:

Amonyum klorür	41 gr
Potasyum bikarbonat	5 gr
0.5 M EDTA	10 ml

**Kullanılacak solüsyon için;** stoktan 100 ml üzerine 900 ml distile su eklenir.

+4 °C'de saklanır.

##### B. Cell Lizis Solüsyonu:

##### 100 ml için:

SDS (Sodyum dodesil sülfat)	2 gr
0.5 M EDTA	5 ml

##### C. Protein Presipitasyon Solüsyonu:

##### 50 ml için:

Amonyum Asetat	38.54 gr
----------------	----------

#### 4.2.3. Kandan DNA İzolasyonu:

DNA saflaştırılması Promega firmasına ait Wizard Genomic DNA Purification Kitin (Kat no: A1125, Madison, WI, USA) genel kurallarına uymak koşuluyla bazı modifikasyonlar yapılarak manuel olarak yapıldı. Gerçekleştirilen deney aşamaları aşağıda sıralandığı gibidir:

1. EDTA'lı tüple alınan 2ml kan falkon tüpüne aktarıldı, üzerine 8 ml Red Cell Lizis solüsyonu konuldu. 5-6 defa alt üst edilerek ve 20 dakika oda ısısında bekletildi.(Bu aşamada eritrositler parçalanmaktadır.)
2. 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Alttaki beyaz kısma (pellet) zarar vermeden mümkün olduğu ölçüde fazla süpernatant uzaklaştırıldı ve atıldı.



3. Dipte kalan lökosit pelleti iyice vortekslendi ve üzerine 2ml Cell Lizis solüsyonu eklenerek yeniden vortekslendi ve 37°C’de etüvde 1 gece yada homojenize oluncaya kadar bekletildi.
4. Homojenize olduktan sonra üzerine 700 mikrolitre protein presipitasyon (protein çöktürme) solüsyonu eklendi.10-20 saniye kadar iyice vortekslendi. 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant kısmı temiz bir falkon tüpteki 2ml izopropil alkol üzerine aktarıldı. Sürekli alt üst edilerek ve ters çevrilerek karıştırıldı. Beyaz iplik görünümündeki DNA, görülebilen bir kitle oluncaya kadar bu çevirme işlemine devam edildi. Bazı numunelerde görülebilen kümeler oluşurken diğer bazılarında çok küçük miktarda iplikçik görüldü.
6. 13000-16000 rpm’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı atılarak dipte kalan DNA’nın üzerine % 70’lik etanol eklendi. Alt üst yapılarak DNA pelleti ve tüpün kenarları yıkandı. Yukarıdaki santrifüjleme işlemi tekrarlandı.
7. Etanol dikkatlice aspire edildi. Bu aşamada DNA çok gevşek olduğundan dikkatli olmak gerekir. Tüpler temiz kurutma kağıtlarının üzerine ağızları alta gelecek şekilde yerleştirilerek oda sıcaklığında DNA kurumaya bırakıldı.
8. DNA örneği kuruduktan sonra üzerine 200 mikrolitre DNA rehidratasyon solüsyonu (veya distile su) eklendi. DNA’yı rehidre etmek için 65 °C’de 1 saat inkübe edildi (Alternatif olarak DNA bir gece boyunca oda ısısında veya +4°C’de rehidre edilebilir, aynı sonuç elde edilebilir).

#### **4.2.4. Kullanılan Primer Dizileri:**

Katalaz, Mn-SOD ve GSH-Px3 restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) için primerler alındı. Çalışmada kullanılacak olan primer (oligonükleotid) IDT (Integrated DNA Technologies, Inc, Coralville, IA, USA) firmasına sentezlettirildi PCR deneylerinde kullanılacak olan oligonükleotidler, insan DNA’sı üzerindeki ilgili gen bölgesinin amplifikasyonunu gerçekleştirmek için kullanıldı. Satın alınan primerlerin nükleotid sekansı ve orijini aşağıda belirtilmiştir:

**Mn-SOD RFLP:**

**F: 5'-ACCAGCAGGCAGCTGGCGCCGG-3'**

**R: 5'-GCGTTGATGTGAGGTTCCAG-3'**

**GSHPx-3 RFLP:**

**F: 5'-GAAATCCCAGCCGCCTA-3'**

**R: 5'-CACTCACCTTCGACTTCTCTTGCT-3'**

**CAT RFLP:**

**Antisense: 5-'AGAGCCTCGCCCCGCCGGACCG- 3'**

**Sense: 5'-TAAGAGCTGAGAAAGCATAGCT- 3'**

Kullanılan belirleyicilerin PCR işlemi sonucunda elde edilen ürün boyları Genome Database'dan ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/entrez/map\\_search](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/entrez/map_search)) elde edildi (Tablo 14).

**Tablo 14.** Kullanılan Primerlerde Elde Edilen Amplikon Boyları

<b>Polimorfik Belirleyici</b>	<b>Boy (Baz Çifti: bç)</b>
<b>Mn-SOD polimorfizm</b>	
(Valin için)	107
(Alanin için)	89-18
<b>GSH-Px3 polimorfizm</b>	
(65T→C varlığında)	260
(65T varlığında)	224-36
<b>CAT polimorfizm</b>	
(262T alleli)	340
(262C alleli)	185-155

#### 4.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Amplifikasyonu:

PCR, DNA üzerinde incelenmesi istenen bölgenin oligonükleotid primerler kullanılarak çoğaltılması esasına dayanır. Bu yöntem ısı ile DNA molekülünün çift zincirinin birbirinden ayrılması (denatürasyon), primerlerin ayrılmış olan DNA zincirine bağlanması (annealing) ve DNA polimeraz enzimi tarafından hedef bölgenin sentezlenmesi (extension) olarak üç aşamadan oluşur. Bu aşamaların 35-40 döngü halinde tekrarlanması sonucunda, incelenmek istenen DNA bölgesi çoğaltılmış olur. Çalışmada PCR için uygulanan protokol Tablo 15’de verilmiştir (93-95). Kullandığımız primerlerin DNA’ya bağlanabilmesi için PCR sırasında, MnSOD (Ala-9 Val) gen için; F: 5'ACCAGCAGGCAGCTGGCGCCGG 3' R: 5'-GCGTTGATGTGAGGTTCCAG-3', GSH-Px3 gen aktivitesi F: 5'-GAAATCCCAGCCGCCTA-3' R: 5'-CACTCACCTTCGACTTCTCTTGCT-3', CAT gen aktivitesi için Antisense: 5-'AGAGCCTCGCCCCGCCGGACCG- 3' Sense: 5'-TAAGAGCTGAGAAAGCATAGCT- 3' için 37 ve 50 °C düzeyde ısıtma işlemi uygulandı. PCR profilinin birinci aşaması çift sarmal DNA moleküllerini denatüre etmek için yalnızca bir döngü olmak üzere 5 dakika 95 °C’de gerçekleştirildi. PCR profilinin ikinci aşaması 95 °C’de 1 dakika denatürasyon (melting), 61°C’de 2 dakika bağlanma ve 72 °C’de 2 dakika uzatma 35 döngü üzerinden gerçekleştirildi. Bu tür çalışmalar için yapılan PCR analizleri kalitatif amaçlı olarak yapıldığında ikinci segmentin döngü sayısı rutin olarak 35 olarak belirlendi. Bu sayıdaki döngüler ilgi duyulan genin transkriptlerini çoğaltmak için genellikle yeterlidir. Üçüncü aşama olan en son döngüdeki uzatma periyodu 72 °C’de 7 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi ve örnekler + 4 °C’ye kadar hızla soğutuldu.

PCR ile 100-2000 baz çifti arasındaki uzunluklar etkin bir şekilde amplifiye edilebilir. Amplifikasyonun döngü sayısı ve sarmallaşma derecesi, amplifiye olacak hedef DNA’ya kullanılan primerlere bağlıdır. Genellikle 50 ya da 100 µl’lik reaksiyon için yeterlidir. Doku yada diğer materyallerden DNA elde ederken, DNA’nın diğer protein yada doku artıklarından arındırılması gerekir. PCR işleminde yüksek kaliteli malzeme kullanılması ve deoksiribonükleotidlerin seçimi çok önemlidir. Denatürasyon ve bağlanma zamanı genellikle 30 saniye-1 dakika arasında tutulur. Sentez zamanı ise genellikle her bir kilo baz için 1 dakika civarındadır. PCR’ın en son döngüsünden sonra 12 dakikalık son ekstansiyon uygulanması ürünün miktarını artırır. Daha sonra bu PCR amplikonları agaroz jel elektroforezi ile analiz edilir. Genellikle total PCR ürününün %40’ı agaroz jel elektroforezinde koşular.

Agaroz jelin yüzdesi DNA fragmentlerinin beklenen hacimlerine göre belirlenir. PCR işleminin ardından hedef DNA bölgesinin amplifikasyonunun gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için jelde koşturulur. PCR ürünü jelde koşturulurken boyutunu belirleyebilmek için DNA boyut belirleyicisi (marker) kullanılması gerekir. PCR ürününün ilgili bölgesinin kesimi restriksiyon endonükleaz enzimi ile gerçekleştirildi.

**Tablo 15.** Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

Stok	25 µl için kullanılan	Son konsantrasyon
10XPCR buffer	5µl	1X
25mM MgSO <sub>4</sub>	5 µl	2.5 mM
25mM dNTP	4 µl	2.5 mM
Primer ‘‘ Sense’’ 20 ng/ 1µl	1 µl	20 pmol
Primer ‘‘Antisense’’ 20 ng/ 1µl	1 µl	20 pmol
Taq DNA polimeraz 5U/µl	0.2 µl	0.5 U
Genomik DNA	4 µl	100 ng
dH <sub>2</sub> O	10.8 µl	

**PCR cihazındaki işlemler:**

**Bağlanma derecesi 58 °C olan bir primer için örnek PCR:**

1. 94 °C 5 dakika
2. 94 °C 1 dakika
3. 58 °C 1 dakika
4. 72 °C 1 dakika
5. 2,3 ve 4. basamaklar 35 kez tekrarlanır.
6. 72 °C 12 dakika
7. +4 °C

**4.2.6. Deneylede Kullanılan Marker DNA’ları Hazırlanması:**

Deneyle boyunca iki DNA boyut marker kullanıldı. Bunlar 50 bç ve 100 bç’lik DNA markerleridir (Fermentas). Bunlardan ilki 50 ile 1000 baz çiftlik DNA’ların tanınmasına imkan sağlarken, ikincisi 100 ile 3000 baz çiftlik DNA oligonükleotidlerinin tanınmasına yardımcı olabilmektedir.

Agaroz jel elektroforezinde marker olarak kullanılmak üzere hazırlanan bir marker DNA şeması aşağıda verilmiştir (Tablo 16).

**Tablo 16.** DNA Boyut Marker Protokolü

Komponent	Jeller	
	Agaroz jel	Poliakrilamid jel
DNA boyut marker (0.5-1µg)	1-2 µl	1-2µl
6X Loading boya solüsyonu	1 µl	0.5µl
Deiyonize su	4 µl	1.5 µl

#### 4.2.7. Restriksiyon Enzimleri ve Modifikasyon Enzimleri

Mangan süperoksit dismutaz enziminin kesimi için kullanılan MroN I (NgoMIV) restriksiyon enzimi (Vivantis, Westbourne UK Ltd) (Total 5,000 U, 10,000 U/ml), GSH-Px3 için E.coli bakterisinden elde edilen Eco31I (Bsa I) restriksiyon endonükleaz enzimi (Fermantas UK) (Total 5,000 U, 10,000 U/ml), CAT enzimi için Sma I restriksiyon endonükleaz enzimi (Vivantis, Westbourne UK Ltd) (Total 5,000 U, 10,000 U/ml) firmalarından temin edildi. Bu enzimlerin kesme sekansları aşağıda gösterildiği gibidir:

##### **Mn-SOD için MroN I :**

5'...G<sup>▼</sup>CCGGC ...3'

3'...CGGCC<sup>▲</sup>G ...5'

##### **GSH-Px3 için Bsa I :**

5'...GGTCTC (N)<sub>1</sub><sup>▼</sup> ...3'

3'...CCAGAG (N)<sub>5</sub><sup>▲</sup> ...5'

##### **CAT için Sma I :**

5'...CCC<sup>▼</sup>GGG ...3'

3'...GGG <sup>▲</sup>CCC ...5'

Restriksiyon endonükleazlarla ilgili bu verilere internetteki <http://www.neb.uk.com>. adresinden ulaşmak mümkündür. Taq DNA polimeraz enzimi Promega firmasından satın alındı (Madison WI, USA) (Total 500 U, 5 U/µl). Deneilerde 25 µl master miks solüsyonunun içinde kullanılacak olan 10X buffer (50 mM KCL, 10 mM Tris HCl (pH 9), %0.1 triton X-100) ve 25 mM MgCl<sub>2</sub> çözeltileri enzimin ticari kutusunun içinde mevcuttu.

#### **4.2.8. Restriksiyon Enzimi ile DNA'nın Sindirim Analizi:**

Bu çalışmada üç polimorfik bölgenin incelenmesi planlanmaktadır. Bu bölgeler; Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT RFLP'dir. Bu gen bölgeleri sırasıyla MroN I, Bsa I ve Sma I restriksiyon enzimleri ile sindirildi. Bu işlemler için gerekli olan temel kurallar iki ayrı araştırmadan elde edildi (96, 97). Sindirim için gerekli olan stok tamponlar (10X) enzimlerle birlikte hazırlandı. Sindirim tamponunun içeriği şu şekilde idi: 50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 µg/ml Bovine Serum Albumin (BSA) ve %50 gliserol. Genel kural olarak her µg DNA için 1 ünite enzim kullanıldı.

Tamponların ve enzimlerin hacimleri en son hacmin %10'unun altında tutulmaya çalışıldı. Örneğin final hacim olarak 10 µl olan sindirim karışımının içinde maksimum 0.5 µl ve 2 µl tampon vardır. İnkübasyon sıcaklığı restriksiyon enziminin satın alındığı firmanın önerisine göre ayarlandı. MroN I ve Sma I için 37 °C, Bsa I için 50 °C olarak belirlendi. İnkübasyon zamanı MroN I ve Sma I restriksiyon enzimleri için 16 saat, Bsa I için 4 saat olarak belirlendi. Halihazırdaki bilinen sekans verileri ile belirlenen ve beklenen bantların hacimleri, bu çalışmada elde edilen bantların genişliği ile karşılaştırıldı. Beklenen fragmentler MroN I için 107 bç, 89 bç ve 18 bç, Bsa I için; 260 bç, 224 bç ve 36 bç, Sma I; 340 bç, 185 bç ve 155 bç'dir.

#### **4.2.9. TBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu Hazırlanması**

DNA jel elektroforezi Aaij ve arkadaşlarının metoduna göre (98) daha önce uygulandığı gibi yapıldı (99). Agaroz, sigma firmasından satın alındı (Sigma, Germany). Koşma tamponu olarak Tris-Borat-EDTA (TBE) tamponu (0.5X) kullanıldı. Bu tamponun stok şekli olan 5X tamponu şu şekilde hazırlandı: 54 gr TRIS-base, 27.5 gr borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA (pH 8) 1L distile ve deiyonize suda çözüldü.

#### **4.2.9.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:**

2 gr agaroz, TBE tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı ve kaynatılarak erimesi sağlandı. Tamamen homojen olması sağlanıp hafifçe karıştırılarak yaklaşık 65 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine 8 µl Etidium Bromid eklendi. Horizontal elektroforez tankına hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde jel döküldü. Kuyucukların oluşmasını sağlayan taraklar takıldı ve donmaya bırakıldı.

#### **4.2.9.2. Agaroz Jel Elektroforezi:**

Jel elektroforezini yapmak için horizontal tipte jel elektroforez sistemi kullanıldı (Electrophoresis box (Consort N.V.Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium). Elde edilecek bantların niteliği ve netliği için ön çalışma olarak PCR ürünleri ile değişik konsantrasyonlarda agaroz jeli kullanılarak elektroforez yapıldı (%2, %3, %4). Sonunda kullanılan jelin konsantrasyonu, mevcut analiz edilecek DNA'nın miktarına bağlı olmak üzere %2 olarak belirlendi. UV ışığında DNA fragmanlarını görmek için Ethidium bromide floresan boyası kullanıldı. Her 100 ml 0.5XTBE tamponu için, 5 µl hacimde, konsantrasyonu 10mg/ml olan Et/Br ilave edildi (jeldeki ve koşma tamponundaki final EtBr konsantrasyonu 0.5 µg/ml'dir). Jel üzerindeki kuyucuklara DNA'nın aplikasyonu için yükleme tamponu kullanıldı (%15 ficoll, %0.25 brom phenol blue (BPB), %0.25 xylene cyanole (XC) 100 ml su içerisinde çözüldü, 3'er ml'lik hacimlere (aliquot) ayrılarak deneylerde kullanıldı). Bu aplikasyon tamponunun oranı, mevcut çoğaltılacak PCR ürününün %10'unu geçmeyecek şekilde ayarlandı. Bunun için sindirim yapılmış DNA ürününe (total 25 µl) 2.5 µl boyalı tampon ilave edildi. Jeller oda sıcaklığında 100 Volt ve 50 miliamper (mAmp) sabit akımda 1 saat koşturuldu. Beklenen ürün boyutu 318 ve 240 bp'dir.

#### **4.2.10. Restriksiyon Endonükleaz Muamelesi ve Fotoğrafların Eldesi:**

**MroN I için:** 10 µl PCR ürünü, 2.5 µl 10XBuffer V1 Tamponu, 0.5 µl MroN I (Vivantis, Westbourne UK ltd) toplam volüm 20 µl'ye distile su ile tamamlandı ve 37 °C'de 16 saat bekletildi.

**Bsa I:** 10 µl PCR ürünü, 2.5 µl 10XBuffer G Tamponu, 0.5 µl Bsa I (Fermantas, UK ltd) toplam volüm 20 µl'ye distile su ile tamamlandı ve 50 °C'de 4 saat bekletildi.

**Sma I:** 10 µl PCR ürünü, 2.5 µl 10XBuffer V1 Tamponu, 0.5 µl Sma I (Vivantis, Westbourne UK Ltd) toplam volüm 20 µl'ye distile su ile tamamlandı ve 37 °C'de 16 saat bekletildi.

Daha sonra yeniden MroN I, Bsa I ve Sma I restriksiyon enzimleri ile muamele edilmiş PCR ürünleri yeniden %2'lik agaroz jelde koşturuldu. 100 Voltluk elektriksel alanda 1 saatlik koşturma işleminden sonra UV ışığı altında fotoğraflandı (ilgili okuma, kaydetme, fotoğraflama ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France).

MroN I; 107 bç, 89 bç ve 18 bç'lik, Bsa I; 260 bç, 224 bç ve 36 bç, Sma I; 340 bç, 185 bç ve 155 bç'lik restriksiyon enzim kesimlerinin jelde gözlemlenmesi hastanın heterozigot olduğunu, yalnız 89 bç ve 18 bç'lik; 224 bç ve 36 bç; 185bç ve 155 bç'lik iki ürünün gözlemlenmesi ise hastanın mutant olduğunu göstermektedir. Normal hastada görülen 107 bç, 260 bç ve 340 bç'lik restriksiyon enzim ürünü gerçek gen ürünüdür.

### **4.3. İSTATİSTİK ANALİZLER**

Sayısal değişkenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında Student-t testi kullanıldı. Hasta ve kontroller arasındaki allel, genotip ve haplotip dağılımlarındaki farklılıkların belirlenmesi Ki-kare ( $X^2$ ) veya Fisher's exact test ile yapıldı. Gruplar arasındaki parametrelerin karşılaştırılması t testine göre yapıldı ve aritmetik ortalamaları standart sapma ile gösterildi.  $p$  değerinin  $<0.001$ ,  $0.05$  olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Bütün istatistiksel testler, "SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 11.5, Inc, Chicago, IC, USA)" istatistiksel paket programı kullanılarak yapıldı.



## 5. BULGULAR

Çalışmaya alınan migren hastalarının ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 17’de sunulmuştur. Her iki grupta yaş ve cinsiyet farklılığı izlenmedi.

**Tablo 17.** Çalışma ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Dağılımları

	Hasta	Kontrol
<b>Yaş</b>		
min	22	23
max	45	38
ort	32.45±6.30	30.42±3.75
<b>Cinsiyet</b>		
Kadın	30	30
Erkek	10	10

Çalışmaya alınan 40 migrenli hastanın klinik ve demografik özellikleri ise Tablo 18’de sunulmuştur.

**Tablo 18.** Çalışmaya Alınan Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri

<b>Özellik</b>	<b>N</b>	<b>n (%)</b>
<b>Ağrı sıklığı (ayda)</b>		
2'den az	9	22.5
3-5	2	60
5'den fazla	7	17.5
<b>Ağrı süresi</b>		
4-12 saat	6	15
12-24 saat	17	42.5
24-72 saat	17	42.5
<b>Eşlik eden semptomlar</b>		
Bulantı	38	95
Kusma	17	42.5
Fotofobi	38	95
Fonofobi	35	87.5
Lakrimasyon	15	37.5
<b>Ağrı yerleşimi</b>		
Unilateral	23	57.5
Bilateral	14	35
Fokal	3	7.5
<b>Aura</b>		
Var	10	25
Yok	30	75
<b>Ağrı tetikleyiciler</b>		
Mens	25	62.5
Stres	40	100
Yiyecek	8	20
İklim	10	25
Koku	11	27.5
Açlık	35	87.5
<b>Kullanılan ilaçlar</b>		
Profilaktik tedavi	0	0
Atak tedavisi	40	100
<b>Aile öyküsü</b>		
Var	27	67.5
Yok	13	32.5
<b>Ağrı şiddeti</b>		
Günlük işlerini yapıyor	4	10
İşlerini yapamıyor, yatamıyor	16	40
Yatmak zorunda kalıyor	20	50

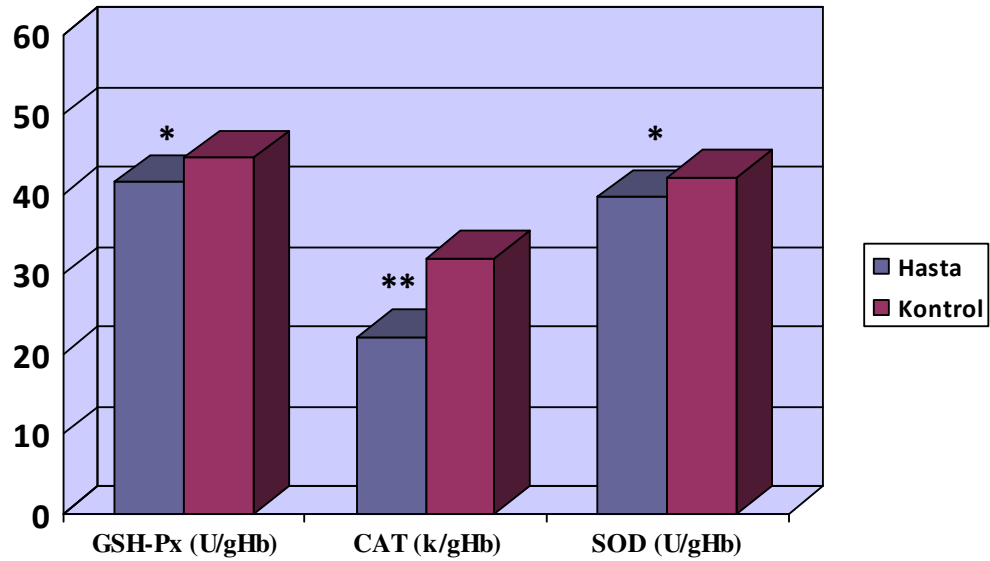
**5.1. Antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), Kan GSH ve Plazma MDA Düzeyleri:**

**5.1.1. Migrenli Hasta ve Kontrol Grubu Antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), Kan GSH ve Plazma MDA Düzeyleri:**

Çalışmaya alınan migren hastalarının ve kontrol grubunun MDA, GSH, GSH-Px, CAT ve SOD düzeyleri Tablo 19’da sunulmuştur.

**Tablo 19.** Hasta ve Kontrol Grubu MDA, GSH, GSH-Px, CAT ve SOD Enzim Düzeyleri

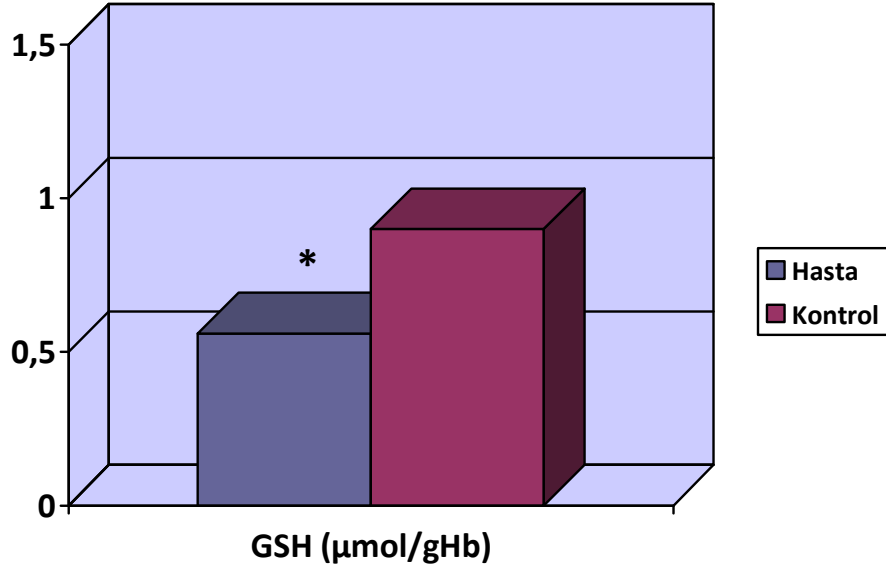
	<b>Hasta (n: 40)</b>	<b>Kontrol (n: 40)</b>	<b>p</b>
<b>MDA (nmol/ml)</b>	4.89 ± 1.21	5.20 ± 1.90	> 0.05
<b>GSH (µmol/gHb)</b>	0.56 ± 0.33	0.90 ± 0.41	< 0.001
<b>GSH-Px (U/gHb)</b>	41.56 ± 5.17	44.60 ± 5.96	0.017
<b>CAT (k/gHb)</b>	22.14 ± 7.07	31.98 ± 13.87	< 0.001
<b>SOD (U/gHb)</b>	39.67 ± 3.39	42.10 ± 3.99	0.04



**Şekil 3.** Hasta ve kontrol grubu GSH-Px, CAT ve SOD enzim düzeyleri.

\*: p<0.05; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

\*\* : p<0.001; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 4.** Hasta ve kontrol grubu glutatyon düzeyleri.

\*:  $p < 0.001$ ; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Migrenli hasta grubu plazma MDA düzeyleri ( $4.89 \pm 1.21$ ), kontrol grubu plazma MDA düzeyleri ( $5.20 \pm 1.90$ ) ile karşılaştırıldığında migrenli hasta grubu daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ).

Migrenli hasta grubu GSH düzeyleri ( $0.56 \pm 0.33$ ), kontrol grubu GSH düzeyleri ( $0.90 \pm 0.41$ ) ile karşılaştırıldığında migrenli hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p < 0.001$ ).

Migrenli hasta grubu GSH-Px düzeyleri ( $41.56 \pm 5.17$ ), kontrol grubu GSH-Px düzeyleri ( $44.60 \pm 5.96$ ) ile karşılaştırıldığında migrenli hasta grubunda daha düşük ve istatistiksel olarak düşük derecede anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

Migrenli hasta grubu CAT düzeyleri ( $22.14 \pm 7.07$ ), kontrol grubu CAT düzeyleri ( $31.98 \pm 13.87$ ) ile karşılaştırıldığında migrenli hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p < 0.001$ ).

Migrenli hasta grubu SOD düzeyleri ( $39.64 \pm 3.39$ ), kontrol grubu SOD düzeyleri ( $42.10 \pm 3.99$ ) ile karşılaştırıldığında migrenli hasta grubunda daha düşük ve istatistiksel olarak düşük derecede anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

**5.1.2. Migrenli Hasta Atak Dönemi ve Atak Dışı Dönemde Antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), Kan GSH ve Plazma MDA Düzeyleri:**

Çalışmaya alınan migren hastalarının atak dönemi ve atak dışı dönemde ölçülen MDA, GSH, GSH-Px, CAT ve SOD enzim düzeyleri ise Tablo 20'de sunulmuştur.

**Tablo 20.** Atak Dönemi ve Atak Dışı Dönem MDA, GSH, GSH-Px, CAT ve SOD Enzim Düzeyleri

	Atak dönemi	Atak dışı dönem	<i>p</i>
<b>MDA (nmol/ml)</b>	4.86 ± 0.80	4.89 ± 1.21	>0.05
<b>GSH (µmol/gHb)</b>	0.57 ± 0.23	0.56 ± 0.33	>0.05
<b>GSH-Px (U/gHb)</b>	39.87 ± 7.23	41.56 ± 5.17	>0.05
<b>CAT (k/gHb)</b>	22.76 ± 7.98	22.14 ± 7.07	>0.05
<b>SOD (U/gHb)</b>	39.33 ± 5.48	39.64 ± 3.39	>0.05

Migrenli hasta atak dönemi plazma MDA düzeyleri (4.86±0.80) ile atak dışı dönem plazma MDA düzeyleri (4.89±1.21) karşılaştırıldığında atak dönemi daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

Migrenli hasta atak dönemi GSH düzeyleri (0.57±0.23) ile atak dışı dönem GSH düzeyleri (0.56±0.33) karşılaştırıldığında atak dönemi daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

Migrenli hasta atak dönemi GSH-Px düzeyleri (39.87±7.23) ile atak dışı dönem GSH-Px düzeyleri (41.56±5.17) karşılaştırıldığında atak dönemi daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

Migrenli hasta atak dönemi CAT düzeyleri (22.76±7.98) ile atak dışı dönem CAT düzeyleri (22.14±7.07) karşılaştırıldığında atak dönemi daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

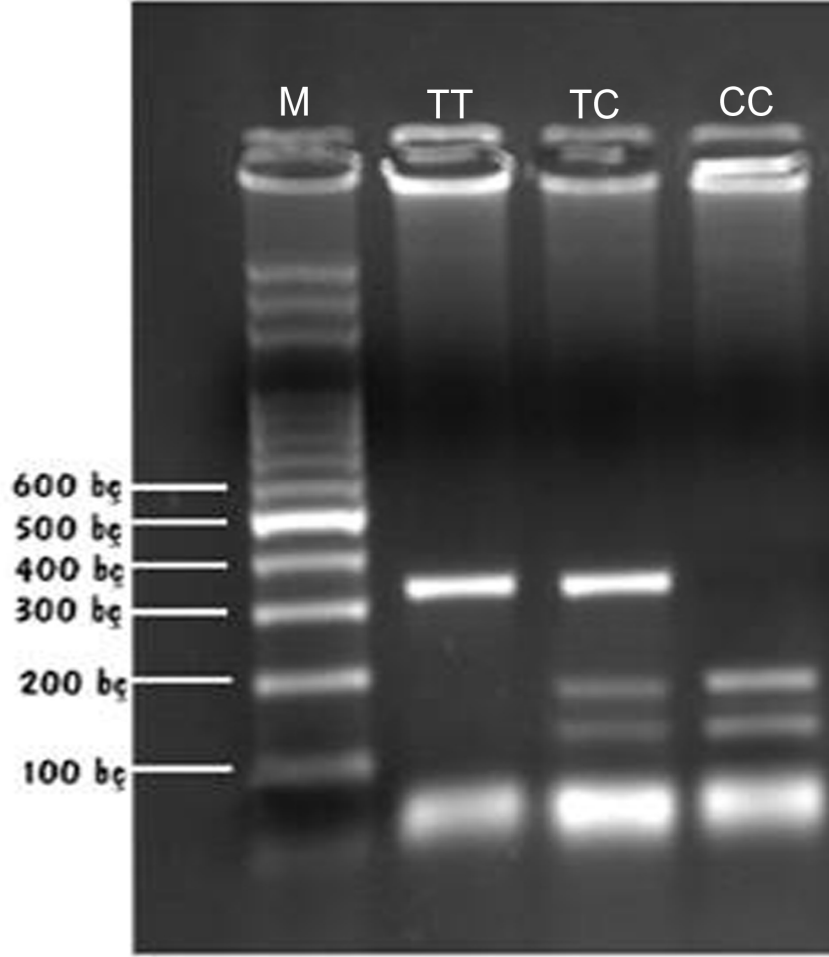
Migrenli hasta atak dönemi SOD düzeyleri (39.33±5.48) ile atak dışı dönem SOD düzeyleri (39.64±3.39) karşılaştırıldığında atak dönemi daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

## **5.2. Migrenli Hasta Kontrol Grubunda Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT RFLP'lerinin Genotip ve Allel İnsidansları:**

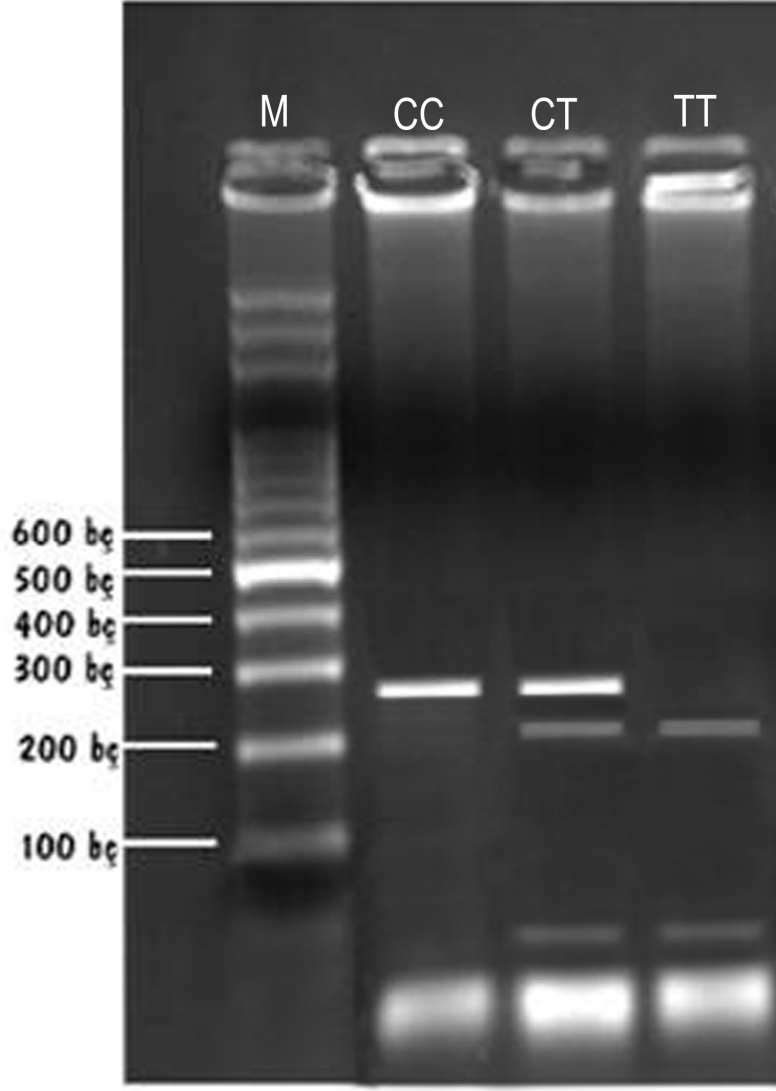
Bu çalışmada üç polimorfik bölgenin incelenmesi planlanmaktadır. Bu bölgeler; Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT RFLP'dir. Bu gen bölgeleri sırasıyla MroN I, Bsa I ve Sma I restriksiyon enzimleri ile sindirildi.

Mn-SOD, GPX-3 ve CAT RFLP'leri şu fragmentlere göre analiz edildi: Mn-SOD için MroN I; 107 bç, 89 bç ve 18 bç'lik, GSH-Px3 için Bsa I; 260 bç, 224 bç ve 36 bç, CAT için Sma I; 340 bç, 185 bç ve 155 bç'lik restriksiyon enzim kesimlerinin jelde gözlemlenmesi hastanın heterozigot olduğunu, yalnız 89 bç ve 18 bç'lik; 224 bç ve 36 bç; 185bç ve 155 bç'lik iki ürünün gözlemlenmesi ise hastanın mutant olduğunu göstermektedir. Normal hastada görülen 107 bç, 260 bç ve 340 bç'lik restriksiyon enzim ürünü gerçek gen ürünüdür.

Bireyler restriksiyon kalıplarına göre; CAT için TT , CC homozigotları ve TC heterozigotları üç farklı genotip oluşmaktadır (Şekil 5). GSH-Px3 için CC , TT homozigotları ve CT heterozigotları üç farklı genotip oluşmaktadır (Şekil 6). Mn-SOD için VVS, AA homozigotları ve VA heterozigotları üç farklı genotip oluşmaktadır (Şekil 7).

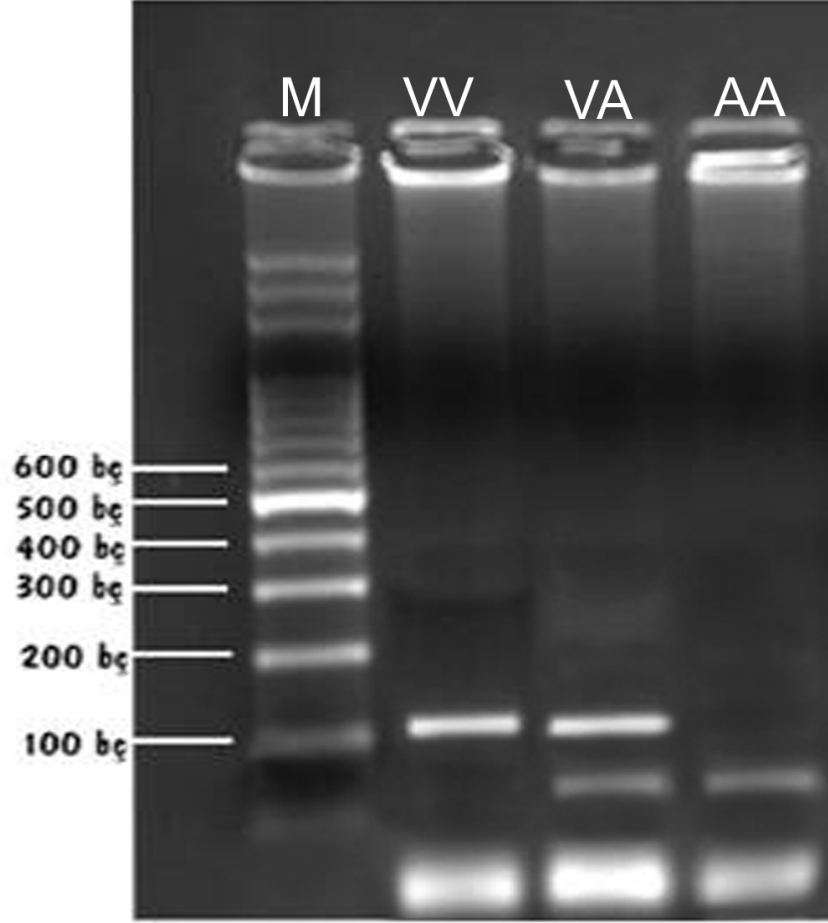


**Şekil 5.** CAT enzimi için Sma I restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri. Lane1: 100 bç'lik DNA boyut marker, Lane2: TT alleli Sma I restriksiyon bölgesini tanımaz. PCR ürünü 340 bç'dir. Homozigot allel, Lane 3: TC alleli 262 T varlığında SmaI restriksiyon bölgesini keser. 185 ve 155 bç uzunluğunda iki fragment oluşur. Heterozigot allel, Lane 4: CC alleli 262C varlığında SmaI restriksiyon bölgesini keser. PCR ürünü 155 bç'di. Homozigot hasta.



**Şekil 6.** GSH-Px3 için Eco31I (Bsa I) restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri. Lane1: 100 bç'lik DNA boyut marker, Lane2: CC alleli Bsa I restriksiyon bölgesini tanımaz. PCR ürünü 260 bç'dir. Homozigot allel, Lane 3: TC alleli 65 T varlığında Bsa I restriksiyon bölgesini keser. 224 ve 36 bç uzunluğunda iki fragment oluşur. Heterozigot allel, Lane 4: TT alleli 65T varlığında SmaI restriksiyon bölgesini keser. PCR ürünü 36 bç'di. Homozigot hasta.





**Şekil 7.** Mn SOD için MroN I (NgoMIV) restriksiyon enzimleri ile sindirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri. Lane1: 100 bç'lik DNA boyut marker, Lane2: VV alleli NgoMIV restriksiyon bölgesini tanımaz. PCR ürünü 107 bç'dir. Homozigot allel, Lane 3: VA alleli NgoMIV restriksiyon bölgesini keser. 107 ve 89 bç uzunluğunda iki fragment oluşur. Heterozigot allel, Lane 4: AA alleli NgoMIV restriksiyon bölgesini keser. PCR ürünü 18 bç'di. Homozigot hasta.

Migrenli hasta grubu ve kontrol grubu Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT RFLP'lerinin genotip sıklıkları Tablo 21'de gösterilmiştir.

Buna göre migrenli hasta grubunda Mn-SOD VV genotipi 11 bireyde (%27.5), Mn-SOD VA genotipi 28 bireyde (%70) ve Mn-SOD AA genotipi 1 bireyde (%2.5) tespit edilmiştir. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde; Mn-SOD VV genotipi 16 bireyde (%40), Mn-SOD VA genotipi 24 bireyde (%60) ve Mn-SOD AA genotipi 0 bireyde (%0) olarak tespit edilmiştir.

Migrenli hasta grubunda GSH-Px3 TT genotipi 12 bireyde (%30), GSH-Px3 TC genotipi 16 bireyde (%40) ve GSH-Px3 CC genotipi 12 bireyde (%30) tespit edilmiştir. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde; GSH-Px3 TT genotipi 3 bireyde (%7.5), GSH-Px3 TC genotipi 18 bireyde (%45) ve GSH-Px3 CC genotipi 19 bireyde (%47.5) olarak tespit edilmiştir.

Migrenli hasta grubunda CAT TT genotipi 18 bireyde (%45), CAT TC genotipi 10 bireyde (%25) ve CAT CC genotipi 12 bireyde (%30) tespit edilmiştir. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde; CAT TT genotipi 20 bireyde (%50), CAT TC genotipi 6 bireyde (%15) ve CAT CC genotipi 14 bireyde (%35) olarak tespit edilmiştir.

GSH-Px3 için her bir genotip hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenirken ( $p < 0.05$ ), Mn-SOD ve CAT için anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 21.** Migrenli Hasta ve Kontrol Grubunda Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT Gen Polimorfizmlerinin Genotip Dağılımı

<b>GENOTİPLER</b>									
<b>Mn-SOD</b>									
	<b>VV</b>		<b>VA</b>		<b>AA</b>		<b>Toplam</b>		
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>p</b>	
Hasta	11	27.5	28	70.0	1	2.5	40	0.327	
Kontrol	16	40	24	60.0	0	0	40		
<b>GSH-Px3</b>									
	<b>TT</b>		<b>TC</b>		<b>CC</b>		<b>Toplam</b>		
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>p</b>	
Hasta	12	30	16	40	12	30	40	0.029	
Kontrol	3	7.5	18	45	19	47.5	40		
<b>CAT</b>									
	<b>TT</b>		<b>TC</b>		<b>CC</b>		<b>Toplam</b>		
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>p</b>	
Hasta	18	45.0	10	25.0	12	30.0	40	0.533	
Kontrol	20	50.0	6	15.0	14	35.0	40		

Migrenli hasta ve kontrol gruplarında Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT RFLP'lerinin allel insidansları Tablo 22'de gösterilmiştir. Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT polimorfizmlerinde allel sıklıkları incelendiğinde; gruplar arasında allel sıklıkları açısından anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlendi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 22.** Migrenli Hasta ve Kontrol Grubunda Mn-SOD, GSH-Px3 ve CAT Gen Polimorfizmlerinin Allel Dağılımı

		Allel Sıklıkları		<i>P</i>
<b>Allel Mn-SOD</b>		<b>Val</b>	<b>Ala</b>	
Hasta		0.625	0.000	<i>p&gt;0.05</i>
Kontrol		0.7	0.6	
<b>Allel GSHPx-3</b>		<b>C</b>	<b>T</b>	
Hasta		0.5	0.5	<i>p&gt;0.05</i>
Kontrol		0.3	0.7	
<b>Allel CAT</b>		<b>C</b>	<b>T</b>	
Hasta		0.6	0.4	<i>p&gt;0.05</i>
Kontrol		0.6	0.4	

## 6. TARTIŞMA

Baş ağrılarının büyük bir bölümünü primer baş ağrıları grubu içinde yer alan gerilim tipi baş ağrısı ve migren oluşturur. Primer baş ağrıları içinde ikinci sıklıkta görülen migren etyopatogenezi halen açıklanamamıştır. Kanser, ateroskleroz, diyabet, iskem/reperfüzyon hasarı, epilepsi, Parkinson hastalığı, serebral iskem, Alzheimer hastalığı gibi pek çok hastalığın etyopatogenezinde rol oynadığı tespit edilen oksidatif stresin migren patogenezinde de rol oynayabileceği konusu son yıllarda araştırılmaktadır.

Migren patogenezini aydınlatmaya yönelik uzun yıllardır yapılmış çalışmalar sonucunda ağrının temel mekanizmaları ortaya konulmuş ve trigeminovasküler sistem ile ağrıya eşlik eden periferik mekanizmalar tanımlanmaya çalışılmıştır. Migren baş ağrısı, genetik yatkınlığı olan bireylerde endojen ve/veya eksojen faktörlerle tetiklenen nöronal-vasküler olaylar zinciri sonucunda ortaya çıkmaktadır (100). Daha önceleri kranial damarlardaki vazospazm ve vazodilatasyon ile migren semptomlarının ortaya çıktığı öne sürülürken son yıllarda ön plana çıkan nörovasküler teoriye göre migren baş ağrısında nöronal aktivasyona ikincil olarak vasküler değişiklikler olduğu düşünülmektedir (101, 102).

Serbest radikal oluşumunun antioksidan kapasiteyi aştığı durumlarda ortaya çıkan oksidatif stres, biyolojik sistemlerde başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenebilen bütün hücresel elemanlar üzerinde zararlı etkilere yol açarlar. Merkezi sinir sistemi bu hasara diğer dokulardan daha yatkındır. Bunun nedenleri aşağıdaki maddeler halinde açıklanmıştır: **a)** oksidatif metabolik aktivitenin hızının yüksek olması, **b)** membran lipitlerinden olan çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleri gibi kolaylıkla okside olabilen substratların beyinde fazla olması, **c)** CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktivite olarak beyinde daha düşük düzeylerde olması, **d)** aksonların morfolojik yapısının periferal hasara yatkın olması ve nöronların bölünmelerini doğuştan tamamlamış olmalarından dolayı hasar durumlarında hücrenin kendini yenileyememesidir (32). Serbest radikal oluşumundan hücresel düzeyde en fazla zarar gören kısım membran lipitleridir ve lipid peroksidasyonu denilen kimyasal olay sonucunda ortaya çıkan son ürün olan MDA aktif bir moleküldür. Oluşan MDA; membran fonksiyonlarında bozulma, membran akışkanlığında azalma, membrana bağlı mediatör ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açmaktadır (103).

Ayrıca lipid peroksidasyon ürünleri, lipooksijenaz aktivasyonu ve prostasiklin inhibisyonu ile trombosit ve lökositlerde prostasiklin/tromboksan yolunda dengesizliğe yol açarlar. Böylece lökotrienler stimüle edilerek ağrılı inflamatuvar reaksiyonlar başlatılmış olur (104). Migren atağı sırasında serebral kan dolaşımında olduğu düşünülen trombosit agregasyonu, etyopatogeneizde önemli bir mekanizma olan fokal serebral hipoksi sebebi olabilir (105). Sonuç olarak, lipid peroksidasyonunun trombosit fonksiyonlarında değişiklik, prostaglandin salınımı ve serebral kan akımı azalması üzerinden migren patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Migrende trombosit fonksiyonları ile ilgili yapılan pek çok çalışmada elde edilmiş farklı sonuçlar mevcuttur. Steinef ve ark. migrenin trombosit hastalığı olmadığını iddia ederken (106), Hannigton yaptığı çalışmalarda trombosit sekresyon, agregasyon ve kompozisyonunda farklılıklar olduğunu öne sürmüştür (107). Tozzi-Ciancarelli ve ark. intratrombosit kalsiyumdaki düşüşün trombosit cevabında azalmaya neden olduğunu, bunun da lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan membran defektiyle ilişkili olabileceğini bildirmiştir (62).

Lipid peroksidasyonu-migren ilişkisinin ortaya çıkarılması, araştırmacıları migrenli hastalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin, serbest radikallerin ve antioksidan enzim düzeylerinin ölçülmesi yönünde çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Migren hastalarında oksidan/antioksidan sistemde meydana gelen dengesizliklerin migren etyopatogenezinde önemli rol oynadıkları hipotezi bu çalışmanın ana fikrini oluşturmaktadır.

Yılmaz ve ark. migrenli hastalarda oksidatif stresin etkilerini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada plazmada MDA, tiyol grupları, ürik asit, albümin ve bilirubin düzeylerini ölçmüşler ve ataklar arası dönemde plazma MDA düzeyini migren hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulmuşlardır ( $p=0.001$ ). Ancak atak dönemindeki migren hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunamamıştır (108). Tozzi ve ark. yapmış olduğu çalışmada kontrol grubuna göre ataklar arası dönemde yüksek MDA düzeyleri tespit etmişlerdir (62). 2003 yılında Ciancarelli ve ark. Migren hastalarında lipid peroksidasyon ürünü olarak tiyobarbitürik asid reaktif maddeler (TBARS) düzeyini atak döneminde ataklar arası döneme göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (109). Yine Erdal ve ark.'nın migrenli hastalarda atak ve atak dışı dönemde serum TBARS düzeyine baktıkları çalışmada kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak bulmuşlardır (61).

Biz bu çalışmada, 40 migrenli hastanın atak-atak dışı dönemdeki antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT ve SOD), kan GSH ve plazma MDA düzeylerini kendi aralarında ve eşit yaş-cinste sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık. Yapmış olduğumuz ölçümlerde bu literatürlerden farklı olarak plazma MDA düzeyinde migrenli hasta ve kontrol grubu arasında ve migrenli hastalarda atak-atak dışı dönem arasında istatistiksel olarak fark saptamadık ( $p>0.05$ ). Bu durum migrenli hastaların hastalık süresi, atak sıklığı ve atak süresi gibi klinik ve demografik özellikleri ile ilişkisi olabilir. Ancak Matteis ve arkadaşlarının yaptığı aurasız migren hastalarında ataklar arası dönemdeki MDA düzeyi ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar saptayamadıkları çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla paraleldir (110).

Ayrıca çalışmamızın biyokimyasal analizler kısmında hasta ve kontrol grubu kan örneklerinde antioksidan enzim düzeyleri de ölçüldü. Bu konu ile ilgili olarak migrenli hastalarda düşük antioksidan enzim düzeylerinin tespit edildiği çalışmalar mevcuttur. Shimomura ve ark. platelet SOD düzeyinin auralı migren grubunda diğer gruplara göre (aurasız migren, gerilim tipi baş ağrısı, kontrol grubu) anlamlı olarak düşük olduğunu gösterdi (59). Bolayir ve ark. da yaptıkları çalışmada, migren hastalarında SOD ve GSH-Px düzeylerini kontrol grubu ve gerilim tipi baş ağrısına göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır (58) Erdal ve ark. ekstraselüler antioksidan olan ürik asit düzeyini, atak döneminde atak dışı döneme göre ileri derecede anlamlı düşük bulmuştur (61). Bizde antioksidan enzimlerin (GSH-Px, CAT ve SOD) ve kan GSH düzeylerinin migren hastalarının atak-atak dışı dönemi ile kontrol grubu arasında karşılaştırdığımız çalışmamızda migren hastaları ile kontrol grubu arasında, istatistiksel olarak anlamlı düşüklük tespit ettik (GSH ve CAT için  $p<0.001$ , GSH-Px için  $p=0.017$ , SOD için  $p=0.04$ ). Ancak migren hastalarının atak ve atak dışı dönemi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p>0.05$ ).

Biz migren hastalarında biyokimyasal analizler sonucu antioksidan enzim düzeylerinde sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit ettik. Bundan dolayı bu enzimlerin migren etyopatogenezinde katkısının olup olmadığını ortaya koymak için bu enzimlerin polimorfik durumlar açısından incelenmesini uygun bulduk. Migren etyopatogenezinde oksidatif stresin rolü olduğuna dair yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Bu açıdan antioksidan enzimlerden olan CAT, GSH-Px3 ve Mn-SOD ile beraber polimorfizm açısından değerlendirilmesi migren hastalarında varlığı kesine yakın bir gerçeklikle bilinen oksidatif stresin kaynağının aydınlatılması açısından önemlidir.

Antioksidan enzim-gen polimorfizmi ile ilgili çeşitli hastalıklarda yapılmış çalışmalar mevcuttur. Şizofreni hastalığı ile ilgili olarak yapılan çalışmada Mn-SOD genindeki ala-9val polimorfizminin etyopatogeneze rol oynadığı bildirilmişken (111), GSH-Px1 geni pro197leu polimorfizmi ile şizofreni hastalığı arasında ilişki bulunamamıştır (112). Yine GSH-Px1 geni ile polimorfizmi ile akciğer ve meme kanserinde risk artışı olduğu gösteren çalışmalar mevcuttur (113, 114). Ayrıca Rus populasyonunda Tip I diabetes mellituslu hastalarda Mn-SOD geni polimorfizmi ile diyabetik nefropati arasındaki ilişki bulunmuştur (115). Ancak migren hastalarında antioksidan enzim genlerine ait polimorfizmler henüz çalışılmamıştır.

Çalışmamızda migren hastalarında vücuttaki önemli antioksidan enzimlerden CAT, Mn-SOD ve GSH-Px3 genlerinin polimorfizmi sağlıklı kontrol bireyleri ile karşılaştırılmalı olarak araştırıldı. Elde ettiğimiz verilere göre 40 bireyden oluşan migren hasta grubunda Mn-SOD VV genotipi 11 bireyde, Mn-SOD VA genotipi 28 bireyde ve Mn-SOD AA genotipi 1 bireyde tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise Mn-SOD VV genotipi 16 bireyde, Mn-SOD VA genotipi 24 bireyde ve Mn-SOD AA genotipi 0 bireyde tespit edilmiştir. Migrenli hasta grubunda GSH-Px3 TT genotipi 12 bireyde, GSH-Px3 TC genotipi 16 bireyde ve GSH-Px3 CC genotipi 12 bireyde tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise GSH-Px3 TT genotipi 3 bireyde, GSH-Px3 TC genotipi 18 bireyde ve GSH-Px3 CC genotipi 19 bireyde olarak tespit edilmiştir. Migrenli hasta grubunda CAT TT genotipi 18 bireyde, CAT TC genotipi 10 bireyde ve CAT CC genotipi 12 bireyde tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise CAT TT genotipi 20 bireyde, CAT TC genotipi 6 bireyde ve CAT CC genotipi 14 bireyde olarak tespit edilmiştir. GSH-Px3 için her bir genotip hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenirken ( $p < 0.05$ ), Mn-SOD ve CAT için anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi ( $p > 0.05$ ).

Allel sıklıkları incelendiğinde ise, Mn-SOD valin allelinin frekansı hasta grubunda 0.625 ve kontrol grubunda 0.7 olarak, alanin allelinin frekansı ise hasta grubunda 0.000 ve kontrol grubunda 0.6 olarak bulundu. GSH-Px3 C allelinin frekansı hasta grubunda 0.5 ve kontrol grubunda 0.3 olarak, T allelinin frekansı ise hasta grubunda 0.5 ve kontrol grubunda 0.7 olarak bulundu. CAT C allelinin frekansı hasta grubunda 0.6 ve kontrol grubunda 0.6 olarak, T allelinin frekansı ise hasta grubunda 0.4 ve kontrol grubunda 0.4 olarak bulundu. Allel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grubu bireyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0.05$ ).



Ancak Mn-SOD alanin allel frekansı hasta grubunda 0.000, kontrol grubunda 0.6 olarak bulundu. Alanin allel sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında rakamsal olarak farklılık saptansa da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

40 migrenli hastada moleküler düzeyde yapmış olduğumuz çalışmada Mn-SOD, CAT gen polimorfizmi ile migren arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır. Ancak GSH-Px3 polimorfizminin migren etyopatogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Mn-SOD, CAT ile ilgili yapılan çalışmanın sonucunda olumlu bir sonuca ulaşılmamış olması bu enzimlerle ilgili yapılacak çalışmaları etkilememelidir. İstatistiksel veriler açısından çalışmamızın genetik incelemeler bölümünde en önemli kısıtlayıcı faktör kısıtlı maddi imkanlardan dolayı hasta sayısının az tuttuğumuz çalışmamızda; hasta ve kontrol grubunun daha fazla sayıda olduğu geniş popülasyonlu yeni araştırmalar yapılması konuya daha fazla ışık tutacaktır. Biyokimyasal analizlerimiz sonucu migren hastalarında tespit ettiğimiz antioksidan enzim seviyelerindeki düşüklük, migren hastalarında tedavilerine ek olarak antioksidan vitaminlerin kullanılması düşüncesini aklımıza getirmektedir.

Çalışmamızda elde edilen verilerin ileri aşamada bu üç gen polimorfizmi bulunan hastalarda uygulanacak tedavi protokolüne ışık tutacağına; ülke ve kişisel temelde sosyal ve ekonomik boyutunun hafifletilmesi yanında hastaların yaşam kalitelerine olumlu katkı sağlayacağına inanmaktayız. Çünkü migren, sağlık giderlerinin artmasının yanı sıra ataklar sırasında işgücü kaybına da neden olmaktadır. Bu nedenle migrenin etyopatogenezinin anlaşılması ve etkin tedavisi bu hastalığın hastalar ve toplum üzerindeki yükünü azaltacaktır. Ayrıca migren etyopatogenezinin aydınlatılmasına yönelik moleküler genetik boyutta sağlanacak önemli katkının hem benzer çalışmalara hem de gelecek çalışmalara ışık tutacaktır. Araştırma konusuna ilişkin biyokimyasal analizler açısından sınırlı sayıda literatür kaynağı mevcut olmasına rağmen, genetik incelemeye yönelik herhangi bir kaynak bulunmamaktadır.

Bu nedenle konunun daha geniş sayıda bilimsel çalışma ile desteklenmesi gerekmektedir. Migren patofizyolojisinin bilinmesi, migren tedavisi (profilaksi ve atak) için gereklidir. Migren patogenezinin oksidatif stres ve antioksidan enzimlerle ilişkisi ve moleküler genetik boyutunun aydınlatılmasında bu çalışma bilimsel düzeyde anlamlı katkı sağlayacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Lance JW. Current concepts of migraine pathogenesis, *Neurology* 1993; 43: 11-15.
2. Oğuzhanoğlu A. Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflaması 2.basım. Türk Nöroloji Derneği Yayınları 2005, 26-27.
3. Pietrobon D. Migraine: New Molecular Mechanisms. *The Neuroscientist*, 2005; 11: 373-386.
4. The Turkish Headache Epidemiology Study Group. An epidemiologic study of headache in Turkey: a nationwide survey. *Neurology*. 1998; 50: A225.
5. Yaltkaya K, Balkan S, Oğuz Y. Nöroloji Ders Kitabı; Palme Yayıncılık, Ankara 1994; 251-268.
6. Wolff HG. Headache and other head pain. 1963; 50-55.
7. Silberstein SD, Lipton RB, Goodsby PJ. (Ed). *Headache in Clinical Practice*: Isis Medical Media press 1998: 1-89.
8. Pietrobon D, Striessnig J. Neurobiology of migraine. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4: 386-398.
9. Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain*.1994; 117: 199-210.
10. Siva A. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri; baş, boyun, bel ağrıları sempozyumu dizisi. 2002; 30: 39-50.
11. Ertaş M, Akman G. Klinik Uygulamada Baş Ağrısı. *Yelkovan yayıncılık* 2004; 2: 69-75.
12. Iberstein SD. Migraine symptoms: result of a survey of self-reported migraineurs. *Headache* 1995; 35: 387-396.
13. Olesen J, Lipton RB. Migraine classification and diagnosis. *International Headache Society. Neurology* 1994; 44: 6-10.

14. Headache Classification Committee of the International Headache Society: Classification and Diagnostic Criteria for Headache Disorders, Cranial Neuralgias and Facial Pain. *Cephalalgia* 1988; 8: 9-96.
15. Göbel H. Classification of Headaches *Cephalalgia* 2001; 21: 770-773.
16. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders, 2nd edn. *Cephalalgia* 2004; 24: 1-160.
17. Isle H. Chapter 1: Historical Background. Olesen J, Hensen PT, Ed.: Welch KMA: The Headaches, New York 1993: Raven Pres, 1-8.
18. Ertaş M, Akman G. Klinik Uygulamada Baş Ağrısı. Yelkovan yayıncılık 2004; 2: 82-98.
19. Humphrey PPA, Feniuk W. Mode of action of the antimigraine drug sumatriptan. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 444-446.
20. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri 1. Baskı, Konya. Mimoza Yayınları; 1995.
21. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
22. Sies H. Oxidative stres: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-295.
23. Kovacic P, Jacintho JD. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem* 2001; 8: 773–796.
24. Valko M, Morris H, Mazur M, Raptap P, Bilton RF. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer? *Biochim Biophys Acta* 2001; 1527: 161–166.
25. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci* 1991; 48: 301–309.
26. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481–493.

27. Miller DM, Buettner GR, Aust SD. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 95–108.
28. Altıntaş S. Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik asit, glutatyon, plazma nitric oksit ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 2006.
29. Brent JA, Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. II. Are free radicals the cause of toxin-induced liver injury? *J Toxicol Clin Toxicol* 1993; 31: 173–196.
30. Barber D, Harris S. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994; NS34: 26–35.
31. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176–186.
32. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993; 49: 577-587
33. Hochs P. and Utley H. Hydrogen peroxide detoxication by glutathione peroxidase and catalase in rat liver homogenates. *Mol. Pharmacol.* 1968; 4: 574.
34. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 9: 1-8.
35. Brody EJ. The destructive potential of free oxygen radicals. *International Herald Tribune* 1988; 2: 4-5.
36. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *A. J. Med.* 1991; 91: 14-21.
37. Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J* 1998; 135:115.
38. Demple B. and Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: Enzymology and Biology. *Annu. Rev. Biochem.* 1994; 63: 915-948.

39. Ward JF. Molecular mechanism of radiation-induced damage to nucleic acids. *Adv. Radiat. Biol.* 1977; 5: 181.
40. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60: 2255–2271.
41. Sardesai VM. Role of antioxidants in health maintenance. *Nutr Clin Pract* 1995; 10: 19-25
42. Engin A, Altan N, Işık E. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. *Drugs RD.* 2005; 6: 35-40.
43. Hasanoğlu E, Altan N, Sindel P, Ongun CÖ, Bali M, Altıntaş E. The relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma levels of some trace elements (Al,Cu,Zn) of dialysis patients. *General Pharmacology* 1994; 25, 107-110.
44. Özenirler S, Tuncer C, Ongun CÖ, Altan N, Kandilci U. Activity of superoxide dismutase in erythrocyte of nonalcoholic chronic liver diseases. *General Pharmacology* 1994; 25: 1349-1351.
45. Nalçacı E. Kan-beyin bariyerinin yıkılışında serbest oksijen radikallerinin rolü. *Uzmanlık Tezi* , Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 1991.
46. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A, Motchnik PA, Packer L, Halliwell B. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992; 286: 607–611.
47. Repine JE, Bast A. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 341–357.
48. Granot E, Kohen R. Oxidative stress in childhood--in health and disease states. *Clin Nutr* 2004; 23: 3–11.
49. Ball SS, Weindruch R, Walford RL. Free radicals, ageing and degenerative diseases. In: Johnson Jr JE, Walford R, Harman D, Miquel J, Alan R (eds). *Antioxidants and the Immune Process*. New York: Liss, 1996: 427–456.

50. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003; 17: 1195-1214.
51. Evans MD., Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays* 2004; 26: 533-542.
52. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd edn. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
53. Volicer L, Crino PB. Involvement of free radicals in dementia of the Alzheimer type: a hypothesis. *Neurobiol Aging.* 1990; 11: 567-571.
54. Zaman Z, Roche S, Fielden P, Frost PG, Niriella DC, Cayley AC. Plasma concentrations of vitamins A and E and carotenoids in Alzheimer's disease. *Age Ageing.* 1992; 21: 91-94.
55. Kedziora J, Bartosz G. Down's syndrome: a pathology involving the lack of balance of reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med.* 1988; 4: 317-330.
56. Adams JD Jr, Odunze IN. Oxygen free radicals and Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med.* 1991; 10: 161-169.
57. Yilmaz G, Sürer H, Inan LE, Coskun O, Yücel D. Increased nitrosative and oxidative stress in platelets of migraine patients. *Tohoku J Exp Med.* 2007; 211: 23-30.
58. Bolayir E, Celik K, Kugu N, Yilmaz A, Topaktas S, Bakir S. Intraerythrocyte antioxidant enzyme activities in migraine and tension-type headaches. *J Chin Med Assoc.* 2004; 67: 263-267.
59. Shimomura T, Kowa H, Nakano T, Kitano A, Marukawa H, Urakami K, Takahashi K. Platelet superoxide dismutase in migraine and tension-type headache. *Cephalalgia.* 1994; 14: 215-218.
60. Shukla R, Barthwal MK, Srivastava N, Sharma P, Raghavan SA, Nag D, Srimal RC, Seth PK, Dikshit M. Neutrophil-free radical generation and enzymatic antioxidants in migraine patients. *Cephalalgia.* 2004; 24: 37-43.

61. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, Baybaş S. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi . *Düşünen Adam: Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi* 2005; 18: 129-135.
62. Tozzi-Ciancarelli MG, De Matteis G, Di Massimo C, Marini C, Ciancarelli I, Carolei A. Oxidative stress and platelet responsiveness in migraine. *Cephalalgia*. 1997; 17: 580-584.
63. Rhee GY, Bush B, Bethoney CM, DeNucci A, Oh HM, Sokol RC. Reductive dechlorination of Arocolor 1242 in anaerobic sediments: pattern, rate and concentration dependence. *Environ Toxicol Chem*. 1993; 12: 1025-1032.
64. Mayes PA. Biologic oxidantion. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds). *Harper's Biochemistry*, 25th edn. London: Appleton-Lange 2000; 130–137.
65. Feeney L, Berman ER. Oxygen toxicity: Membrane damage by free radicals. *Invest Ophthalmol*. 1976; 15: 789-792.
66. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Sa-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1994; 17: 235-248.
67. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary MD, Remacle J. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev* 1990; 15;51: 283-297.
68. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986; 11: 59–76.
69. Altan N, Altan M, Mikolay L, Schwartz CFW. Insulin-like and insulin enhancing effects of the sulfonylurea glyburide on rat adipose glycogen synthase. *Diabetes*. 1985; 34: 281-286.
70. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 153–165.
71. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1–15.

72. Akın H. Tıbbi Genetik Terimleri Sözlüğü. “Tıp Terimleri Sözlüğü”, Sendrom III, Logos Tıp Yayınları 2003:1-24.
73. Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res.* 1998; 8: 1229-1231.
74. Kruglyak L. The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. *Nat Genet* 1997; 17: 21-24.
75. Shen P, Buchholz M, Sung R, Roxas A, Franco C, Yang WH, Jagadeesan R, Davis K, Oefner PJ. Population genetic implications from DNA polymorphism in random human genomic sequences. *Hum Mutat* 2002; 20: 209-217.
76. Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ.* 1995; 26; 311: 541-544.
77. Ertaş M, Akman G. Klinik Uygulamada Baş Ağrısı. *Yelkovan yayıncılık* 2004; 1: 29-30.
78. Nyholt DR, Dawkins JL, Brimage PJ, Goadsby PJ, Nicholson GA, Griffiths LR. Evidence for an X-linked genetic component in familial typical migraine. *Hum Mol Genet.* 1998; 7: 459-463.
79. Griffiths LR, Nyholt DR, Curtain RP, Goadsby PJ, Brimage PJ. Migraine association and linkage studies of an endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphism. *Neurology.* 1997; 49: 614-617.
80. Nyholt DR, Curtain RP, Gaffney PT, Brimage P, Goadsby PJ, Griffiths LR. Migraine association and linkage analyses of the human 5-hydroxytryptamine (5HT2A) receptor gene. *Cephalalgia.* 1996; 16: 463-467.
81. Creagan R, Tischfield J, Ricciuti F, Ruddle FH. Chromosome assignments of genes in man using mouse-human somatic cell hybrids: mitochondrial superoxide dismutase (indophenol oxidase-B, tetrameric) to chromosome 6. *Humangenetik.* 1973; 10; 20: 203-219.
82. Church SL, Grant JW, Meese EU, Trent JM. Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (MnSOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid mapping. *Genomics.* 1992; 14: 823-825.



83. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys.* 2001; 1; 389: 84-93.
84. Quan F, Korneluk RG, Tropak MB, Gravel RA. Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res.* 1986; 11; 14: 5321-5335.
85. Biros E, Kalina I, Biros I, Kohut A, Bogyiova E, Salagovic J, Stubna J. Polymorphism of the p53 gene within the codon 72 in lung cancer patients. *Neoplasma* 2001; 48: 407-411.
86. Miller S, Dykes D, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1215.
87. Beutler E. Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods.* New York: Grune Strottan. 1975; 67-69.
88. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry.* WB. Saunders Company, Philadelphia. 1986; 1532-1534.
89. Sun Yi, Oberley WL, and Li Y. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin. Chem.* 1988; 34: 497-500.
90. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU. Ed. *Methods in Enzymatic Analysis.* New York: Academic Press 1983, 276-286.
91. Placer ZA, Cushman L, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1966; 16: 359-364.
92. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood. Glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 1963; 882-888.
93. Kiyohara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S, Hopkin JM. Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. *Lung Cancer* 2002; 37: 241-256.
94. Sjaˆlander A, Birgander R, Kivelaˆ A, Beckman G. p53 polymorphisms and haplotypes in different ethnic groups. *Hum Hered* 1995; 45: 144-149.

95. Wang-Gohrke S, Rebbeck TR, Besenfelder W, Kreienberg R, Runnebaum IB. p53 germline polymorphisms are associated with an increased risk for breast cancer in German women. *Anticancer Res* 1998, 18: 2095-2100.
96. Ausubel FA, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K (Eds) "Current Protocols in Molecular Biology". John Wiley and Sons 1989; New York.
97. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis M. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press 2002; Cold Spring Harbor, New York.
98. Aaij C, Borst P. The gel electrophoresis of DNA. *Biochim Biophys Acta* 1972; 269: 192-200.
99. Canatan H. Molecular analysis of keratinocyte growth factor (KGF) involvement in prostatic cell growth: paracrine role of KGF in canine prostate model. Doktora tezi, The Ohio State University, 1997.
100. İrkeç C. Migren ve immün Sistem. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Cilt:1, Sayı:2, 2003; 124-126.*
101. Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD., Migraine--current understanding and treatment. *N Engl J Med.* 2002; 24; 346: 257-270.
102. Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med.* 2002; 8: 136-142.
103. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982; 47: 412-426.
104. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-1828.
105. Appenzeller O. Pathogenesis of migraine. *Med Clin North Am.* 1991; 75: 763-789.

106. Steiner TJ, Joseph R, Rose FC. Migraine is not a platelet disorder. *Headache*. 1985; 25: 434-440.
107. Hanington E. The platelet and migraine. *Headache*. 1986; 26: 411-415.
108. Yılmaz G, Sürer H, Üçler S, İnan L, Yücel D. Plasma malondialdehyde levels in migraine with and without aura. *T Klin J Med Sci* 2004; 24: 309-315.
109. Ciancarelli I, Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Marini C, Carolei A. Urinary nitric oxide metabolites and lipid peroxidation by-products in migraine. *Cephalalgia*. 2003; 23: 39-42.
110. De Matteis G, Tozzi-Ciancarelli MG, Calisse P, Totaro R, D'Andrea F, Di Massimo C, Prencipe M. Platelet changes in classic migraine. *Ital J Neurol Sci*. 1993; 14: 207-210.
111. Akyol O, Yanik M, Elyas H, Namli M, Canatan H, Akin H, Yuce H, Yilmaz HR, Tutkun H, Sogut S, Herken H, Ozyurt H, Savas HA, Zoroglu SS. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29: 123-131.
112. Tekedereli İ . Glutatyon peroksidaz 1 genindeki pro197leu polimorfizminin şizofreni etyopatogenezindeki rolü ve Türk popülasyonundaki allel dağılımı. *Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*, 2007.
113. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD, Frederiksen K, Tjønneland A, Overvad K, Vogel U. GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. *Cancer Lett*. 2007; 18; 247: 293-300.
114. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A, Dragsted LO, Nexø BA, Wallin H, Overvad K, Raaschou-Nielsen O, Vogel U. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis*. 2006; 27: 820-825.

115. Green H, Ross G, Peacock J, Owen R, Yarnold J, Houlston R. Variation in the manganese superoxide dismutase gene (SOD2) is not a major cause of radiotherapy complications in breast cancer patients. *Radiother Oncol.* 2002; 63: 213-216.

## 8. EKLER

Ek-A

### HASTA ONAY FORMU

Migren hastalığının nedenlerinin araştırılmasında kullanılmak üzere sizden kan örneği alınacaktır. Alınacak bu kan örneğinden sizin genetik yapınızın bir kısmı ile ilgili genler çalışılacak ve kanda bulunan birtakım antioksidan olarak adlandırılan enzim görevi yapan maddelere bakılacaktır.

Bu bilgiler ışığında benden örnek alınmasını gönüllü olarak kabul ettiğimi, çalışmaya katıldığım takdirde herhangi bir ücret beklemeyeceğimi, çalışma sonuçlarının tedavi sürecini etkilemeyeceği konusunda bilgilendirildiğimi beyan ederim. Araştırmacıların çalışma sonucunda elde ettikleri verilerin isim belirtilmeksizin yayınlanmasında serbest olduklarına dair kanuni iznimi veriyorum.

Bu formu yakınlarınızla görüşmek üzere evinize götürebilir ve onlarla görüşerek çalışmaya katılıp katılmama kararını daha sonra verebilirsiniz. Çalışma sonuçları ve hastalıkla ilgili bilgileri doktorunuzdan alabilir hasta çalışmadan ayrılmak istediğinde formunu geri alabilir. Formunu geri çeken hastaların örneklerine hiçbir işlem yapılmayacaktır.

Elde edilen örneklerden DNA (size ait kanda bulunan genetik özelliklerin bir kısmının incelenmesi) izole edilecek ve 5 yıl boyunca saklanacaktır. Formda yer alan kişisel bilgileriniz saklı kalacaktır.

Hasta Adı-Soyadı:

Tarih:

İmza:

Hastayı bilgilendiren doktorun Adı-Soyadı:

Tarih:

İmza:

İmzaya şahit olanın Adı-Soyadı:

Tarih:

İmza:

**Ek-B****Migren Hastalarında Baş Ağrısı Değerlendirme Formu****Hastalık süresi:**

- Ağrı sıklığı:** \* 2 den az  
\* 3-5  
\* 5 den fazla

- Ağrı süresi:** \* 4 -12 saat  
\* 12 -24 saat  
\* 24 -72 saat

- Ağrı şiddeti:** \* Günlük işlerine devam edebiliyor  
\* Günlük işlerine devam edemiyor fakat yatamıyor  
\* Yatmak zorunda kalıyor

- Eşlik eden semptomlar:** \* Bulantı \* Fotofobi \* Lakrimasyon  
\* Kusma \* Fonofobi \* Diğer

- Ağrı yerleşimi:** Unilateral \* Sağ \* Sol  
Bilateral  
Fokal \* Orbital \* Frontal \* Temporal \*Oksipital

- Aura:** \* Yok  
\* Var / Varsa tanımı

- Ağrı tetikleyiciler:** \* Mens \* Stres \* Yiyecekler \* İklim \* Koku  
\* Uykusuzluk \* Açlık

- Kullanılan ilaçlar:** \* Profilaktik tedavi  
\* Atak tedavisi

- Sistemik hastalıklar:** \* HT \* DM \* Kalp hastalığı \* Diğer

- Aile öyküsü:** \* Var  
\* Yok

- Eğitim durumu:** \* Okula gitmemiş \* İlkokul mezunu  
\* Ortaokul-lise mezunu \* Üniversite mezunu  
\* Diğer

Adı Soyadı:  
Yaşı:  
Cinsiyet:

El dominansı:  
Boy / Kilo:  
Doğum yeri:

## **9. ÖZGEÇMİŞ**

1976 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk-orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Mezun olduktan sonra Gezin Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2002-2003 yılları arasında Fırat Üniversitesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalıştım. 2003 yılından itibaren Fırat Üniversitesi Nöroloji Ana Bilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim.