

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

**TÜRK İSKEMİK İNMELİ HASTALARDA ISI ŞOK
PROTEİN 70 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Didem BAKAY

Referans no: 10058965

EDİRNE – 2014

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Tammam SİPAHI

**TÜRK İSKEMİK İNMELİ HASTALARDA ISI ŞOK
PROTEİN 70 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Didem BAKAY

Destekleyen Kurum : TÜBAP 2013/10


Tez No :

EDİRNE – 2014

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

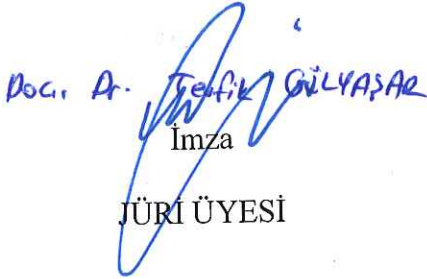
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Doç. Dr. Tammam SİPAHİ danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Didem BAKAY tarafından tez başlığı “**Türk İskemik İnmeli Hastalarda Isı Şok Protein 70 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **12/12/2019** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

İmza

JÜRİ BAŞKANI (Danışman)



Doç. Dr. Tamer GÜLYAŞAR

İmza

JÜRİ ÜYESİ



Doç. Dr. Oğuzhan DOĞANLAR

İmza

JÜRİ ÜYESİ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Tezim süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Tammam SİPAHI'ye, Biyofizik AD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Tefvik GÜLYAŞAR'a, Dr. Orkide PALABIYIK'a, Arő. Gör. Bilge Eren YAMASAN'a, Dr. Nevra ALKANLI'ya ve tüm diğer arkadaşlarıma, istatistiksel hesaplamaları yapan Arő. Gör. Selçuk KORKMAZ'a, hasta materyali sağlayarak çalıőmama katkıda bulunan Doç. Dr. Babürhan GÜLDİKEN baőtta olmak üzere tüm Nöroloji birimi çalıőanlarına ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon AD Baőtkanı Prof Dr. Murat BİRTANE baőtta olmak üzere tüm FTR birimi çalıőanlarına teőekkürlerimi borç bilirim. Projemizin gerçekleőmesindeki desteklerinden dolayı TÜBAP'a teőekkür ederim. Beni ben yapan ve bugünlere ulaőtmamda büyük emekleri olan herőeyden kıymetli biricik aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR	3
ISI ŞOK PROTEİNİ	10
GEREÇ VE YÖNTEM	18
BULGULAR	26
TARTIŞMA	31
SONUÇLAR	35
ÖZET	37
SUMMARY	39
KAYNAKLAR	41
ŞEKİLLER LİSTESİ	49
ÖZGEÇMİŞ	50
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromid
HDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
HT	: Hipertansiyon
IŞP	: Isı Şok Protein
KAH	: Koroner Arter Hastalık
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
mRNA	: Messenger Ribonükleik Asit
OSS	: Otonom Sinir Sistemi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Fragment Uzunluğu Polimorfizmi
SSS	: Santral Sinir Sistemi
SVH	: Serebrovasküler Hastalık
UV	: Ultraviole

GİRİŞ VE AMAÇ

Serebrovasküler hastalıklar (SVH) beyin damarlarında ve/veya bu damarlardan geçmekte olan kanın özelliklerinde gelişen bozukluklar sonucu damarların tıkanması ya da kanamasıyla ortaya çıkan merkezi sinir sistemi bozukluklarıdır. Bu hastalık değişik ülkelerde yüz binde 120-200 sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Bu istatistik değerlerini ülkemize uygulayacak olursak, her yıl yaklaşık olarak 60000 kişinin Türkiye’de bu hastalığa yakalandığı sonucu ortaya çıkar (1).

“Strok”, “ictus”, “serebrovasküler aksidan”, “apopleksi serebral” gibi sözcüklerin Türkçe karşılığı inme olarak belirlenmiştir. İnme; santral sinir sistemindeki (SSS) infarkt ve hemorajileri kapsayan klinik bir tablodur ve serebrovasküler hastalıkların major bir sonucudur (1).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verileri inmenin tüm dünyada ölüm nedenlerinin arasında 3. sırada olduğunu göstermektedir (2) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) inmeyi “Hızlı gelişen, serebral işlevlerin fokal veya global bozukluğuna bağlı klinik bulguların 24 saat veya daha uzun sürmesi veya ölümlle sonuçlanması” olarak tanımlamaktadır. Beyne kan akışının ani kesilmesi ile gelişen ve çoğunlukla felç şeklinde ortaya çıkan beyin damar rahatsızlığı olan inme 2 şekilde oluşur;

- a) Damar tıkanıklığı (iskemik inme): Tüm inmelerin %80’den fazlasını oluşturmaktadır.
- b) Damar kanaması (hemorajik inme)

Aile öyküsü ve genetik açıdan iskemik inme incelendiğinde hem paternal hem de maternal olarak kişide inme riskinin artması ile ilişkili bulunmuştur (3). İkiz çalışmalarında

ise monozigot ikizlerde inme riski dizigot ikizlere göre daha yüksek olup, bu fark 5 katına kadar ulaşmaktadır (4).

Kişilerin genetik yapılarındaki küçük farklılıklar (polimorfizmler) aynı çevresel faktörler için, bireylerde değişik sonuçların gözlenmesine neden olmaktadır. Bunlar fizyolojik fonksiyonlara etki ederek bireyler arasında hastalıklara karşı değişik yatkınlık durumları oluşturmaktadır (5).

Isı şok proteinler ilk kez ısı şokuna maruz kalmış sentezi artan polipeptidler olarak *Drosophila melanogaster*'de tespit edilmiştir. Isı şok proteinleri hücre metabolizması kontrolünde anahtar rol oynarlar (6). Bu proteinler genelde ısı stresine yanıt olarak sentezlenirken çok geniş ısı harici faktörler ve farmakolojik ajanlara karşı da sentezlenirler (7). Bazı İŞP'ler normal hücre fonksiyonlarda örneğin hücre döngüsünün devamlılığı için önemlidir. İŞP'ler tarafından gerçekleşen korunma, apoptozun baskılanmasını da içerir ama tam olarak nasıl gerçekleştiği bilinmemektedir (8). Isı şok proteinleri, protein molekülleri için moleküler şaperon gibi davranırlar. Bu proteinlerin adlandırmaları tamamen moleküler ağırlıklarına göre yapılmaktadır.

Isı şok proteinleri İŞP8, İŞP10, İŞP20, İŞP25, İŞP27, İŞP32 (hücreyi strese karşı koruma), İŞP40, İŞP47, İŞP60 (protein katlanmasında görevli), İŞP70 (Polipeptid zincirinin uzatılması ve ısı şoku yanıtının düzenlenmesinde görevli), İŞP90 (Steroid reseptörlerin düzenlenmesi, proteinlerin katlanması ve sabitlenmesinde görevli), İŞP100 ve İŞP110 (termotoleranslıktan sorumlu) şeklinde gruplanmışlardır (9).

Bakterilerde ısı şok protein 70 (İŞP70)'de meydana gelecek mutasyonun çoğu kez ölümle sonuçlandığı saptanmıştır (9).

Isı şok protein 70 (İŞP70) gen polimorfizmlerinin serebrovasküler hastalığının gelişmesindeki rolüne ait çalışmalar önem kazanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmaların sonucu olarak bu proteinin iskemik inme ile bağlantılı olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada iskemik inme hastalığında önemli role sahip olduğu düşünülen ısı şok protein 70 (İŞP70) geninin A1267G (rs1043618) ve G2437C (rs2227956) polimorfizmlerinin olası etkilerinin iskemik inme hastalığının gelişmesindeki rolünü incelemeyi amaçladık. İskemik inme gelişmesinde etkili olan genlerin bilinmesi, bu hastalığa ilişkin yeni ilaçların geliştirilmesini sağlayacaktır. Hastalığa kişisel genetik yatkınlığın belirlenmesi sonucunda zamanında ve etkin koruyucu tedbirler alınabilecektir.

GENEL BİLGİLER

SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR

Serebrovasküler hastalıklar (SVH); santral sinir sisteminde (SSS) lezyon oluşturan veya oluşturabilecek, arteriyel ya da venöz dolaşım sistemlerinin ya da bu damarların içinden geçen kana ait bozuklukların neden olduğu hastalıklardır. SVH'ler içinde ilk sırayı inme alır (10). İnme (beyin krizi) fonksiyonel nörolojik hasarı tanımlamaktadır (11).

İnme (Beyin Krizi)

Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre inme, 24 saatten uzun süren, ölüme ya da nörolojik hasara yol açan, vasküler nedenler dışında görünür bir neden olmaksızın fokal veya global serebral fonksiyon kaybına ait belirti ve bulguların hızla yerleşmesi ile karakterize klinik bir durumdur (12, 13). DSÖ'ye göre, 1990 yılında tüm dünyada, en önemli mortalite sebepleri arasında ikinci sırada yer alırken, gelişmekte olan ülkelerde üçüncü sırada bulunmaktadır. 1999 yılında yapılan çalışmalarda inmenin meydana getirdiği ölüm oranının tüm dünyada 5.54 milyona ulaştığı görülmüştür. İnme ayrıca uzun dönem sakatlığının ana nedenidir. Hastalar, aileleri ve sağlık kurumları için çok büyük emosyonel ve sosyoekonomik sorunlara yol açmaktadırlar. 2014 yılında inmeyi önlemek için yapılması gerekenler konusunda bilinç uyandırmak, inme nedeniyle engelli hale gelen kişilere rehabilitasyon hizmetlerinin gerekliliğine dikkat çekmek amacıyla 10 Mayıs Dünya İnme Önleme Günü kabul edilmiştir. 2020'li yıllarda, inme ve koroner arter hastalıklarının sağlıklı yaşamın bozulmasında en önemli neden olacağı düşünülmektedir (14).

İnmenin sınıflandırılması ve etyolojisi: İnmeye yönelik ilk sınıflandırmalar lezyonun patolojisine göre yapılarak “iskemik” ve “hemorajik” olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır (13). İnmede ileri nöroradyolojik, kardiyolojik, hematolojik ve biyokimyasal tetkiklerin kullanılmasıyla, lezyonun patolojisi ile birlikte, lezyon konumu ve oluş mekanizması göz önüne alınarak sınıflamalar yapılmıştır (15).

İnme kaynaklandığı damara göre gruplara ayrılmaktadır (10):

A. Arteriyel İnme

I. İskemik İnme (%85-88)

a. Geçici İskemik Atak

b. İnfarkt

II. Hemorajik İnme (%11-14)

B. Venöz İnme (%1)

I. Sinüs trombozu

II. Yüzeysel kortikal ven trombozu

III. Derin ven trombozu

Türk Beyin Damar Hastalıkları Derneğinin gerçekleştirdiği çok merkezli inme çalışmasına göre ülkemizdeki oranlar iskemik inme için %72, hemorajik inme için %28 olarak hesaplanmıştır (10, 16).

İskemik inme: İskemik inmeler, kan akımı bozulan damar ve bu damarın suladığı beyin bölgesinin fonksiyonuna bağlı olarak farklı nörolojik sendromlarla kendini gösterir. Temel nörolojik bulgular değerlendirilerek, infarkt yeri ve genişliğini yansıtan infarkt subtiplerinin belirlenmesi ve dolayısı ile prognoz tahmin edilmesi mümkündür (17).

Bamford ve arkadaşları tarafından 1991’de geliştirilen sınıflama bu temele dayanarak yapılmıştır (17). Etyolojiye yer vermeyen bu sınıflama ile iskemik inmeler 4 alt tipe ayrılır:

1. Total anterior sirkulasyon infarktları
2. Parsiyel anterior sirkulasyon infarktları
3. Laküner infarktlar
4. Posterior sirkulasyon infarktları

İskemik inmede “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment” (TOAST) sınıflandırması ise 5 alt gruptan oluşmaktadır (18):

1. Geniş arter ateroskerozu (tromboz veya emboli): Tüm iskemik inmelerin %50’si geniş arter ateroskerozuna bağlıdır. Bu iskemik alt grupta inme nedeni, ekstrakraniyal ve daha nadir olarak intrakraniyal damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde gelişen ateroskleroz plaklarının stabilizasyonunun bozulmasıyla oluşan trombozlardır. Aterotrombotik

lezyon, damar stenozu (Proksimal arterin %70-80 ve üzeri darlıkları söz konusudur) veya oklüzyonuna yol açabildiği gibi hemodinamik mekanizmalarla da distal-sınır bölgelerde (watershed area) infarktlara yol açabilir (19). Ayrıca, aterotrombotik lezyondan kopan trombosit ve kolesterol parçalarının, arterden artere embolizm mekanizması ile distal arterleri tıkanması mümkündür. Geniş arter aterosklerozuna bağlı inmelerde özgeçmişte, 15 dakika ile 1 saat arasında değişen sürelerde geçici iskemik ataklar ve intermitan kladikasyon bulunur (20).

2. Kardiyembolik inme: Tüm iskemik inmelerin %15-20'sini oluşturan kardiyembolizmde, arteriyel oklüzyonun sebebi kalpten kaynaklanan embolilerdir (21). Emboliye yol açan kalp hastalıkları, “yüksek riskli” ve “orta riskli” olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır. “Orta riskli” hastalıklarda, diğer inme nedenleri saptanamazsa, “olası” kardiyembolik inme tanısı konulabilir. Bilgisayarlı Beyin Tomografisi (BBT) veya kraniyal Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), bir arter alanına uyan geniş kortikal infarktlar görülmekle birlikte, değişik vasküler alanlarda birden fazla lezyonun varlığı veya sistemik embolizm ayırıcı tanıda yol göstericidir. Bu vakalarda, geniş arter aterosklerozu ekarte edilmelidir (20).

3. Küçük damar oklüzyonuna bağlı inme (laküner inme): Genellikle, hipertansiyon (HT) veya diyabeti olan yaşlı hastalarda görülür ve tüm iskemik inmelerin %25'ini oluşturur (21). Bu hastalık için karakteristik klinik sendromların (saf motor, saf sensoriyel, sensorimotor inme ve ataksik hemiparezi vb) ve nöroradyolojik olarak 1.5 cm'den küçük, derin infarktların gözlenmesi ile tanı konur. Bu vakalarda, potansiyel kardiyembolizm veya ipsilateral arterde %50'den fazla darlığa yol açan büyük damar tıkanmaları bulunmamalıdır (20).

4. Diğer belirlenen etyolojiler: Tüm iskemik inmelerin %5'inden az yer tutarlar. Bu grupta, santral sinir sisteminin (SSS) primer ve sekonder vaskülitleri, Cerebral Autosomal Dominant Arteropathy with Subcortical Infarcts and Leucoencephalopathy (CADASIL) ve serebral amiloid anjiopati gibi nadir küçük damar hastalıkları, konjenital damar hastalıkları, mitokondriyal hastalıklar, travma, diseksiyon ve kan hastalıkları yer alır. Anjiyografi, leptomeningeal biyopsi ve ayrıntılı hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle tanı konur. Potansiyel kardiyembolizm ve geniş arter aterosklerozu ekarte edilmelidir (20).

5. Sebebi belirlenemeyen inmeler: Ayrıntılı tetkiklere rağmen etyolojisi saptanamayan, yeterli tetkik edilemeyen ya da yapılan tetkiklerde birden fazla etyolojik neden bulunan vakalar bu grupta değerlendirilir (20).

Serebral infarktlarda etyolojiye göre sınıflandırma, akut iskeminin tedavisi ve prognozunu yanı sıra, ikincil koruma açısından çok önemlidir. 1993 yılında yayımlanan "Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment" (TOAST) çalışmasında kullanılan sınıflandırmada, klinik bulguların yanı sıra etyolojiye de yer verildiğinden günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (20).

İnmede risk faktörleri: Akut inme tedavisindeki büyük gelişmelere rağmen, inme nedenli ölümler birçok ülkede 3. sırada yer almakta ve inmeye bağlı sakatlıklar ise büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu durumda, inme risk faktörlerinin epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmesi ve önlenmesi önem kazanmaktadır (21). Bu bilgiler ışığında inme risk faktörleri aşağıda sınıflandırılmıştır (22).

I) Değiştirilemeyen risk faktörleri

Yaş: 55 yaşından sonraki her dekatta inme riskinin iki kat arttığı bilinmektedir (23).

Cins: İnme erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülmekle birlikte (23), kadınlarda inme nedenli ölüm oranı daha yüksektir (24).

İrk: Zencilerde, Çinlilerde ve Japonlarda inme insidansı, beyazlara göre daha yüksektir (25).

Aile öyküsü: Aile öyküsünün risk faktörü oluşunda çeşitli etmenler rol oynamaktadır. Bunlar; herediter (kalıtsal) özellikler, benzer yaşam tarzları ve beslenme alışkanlıkları olabilir (26). Kalıtsal açıdan bakıldığında araştırmalarda monozigot ikizlerde inme riskinin, dizigot ikizlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (27).

II) Değiştirilebilir Risk Faktörleri

A) Kesinleşmiş değiştirilebilir risk faktörleri:

Hipertansiyon: Toplumda prevalansı en yüksek olan, hem serebral infarkt, hem de intraserebral hemoraji için en önemli risk faktörüdür (22, 23). Yaş ve atriyal fibrilasyon (AF) gibi diğer risk faktörleri ile etkileşimi ve kan basıncının düzeyi ile riskin artması nedeniyle, gerçek relatif risk değerinin belirlenmesi oldukça güçtür (23). 14 randomize çalışmanın meta-analizinde, diastolik kan basıncında 5-6mmHg azalmanın inme riskini %42 azalttığı gösterilmiştir (28). 70-84 yaşları arasındaki yaşlılarda yapılan ve antihipertansif tedavi ile plasebonun karşılaştırıldığı "Swedish Trial in Old Patients with Hypertension" (STOP) çalışmasında inme riskinde %45 azalma saptanmıştır (29). "Systolic Hypertension in Europe"

(Syst-Eur) çalışmasında 60 yaş üzerinde izole sistolik hipertansiyonu bulunan hastalarda, tedavi ile inme insidansında azalma oranı %42'dir (30).

Diyabetes Mellitus: “Honolulu Heart Program” (HHP) çalışmasında, diyabetiklerde iskemik inme riski 2,45 kat iken, hemorajik inme riskinde değişiklik görülmemiştir (31). "UK Prospective Diabetes Study" (UKPDS) çalışmasında, uzun süre sıkı kan şekeri kontrolü ile izlenen hastaların mikrovasküler komplikasyonlarında azalma gözlenirken, inme riskinde azalma görülmemiştir (32). Ancak, diyabetik hastaların yaklaşık %40-60'ına eşlik eden HT'nin tedavisi ile inme riski % 44 azalmaktadır (33, 34).

Kalp hastalıkları: İskemik inmelerin %15-20'si kardiyoembolizme bağlanmaktadır (22). Orta yaş ve üzerinde en sık kardiyoembolik inme nedeni miyokart infarktüs (MI) iken; ileri yaşta en sık neden nonvalvüler atriyal fibrilasyondur.

Hiperlipidemi: Hiperlipideminin, koroner arter hastalığı (KAH) için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (35). 450000 kişiyi kapsayan 45 çalışmada serum lipitleri ile inme arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (28). Bu durumun başlıca nedenleri; çalışmalarda değişik inme subtiplerinin ve intraserebral hemorajinin de değerlendirilmeye alınmasıdır. Buna karşılık "Multiple Risk Factor Intervention Trial" (MRFIT) çalışmasında yüksek kolesterolü erkeklerde mortalite daha yüksek bulunmuştur. Serum kolesterol düzeyi 240-279 mg/dl değerlerinde inme riski 1,8 kat iken kolesterol düzeyi 280 mg/dl üzerinde inme riski 2,6 kat olarak bulunmuştur (36). “Honolulu Heart Program” (HHP) çalışmasında kolesterol seviyesindeki artışın, KAH ve tromboembolik inme riskini arttırdığı gösterilmiştir (37). 1990'lı yıllarda statinlerle yapılan çalışmalarda iskemik inme riskinin % 32-50 arasında azaldığı gösterilmekle birlikte, bu çalışmaların aslında KAH olan ve sıklıkla geniş arter aterosklerozu olabilen hastalarda yapılması nedeniyle, sekonder koruma çalışmaları olarak kabul edilmeleri yönünde eleştiriler bulunmaktadır. Ayrıca, bu çalışmalarda normal kolesterolü kişilerde de riskin azalması, statinlerin antitrombotik ve nöroprotektif etkileri olduğunu düşündürmektedir (38, 39). Lipoprotein a konsantrasyonunun KAH riskini arttırdığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte, yapılan kontrollü çalışmalarda inme riski ile lipoprotein a arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (40, 41).

Sigara kullanımı: Prevalansının oldukça yüksek olması (ortalama % 25) nedeniyle önemli bir risk faktörüdür. “Honolulu Heart Program” (HHP) çalışmasında sigaranın iskemik inme için rölatif riski 1,8-6 kat olarak bulunmuştur. Yine bu çalışmada sigara kullanımı ile iskemik inmenin yanı sıra, subaraknoid hemoraji riski de oldukça yüksek olarak saptanmıştır (42).

Asemptomatik karotis darlığı: Karotiste %50'den fazla darlığın görüldüğü asemptomatik hastalık, 65 yaş üzerindeki erkeklerde %7-10, kadınlarda %5-7'dir. Çeşitli çalışmalarda bu vakalarda yıllık ipsilateral inme riski %1-2 olarak bulunmuştur. Özellikle kararlı darlıklara göre, hızla progresyon gösteren kararsız darlıklarda bu risk daha yüksektir (43). Bu durumda, %60-99 karotis darlığı olan ve beklenen yaşam süresi 5 yıldan fazla olan vakalara, cerrahi riskin %3'ün altında olduğu merkezlerde endarterektomi önerilmektedir (44).

Orak hücreli anemi: Otozomal dominant geçiş gösteren ve prevalansı düşük (zencilerde %0,25) olan bir hastalıktır (45).

B) Kesinleşmemiş değiştirilebilir risk faktörleri

Alkol kullanımı: Alkol tüketimi ile inme arasındaki ilişki oldukça komplekstir. Yüksek miktarlarda alkol tüketimi; HT, hiperkoagülabilite ve kardiyak aritmilere yol açarak inme riskini arttırmaktadır (46). Ayrıca "Honolulu Heart Program" (HHP) çalışmasında, sürekli ve fazla miktarda alkol tüketen kişilerde, anevrizmal ve nonanevrizmal intraserebral hemorajilerde en az 3 kat artış olduğu tespit edilmiştir (47).

Obezite: Vücut kitle indeksinin 30 kg/m² üzerinde olması ile karakterize olan ve özellikle erkeklerde sık görülen abdominal obezitenin diğer risk faktörleri ile birlikte oluşunun dışında, indeksteki artışa paralel olarak inme riskini 1,75-2,37 kat arttırdığı tespit edilmiştir (48).

Beslenme alışkanlıkları: Çeşitli çalışmalarda, diyetle C veya E vitaminlerinin eklenmesinin inme riskini düşürmediği ortaya çıkmıştır (49).

Fiziksel inaktivite: Çeşitli çalışmalarda düzenli fiziksel egzersizin inme riskini azalttığına ilişkin veriler mevcuttur (48). Bu azalma, bilinen diğer risk faktörlerinde (obezite, HT, hiperglisemi vb.) gözlenen iyileşme, plazma fibrinojen düzeyinde azalma, plazma doku plazminojen aktivatör ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyelerindeki artışa bağlanmaktadır (48).

Hiperhomosisteinemi: Standardize edilememiş olmakla birlikte; plazma homosisteinin 5-15 mikromol/L arasındaki değerleri normal, 15mikromol/L üzerindeki değerleri hiperhomosisteinemi olarak kabul edilmektedir (50). Plazma homosistein düzeyini düşürmeye yönelik randomize çalışmalar henüz tamamlanmadığından B12, folik asit ve B6 vitaminlerinin primer korumadaki değeri bilinmemektedir (51).

İlaç kullanımı ve bağımlılığı: Amfetamin, kokain ve eroin gibi bağımlılık yapan maddelerin kullanımının hem hemorajik, hem de iskemik inmeye yol açtığı bilinmektedir. Bu

maddelerin kullanımı ile inme riskinin yaklaşık 7 kat arttığı bildirilmektedir. Bu maddelerin etkileri multifaktöriyel olup; ani olarak kan basıncını yükseltmeleri, vaskülit ve hematolojik bozukluklara yol açmaları bu maddelere bağlı inmelerin en önde gelen nedenleridir (52).

Hormon tedavisi: Oral kontraseptiflere bağlı inme riski, içerdikleri östradiol miktarı ile ilişkili olup; 50 mikrogramdan fazla östradiol içeren ilk cenerasyon ilaçlarda bu risk yüksektir (53). Son zamanlarda kullanılan düşük östradiollü ve kombine preparatlarla yapılan çalışmada ve DSÖ çalışmasında, iskemik ve hemorajik inme riskinde hafif bir artış gözlenmiştir. Bu nedenle, 35 yaşın üzerinde olan, ailede subaraknoid kanama öyküsü bulunan, sigara içen, migren veya HT'si bulunan kadınlara diğer kontrasepsiyon yöntemleri önerilmektedir (53, 54).

Hiperkoagülabilité: Hiperkoagülabilitéye yol açan trombofililer (Protein C ve S eksikliği, apoprotein C rezistansı, antitrombin III eksikliği ve protrombin 20210 mutasyonu) öncelikle venöz trombozlara yol açmakla birlikte, iskemik inmelere de neden olabilirler (55). Bir diğer hiperkoagülabilité nedeni olan antifosfolipid antikor sendromu ile ilgili olarak yapılan çalışmada, farklı antikor izotipleri (IgG, M veya A) göz önüne alındığından, bu sendromun da prevalansı ve inme riski tartışmalıdır (56).

Fibrinojen: 1984'te yapılan İsveç çalışması ve 1997'de Smith ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, fibrinojen yüksekliği inme risk faktörü olarak belirlenmiş olmasına karşın; 1999 yılında yapılan "Atherosclerosis Risk in Communities" (ARIC) çalışmasının analizinde bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmamıştır (57).

İnflamasyon: İntersellüler adezyon moleküllerinin aterosklerozlu bölgede endotel tarafından eksprese edilmesi ve endarterektomi preparatlarında aktive T lenfositler ve makrofajların bulunması, akut inflamatuvar cevabın, plak stabilizasyonunda bozulmaya neden olduğu ve semptomların ortaya çıkışını kolaylaştırdığını düşündürmektedir (58, 59). İskemik inme geçirenlerde akut faz reaktanı olan C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A değerleri yüksek olarak bulunmaktadır. "Cholesterol and Recurrent Events" (CARE) çalışmasında, aspirin ve pravastatinin C-reaktif proteini düşürerek, inme riskini azalttığına ilişkin veriler elde edilmiştir (60). Tüm bu bulgular infeksiyon ve inflamasyonun, aterosklerozu hızlandırdığını veya uygun bir çevre hazırladığını desteklemektedir (58, 60). Serebrovasküler olay sonrası hemipleji ya da hemiparezi geçiren hastaların fiziksel, bilişsel ve psikososyal engelleri vardır. Bu durumlara hipertansiyon, postural veya epizodik hipotansiyon, aritmi, mesane ve barsak disfonksiyonu, baş dönmesi, hemiparezik ekstremitelerde soğukluk, terleme kaybı veya aşırı terleme gibi başka semptomlar da eşlik edebilir. Bazı semptomlar santral sinir

sistemi lezyonunun anatomik yerine bağı olabileceği gibi bazıları da hemiparezik hastalarda ortaya çıkan otonom sinir sistemi (OSS) bozukluğuna bağı olarak ortaya çıkabilir. Sempatik veya parasempatik tutulumun olup olmadığı elektrofizyolojik testlerle gösterilebilir. Bu testler sempatik efferentlerin aşırı uyarılması sonucu ortaya çıkan aritmik olayları, refleks sempatik distrofi, hiperestezi, allodini, komkomikan ağrı gibi durumlarda tanı koyma imkanı verir (61).

ISI ŞOK PROTEİNİ

İskemik inme risk faktörleri incelendiğinde kesinleşmiş değiştirilemeyen risk faktörü olan aile öyküsü, araştırmaları kalıtsal basamaklara yönlendirmiştir. Bu bağlamda bazı protein polimorfizmleri incelenmeye değer kabul edilmiştir. Bu proteinlerden ısı şok proteinleri birçok alanda görev aldıklarından dikkat çekmiştir.

Isı şok proteinleri (İŞP) tüm canlılarda birbirlerine benzer olarak bulunan, hücrelerin yenilenme ve tamir mekanizmalarında benzer görevler yapan moleküller arasında yer almaktadırlar. İlk olarak tıp fakültesinden yeni mezun Pramod Srivastava tarafından kanser üzerine çeşitli araştırmalar yaparken tanımlanmışlar ve sonrasında çok merkezli çalışmalarda bu proteinler hakkında daha detaylı bilgiler edinilmiştir (62).

Tüm canlılar yaşamları boyunca çeşitli nedenlerle stres altında kalabilmekte ve hücrel olarak proteinlerinde bozulma ile karşılaşabilmektedirler. Bu stres durumları kısaca 3 grupta toplanarak özetlenebilir:

1. Çevresel stres faktörleri
 - a. Ani ısı değişiklikleri
 - b. Ağır metallere maruziyet
 - c. Enerji metabolizmasının sekteye uğraması
 - d. Amino asit analogları
 - e. Kemoterpötik ajanlar
2. Hastalık durumları
 - a. Viral enfeksiyonlar
 - b. Ateş
 - c. İnflamasyon
 - d. İskemi
 - e. Hipertrofi
 - f. Malignite
 - g. Oksidan hasarı
3. Normal hücrel olaylar

- a. Hücre bölünmesi siklusu
- b. Büyüme faktörleri
- c. Gelişme ve farklılaşma

Drosophila tükrük bez hücrelerinin 30 dakika süreyle 37°C de ısıya maruz bırakılması ve 25°C ısı düzeyine inildiğinde, kromozomlarında farklı genler bulunduğu ilk olarak 1962 yılında gösterilmiştir. Bu sırada moleküler ağırlıkları 26 kDa ve 70 kDa olan proteinlerin ekspresyonunda artış olduğu gözlenmiş ve bu proteinler, ısı şok proteinleri olarak adlandırılmışlardır (63). Hücre içi moleküller olan ısı şok proteinlerinin hücre dışı kompartımana da salındığı, 1980'lerin sonunda rat embriyo hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (64). Daha sonra yapılan çalışmalarda adacık hücreleri, rat glial hücreleri, nöroblastom hücreleri, reaktif oksijen türlerine maruz kalan vasküler düz kas hücreleri gibi birçok hücre türlerinden de ısı şok proteinleri salındığı gösterilmiştir (65). Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Isı şok proteinlerinin sınıflandırılması (66)

	I.Ş.P.	Moleküler ağırlığı	Fizyolojik yerleşim	Streste yerleşim	Fonksiyon
I.Ş.P. 90 ailesi	I.Ş.P. 100	100	ER	ER	Glukoz metabolizması
	I.Ş.P. 90α	86	Sitoplazma	Sitoplazma	Steroid reseptör
	I.Ş.P. 90β	84	Sitoplazma	Sitoplazma	Aktin
I.Ş.P. 70 ailesi	I.Ş.P. 80	80	ER	ER	Immünglobulin
	I.Ş.P. 75	75	Mitokondri	Mitokondri	Glukoz metabolizması
	I.Ş.P. 73	73	Sitoplazma	Nükleus	Protein katlanması
	I.Ş.P. 72	72	Sitoplazma, nükleus	Nükleus	Protein katlanması
I.Ş.P. 60 ailesi	I.Ş.P. 60	58, 60	Sitoplazma, mitokondri	Mitokondri	Protein katlanması
Küçük I.Ş.P. ailesi	I.Ş.P. 47	47	Sitoplazma, mitokondri	Mitokondri, sitoplazma	Kollajene özgü
	I.Ş.P. 32	32	Sitoplazma	Sitoplazma, nükleus	Heme oksijenaz-1
	I.Ş.P. 25	25	Sitoplazma	Sitoplazma	α-kristallin
	I.Ş.P. 8	8	Sitoplazma, membran	Sitoplazma, membran	PDGF

ER: Endoplazmik retikulum.

PDGF: Platelet derived growth factor.

Isı şok proteinleri moleküler şaperonlar olup, proteinlerin katlanma, toplanma, zar translokasyonu ve yıkım aşamasında rol alırlar. Bu proteinler doğru katlanmanın metabolik yolunu kolaylaştırarak veya katlanmanın oluştuğu mikro ortamı sağlayarak etki gösterir. Bu fonksiyonları hücrenin normal metabolizması, büyümesi ve olgunlaşması için gereklidir (67).

Isı şok protein genlerinin düzenlenmesine ısı şok faktör (İŞF) aracılık etmektedir. Omurgalılarda bu faktörlerden biri İŞF1, ısı şok protein genlerinin düzenlenmesinde etkilidir. Isı şokunun İŞF1'i nasıl aktive ettiği tam olarak tanımlanamamıştır. Bazı çalışmalar protein hasarlarındaki ve anormalliklerindeki artışın bu aktivasyona neden olduğunu göstermektedir. İŞF, hem stres olan hem stres olmayan hücrelerde bulunmaktadır ve stres olmayan hücrelerde inaktif formda olup, stres durumlarında İŞF'nin aktif forma dönüşmesi gerekmektedir (68). Aktif İŞF'nin ısı şok genlerin önünde yer alan ısı şok elementleri (İŞE) olarak adlandırılan üç veya beş baz çiftinden oluşan promotör bölgelere bağlanması sonucu ısı şok protein indüksiyonu meydana gelir. Major ısı şok protein genleri intronlar içermediğinden, strese maruz kaldığı dakikalar içinde messenger ribonükleik asit (mRNA) hemen yeni proteine çevrilmektedir. Stres durumunda toplam İŞF miktarı değişmez, fakat İŞF'ün inaktif formundan aktif forma geçişi ve ısı şok protein ekspresyonu artar (69).

İŞP70 yapısında 3 major fonksiyonel bölge vardır (70):

1-N-terminal adenzin trifosfaz (ATPaz) bölgesi: Yaklaşık 45 kDa ağırlığındadır. Adenzin trifosfatı (ATP) bağlar ve adenzin difosfata (ADP) hidroliz olur. Bu hidroliz diğer iki bölgedeki konformasyonel değişikliklere neden olur.

2-Substrat bağlayan bölgesi: Nötral, hidrofilik aminoasit kalıntılarını içermektedir. 15 kDa ağırlığındadır. Yedi peptid kalıntısıyla etkileşime girebilecek uzunluktadır.

3-C-terminal bölgesi: α -helikal yapıdan zengindir ve substrat bağlayan domain için kapak vazifesi görür. 10 kDa ağırlığındadır. İŞP70'in protein katlanma süreci ATP ve ADP fazı olmak üzere iki fazda gerçekleşir. ATP fazında İŞP70'e bağlı olan ATP, ısı şok protein molekülündeki C-terminal bölgesini etkileyerek substrat bağlayıcı bölgenin açık kalmasını sağlar. Ancak ATP bu bölgenin substrata karşı olan afinitesini azaltmaktadır (71). DNAJ proteinleri bu bölgeye substratların bağlanmasını sağlar. Aynı zamanda DNAJ proteinleri İŞP70'de ATPazı aktive eder, moleküle bağlı olan ATP'nin ADP'ye dönüşmesini sağlar, ADP molekülü de ısı şok protein molekülündeki C-terminal bölgesini etkileyerek substrat bağlayıcı bölgenin kapalı kalmasını sağlar (72). ATPaz'ın ikincil ve üçüncül yapısı aktinin yapısına benzemektedir. Peptid omurgası amino ve karboksi gruplarına yan zincirle ve subdomainindeki omurga grupları hidrojen bağı oluşturur (73).

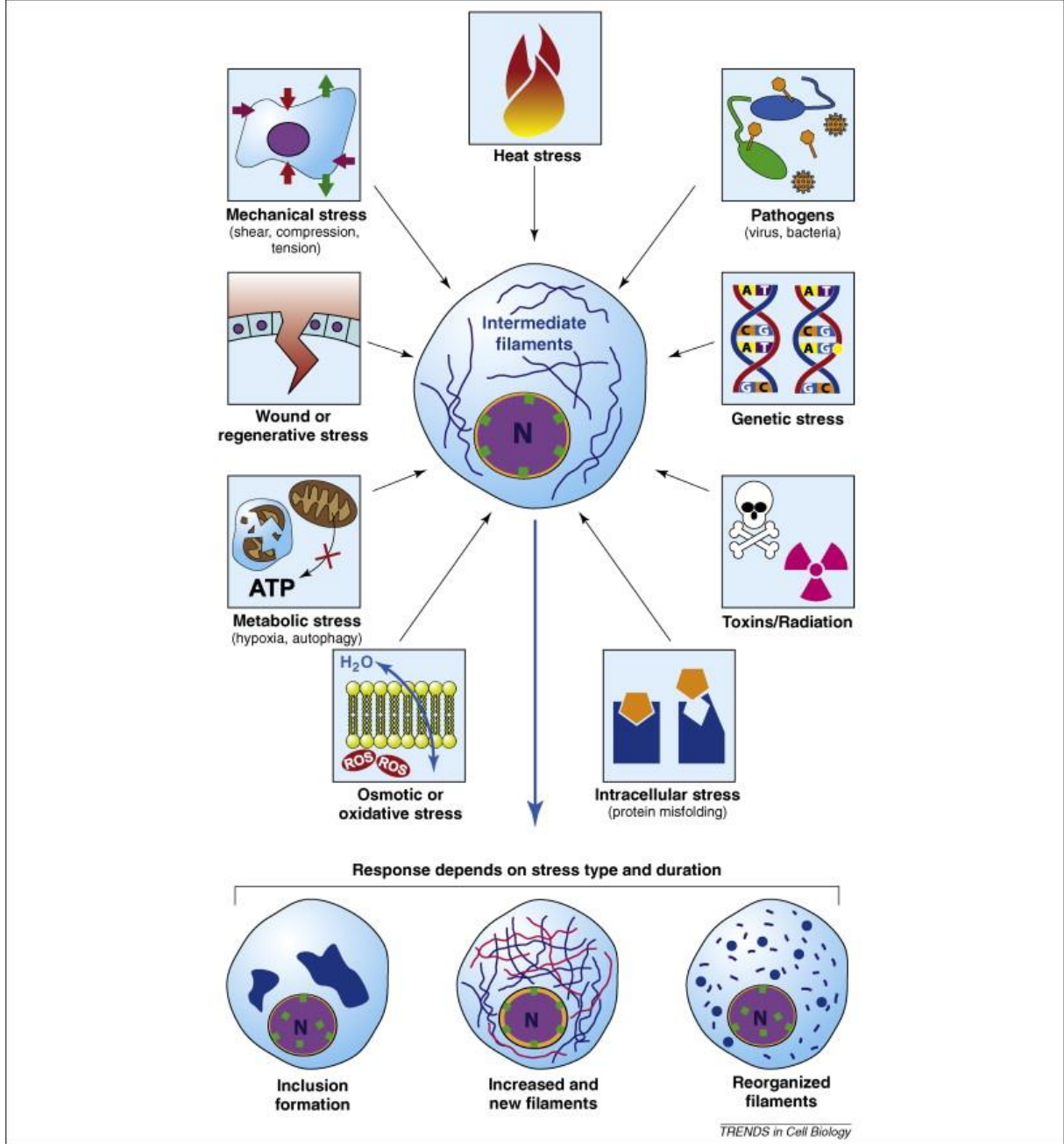
Yeni sentezlenmiş proteinler ribozomlardan çıkar, substrat bağlayan bölgedeki hidrofobik aminoasit kalıntıları serisini tanır ve etkileşime girer. Bu spontan etkileşim geri dönüşümlüdür ve ATP bağlı formu serbestçe peptidleri bağlar ve salıverir. Substrat bağlayan bölgeye bağlı peptid IŞP70'in ATPaz aktivitesini stimüle eder, böylece ATP hidroliz oranını arttırır. ATP, ADP'ye hidroliz olduğunda IŞP70'in bağlayan grubu kapanır (70). IŞP70, genelde ATP bağlı formunda bulunur ve çok zayıf ATPaz aktivitesine sahiptir öyle ki spontan hidroliz dakikalarla bile oluşamaz. ADP bağlı form ile ATP bağlı form arasındaki dönüşüm peptid bağlama ve yardımcı koşaperonlar ile katalizlenmektedir. Bu koşaperonlar etkileşimde olduğu proteinlerin varlığında IŞP70'in ATPaz aktivitesini arttırırlar. Koşaperonlara örnek olarak ökaryotlarda IŞP40'ı ve prokaryotlarda DNAJ'ı verebiliriz (73).

IŞP70 ailesi ökaryotik hücrenin birçok kompartmanında bulunan ve stresle eksprese edilen moleküler şaperonları kapsamaktadır. Isı şok proteinlerinin bu ailesi yeni sentezlenmiş proteinlerin doğru katlanmasına, hatalı katlanmış veya denatüre olmuş proteinlerin tekrar katlanmasına ve hasarlı proteinlerin yıkılmasına yardımcı olur (74, 75). Ayrıca zardan organellere translokasyonu sağlayan proteinlere katılır, yanlış toplanmış protein agregasyonunu etkiler. IŞP70, hücrenin normal yapılarına tekrar sahip olmalarına ve fonksiyonlarını yerine getirmelerine yardım eden en önemli hücresel proteinlerdir. IŞP70 ATP/ADP bağımlı reaksiyon siklusuna bağlı olarak bu görevleri yerine getirmektedir (76, 77).

Isı şok proteinleri tüm hücrelerde biyolojik seviyelerde bulunmaktadır. IŞP70 ve IŞP60 sağlıklı kişilerin serumunda bulunmaktadır (78). Yaşla birlikte artan strese karşı cevap oluşturma kapasitesinde bir gerileme olup serum IŞP düzeyleri yaşla birlikte azalmaktadır. Yeni sentezlenmiş proteinlerin doğru katlanmasına, yaşlanmış proteinlerin taşınıp bunların hücreye geri kazanımına yardımcı olurlar. Bu aktiviteler hücrenin onarma sisteminin bir parçası olup, hücresel stres cevap veya ısı şok cevap olarak adlandırılır. Yapılan çalışmalarda karaciğer, kalp gibi birçok dokularda yaşla birlikte azalmış IŞP70 ekspresyonu olduğu bildirilmiştir. Kalp korumasında önemli bir rolü olan IŞP70, yaşlanmış miyokard hücresinde azalmış olup bunun sonucunda hücre ölümüne neden olmaktadır (79).

Isı şok proteinleri, hücreler yüksek ısıya maruz kaldıklarında acil olarak yükselen protein grubudur. Bu artış transkripsiyonel olarak ısı şok faktör (IŞF) ile düzenlenmektedir. Isı şok proteinleri infeksiyon, oksidatif stres, iskemi, enflamasyon, toksik maddeler (etanol, arsenik, UV), hipoksi, kronik açlık gibi çeşitli streslere karşı korunmak için hücrenin verdiği asıl yanıtlardandır. Bu nedenle stres proteinleri olarak da anılır ve stres cevabının parçası

olarak tanımlanırlar (Şekil 1) (80, 81). Bu stresler proteinlerin hasarına, kısmi katlanmalarına ve agregasyonlarına neden olur.



Şekil 1. Stres proteinlerinin yapımını uyaran etmenler (82)

Sitoplazmik İŞP70, diğer protein komplekslerini denaturasyondan korumak için pre-ribozomlara bağlandığı nukleusa doğru göçeder. Hücreye zarar veren, erimeyen agregatların oluşumunu da önlemektedir. Bununla birlikte hasarlı proteinlerin tekrar katlanmalarını sağlayarak biyolojik aktivitelerini yerine getirirler (83). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki,

stres altındaki bakteri ve ökaryotik hücrelerin birçok ısı şok genlerinin ekspresyonunun ortak hücre içi sinyali, hücredeki hasarlı proteinlerin birikmesidir. Isı şok proteinleri, ısı ve diğer streslerin neden olduğu geri dönüşümsüz denatürasyondan fonksiyonel proteinleri korumakta olup, sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum ve nukleusta bulunurlar. Isı şok proteinler oldukça uzun yarı ömre sahip olup epidermoid hücrelerde yarı ömrü 48 saattir (84). IŞP70 katlanmamış proteinin hidrofobik aminoasitlerden zengin olan bölgesine, uygunsuz agregasyonu önleyecek şekilde bağlanır. Böylece şaperonlar ısıyla denatüre olmuş proteinleri ve sentezlenen peptidleri korur. Bazı şaperonlar oligomerik proteinlerin dördüncül düzenlenimlerini de kolaylaştırır (67). Sonuç olarak hasarlı veya defektif proteinlerin regülasyonunda etkili olduğu görülmektedir. IŞP70 aynı zamanda proteinleri kısmen katlanmış formda tutarak transzar transportuna yardım eder. Aynı zamanda hormon ve reseptörleri arasındaki etkileşimi de düzenlemektedir (69).

IŞP70 bu protein ailesinin bir anahtar üyesi olup infeksiyon, kanser gibi klinik durumlarla ilişkileri araştırılmıştır. Ayrıca dolaşımdaki IŞP70 proinflamatuvar süreçleri düzenleyen hücre yüzey reseptörleriyle ilişkili immunregülatör yanıtlarda intersellüler sinyalmolekülü olarak da görev yapmaktadır (85).

Hücre içi bir proteinin normal olarak görevini sürdürebilmesi için kendine özgü üç boyutlu şeklini muhafaza etmesi şarttır. İşte stres durumlarında kolayca kaybolabilen bu üç boyutlu şekil durumunda IŞP molekülleri karşımıza çıkmaktadırlar. Isı şok proteinleri stres koşullarında gelişebilen hücre hasarı durumlarında sayı ve miktarca artarak hücreyi koruma ya da hasarlı hücreleri yenileme sürecinde regülatör proteinler olarak işlev görürler (ısı şok cevabı). Yine bu proteinler tamamen normal fonksiyon gören hücrelerde de normal şartlarda sitoplazmada mevcuttur ve hücre içi proteinlerin doğru şekilde ve doğru yerde olmalarını düzenleyen “chaperon” moleküllerdir. Yapıları bozulmuş ya da görevlerini tamamlamış diğer proteinleri hücre içinde kompartmanlar arasında taşımak görevinde de yine IŞP önemlidir (hücresel stres cevabı). Ayrıca bu proteinlerin immün sistem tarafından hastalıklı ya da normal diye tanınmak üzere hücre yüzeyinde peptid yapıların oluşumuna yardımcı oldukları da düşünülmektedir.

Her ne kadar IŞP’ler hücre içinde bulunsalar da bu moleküllerin hücre dışında saptanmaları o hücrenin yıkıldığı veya nekroza uğradığı anlamına gelir. İşte bu durumda IŞP moleküllerinin hücre dışı görevleri başlar. Hücre dışı IŞP miktarlarının artması özellikle infeksiyon ve hastalık durumlarında oraya çıkar ve bu canlının infeksiyona yenik düştüğünün

önemli göstergelerinden biridir. Bu durumda immün sistem tetiklenir ve canlı hastalıkla daha güçlü savaşıma başlar.

Ayrıca İŞP molekülleri hücre yıkımı sonucu ortaya çıkan zararlı artıkların immün sistem tarafından ayıklanması ve temizlenmesinde de görev almaktadırlar (86). Kendileri de birer protein olan İŞP molekülleri de yukarıda özetlenen stres durumlarına maruz kalabilmektedir. Ancak bu proteinler diğer proteinlere nazaran hücre içi daha kuvvetli hidrojen bağları, daha sağlam hidrofobik molekül içi paketlenmeleri, güçlendirilmiş sekonder yapıları ve heliks çift polar stabiliteleri nedeniyle daha dayanıklı olmakta ve daha az hasara uğramaktadırlar.

Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. Bu ailelerden en önemlileri İŞP100, İŞP90, İŞP70, İŞP60 (chaperonin) ve daha küçük İŞP alfa-kristalin proteinlerdir (87).

Isı şok proteinlerinin kardiyovasküler sistem içinde önemi olduğu bilinmektedir. İŞP90, İŞP84, İŞP70, İŞP27, İŞP20 ve alfa kristalin moleküllerinin kardiyovasküler sistem üzerinde farklı rolleri mevcuttur. İŞP90 endotelial nitrik oksit sentaz ve çözünülebilir guanilat siklaza bağlanarak çeşitli kanserler üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Nitrik oksit hücre sinyal yolunda kinaz olarak görevli protein kinaz G düşük molekül ağırlıklı İŞP ve özellikle İŞP20 fosforilasyonunda görevlidir ki bu da düz kas gelişimi, trombosit agregasyonu, kardiyak miyozit fonksiyonu, iskemik hasar sonrası apoptozun engellenmesi, çizgili kas fonksiyonlarının düzenlenmesi ve kas insülin cevabında önemlidir. İŞP27 kasılma sırasında görev yapan majör fosfoproteinlerden biridir. Düz kas migrasyonu, aktin filamanlarının dinamiği ve fokal adhezyonlarda integral role sahiptir. Bir hipoteze göre İŞP27 ve İŞP20 aktin ile miyozin arasında köprü oluşumunda rol oynamaktadır. İŞP60 protein katlanmasında ve sentezi sonrası proteinin mitokondriye taşınmasında görevli olmaktadır. İŞP70 kendi içinde alt gruplara ayrılarak proteinlerin katlanması ya da katlanmamasını indükleyebilmektedir ki bu hücreyi ısı stresine karşı daha dayanıklı kılmaktadır. Ayrıca İŞP60 gibi İŞP70 de sentez sonrası proteinin mitokondriye taşınmasında görev yapabilmektedir (88).

Çalışmamızda kullanılan İŞP70 molekülü 70 kilodalton ağırlığındaki İŞP ailesinin bir üyesidir. Her ne kadar İŞP molekülleri Pramod Srivastava tarafından tanımlanmış olsa da ilk olarak 1960'larda F.M. Ritossa'nın laboratuvar çalışmaları sırasında tesadüfen fark edilmişler ancak anlayamamışlardır (89). Ritossa, *Drosophila* sinekleri (meyve sinekleri) üzerinde çalışırken yanlışlıkla bu hayvanları yüksek sıcaklıkla muamele etmiş ve daha sonra bu sineklerin hücre ve genetik özelliklerini incelediğinde tanımlayamadığı ilginç protein

yapısında moleküllerin sentezlendiğini fark etmiştir (90). Bu moleküller daha sonra İŞP ismini almıştır.

Isı şok proteinlerinin sentezi transkripsiyonel olarak düzenlenmektedir ve sentezi tetikleyen ısı şok faktörü, hücre hasarına ısı şok cevabının bir parçasıdır. Ancak bu proteinlerin sentezinde halen birçok konu açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Isı şok proteinleri ailesinden İŞP70 bu proteinler içerisinde üzerinde en çok çalışılanlardan biridir. Özellikle akut myokard stresine karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (91). Oksidatif strese karşı düz kas hücreleri üzerinde sitoprotektif etkileri olduğu ve nekrozu sınırlandırdıkları gösterilmiştir (92). Miyokard hücrelerinde bazal İŞP70 değerlerinin artması iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bulunmuştur (93, 94). Yüksek myokardial İŞP70 makrofajlar tarafından tümör nekroz faktörü alfa sentezini azaltmakta ve bu da kardiyopulmoner bypass sonrası inflamasyonun daha az olmasına ve kardiyak fonksiyonların daha iyi korunmasına yardımcı olmaktadır (95). İŞP70 sadece doku düzeyinde değil aynı zamanda serumda da bulunmaktadır (96). Ancak serumdaki İŞP70 ile doku düzeyindeki İŞP70'in görevleri arasında ne gibi farklılıklar olduğu açıklığa kavuşturulabilmiş değildir.

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

Bu çalışmada, IŞP70 geninin G2437C (IŞP70-hom) ve A1267G (IŞP70-2) gen bölgelerindeki polimorfizmlerinin iskemik inme ile ilişkisinin araştırılması amacıyla “Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu” izni alındı ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formu hazırlandı. İlgili belgeler sırasıyla Ek 1 ve Ek 2’de sunulmuştur.

Hasta grubu olarak;

- 1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı’na başvurarak iskemik inme tanısı almış olanlar,
- 2) 18 yaşını doldurmuş yetişkinler (65 yaşından büyük olanlar dahil) çalışmaya alındı.

Kontrol grubu olarak;

- 1) Merkezi sinir sistemi ile ilgili başka herhangi bir hastalığı olmayanlar,
- 2) Malignite tanısı almamış olanlar,
- 3) Koroner iskemisi olmayanlar,
- 4) Pıhtılaşma bozukluğu olmayanlar,
- 5) Kalp krizi geçirmemiş olanlar çalışmaya dahil edildi.

Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylere bilgilendirilmiş gönüllü olur formu verildi ve yapılan çalışma hakkında kişiler bilgilendirilerek onayları alındı (Ek 2). Hasta ve kontrol gruplarından rutin kontroller için alınan kan örneklerinin Merkez Laboratuvarı analizinde elde edilmiş AKŞ, trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL değerleri ile hasta ve kontrol

gruplarında hastalık geçmişlerinde diyabet, hipertansiyon ve geçirilmiş SVH var olup olmadığı, aynı zamanda sosyal hayatlarında sigara ve alkol kullanıp kullanmadıkları istatistiksel analizlere dahil edildi.

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma Uygulama Merkez Müdürlüğü Nöroloji AD birimine başvuran iskemik inme tanısı alan 84 (48 erkek, 36 kadın) hasta ve Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma Uygulama Merkez Müdürlüğü Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon AD birimine başvuran iskemik inme tanısı almayan 94 (36 erkek, 58 kadın) kontrol olmak üzere toplam 178 kişi çalışmaya dahil edildi. İskemik inmeli grubun yaş ortalaması 67.71 ± 13.16 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 55.37 ± 14.74 olarak hesaplandı.

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarından 2'şer ml'lik kan örnekleri SİGMA marka etilendiamin tetra asetik asitli (EDTA) vakumlu tüplere alındı ve kan örnekleri T.Ü. Tıp Fak. Biyofizik Anabilim Dalında, DNA izolasyon kiti (Roche, Germany) kullanarak DNA'lar izole edildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılarak izole edilen DNA'ların İŞP70 geninin G2437C ve A1267G bölgeleri çoğaltıldı. PZR sonucu oluşan ürünler etidyum bromid ile hazırlanmış %2'lik agaroz jele yüklenerek UV ışık altında ürünün oluşup oluşmadığına bakıldı. İŞP70 geninin G2437C ve A1267G bölgelerinin A ya da B allellerinden hangisine sahip olduğu Restriksiyon Fragment Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile tespit edildi. RFLP yönteminde, PZR ürünleri İŞP70 geninin G2437C polimorfizmi için NcoI (Thermo Scientific, Lithuania) ve A1267G polimorfizmi için PstI (Thermo Scientific, Lithuania) restriksiyon enzimleriyle 1 saat boyunca 37°C 'de kesime bırakıldı. Bu kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek polimorfizmleri belirlendi.

Isı Şok Protein 70-hom G2437C Gen Polimorfizmi

Isı şok protein 70-hom G2437C gen polimorfizmi tek nükleotid polimorfizmidir ve Genin +2437. pozisyonunda G/C yer değiştirmesi ile karakterizedir. Isı şok protein 70-hom G2437C gen polimorfizminde üç genotip görülmektedir. Bu genotipler +2437GG homozigot, +2437GC heterozigot ve +2437CC homozigot genotipleridir. GG (BB) homozigot genotipinde 878 bç'lik tek fragment, GC (AB) heterozigot genotipinde 878 bç, 551 bç ve 327 bç olmak üzere üç fragment ve CC (AA) homozigot genotipinde de 551 bç ve 327 bç olmak üzere iki fragmentten oluşmaktadır (97).

Isı Şok Protein 70-2 A1267G Gen Polimorfizmi

Isı şok protein 70-2 A1267G gen polimorfizmi tek nükleotid polimorfizmidir ve Genin +1267. pozisyonunda A/G yer değiştirmesi ile karakterizedir. Isı şok protein 70-2 A1267G gen polimorfizminde üç genotip görülmektedir. Bu genotipler +1267AA homozigot,

+1267AG heterozigot ve +1267GG homozigot genotipleridir. AA (AA) homozigot genotipinde 1117 bç'lik tek fragment, AG (AB) heterozigot genotipinde 1117 bç, 936 bç ve 181 bç olmak üzere üç fragment ve GG (BB) homozigot genotipinde de 936 bç ve 181 bç olmak üzere iki fragmentten oluşmaktadır (97,98).

Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Agaroz (BioMax)
- Borik Asit (Sigma)
- EDTA (Sigma)
- Tris (Bio Basic)
- Etanol %100 (Riedel)
- Etidyum Bromid (EtBr) (Sigma)
- 100 bç DNA marker (Fermantas)
- dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermantas)
- Primerler (Fermantas)
- Taq DNA polimeraz Seti (Thermo Scientific)
- PstI Restriksiyon Enzimi (Thermo Scientific)
- NcoI Restriksiyon Enzimi (Thermo Scientific)

Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)
- Güç Kaynağı (Bio-Metra)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Manyetik Karıştırıcı (Wisestir)
- Otoklav (Nüve)
- Santrifüj (Beckman Coulter)
- Terazî (AND)
- Thermal Cyclers (Techne)
- Vortex (VELP)
- ETÜV (Heraeus)
- Termo-Shaker (Boeco)
- Mikrodalga Fırın (Vestel)

Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

10xTris Borat Elektroforez (TBE) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4

60.5 gr Tris

3.72 gr EDTA

30.85 gr Borik Asit

1lt distile su içerisinde çözdürüldü.

%2'lik Agaroz Jel

0.6 gr Agaroz, 30 ml 0.5xTBE çözeltisi içinde kaynatıldı ve kaynayıp biraz beklendikten sonra EtBr eklendi.

YÖNTEMLER

DNA İzolasyon Yöntemi

Alınan kan örneklerinden DNA (Roche, Germany) saflaştırma kiti kullanılarak DNA'lar aşağıdaki adımlar uygulanarak izole edildi.

1. 200 µl tam kan 2 ml'lik ependorfların içerisine konuldu. Üzerine 20 µl proteinaz K çözeltisi ve 400 µl Liziz çözeltisi eklendi. Çözeltiler ilave edildikten sonra homojen bir karışım elde etmek için kısa bir süre vorteks edildi.
2. Hücre zarlarını tamamen parçalanana kadar karışımlar 56°C'de 10 dk inkübe edildi.
3. 200 µl etanol (% 96-100) eklendi ve kısa bir süre vorteks edildi.
4. Kolona, hazırlanmış olan karışım ilave edildikten sonra 1 dk 6000xg'de santrifüj edildi. Atığı içeren toplama tüpü atıldı ve yeni toplama tüpün içerisine kolon yerleştirdi.
5. 500 µl Wash Buffer I (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.
6. Toplama tüpün içerisindeki atık atıldı ve kolon içerisine tekrar yerleştirildi.
7. 500 µl Wash Buffer II (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 3 dk \geq 12000xg'de santrifüj edildikten sonra kolon 2 ml'lik ependorf içerisine yerleştirildi.
8. 100 µl Elution Buffer ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 dk beklendi daha sonra 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.
9. Son olarak, kolon atıldı ve saf DNA -20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi

G2437C için PZR Koşulu (ISP70-hom)

G2437C için PZR karışımı, aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik PZR tüpleri içerisinde hazırlandı.

- 1.5 µl 3 mM MgCl₂
- 1.5 µl 1x PZR Tampon (Buffer (KCl)₂SO₄)
- 0.6 µl 0.2 mM dNTP
- 0.3 µl 1 nM T174M Primer F
- 0.3 µl nM T174M Primer R
- 0.15 µl 1.25 ünite Taq DNA Polimeraz
- 17.65 µl dH₂O
- 3 µl izole edilmiş DNA
- Toplam hacim: 25 µl

G2437C için PZR Döngüsü (IŞP70-hom)

G2437C'nin bir döngüsü 94°C'de 1dk denatürleme, 58°C'de 1dk bağlanma, 72°C'de 1dk uzamadan oluşan toplam 35 döngülük bir PZR programı uygulandı.

- Başlangıç: 94°C, 5 dk
 - 94°C, 1 dk
 - 58°C, 1 dk
 - 72°C, 1 dk
 - Sonlanma: 72°C, 10 dk
- } 35 döngü

G2437C için Primer Dizileri:

F: 5'- GGACAAGTCTGAGAAGGTA -3'

R: 5'- GTAACCTTAGATTCAGGTCTGG -3'(97).

A1267G için PZR Koşulu (IŞP70-2)

A1267G için PZR karışımı, aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik PZR tüpleri içerisinde hazırlandı.

- 1.5 µl 3 mM MgCl₂
- 1.5 µl 1x PZR Tampon (Buffer (NH₄)₂SO₄)
- 0.6 µl 0.2 mM dNTP
- 0.3 µl 1 nM M235T Primer F

0.3 µl 1 nM M235T Primer R
0.15 µl 1.25 ünite Taq DNA Polimeraz
17.65 µl dH₂O
3 µl izole edilmiş DNA
Toplam Hacim: 25 µl

A1267G için PZR Döngüsü (IŞP70-2)

A1267G'nin bir döngüsü için 94°C'de 1 dakika denatürleme, 56°C'de 1 dakika bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzamadan oluşan toplam 35 döngülük bir PZR programı uygulandı.

Başlangıç: 94°C, 5 dk
94°C, 1 dk
56°C, 1 dk
72°C, 1 dk
35 döngü
Sonlanma: 72°C, 10 dk

A1267G için Primer Dizileri

F: 5'- CATCGACTTCTACACGTCCA -3'
R: 5'- CAAAGTCCTTGAGTCCCAAC -3'(97).

Restriksiyon Enzim Kesim Yöntemi (RFLP)

G2437C için RFLP (Thermo Scientific, Lithuania)

G2437C için RFLP aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı.

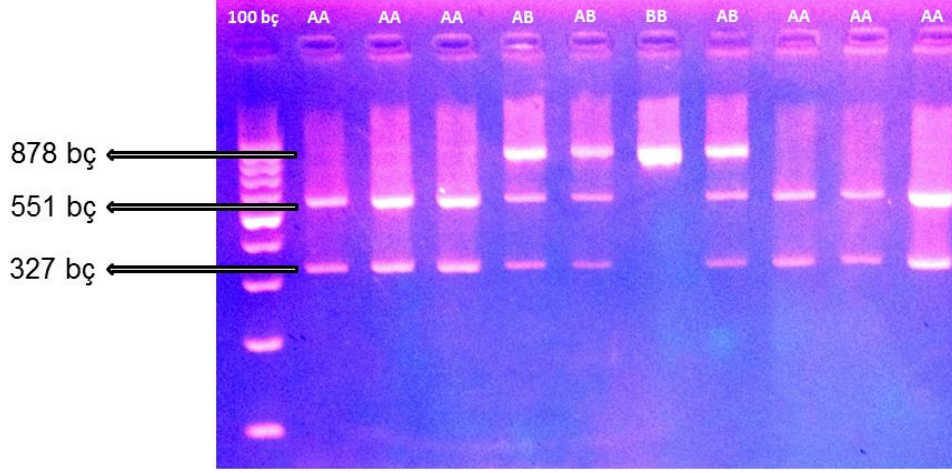
1 µl 10x Fast Digest Green Buffer
0.5 µl 1x Fast Digest NcoI restriksiyon enzimi
8 µl dH₂O
5 µl (~0.2 µg) PZR reaksiyon ürünü

Yukarıdaki karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi (Şekil 2).

NcoI kesim enziminin çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

5'...C↓C A T G G...3'

3'...G G T A C↑C...5'



Şekil 2. Hasta ve kontrol PZR ürünlerinin IŞP70 geninin G2437C bölgesini içeren RFLP sonucunun %2'lik jelde yürütülmesi ve UV ışık altında incelenmesi (AA=CC, AB=GC, BB=GG)

A1267G için RFLP (Thermo Scientific, Lithuania)

A1267G için RFLP aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı.

1 µl 10x Fast Digest Green Buffer

0.5 µl 1x Fast Digest PstI restriksiyon enzimi

8 µl dH₂O

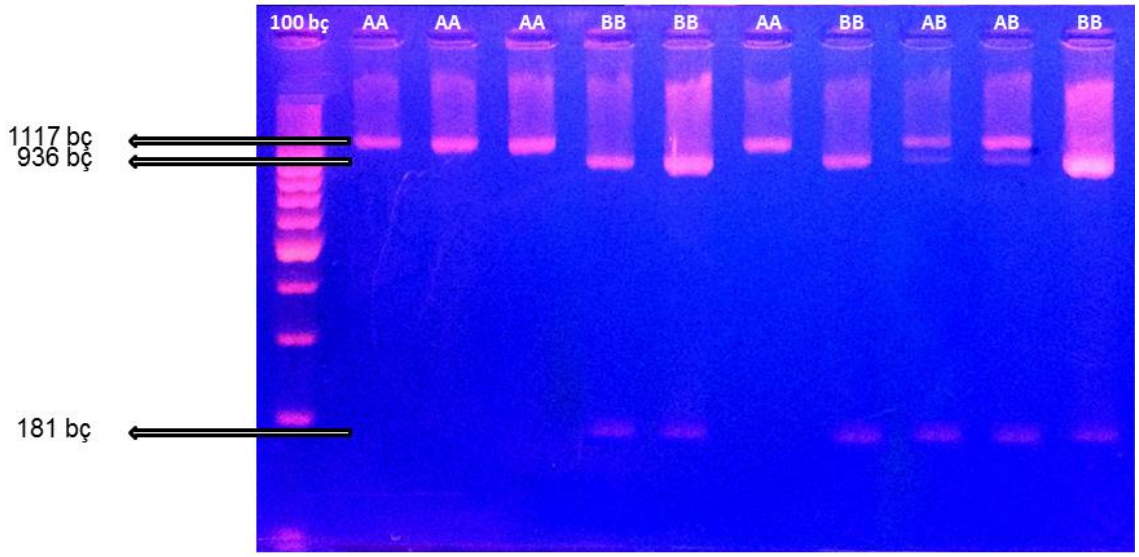
5 µl (~0.2 µg) PZR reaksiyon ürünü

Yukarıdaki karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi (Şekil 3).

PstI için çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

5'...C C T G C A↓G...3'

3'...G↑A C G T C...5'



Şekil 3. Hasta ve kontrol PZR ürünlerinin IŞP70 geninin A1267G bölgesini içeren RFLP sonucunun %2'lik jelde yürütülmesi ve UV ışık altında incelenmesi (AA=AA, AB=AG, BB=GG)

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için öncelikle, aykırı değer ve parametrik varsayımların kontrolü yapıldı. Bu amaçla, normal dağılım varsayımının sağlandığı Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Sayısal değişkenler için ikili grup karşılaştırmaları Student t-testi kullanılarak gerçekleştirildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için ise Pearson ki-kare testi kullanıldı. Bunun yanı sıra, iskemik inme ile ilişkili risk faktörlerinin ve IŞP70 G2437C ve A1267G gen bölgelerindeki polimorfizimler ile risk faktörleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi için çoklu lojistik regresyon analizi kullanıldı. Kullanılan tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya, İŞP geninin G2437C ve A1267G gen bölgeleri için; iskemik inme tanısı almış 84 hasta (48 erkek, 36 kadın) ve iskemik inme tanısı almamış 94 kontrol (36 erkek, 58 kadın) olmak üzere toplam 178 kişi dahil edildi. İskemik inmeli grubun yaş ortalaması 67.71 ± 13.16 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 55.37 ± 14.74 olarak hesaplandı. Çalışmaya katılan gruplara ilişkin demografik ve klinik bulgular incelendi. Gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırılırken, kategorik değişkenler için Pearson ki-kare testi, sayısal değişkenler için ise Student t-testi kullanıldı. Elde edilen bulgular çerçevesinde cinsiyet, yaş, hipertansiyon, sigara içme durumu, alkol kullanımı, geçirilmiş SVH, AKŞ ve HDL iskemik inme ile ilişkili bulundu. İskemik inmeli grup kolesterol düşürücü ilaç tedavisi aldığı için total kolesterol, HDL ve LDL değerleri kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. Bulgular Tablo 2’de özetlendi.

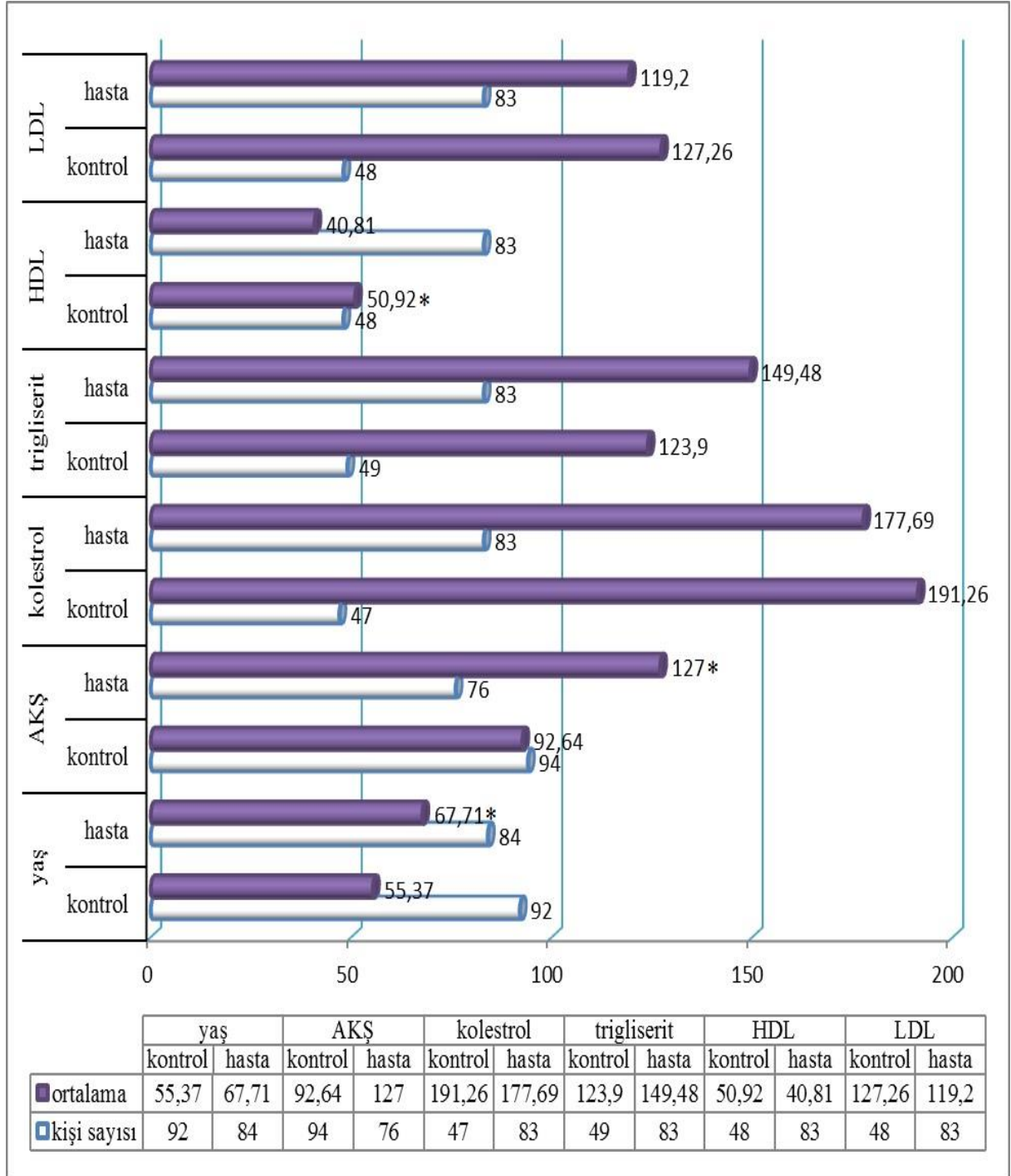
Tablo 2. Kontrol ve hasta grubunun demografik ve klinik özellikleri

	Kontrol grubu (n=94)	İskemik inmeli grup (n=84)	p-değeri
Cinsiyet (E/K)	36/58	48/36	<0,05*
Yaş (yıl)	55,37±14.74	67,71±13.16	<0,001†
Hipertansiyon (%)	38,2	68,2	<0,001*
Diyabet (%)	27,6	30,4	0,68*
Sigara kullanımı (%)	8,6	34,1	<0,001*
Alkol kullanımı (%)	4,2	20,9	0,001*
Geçirilmiş SVH (%)	0	34,5	<0,001*
Kolesterol (mg/dl)	191,26	177,69	0,093†
Açlık kan şekeri (mg/dl)	92,64	127,00	<0,001†
HDL (mg/dl)	50,92	40,81	<0,001†
LDL (mg/dl)	127,26	119,20	0,232†
Trigliserid (mg/dl)	123,90	149,48	0,073†

*Pearson ki-kare testi sonucunda elde edilen p değeri; †Student t-testi sonucunda elde edilen p değeri.

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein; **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein; **SVH:** Serebrovasküler hastalık

Hasta ve kontrol gruplarının Merkez Laboratuvarı analizinde elde edilmiş AKŞ, trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL değerleri ile yaşlarına ilişkin kümelenmiş yatay silindir grafiği Şekil 4’te veri tabloları ile birlikte verilmiştir.

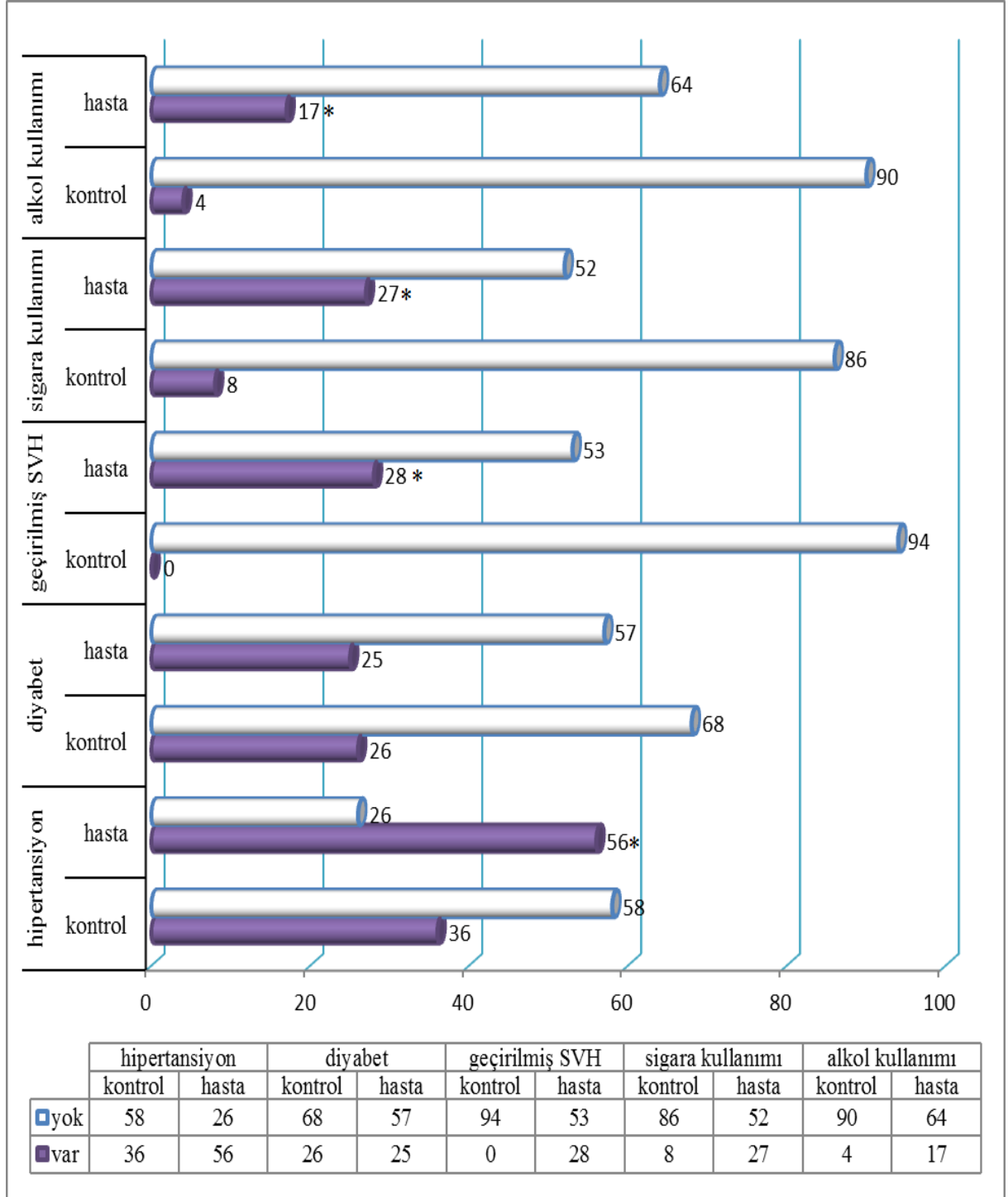


Şekil 4. Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal ve biyolojik özellikleri

* p ≤ 0.001

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein; **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein; **AKŞ:** Açlık kan şekeri

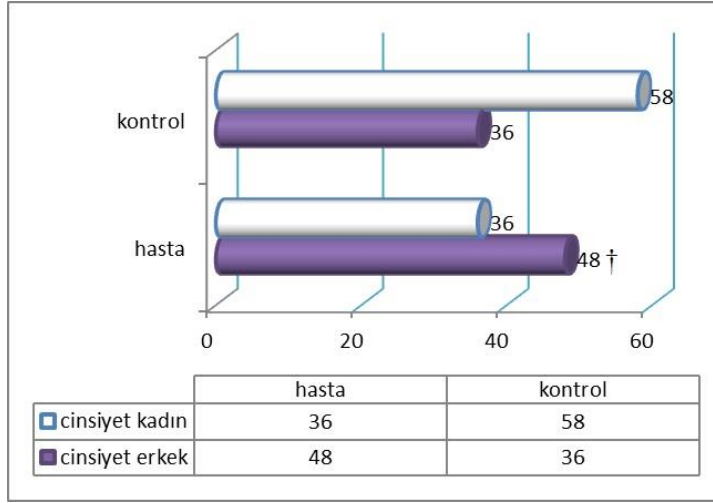
Hasta ve kontrol gruplarının hastalık geçmişlerinde diyabet, hipertansiyon ve geçirilmiş SVH var olup olmadığı ile sosyal hayatlarında sigara ve alkol kullanıp kullanmadıklarına ilişkin kümelenmiş yatay silindir grafiği Şekil 5'te veri tabloları ile birlikte verilmiştir.



Şekil 5. Kimi hastalık ve davranışların hasta ve kontrol grubunda durumu

* $p \leq 0.001$; SVH: Serebrovasküler hastalık

Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine göre dağılımlarına ilişkin kümelenmiş yatay silindirik grafiği Şekil 5'te veri tabloları ile birlikte verilmiştir.



Şekil 6. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine ilişkin dağılım grafiği
† p≤ 0.05

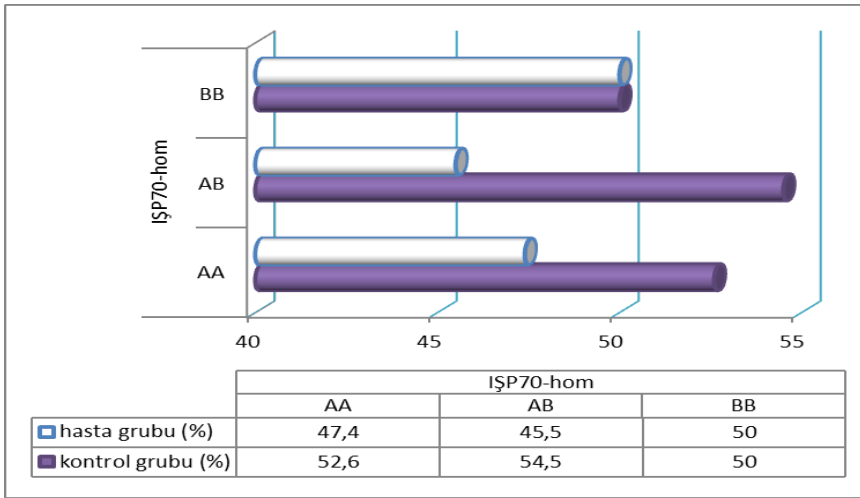
Tek değişkenli analizler sonucunda iskemik inme ile ilişkili olduğu bulunan risk faktörleri (Tablo 2) kullanılarak çoklu lojistik regresyon analizi gerçekleştirildi. Lojistik regresyon analizi bulgularında; her bir değişkene ilişkin beta katsayısı, ilgili katsayıya ilişkin standart hata ve her bir değişkene ilişkin p-değeri verilmiştir. Bunun yanı sıra, etki büyüklüğünün bir ölçüsü olan Odds oranı (Odds ratio, OR) bulgularında yer almıştır. Çoklu lojistik regresyon bulguları Tablo 3'te özetlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre; yaş, hipertansiyon, HDL, AKŞ ve sigara kullanımı iskemik inmenin risk faktörleri olarak belirlendi (p<0.05).

Tablo 3. Risk faktörleri için çoklu lojistik regresyon sonuçları

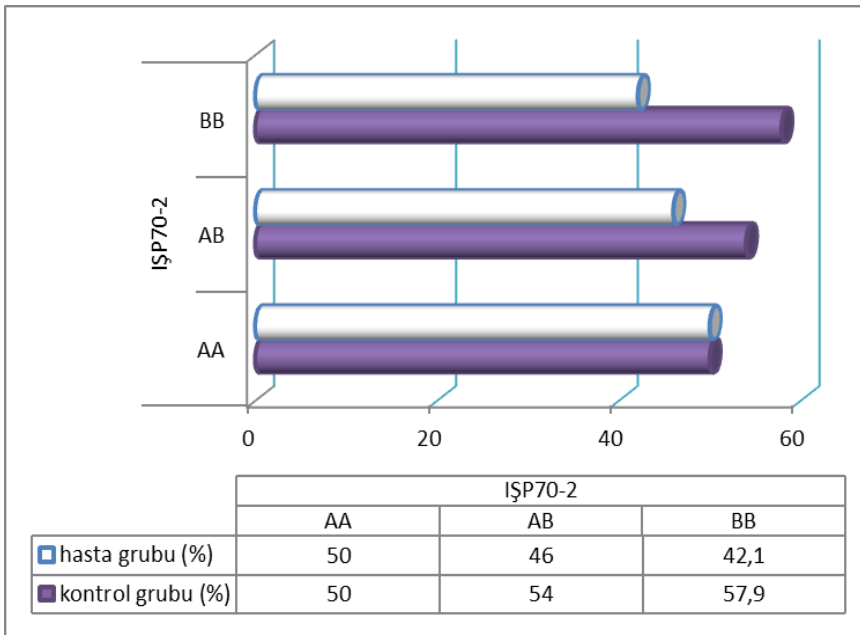
	Beta Kat.*	St. Hata†	p-değeri	OR‡
Yaş	0.090	2.011	<0.001	1.094
Hipertansiyon	1.142	0.586	0.051	3.132
HDL	-0.061	0.024	0.011	0.941
AKŞ	0.026	0.011	0.015	1.026
Sigara kullanımı	3.617	0.932	<0.001	37.230

***Beta Kat.:** Beta Katsayısı; †**St. Hata:** Standart Hata; ‡**OR:** Odds Ratio (Odds Oranı)
HDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein; **AKŞ:** Açlık kan şekeri

Kontrol ve hasta gruplarına ait G2437C ve A1267G gen bölgelerindeki genotip dağılımları Şekil 7 ve Şekil 8’de özetlenmiştir. G2437C gen polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında, iskemik inmeli hasta grubun için AA=%47.4, BB=%50 ve AB=%45.5 ve kontrol grubu için AA=%52.6, BB=%50 ve AB=%54.5 olarak bulundu. A1267G gen polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında, iskemik inmeli hasta grubu için AA=%50, BB=%42.1 ve AB=%46 ve kontrol grubu için AA=%50, BB=%57.9 ve AB=%54 olarak bulundu.



Şekil 7. G2437C gen polimorfizminin genotip dağılımı (AA=CC, AB=GC, BB=GG)



Şekil 8. A1267G gen polimorfizminin genotip dağılımı (AA=AA, AB=AG, BB=GG)

TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verileri inmenin tüm dünyada ölüm nedenlerinin arasında 3. sırada olduğunu göstermektedir (2) ve iskemik inme, serebrovasküler hastalık vakalarının % 80'ini oluşturur. Kalan % 20'sini intraserebral veya subaraknoid kanamalar oluşturur (98). Serebral infarkt, geniş damar embolisi ile ateroskleroz gibi damar hastalıkları sonucu oluşan sistemik vasküler hastalıklar sonucu kafatası içindeki oksijenin ve glukoz miktarının indirgenmesinden kaynaklanır. Genetik ve serebrovasküler bozukluklar arasındaki ilişki son yıllarda araştırma odağı haline gelmiştir. İskemik inme etyolojisi ve patogenezi henüz bilinmemektedir ancak tüm kanıtlar genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile çok faktörlü sonuçlara neden olduğunu göstermektedir (97).

Yıllık % 9 büyüyen serebral infarkt Çin'de en önemli mortalite nedenidir. Çin'de serebral infarkt ölüm oranı, tüm batı ülkelerinden 4 kat fazla olarak dünyada en yüksektir. Genel olarak genetik faktörler, çevre ve aralarındaki etkileşim beyin infarktına neden olmakla birlikte genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Pek çok çalışma, İŞP70'in enflamasyon ve oto-bağışıklık hastalıkları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (99).

Ridker ve ark. (2000) kronik ve hafif iltihapların serebral iskemi risk faktörleri olan aterosklerotik plak ve trombozun ana nedeni olduğunu göstermişlerdir (100). Daha da önemlisi, Benjamin, McMillan (1998) ve Favatier ve ark. (1997) İŞP70 çoklu gen ailesinin iskemik inme esnasında sinir hücrelerini koruyucu proteinler olarak tanımlamışlardır. İŞP70'in anti oksidatif etkisi olduğunu göstererek İŞP70 varyantları ile enflamasyon ve yaşlanma gibi hastalıklarda da rol alan oksidasyon ve anti-oksidasyon dengesizliği arasında ilişki olabileceğini düşünmüşlerdir.

IŞP70 ailesi 3 ana gen bölgesinden oluşmaktadır. Bunlar IŞP70-hom, IŞP70-1 ve IŞP70-2'dir (101).

Isı ile uyarılabilir IŞP70-2 genindeki A1267G varyantı ve kurucu olarak ifade edilen IŞP70-hom genindeki kodlama varyasyonu T2437C daha önceki yıllarda incelenmeye değer görülmüştür (102). Değişken IŞP70-2 mRNA ifadesinin ve 1267 polimorfizminin birleşmesi de bildirilmiştir (103). Pociot ve ark. IŞP70 ekspresyonunda kişiler arası farklılıkların transkripsiyonel düzenlenmesinde farklı düzenleyici mekanizmalar ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. 1267A alelinin Japon hastalarda Crohn hastalığının daha az şiddetli klinik fenotipinin olası bir genetik belirteci olduğunu bildirmişlerdir (104). Öngörülen peptid bağlayıcı etki alanındaki IŞP70-hom 2437 gen polimorfizmleri, HSP70-hom şaperon aktivitesini ve alt-tabaka özgülüğünü etkileyebilir (102). Meksikalılarda spondiloartropatiler ile IŞP70-hom 2437 T alleli arasında önemli bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (105). Ancak, Liu ve ark. çalışmasında bu iki polimorfizm için hasta ve kontroller arasında alel ve genotip dağılımı farklılık göstermemiştir. Liu ve ark. çalışma sonuçları IŞP70-2 ve IŞP70-hom gen polimorfizmlerinin Çinli bireylerde iskemik inmeye yatkınlığa neden olmadığını göstermektedir. Bizim verilerimiz de Liu ve ark. çalışmalarıyla örtüşmektedir. Benzer bir çalışma da IŞP70-2 ve IŞP70-hom gen polimorfizmlerinin Çinli hastalarda Parkinson hastalığına yatkınlığa neden olmadığı da saptanmıştır. Bizim sonuçlar, IŞP70-2 ve IŞP70-hom gen polimorfizmlerinin geniş kohortta inme riski ile ilişkili olmadığı sonucunu belirten Zee ve ark. ile örtüşmektedir (106). Ancak, A1267G IŞP70-2 polimorfizmi karotis plak rüptürü ve serebral iskemi riski altındaki B + NIDDM'li hastaların belirlenmesinde yararlı olabileceği ve artmış rölatif riskin B aleli ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (98). Bunun aksine, bazı çalışmalarda normokolesterolemik IŞP aşılınmış tavşanlarda gösterildiği gibi IŞP70 ekspresyon seviyesinin, ateroskleroz şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Liu ve ark. çalışması IŞP70 gen ailesinin inme patogenezinde olduğunu göstermektedir. 190b1b2 genotipi iskemik inme riski ile anlamlı ilişkili bulunmuştur. Bu yüzden, IŞP70-1 polimorfizmi ve iskemik inme arasındaki ilişkinin Çinli nüfusunda anlamlı olduğunu göstermiştir. Özetle, Liu ve ark. çalışması iskemik inme riski ile IŞP70-1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi desteklemektedir (97). Wei ve ark. çalışmasındaki veriler HSP70-1 G190G SNP hasta grubunda daha yüksek bir dağılım göstererek serebral iskemi ile ilişkili olduğunu desteklemiştir. Bu ilişki ayrıca Çinli Shenzhen Han nüfusundan bir kısım insan ile Liu ve ark. tarafından yürütülen çalışma ile teyit edilmiştir, ancak bu çalışma Zee ve ark. Transkafkasya ile yaptıkları çalışmanın sonuçları ile tutarlı değildir (2000). Bu

çalışmalardaki farklılık ırkların farklılığı ve bu ırklara olan çevre ile gen etkileşiminin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Bizim çalışmamızda IŞP70 gen ailesinin IŞP70-1 gen polimorfizmi bakılmamıştır fakat ileri ki çalışmalarda IŞP70-1 gen polimorfizminin incelenmesi sonucu Türk ırkındaki iskemik inme ile ilişkisinin belirlenmesinin iskemik inme gerçekleşmeden önlem alınmasına katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

Wei ve ark. çalışmalarında hastalar ile kontroller arasında HSP70-2 A1267G genotiplerinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmemiştir ve bu veriler bizim çalışma sonuçlarımızla örtüşmektedir. Nörolojik hastalıklar açısından, Giacconi ve ark. (2005) IŞ70-2 1267G alelli eski tip 2 diyabet-aterosklerotik hastaların karotis plak rüptürü ve serebral iskemik inme açısından risk altında olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca, Wei ve ark. çalışmalarında 2437TT IŞP70-hom varyantının iskemik inme riski oluşturduğunu göstermişlerdir. Fakat bizim sonuçlarımız Giacconi ve ark. (2005) ile Wei ve ark. çalışmalarına bu bağlamda örtüşmemektedir.

Hipertansiyon aterosklerozun önemli bir risk faktörü olarak bilinmektedir. Endotel hücreleri, yüksek kan basıncının kesme kuvveti ile hasar alarak inflamasyona neden olmuş olabilirler. Son bulgular hipertansiyonun ana nedeni olan anjiyotensin II'nin oksidatif stresi aktive ederek kan damarlarının inflamasyonunu teşvik ettiğini göstermektedir (Mason,2011). Genellikle endotelial hasara inflamatuvar yanıt olan ateroskleroz, serebral iskeminin önemli sonuçlarından biri olarak kabul edilmektedir (Li ve Chen, 2005). İntrakranial kabın aterosklerotik plağı birincil olarak makrofajlardan, lipid yoğun makrofajlardan, düşük yoğunluklu lipoproteinlerden ve nötral lipidlerden oluşmaktadır (Rosenfeld, 2000 Matsushita ve arkadaşları, 2000). Sonuç olarak, ateroskleroz arter genişlemesine, arteriyel darlığına ve sonunda serebral iskemiyeye neden olmaktadır. IŞP70'in anti-enflamatuvar rolü, çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Yenari ve ark., 2005). Bu işlem sırasında IŞP70, geçici iskeminin neden olduğu apoptosisten sinir hücrelerini koruyabilmektedir. Serebral iskemiden muzdarip hipertansiyon olmayan hastalar kötü bir anti-apoptotik fonksiyona veya genetik polimorfizmler ile belirlenen IŞP70'in düşük ekspresyon seviyesine sahip olabilirler (98).

Grossman ve ark. (2008) HDL düzeyi düşük hastalarda kontrollere göre serebral iskemik inme geliştirme olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (98).

HDL düzeyi ile iskemik inme arası ilişkiye çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre baktığımızda HDL seviyesindeki 10 mg/dl'lik artış iskemik inme riskini %6 azaltmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızın sonuçları Grossman ve ark. ile örtüşmektedir.

Adler ve ark. (2000) hipertansiyon ve diyabet arasındaki etkileşimin önemli ölçüde iskemik serebrovasküler hastalık riskini arttırdığını bildirmişlerdir (98).

Çalışmamızdaki analizlerde hipertansiyon varlığının iskemik inme riskini 3.1 kat arttırdığı sonucuna varıldı. Bu sonuç Adler ve ark. (2000) ile örtüşmekte iken diyabet varlığının iskemik inme ile ilişkili olmaması sonucu Adler ve ark. (2000) ile örtüşmemektedir.

Zee ve ark. (106) (2002) IŞP70 genindeki genetik polimorfizmlerinin 12 yıllık bir süre içinde takip edilen sağlıklı erkeklerin geniş kohortta gelecekte inme riski ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Bu bağlamda çalışmamızda elde ettiğimiz gen polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarında birbirine yakın çıkmış olması Zee ve ark. (2002) sonuçları ile örtüşmektedir.

Fakat, daha önce de belirttiğimiz gibi, ileri ki çalışmalarda IŞP70-1 gen polimorfizminin incelenmesi sonucu Türk ırkındaki iskemik inme ile ilişkisinin belirlenmesinin iskemik inme gerçekleşmeden önlem alınmasına katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

İskemik inmede rolü olduğu bilinen yaş, cinsiyet, hipertansiyon varlığı, diyabet varlığı, sigara içme durumu, alkol kullanımı, geçirilmiş SVH, total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid gibi risk faktörleri belirlendikten sonra bu risk faktörleri göz önünde bulundurularak iskemik inme tanısı almış kişilerden oluşan bir hasta grubu ve iskemik inme tanısı almamış kişilerden oluşan bir kontrol grubu belirlenerek çalışmaya başlandı.

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma Uygulama Merkez Müdürlüğü Nöroloji AD birimine başvuran iskemik inme tanısı alan 84 (48 erkek, 36 kadın) hasta ve Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma Uygulama Merkez Müdürlüğü Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon AD birimine başvuran iskemik inme tanısı almayan 94 (36 erkek, 58 kadın) kontrol olmak üzere toplam 178 kişi çalışmaya dahil edildi. T.Ü. Tıp Fak. Biyofizik Anabilim Dalında, DNA izolasyonu, PZR, RFLP ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılarak, iskemik inme ile İŞP70 geninin G2437C ve A1267G gen polimorfizimleri arasındaki ilişki incelendi. Ayrıca, iskemik inme ile ilişkili risk faktörleri belirlenmeye çalışıldı.

Çalışmamızda, öncelikle belirlenen risk faktörleri için (cinsiyet, yaş, hipertansiyon varlığı, diyabet varlığı, sigara içme durumu, alkol kullanma durumu, geçirilmiş SVH, kolesterol, AKŞ, HDL, LDL ve trigliserid) tek değişkenli analizler gerçekleştirildi. Yapılan tek değişkenli analizler sonucunda; yaş (iskemik inme=67.71±13.16, kontrol=55.37±14.74), hipertansiyon (iskemik inme=%68.2, kontrol=%38.2), sigara içme durumu (iskemik inme=%34.1, kontrol=%8.6), alkol kullanımı (iskemik inme=%20.9, kontrol=%4.2), geçirilmiş SVH (iskemik inme=%34.5, kontrol=%0), AKŞ (iskemik inme=127, kontrol=92.64), HDL (iskemik inme=40.81, kontrol=50.92) ve cinsiyet'in [iskemik inme=48/36(e/k), kontrol=36/58(e/k)] iskemik inme ile ilişkili olduğu ortaya kondu (p<0.05).

Yaş ile ilgili anlamlılık, ortalamaların birbirinden farklı olması sonucu oluşmuş gibi gözükmekte. Fakat bu fark (engellenemeyen bir sonuç olarak) tez süresince toplanan örneklerde iskemik inme geçirmemiş 67 yaş civarı denek popülasyonun ve iskemik inmeli 55 yaş civarı denek popülasyonun az olmasından kaynaklanmıştır. Hipertansiyon varlığı, diyabet varlığı, sigara içme durumu, alkol kullanımı, trigliserid ve geçirilmiş SVH sıklıkları iskemik inmeli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Bununla birlikte, kolesterol, LDL, HDL seviyesi ve AKŞ ortalamasının kontrol grubunda iskemik inmeli gruba göre daha yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte, diyabet varlığı, kolesterol, LDL ve trigliserid ile iskemik inme arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Daha sonra, G2437C ve A1267G gen bölgelerindeki polimorfizimlerin iskemik inme ile ilişkisi araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, G2437C gen polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında, iskemik inmeli hasta grubu için AA=%47.4, BB=%50 ve AB=%45.5 ve kontrol grubu için AA=%52.6, BB=%50 ve AB=%54.5 olarak bulundu. A1267G gen polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında, iskemik inmeli hasta grubu için AA=%50, BB=%42.1 ve AB=%46 ve kontrol grubu için AA=%50, BB=%57.9 ve AB=%54 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre, G2437C ve A1267G için iskemik inmeli grup ve kontrol grubu arasında genotip sıklıklarının çok benzer olduğu gözlemlendi.

Yukarıda tek değişkenli analizlerde iskemik inme ile ilişkili olduğu bulunan risk faktörleri çoklu lojistik regresyon analizi kullanılarak incelendi. Yapılan analiz sonucunda, yaş (OR=1.094, $p<0.001$), hipertansiyon varlığı (OR=3.132, $p=0.051$), HDL seviyesi (OR=0.941, $p<0.05$), AKŞ (OR=1.026, $p<0.05$) ve sigara kullanımı (OR=37.230, $p<0.001$) iskemik inme ile ilişkili risk faktörleri olarak bulundu. Buna göre, hipertansiyon varlığı iskemik inme riskini 3.1 kat ve her 1 yaş yaşlanma iskemik inme riskini %9 arttırmaktadır. Buna karşın, HDL seviyesindeki 10 mg/dl'lik artış iskemik inme riskini %6.1 azaltmaktadır.

Sonuç olarak; gerçekleştirdiğimiz çalışmada cinsiyet, yaş, hipertansiyon varlığı, sigara içme durumu, alkol kullanımı, geçirilmiş SVH, AKŞ ve düşük HDL seviyesi iskemik inme ile ilişkili bulundu.

ÖZET

İskemik inme, multifaktöriyel bir hastalık olup hem çevresel hem de genetik faktörler etyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, iskemik inmenin patogenezine katkıda bulunan aday genleri çalışmak, iskemik inmenin etyolojisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Isı şok protein 70 (İŞP70), hücrelerin normal yapılarına tekrar sahip olmalarına ve fonksiyonlarını yerine getirmelerine yardım eden en önemli hücresel proteindir, bu nedenle iskemik inmenin patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, iskemik inme tanısı alan hastalarda İŞP70 geninin G2437C ve A1267G gen bölgelerindeki polimorfizimlerin iskemik inme ile ilişkisinin araştırılması ve iskemik inmeye yol açtığı düşünülen olası risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya, yaşları ve cinsiyetleri eşleşen 84 iskemik inmeli hasta ve 94 kontrol alındı. G2437C ve A1267G gen polimorfizimlerini belirlemek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemleri uygulandı. PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülüp, etidyum bromid (EtBr) ile boyanarak ultraviyole (UV) ışık altında incelendi ve daha sonra RFLP yöntemi ile gen polimorfizimleri tespit edildi. Ki-kare testi kullanılarak gen polimorfizimleri ile iskemik inme arasındaki ilişki araştırıldı ve çoklu lojistik regresyon kullanılarak iskemik inme için risk faktörleri belirlendi.

G2437C ve A1267G için genotip dağılımları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

Pearson ki-kare ve student t-testi sonucunda elde edilen verilere dayanarak alkol kullanımı ($p=0.001$), geçirilmiş SVH ($p=<0.001$) ve erkek olmak ($p<0.05$) iskemik inme ile ilişkili risk faktörleri olarak bulundu.

Çoklu lojistik regresyon analizi sonucu yaş (OR=1.094, $p<0.001$), hipertansiyon varlığı (OR=3.132, $p=0.051$), düşük HDL seviyesi (OR=0.941, $p<0.05$), AKŞ (OR=1.026, $p<0.05$) ve sigara kullanımı (OR=37.230, $p<0.001$) iskemik inme ile ilişkili risk faktörleri olarak bulundu.

Anahtar kelimeler: İskemik İnme, Isı Şok Protein 70, G2437C, A1267G, Polimorfizm

INVESTIGATION OF HEAT SHOCK PROTEIN 70 GENE POLYMORPHISMS IN ISCHEMIC STROKE TURKISH PATIENTS

SUMMARY

Ischemic stroke is a multifactorial disease plays an important role in both environmental and genetic factors in the etiology. Therefore, the work of candidate genes that contribute to the pathogenesis of ischemic stroke may help to understand the etiology of ischemic stroke. Heat shock protein 70 (HSP70), helping cells to fulfill their normal structure and function again that have been the most important cellular protein, so it is thought to play a role in the pathogenesis of ischemic stroke. In this study, we aimed to investigate the relationship between polymorphisms of the diagnosis of ischemic stroke in patients with ischemic stroke in HSP70 gene G2437C and A1267G gene and identification of potential risk factors that cause ischemic stroke.

The study included 84 age and sex matched controls were enrolled, and 94 patients with ischemic stroke. G2437C and A1267G gene polymorphisms to determine the Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) methods were applied. PCR products was carried out on 2% agarose gels, ethidium bromide (EtBr) stained with ultraviolet (UV) light and then viewed under genes by RFLP polymorphisms were detected. Chi-square tests were used to investigate the relationship between gene polymorphisms with risk factors for ischemic stroke and ischemic stroke were determined using multiple logistic regression.

A significant difference between genotype distributions for G2437C and A1267G were observed ($p > 0.05$).

Pearson's chi-square and Student's t-test based on the data obtained as a result of alcohol use ($p=0.001$), history of CVD ($p<0.001$) and male ($p<0.05$) were found to be risk factors associated with ischemic stroke.

Multiple logistic regression analysis showed that age (OR=1.094, $p<0.001$), hypertension (OR=3.132, $p=0.051$), low HDL level (OR=0.941, $p<0.05$), fasting blood glucose (OR=1.026, $p<0.05$) and smoking (OR=37.230, $p<0.001$) were found to be risk factors associated with ischemic stroke.

Key words: Ischemic Stroke, Heat Shock Protein 70, G2437C, A1267G, Polymorphism

KAYNAKLAR

1. <http://www.dicle.edu.tr/Contents/032ea9bd-3bc9-45d9-bf13-c61e7cf9bda3.pdf> Varol S. Serebrovasküler Hastalıklar, Dicle Üniversitesi Nöroloji AD
2. Bozkurt M. Serebrovasküler Hastalıklarda Metabolik Sendrom (tez) İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.
3. Kiely DK, Wolf PA, Cupples LA, Beiser AS, Myers RH. Familial aggregation of stroke: the Framingham Study. *Stroke*. 1993; 24: 1366-1371.
4. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR, Robinette CD. A study of twins and stroke. *Stroke* 1992; 23: 221-223.
5. Farzaneh-Far A, Daves JD, Braam LA, Spronk HM, Proudfoot D, Chan SW. et al. A Polymorphism of the Human Matrix γ Carboxyglutamic Acid Protein Promoter Alters Binding of an Activating Protein-1 Complex and Is Associated with Altered Transcription and Serum Levels. *JBC* 2001; 276(35): 32466-32473.
6. Pratt WB, Toft DO. Regulation of Signaling Protein Function and Trafficking by the hsp90/hsp70- Based Chaperone Machinery. *Exp Biol Med* 2003; 228(2): 111-33.
7. Derek SW, Hector RW. Heat shock response and acute lung injury. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 1-14.
8. Thomas X, Campos L, Le QH, Guyotat D. Heat shock proteins and acute leukemias. *Hematology* 2005; 10(3): 225-35.
9. Üzümcü Z. Pseudomonas SP. Suşlarında Cold Shock Protein İzolasyonu ve SDS-PAGE Analizi (tez) Çukurova Üniversitesi; 2009.
10. Özdemir G. Serebrovasküler hastalıklardan stroka yaklaşım. *Türkiye Klinikleri J Neur* 2004; 2(1): 1-14.

11. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Bennett JC, Plum F. Cecil Essentials of Medicine Türkçe 4. Baskı (Çev. Ed: Sıva A) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2000. s.858-873.
12. Coban O. Beyin damar hastalıklarında tanımlar, sınıflama, epidemiyoloji ve risk faktörleri. Nöroloji İÜ İstanbul Tıp Fakültesi temel ve klinik bilimler ders kitapları (Ed: Öge AE.) , İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004. s.193-197.
13. Cerebrovascular disorders. Clinical and research classification: WHO ofset publ. No: 43 Geneva 1978; S:82
14. Kumral E. Serebrovasküler hastalıkların epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri J Neur 2(1): 15-21, 2004.
15. Whisnant JP, Basford JR, Bernstein EF, Cooper ES, Dyken ML, Easton JD. et al. Classification of cerebrovascular diseases III. Stroke 1990; 21: 637-676
16. Özdemir G, Özkan S, Uzun N, Özdemir Ö, Gücüyener D. Türkiye’de beyin damar hastalıkları için major risk faktörleri: Türk çok merkezli strok çalışması. Türk BDH Derg. 6; 2: 31-5, 2000.
17. Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. Lancet 337:1521-6, 1991.
18. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke. 24(1):35-41, 1993.
19. Utku U, Çelik Y. İnmede etiyoloji, sınıflandırma ve risk faktörleri. Serebrovasküler Hastalıklar 2.Baskı (Ed: Balkan S) İstanbul: Günes Kitabevi; 2005. s.57-71.
20. Adams Jr HP, Bendixen BH, Kapelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL. et al. the TOAST Investigators. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definition for use in multicenter clinical trial. Stroke 1993; 24: 35-41.
21. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM. et al. American Heart Association Prevention Conference IV: prevention and rehabilitation of stroke: risk factors. Stroke 1997; 28: 1507-1517.
22. Whisnant JP. Modeling of risk factors for ischemic stroke: the Willis Lecture. Stroke 1997; 28: 1840-1844.
23. Wolf PA, D’Agostino RB, Belanger AJ and Kannel WB. Probability-of stroke: a risk profile from the Framingham Study. Stroke 1991; 22: 312-318.
24. Lindenstrom E, Boysen G. and Nyboe J. Lifestyle factors and risk of cerebrovascular disease in women: the Copenhagen City Hearth Study. Stroke 1993; 24: 1468-1472.
25. Howard G, Anderson R, Sorlie P, Andrews V, Backlund E. and Burke GL. Ethnic differences in stroke mortality between non- Hispanic whites, Hispanic whites and blacks: the National Longitudinal Mortality Study. Stroke 1994; 25: 2120-2125.

26. Liao D, Myers R, Hunt S, Shahar E, Paton C, Burke G. et al. Familial history of stroke and stroke risk the Family Hearth Study. *Stroke* 1997; 28: 1908-1912.
27. Hrubec Z, Robinette CD. The study of human twins in media T-research. *N Engl J Med* 1984; 310: 435-441.
28. Qizilbash N, Lewington S, Duffy S, Peto R, Smith T, Spiegelhalter D. et al. Cholesterol, diastolic blood pressure and stroke: 13000 strokes in 450000 people in 45 prospective cohorts: prospective Studies Colloboration. *Lancet* 1995; 346: 1647-1653.
29. Hanson L. Results of the STOP-Hypertension-2 trial. *Blood Press Suppl* 2000; 2: 17-20.
30. Staessen JA, Fagard R, Thijs L, Celis H, Arabidze GG, Birkenhager WH. et al. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension: the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. *Lancet* 1997; 350: 757-764.
31. Burchfiel CM, Curb JD, Rodriguez BL, Abbott RD, Chiu D and Yano K. Glucose intolerance and 22-year stroke incidence: the Honolulu Heart Program. *Stroke* 1994; 25: 951-957.
32. UK Prospective Diabetes Study Group: tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317 (7160): 703-713.
33. Curb JD, Pressel SL, Cutler JA, Savage PJ, Applegate WB, Black H. et al. Effect of diuretic-based antihypertensive treatment on cardiovascular disease risk in older diabetic patients with isolated systolic hypertension. Systolic Hypertension in the Elderly Program Cooperative Research Group. *JAMA* 1996; 276: 1886-1892.
34. Hearth Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Lancet* 2000; 355: 253-259.
35. Wilson PW, Garrison RJ, Castelli WP, Feinleib M, McNamara PM and Kannel WB. Prevalence of coronary heart disease in the Framingham Offspring Study: role of lipoprotein cholesterols. *Am J Cardiol* 1980; 46: 649-654.
36. Iso H, Jacobs DR Jr, Wentworth D, Neaton JD, Cohen JD. Serum cholesterol levels and six years mortality from stroke in 350977 men screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *N Engl J Med* 1989; 320: 904-910.
37. Benfante R, Yano K, Hwang LJ, Curb JD, Kagan A, Ross W. Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men: implications of shared risk. *Stroke* 1994; 25: 814-820.
38. Vaughan CJ, Delanty N. Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke* 1999; 30: 1969-1973.

39. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group: randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-1389.
40. Seman LJ, DeLuca C, Jenner JL, Cupples LA, McNamara JR, Wilson PW. et al. Lipoprotein (a)-cholesterol and coronary heart disease in the Framingham Heart Study. *Clin Chem* 1999; 45: 1039-1046.
41. Qizilbash N, Jones L, Warlow C and Mann J. Fibrinogen and lipid concentrations as risk factors for transient ischemic attacks and minor ischemic strokes. *BMJ* 1991; 303: 605-609.
42. Shinton R and Beevers G. Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *BMJ* 1989; 298: 789-794.
43. Inzitari D, Eliasziw M, Gates P, Sharpe BL, Chan RKT, Medrum HE. et al. The causes and risk of stroke in patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1693-1700.
44. Goldstein LB, Moore WS, Robertson JT, Chaturvedi S. Complication rates for carotid endarterectomy: a call for action. *Stroke* 1997; 28: 889-890.
45. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, Moohr JW. et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998; 91: 288-294.
46. Palomaki H. Kaste M. Regular light to moderate intake of alcohol and the risk of ischemic stroke: is there a beneficial effect? *Stroke* 1993; 24: 1828-1832.
47. Donahue RP, Abboott RD, Reed DM and Yano K. Alcohol and hemorrhagic stroke: the Honolulu Heart Program. *JAMA* 1986; 255: 2311-2314.
48. Abbott RD, Rodriguez BL, Burchfiel CM and Curb JD. Physical activity in older middle-aged men and reduced risk of stroke: The Honolulu Heart Program. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 881-893.
49. Joshipura KJ, Ascherio A, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE. et al. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *JAMA* 1999; 282: 1233-1239.
50. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH and Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 613-621.
51. Malinow MR, Bostom AG and Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet and cardiovascular diseases: a statement for health care professionals from the Nutrition Committee. *Circ AHA Journals* 1999; 99: 178-18.
52. Sloan MA, Kittner SJ, Feeser BR, Gardner J, Epstein A, Wozniak MA. et al. Illicit drug-associated ischemic stroke in the Baltimore- Washington Young Stroke Study. *Neurology* 1998; 50: 1688-1693.

53. Gillum LA, Mamidipudi SK and Johnston SC. Ischemic stroke risk with oral contraceptives: a metaanalysis. *JAMA* 2000; 284: 72-78.
54. Poulter NR and Meirik O. Ischemic stroke and combined oral contraceptives: results of an international, multicenter, case-control study: WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception: *Lancet* 1996; 348: 498-505.
55. Warlow CP, Sandercock PAG, Hankey GJ, Van Gijn J, Dennis MS, Bamford J. et al. *Stroke: A practical guide to management*. 2nd edition, London: The Blackwell Science; 2001. s. 224-250.
56. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GRV. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 993-997.
57. Rosamond WD, Folsom AR, Chambless LE, Wang CH, McGovern PG, Howard G. et al. Stroke incidence and survival among middle-aged adults: 9 year follow-up of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. *Stroke* 1999; 30: 736-743.
58. DeGraba TJ, Siren AL, Penix L, McCarron RM, Hargraves R, Sood S. et al. Increased endothelial expression of intercellular adhesion molecule-1 in symptomatic versus asymptomatic human carotid atherosclerotic plaque. *Stroke* 1998; 29, 1405-1410.
59. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M Steinmetz H. et al. Inflammation in high grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke* 1998; 29:1652-1630
60. Plehn JF, Davis BR, Sacks FM, Rouleau JL, Pfeffer MA, Bernstein V. et al. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) study. The Care Investigators. *Circulation* 1999; 99: 216-223.
61. Zimmermann KP, Monga TN, Darouiche RO, Lawrence SA. Post-stroke autonomic nervous system function: palmar sympathetic skin responses thirty or more days after cerebrovascular accident. *Arch. Phys. Med. Rehabil* 1995; 76 (3): 250-256.
62. Binder RJ, Vatner R, Srivastava P. 2004, The heat-shock protein receptors: some answers and more questions. *Tissue Antigens* 64 (4): 442-51.
63. Kiang JG. and Tsokos GC. Heat shock protein 70kDa: Molecular biology, biochemistry and physiology. *Pharmacol Ther* 1998; Vol. 80 (2): 183-201.
64. Hightower LE, Guidon PT. Selective release from cultured mammalian cells of heat-shock proteins that resemble gliaxon transfer proteins. *J Cell Physiol* 1989; 138, 257-266.
65. Child DF, Williams CP, Jones RP, Hudson PR, Jones M, Smith CJ. HSP studies in type 1 and type 2 diabetes and human islet cell culture. *Diabet Med* 1995; 12, 595-599.
66. Öztürk E, Kahveci N, Özlük K. ve Yılmazlar T. Isı Şok Proteinleri. *Türk Cer Der*, 2009; 25(4): 131-136.

67. Nelson D, Cox M. Lehninger Principles of Biochemistry. 3th Edition. Madison, Freeman Company: 2005; 150-3.
68. Feige U, Morimoto RI, Yahara I, Polla BS. Stress-inducible cellular responses. Birkhäuser Verlag 1996; (1) 489-96.
69. Iwama GK, Thomas PT, Forsyth RB, Vijayan MM. Heat shock protein expression in fish. Rev Fish Biol Fisher 1998; 35-56.
70. Schmid DA, Baici H, Gehring P. Kinetics of molecular chaperone action. Science 1994;263, 971-973.
71. Liberek K, Marszalek J, Ang D, Georgopoulos C. Escherichia coli DnaJ and GrpE heat shock proteins jointly stimulate ATPase activity of DnaK. Proc. Natl. Acad. Sci 1991;88, 2874-2878.
72. Theyssen H, Schuster HP, Bukau B, Reinstein J. The second step of ATP binding to DnaK induces peptide release. J Mol Biol 1996;263, 657-670.
73. McCarty JS, Buchberger A, Reinstein J, Bukau B. 1995, The role of ATP in the functional cycle of the DnaK chaperone system. J Mol Biol 249, 126-137.
74. Hayes SA, Dice JF. Roles of molecular chaperones in protein degradation. J Cell Biol 1996;132, 255-258.
75. Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. Nature 1996;381, 571-580.
76. Beissinger M, Buchner J. 1998, How chaperones fold proteins. Biol Chem Hoppe-Seyler 1998;379, 245-259.
77. Fink, AL. Chaperone-mediated protein folding. Physiol Rev. 1999; 79, 425-449.
78. Pockley, A.G, Shepherd, J. , Corton, J.M. Detection of heat shock protein 70 and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. Immunol Invest 1998; 27, 367-377.
79. Rea, IM., McNerlan, S. , Pockley, AG. Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging. Exp Gerontol 2001; 36, 341-352.
80. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001; 285, 2486-97.
81. Lindquist S, Craig EA. The heatshock proteins. Annu Rev Genet. 1988; 22, 631-677.
82. [www.cell.com/trends/cell-biology/fulltext/S0962-8924\(09\)00272-4](http://www.cell.com/trends/cell-biology/fulltext/S0962-8924(09)00272-4) 2010; 20(2), s.79-91.
83. Vijayan MM, Pereira C, Kruzyński G, Iwama GK. Sublethal concentrations of contaminant induce the expression of hepatic heat shock protein 70 in two salmonids. Aqua Toxicol 1997; 40, 101-108.
84. Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70kDa: Molecular biology, biochemistry, and physiology. Pharmacol Ther 1998; Vol. 80 (2), 183-201.

85. Dhingra R, Larson G, Benjamin EJ. Cross-Sectional Cor relates of Serum Heat Shock Protein 70 in the Community. *AJH* 2006; 19, 227-231.
86. Aneja R, Odoms K, Dunsmore K, Shanley TP, Wong HR. TNF-alpha decreases hsp 27 in human blood mononuclear cells: involvement of protein kinase c. *Life Sci.* Dec 2006; 80 (3): 181-6.
87. Harvey CA, Pantelis C, Taylor J, McCabe PJ, Lefevre K, Campbell PG, Hirsch SR. The Camden schizophrrenia surveys II. High prevalance of schizophrrenia in an inner London borough and its relation ship to sociodemographic factors. *Br J Psychiatry* 1996; 168: 418-426.
88. Yoshimune K, Yoshimura T, Nakayama T, Nishino T, Esaki N. 2002; Hsc62, Hsc56, and GrpE, the third Hsp70 chaperone system of Escherichia coli. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293(5): 1389-95.
89. Ritossa FM, Vonborstel RC. Chromosome puffs in drosophila induced by ribonuclease. *Science* 1964; 145: 513-6.
90. Wegele H, Müller L, Buchner J. Hsp70 and Hsp90--a relay team for protein folding. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2004; 151-4.
91. Suzuki K, Murtuza B, Sammut IA, Latif N, Jayakumar J, Smolenski RT, Kaneda Y, Sawa Y, Matsuda H, Yacoub MH. Heat shock protein 72 enhances manganese superoxide dismutase activity during myocardial ischemia-reperfusion injury, associated with mitochondrial protection and apoptosis reduction. *Circulation* 2002; 106: 270-6.
92. Mandal K, Torsney E, Poloniecki J, Camm AJ, Xu Q, Jahangiri M. Association of high intracellular, but not serum, heat shock protein 70 with postoperative atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2005; 79(3): 865-71.
93. Plumier JC, Ross BM, Currie RW, Angelidis CE, Kazlaris H, Kollias G, Pagoulatos GN. Transgenic mice expressing the human heat shock protein 70 have improved posts ischemic myocardial recovery. *J Clin Invest.* 1995; 95(4): 1854-60.
94. Amrani M, Corbett J, Allen NJ, O'Shea J, Boateng SY, May AJ, Dunn MJ, Yacoub MH. Induction of heat-shock proteins enhances myocardial and endothelial functional recovery after prolonged cardioplegic arrest. *Ann Thorac Surg* 1994; 57(1): 157-60.
95. Demidov ON, Tyrenko VV, Svistov AS, Komarova YY, Karpishenko AI, Margulis BA, Shevchenko YL. Heat shock proteins in cardiosurgery patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 16(4): 444-9.
96. Pockley AG, Wu R, Lemne C, Kiessling R, de Faire U, Frostegård J. Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension* 2000; 36(2): 303-7.
97. Liu J, Cheng J, Peng J, Han S, Yu L and Nie S. Effects of polymorphisms of heat shock protein 70 gene on ischemic stroke, and interaction with smoking in China. *Clinical Chimica Acta*, 2007. 384: s.64-68.

98. Giacconi R, Caruso C, Lio D, Muti E, Cipriano C, Saba V. et al. 1267 HSP70-2 polymorphism as a risk factor for carotid plaque rupture and cerebral ischaemia in old type 2 diabetes-atherosclerotic patients. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 866-73.
99. Wei Y, Wang W, He Y, Jiang L, Hou Z, Gao X. et al. Interaction between hypertension and HSP70 variants increase the risk of cerebral ischemia in Chinese Han population: An association study. *Gene* 2013; 513: s.239-43
100. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-43.
101. Milner CM, Campbell RD. Structure and expression of the three MHC linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 1990; 32: 242-51.
102. Milner CM, Campbell RD. Polymorphic analysis of the three MHC-linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 1992; 36: 357-62.
103. Pociot F, Rønningen KS, Nerup J. Polymorphic analysis of the human MHC-linked heat shock 70 (HSP70-2) and HSP70-Hom genes in insulindependent diabetes mellitus (IDDM). *Scand J Immunol* 1993; 38: 491-5.
104. Easki M, Furuse M, Matsumoto T, Aoyagi K, Jo Y, Yamagata H. et al. Polymorphism of heat-shock protein gene HSP70-2 in Crohn disease: possible genetic marker for two forms of Crohn disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 703-7.
105. Vargas-Alarcon G, Londono JD, Hernandez-Pacheco G, Gamboa R, Castillo E, Pacheco-Tena C. et al. Heat shock protein 70 gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 48-51.
106. Zee RY, Bates D, Ridker PM. A prospective evaluation of the heat shock protein 70 gene polymorphisms and the risk of stroke. *Thromb Haemost* 2002; 87: 622-5.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Şekiller:	Sayfa
Şekil 1. Stres proteinlerinin yapımını uyarıcı etmenler (82)	14
Şekil 2. Hasta ve kontrol PZR ürünlerinin İŞP70 geninin G2437C bölgesini içeren RFLP sonucunun %2'lik jelde yürütülmesi ve UV ışık altında incelenmesi (AA=CC, AB=GC, BB=GG).....	24
Şekil 3. Hasta ve kontrol PZR ürünlerinin İŞP70 geninin A1267G bölgesini içeren RFLP sonucunun %2'lik jelde yürütülmesi ve UV ışık altında incelenmesi (AA=AA, AB=AG, BB=GG).....	25
Şekil 4. Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal ve biyolojik özellikleri.....	27
Şekil 5. Kimi hastalık ve davranışların hasta ve kontrol grubunda durumu	28
Şekil 6. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine ilişkin dağılım grafiği.....	29
Şekil 7. G2437C gen polimorfizminin genotip dağılımı (AA=CC, AB=GC, BB=GG)	30
Şekil 8. A1267G gen polimorfizminin genotip dağılımı (AA=AA, AB=AG, BB=GG)	30

Tablolar

Tablo 1. Isı şok proteinlerinin sınıflandırılması (66).....	11
Tablo 2. Kontrol ve hasta grubunun demografik ve klinik özellikleri.....	266
Tablo 3. Risk faktörleri için çoklu lojistik regresyon sonuçları	299

ÖZGEÇMİŞ

DİDEM BAKAY

Doğum Tarihi : 14 Haziran 1984

Doğum Yeri : İstanbul

AKADEMİK ÇALIŞMALAR

ULUSLARARASI YAYINLAR

A. SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

1. F.Dumludağ, D.Bakay, A.Altındal, “Effects of the Metal Electrode on Dielectric Constant of MgO Nanoparticles”, AIP Conf. Proc. January 21, Volume 1203, pp. 533-536, (2010)

B. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

2. F.Dumludağ, D.Bakay, A.Altındal, “Effects of pH on Dielectric Properties of Magnesium Oxide Nanoparticles”, Bogaziçi University Press, BPL, 18, 181056, pp. 414 - 421 (2010)

3. F.Dumludağ, A.Altındal, D.Bakay, F.Nur Akı Isık, M.Bulut, O.Bekaroglu, “Gas Sensing Properties of Newly Synthesized Cobalt Phthalocyanine (Copc) Thin Film”, Bogaziçi University Press, Bpl, 15 (1), 151012, (2009)

ULUSAL YAYINLAR

C. Ulusal bir cemiyet veya dernek tarafından, periyodik olarak, 1-4 yılda bir düzenlenen bilimsel hakem kurulu olan, bir kongre veya sempozyumda tam metni veya özeti yayımlanan poster bildiri yazarlığı

4. B.E.Yamasan, D.Bakay, A.Ünlü, O.Erkan, C.Karlıkaya, T.Sipahi, 24. Ulusal Biyofizik Kongresi konferansı dahilinde "24. Ulusal Biyofizik Kongresi Kongre Özet Kitapçığı" bildiri

kitapçığındaki "Astım Hastalarında Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz İtron 4 VNTR Gen Polimorfizminin Araştırılması", 62 pp. , İstanbul, Türkiye, (2012)

EĞİTİM

YÜKSEK LİSANS

Okul : Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı (2011- 2014)

Bölüm : Biyofizik Bölümü

Mezuniyet Derecesi : 81.56/100

Şehir : Edirne

LİSANS

Okul : Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi (2006- 2011)

Bölüm : Fizik Öğretmenliği Bölümü

Mezuniyet Derecesi : 74.62/100

Şehir : İstanbul

ORTAOKUL- LİSE

Okul : Burak Bora Anadolu Lisesi (1995- 2002)

Bölüm : Fen-Matematik Bölümü

Mezuniyet Derecesi : 3.35/5

Şehir : İstanbul

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 2012/193				
	PROTOKOL ADI	İskemik İnmeli Hastalarda İstı Şok Protein 70 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması				
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Tamnam SİPAHI				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 24/ 02	Tarih:05.12.2012				
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Tamnam SİPAHI'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Didem BAKAY'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödemediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI		Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOKAEK Yönergesi				
ÜYELER						
Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Başkan	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Başkan Yardımcısı	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Üflet VATANSEVER ÖZBEK Üye	Çocuk Sağ. ve Hast.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyostatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Biyoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Burcu TOKUÇ Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Cengiz TUĞLU Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

Ek 2

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'nun 05/12/2012 tarih ve 24/02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırmaya katılmaya gönüllü olduktan sonra soracağınız sorular varsa numaralı cep telefonundan Didem Bakay'a ve numaralı cep telefonundan Doç. Dr. Tammam Sipahi'ye başvurabilirsiniz.

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

- a. **Araştırmanın bilimsel adı:** İskemik İnme Hastalarında Isı Şok Protein 70 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması.
- b. **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** İnme geçirmiş hastalarda, genetik yatkınlığın araştırılması.
- c. **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Tammam SİPAHİ, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı
- d. **Araştırmanın içeriği:** İskemik inme tanısı ile nöroloji anabilim dalına başvuran veya iskemik inme tanısı almamış olan sizlerin izininiz dahilinde rutinde alınmış olan kanınızdan 2ml kan örneği alınacak, bu işlem için sizlere herhangi bir ilaç veya dışarıdan bir madde verilmeyecek. Araştırmamızın uygulaması rutinde alınan kandan 2ml alınarak yapılacağı için sizlerin sağlığına, maddi veya manevi

varlığınıza hiçbir zararı veya riski yoktur. Alınan kanlarınızın, hastanemizin Biyofizik laboratuvarlarında, genetik analizleri yapılacaktır.

- e. **Araştırmanın amacı:** İnme, çok faktörlü bir hastalık olup hem çevresel hem de genetik faktörler inme oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. İnme oluşmasındaki aday genleri çalışmak, inme sebebinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Bu çalışmada inme nedenini anlamak için inme tanısı alan sizlerin genetik çeşitliliğinin araştırılması amaçlanmaktadır.
 - f. **Araştırmanın niteliği (Klinik, Laboratuvar, Epidemiyolojik - Tez çalışması vb...):** Araştırmamız klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik yüksek lisans tez çalışması niteliğine sahiptir.
 - g. **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 21 Aralık 2012 ve 1 yıl
 - h. **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 148 Hasta – 148 Kontrol
 - i. **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** İskemik inme geçiren hastalar ve iskemik inme tanısı konmamış hastalar alınacaktır.
 - j. **Araştırmada uygulanacak yöntemler:** Rutinde vermiş olduğunuz kandan 2ml alınıp laboratuvarında özel işlemlerden geçirilerek bazı gen değişiklikleri araştırılacaktır.
2. **Uygulama Sırasında Karşılaşabileceğiniz Riskler ve Rahatsızlıklar:** Herhangi bir risk veya rahatsızlıkla karşılaşılmayacaktır.
 3. **Gönüllü İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:** İskemik inme hastalığına olan genetik yatkınlığı konusunda bilgi verilecektir.
 4. **Araştırmaya Seçenek Olan Diğer Girişimler:** Yok
 5. **Zararların Tazmini ve Araştırma Konusundaki Diğer Soruların Cevaplandırılması:**

Araştırmanın yaratacağı herhangi bir zarar veya risk bulunmamaktadır. Diğer soruların cevaplandırılması için numaralı telefonda Didem BAKAY'a ulaşılabilir.
 6. **Araştırma Giderleri ve Bütçesi:** Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacaktır.
 7. **Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:** Sizlere çalışma hakkında bilgi verildikten sonra gönüllü olma, çalışmaya katılmayı reddetme veya katıldıktan sonra çalışmadan çekilme hakkı bulunmaktadır.

Hasta olarak bu haklarınız vardır. Çalışmaya katılıp katılmamanız tanı ve tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir.

- 8. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** Sizlerin kimlik bilgileri kullanılmayacak, sizlerin protokol numaraları ile numaralandırılacak çalışma süresince veya sonrasında kimlik bilgileri hiçbir şekilde hiçbir yerde basılı, yazılı veya sözlü olarak kullanılmayacak.
- 9. Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Çalışma sonucunda gönüllülere bilgi verilecektir.

Gönüllünün Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı olduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün; (El yazısı ile)

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

İmzası:

Adresi (varsa telefon numarası): Adresi (varsa telefon numarası):

.....
.....

Tarih:

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih: