



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİGRENDE DOPAMİN BETA HİDROKSİL AZ GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ**

**Hazırlayan**

**Saime SEZER**

**Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Doç. Dr. Hacı Ömer Ateş**

**TOKAT – 2012**

**MİGRENDE DOPAMİN BETA HİDROKSİL AZ GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ**

Kabul Ediliş Tarihi: 03/05/2012

Jüri Üyeleri (Ünvanı, Adı, Soyadı)

Başkan: Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Üye: Doç. Dr. Semiha Gülsüm KURT

Üye: Yrd. Doç. Dr. Serbülen YİĞİT

İmza

.....  
.....  
.....

Bu tez Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/05/2012 tarih ve 07 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Hüseyin ÖZYURT**

İmza  
.....

T.C.

**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı Soyadı

Sajme SEZER

İmzası



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana; bilgisi, sabrı ve hoşgörüsüyle yol gösteren, bilimsel katkılarının yanında gösterdiği titizlik ve ilgisi ile mesleğimi daha çok sevmemi sağlayan, örnek aldığım ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum, değerli Danışman Hocam, *Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e,*

Yüksek lisans eğitimim boyunca yaptıkları bilimsel ve akademik katkılardan dolayı Anabilim Dalı Hocalarımız, *Yrd. Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Serbülent Yiğit'e,*

Tezimde yer alan hasta gruplarının toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı, *Sayın Doç. Dr. Semiha Gülsüm KURT'a,*

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini benden esirgemeyen ve beraber çalışmaktan keyif aldığım *Arş. Gör. Nihan BOZKURT'a,*

Yükseklisans eğitimim süresince beraber çalıştığımız *Arkadaşlarıma,*

Beni sevgiyle büyüten, verdiğim her kararda arkamda olan, bana güç veren, sevgilerini daima yüreğimde hissettiğim *Aileme,*

*Teşekkürü bir borç bilirim.*

## ÖZET

### MİGRENDE DOPAMİN BETA HİDROKSİL AZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

Migren, şiddetli tekrarlayan baş ağrısı, mide bulantısı, kusma, fotofobi, fonofobi semptomları ile karakterize nörolojik bir hastalıktır. Migren etiolojisinde genetik yatkınlığın önemi uzun zamandan beri bilinmektedir. Ancak kalıtım modeli halen tam olarak ortaya konulamamıştır. Bununla beraber birden fazla genin rol aldığı düşünülmektedir. Dopaminin migren patogenezinde rolü olabileceğine dair kanıtlar mevcuttur. Bu çalışmada, Dopamin Beta Hidroksilaz (DBH) geninin -1021 C→T, +1603 C→T ve +444 G→A polimorfizmleri ve migren arasında bir ilişki olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi yöntemi kullanılarak 200 migren hastası ve 200 migren olmayan sağlıklı kontrolde DBH'in genotipleri ve allel varyantların sıklığı araştırıldı. Veri sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi, DBH geni +1603 C→T polimorfizmi ile migren arasında allel ve genotip frekans dağılımında anlamlı bir bağlantı olduğunu gösterdi (p= 0.006, OR: 1.96, 95% CI: 1.15- 3.41). DBH genini -1021 C→T ve + 444 G→A polimorfizmleri ile migren arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p=0.9169 ve p=0.8748). Çalışma sonuçlarımız Türk toplumunda DBH geninin +1603 C→T polimorfizminin migrene yatkınlıkta rol alan pek çok genetik faktörden biri olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelime:** DBH geni, Genetik yatkınlık, Migren, Polimorfizm

**ABSTRACT****ANALYSIS OF DOPAMIN BETA HYDROXYLASE GENE  
POLYMORPHISMS IN MIGRAINE**

Migraine is a neurological disorder characterized by severe recurrent headache, nausea, vomiting, photophobia, and phonophobia. Importance of genetic predisposition of etiopathogenesis of migraine has been known for a long time. The pattern of inheritance has not been identified completely yet but more than one genetic factors may play role in inheritance. There is evidence suggesting that dopamine may be involved in the pathogenicity of migraine. In this study, we aimed to investigate that if there is any relation between -1021 C→T, +1603 C→T and +444 G→A polymorphism of Dopamin Beta Hydroxylase (DBH) gene and migraine. We studied the frequency of the DBH genotypes and allelic variants in 200 patients with migraine and 200 healthy non-migrainous controls using a Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphisms method. Statistical evaluation of the data results showed a significant association for allelic and genotypic frequency distribution between the DBH +1603 C→T polymorphism and migraine ( $p= 0.006$ , OR: 1.96, 95% CI: 1.15- 3.41). There is no any marked relation between the -1021 C→T and +444 G→A polymorphisms of the DBH gene and migraine ( $p=0.9169$  ve  $p=0.8748$ ). Our study results suggest that DBH gene +1603 C→T polimorphism may be one of the many genetic factors for migraine susceptibility in Turkish population.

**Key Words:** DBH gene, Genetic susceptibility, Migraine, Polymorphism

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
KISALTMA VE SİMGE LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. BAŞAĞRILARI ve BAŞAĞRILARININ SINIFLANDIRILMASI.....	2
2.2. MİGREN.....	4
2.2.1. . Migrenin Tarihçesi.....	4
2.2.2. Migrenin Tanımı.....	4
2.2.3. Migrenin Sınıflandırılması.....	6
2.2.3.1. Aurasız Migren.....	7
2.2.3.1. Auralı Migren.....	7
2.2.4. . Migren Atağını Tetikleyen Faktörler.....	8
2.2.5. Migren Epidemiyolojisi.....	9
2.2.6. Migrenin Ağrı Dönemleri.....	10
2.2.7. Migren Patogenezi.....	13
2.2.8. Migren Genetiği.....	15
2.2.9. Dopamin.....	18
2.2.9.1. Migren ve Dopamin İlişkisi.....	19
2.2.9.2. Dopamin Beta Hidroksilaz.....	20

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	23
3.1. Çalışma Grubu .....	23
3.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler. ....	25
3.2.1. Alet ve Cihazlar.....	25
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	25
3.2.3.Çözeltiler .....	27
3.3. Yöntem .....	28
3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	28
3.3.2. DNA'nın Kalitatif Tayini .....	28
3.3.3. DNA'nın Kantitatif Tayini.....	28
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	29
3.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	29
3.6. Elektroforez Tekniği.....	30
3.7. DBH Gen Polimorfizmlerinin Analizi.....	30
3.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun (PZR) Analizi .....	30
3.7.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizminin (RFLP) Analizi.....	36
3.8. İstatistiksel Yöntemler .....	38
<b>4.BULGULAR</b> .....	39
4.1. DNA'nın Kalitatif Tayini.....	40
4.2. DNA'nın Kantitatif Tayini .....	41
4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizleri.....	41
4.4. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizleri .....	43
4.5. İstatistiksel Analiz Bulguları .....	47
<b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	48
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	55
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	61



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1:</b>	Uluslararası Başağrısı Topluluğu (IHS) 2004 sınıflaması.....	3
<b>Tablo 2.2:</b>	Migren Sınıflaması Uluslararası Başağrısı Sınıflandırması [International Classification of Headache Disorders-ICHD-II (2004)'na göre] .....	6
<b>Tablo 2.3:</b>	Migren atağını tetikleyen faktörler .....	9
<b>Tablo 2.4:</b>	Migren hastalığı ile ilgili olduğu düşünülen bazı genler ve polimorfimleri.....	18
<b>Tablo 3.1:</b>	Hastaların ve Kontrol Grubundaki Kişilerin Araştırmaya Dâhil Edilme ve Edilmeme Kriterleri.....	24
<b>Tablo 3.2:</b>	DBH geni +1603 C→T Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler.....	31
<b>Tablo 3.3:</b>	DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışım.....	31
<b>Tablo 3.4:</b>	DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı .....	32
<b>Tablo 3.5:</b>	DBH geni -1021 C→T Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler.....	33
<b>Tablo 3.6:</b>	DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı .....	33
<b>Tablo3.7:</b>	DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı .....	34
<b>Tablo 3.8:</b>	DBH geni +444 G→A Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler .....	35
<b>Tablo 3.9:</b>	DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	35
<b>Tablo3.10:</b>	DBH +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı .....	36
<b>Tablo3.11:</b>	DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları.....	37

<b>Tablo3.12:</b>	DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları.....	37
<b>Tablo 3.13:</b>	DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesim koşulları.....	38
<b>Tablo 4.1:</b>	Çalışmaya alınan migren hastalarının ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı .....	39
<b>Tablo 4.2:</b>	Migren hastaları ve kontrol grubunda DBH geninin (+1603 C→T, -1021 C→T ve +444 G→A) Polimorfizmlerinin İstatistiksel Analizi..	47

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 2.1:</b>	DBH geninin analiz edilen bazı polimorfik bölgeleri.....	22
<b>Şekil 4.1:</b>	Çalışmaya dahil edilen aurasız migren ile auralı migrenin grafik gösterimi.....	40
<b>Şekil 4.2:</b>	Genomik DNA'nın agaroz jeldeki görünümü.....	40
<b>Şekil 4.3:</b>	DBH geninin +1603 C→T polimorfizmi içeren 352 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü .....	41
<b>Şekil 4.4:</b>	DBH geninin -1021 C→T polimorfizmi içeren 131 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü .....	42
<b>Şekil 4.5:</b>	DBH geninin +444 G→A polimorfizmi içeren 207 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü .....	43
<b>Şekil 4.6:</b>	DBH geninin +1603 C→T polimorfizminin incelendiği Bst UI restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 2'lik(1,4 gr agaroz ve 0,6 gr nusieve) jel görünümü .....	44
<b>Şekil 4.7:</b>	DBH geninin -1021 C→T polimorfizminin incelendiği Hha I restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 4'lük (2,5 gr agaroz ve 1,5 gr nusieve) jel görünümü .....	45
<b>Şekil 4.8:</b>	DBH geninin +444 G→A polimorfizminin incelendiği Eco NI restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 2'lik (1,25 gr agaroz ve 0,75 gr nusieve) jel görünümü .....	46

**KISALTMA VE SİMGE LİSTESİ**

<b>AHM</b>	:	Ailevi Hemiplejik Migren
<b>Arg</b>	:	Arjinin
<b>ATP1A2</b>	:	Na-K-ATPaz Pompası Geni
<b>Bç</b>	:	Baz Çifti
<b>°C</b>	:	Santigrat Derece
<b>CACNA1A</b>	:	Kalsiyum Kanalı Geni
<b>CADASIL</b>	:	Serebral Otozomal Dominant Arteriopati Subkortikal İnfarkt Lökoensefalopati
<b>CSF:</b>	:	Serebrospinal Sıvı
<b>COMT</b>	:	Katekol-O Metil-Transferaz
<b>Cys</b>	:	Sistein
<b>DA</b>	:	Dopamin
<b>DBH</b>	:	Dopamin Beta Hidroksilaz
<b>dk</b>	:	Dakika
<b>DNA</b>	:	Deoksiribonükleik Asit
<b>DRD</b>	:	Dopamin Resöptör Geni
<b>DRIPs</b>	:	Dopamin Reseptörünü Etkileyen Protein (Dopamine Receptor Interacting Proteins)
<b>EDTA</b>	:	Etilendiamintetra Asetik Asit
<b>EtBr</b>	:	Ethidium Bromid
<b>gr</b>	:	Gram

<b>HCl</b>	:	Hidroklorik Asit
<b>5-HT</b>	:	5-hidroksitriptamin
<b>5-HTTLPR</b>	:	5-Hidroksitriptamin Transporter Gen Regulatorü
<b>ICHD</b>	:	Uluslararası Başağrısı Hastalığının Sınıflandırılması (International Classification Of Headache Disorders)
<b>IHS</b>	:	Uluslararası Başağrısı Topluluğu( International Headache Society)
<b>iNOS</b>	:	İndüklenmiş Nitrikoksit Sentetaz
<b>IL-10</b>	:	İnterlökin-10
<b>kb</b>	:	Kilo Baz
<b>MA</b>	:	Auralı Migren
<b>MAO</b>	:	Monoamin Oksidaz
<b>Mg<sup>+2</sup></b>	:	Magnezyum iyonu
<b>µg</b>	:	Mikrogram
<b>µl</b>	:	Mikrolitre
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	:	Magnezyum klörür
<b>ml</b>	:	Mililitre
<b>mM</b>	:	Milimolar
<b>MO</b>	:	Aurasız Migren
<b>M.Ö</b>	:	Milattan Önce
<b>M.S</b>	:	Milattan Sonra
<b>MTHFR</b>	:	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
<b>Na-K-ATPaz</b>	:	Sodyum Kanalı Geni
<b>NaOH</b>	:	Sodyum Hidroksit

<b>ng</b>	:	Nanogram
<b>NO</b>	:	Nitrik Oksit
<b>Pmol</b>	:	Pikomol
<b>PZR</b>	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RE</b>	:	Restriksiyon Endonükleazı
<b>RNA</b>	:	Ribonükleik Asit
<b>RFLP</b>	:	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
<b>SERT</b>	:	Serotonin Transporter Geni
<b>Sn</b>	:	Saniye
<b>SNP</b>	:	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single-Nucleotid Polymorphism)
<b>STR</b>	:	Kısa Ardışık Tekrarlar (Short Tandem Repeat)
<b>TBE</b>	:	Tris-Borat-Edta
<b>TNF</b>	:	Tümör Nekroz Faktör
<b>V</b>	:	Volt
<b>VNTR</b>	:	Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlar (variable Number Of Tandem Repeat)

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Migren, etiyojisinde çeşitli genetik faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel bir hastalık olup, yetişkinlerin yaklaşık olarak % 20'sini etkileyen yaygın nörolojik bir bozukluktur. Populasyon temelli aile çalışmaları migrenin ailesel riske sahip olduğu görüşünü desteklemektedir (Gardner, 2006; Mazaheri ve ark. 2006; Vries ve ark. 2009). Uluslararası Baş ağrısı Sınıflandırma Kriterleri'ne göre migren; auralı migren (MA) ve aurasız migren (MO) olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır (Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004; Corominas ve ark. 2009).

Son yıllarda, başta serotonerjik ve dopaminerjik sistemle ilgili genetik polimorfizmler olmak üzere, migren ile bağlantılı olduğu düşünülen bazı aday gen polimorfizmlerine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (García-Martín ve ark. 2010). Nörolojik hastalıklarda etkili olduğu düşünülen dopaminerjik sistemdeki aday gen polimorfizmleri migren hastalarında araştırılmaktadır (Todt ve ark. 2009). Bu aday genlerden biri de Dopamin Beta Hidroksilaz (DBH) genidir (Faraone ve ark., 2005).

Migren patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülen gen polimorfizmlerinin analizine yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada DBH genin -1021 C→T, +1603 C→T ve +444 G→A polimorfizmleri ile migren arasında bağlantı olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. BAŞAĞRILARI VE BAŞAĞRILARININ SINIFLANDIRILMASI

Ağrı genel anlamda vücudun herhangi bir yerinde herhangi bir sebepten olan ve birçok insanı etkileyen bir sağlık sorunudur. Tarlacı'ya göre ağrı; bedenin herhangi bir yerinden kendini kişiye duyuran, öznel, rahatsız edici bir durumdur. Ağrı, kimyasal maddelerin serbest sinir uçlarını uyarması, gerilme ya da kan akımı azalması sonucu oluşur. Beynin kendisi ağrı oluşturmaz. Ağrı, kafa derisi, kan damarları, kafa içindeki büyük toplardamarlar, beyin zarları atar damarları, kafa tabanı duyusunu alan sinirler ve sinüslerden doğar. Başağrısının birçok çeşidi olmakla birlikte, en sık görüleni gerilim tipi başağrısıdır. Bunu, migren başağrısı takip eder. Daha az sıklıkla; tümörler, hipertansiyon, hipotansiyon, hipoglisemi, sinüs inflamasyonları, temporal arterit, menenjit, inme ve travmalar başağrısı nedenidir. Toplumun %45'i hayatının bir döneminde şiddetli başağrısı yaşar. Ağrı beraberinde iş gücü kaybı, verimlilik ve performans azalmasını da getirir (Tarlacı, 2006). Başağrılarına yönelik epidemiyolojik çalışmalar bu ağrıların sıklığını ve yayılımını, etkilendikleri çeşitli yaş, cinsiyet, ırk, sosyoekonomik durum ve diğer etkenlere göre değerlendirilir. Bu çalışma sonuçlarına göre ağrının mekanizmasına, özelliklerine ve tedavisine yönelik anlayışımızın gelişmesine olanak sağlar. Öte yandan ağrıya bağlı işgücü kaybı, başağrısının neden olduğu sağlık harcamaları ve ilişkili ekonomik götürüler de sağlık sorunlarının bir diğer boyutunu anlamamızı sağlamaktadır (Siva, 2002).

Başağrılarında sınıflama, hem klinisyenler, hem de araştırmacılar arasında ortak dili konuşma ihtiyacından doğmuştur. Sınıflandırma ilk olarak 1962'de geçici bir komite tarafından gerçekleştirilmiştir. 1988 yılında Uluslararası Başağrısı Derneğince



oluşturulan komite tarafından sınıflama yapılmıştır. Sınıflamanın kullanılmama ve benimsenmeme gibi riskleri olmasına rağmen bu 1988 sınıflaması araştırmacılar tarafından kabul görmüştür. 1988 sınıflamasının 15 yıl süren yeniden düzenlenmesiyle 2004 yılında, önceki sınıflamanın ana hatları korunarak ikinci sınıflama yayınlanmıştır (Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004; İnan, 2009). Bu sınıflandırmanın ana hatları Tablo 2.1 'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Uluslararası Başağrısı Topluluğu (IHS) 2004 Sınıflaması

<b>1.</b>	<b>Birincil Başağrıları</b> a-Migren b-Gerilim-tipi başağrısı c- Küme başağrısı ve diğer trigeminal otonomik sefalaljiler d-Diğer birincil başağrıları
<b>2.</b>	<b>İkincil Başağrıları</b> a-Baş ve/ veya boyun traumasına bağlanan başağrısı b-Kranial ya da servikal damar bozukluklara bağlanan başağrısı c-Damarsal olmayan kafa içi bozukluklara bağlanan başağrısı d-Madde (kullanımı) ya da kesilmesine bağlanan başağrısı e-Enfeksiyona bağlanan başağrısı f-Homeoestazis bozukluğuna bağlanan başağrısı g-Kranium, boyun, gözler, kulaklar, burun, sinüsler, dişler, ağız ya da diğer yüz veya tranel yapılarla bağlanan başağrısı ya da yüz ağrısı h-Psikiyatrik bozukluklara bağlanan başağrısı
<b>3.</b>	<b>Kraniyal nevraljiler, merkezi ve birincil yüz ağrısı ve diğer başağrıları</b> a-Kraniyal nevraljiler ve yüz ağrısının merkezi nedenleri b-Diğer başağrısı,kraniyal nevralsi, merkezi ve birincil yüz ağrısı

## 2.2. MİGREN

### 2.2.1. Migren Tarihçesi

Migren, ilk defa Kapadokyalı hekim Aretaeus'un eserlerinde ve Mısır papirüslerinde (M.Ö. 1500) tarif edilmiştir. Migrene; antik Yunan'da heterokrani denilmiş daha sonra Latince "hemikrani" olarak adlandırılmıştır. M.Ö. yaklaşık olarak 400 yılında Hipokrat migrenin bedensel sıvıların dengesizliği sonucunda oluştuğuna inanmıştır. M.S. 250 yılında Roma'lı hekim Celsus hastalık ve hastalıkla ilişkili duygudurum değişiklikleri ile fotofobiyi tanımlamıştır (İnan, 2009).

1683 yılında Willis, prodromal belirtileri olan ve kusmanın eşlik ettiği, şiddetli, periyodik, migrenöz baş ağrıları olan bir hastayı tanımlamıştır. Tissot 1783 yılında migrenin diğer baş ağrılarından ayıran sınıflandırmayı yapmıştır. 1988 yılında migren, alt tipleri ve diğer tüm baş ağrıları Uluslararası Baş ağrısı Derneği tarafından sınıflandırılmış ve tanı kriterleri yayınlanmıştır. Son olarak da 2004 yılında aynı organizasyon tarafından Baş ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflandırılması yapılmıştır (Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004; İnan, 2009).

### 2.2.2. Migrenin Tanımı

Migren; orta şiddetli, belirli aralıklarla tekrarlayan, tek veya çift taraflı, genellikle mide bulantısı, fotofobi ve fonofobiyle birlikte saatler veya günlerce süren ve fiziksel aktiviteyle kötüleşen tipik özelliklere sahip yaygın nörolojik bir sendromdur. Migren hastalarının %25'den fazlası odaksal nörolojik semptomlar, görsel ve konuşma bozuklukları içerir. Migren hastaları popülasyonun geri kalanından farklılık gösterir çünkü trijeminovaskülerin tekrarlayan aktivasyonuna ve enfeksiyon, inflamasyon,

tümör veya diğer yapısal anomaliler ya da dış toksinler gibi patolojik bir nedene bağlı olmayan başağrısıdır. Migren seyrek olarak meydana geldiği zaman ağrı sistemleri kendileri normal işlevlerini yerine getirir. Aslında, migreni tanımlamada kullanılan mide bulantısı veya fotofobi gibi klinik özelliklerin çoğunun tam olarak belli bir özelliği yoktur ve herhangi bir sebepten dolayı başağrısı meydana gelebilir. Ancak, başağrısının sıklığı artarsa hastalık kronikleşmeye başlar. Bu durum ağrı sistemlerinin kendilerinde bir değişim meydana getirebilir (Cutrer, 2010).

### 2.2.3. Migren Sınıflandırması

Uluslararası Baş ağrısı Derneği tarafından 2004 yılında düzenlenmiş olan migren sınıflandırılması Tablo 2.2’de gösterilmektedir.

**Tablo 2.2.** Migren Sınıflandırılması (International Classification of Headache Disorders-ICHD-II (2004)’na göre)

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

### **2.2.3.1. Aurasız Migren (Yaygın Migren, Hemikraniya Simpleks)**

Ataklar şeklinde ortaya çıkan, 4-72 saat süren, genellikle tek taraflı, zonklayıcı, orta veya şiddetli, günlük bedensel hareketlerle artış gösteren, fotofobi, fonofobi, bulantı ve kusmanın eşlik ettiği tekrarlayıcı bir baş ağrısı hastalığıdır.

#### **Tanı :**

- A. B-D ölçütlerine uyan en az 5 atak varlığı
- B. 4-72 saat süren baş ağrısı atakları (tedavi edilmiş olsun ya da olmasın)
- C. Baş ağrısı atakları aşağıdaki özelliklerden en az ikisini taşımaktadır:
  1. Tek taraflı
  2. Zonklayıcı özellikte
  3. Orta ya da ağır şiddetli
  4. Günlük bedensel hareketlerle şiddetlenme (yürümek, merdiven çıkmak gibi)
- D. Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az birisi bulunmalıdır:
  1. Bulantı ve /veya kusma
  2. Fotofobi ve fonofobi
- E. Başka bir bozukluğa bağlanamaz

### **2.2.3.2. Auralı Migren (Klasik Migren, Oftalmik, Hemiparestetik, Hemiplejik Ya Da Afazik Migren, Migren Eşleniği Komplike Migren)**

Geri dönüşümlü fokal nörolojik belirtilerin, 5-20 dakikadan fazla ve 60 dakikadan az sürdüğü, tekrarlayıcı ataklarla karakterize baş ağrısı hastalığıdır. Aura belirtilerini genellikle aurasız migren tipi baş ağrısı izler.

**Tanı :**

A. B ölçütlerini dolduran en az 2 atak olmalı

B. Aşağıda belirtilen 4 özellikten en az 3 tanesi olmalı:

1. Bir ya da daha fazla sayıda, tümüyle geri dönüşümlü olan ve fokal serebral kortikal ve/veya beyin sapı fonksiyon bozukluğuna işaret eden aura belirtilerinin olması
2. Dört dakikadan daha uzun sürede yavaş yavaş gelişen en az bir aura belirtisi ya da 2 veya daha fazla sayıda birbiri ardı sıra gelişen belirtiler
3. Aura belirtileri 60 dakikadan uzun sürmemeli
4. Başağrısı, aurayı takiben 60 dakika içinde gelişmeli (basağrısı aura olmadan önce veya aura ile birlikte başlamış olabilir)

C. Organik hastalık işareti olmamalı

(International Classification of Headache Disorders-ICHD-II (2004).

**2.2.4. Migren Atağını Tetikleyen Faktörler:**

Migren ataklarının büyük bir bölümü kendiliğinden gelişerek ortaya çıkmakla birlikte atakların başlamasında bazı iç ve/veya dış uyarıların da rol oynayabileceği bilinmektedir (Oğul, 2002). Migren atağını tetiklediği düşünülen bazı faktörler Tablo 2.3 'de verilmektedir.

**Tablo 2.3.** Migren atağını tetikleyen faktörler (Oğul, 2002).

- Uyku düzeninde sapmalar (fazla ya da az uyuma)
- Açlık, öğün atlama, oruç
- Bazı besinler (yumurta, alkol, kafein, çikolata, kabuklu deniz hayvanları vb.)
- Alkollü içecekler (şarap, bira vb.)
- Fizik egzersiz ve aşırı yorgunluk (özellikle güneş altında veya sıcakta)
- Şiddetli kokular
- Güçlü ışık
- Stres
- Seyahat
- Yüksek rakıma çıkmak
- Menstrüasyon
- Hava değişimleri (lodos vb.)
- Sigara
- Bazı ilaçlar (nitrogliserin, rezerpin, doğum kontrol hapları vb.)
- Enfeksiyon hastalıkları

#### **2.2.5. Migren Epidemiyolojisi:**

Migren, genel popülasyonu etkileyen yaygın bir hastalıktır. Tüm migren prevalans çalışmalarına göre kadınların %15-25'sini, erkeklerin %6-8'sini etkilediği gösterilmiştir (Fernandez ve ark. 2006).

Migrenle karşılaşılma sıklığı çocukluk döneminde anlamlı bir cinsiyet farkı göstermezken, puberteden sonra kadınlarda artmakta ve erişkin nüfusta kadın-erkek oranı, 2/1'e ulaşmaktadır. Ülkemizde gerçekleştirilen çok merkezli bir başağrısı epidemiyolojisi çalışmasında, 15-55 yaş grubunda migren prevalansı %16.4 olarak

bulunmuş olup bu oran kadınlar için %21.8, erkekler için %10.9'dur. Toplumumuzda migrenin en çok görüldüğü yaş grubu 30-39 olarak belirlenmiştir (Siva, 2002).

Amerikan Migren Çalışması'nda migren atak sıklığı ayda birden az olanların oranı %36, 1-3 arası olanlar %38, daha sık olanların oranı ise %26 olarak bulunmuştur. Atakların süresi %76 migrenlide 12 saatten kısa, %12'sinde 12-24 saat, diğer %12'sinde de daha uzundur. Şiddeti ise; %64'ünde çok, diğerlerinde orta veya hafif derecelerde tanımlanmıştır (Siva, 2002).

### **2.2.6. Migren Ağrı Dönemleri**

Bir migren atağı başlıca dört dönemden oluşmaktadır:

**1. Prodrom Dönemi:** Ağrı başlamadan önceki saatler, hatta bazı kişilerde günler önce yavaşça gelişen bazı semptomlar prodrom dönemini oluştururlar. Bunlar genellikle psikolojik, nörolojik ve otonom/sistemik semptomlardır (Siva, 2002). Bunların başında depresif ruh hali, yorgunluk ve esneme, duygu durum karışıklığı, kas ağrısı, aşırı yemek yeme isteği, durgunluk, konsantrasyon ve dikkat azalması gibi semptomlar ile gelmektedir (Siva, 2002; Dowson, 2003). Prodrom semptomları migren ataklarının yaklaşık %50-70'inden önce ortaya çıkmaktadır ve saatler ile günler arasında sürmektedir. Hastalar genellikle bu semptomların farkında değildirler. Bununla birlikte migren hastalarının büyük bir çoğunluğu, bu semptomlardan sonra ortaya çıkan migren ataklarının sadece bir kısmını tahmin edebilmektedir. Prodrom semptomları tahminen nörokimyasal karışıklığa bağlı olarak ortaya çıkmakta ve genellikle atak boyunca devam etmektedir (Dowson, 2003). Böylece bir migren atağının genellikle beynin birçok bölümünün etkilendiği "nörojenik" bir "başlangıç dönemi" ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Siva, 2002).



**2. Aura Dönemi:** Migren hastalarının sadece % 10 kadarında aura olmaktadır. Aura semptomları, zamanla ve semptomoloji bakımından değişim gösteren geri dönüştürülebilir lokalize nörolojik semptomlardır (Dowson, 2003). Auralı migreni olanların her atağının auralı olması koşulu yoktur. Başka bir deyişle migrenli bir kişide hem auralı, hem aurasız, hem de başağrısız aura atakları bir arada görülebilir (Siva,2002). Aura semptomları genellikle prodrom safhasının sonunda ortaya çıkmakta, 1 saat sürmekte, başağrısının hemen öncesinde yer almakta ve aşağıdakileri içermektedir:

- Görsel bozukluklar (geçici kör noktalar, görme bulanıklığı, skotomlar ya da ışık çakmaları)
- Konuşma bozuklukları
- Karıncalanma, sersemlik, hissizlik, duygu kaybı ve uzuv zayıflığı gibi diğer vücut bölgelerini etkileyen durumlardır (Dowson, 2003).

Aura semptomlarının bulunması, oluşacak olan başağrısının şiddetinin göstergesi değildir. Aurasız migren atakları, auralı migren atakları kadar ya da bunlardan daha şiddetli olabilmektedir. Auraların beyindeki kortikal depresyonun yayılma dalgası tarafından başlatılan elektriksel olaylara bağlı olarak ortaya çıktığına inanılmaktadır (Dowson, 2003).

**3. Ağrı Dönemi:** Migrenin başağrısı safhası, genellikle hafif olan bir ağrı ile başlayan ve hastanın normal aktivitelerini yerine getirmesine engel olacak kadar şiddetli bir ağrıya dönüşebilen başağrısı ile karakterizedir (Siva, 2002). Bu dönemi de kendi içinde; (a) Ağrının başlama dönemi, (b) Ağrı dönemi, ve (c) Ağrının sonlanma dönemi olarak üç bölümde incelenebilir:

### ***a. Ağrının Başlama Dönemi***

Genelde hastaların belirttiği: "ensede, baş arkasında, başın bir tarafında yavaş başlayan bir ağrı/ağırılık/rahatsızlık hissi" ile şekillenir. Çoğu zaman zonklama başlamamıştır, ağrı belli belirsizdir (Siva, 2002).

### ***b. Ağrı Dönemi***

Şiddetli, çoğu zaman zonklayıcı veya korkunç bir basınç olarak tanımlanan, saatler, bazen 1-2 gün sürebilen dönemdir. Ağrı bazen dayanılmayacak şiddette bazen de dalgalanmalarla sürebilmektedir. Migrenlilerin büyük bir kısmında ağrı başın tek bir tarafında olmaktadır (Siva, 2002).

### ***c. Ağrının Sonlanma Dönemi***

Ağrının giderek hafiflediği ve şekil değiştirdiği-zonklayıcı şiddetli ağrının hafifleyerek hastanın uyumaya başladığı dönemdir (Siva, 2002).

Genel olarak toparlayacak olursak başağrısı safhasının genel semptomları:

- Başağrısı; genellikle zonklayıcı, tek taraflı olan, aktivite ile alevlenen ve şiddeti değişen bir durumdur.
- Fotofobi ve fonofobi; hastaların büyük bir bölümünü etkilemektedir ve hastaların atak sona erene kadar karanlık bir odada uzanmalarına neden olabilmektedir.
- Bulantı; hastaların yarısı ya da çoğu tarafından bildirilmektedir.
- Kusma; hastaların % 20'si ya da daha azı tarafından bildirilmektedir fakat özellikle şiddetli bir atağın göstergesidir (Dowson, 2003).

**4. Atağın Gerileme Dönemi:** Başağrısı tepe şiddetine ulaştıktan sonra dereceli olarak azalabilir ve kaybolur. Bununla birlikte gerileme, bazen bir kusma nöbeti ile tetiklenebilmekte ya da hastalar derin bir uyku periyoduna geçebilmekte ve semptomların gerilemiş olmasıyla birlikte uyanabilmektedirler (Dowson, 2003).

**5. İyileşme Dönemi:** Başağrısı sonrası gerileme safhası, başağrısının eşlik etmediği bazı semptomlarla karakterizedir. Bu semptomlar aşağıda verilmektedir:

- Rahatsızlık, mide bulantısı ve yiyecek intoleransı ile birlikte gastrointestinal semptomlar
- Azalmış konsantrasyon ve bazen algılama güçlükleri
- Kas acıları
- Tam bir yorgunluk hissi.

Gerileme safhası birkaç saat ile 48 saat arasında sürmektedir (Dowson, 2003).

### **2.2.7. Migren Patogenezi:**

Migrenin oluşum nedenleri yakın bir tarihte aydınlanmış olsa da halen bir fikir birliğine varılamamıştır. Genetik, vasküler ve nöronal parçaların migren oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Belirli biyokimyasal ve fizyolojik risk faktörlerinin, bireylerin migren olmasına zemin hazırladığı düşünülmektedir (Dowson, 2003).

Migren patogenezi için iki teori ortaya atılmaktadır;

- Vasküler teoride, serebral damarlardaki anormal genişlemenin ve muhtemelen kan 5-hidroksitriptamin (5-HT) konsantrasyonlarının düşük olmasının migrene neden olduğu ileri sürülmektedir.
- Nöral teoride ise, bir migren atağının başlatılmasında beyin sapındaki inflamatuvar mekanizmaların sorumlu olduğu ileri sürülmektedir.

Bu iki teori, her iki teorideki parçaların birleştirildiği ve 5-HT'nin temel bir rol oynadığı nörovasküler bir hipotezde toplanmıştır. Hassas bir sinir sistemi migreni tetikleyen bir çevre ile karşılaştırıldığında nörokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu değişiklikler genellikle uyarıcı semptomlara yol açmakta ve bir eşik değerine ulaşarak beyin sapındaki bir bölgeyi içine almaktadır. Daha sonra başağrısının hafif tersi tarafta bölgesel serebral kan akımında artmalar ortaya çıkmaktadır. Bu durum büyük serebral arterler gibi intrakraniyel kan damarlarındaki genişlemeyi indüklemek için sempatik nöronlar ile beyin sapındaki 5-HT ve noradrenalin içeren nöronları uyarmaktadır. Bu arterler, trigeminal gangliyondaki duyu sinirleri ile geniş bir şekilde sinirlerin ileti aldığı ya da verdiği bölgelerde olduklarından dolayı ağrıya duyarlıdır. Bu duyu sinir aktivasyonu, damarların distansiyonuna ve inflamasyonuna neden çeşitli inflamatuvar aracılardan salınmasına neden olmaktadır. Bu uyarılar, trigeminal sinir yoluyla santral olarak ileten ağrı sinyalleri oluşturmaktadır (Dowson, 2003).

Merkezi sinir sisteminde paroksimal olarak ortaya çıkan bu duyarlılığın genetik kökenli olduğu ve bir kanalopati ile açıklanabileceği yönünde yoğunlaşan güncel görüşler vardır (Oğul, 2002). Geçici hafif hemiparezi atakları ve bunları izleyen migren tipi başağrıları ile şekillenen familyal (ailesel) hemiplejik migren (FHM) otozomal dominant bir hastalıktır ve hastaların bazılarında serebral bulguların hatta komanın da geçici nörolojik klinik tablo içinde yer alabildiği geniş bir yelpazeyi oluşturmaktadır. Bu hastalık grubunda nöronların voltaja bağımlı P/Q tipi kalsiyum kanallarının alfa1 alt ünitesini kodlayan CACNA1A genine ait farklı mutasyonlar gösterilmiştir. Böylece migrenin de bir kanalopati olabileceği düşünülmüş ve bu yönde halen devam eden genetik araştırmalar başlatılmıştır (Oğul, 2002). Kanalopatiler de kalsiyum kanal genindeki mutasyonlarla ilgilidir. Kalsiyum kanal defekti, migrenle ilgili bir bozukluk

olduğundan nörotransmitterlerin salınımını azaltarak, beyin ile enerji metabolizmasında bir değişime yol açar. Bu da migrendeki temel bir anomalilik olarak düşünülmektedir (Dowson, 2003).

Fiziksel, psikolojik ya da biyolojik stresin olasılıkla genetik yatkınlık sonucu beyin duyarlılığı artmış kişilerde bu eşiğin aşılmasına neden olarak migren dönemlerini başlattığı, bu arada beyin sapı mekanizmalarının aktive edilmesi ile birlikte ağrının ortaya çıktığı ve bu sürecin sonunda da giderek eşiğin yükselmesiyle atağın sonlanacağı da ileri sürülebilir (Oğul, 2002).

### **2.2.8. Migren Genetiği**

18. yüzyılda Tissot'un migrenin kalıtsal olabileceğini ileri sürmesi ve 19. yüzyılda Liveing ve Govvers'in kalıtsal bir yatkınlıktan söz etmesi ile migren ve kalıtım üzerine dikkatler yoğunlaşmıştır (Keçeci, 2000). Migren; güçlü genetik bileşenlere sahiptir ve pek çok migren hastasının migrenli birinci derece akrabaları bulunmaktadır (Vries ve ark., 2009).

Migrende aile ağacı analizi, genetik aktarım modelini belirlemek için gereklidir. Ancak, literatürdeki pek çok çalışmanın sonuçları çelişkilidir (Montagna, 2008). Migren için tam bir kalıtım modeli tanımlanmamış olsa da, Mendelyen bir geçiş olmadığı düşünülmektedir. Migrenin alt tipleri arasında belirgin bir genotipik farklılık olabileceği yönünde kanıtlar vardır (Tarlacı, 2006). Bilinen tek Mendel tipi otozomal dominant kalıtsal auralı migren şekli olan ailesel hemiplejik migrende (AHM), tipik bir atakta tek taraflı motor zaaf ve en az bir başka aura semptomu (aynı bölgede duysal bozukluk, görsel semptomlar, afazi) görülmektedir. 1-2 saat süren bu auranın ardından migren tipi

başığrısı gelmektedir. Başlangıç yaşı 15 yaş civarında olan bu tabloda bazı olgularda ağır konfüzyon, uzamış hemipleji, koma, nöbet, ateş gibi atipik ağır bulgular eşlik edebilmektedir. Atak geçince tüm belirtiler kaybolmakla birlikte sınırlı sayıda da olsa bazen kalıcı nörolojik bulgular (ataksi, ekstrapiramidal bulgular veya epilepsi) görülebilmektedir. Aynı ailede semptomatoloji, atak sıklığı ve şiddeti açısından farklı klinik tablolar görülebilmektedir. Bazı sporadik olgularda da benzer tablo ve aynı mutasyonlar bulunabilmektedir. Bu tablonun auralı diğer migren tabloları ile genetik açıdan benzerlik ve farklılık nedenleri henüz bilinmemektedir (Baykan, 2006). AHM ailelerinde üç gen tanımlanmıştır; ilki nöral kalsiyum kanalının alt ünitesi içinde bulunan CACNA1A; ikincisi Na/K ATPaz 'ın  $\alpha_2$  alt ünitesi içinde bulunan ATP1 $\alpha_2$  ve üçüncüsü de sodyum kanalı geni olan SCN1A'dır (Montagna, 2008). CACNA1A geni 19q13 kromozomu üzerinde lokalizedir, Na/K pompasının  $\alpha_2$ -alt ünitesinde kodlanan ATP1A2 geni 1q23 kromozomunda tanımlanmıştır, SCN1A geni ise 2q24 kromozomu üzerinde bulunmaktadır (Cutrer, 2010).

Auralı migren (MA) ve aurasız migrenin (MO) genetik olarak ayrı hastalık olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir. Ancak MA'lı probandın akrabaları arasında MO için tekrarlayan hastalık riski paylaşımının farklı olması, bu durumun gerçekliğini gösterebilir (Montagna, 2008). Auralı migrenli probandın birinci derece akrabalarının auralı migrene yakalanma riski yaklaşık 4 katken, aurasız migrende böyle bir risk artışı yoktur. Migrenli olmayan probandın birinci derece akrabalarında auralı veya aurasız migren için risk artışı yoktur (Russell and Olesen 1995).

Monozigotik ve dizigotik ikiz çalışmaları, genetik ve çevresel faktörlerin önemi araştırmak için uygulanan klasik bir yöntemdir. Migren uyumu, auralı ve aurasız

migrenin her ikisi için monozigotik ikizler dizigotik ikizlerden 1,5- 2 kez daha yüksek olarak görülür (Tarlacı, 2006, Vries ve ark., 2009). Yaklaşık 30,000 ikizi içeren geniş bir toplum temelli ikiz çalışması, genetik ve çevresel faktörlerin neredeyse eşit bir katkı sağladığını gözler önüne sermiştir (Mulder ve ark. 2003). Aurasız migrenin genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonu olarak ortaya çıktığı düşünülürken auralı migrenin, çoğunlukla genetik faktörler sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu ayırım analizi her iki durum için kuşak farkı olmaksızın multifaktöriyel kalıtıma sahip olduğunu düşündürmektedir (Wessman ve ark. 2007). Ancak migrenin multifaktöriyel hastalık yerine poligenik olduğu söylenebilir (Montagna, 2008). Son zamanlarda birçok nörolojik hastalık için sorumlu gen ve ilgili lokuslar tespit edilmeye başlanmıştır. Sebep-sonuç ilişkisi kesin olmasa da gen anomalilerinin kalıtsal olarak ağrıya eğilimi artırdığı yönünde güçlü kanıtlar vardır (Tarlacı, 2006 ).

Migren ile bağlantılı olduğu düşünülen bazı polimorfizmler Tablo 2.4'de verilmektedir.

**Tablo 2.4.** Migren hastalığı ile ilgili olduğu düşünölen bazı genler ve polimorfizmleri

<b>Polimorfizm</b>	
CACNA1A	Wessman ve ark. 2007
ATP1A2	Wessman ve ark. 2007
SCN1A	Wessman ve ark. 2007
NO metabolitleri, İNOS GENİ	Yılmaz ve ark. 2005
5-HT2A reseptör geni T102C, 5- HT1A, 5-HT1A C1019C, 5-HT1B/1D,	Erdal ve ark.,2000
SERT geni VNTR, 5-HTTLPR	Liu ve ark., 2011
COMT geni, COMT geni Val158Met	Erdal ve ark.,2002
MTHFR genindeki C677T,A1298C	Stam ve ark., 2008
Dopamin reseptör gen (DRD2, DRD3, DRD4)	Todt ve ark., 2009
Dopamin beta hidroksilaz (DBH)	Lea ve ark., 2000, Peroutka, 2004
MAO-A promotor bölge	Erdal ve ark., 2003
TNF- $\alpha$ -308G/A, IL-10 -1082G/A, -819C/T, and -592C/A	Mazaheri ve ark.,2006, Ateş ve ark., 2011

### 2.2.9. Dopamin

Merkezi sinir sistemindeki katekolaminlerin büyük bir kısmını oluşturan dopamin (DA), yaklaşık 50 yıl önce Arvid Carlsson tarafından tanımlanmış bir nörotransmitterdir. Carlsson, rezepin verilmiş ve L-Dopa ile tedavi edilmiş hayvanların beyinlerinde yeni geliştirilmiş bir cihaz olan spektrofotofluorimetriyi kullanarak dopamini keşfetmiş, beynin normal bir bileşeni olduğunu söylemiş ve özellikle bazal ganglionlarda yoğunlaştığını belirtmiştir (Sayın, 2008). Adrenal bezde dopamin;



norepinefrin ve epinefrinin (adrenalin) habercisidir. Genel olarak, dopaminin hareket ve kas kontrolünü ayarlayan nöronlar arasında önemli bir sinyal olduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırma sonuçlarına göre beş farklı dopamin reseptörü (D<sub>1-5</sub>) tanımlanmıştır. Bu beş reseptörün her birinin farklı rolleri yerine getirdiği ve merkezi sinir sisteminde farklı yerlerde konuşlandığı bulunmuştur (Holman, 2005). Dopamin reseptörleri sinyal iletiminin, fosfolipaz C aktivitesinin veya araşidonik asit salınımının düzenlenmesi ile de gerçekleştiği düşünülmektedir. Ayrıca, dopamin reseptörleri Na/H değiştiricilerini ve Na-K ATPaz aktivitesini düzenlemektedir. Hem D<sub>2S</sub> hem de D<sub>2L</sub> reseptör izoformlarının G $\beta\gamma$  alt üniteleri, protein kinaz C, hücre dışı sinyallerle düzenlenen kinaz (ERK) yolağı vasıtasıyla hücre büyümesi, farklılaşma ve apoptosiste rol aldıkları gösterilmiştir. Ayrıca dopamin reseptörlerinin farklı hücresel özelliklerinin toplu olarak dopamin reseptörleri ile etkileşime giren proteinler (dopamine receptor interacting proteins- DRIPs) denen bir grup molekül tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (Sayın,2008).

### ***2.2.9.1. Migren ve Dopamin İlişki***

Nörotransmitter, vasküler ve hormonal fonksiyon bozukluklarının migrene yatkınlıkta rol oynadığının tespit edilmesinden sonra, migrenin genetik kökenini araştıran araştırmacılar bu 3 ana fonksiyon üzerinde yoğunlaşmışlardır. Ayrıca nörotransmitter fonksiyon bozukluğu, dopaminerjik ve serotonerjik sistemler de araştırılmıştır. Serotonerjik ve dopaminerjik sistemlerin her ikisinin de migrende önemli olduğuna dair kanıtlar vardır. D<sub>2</sub> ve D<sub>4</sub> dopamin reseptör gen polimorfizmlerinin aurasız migrenle ilişkili olduğuna saptanmıştır (Aydınlı ve ark. 2007). Migren hastalarının bazılarında dopaminerjik sistemin, T hücrelerindeki dopamin reseptörünün yoğunluk

artışı ile ilişkili olduğu görülmüştür. Merkezi bir dopaminerjiğin aşırı faaliyetinin ve noradrenerjik işlev bozukluğunun beraber olmasının migren ataklarına sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca dopaminerjik sistemin aşırı duyarlılığı mide bulantısı, terleme ve esneme gibi istem dışı semptomlara neden olabilmekte ve aynı zamanda bu durum migren atakları sırasında da gözlenebilmektedir (Fernandez ve ark., 2009). Nörolojik hastalıklardaki etkisinin de önemli olduğu düşünülen dopaminerjik sistemdeki aday gen polimorfizmlerinin migren hastalarıyla bağlantıları araştırılmaktadır (Todt ve ark. 2009). Bu aday genlerden biri de Dopamin Beta Hidroksilaz (DBH) genidir (Faraone ve ark., 2005).

#### ***2.2.9.2. Dopamin Beta Hidroksilaz***

Dopamin Beta Hidroksilaz (DBH), beyinde sinir uçlarında bulunan noradrenerjik nöronların katekolamin keselerinde, sinaptik sinirlerde ve membran sınır formlarında bulunan adrenal medullada bulunmaktadır (Kopečková ve ark. 2006). Serumda DBH sempatik sinir sisteminde meydana gelirken; DBH genelde merkezi noradrenerjik nöronlarda meydana gelen serebrospinal sıvıda (CSF) da bulunur (Zabetian ve ark. 2003; Kopečková ve ark. 2006). İnsan serum ve plazmasında DBH aktivitesi sabittir ve DBH; serum DBH aktivitesini kontrol eden bir genidir (Cubells ve ark. 1997). DBH noradrenerjik sistemde önemli rol oynamakla birlikte, dopaminin noradrenaline dönüşümünü kataliz eder. DBH geni 9. Kromozomun uzun kolunda bulunmaktadır (9q34). Yaklaşık olarak 23 kb uzunluğunda ve 12 eksondan oluşmaktadır (Fernandez ve ark. 2006). DBH, sinaptik alanda dopamin-noradrenalin dönüşüm düzeylerinin dengelemede ve post-sinaptik nöron üzerinde harekette de önemli rol oynamaktadır (Peroutka, 2004). DBH proteininin, immunoreaktifdeki beyin omurilik

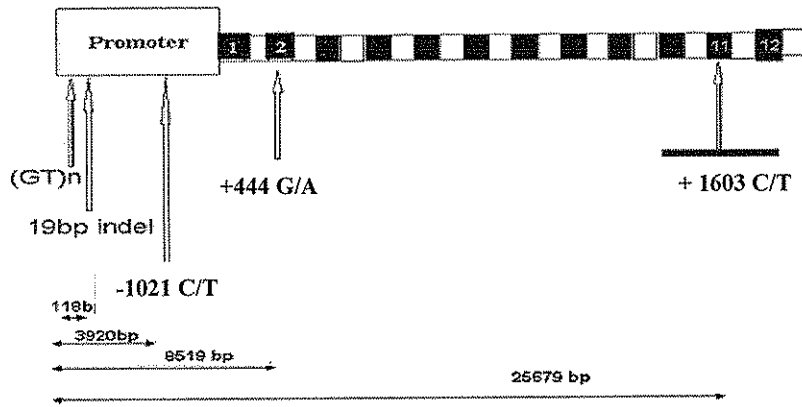
sıvı seviyelerinin ve plazma DBH aktivitesinin varyasyonunun gen lokusundaki birkaç molekül marker ile ilişkili olduğu görülmüştür (Cubells ve ark., 1998).

DBH geninin yapısında bulunan bazı polimorfizmler üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Cubells ve ark. 2004, Tang ve ark. 2007). DBH'in 19 bç'lik insersiyon/delesyon polimorfizmi, kısa ardışık tekrarların (STR'nin) 118 bç yukarısında bulunmaktadır ve aynı zamanda plazma DBH ile ilişkilidir (Cubells ve ark. 2004).

DBH genindeki bir diğer polimorfizm ekson 11 deki C1603T polimorfizmidir (Fernandez ve ark. 2009). Plazma DBH aktivitesi çoğunlukla dolaşımdaki DBH proteinin düzeyi tarafından etkilenmektedir. DBH holoenzimi homotetromer yapıdadır. Arg535Cys değişimi disülfüt bağı oluşumuna sebep olabilir, bu nedenle DBH'in homospesifik aktivitesini değiştirir. Ayrıca, DBH proteinin eksositotik salınımında farklılığa neden olabilir. Bu STR'nin plazma DBH aktivite değişimine küçük ama önemli bir katkısı vardır (Kopečková ve ark. 2006).

Plazma DBH aktivitesi ile ilişkili diğer bir polimorfizm -1021 C→T'dir (Fernandez ve ark. 2009). Promotor içinde translasyon başlama alanının -1021 bç yukarısında bulunmaktadır. Plazma aktivitesi ile -1021 C→T polimorfizmi arasındaki bağlantıyı belirlemek için yapılan çalışmalarda TT genotipine sahip bireylerin daha düşük plazma DBH ile ilişkili olduğu gösterilmektedir. -1021 C→T polimorfizmi, DBH geninin transkripsiyonunun sinerjik aktivasyonunda kritik bir öneme sahiptir (Kopečková ve ark. 2006).

DBH genindeki bir diğer polimorfizm de 444 G→A polimorfizmidir. Ekson 2'de yerleşik bu polimorfizm ile DBH protein ve plazma DBH aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Ruhsal ve anksiyete bozukluğuna sahip hastalarda 444A alleli düşük plazma DBH aktivitesi ilgili ve 444G allelinin de yüksek plazma aktivitesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar, DBH'in plazma DBH aktivitesini ve serebrospinal sıvıda DBH protein düzeyini etkileyen büyük bir lokus olduğunu destekler. Bu polimorfizm, DBH proteininin CSF düzeyi ve plazma DBH aktivitesindeki değişim, DBH'in ekson 2 ve intron 2 arasındaki bağlantı noktasında bulunan G→A dönüşümüyle açıklanır (Kopečkova ve ark. 2006). DBH genin bu üç polimorfizminin polimorfik bölgeleri Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. DBH geninin analiz edilen bazı polimorfik bölgeleri (Fernandez ve ark.

2009).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Nöroloji Anabilim Dalı'nın önceki ortak çalışmalarında Nöroloji Polikliniğine başvuran, migren tanısı Uluslararası Baş ağrısı Derneği kriterlerine göre konulmuş 200 migren hastası ve klinik olarak migrenöz bir baş ağrısı bulunmayan 200 sağlıklı bireyin kanlarından elde edilen DNA'lar çalışmamızda kullanıldı. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden çalışmamıza dahil edildiklerine dair izinleri alındı. Migren hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin çalışmaya dahil edilip edilmeme kriterleri Tablo 3.1.'de verilmiştir. Bu çalışma için, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonun'dan 17.09.2010 tarihinde 10-BADK-016 kayıt numarası ile onay alınmış ve Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2010/98 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı.

**Tablo 3.1.** Hastaların ve kontrol grubundaki kişilerin araştırmaya dâhil edilme ve edilmeme kriterleri

<b>Dahil Edilme Kriterleri</b>	<b>Araştırmanın hasta grubu için dahil etme ölçütleri;</b> 1. Auralı veya aurasız migren tanısı konmuş hastalar, 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması, 3. 18 yaşından büyük olması
	<b>Araştırmanın kontrol grubu için dahil etme ölçütleri;</b> 1. Migren tanısı almamış olmak 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması, 3. 18 yaşından büyük olması,
<b>Dahil Edilmeme Kriterleri</b>	<b>Araştırmanın hasta grubu için dahil etmeme ölçütleri;</b> 1. Migren tanısı almamış olmak. 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması, 3. 18 yaşından küçük olması
	<b>Araştırmanın kontrol grubu için dahil etmeme ölçütleri;</b> 1. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması 2. 18 yaşından küçük migren tanısı almış olmak

### 3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

#### 3.2.1. Aletler ve Cihazlar

1. PZR Cihazı (Termal Cycler) (Techne, TC 4000, TC 412)
2. Elektroforez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOİCE)
3. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)
4. Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM-ST4, 1000/20M- 09200806)
5. Bilgisayar (Exper, İntelcore2)
6. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica,F20520162)
7. Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellowave, MD 554 )
8. Hassas Terazı(Kern, ABJ 220-4M)
9. Mikrosantrifüj (Mikro120, Hettich Zentrifugen D- 78 532n)
10. Vorteks (Velp Scientifica; F20220176)
11. Mikropipet Seti (Thermo Scientific, Finnpiquette)
12. Etüv (Memmert, Beschickung-Loading 100- 800 )
13. Otoklav (HMC Hirayama, HV-25L)
14. Buzdolabı (İndesit, TN5 FNF)
15. pH metre (İHANNA, 507702)

#### 3.2.2. Kimyasal Maddeler

1. Taq polimeraz (Fermentas, Lot: 00076185 )
2. Hha I (Restriksiyon Enzimi) (Fermentas, Lot: 00064234)
3. Bst UI (Restriksiyon Enzimi) (Fermentas, Lot: 00059520)
4. Eco NI (Restriksiyon Enzimi) (Fermentas, Lot: 00063252)

5. Primerler 1603 C/T1 (405222)  
1603 C/T2 (405223)  
1021 C/T1 (405220 )  
1021 C/T2 (405221)  
444G/A1 (405224)  
444G/A2 (405225)
6. Agaroz (Sigma, Lot: 050M0107)
7. Nusieve (Prona (Gamma Micropor) Lot: 095503PR)
8. 50 bp'lik marker (Fermentas, Lot: 00070269 )
9. Loading dye (Vivantis, Lot: 4011)
10. 100 mM dNTP set (Fermentas, Lot: 00070408)
11. Trisma Base (Amresco, Lot: 1888B184)
12. Borik Asit (Amresco, Lot: 2018B116)
13. EDTA (Amresco, Lot: 3228B038)
14. Ethidium Bromide (Serva, 090107)
15. NaOH (Sodyum Hidroksit) (Riedel-de Haen, Lot:70440 UN 1823)



### 3.2.3. Çözeltiler

#### ***EDTA Solüsyonu (0,5 M) Hazırlanışı***

18,16 Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2,0 g NaOH karışma eklendi (pH: 8,0 olacak). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100ml'ye tamamlandı (distile su ile). Hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp oda sıcaklığında saklandı.

#### ***5XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu***

54 g Trisma Base, 27,5 g Borik Asit ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca 1 litreye distile su ile tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.

#### ***Etidyum Bromid Solüsyonu (10mg/ml)***

0,1 g Etidyum Bromid 10ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Hazırlanan solüsyon +4°C'de saklandı.

#### **Elektroforez Yürütme Tamponu**

5X TBE tamponundan distile su ile seyreltilerek 1X TBE hazırlandı.

#### ***%2'lik Agaroz Jel (100ml)***

2 g agaroz, 100 ml 1XTBE erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 1,5 dakika ısıtıldı. Hafif soğuması beklenecek şekilde (yaklaşık 60°C) 3µl Etidyum bromid (10mg/ml) eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapılacak tarafları hazırlanmış olan kasete döküldü.

### 3.3. YÖNTEM

#### 3.3.1. *Genomik DNA İzolasyonu*

Bu çalışmada, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Nöroloji Anabilim Dalı'nın önceki ortak çalışmalarında oluşturulmuş olan DNA'lar kullanıldığı için tekrar ayrı bir DNA izolasyonu yapılmadı.

#### 3.3.2. *DNA'nın Kalitatif Tayini*

1,2 g agaroz, 60ml 1XTEB içerisinde kaynatılarak çözündürüldü, 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra 1,8µl EtBr (10mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1-2µl DNA, toplam hacim 4µl olacak şekilde 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1XTEB tamponu içerisinde, 120 voltta(v) 15 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi.

#### 3.3.3. *DNA'nın Kantitatif Tayini*

Çift zincirli DNA preparasyonlarının yaklaşık saflığı 260/280 nm'deki absorbansların oranıyla ( $A_{260}/A_{280}$ ) belirlemek mümkündür. Saf çift zincirli DNA için  $A_{260}/A_{280} = 1,8$ 'dir. Saf RNA'nınki 2 civarında, proteininkide 1'den küçüktür. DNA'ların derişimleri, 260nm dalga boyunda okunan OD değerinin, sulandırma katsayısı ve DNA katsayısı ile çarpılması sonucu µg/ml cinsinden belirlendi.

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{Sulandırma oranı} \times 50 \text{ (katsayı)}$$

### 3.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ

PZR, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir (Temizkan ve Arda, 2004).

PZR, hedef DNA veya RNA dizisinin çoğaltılarak gösterilmesi esasına dayanır. Teknik; denatürasyon (94 °C'de 30-90 sn.), yapışma ( 55°C'de 30-120 sn) ve uzama (72°C'de 60-180 sn) basamaklarının tekrar eden döngülerinden oluşur. Bu sırada kullanılan özel primer dizileri hedef DNA'nın çoğaltılmasını sağlar ve bu işlem ortalama 30 döngü devam eder. 30 siklus  $2^{30}$  kopya üretir (Ergin, 2004).

PZR karışımı için kullanılan malzemeler şunlardır; Kalıp DNA, dH<sub>2</sub>O, "buffer", MgCl<sub>2</sub>, dNTP'ler(serbest nükleotidler), primerler ve Taq polimeraz'dır (Ergin, 2004). Kalıp DNA; PZR'da genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir (Temizkan ve Arda, 2004).

### 3.5. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZİ:

Bir kromozomun aynı bölgesi, aynı türün farklı bireylerinde veya kromozomlarında polimorf olarak tanımlanan iki farklı DNA dizilişine sahiptir ve genetik polimorfizmi gösterdiği söylenebilir. Genetik polimorfizme mutasyonlar neden olur. Diploid bireyler içerisinde örneğin, belirli tek kopya genin iki alleli sadece bir nükleotit yönünden bile farklılık gösterebilir ve dolayısıyla gen polimorfik olarak tanımlanabilir. Mutasyon olaylarının genetik polimorfizme neden olması tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler) meydana getirir. SNP'ler, restriksiyon enzimlerince teşhis edilebilen kısa diziler içinde oluşur (Restriksiyon endonükleazlar, DNA'yı tanımlanmış ve üretilebilir fragmentlere kesen bakteriyel enzimlerdir). Böylelikle, bir restriksiyon

enzimi tarafından DNA molekülünün kesilmesi ile elde edilen fragmentin uzunluğu her bir allel için farklı olur. Bu durum, restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak bilinir. Genetik bir hastalığa neden olan alleli belirleyen özel bir RFLP, klinik teşhiste markır olarak kullanılabilir. Restriksiyon fragmentleri veya PZR ürünleri gibi aynı uzunluktaki DNA fragmentlerinde bulunan SNP'lerin belirlenmesinde jel elektroforezini kullanmak mümkündür (Turner ve ark. 2004).

### 3.6. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ

Sulu bir çözelti içinde, suspansiyeye ya da çözünmüş küçük elektrik yüklü parçacıkların, uygulanan bir elektrik alanının etkisi ile göç etmesi sürecine elektroforez denir (Kaya, 2002). Agaroz, deniz yosunundan üretilen bir polisakkarittir. % 0,5-2 arasındaki konsantrasyonlar da sulu çözeltilerle çözüldüğünde katı bir jel oluşturur. Elektroforez için kullanılan agaroz, bakteriyel kültür plakları yapmada kullanılan agarın saflaştırılmış formudur (Turner, 2004).

### 3.7. DBH GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

#### 3.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun (PZR) Analizi

DBH geninin +1603 C→T ve -1021 C→T polimorfizmlerinin belirlenmesi için Fernandez ve arkadaşlarının ve 444G→A polimorfizminin belirlenmesi için Yamamoto ve arkadaşlarının yapmış oldukları PZR-RFLP yöntemi aşağıda belirtildiği şekilde modifiye edilerek uygulanmıştır (Yamamoto ve ark 2003; Fernandez ve ark 2009).

Bu üç polimorfizmin her birinin belirlenmesinde kullanılan primerler, PZR karışımları ve amplikasyon sıcaklıkları ayrı ayrı verilmiştir.

**DBH geni +1603 C→T Polimorfizmi;**

DBH geninin +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmi belirlemek için yapılan PZR'larda, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, PZR karışımları ve çoğalma sıcakları sırasıyla Tablo 3.2, Tablo 3.3 ve Tablo 3.4 'te gösterilmektedir.

**Tablo 3.2.** DBH geni +1603 C→T Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler

Bölge	Primerler
+1603 C→T	F:5'- CCAGGGACAGGACTCGAGTTG -3' R:5'- AGCAGTTTGGAGTGCAGACCC -3'

**Tablo 3.3.** DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.

	PZR bileşenleri	µl/TÜP
1.	Steril bidistile Su	17 µl
2.	PZR buffer	2,5 µl
3.	MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1,5 µl
4.	dNTP Mix (12,5mM)	0,3 µl
5.	Primer 1603 C/T1 (10pmol/ µl)	0,8 µl
6.	Primer 1603 C/T2 (10pmol/ µl)	0,8 µl
7.	Taq Polimeraz (5 u/µl)	0,1 µl
8.	Genomik DNA	2 µl

**Tablo 3.4.** DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5dk.	-
Denatürasyon	94	30sn.	35
Bağlanma	62	30sn.	
Uzatma	72	30sn.	
Final	72	10dk.	

DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmleri restriksiyon enzim analizi yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3.3 'te verilen +1603 C→T bölgesinin çoğaltımında kullanılan PZR karışımına göre; her bir PZR tüpünde bulunan 23'er µl 'lik karışımın içerisine 2 µl DNA ilave edilerek toplam hacim 25 µl yapıldı. Tablo 3.4 'teki DBH geni +1603 C→T bölgesinin polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltılması sağlandı.

#### ***DBH geni -1021 C→T Polimorfizmi;***

DBH geninin -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmi belirlemek için yapılan PZR'larda, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, PZR karışımları ve çoğalma sıcaklıkları sırasıyla Tablo 3.5, Tablo 3.6 ve Tablo 3.7'de gösterilmektedir.

**Tablo 3.5.** DBH geni -1021 C→T Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler primerleri

Bölge	Primerler
-1021 C→T	5'-GGAGGGACAGCT TCT AGTCC-3' 5'-CACCTCTCCCTCCTGTCCTCTCGC-3'

**Tablo 3.6.** DBH geni -1021 C→ T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı

	PZR Bileşenleri	µl/TÜP
1.	Steril bidistile Su	17,4 µl
2.	PZR buffer	2,5 µl
3.	MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1,5 µl
4.	dNTP Mix (12,5mM)	0,3 µl
5.	Primer -1021 C/T1 (10pmol/ µl)	0,6 µl
6.	Primer -1021 C/T2 (10pmol/ µl)	0,6 µl
7.	Taq Polimeraz (5 u/µl)	0,1 µl
8.	Genomik DNA	2 µl

**Tablo 3.7.** DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5dk.	-
Denatürasyon	94	30sn.	35
Bağlanma	60	30sn.	
Uzatma	72	30sn.	
Son	72	10dk.	-

DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmleri restriksiyon enzim analizi yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3.6'da verilen -1021 C→T bölgesinin çoğaltımında kullanılan PZR karışımına göre; her bir PZR tüpünde bulunan 23'er µl 'lik karışımın içerisine 2 µl DNA ilave edilerek toplam hacim 25 µl yapıldı. Tablo 3.7 'deki DBH geni -1021 C→T bölgesinin polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltılması sağlandı.

***DBH geni +444 G→A Polimorfizmi;***

DBH geninin +444 G→A bölgesindeki polimorfizmi belirlemek için yapılan PZR'larda, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, PZR karışımları ve çoğalma sıcaklıkları sırasıyla Tablo 3.8, Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da gösterilmektedir.



**Tablo 3.8.** DBH geni +444 G→A Polimorfizminin analizinde kullanılan primerler

Bölge	Primerler
+444 G→A	5'-CCT GGA GCC CAG TGC TTG TC-3' 5'-ACG CCC TCC TGG GTA CTC GC-3'

**Tablo 3.9.** DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı

	PZR Bileşenleri	µl/TÜP
1.	Steril bidistile Su	17,4 µl
2.	PZR buffer	2,5 µl
3.	MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1,5 µl
4.	dNTP Mix (12,5mM)	0,3 µl
5.	Primer +444G/A1 (10pmol/ µl)	0,6 µl
6.	Primer +444G/A2 (10pmol/ µl)	0,6 µl
7.	Taq Polimeraz (5 u/µl)	0,1 µl
8.	Genomik DNA	2 µl

**Tablo 3.10.** DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5dk.	-
Denatürasyon	94	30sn.	30
Bağlanma	55	30sn.	
Uzatma	72	30sn.	
Son	72	10dk.	-

DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmleri restriksiyon enzim analizi yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3.9'da verilen +444 G→A bölgesinin çoğaltımında kullanılan PZR karışımına göre; her bir PZR tüpünde bulunan 23'er µl 'lik karışımın içerisine 2 µl DNA ilave edilerek toplam hacim 25 µl yapıldı. Tablo 3.10 'daki DBH geni +444 G→A bölgesinin polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltılması sağlandı.

### 3.7.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi:

Bu çalışma da, DBH geninin üç farklı polimorfizmi için farklı olan PZR programı ile çoğaltılmış polimorfik noktalarını içeren PZR ürünlerinin farklı restriksiyon enzimleriyle kesimleri aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

**Tablo 3.11.** DBH geni +1603 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları

Buffer	2,0 µl
Bst UI enzimi (10u/µl) 5'... C G ↓ C G...3' 3'...G C ↑ G C...5'	0,5 µl
dH2O	19,5 µl
PZR ürünü	5 µl
Toplam	27,0 µl

DBH genin +1603 C→T polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.11' de belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve Bst UI restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 1,5 saat kesime bırakıldı.

**Tablo 3.12.** DBH geni -1021 C→T bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları

Buffer	2,0 µl
Hha I enzimi (10 u/µl) 5'... G C G ↓ C...3' 3'... C ↑ G C G...5'	0,4 µl
dH2O	19,6 µl
PZR ürünü	5 µl
Toplam	27,0 µl

DBH geni -1021 C→T polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.12. de belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve Hha I restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 1,5 saat kesime bırakıldı.

**Tablo 3.13.** DBH geni +444 G→A bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları

Buffer	2,0 µl
Eco NI enzimi (10 u/µl) 5'... CCTNN↓ NNNAGG..3' 3'...GGANN↑ NNTCC...5'	0,4 µl
dH <sub>2</sub> O	19,6 µl
PZR ürünü	5 µl
Toplam	27,0 µl

DBH geni +444 G→A polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.13. de belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve Eco NI restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 1,5 saat kesime bırakıldı.

### 3.8. İstatistiksel Yöntemler

Verilerin istatistiksel analizi, Epi İno Software 3.2.2 versiyonu (CDC, Atlanta, GA) programı kullanılarak yapıldı. Migren hasta ve kontrol gruplarında DBH genindeki -1021C→T, +1603C→T ve +444G→A gen polimorfizmlerinin dağılımı  $\chi^2$  veya Fisher testi ile karşılaştırıldı. p değerinin  $\leq 0,05$  olması, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Genotip dağılımı ve Hardy-Weinberg denkliği Arlequin Software 2000 (University of Geneva, Switzerland) programı ile test edildi.

#### 4. BULGULAR

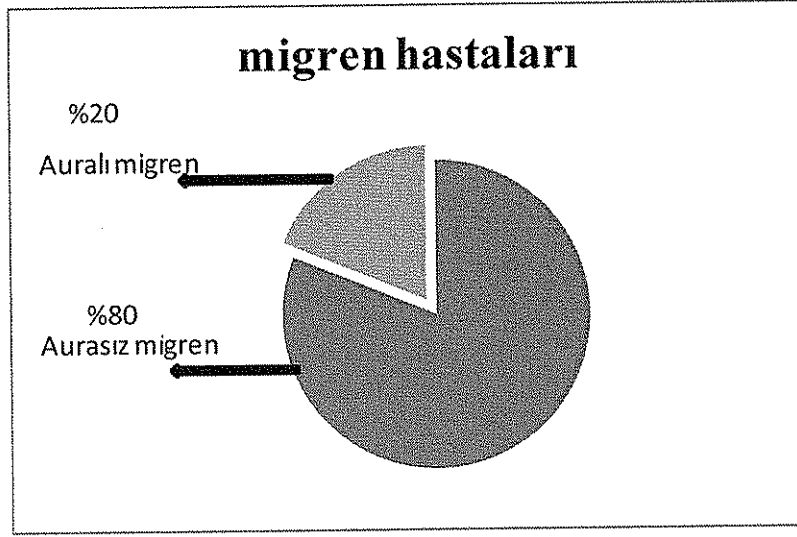
Bu çalışmada; DBH gen polimorfizmlerinin analizi PZR-RFLP yöntemiyle gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen migren hastaları ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1.'de verildi. Migren hasta grubunu oluşturan hastaların auralı migren ve aurasız migren olarak ayrımları Şekil 4.1.'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.1.** Çalışmaya alınan migren hastalarının ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı

	Migren grubu (n=200)	Kontrol grubu (n=200)
<b>Kadın</b>	176 (%88)	128 (%64)
<b>Erkek</b>	24 (%12)	72 (%36)
<b>Yaş Ortalaması</b>	36,48	34,49
<b>Auralı Migren(MA)</b>	33	N/A
<b>Aurasız Migren(MO)</b>	167	

N/A; değerlendirme dışı

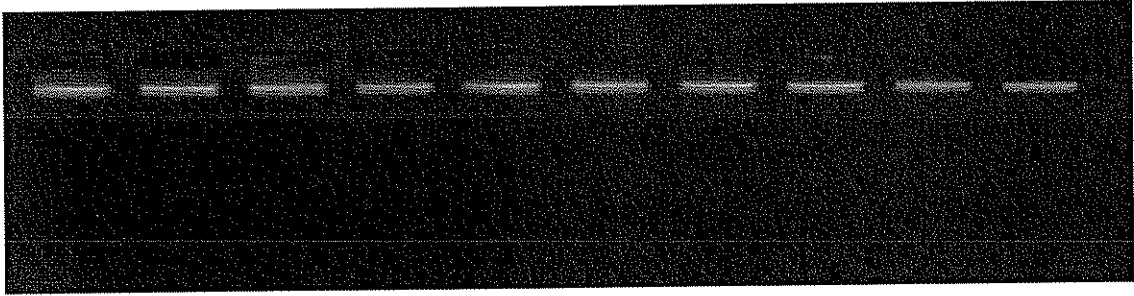
Migren hastaları başağrısı tipi açısından sorgulandığında, 200 hastanın 167'sinin (%83,5) aurasız ve 33'ünün (%16,5) auralı migren hastası olduğu tespit edildi (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1.** Çalışmaya dahil edilen aurasız migren ile auralı migrenini grafik gösterimi

#### 4.1. DNA'NIN KALİTATİF TAYİNİ

Genomik DNA'lar %2 (w/v)'lik agaroz jel elektroforezinde her bir bölge için analiz edildi. Genomik DNA'lara ait bantlar ultraviyole (UV) ışık altında gözlemlendi.



**Şekil 4.2.** Genomik DNA'nın agaroz jeldeki görünümü

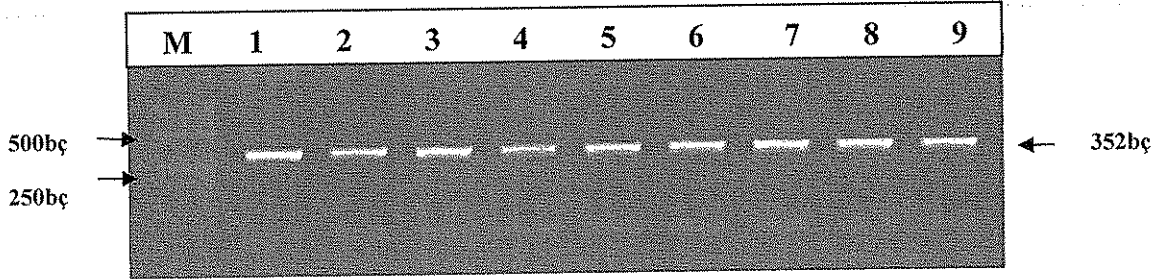
#### 4.2. DNA'NIN KANTİTATİF TAYİNİ

Genomik DNA'nın kantitatif tayini, spektrofotometrik ölçümler ile yapıldı. DNA'ların saflığı OD260 ve OD280 değerlerinin birbirlerine olan oranı alınarak hesaplandığında, örneklerin saflığının 1.52- 1.79 değerlerinde olduğu belirlendi.

#### 4.3. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) ANALİZLERİ

##### *DBH geni +1603 C→T Polimorfizmi;*

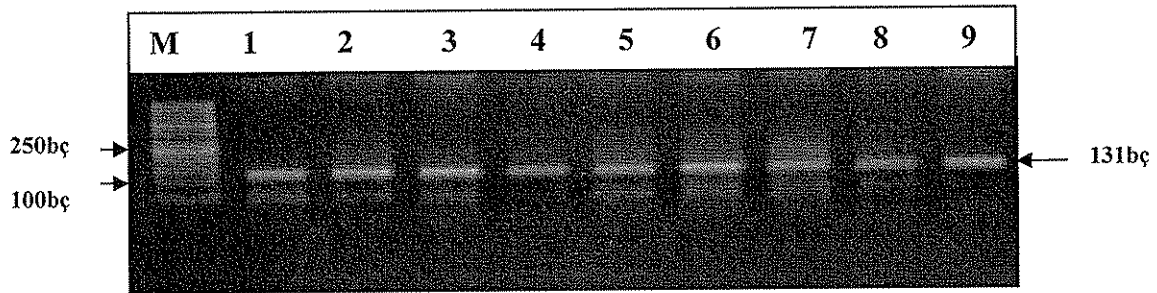
DBH geninin restriksiyon enzim kesim analizi yapılacak olan +1603C→T Polimorfik noktasını içeren 352 bç'lik bölgesi Tablo 3.3'de verilen PZR karışımına ve Tablo 3.4'de belirtilen PZR programına göre çoğaltılarak %2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. DBH geninin +1603 C→T polimorfik noktalarını içeren 352 bç'lik PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü. M: 50 bç'lik Marker

***DBH geni -1021C→T Polimorfizmi ;***

DBH geninin restriksiyon enzim kesim analizi yapılacak olan -1021C→T polimorfik noktasını içeren 131 bç'lik bölgesi Tablo 3.6'da verilen PZR karışımına ve Tablo 3.7'de belirtilen PZR programına göre çoğaltılarak %2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 4.4).

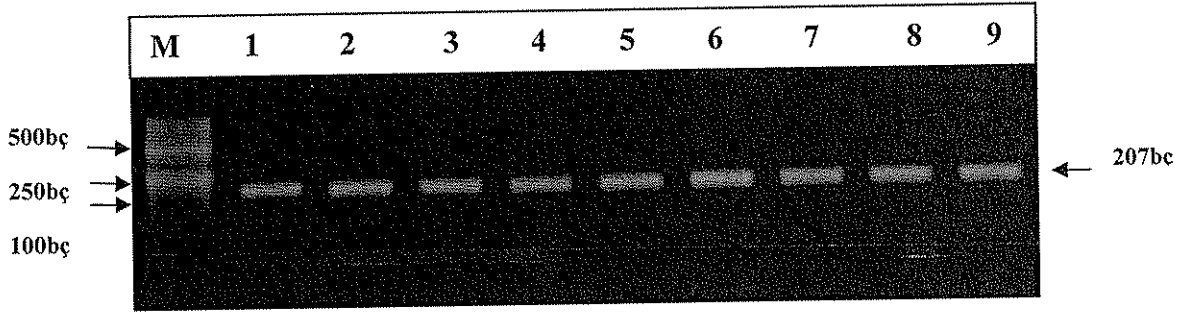


**Şekil 4.4.** DBH geninin -1021 C→T polimorfizmi içeren 131 bç'lik PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü. M: 50 bç'lik Marker

***DBH geni +444G→A Polimorfizmi;***

DBH geninin restriksiyon enzim kesim analizi yapılacak olan +444 G→A polimorfik noktasını içeren 207 bç'lik bölgesi Tablo 3.9'da verilen PZR karışımına ve Tablo 3.10'de belirtilen PZR programına göre çoğaltılarak %2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 4.5).



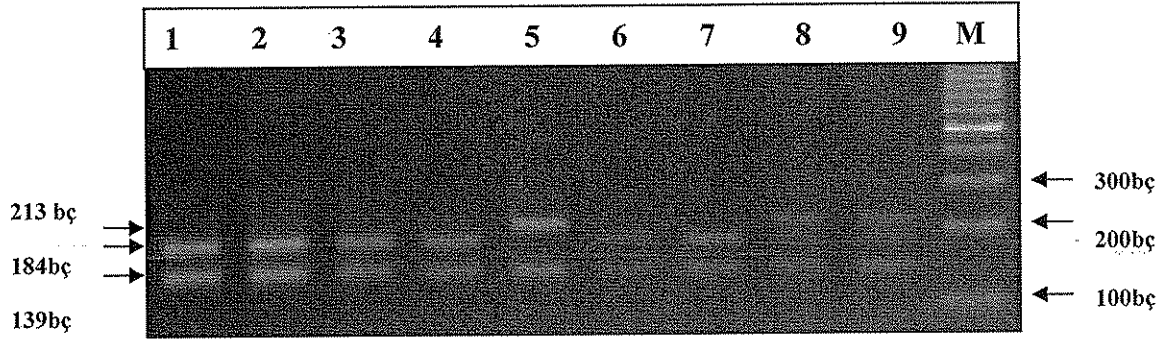


Şekil 4.5. DBH geninin +444 G→A polimorfizmi içeren 207 bç'lik PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünümü. M: 50bç'lik Marker

#### 4.4. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZLERİ

##### *DBH geni +1603 C→T Polimorfizmi*

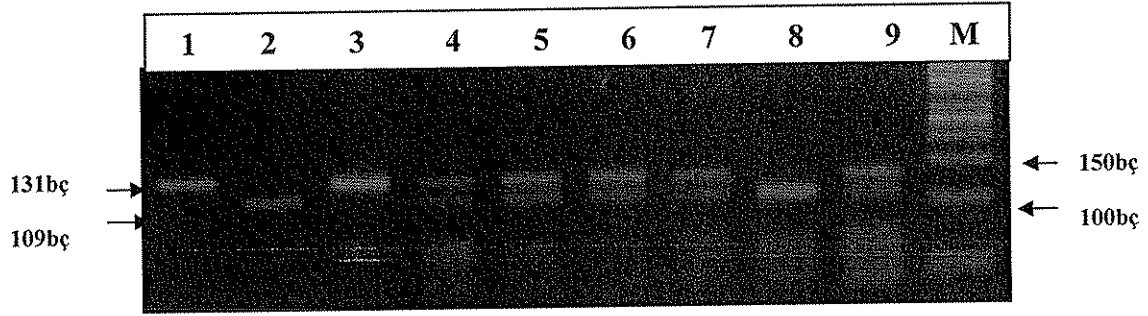
DBH geninin ekson 11'de bulunan polimorfik noktaları içeren 352 bç'lik bölgesi DBH Gen Polimorfizmlerinin Analizi Bölümü'nde belirtilen PZR yöntemi ile çoğaltıldıktan sonra Bst UI restriksiyon enzimi ile 37 °C'de yaklaşık 1,5 saat kesime bırakıldı. DBH geninin +1603 C→T polimorfizmini görüntülemek için önceden hazırlanmış 100ml 1xTBE tamponu içerisinde çözünmüş % 2'lik (1,4 gr agaroz ve 0,6 gr nusieve) olarak hazırlanmış jelle yüklenen kesim ürünleri elektroforezde 120 V'da 35 dakika yürütüldü ve ultraviyole ışıkta incelendi. DBH geninin +1603 C→T polimorfizminin incelendiği, Bst UI restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu PZR ürünü, enzim tanıma bölgesindeki değişime bağlı olarak beklendiği gibi, homozigot C/C bireylerde 184, 139 and 29 bç'lik DNA parçaları şeklinde, heterozigot C/T bireylerde 213, 184, 139 ve 29 bç'lik DNA parçaları şeklinde, homozigot T/T bireylerde 213 ve 139 bç'lik DNA parçaları şeklinde gözlemlendi (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** DBH geninin +1603 C→T polimorfizminin incelendiği Bst UI restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 2'lik (1,4 gr agaroz ve 0,6 gr nusieve) jel görünümü (CC:184,139 bç; CT:213,184,139,29 bç TT: 213,139 bç). M: 100 bç'lik marker (1,2,3,4,6,7 no'lu örnekler CC; 8,9 no'lu örnekler CT; 5 no'lu örnek TT)

#### ***DBH geni -1021C→T Polimorfizmi***

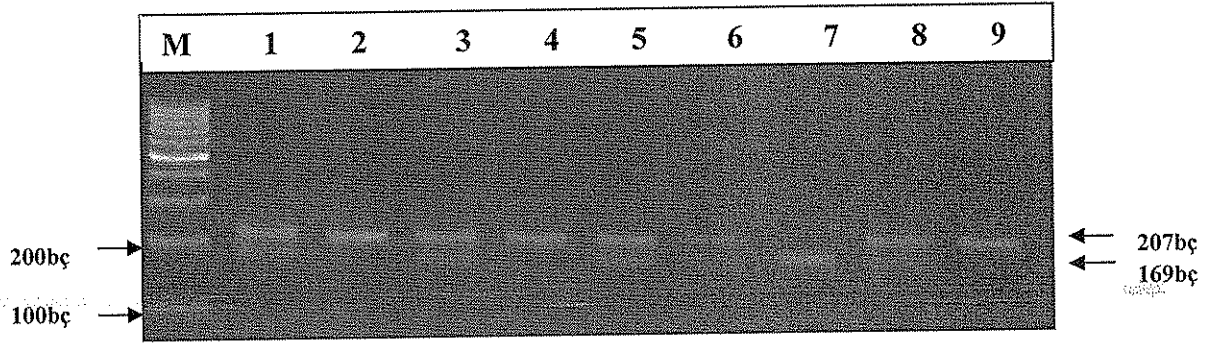
DBH geninin promotorunda bulunan polimorfik noktaları içeren 131 bç'lik bölgesi DBH Gen Polimorfizmlerinin Analizi Bölümü'nde belirtilen PZR yöntemi ile çoğaltıldıktan sonra Hha I restriksiyon enzimi ile 37 °C'de yaklaşık 1,5 saat kesime bırakıldı. DBH geninin -1021 C→T polimorfizmini görüntülemek için önceden hazırlanmış olan 100 ml'de 1xTBE tamponu içerisinde çözünmüş % 4'lük (2,5 gr agaroz ve 1,5 gr nusieve) olarak hazırlanan jele yüklenen kesim ürünleri elektroforezde 120 V'da 45 dakika yürütüldü. Jel ultraviyole ışıkta incelendi. DBH geninin -1021 C→T polimorfizminin incelendiği Hha I restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu PZR ürünü, enzim tanıma bölgesindeki değişime bağlı olarak, homozigot C/C bireylerde 109 ve 22 bç'lik DNA parçaları şeklinde, heterozigot C/T bireylerde 131, 109 ve 22 bç'lik DNA parçaları şeklinde ve homozigot T/T bireylerde 131 bç'lik DNA parçaları şeklinde gözlemlendi (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7.** DBH geninin -1021 C→T polimorfizminin incelendiği Hha I restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 4'lük (2,5 gr agaroz ve 1,5 gr nusieve) jel görünümü (CC:109,22 bç; CT:131,109,22 bç; TT:131 bç) M: 50 bç'lik Marker (2,8 no'lu örnekler CC; 4,5,6,7,9 no'lu örnekler CT; 1,3 no'lu örnekler TT)

#### ***DBH geni +444G→A Polimorfizmi***

DBH geninin ekson 2'de bulunan polimorfik noktaları içeren 207 bç'lik bölgesi DBH Gen Polimorfizmlerinin Analizi Bölümü'nde belirtilen PZR yöntemi ile çoğaltıldıktan sonra Eco NI restriksiyon enzimi ile 37 °C'de yaklaşık 1,5 saat kesime bırakıldı. DBH geninin +444 G→A polimorfizmini görüntülemek için önceden hazırlanmış olan 100 ml'de 1xTBE tamponu içerisinde çözünmüş % 2'lik (1,25 gr agaroz ve 0,75 gr nusieve) olarak hazırlanan jele yüklenen kesim ürünleri elektroforezde 120 V'da 35 dakika yürütüldü. Jel ultraviyole ışıkta incelendi. DBH geninin +444 G→A polimorfizminin incelendiği, Eco NI restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu PZR ürünü, enzim tanıma bölgesindeki değişime bağlı olarak beklendiği gibi, homozigot G/G bireylerde 169 and 38 bç'lik DNA parçaları şeklinde, heterozigot G/A bireylerde 207, 169 ve 38 bç 'lik DNA parçaları şeklinde, homozigot A/A bireylerde 207 bç'lik DNA parçaları şeklinde gözlemlendi (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8.** DBH geninin +444 G→A polimorfizminin incelendiği Eco NI restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilmiş PZR ürünlerinin % 2'lik (1,25 gr agaroz ve 0,75 gr nusieve) jel görünümü (GG:169,38 bç; GA:207,169,38 bç; AA:207 bç). M: 100 bç'lik Marker (7 no'lu örnek GG; 1,3,5,6,8 no'lu örnekler GA; 2,4,9 no'lu örnekler AA)

#### 4.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

Migren hastaları ve kontrol grubunda DBH geninin (+1603 C→T, - 1021 C→T ve 444 G→A) polimorfizminin istatistiksel analizi Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** DBH geninin (+1603 C→T, - 1021 C→T ve +444 G→A) polimorfizminin istatistiksel analizi

DBH lokus		Migren Hastaları n=200(%)	Kontrol Grubu n=200(%)	P	O.R (CI )
<b>+1603 C/T</b>	Genotip			0.0005	
	C/C	180(%90)	175(%87,5)		
	C/T	18(%9)	9(%4.5)		
	T/T	2(%1)	16(%8)		
	Allel sıklığı			0.006	1.96(1.15-3.41)
	C	378(%94,5)	359 (%89,75)		
	T	22 (%5,5)	41(%10,25)		
<b>-1021 C/T</b>	Genotip			0.9169	
	C/C	116(%58)	118(%59)		
	C/T	72(%36)	72(%36)		
	T/T	12(%6)	10(%5)		
	Allel sıklığı			0.370	0.95(0.68-1.31)
	C	304 (%76)	308(%77)		
	T	96(%24)	92(%23)		
<b>+444 G/A</b>	Genotip			0.8748	
	G/G	41(%20,5)	40(%20)		
	G/A	93(%46,5)	89(%44,5)		
	A/A	66(%33)	71 (%35,5)		
	Allel sıklığı			0.335	1.06(0.80-1.41)
	G	175(%43,75)	169(%42,25)		
	A	225(%56,25)	231(%57,75)		

## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Migren toplumun büyük bir bölümünü etkileyen önemli bir sağlık problemidir. Yaşam kalitesini doğrudan etkilemesi, migrenin etkin ve tam olarak tedavisinin önemini artırmaktadır. Ancak migren tedavisi bugün için henüz istenilen düzeyde değildir. Bu yüzden migren hala ekonomik ve sosyal boyutları olan önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Bu sorunun aşılması ancak migren patogenezinin tam olarak aydınlatılması ile çözüm bulabilecektir (Yılmaz ve ark. 2005).

Migrenin genetik bir hastalık olduğu düşünülmesine rağmen migrene yatkınlık oluşturabilecek genlerin hangileri olduğu henüz netlik kazanmamıştır (Lea ve ark. 2000). Yapılan vaka-kontrol ve ailesel analizlerle pek çok aday genin migrenle bağlantısı araştırılmaktadır. Bu aday genlerin bir kısmı da dopaminerjik sistemle ilgilidir. Ancak, dopaminerjik sistem ile ilgili genetik çalışmalar sonucunda henüz bir fikir birliğine varılamamıştır (Todt ve ark. 2009).

Dopamin hipotezi, migren hastalarında merkezi dopamine aşırı duyarlılık gösterme gibi belirtilere dayanır ve dopamin reseptörlerinin bilinen kapasitesi, vasküler uyumu ve otonom cevapları düzenler. Hayvansal modeller ile yapılan çalışmalar, dopamin reseptörlerinin trigeminovasküler yolda bulunduğunu ve dopaminin rat beyinde ağrı sinyallerine ilişkin trigeminovasküler iletimi durdurucu bir rolü olduğunu göstermektedir. Farklı toplumlardaki birkaç ortak çalışma; dopamin reseptörleri, taşıyıcısı, sentezi ve katabolizmasıyla alakalı enzimlerde dahil olmak üzere dopaminerjik nörotransmitter sistemin proteinlerini kodlayan genler üzerine odaklanmıştır (Corominas ve ark. 2009). Migrenle ilgili olduğu düşünülen aday genlerden biri de DBH'dır (Faraone ve ark. 2005).

DBH, nöradrenarjik sistemde de önemli rol oynar. Ayrıca, katekolamin yolağının özellikle sinir ve akıl hastalıklarının fonksiyon bozukluğunda, dopamin ve norepinefrin kadar önemlidir (Fernandez ve ark., 2006).

DBH enziminin aktivitesi sinaptik sistemin uyarılması sırasında adrenerjik ve noradrenarjik nöronlardan salınan enzimlerden dolayı serumda veya plazmada ölçülebilir. DBH genin birkaç polimorfizminin plazma DBH aktivitesiyle ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (Fernandez ve ark. 2009). DBH enziminin sinaps da dopamin düzeyini düzenlemede önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Migren hastalarının sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığı birkaç çalışma sonucu incelendiğinde; migren atağı sırasında serum DBH'de önemli bir düşüş olduğu görülmüştür (Fernandez ve ark., 2009; Todt ve ark., 2009).

DBH geninde migren ile bağlantılı olduğu düşünülen polimorfizmlerden biri, ekson 11 'de bulunan C→T değişimi şeklinde tanımlanan +1603 C→T polimorfizmdir. Bu polimorfizme sahip, homozigot +1603 T ve heterozigot +1603 C→T bireylerinde çok düşük plazma DBH aktivitesi görülmektedir (Tang ve ark. 2005; Fernandez ve ark., 2009).

DBH genin de bulunan bir başka polimorfizm de ATG translasyon başlama yerinin 1021 bç yukarısında bulunan C→T değişimidir. Bu polimorfizm, plazma DBH aktivitesi ile ilişkilidir. Düşük DBH'lı bireyler -1021 C→T 'de T allelinin iki kopyasını da taşırlar, heterozigotlarda DBH düzeyi orta seviyede ve C alleli için homozigot kişiler yüksek düzeyli DBH'e sahip oldukları gösterilmektedir (Cubells ve ark. 2004).

DBH geninin ekson 2' bulunan +444 G→A tek nükleotid polimorfizmi plazma DBH düzeyi ve CSF de DBH proteinin düzeyi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Cubells ve ark. 2004).

Bu çalışmada migren etiyojisinde rolü olduğu düşünülen DBH genin -1021 C→T, +1603 C→T ve +444 G→A polimorfizmlerinin Türk toplumunda migren hastalığı ile olası bağlantısının önemi araştırıldı. Çalışmaya dahil edilen 200 migren hastasının 33'ü auralı migren, 167'si aurasız migrenlidir. Migren hastalarının alt grup sayıları orantılı olmadığından dolayı bu çalışmada grup ayrımı yapılmadı.

Çalışma sonuçlarımız, DBH geni +1603 C→T polimorfizmi ile migren arasında allel ve genotip sıklık dağılımı bakımından anlamlı bir bağlantı olduğunu gösterdi. DBH geni +1603 C→T polimorfizmi ile ilgili CC, CT ve TT genotiplerinin sıklıkları sırasıyla hastalarda % 90, % 9, % 1 ve kontrol grubunda % 87,5, % 4,5, % 8 olarak bulundu. Allel sıklıkları hastalarda C alleli için % 94,5, T alleli için % 5,5 ve kontrol grubunda C alleli için % 89,75, T alleli için % 10,25 bulundu (p= 0.006, OR: 1.96, %95 CI: 1.15-3.41).

DBH geninin -1021 C→T, +444 G→A polimorfizmleri ile migren arasında anlamlı bağlantı olmadığı görüldü. -1021 C→T polimorfizmi ile ilgili CC, CT ve TT genotiplerinin sıklıkları sırasıyla hastalarda % 58, % 36, % 6 ve kontrol grubunda % 59, % 36, % 5 bulundu. Allel sıklıkları hastalarda C alleli için % 76, T alleli için % 24 ve kontrol grubunda C alleli için % 77, T alleli için % 23 bulundu (p=0.370). +444 G→A polimorfizmi ile ilgili GG, GA ve AA genotiplerinin sıklıkları sırasıyla hastalarda % 20,5, % 46,5, % 33 ve kontrol grubunda % 20, % 44,5, % 35,5 bulundu. Allel sıklıkları



hastalarda G alleli için % 43,75, A alleli için % 56,25 ve kontrol grubunda G alleli için % 42,25, A alleli için % 57,75 bulundu ( $p=0.335$ ).

Bugüne kadar farklı toplumlarda DBH geni ve migren arasında bağlantı çalışmaları yapılmıştır. Fernandez ve arkadaşları Avustralya'da yaşayan beyaz ırktan oluşturulan iki farklı toplumda (200 migren hastası ve 200 migreni bulunmayan sağlıklı birey; 300 migren hastası ve 300 migreni bulunmayan sağlıklı birey) DBH geninin -1021 C→T ve +1603 C→T polimorfizmlerinin genotip ve allelik sıklık dağılımlarını incelemiştir. Her iki toplumda -1021 C→T polimorfizminin genotip ve allel sıklığı bakımından migren ile bağlantılı olduğu gösterilmektedir. Birinci toplumda CC, CT ve TT genotipleri için p değeri 0.012, ikinci toplumda ise p değeri 0.031 olarak bulunmuştur. Aynı şekilde allel sıklığı bakımından incelediklerinde birinci toplumda C ve T alelleri için p değerini 0.004 ve ikinci toplumda ise yine her iki allel için p değerini 0.013 olarak bulmuşlardır. Allel sıklığı aurasız migren grubunda, auralı migren grubundan yaklaşık %20 farklıdır. Bu da MA/MO heterojenitesinin farklı olma olasılığını desteklemektedir. Fernandez ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarına göre, +1603 C→T polimorfizmin her iki çalışma popülasyonunda migren (auralı ve aurasız) ile bağlantılı olmadığı gösterilmiştir (Fernandez ve ark. 2009).

Avustralya'da yaşayan beyaz ırk kökenli 275 migren hastası ve 275 migreni bulunmayan sağlıklı birey ile yapılan bir çalışmada DBH +444 G→A polimorfizmi ile migren arasında genotip ve allelik sıklık bakımından önemli bir bağlantı bulunamamıştır (sırasıyla  $p=0.56$ ;  $p=0.986$ ). Fernandez ve arkadaşlarının yapmış oldukları bu çalışmada migrenin cinsleri ve alt tipleri de analiz edildiğinde yine DBH +444 G→A polimorfizminin genotip ve allelik dağılımlarının benzer bir şekilde ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Fernandez ve ark., 2006).

Tang ve arkadaşları toplumunda DBH polimorfizmleri (+1603 C→T ve -1021 C→T polimorfizmlerini de içeren) ve plazma DBH aktivitesi arasındaki bağlantıyı inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda da DBH geni -1021 C→T polimorfizminin plazma DBH ile ilgili olduğunu ve DBH geni +1603 C→T polimorfizminin ise plazma DBH üzerine bağımsız fakat küçük bir katkı sağladığını söylemektedirler (Tang ve ark., 2007).

DBH enzimi, sinaptik sistemin uyarılmasıyla adrenerjik ve noradrenerjik nöronlardan salındığından dolayı serum ya da plazmada ölçülebilmektedir. Zabetian ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, DBH geninin -1021 C→T polimorfizminin plazma DBH enzim aktivitesinin %31-52'den sorumlu olduğunu söylemektedirler (Zabetian ve ark. 2003; Fernandez ve ark. 2009). Fernandez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, DBH geni -1021 C→T polimorfizminin kusma ve ishal gibi özelliklerle de ilişkili olup olmadığını araştırmışlardır. İlginç olarak, CT/TT birleşik genotip grubu kusma oluşumunda iki kat daha fazla riske sahip olduğunu ( $p=0.08$ ) ve CC genotipine sahip bireylere kıyasla üç kat fazla ishale sebep olduğunu bulmuşlardır ( $p=0.04$ ) (Fernandez ve ark. 2009).

Çalışma sonuçlarımızı diğer toplumlarda yapılan çalışmalarla karşılaştırdığımızda, Avustralya'da yaşayan beyaz ırk ile yapılan çalışmada bizim bulgularımıza benzer şekilde +444 G→A polimorfizmi ile migren arasında bağlantının olmadığı gösterilmektedir. Fernandez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında ise DBH geninin -1021 C→T ve +1603 C→T polimorfizmleri ile migren arasında birbiriyle çelişen bulgular bulunmaktadır. Biz bu çalışma da DBH geninin +1603 C→T polimorfizmi ile migren arasında bağlantı bulurken, Fernandez ve arkadaşları DBH geninin -1021 C→T polimorfizmi ile migreni bağlantılı bulmuşlardır.

Bütün bu çalışmalara ek olarak DBH geninde migren ile bağlantısı olduğu düşünülen diğer bir polimorfizmde 19 bç insersiyon/delesyon polimorfizmidir. Hindistan'da 301 migren hastası ve 201 sağlıklı bireyin dahil edildiği bir çalışma da DBH 19 bç insersiyon/delesyon polimorfizmin için DD genotip sıklığı migren hastalarında sağlıklı kontrollerden yüksek bulunmuştur ( $p=0.046$ ). Hatta cinsiyet ayrımı yapıldığında kadın migren hastaları DD genotipi ( $P = 0.025$ ) ve D alleli ( $P = 0.016$ ) ile daha yüksek bir bağlantı göstermiştir (Ghosh ve ark. 2011). Fernandez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonuçları insersiyon/delesyon değişimi ve migren arasında bağlantı olduğunu göstermektedir. Özellikle de auralı migren genotipleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ilişkili bulunmuştur (Fernandez ve ark. 2006). Bu sonuçlarda bize DBH genini diğer polimorfizmlerinide Türk toplumunda çalışılması gerektiğini düşündürmektedir.

Yaptığımız bu çalışmada, Türk migren hastaları için DBH geninin +1603 C→T polimorfizmi ile migren arasında anlamlı bir bağlantı bulundu. DBH geninin +1603 bölgesinde C nükleotidinin T nükleotidine dönüşmesi ile homozigot TT genotipli hasta bireylerin, kontrol grubundaki homozigot TT genotipli bireylerden daha az bulunması bu polimorfizmin koruyucu olduğunu düşündürmektedir. Ancak, DBH geninin -1021 C→T ve +444 G→A polimorfizmleri ile migren arasında bağlantılı olmadığı bulundu.

Bu çalışmaların bizi getirdiği nokta migren fenotiplerinin daha dikkatle ayrılması gerektiğidir. Pek çok yayınlanmış çalışmada migren tanısının Uluslararası Başağrısı Derneği'nin kriterlerine göre konulduğu bilinmektedir. Bu kriterlere göre tanı konulan hastaların başağrılarının hafif ya da şiddetli olması genlerin etkisiyle olmaktadır. Bu genlerin etkisinin kanıtlanması için daha geniş çalışma gruplarının toplanması ve daha spesifik yöntemlerin kullanılması önemlidir. Ayrıca polimorfizm

sıklıklarının ırklar ve etnik gruplar arasında farklılık gösterdiği bilinmektedir. Bunlara ek olarak toplumlararası sosyoekonomik farklılığın çalışma sonuçlarındaki çelişkiye sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; bu çalışma literatürü taradığımız kadarıyla Türk toplumunda migren ile DBH gen polimorfizmleri arasındaki bağlantıyı araştıran ilk çalışmadır. Bu nedenle toplumumuzdaki gelecek çalışmalar DBH geninin diğer polimorfizmlerinin de migren ile bağlantıları analiz edilmelidir. Bu tür çalışmalar migren patogeneğinde DBH geninin rolünün anlaşılmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, ileri dönemde bireylerin genotipleri ile tedaviye verdikleri cevaplar arasındaki bağlantının ortaya konulmasında ve yeni farmakolojik hedeflerin tespit edilerek etkinliği daha yüksek ilaçların geliştirilmesine de yardımcı olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

- Ates, O., Kurt, S., Altınışık, J., Karaer, H., Sezer, S., 2011. Genetic variations in tumor necrosis factor alpha, interleukin-10 genes, and migraine susceptibility. *Pain Med.* Oct;12(10): 1464- 9.
- Aydınlı, I., Keskinbora, K., 2007. Genetik, ağrı ve analjezi. 1- 68 2: 54 PM Page 021.
- Baykan, B., 2006. Baş ağrısı ve genetik. *Türk Nöroloji Dergisi*, 12 (4), 253- 268.
- Corominas, R., Ribases, M., Camiña, M., Cuenca-León, E., Pardo, J., Boronat, S., Sobrido M.-J., Cormand B. and Macaya A. 2009. Two-stage case-control association study of dopamine-related genes and migraine. *BMC Medical Genetics*, 10: 95.
- Cubells, J.F., Kobayashi, K., Nagatsu, T., Kidd, K.K., Kidd, J.R., Calafell, F., Kranzler, H.R., Ichinose H., and Gelernter J. 1997. Population genetics of a functional variant of the Dopamine Beta-Hydroxylase gene (DBH). *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, 74: 374–379.
- Cubells, J.F., Van Kammen, D.P., Kelley, M.E., Anderson, G.M., O'Connor, D.T., Price, L.H., Malison, R., Rao, P.A., Kobayashi, K., Nagatsu, T., Gelernter, J., 1998. Dopamine beta-hydroxylase: two polymorphisms in linkage disequilibrium at the structural gene DBH associate with biochemical phenotypic variation. *Hum Genet.*, 102:533 –540.
- Cubells, J.F., Zabetian, C.P. 2004. Human genetics of plasma dopamine  $\beta$ -hydroxylase activity: applications to research in psychiatry and neurology. *Psychopharmacology* 174: 463 –476.
- Cutrer, F.M. 2010. Pathophysiology of migraine. *Semin Neurol*, 30: 120– 130.

- Dowson, A.J., 2003. Migren ve diğer baş ağrıları. (1. Baskı). (A., Yüksel, Çev.) İstanbul. AND Danışmanlık Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Şti., 1-76. (Orijinal çalışma basım tarihi Tarih 2003).
- Erdal, M.E., Herken, H., Barlas, Ö., Erdal, N., 2000. Polymorphisms in the serotonin transporter gene. Klinik Psikiyatri, 3: 192- 196.
- Erdal, N., Erdal, M.E., Camdeviren, H., Gokdoğan, T., Herken, H., 2002. Bir grup sağlıklı gönüllüde katekol-o-metiltransferaz (COMT) gen polimorfizmi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni; 12: 174- 178.
- Erdal, N., Erdal M.E., Çamdeviren, H., Özkaya, M., Gökdoğan, T., Herken H., 2003. Sağlıklı bireylerde monoamin oksidaz-a gen polimorfizmi . Yeni Symposium 41 (4): 185- 189.
- Ergin, M., 2004. Moleküler Patoloji. Aegean Pathology Journal 1, 103- 107.
- Fernandez F., Lea, R.A., Colson, N.J., Bellis, C., Quinlan, S., Griffiths, L.R. 2006. Association between a 19 bp deletion polymorphism at the dopamine beta-hydroxylase (DBH) locus and migraine with aura. Journal of the Neurological Sciences, 251 118– 123.
- Fernandez, F., Colson, N., Quinlan, S., MacMillan, J., Lea, R.A., Griffiths., L.R., 2009. Association between migraine and a functional polymorphism at the dopamine  $\beta$ -hydroxylase locus. Neurogenetics, 10: 199– 208.
- Faraone, S.V., Perlis, R.H., Doyle, A.E., Smoller, J.W., Goralnick, J.J., Holmgren, M.A., Sklar P., 2005. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. Biol. Psychiatry 57, 1313- 1323.

García-Martín, E., Martínez, C., Serrador, M., Alonso-Navarro, H., Navacerrada, F.,

Aguñdez J. A. G., and Jimé'nez-Jime'nez, F. J. 2010. Dopamine receptor 3(DRD3) polymorphism and risk for migraine. *European Journal of Neurology*, 17: 1220–1223.

Gardner, K.L. 2006. Genetics of migraine. *Headache*; 46(Suppl 1):S19-S24.

Ghosh, J., Pradhan, S., and Mittal B., 2011. Role of dopaminergic gene polymorphisms (DBH 19 bp Indel and DRD2 Nco I) in genetic susceptibility to migraine in north indian population. *Pain Medicine*; 12: 1109–1111.

Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. 2004. The international classification of headache disorders, 2nd edition. *Cephalalgia*, 24(Suppl 1):9–160.

Holman, A.J., 2005. Dopamine from parkinson's disease to fibromyalgia. *Fibromyalgia Frontiers*. Volume 13, Number1.

İnan, L.E., 2009. Başağrısı tanıdan tedaviye güncel yaklaşımlar. *Veri Medikal Yayıncılık*, 1- 44, İstanbul.

Kaya, A., 2002. Elektroforez yöntemleri. *Dicle Tıp Dergisi (Journal Of Medical School)*, C:29 S:3.

Keçeci, H., 2000. The genetic of migraine . *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 22 (2): 123-126.

Kopečková, M., Paclt, I., Goetz, P., 2006. Polymorphisms of Dopamine-β-Hydroxylase in ADHD children. *Folia Biologica (Praha)* 52, 194- 201.

- Lea, R.A., Dohy, A., Jordan, K., Quinlan, S., Brimage, P.J., Griffiths, L.R., 2000. Evidence for allelic association of the dopamine betahydroxylase gene (DBH) with susceptibility to typical migraine. *Neurogenetics*, 3: 35– 40.
- Liu, H., Liu, M., Wang, Y., Wang, X.-M., Qiu, Y., Long, J.-F., Zhang, S.-P. 2011. Association of 5-HTT gene polymorphisms with migraine: A systematic review and meta-analysis *Journal of the Neurological Sciences* 305 57–66.
- Mazaheri, S., Hajilooi, M., Rafiei, A. 2006. The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with migraine without aura. *J Neurol.* 253: 1589– 1593.
- Montagna, P., 2008. Migraine: a genetic disease? *Neurol Sci*, 29:S47–S51.
- Mulder, E.J., Van Baal, C., Gaist, D., Kallela, M., Kaprio, J., Svensson, D.A., Nyholt, D.R., Martin, N.G., MacGregor, A.J., Cherkas, L.F., Boomsma, D.I., Palotie, A., 2003. Genetic and environmental influences on migraine: a twin study across six countries. *Twin Res.*, 6:422– 431.
- Oğul, E.(Ed.). 2002. Klinik nöroloji (Bursa) Nobel&Güneş Tıp Kitapevleri 107- 121.
- Peroutka, S.J., 2004. Migraine: a chronic sympathetic nervous system disorder. *Headache*, 44: 53– 64.
- Russell, M.B., Olesen, J., 1995. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *Br Med J.*, 311:541– 544.
- Sayın, A ., 2008. Dopamin reseptörleri ve sinyal iletim özellikleri. *Klinik Psikiyatri*, 11: 125- 134.
- Siva, A., 2002. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sempozyum Dizisi. Başağrısı Epidemiyolojisi. No: 30 • Mayıs 2002; s. 9- 14.



- Siva,A., 2002. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sempozyum Dizisi. Migren. No:30. •  
Mayıs 2002; s. 39- 50.
- Stam, A., H., Arn, M.J.M. van den Maagdenberg, Joost, Haan, Gisela, M., Terwindt ve  
Michel, D. Ferrari. 2008. Migren genetiği. Current Opinion in Neurology Türkçe  
baskı Cilt 2, Sayı 3, 21: 288– 293.
- Tarlacı, S., 2006. Akut migren atağı tedavisi .Nobel Medicus, 2 (3) :4- 14.
- Tang, Y., Anderson, G.M., Zabetian, C.P., Ko'hnke, M.D., and Cubells, J.F. 2005.  
Haplotype-controlled analysis of the association of a non-synonymous single  
nucleotide polymorphism at DBH (+1603C→T) with plasma dopamine b-  
hydroxylase activity. American Journal of Medical Genetics Part B  
(Neuropsychiatric Genetics) 139B:88– 90.
- Tang, Y., Epstein, M.P., Anderson, G.M., Zabetian, C.P. and Cubells, J.F. 2007.  
Genotypic and haplotypic associations of the DBH gene with plasma dopamine b-  
hydroxylase activity in African Americans. European Journal of Human Genetics.  
15, 878– 883.
- Temizkan, G., Arda, N. 2004. İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik  
Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEN). Moleküler  
Biyolojide Kullanılan Yöntemler Kitabı. Genişletilmiş 2. Baskı. İstanbul. Nobel  
Tıp Kitapevi.
- Todt, U., Netzer, C., Toliat, M., Heinze, A., Goebel, I., Nürnberg, P., Göbel, H. •  
Freudenberg, J., Kubisch, C., 2009. New genetic evidence for involvement of the  
dopamine system in migraine with aura. Hum Genet., 125:265– 279.

- Turner, P.C., McLennan, A.G., Bates, A.D., White, M.R.H., (Çeviri edt. Muhsin Konuk). 2004. Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Nobel Yayın Dağıtım, 64- 65. Ankara.
- Wessman, M., Terwindt, G.M., Kaunisto, M.A., Palotie, A., Ophoff, R.A., 2007. Migraine: a complex genetic disorder *Lancet Neurol.*; 6: 521– 32.
- Vries, B., Frants, R.R., Ferrari, M.D., Maagdenberg, A.M.J.M., 2009. Molecular genetics of migraine. *Hum Genet.*, 126:115– 132.
- Yamamoto, K., Cubells, J.F., Gelernter, J., Benkelfat, C., Lalonde, P., Bloom, D., Lal, S., Labelle, A., Turecki, G., Rouleau, G.A., and Joover, R. 2003. Dopamine Beta-Hydroxylase (DBH) gene and schizophrenia phenotypic variability: a genetic association study. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 117B: 33– 38.
- Yılmaz, G., Sürer, H., Coşkun, Ö., İnan, L., Yücel, D., 2005. Plasma nitric oxide metabolites in migraine with and without aura. *Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem*, 30 (3); 236- 240.
- Zabetian, C.P., Buxbaum, S.G., Elston, R.C., Kohnke, M.D., Anderson, G.M., Gelernter, J., Cubells, J.F. 2003. The structure of linkage disequilibrium at the DBH locus strongly influences the magnitude of association between diallelic markers and plasma dopamine betahydroxylase activity. *Am J Hum Genet* 72: 1389– 1400.

## 7.ÖZGEÇMİŞ

14/07/1986 yılında Tokat'ta doğdu. İlk ve orta öğreniminden sonra 2004 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2008 yılında Biyoloji lisans eğitimini tamamladı.

2009-2010 eğitim yılı 1.yarıyılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde açılan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.