

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİLİ HASTALARDA PATOFİZYOLOJİK ROL OYNAYAN SİTOKİN
GEN POLİMORFİZMLERİNİN YAYGINLIĞININ İNCELENMESİ**

Vasfiye ESEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

Bu tez çalışması MMF-61 numaralı proje ile KAÜ/BAP tarafından desteklenmiştir.

T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİLİ HASTALARDA PATOFİZYOLOJİK ROL OYNAYAN SİTOKİN
GEN POLİMORFİZMLERİNİN YAYGINLIĞININ İNCELENMESİ**

Vasfiye ESEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Vasfiye Esen'in Yrd. Doç. Dr. İlhami Gök'ün danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Epilepsili hastalarda patofizyolojik rol oynayan sitokin gen polimorfizmlerinin yaygınlığının incelenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy...birliği..... ile kabul edilmiştir.

20.06/2013

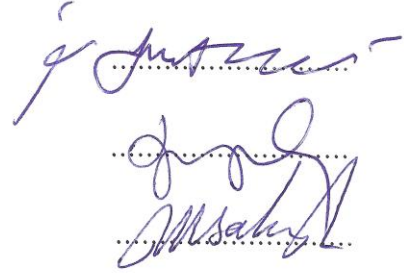
Adı ve Soyadı

İmza

Başkan: Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

Üye: Doç. Dr. Mehmet Ali Kırpık

Üye: Yrd. Doç. Dr. Muhammet Şakiroğlu



Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ... /... /20.. gün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada IL-1 β -511 ve IL-6-174 gen polimorfizmleri Kars ilindeki epilepsili hastalarda çalışılmıştır. Bu çalışma sitokin genlerinin yöremizdeki epilepsili hastalar üzerindeki genetik etkilerini araştıran ilk çalışmadır. Bu yüzden Kars ili insan popülasyonu genomik yapısı hakkında ön bilgiler ortaya koyması açısından önemlidir.

Tez çalışmamda yol göstericim saygıdeğer danışman hocam Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK'e ve hastaların klinik tanımlarını koyan ve kan örneklerini alan Uzm.Dr. Hatice KÖSE ÖZLECE'ye çok teşekkür ederim.

Yine tez çalışmam esnasında laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ ve Arş. Gör. Sevcan MERCAN'na teşekkür ederim.

Örneklerin toplanması ve laboratuvar çalışmalarında özveriyle çalışan değerli arkadaşlarım İlknur ÇELEBİ ve Özkan ÖZTAŞ'a, bu günlere gelebilmemi sağlayan sevgili anne ve babama ve ilk günden beri her zaman beni teşvik eden, desteğini ve yardımlarını büyük bir özveri ve anlayışla sunan sevgili eşim Biyolog Selim ESEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Kars-2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tanım	3
2.2 Tarihçe	3
2.3 Epidemiyoloji	4
2.4 Epilepsi Fiziopatolojisi	5
2.5 Epileptogenez	6
2.6 Epilepsinin Sınıflandırılması	7
2.7 Genetik Hastalıklar	8
2.8 Epilepsi ve Genetik	9
2.8.1 Primer Mendel Tipi Epilepsi	9
2.8.2 Mendel Tipi Olmayan (Kompleks) Epilepsi	10
2.9 Sitokinler	10
2.9.1 Sitokinlerin Genel Özellikleri	11
2.9.2 Sitokinlerin Sınıflandırılması	11
2.9.3 Sinir Sistemi ve İmmün Sistemin Birbirlerine Etkileri	12
2.9.4 Epilepsi Oluşumunda Sitokinlerin Rolü	13
2.9.5 İnterlökin-1 β (IL-1 β)	14
2.9.6 İnterlökin-6	16
2.10 Moleküler Düzeyde Genomik Analiz Teknikleri	17
2.10.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	17
2.10.1.1 PCR Çeşitleri	19
2.10.2 RFLP Uygulamaları	21
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1 Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi	22

3.2 Epilepsi Hasta Grubunun ve Kontrol Grubunun Demografik Dağılımları	22
3.3 Kullanılan Kimyasallar	23
3.4 Kullanılan Araç ve Gereçler	24
3.5 DNA İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması	25
3.6 Periferik Kandan DNA İzolasyonu	25
3.7 Epilepsili Hastalar ve Kontrol Gruplarında PCR Yöntemi ile Polimorfizm Analizleri	26
3.8 Elektroforez ile Amplifikasyonların Kontrolü	28
3.9 Amplifiye DNA'ların restriksiyon enzimleri ile kesimi	28
3.10 İstatistiksel Analiz	29
4.BULGULAR	30
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	42
6.KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	54

ÖZET

Bu çalışma, Kars ili epilepsi hastalarında ve kontrol gruplarında IL-1 β -511 ve IL-6-174 gen polimorfizmlerinin popülasyon düzeylerini belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla kliniklerde epilepsi tanısı alan toplam 100 hasta ve 100 kişilik kontrol grubu incelendi. Hasta ve kontrol gruplarından periferik kan örnekleri alındı ve DNA izolasyonu yapıldı. Genomik düzeydeki çalışmalarda IL-1 β -511 ve IL-6 -174 gen polimorfizmlerinin yaygınlığını incelemek için PCR ve RFLP yöntemleri kullanıldı. Araştırılan polimorfik bölgelerin standart primerler kullanılarak PCR ürünleri elde edildi. Daha sonra elde edilen PCR ürünleri AvaI ve SfaNI restriksiyon enzimleri ile kesildi. Restriksiyon ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütülerek polimorfizm analizleri jel resimlerinden yararlanarak yapıldı.

Restriksiyon enzimleri ile kesim sonucu epilepsili hastalarda IL-1 β -511 polimorfizm dağılımları en sık CT genotipi % 62 oranında ve T alleli % 56 oranında görüldü. Aynı gen bölgesinde kontrol grubunda ise restriksiyon enzim ile kesim sonucu CT genotipi % 25 oranında ve T alleli % 22 oranında gözlemlendi.

Epilepsili hastalarda IL-6-174 polimorfizm bölgesi için GG genotipi % 42 oranında ve G alleli % 46 oranında rastlandı. Bu bölgenin kontrol grubunda ise polimorfizm oranı GG genotipi % 50 ve G alleli % 53 gözlemlendi.

Sonuç olarak IL-1 β -174'ün T allelindeki değişimlerin epilepsi hastalığının oluşumunda duyarlı bir etkiye sahip olabileceği, ancak IL-6-511 polimorfizmi G allel frekansındaki değişimlerin hastalığın oluşumunda etkili olamayacağını düşünmekteyiz. Bu alanda daha çok ilgili polimorfizm bölgelerinin araştırılması ve popülasyon sayılarının artırılmasına ihtiyaç vardır. Bu gerçekleştirildiği takdirde epilepsi hastalığının klinik tanı ve tedavisine katkı sağlanabilir.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, Sitokin gen polimorfizmleri, PCR, RFLP, Kars İli.

ABSTRACT

This study was performed to determine the population level of IL-1 β -511 and IL-6-174 gene polymorphisms in patients with epilepsy as well as a control group in Kars. For this purpose, a total of 100 patients diagnosed with epilepsy and a total of 100 nonepileptic persons as control group were examined. Peripheral blood samples were taken from the patients and control group for DNA extraction. Target region was amplified using PCR and the amplified product was digested to produce RFLP markers. PCR products were obtained using standard primers. Then, the obtained PCR product was cut with restriction enzymes SfaNI and Aval. Restriction products were gained from agarose gel electrophoresis and polymorphism was analyzed using gel images. The prevalence of polymorphisms for IL-1 β -511 and IL-6 -174 were subsequently examined.

The most common genotype among epilepsy group was CT genotype with 62% frequency and the T allele being most common allele with 56% allele frequency for IL-1 β . Among the control group however, CT genotype had the frequency of 25% and T allele had 22% allele frequency.

When genotype and allele frequencies of IL-6-174 gene were estimated, we found that among epilepsy group GG genotype prevalence was about 42% and G allele prevalence was 46%. Nevertheless, GG genotype was observed around 50% and G allele about 53% in the control group.

Based on the results we conclude that the changes in the allele frequency of T allele of IL-1 β -174 could be associated with epilepsy. However, we could not find a significant change with G allele of IL-6-511. An increase in the sample sizes of populations along with more sites in the genes should be an interesting research venue for the clinical diagnosis and treatment of epilepsy.

Keywords: Epilepsy, Cytokine gene polymorphisms, PCR, RFLP, Kars City.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1. Simgeler

Ca ⁺²	Kalsiyum iyonu
kDa	Kilo Dalton
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
n	Sayı
T _m	Erime Sıcaklığı

2. Kısaltmalar

ILAE	Uluslar arası Epilepsi ile Savaş Komisyonu
ACh	Asetilkolin
NMDA	N-metil D-aspartat
GABA	Gama amino bütirik asit
ATP	Adenozin trifosfat
EEG	Elektroensefalografi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
m RNA	Haberci RNA

RNA	Ribonükleik asit
IL-1 β	İnterlökin 1 beta
IL-6	İnterlökin 6
MSS	Merkezi sinir sistemi
CVO	Circumventricular
BOS	Beyin omurilik sıvısı
IL-1	İnterlökin 1
IL-2	İnterlökin 2
IFN- γ	İnterferon gama
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
HHB	Hipotalamus, hipofiz bezi, böbreküstü kabuk bölgesi
IL-1 Ra	İnterlökin 1 reseptör antagonisti
HS	Hipokampal skleroz
TLE	Temporal lob epilepsi
A	Adenin
C	Sitozin
G	Guanin
T	Timin
d NTP	Deoksiribonükleotid

mt DNA	Mitokondriyel DNA
DNA	Deoksiribonükleik asit
RFLP	Sınırlayıcı enzim parça uzunluk çeşitliliği
EH	Epilepsili hasta grubu
SK	Sağlıklı kontrol grubu
SD	Standart sapma değeri
N ; n	Sayı

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Epileptogenez süreci	6
Şekil 3.1. Grupların cinsiyet dağılımı	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1. IL-1 β enzim ile kesilmeden önceki görüntü	45
Resim 4.2. IL-6 enzim ile kesilmemiş görüntüsü	46
Resim 4.3. IL-1 β 'nın AVAL enzimi ile kesim görüntüsü	46
Resim 4.4. IL-6'nın SfaNI enzimi ile kesim görüntüsü	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Türkiyedeki epilepsi prevalans çalışmaları	5
Çizelge 2.2. PCR Tipleri	20
Çizelge 3.1. Grupların yaş dağılımı	22
Çizelge 3.2. İnterlökin-1 Beta PCR Bileşenleri	42
Çizelge 3.3. İnterlökin-6 PCR Bileşenleri	42
Çizelge 3.4. İnterlökin-1 Beta PCR Döngü Sıcaklıkları	43
Çizelge 3.5. İnterlökin-6 PCR Döngü Sıcaklıkları	43
Çizelge 4.1. IL-1 β -511 gen polimorfizm sıklıkları	47
Çizelge 4.2. Hasta grubu IL-1 β genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması	48
Çizelge 4.3. Kontrol grubunda IL-1 β genotiplerin cinsiyetlerine göre karşılaştırılması	49
Çizelge 4.4. IL-1 β Allel frekanslarının karşılaştırması	49
Çizelge 4.5. IL-1 β Aile öyküsü olan hasta grubu ve sağlıklı grup genotipleri	49
Çizelge 4.6. IL-1 β Aile öyküsü olan hasta grubu ve sağlıklı grup allel frekansı karşılaştırması	49

Çizelge 4.7. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β genotip karşılaştırması	50
Çizelge 4.8. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β allel frekansı karşılaştırması	50
Çizelge 4.9. Kafa travması geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β genotip karşılaştırması	51
Çizelge 4.10. Kafa travması geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β allel frekans karşılaştırması	51
Çizelge 4.11. Zor doğum geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β genotip karşılaştırması	51
Çizelge 4.12. Zor doğum geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β Allel karşılaştırması	52
Çizelge 4.13. IL-6 gen polimorfizm sıklıkları	52
Çizelge 4.14. Hasta grubu IL-6 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması	53
Çizelge 4.15. Sağlıklı kontrol grup IL-6 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması	53
Çizelge 4.16. IL-6 Allel frekans sıklıkları	53
Çizelge 4.17. Aile öyküsü olan hasta grubu ve kontrol grubu IL-6 genotipleri	54
Çizelge 4.18. Aile öyküsü olan hasta grubu ve kontrol grubu IL-6	54

allel frekansları

Çizelge 4.19. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve kontrol grubu 54

IL-6 genotipleri

Çizelge 4.20. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve kontrol grubu 55

IL-6 allel frekansları

Çizelge 4.21. Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubu 55

IL-6 genotipleri

Çizelge 4.22. Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6 alleleri 55

Çizelge 4.23. Zor doğum geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6 genotipleri 56

Çizelge 4.24. Zor doğum hasta grubu ve kontrol IL-6 allel frekansları 56

1. GİRİŞ

Halk arasında sara hastalığı olarak bilinen epilepsi (MIM:600669) kısa süreli beyin fonksiyon bozukluğuna bağlıdır. Eski Yunanca’ da ‘kavramak’ ve ‘yakalanmak’ manasına gelen epilambanein fiilinden türetilmiştir. Toplumumuzda epilepsiye karşılık olarak kullanılan sar’a sözcüğü ise Arapça kökenli olup ‘yere serme’ anlamına gelmektedir [1].

Epilepsi, dünya üzerindeki genel populasyonun yaklaşık % 1’ini etkileyen nörolojik hastalıklardan biridir [1]. Türkiye’ de 1995-2010 yılları arasında yapılan 8 çalışmada aktif epilepsi prevalansı ortalama 1000 kişide 5,2-10 arasında bulunmuştur [2].

İlk çağlardan beri bilinen bu hastalığın modern tanımını ilk kez J.H. Jackson 19. yüzyılda “sinir dokusunun arasına, aşırı ve düzensiz deşarjı” olarak yapmıştır [3]. İngiliz Hekim Jackson’un tanımlamasından yola çıkılarak yapılan modern nörobiyolojik analizlerden elde edilen sonuçlar epilepsinin merkezi sinir sisteminde kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöronların ani, hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan klinik bir tablo olduğuna işaret etmektedir.

Epilepsi, nöronların somatik, psişik işlevi ile ilgili bilinç kaybını, paroksizmal motor, duyuşal veya otonomik fenomenle birlikte olan, provoke olmayan, beyin fonksiyonlarındaki geçici ve yineleyici bozuklukları kapsar [1]. Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktiviteden dolayı oluşan geçici semptomlara verilen addır. Tüm epilepsi nöbetlerinde aynı mekanizmadan söz edilmemekle birlikte hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronite gibi ortak özellikler mevcuttur [4].

Bütün epilepsi çeşitlerinin % 40’ı olduğu kabul edilen idiyopatik epilepsilerde etiyolojik olarak genetik faktörlerin rol oynadığı belirtilmiştir. Örneğin, gen mutasyonları anormal iyonik kanal bozukluklarına yol açabilmekte ve anormal ağ bağlantılarını fazladan etkileyebilmektedir. Kalıtım paterni mendelyen (tek gen), kromozomal, mitokondriyel ve multifaktöriyel (kompleks) olmak üzere çeşitlidir. Epilepsi türlerinin çoğu kompleks bir genetik geçişe bağlı olarak gelişir.

Epileptogenezin önlenmesi konusunda ve epilepsinin patofizyolojisinin aydınlanması ışığında dikkatler genetik çalışmalara çevrilmiştir. Şüpheli genlerin araştırılması ile epilepsinin patofizyolojisinin açıklanmasına olanak sağlayarak doğru tanı gerçekleştirilebilir.

Epilepsi yaygın bir nörolojik hastalık olmasına rağmen henüz tam olarak çoğu vakalarda etiolojisi ve patofizyolojisi tam olarak tanımlanamamıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda epilepsi ve bağışıklık sistemi arasında kompleks bir ilişkinin varlığı ortaya çıkarılmıştır [5,6,7]. Bağışıklık sistemi ve bağışıklık sistemi içerisinde inflamatuvar reaksiyonlar epileptogenezde önemli rol oynamaktadır [8,9,10]. Epilepsili hastalarının sitokin ekspresyonunda ve bağışıklık hücrelerinde meydana gelen anormallikler gözlenmiştir [5,6,7].

Sitokinler enfeksiyon ve inflamasyonda düzenleyici olarak rol oynar [11]. Ayrıca psikiyatrik ve nörolojik vakalarda da immün modülatör olarak görev alırlar [12]. Sitokin genleri birçok polimorfik bölgelere sahip olduğundan, bu genlerdeki polimorfizm ateşli nöbetlerdeki patojeniteye etki eder [11].

Sitokin genleri ve epilepsi arasındaki mevcut bilgiler ışığında en yaygın çalışılan IL-1 β ve IL-6 sitokinlerinin gen polimorfizmlerinin bölgemiz açısından belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Bu çalışmaya Kars Devlet Hastanesi Nöroloji Polikliniğine Eylül 2012- Mayıs 2013 tarihleri arasında başvuran epilepsili hastalar ve hastalarla aynı bölgede yaşayan sağlıklı bireyler (kontrol grubu) olarak dahil edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tanım

Halk arasında sara hastalığı olarak bilinen epilepsi kısa süreli beyin fonksiyon bozukluğuna bağlıdır. Merkezi Sinir Sisteminde belirli bir işlevi olan nöron topluluğunun ani, anormal ve hipersenkron deşarjına bağlı olarak beynin bir bölümünün ya da tamamının fonksiyon bozukluklarıdır [13]. Nöbet özelliklerini belirleyen, nöbeti ortaya çıkaran korteks bölgesinin işlevsel özellikleridir. Epilepsi nöbetleri sıklıkla geçici bilinç kaybına, davranış, duygu ve motor fonksiyon değişikliklerine sebep olur. Herhangi bir kişi hayatı boyunca stres, alkol veya uyuşturucu etkisiyle epileptik bir nöbet yaşayabilir. Epilepsi tanımı yapabilmek için en az bir defa nöbet geçirmek gerekir [14]. ILAE (Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu)'ye göre ise epilepsi aralarında en az 24 saat olmak üzere ve en az iki provokasyonsuz nöbetin olması durumu olarak tanımlanmaktadır [15].

2.2 Tarihçe

Hastalığa ilişkin en eski kayıtlar Mezopotamya uygarlığına ait olup ve Babil kralı Hammurabi'nin ünlü yasalarının 278. maddesinde bu hastalığa yakalanan kölelerin satıcısına geri iade edileceği hususunun vurgulanması hastalığın o dönemlerdeki önemini ortaya koymaktadır. MÖ. 460 yıllarında Yunan Hekim Hipokrat'ın yaptığı tanımlamada epilepsi çağın mistik görüşlerinden uzak, bugünün anlayışına uyan bir yaklaşımla değerlendirilmiş ve nöbetlerin beyin merkezli olup, bireylerde meydana gelen kafa travmalarından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ancak yine o dönemlerde epileptik ataklarla karışan bayılma, histerik nöbetler ve uykuda yürüme gibi paroksizmal olaylar da epilepsi olarak adlandırılmıştır [16]. Epilepsinin modern tanımını ilk kez J.H. Jackson 19. yüzyılda “sinir dokusunun ara sıra, aşırı ve düzensiz deşarjı” olarak yapmıştır [3].

Son yüzyılda epilepsi kavramı; pek çok klinisyenin gözlemlerinin birikimi, nörofizyolojik görüntüleme ve genetik ilerlemelerin de katkısıyla oluşturulmuştur [17].

2.3 Epidemiyoloji

Epilepsi dünya toplumlarında çok sık rastlanan nörolojik bir hastalıktır. Gelişmiş ülkelerdeki insidansı 40-70/100000 olup, gelişmekte olan ülkelerde ise 100-190/100000 oranındadır [1]. Sıklık oranı Avrupa ve Kuzey Amerika'da 1000'de 3,6-6 iken, Afrika ve Latin Amerika'da 1000'de 6,6-7 olarak bildirilmiştir. Doğumdan 20 yaşna kadar olan zaman diliminde epilepsinin ortaya çıkma riski yaklaşık %1 civarında olup bu oran 75 yaşında %3'e kadar çıkmaktadır. Yani epilepsinin insidansı hayatın ilk yıllarında ve 65 yaşından sonra iki defa pik yapar [18]. Epilepsi çocuklarda ve ergenlerde yetişkinlere göre daha sıktır. Bütün nöbetlerin yaklaşık %75'i 20 yaş altında görülür ve en yüksek insidans ise 10 yaş altıdır [19]. Dünyada 15 yaşın altındaki 10,5 milyon çocuğun aktif epilepsili olduğu hesaplanmıştır. Bu da küresel popülasyonun yaklaşık %25'i olduğunu gösterir.

Epilepsinin prevalansı küresel popülasyonda yaklaşık %1'dir [1]. Aktif epilepsi prevalansı, son beş yıl içinde nöbet geçiren veya antikonvülsan ilaç alan kişiler için kullanılır. Epilepsi prevalansı dünya üzerinde bir çok toplumda aktif olarak çalışılmıştır. ABD, Çin, Nijerya, Avrupa ve Hindistan'daki çalışmalarda 1000 kişide 5-8 oranında verilmiştir [20]. Türkiye' deki çalışmalarda da 1995-2010 yılları arasında yapılan 8 çalışmada aktif epilepsi prevalansı ortalama 1000 kişide 5,2-10 arasında bulunmuştur [2]. Çalışmalarda standart değerler kullanılmamasına rağmen dünya üzerinde epilepsi prevalansının tüm toplumlarda benzer olduğu görülür.

Çizelge 2.1 Türkiyedeki epilepsi prevalans çalışmaları [2].

Bölge	Yazarlar	Yayın Yılı	Yöntem	Yaş	Sayı	Prevalans (n/1000)			
						Aktif	20-30 Yaş		
						E	K	T	
Ankara	Güvener A	1997	Kapı kapı	Tüm yaşlar	11497	7	9.63	6.34	7.65
Sivas (Kırsal)	Topalkara K ve ark.	1999	Kapı kapı	Tüm yaşlar	5294	6.1			8.0 (9/997)
Silivri, İstanbul (Kırsal)	Karaağaç N ve ark.	1999	Kapı kapı	Tüm yaşlar	70394	10.2	6.8	8.7	12.2 (10/814)
Küçükçekmece (Kırsal)	Onal AE ve ark.	2002	Kapı kapı	Tüm yaşlar	2187	8			6.1 (3/491)
İzmir (Kentsel)	Aydın A	2002	Telefon görüşmesi	7-20	4216	6			
Türkiye	Serdaroğlu A	2004	Kapı kapı	0-16	48260	8			
Bursa (Kentsel)	Çalışır N ve ark.	2006	Kapı kapı	Tüm yaşlar	2116	8.5	19.5 (2/205)	9.7 (4/205)	14.6 (2/205)
Trabzon	Velioğlu SK	2010	Kapı kapı	15 yaş üstü	5254	5			

Epilepsiye erkeklerde kadınlardan 1,0-2,4 kez daha sık rastlanır [17]. Ailesinde epilepsi olan bireylerde epilepsi gelişme olasılığı daha yüksektir. Eğer bir ebeveynde idiyopatik epilepsi varsa çocuğun riski 1/25, semptomatik epilepsi varsa çocuktaki risk 1/67'dir. Her iki ebeveynde etkilenmişse bu risk 1/25'den daha yüksektir [21].

2.4 Epilepsi Fizyopatolojisi

Epilepsinin fizyopatolojisinde önce nöronlar ve sinapslardaki normal fizyolojiden bahsetmek gerekir. Kas hücresi ve sinir hücresi gibi ekstabl yapıların en önemli özelliği hücre içi ve dışı arasında elektriksel bir gerilim farkı olması ve hücre membranı boyunca bu gerilim farklarındaki özel değişimlerle ekstabilitate ve iletim denilen olayları içermeleridir [22].

Hücre membranındaki potansiyelin devamı ve potansiyelin sinaps yolu ile yayılmasında rol oynayan kimyasal, hormonal ileticilerin epileptojenik aktivitede rol oynamaları olasıdır. Eksitator (uyarıcı) nörotransmitter olan asetilkolinin(ACh) epileptik nöbetler sırasında bol miktarda salgılandığı saptanmıştır [22]. ACh'nin ventriküle injeksiyonu nöbetlere neden olmuştur [22]. Endojen ACh serbestlemesinin N-Metil D-Aspartat

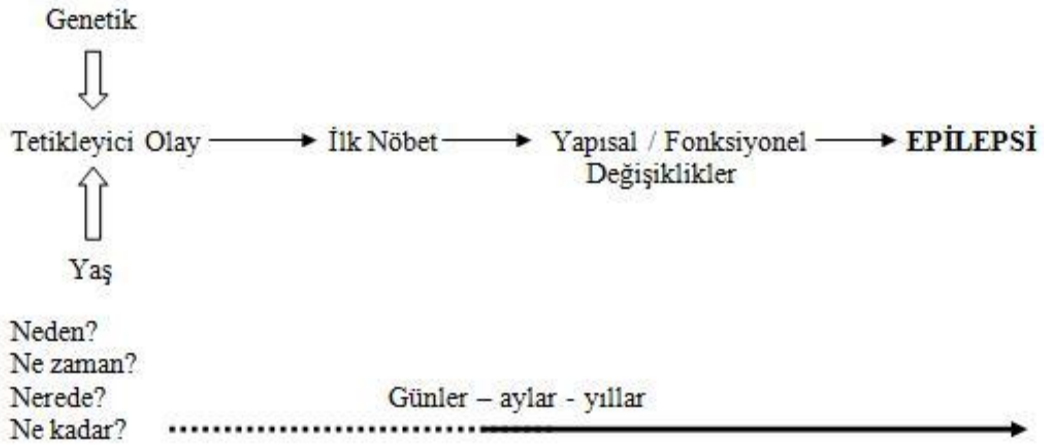
(NMDA) reseptörleri ile düzenlendiği ve bu reseptörlerin kolinerjik dendritler üzerine direkt etki ile ACh serbestlemesini artırdıkları saptanmıştır [22]. Yine gama-amino-bütirik asit (GABA) antagonistlerin ACh serbestlemesini inhibe ettiği de rapor edilmiştir [22].

Bilinen en önemli inhibitör nörotransmitter olan ayrıca, epileptik nöbetlerin patojenezinde sorumlu tutulan GABA eksikliğidir. Deneysel oluşturulmuş epileptik nöbetlerde GABA'nın % 50-60 oranında azaldığı GABA'erjik inhibitör sinapsların fonksiyon kaybının epileptik odağı oluşturduğu düşünülmüştür [23].

Epileptik nöbet oluşumunda diğer aminoasitlerin etkisi incelendiğinde taurinin konsantrasyonunun düşmüş olduğu, glisin artmış olduğu saptanmıştır. Glisinin inhibitör etkisinin yanı sıra diğer önemli etkisi glutamatın anlamlı olarak düşmüş olduğu NMDA reseptörlerine cevabını artırmasıdır. Böylece ekstrasellüler alanda artmış olan glisin glutamatın eksitatör etkisini artırmaktadır [24].

2.5 Epileptogenez

Epileptogenez terimi, ilk nöbet öncesinde oluşan epileptik beyni, kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetlere eğimli hale getiren, nöbet yoğunluğunu artıran ve epilepsiyi tedaviye daha dirençli hale getiren olayları içermektedir



Şekil 2.1. Epileptogenez süreci [25].

Başlangıçta oluşan hasar sonrası görülen sessiz dönemi kendiliğinden oluşan nöbetler izler.[25]

Epileptogenez, tekrarlayıcı spontan nöbetlerin olduğu uzun süreli beyin transformasyonudur. Normal bir beyin zaman içinde bir dizi hücresel-moleküler, yapısal ve/veya fonksiyonel değişikliklere maruz kalarak epileptik bir beyin haline dönüşmesi, kalıcı bir şekilde ve spontan olarak nöbet oluşturabilme özelliği kazanması sürecini ifade eder. Beynin fokal bir bölgesini (parsiyel epilepsi) veya tüm beyni (jeneralize epilepsi) içerebilir [26]. Başlangıçta bir hasar (genetik malformasyon, kafa travması, inme enfeksiyon, status epileptikus) oluşmakta, daha sonra epileptogenez oluşması için bir sessiz dönem geçmekte, bunu kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler izlemektedir. Son bulgulara göre, epilepsi hastalarının bir alt grubunda zamanla giderek artan bir kognitif bozulma da görülmektedir [26].

Epileptojenik ve epileptik beyinde gerçekleşen nöron kaybı, ana nörobiyolojik anormalliklerden biridir. Gliosis, aksonal ve dendritik plastisite, nörogenesis, hücre membranı ve ekstraselüler matriksin moleküler reorganizasyonunu içeren diğer değişikliklerle birlikte görülen nöron kaybını anlamak önemlidir [27].

2.6 Epilepsinin Sınıflandırılması

Epileptik nöbetlerin ILAE-1989 sınıflamasında lokalizasyon, EEG özellikleri, başlangıç yaşı ve altta yatan nedene göre sendrom sınıflaması yapılmıştır [21].

A.Lokalizasyonla ilişkili (fokal ,lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar

1.İdyopatik (yaşla ilişkili başlangıç): Sentrotemporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi, Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi, Primer okuma epilepsisi.

2.Semptomatik: Kronik progresif epilepsia partialis continua (Kojewnikow sendromu), Özgül başlatılma tarzı olan nöbetlerle niteli sendromlar

3.Kriptojenik

B. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

1. İdyopatik (yaşla ilişkili başlangıç): Selim ailesel yenidoğan konvülsiyonları, Selim yenidoğan konvülsiyonları, Çocukluk çağı selim miyoklonik epilepsi, Çocukluk çağı absans epilepsisi, Jüvenil absans epilepsisi, Jüvenil miyoklonik epilepsi, Uyanırken

gelen grand mal nöbetler, Diğer jeneralize idyopatik epilepsiler, Özgül başlatılma tarzı olan nöbetlerle niteli epilepsi, Miyoklonik absans epilepsi.

2. Kriptojenik veya semptomatik:West sendromu (infantil spazm), Lennox-Gastaut Sendromu, Miyoklonik-astatik nöbetli epilepsi, Miyoklonik absanslı epilepsi.

3. Semptomatik:Nonspesifik etyoloji, Erken miyoklonik ensefalopati, Suppression burst'lu erken infantil epileptik ensefalopati, Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler.

C.Fokal mi jeneralize mi olduğu belirsiz sendromlar ve epilepsiler

1. Hem jeneralize hem fokal olan nöbetler: Yenidoğan nöbetleri, Sütçocukluğu çağı ciddi miyoklonik epilepsi, Yavaş dalga uykusunda sürekli diken dalgalı epilepsisi, Edinilmiş epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu), Tanımlanmamış başka epilepsiler

2. Kesin jeneralize veya fokal özellikleri olmayanlar

2.7 Genetik Hastalıklar

1980'lerin ilk zamanlarından beri moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler insan kalıtsal hastalıklarının moleküler temellerinin araştırılmasına bir dizi yaklaşımlar sağladı. İnsan genomu haritalama projesinin tamamlanması ve insan genomu haplotip haritasının ilerlemesi kompleks hastalıkların araştırılması için yeni yaklaşımların ileri sürülmesi yolunu açtı [28].

Bilinen tüm genetik hastalıklar üç ana grupta sınıflandırılmıştır. Bunlar mendeliyen hastalıklar (tek gen bozuklukları), mendeliyen olmayan-kompleks hastalıklar (poligenik) ve kromozomal hastalıklardır.

Mendeliyen bozukluklar DNA'daki tek bir gen mutasyonu sebebiyle meydana gelirler. Mutasyonlar dominant ya da resesif olmalarına bakılmaksızın belirgin ve karakteristik pedigrı paternleri gösterirler. Tek gen kalıtım türleri; otozomal dominant, otozomal resesif, X geçişli dominant, X geçişli resesif ve mitokondriyel geçişli türlerdir [29].

Yakın dönemlere kadar poligenik hastalıklar genetik hastalık olarak kabul edilmezlerdi çünkü karakteristik pedigriler göstermezler. Bunda genetik etmenler etkili olduğu kadar hastanın yaşadığı çevrede etkili olur. Mendelyen olmayan kompleks hastalıklar hem genetik hem de çevresel etkenlerle de direkt olarak ilişkilidir. Poligenik bozukluklar tek gendeki mutasyon sebebi ile oluşmazlar, daha çok birkaç gendeki küçük varyasyonlar ve çevresel etmenler sonucu bireyde önemli etkiler oluştururlar [29].

Kromozom anomalileri çeşitli formlarda görülebilir. Bunlar kromozomun bir kısmının veya tümünün fazlalığı veya eksikliği yada bir kromozom parçasının başka bir kromozoma lokasyonu ile meydana gelir. Kromozom anomalileri kanserli hücrelerde yaygındır [29].

2.8 Epilepsi ve Genetik

Epilepsi genetiği, içerilen gen sınıfının kalıtım mekanizması idiopatik veya semptomatik olup olmadığına göre kategorize edilebilir [28].

Epilepsi kalıtım mekanizması üç gruba ayrılır;

- Mendelyen epilepsiler, hastalığı tek bir gende taşırlar.
- Mendelyen olmayan yani kompleks epilepsiler, genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olmasıdır.
- Kromozomal olarak da sitogenetik bir anormalliğin epilepsilere sebep olmasıdır.

2.8.1 Primer Mendel Tipi Epilepsi

Tek gen hastalıklarının ancak çok küçük bir kısmını epilepsi sendromları oluşturmaktadır. Epilepsinin yalnızca fenotipi oluşturduğu 160'dan fazla tek gen hastalığı bulunmaktadır. Bu hastalıklar epilepsinin sadece % 1'ini oluşturmaktadır. Bu tek gen hastalıkları arasında nörokutanöz hastalıklar, nörodejeneneratif hastalıklar, kalıtsal kortikal gelişim malformasyonları kalıtsal metabolik hastalıklar sayılabilir. Bunlarda altta yatan nörolojik tutulumla bağlı, mental retardasyon ve gelişme geriliği görülmektedir [30].

Başlıca mendel tipi epilepsiler: Selim ailesel yenidoğan konvülziyonu (SAYK), Selim ailesel infantil konvülziyon (SAİK), Otozomal noktürnal frontal lob epilepsisi (ODNFL), Febril nöbet artı jeneralize epilepsi (FNJE) [30].

2.8.2 Mendel Tipi Olmayan (Kompleks) Epilepsi

Epilepside genetik faktörlerin katkısı çok çeşitli yollarla olur. Epilepside kalıtımın en sık formu mendel tipi olmayan (kompleks) kalıttır. Buna multifaktöriyel kalıtım da denir. Yani genetik ve çevresel faktörler birlikte epilepsiye neden olurlar. İdiyopatik epilepsilerin çoğu multifaktöriyeldir. Genel popülasyona göre akraba olan kişilerde pek çok genin paylaşılması multifaktöriyel kalıtım nedeniyle daha fazladır. Ebeveynleri veya kardeşlerinde epilepsi olan kişilerde genel popülasyona göre daha fazla epilepsi görülmesi genetik faktörlerin rolünü kanıtlar. Genel popülasyonda insanların % 1'inde epilepsi görülürken yakın akrabalarında epilepsi varsa, epilepsinin spesifik tipine göre bu oran % 2-8'e çıkar [31].

Epilepsi de kompleks kalıtlı olgularda birden fazla gen aynı epilepsi sendromuna yol açabildiği gibi (poligenik), edinsel ve çevresel faktörler birlikte rol oynayabilmektedir (multifaktöriyel). Epilepsi çalışmalarında karşılaşılan bir başka zorluk ise epilepsinin yüksek heterojenite gösteren bir hastalık olmasıdır. Yani aynı genlerde meydana gelen farklı mutasyonlar değişik epilepsi sendromlarına yol açabildiği gibi (fenotipik heterojenite), farklı genlerde meydana gelen mutasyonlarda aynı sendromu oluşturabilmektedir (genotipik heterojenite) [31].

2.9 Sitokinler

Sitokinler çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salınan peptit veya glikoprotein yapısındaki çözünebilen maddelerdir (Lenfosit, monosit, makrofajlar). İnflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenler. Sitokinler hormon yapısına benzemekle beraber tam hormon değildirler [32].

Başlangıçta sadece lenfositlerin sitokin kaynağı olduğu sanıldığından lenfokin adı verilmiştir. Daha sonra monositlerin de bu faktörleri ürettiği görülmüş ve monokin adı

verilmiştir. Bugün bu mediyatörlerin sadece lenfoid hücreler tarafından salgılanmadığı görülmüş ve sitokin ismi daha çok kullanılmaya başlanmıştır [33].

2.9.1 Sitokinlerin Genel Özellikleri

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin ortak birçok özellikleri vardır [32,33,34]:

- Sitokinler naturel ve spesifik immünitinin efektör fazında üretilirler. Bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını, düzenlenmesini sağlarlar. Doğal bağışıklıkta lipopolisakkarid gibi mikrobik ürünler mononükleer fagositleri direkt olarak uyararak kendi sitokinlerini salgılatırlar. T-hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasına yanıt sonucunda meydana gelirler.
- Sitokin salınımı, kısa kendini tekrarlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde sitokinler hızla salınır.
- Sitokinler birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe pleiotropizm denir.

2.9.2 Sitokinlerin Sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler 4 gruba ayrılır [33]:

1. Doğal immüniteye aracılık eden sitokinler;

- Tip 1 İnterferonlar (IFN)
- Tümör Nekrotizan Faktör (TNF)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- İnterlökin-6 (IL-6)
- Kemokinler

2. Lenfosit aktivasyonu, büyüme, diferansiasyon regülatörleri olarak T-lenfositlerinin özel antijenleri tanımlarına yanıtı temin eden sitokinler;

- İnterlökin-2 (IL-2) (T-hücresi büyüme faktörü)
- İnterlökin-4 (IL-4) (IgE sentez regülatörü)

- Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)
3. Bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler;
- İnterferon- γ (Mononökleer fagositlerin birincil aktivatörü)
 - Lenfotoksin (LT) (Nötrofil aktivatörü)
 - İnterlökin-10 (IL-10) (Mononökleer fagositlerin negatif regülatörü)
 - İnterlökin-5 (IL-5) (Eosinofil aktivatörü)
 - İnterlökin-12 (IL-12) (Naturel Killer ve T-hócre similatörü)
4. İmmatür lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden mediyatörler;
- c-kit ligand
 - İnterlökin-3 (Koloni stimüle eden faktör)
 - Granülosit makrofaj koloni simülatör faktör (GM-CSF)
 - Monosit makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)
 - Granülosit koloni stimülatör faktör (G-CSF)
 - İnterlökin-7 (IL-7)
 - İnterlökin-9 (IL-9)
 - İnterlökin-11 (IL-11)

2.9.3 Sinir Sistemi ve İmmün Sistemin Birbirlerine Etkileri

Sinir ve bağışıklık sistemleri göz önünde bulundurulduğunda; birini diğerdenden ayrı düşünerek anlamayı denemek, elde edilen doğru deneysel sonuçlardan yanlış çıkarımlar yapılmasına sebep olabilir. Bu yüzden, bu sistemleri anlamak için sadece kendi içlerinde değil, birbirleriyle etkileşimlerinin de anlaşılması gerekmektedir.

Endokrin ve birincil sempatik sistem yolları üzerinden salınan hormon, nörotransmitter, nöropeptid ve sitokin gibi etkin biyolojik moleküller, lenfosit ve onlarla ilişkili diğerdere hücrelerle (makrofajlar, epitel hücreler ve dendritik hücreler gibi) bu hücrelerdeki özgül almaçları aracılığıyla etkileşmektedir. Bu moleküller beyindeki kimyasal ileticiler arasındaki en geniş öbektir ve epinefrin (E), norepinefrin (NE), dopamin (D), histamin asetil kolin (Ach), substance P (SP), protoglandinler, prolaktin (PRL), büyüme hormonu (GH), glikokortikoidler (GC), testosteron vs. bunlar arasında en bilinenleridir. Bu nöro-endokrin etmenler, bağışıklık elemanı üzerindeki almaçlarıyla etkileştikten sonra, cAMP ve cGMP gibi çeşitli ikincil ileticilerle hücresel etkinliği değıştirilebilir ya

da lenfokin ve monokin üretimlerini etkileyerek bağışıklık tepkisini dolaylı yoldan düzenleyebilirler [35,36].

2.9.4 Epilepsi Oluşumunda Sitokinlerin Rolü

Sitokinler MHC (Büyük Doku Uygunluk Kompleksi) gen bölgesi içerisine yerleşen Klas III Genleri olarak bilinirler. İmmün sistem, endokrin sistem ve sinir sistemi ile yakın etkileşim içerisindedirler. Etkileri açısından pro-inflamatuar sitokinler, anti inflamatuar sitokinler ve regülatör sitokinler olarak sınıflandırılırlar. Genlerin ekspresyonu inflamasyon esnasında değişiklik gösterir. Bu anlamda epilepsi oluşumunda nöroendokrin sistem ile birlikte sitokinlerin de hastalıkların oluşumunu tetikleyebildiği ya da baskılayabildiği bilinmektedir.

Son bulgular, bağışıklık bakış açısından MSS'nin aslında mutlak korunaklı bir bölge olmadığını gösterir [35,37]. Bağışıklık sisteminden beyne gelen iletilerin, burada glia hücrelerini etkinleştirip, pro-inflamatuar moleküllerin salınmasını sağlaması, "hastalık tepkisi" olarak bilinmektedir. Bu tepkinin bilinen en belirgin bileşeni kolaylaştırılmış acı tepkisidir. Beyin parankimasına ulaşmayan, hastalık etmenlerinin, beyin dokusundaki "circumventricular" organlarda (CVO) 2. Tip Toll-like almaçları ve pro-inflamatuar sitokin genlerinin hızlı bir şekilde ifadesini tetiklemesi, sözü edilen etkileşimin varlığını kanıtlamaktadır [35].

Pro inflamatuar sitokinlerin (IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ ve TNF- α) ekspresyonları HHB (Hipotalamus-Hipofiz Bezi-Böbrek üstü kabuk bölgesi) eksenini tetiklemektedir. Bu yüzden, bu ürünlerin GC (Glikokortikoid molekülleri) üretimi üzerinde düzenleyici bir etkileri vardır [35,39]. Bu moleküller özellikle yangı ve inflamasyon durumlarında salgılanan pro inflamatuar sitokinlerdir [40].

Sitokinler, periferik duysal sinirleri doğrudan uyarabilme yetisine sahiptir [35]. Periferik sistemdeki IL-1 β , vagus siniri üzerindeki almaçlarca tanınabilmektedir. Ayrıca, TNF- α da vagus almaçlarınca tanınabilmektedir. Vagus tarafından alınan ileti de doğrudan HHB eksenine taşınabilmekte ve bağışıklık iletilerinin geldiği bölgeye kolinerjik sinirler aracılığıyla cevap gönderebilmektedir. Böylece, beyin inflamasyonun nerede olduğunu

izleyip, gerektiğinde bağıklık sistemini baskılayabilme potansiyeline sahip olmaktadır [40].

Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda epilepsi ve immün sistem arasında kompleks bir ilişkinin varlığı ortaya çıkarılmıştır [41]. Epilepsili hastalarda sitokinlerin ekspresyonunda ve bağıklık hücrelerinde meydana gelen anormallikler gözlenmiştir [5,6,7]. Ayrıca bağıklık sistemi ve bağıklık sistemi içerisinde yer alan inflamatuvar reaksiyonlar epileptogenezde önemli rol oynamaktadır [8].

Sitokinler enfeksiyon ve iltihaplanmalarda düzenleyici rol oynar. Enfeksiyon süresince pro ve anti iflamatuvar sitokinler hassas bir denge içerisinde [11]. Psikiyatrik ve nörolojik vakalarda sitokinler, immün modülatör olarak MSS'de görev alırlar [12]. Epilepsi çalışılan deneysel hayvan modellerinde aktif sitokin üretimi gözlenmiştir [42].

Sitokin seviyesindeki artışın yüksek ateşe neden olduğu bilinmektedir. Fakat, sitokinlerin yarılanma ömrünün çok kısa olması sebebiyle bu düşünce tam olarak inandırıcı değildir. Sitokin genlerinin birçok polimorfik bölgeleri olduğundan, bu genlerdeki polimorfizm hastalığın febril nöbetlerdeki patojenitesine etki eder [11].

Bu çalışmada sitokinler ve epilepsi arasındaki mevcut bilgiler ışığında en yaygın çalışılan IL-1 β -511 ve IL-6 -174 sitokinlerinin gen poliformizmlerinin bölgemiz açısından belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2.9.5 İnterlökin-1 β (IL-1 β)

Sistemik İnterlökin-1 düzeyleri normalde düşük iken inflamasyon esnasında hızlı bir artış gösterir. Nöronal bir hasar durumunda interlökin-1 hızla mikroglia ve merkezi sinir sistemi hücrelerinden üretilir. İnme, travmatik beyin hasarı, spinal kord hasarı, multiple skleroz, down sendromu ve Alzheimer hastalığı gibi sık görülen nöropsikiyatrik problemler merkezi sinir sisteminde artmış olan IL-1 β üretimi ile ilişkilidir [40].

IL-1 β geni 2. kromozomun uzun kolunun 14. bölgesinde lokalizedir. IL-1 β 'nın moleküler ağırlığı 17 kDa ve 153 aminoasitten oluşur.

İnterlökin-1 ailesi, IL-1 reseptörüne bağlanan IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra olmak üzere üç liganntan meydana gelmektedir. IL-1 α 'nın membrana bağlandığı yerden IL-1 β salgılanır. Epilepside sitokinler üzerine yapılan araştırmalarda IL-1 β 'ya daha fazla odaklanılmasının sebebi budur [41,42]. IL-1Ra, inhibe edici resptörlere bağlanma yeteneğine ve IL-1 benzeri uyarı içermeyen biyolojik aktivitelere sahip bir proteindir. IL-1 β , IL-1 α 'dan (% 22 aynı aa) IL-1Ra' ya (% 26 aynı aa) daha benzerdir [43].

IL-1 sitokinleri düşük seviyelerde eksprese edilir [6,44]. Genetik araştırmalarda; kontrol grubu ve hipokampal skleroz içermeyen TLE (temporal lob epilepsi) hastalarıyla hipokampal skleroz içeren TLE hastalarının karşılaştırılmasında IL-1 β -511 allel 2 için IL-1 β 'nin indükleyici olması öngörülür [45,46]. Fakat yapılan diğer çalışmalarda; kontrol grubu ve HS'li TLE hastalarının genotip ve allel frekansları arasındaki belli farklılıklar ispatlanamamıştır [47-49]. Ayrıca IL-1 β -511 allel 2 frekansının ve febril konvülsiyon riskinini arttırdığı rapor edilmesine rağmen başka bir çalışmada bunun aksi ispatlanmıştır [42,50,51]. Tilgen ve diğerlerinin çalışması, birinci ve ikinci derece akrabalarının nöbet öyküleri alınan febril konvülsiyonlu 43 hastada IL-1 β -511 allel 2'nin frekansının artması ve varsayılan taşınımına doğru kaydığını göstermiştir[51]. Fakat bu durum istatistiksel olarak bir belirteç değildir. Bu çelişen sonuçların olası nedeni etnik gruplardaki allellerin prevalanslarının farklı olmasıdır [41]. Farklı etnik gruplardaki büyük hasta populasyonlarında yapılacak çalışmalar ile IL-1 β -511 allel 2 ve epilepsi arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması sağlanabilir.

Çeşitli klinik çalışmalar, fokal epilepsili hastalarda beyin omurilik sıvılarındaki (BOS) ve kanlarındaki IL-1 β seviyesindeki değişimi adres göstermiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tonik-klonik nöbetlerden sonra 24 saat içinde kanda ve BOS'taki IL-1 β konsantrasyonundaki farklılık belirgin değildir [52]. Daha yakın çalışmalar fokal epilepsili hastalarda nöbet sonrası IL-1 β konsantrasyonları ile kompleks parsiyel veya sekonder jeneralize tonik-klonik nöbet başlangıç seviyeleri arasında bir farklılık olmadığını göstermiştir [53,54]. Ancak, fokal epilepsi sendromlu hastaların kompleks parsiyel veya jenareelize tonik-klonik nöbet sonrasında, serumlarındaki IL-1Ra seviyelerinde artış gözlenmiştir [7]. İyi huylu beyin tümörleri ya da displazi nedeniyle oluşmuş fokal epilepsili hastalarda IL-1 β seviyesinin yükseldiği görülmüştür [55]. Febril nöbetli hastalarda ne BOS'ta ne kandaki IL-1 β seviyesinde kontrol gruplarına

göre bir farklılık gözlenmemiştir [56,57]. Fakat, Virta ve arkadaşları IL-1Ra/IL-1 β oranını plasmadaki TNF- α , IL-1Ra, IL-1 β , IL-6, IL-10 ile karşılaştırdıklarında, febril nöbetlere bağlı belirgin bir faktör olduğunu bulmuşlardır [57].

Cerrahi müdahale yapılmış HS'li TLE hastalarından elde edilen beyin örneklerinde; kandaki ve BOS'takinin aksine IL-1 β 'nin ekspresyonunda ve resöptörlerinde artış belirlenmiştir. Fokal kortikal displazi ve glioneuronal tümörler nedeniyle dirençli epilepsi hastalarındaki nöronlar ve glia içinde IL-1 β ekspresyonu normal beyin dokusundaki ekspresyona göre daha yüksektir [6,58,59]. Epileptojenik bölge için sitokinlerin seviyesinin arttığının kanıtlanmasına rağmen, IL-1 β 'nin rolü henüz belirlenememiştir.

2.9.6 İnterlökin-6

İnterlökin-6 nörodejeneratif ve nöroprotektif özellikler gösteren bir sitokindir [59]. Örneğin depresyon ve alzheimer gibi nöropsikiyatrik şartlarda interlökin-6 (IL-6) seviyesi yükselir [60]. IL-6 ve beyin hacmi arasındaki ilişkiyi açıklamak için yapılan çalışmada; normal yaşlanma sürecinde beyin atrofisindeki IL-6 seviyesinin diğer sitokinlerle de bağlantılı olduğu görülmüştür [61].

IL-6 geni 7. kromozomun kısa kolunun 21. bölgesinde lokalizedir. IL-6'nın moleküler ağırlığı 22000-30000 kDa arasında değişir ve 184 aminoasitten oluşur [62].

İnterlökin-6 inflamatuvar tepkileri ve diğer immün reaksiyonları düzenleyen çok fonksiyonlu bir sitokindir [63,64]. IL-6 resöptör (IL-6R) ve gp130'un iki molekülünün birleşmesiyle IL-6 reseptörü boyunca sinyaller iletilir [64,65,66]. IL-6 ve sIL-6R (IL-6R'nin çözünebilir formu) IL-6R membrana bağlı olmaksızın hücreleri üzerinde gp130 sinyalizasyon tetikleyebilir [67,68].

Jeneralize tonik-klonik nöbetler ve febril nöbetler sonrasındaki 24 saat içinde plasmada ve BOS'taki IL-6 seviyesinin belirgin şekilde yükseldiği belirlenmiştir [7,52,57,69]. Kronik lokalizasyon ilişkili epilepsili hastalarında kompleks parsiyel nöbetlerden sonra IL-6 resöptör seviyesinde az miktarda azalmanın yada değişimin olmadığı görülmüştür [7].

Jeneralize tonik-klonik nöbet sonrası BOS'taki IL-6 düzeylerinin artışı plazmadaki artışa göre daha belirgindir [52,70,71]. Bu yüzden IL-6 sentezinin çoğunlukla merkezi sinir sisteminde gerçekleştiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, nöbetler katekolaminlerin salınımını indükleyerek sempatik sinir sistemini aktive edebilirler [72,73]. Katekolaminler periferik mononükleer kan hücrelerinden sitokin salınımını başlatırlar [74]. Epileptik hastaların periferik mononükleer kan hücreleri kontrol grubuna göre, mitojen ile in vitro uyarıldığında IL-6 üretimi daha fazladır [75]. IL-6'nın nöbet sonrası artmasının diğer bir sebebi periferik mononükleer kan hücrelerinden salınan sitokindir. Diğer çalışmalar IL-6 plazma seviyesi ve farklı fokal epilepsiler arasındaki ilişki hakkında fikir verir. IL-6 seviyesinin TLE hastalarında yüksek fakat nöbetler arasındaki sürede yüksek olmadığı saptanmıştır [75]. TLE'li hastalarda ve ekstar TLE'li hastalarda kompleks parsiyel veya ikincil jeneralize tonik-klonik nöbetlerden sonraki 6 saat içerisinde, sadece TLE grubunda IL-6 plazma seviyesi belirgin bir artış göstermiştir [54]. Önceki sonuçlarda, HS'li hastalarda artış olmamasına rağmen HS'siz TLE'li hastalarda nöbet sonrasında IL-6 plazma seviyesinde çok hızlı bir artış gözlenmiştir [54]. Bu bulgular TLE'de IL-6'nın nöroprotektif etkisini (HS'nin gelişmesini önleyici) ortaya koyar. Sempatik sinir sisteminin temporal lob tarafından aktivasyonu, katekolaminlerin ardışık salınımı ve IL-6 plazma düzeylerinin yükselmesi göz ardı edilmemelidir.

2.10 Moleküler Düzeyde Genomik Analiz Teknikleri

2.10.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir [76]. İlk olarak Kary Mullis ve arkadaşları 1985 yılında tekniğe bugünkü ismini vermiş ve uygulamaya koymuşlardır. PCR basit, spesifik ve hassas bir tekniktir [77].

PCR teknikleri diagnostik ve adli tıpta genlerin belirlenmesi ve özel DNA parçalarının klonlanması ve gen ifade modellerinin tespit edilmesinde önem kazanmıştır [78]. PCR, klonlama yapmaya gerek kalmadan, bir genomdan özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasını çıkarma olanağı sağlamıştır. DNA dizisinin çoğaltılması için her iki uçundan

genomun nükleotit dizisi bilinmeli ve PCR' da primer olarak kullanılacak oligonükleotitlerin hazırlanması gereklidir [79]. PCR ile genellikle 10 kilobaz (kb) uzunluğa kadar DNA bölgeleri çoğaltılabilmektedir; ancak bazı metodlarla 40 kb'a kadar ulaşabilmektedir [76]. PCR reaksiyonun gerçekleşebilmesi için genetik yapısı incelenecek olan izole edilmiş kalıp DNA, ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi, oligonükleotit primerler ve enzimin kopyalama işleminde kullanacağı deoksiribonükleozid trifosfatlar (dNTP: dATP, dCTP, dGTP, dTTP) gerekli olan bileşenlerdir [80].

PCR prensibi, kendini tekrarlayan üç aşamaya dayanır; denatürasyon, primerlerin eşleşmesi (annealing) ve primerlerin uzamasıdır (extension).

Denatürasyon: PCR reaksiyonu içinde yer alan çift zincirli kalıp (template) DNA' nın 92-95°C' de 1-2 dakika tutularak çift sarmalın birbirinden ayrılması sağlanır [80].

Primerlerin Yapışması (Annealing): Primer olarak kullanılan oligonükleotid primerlerinin ayrılmış DNA zincirlerine 55-60°C' de bağlanması sağlanır. Bu işlem üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleştirilir [81]. Optimal annealing sıcaklığı T_m (melting temperature) derecesinden 5°C daha düşüktür.

Çoğaltılacak olan hedef DNA bölgesi belirlendikten sonra, bu bölgeye uygun primerlerin seçilmesi önemlidir. Öncelikle primerler genom üzerinde yalnızca bir bölgeyi tanımalıdır ve çoğaltılacak DNA içinde yalnızca bir kez bulunmalıdır. Primerde dört bazı içeren dNTP olabildiğince eşit ve heterojen sırada kullanılmalıdır. Primerin 3' ucunun G ve C' den zengin olması DNA'ya daha sıkı bağlanmaya yol açarak, polimerizasyonun daha başarılı olmasını sağlar. Çünkü A ve T bazları DNA zincirini iki hidrojen bağı ile tutarken, G ve C bazları üç hidrojen bağı ile tutmaktadır.

Primer Uzaması (Extension): DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) ve dNTP' ler vasıtasıyla uzatılmasıdır. Taq DNA polymerase 72°C sıcaklığa daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır [82].

DNA polimeraz enzimi uygun tampon ve dört çeşit d NTP varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Nükleotitleri 5' ucundan 3' ucuna doğru ekleyerek

primerlerin uzamasını sağlayan ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını oluşturan DNA polimeraz enzimi olarak *Thermus Aquaticus* adlı bakteriden elde edilen termostabil bir enzim olan "DNA Taq polimeraz" enzimi kullanılır [83]. Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmaları ile fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA zincirinin polimerizasyonu gerçekleşir [83].

PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır [84]. Üç basamaktan oluşan işlem bir PCR döngüsünü temsil eder. Bu işlem genel olarak 25-40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. PCR sonucunda DNA parçacıkları, agaroz veya poliakrilamid jelde yürütüldükten sonra ethidium bromide (EtBr) ile boyanarak gözlemlenir [84].

2.10.1.1 PCR Çeşitleri

PCR tekniğinin bulunmasından bu yana teknolojiye çok hızlı gelişmeler olmuş ve buna bağlı olarak çok farklı PCR metotları geliştirilmiştir. Çoğaltılması istenen DNA dizisinin bilindiği durumda kullanılan metotlarda DNA sekans yapısı bilinmektedir. Oligonükleotid primer çifti kullanılarak çift sarmal DNA dizileri Taq DNA polimeraz enzimi tarafından 5'→3' yönünde okunmaktadır [85]. Önceki kısımda anlatılan PCR tekniği klasik protein zincir reaksiyonuna örnektir. Bunun haricinde birkaç PCR çeşidi daha vardır.

Çizelge 2.2. PCR Tipleri [85]

PCR TİPİ	HEDEF	UYGULAMA	AVANTAJ	DEZAVANTAJ
Klasik	DNA	DNA dizisinin amplifikasyonu ve araştırılması	<ul style="list-style-type: none"> • En kolay uygulanan PCR tipi. • Düşük maliyetli ve az ekipman gereksinimli. 	<ul style="list-style-type: none"> • Amplifikasyon sonrası analiz gerektirir.daha fazla zaman araç gereç harcanır. • İnsan hatası ve kroskontaminasyon riski taşır. • Elde edilen ürünün prob hibridizasyonu veya dizileme ile doğrulanması tercih edilir.
Real Time	DNA	Hedef nükleik asit dizisinin kopya sayısının tespiti ile kuantifikasyon.	<ul style="list-style-type: none"> • Hızlı • Bağlı veya kesin hedef dizi kuantifikasyonu • Genellikle amplifikasyon sonrası analize gerek duymaz. • Prob ve melting curve (erime eğrisi) kullanıldığı için daha kesin sonuç. • Daha az kroskontaminasyon riski 	<ul style="list-style-type: none"> • Daha pahalı ekipman ve sarf malzeme gerektirir. • Primer ve prob seçimi sınırlıdır. • Doğrulama analizlerine (dizileme gibi) izin vermez.
Multipleks	DNA	İki veya daha fazla sayıdaki farklı DNA dizisinin aynı anda amplifikasyonu.	<ul style="list-style-type: none"> • Çoklu hedef dizisinin tek bir reaksiyonda amplifikasyonu ile zaman ve araç gereç tasarrufu 	<ul style="list-style-type: none"> • Primer seçim olanakları sınırlıdır. • Önemli ölçüde optimizasyon gerektirir. • Çoğunlukla hassasiyeti ve özgünlüğü düşüktür.
Reverse Transcription (RT)	mRNA, rRNA, viral RNA	RNA' nın amplifikasyonu ve araştırılması	<ul style="list-style-type: none"> • Tüm RNA çeşitlerinin amplifikasyonunu sağlar. 	<ul style="list-style-type: none"> • RNA' nın çabuk bozunması • Ek RT aşaması daha fazla zaman ve maliyet gerektirir. • Kontaminasyon riski taşır.
Nested	DNA	Eksternal ve internal primer takımları kullanılır.	<ul style="list-style-type: none"> • Daha hassastır. • Non spesifik amplifikasyonun azaltılması. 	<ul style="list-style-type: none"> • İlk amplifikasyon sonrası ürünün taşınması sebebiyle yanlış pozitif sonuç ihtimali.

2.10.2 RFLP Uygulamaları

RFLP (Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Polimorfizmi), bir DNA parçasının bir restriksiyon enzimi ile kesilmesi olayıdır. RFLP tekniği PCR metoduyla birlikte nDNA veya mtDNA üzerindeki bölgelerde kullanılabilir [86].

RFLP uygulamalarında kullanılacak 3000 civarı restriksiyon enzimi bulunmaktadır. Çalışılan gen bölgesine ait farklı organizmalardan alınan baz dizilimlerine ait bilgiler (Gen Bankalarından) kullanılmalıdır. Restriksiyon enzimlerine ait bilgilerin değerlendirilmesinde kullanılan program vasıtasıyla amplifiye edileceği düşünülen gen bölgesinin baz dizilimi yapılandırılarak enzimlerin kesilip kesilmedikleri kontrol edilir. Böylece restriksiyon enzimi seçiminde yapılacak hata minimize edilmiş olur [86].

RFLP uygulamalarında kullanılacak kimyasalların konsantrasyonlarını ve miktarlarını tespit ederken restriksiyon enzimlerinin kataloglarındaki bilgiler kullanılır. İnkübasyon sıcaklığı ile ilgili olarak TaqI (65°C) hariç hemen hemen tüm restriksiyon enzimleri 37°C'de inkübasyona tabi tutulur. PCR ürünü, restriksiyon enzimi, tampon ve ultra saf su karışımı ortalama 16 saat inkübe edilir. Agaroz jelde yürütülerek RFLP sonuçları kontrol edilir [86,87].

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Eylül 2012 ve Mayıs 2013 tarihleri arasında Kars Devlet Hastanesi Nöroloji Polikliniği'nde takip edilmekte olan epilepsi tanısı almış 100 epilepsi hastası ve epilepsi hastası olmayan 100 sağlıklı bireyin kan örnekleri alınarak yapıldı. Genomik çalışmalar ise, 2012 yılı içinde Kafkas Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünde DNA izolasyonunun bir kısmı yapıldı. 2013 yılında ise Biyomühendislik bölümü laboratuvarlarında çalışmanın kalan laboratuvar çalışmaları gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan tüm gönüllü hasta ve gönüllü sağlıklı bireyler çalışmaya başlamadan önce bilgilendirildi ve etik kurul izinleri alındı.

3.1 Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi

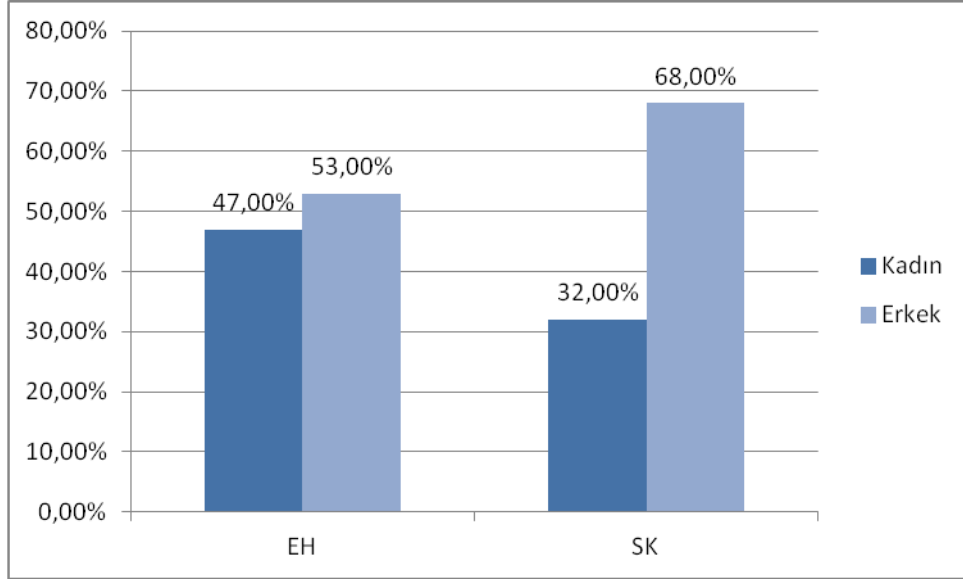
Eylül 2012 ve Mayıs 2013 tarihleri arasında Kars Devlet Hastanesi Nöroloji Polikliniği'nde takip edilmekte olan epilepsi tanısı almış 100 hasta ve epilepsi hastası olmayan 100 sağlıklı bireyin kan örnekleri alındı. İki'den fazla nöbet geçirme öyküsü olan hastalar, epilepsi hastası olarak değerlendirilip klinik ortamda yaşları, cinsiyetleri, aile öyküleri, ateşli nöbet geçirmeleri uzman hekim tarafından rapor edildi. DNA izolasyonuna uygun olarak 10 ml EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Herhangi bir nöbet öyküsü bulunmayan sağlıklı bireyler de kontrol grubu olarak değerlendirildi.

3.2 Epilepsili Hasta Grubunun ve Kontrol Grubunun Demografik Dağılımları

Hasta grubunu oluşturan 100 olgunun yaş ortalaması 33 ± 14 , kontrol grubu oluşturan 100 bireyin yaş ortalaması 29 ± 8 idi.

Çizelge 3.1. Grupların yaş dağılımı (SD:Standart sapma değeri)

Gruplar	En Düşük Yaş	En Yüksek Yaş	Yaş Ortalaması	SD
Hasta	18	70	33,27	13,65
Kontrol	19	61	29,15	7,56



Şekil 3.1. Grupların cinsiyet dağılımı (EH:Epilepsili Hasta Grubu, SK:Kontrol Grubu)

3.3 Kullanılan Kimyasallar

	Marka
Proteinaz K	Sigma
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	Sigma
Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma
Etil Alkol %96 lık ve % 70 lik (EtOH)	Merck
DNA Taq polimeraz	Vivantis
PCR Tampon (Magnezyumlu)	Vivantis
Deoksiribonükleotitler	Vivantis
Ultra distile su	Vivantis
Primer Dizileri:	GenMar

IL-1 Beta için primer dizileri:

Forward: **5'-TGGCATTGATCTGGTTCATC-3'**

Reverse: **5'-GTTTAGGAATCTTCCCACCTT-3'**

IL-6 için primer dizileri:

Forward: **5'-GGGGCTGCGATGGAGTCAGAG-3'**

Reverse: **5'-TCCCTCACACAGGGCTCGAC-3'**

IL-1B için Aval kesim enzimi

New England Biolabs

IL-6 için SfaNI kesim enzimi

New England Biolabs

Rest. enzim tamponu

New England Biolabs

Ultra distile su

Vivantis

Agaroz

Sigma

1X TBE tampon

Gibco

Etidyum Bromid

Vivantis

DNA marker

Norgen

Yükleme tamponu

Sigma

3.4 Kullanılan Araç Gereçler

Santrifüj

Nüve NF 400R

Mikrosantrifüj

ScanSpeed

Su banyosu

Memmert

Etüv

Nüve FN500

Vorteks	Velp Scientifica
Gradient Thermal Block(PCR cihazı)	Bioneer
Elektroforez Sistemi	Maxicell
Görüntülüme Sistemi	Gel Logic 212 Pro Jel

3.6 DNA İzolasyonunda kullanılan solüsyonların hazırlanması

10X Eritrosit Liziz Buffer (ELB); 82,9 gr NH₄Cl ve 10 gr KHCO₃ hassas terazide tartılarak cam şişeye dökülür, üzerine 0,5 M'lık 20 ml EDTA eklenir. Karışımın üzerine 1 litreye tamamlayacak kadar distile su eklenip karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı.

Nükleaz Liziz Buffer (NLB); 10 ml Tris-HCl (pH:8,2) , 4 ml EDTA ve 24 gr NaCl karıştırılıp 900 ml distile su ile tamamlanır ve karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı.

Tris-HCl (1M); 12,1 gr trisbase 80 ml distile suda çözüldü. Ardından 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

NaCl (6 M); 87,69 gr NaCl ve 250 ml distile su ile karıştırıldı.

EDTA(0,5 M); 18,6 gr EDTA 80 ml distile suda çözüldü. pH'sını ayarlamak için NaOH eklendi ve distile su 100 ml' ye tamamlandı.

0,1 M HCl Çözeltisi; 0,415 ml HCl 50 ml distile su ile çözüldü.

Proteinaz K Sulandırma; 20 mg Proteinaz K 1 ml distile su ile çözüldü.

3.6 Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Periferik kandan DNA izolasyonu iki aşamada gerçekleştirildi. Bu işlem toplamda iki günlük zaman zarfında bitirildi.

Sağlıklı ve hasta bireylerden 10 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri izolasyon başlayana kadar -20°C' de saklandı. İzolasyondaki ilk işlem dondurucudan alınan kan örnekleri 37°C' de su banyosunda çözüldü. Çözülen kanların her biri ayrı falkon tüplere

dökülüp üzerine üzerine 40 ml ELB eklendi. Hemen arkasından buz dolu kap içerisinde 30 dakika bekletildikten sonra +4°C 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjlenen kanların süpernatant kısımları çamaşır suyu dolu atık kabına döküldü. Kalan pelletin üzerine 40 ml ELB eklendi ve pellet tamamen çözünene kadar çalkalandı, sonra tekrar aynı şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Ardından süpernatant yine dikkatlice atık kabına dökülerek kalan pellete üçüncü defa 25 ml ELB eklendi, pellet çözününceye kadar çalkalandı ve 10 dakika daha santrifüj edildi. Bu işlem bitince süpernatant atıldı ve pelletin eritrositlerden arındırılmış olması beklendi. Temizlenen pellet üzerine 4 ml NLB ve 10µl proteinaz K eklenerek iyice çalkalandı. Pellet tamamen çözündürülmüş oldu. Son olarak üzerine 425 µl SDS eklendi, kesinlikle çalkalanmadı, bir gece 37°C etüvde bekletildi.

Ertesi gün etüvden alınan tüpler 30 dakika oda ısısında bekletildi. Bekleme sonrası her birinin üzerine 1,4 ml 6M NaCl eklenerek çok hızlı 15 saniye çalkalandı. Örnekler 20°C 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Çıkarıldıktan sonra bu kez süpernatant kısımlar hazırlanan başka falkon tüplere aktarıldı ve pelletler atıldı. Yeni tüpler 20°C 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüjün ardından oluşan süpernatant yeni tüplere alındı ve pellet atıldı. Süpernatantları 20 ml'ye tamamlayacak şekilde % 96'lık etil alkol ilave edildi ve iplikler halinde DNA oluşması için birkaç dakika beklendi. Oluşan DNA pipet yardımıyla eppendorf tüplere alındı. Üzerlerine 500 µl % 70'lik etil alkol eklendi. Mikro santrifüjde 6000 rpm'de 6 dakika santrifüjlendi ve DNA'ların çökmesi gözlemlendi, fazla alkol döküldü. Kalan alkoller mikropipet yardımıyla çekildi. Tamamen uçması için bir süre beklendi. Alkol iyice uçurulduktan sonra DNA 500 µl distile su ile sulandırıldı ve -20°C'ya alındı.

3.7 Epilepsili Hastalar ve Kontrol Gruplarında PCR Yöntemi ile Polimorfizm Analizleri

Aşağıda verilen miktarlara göre (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2) polimeraz zincir reaksiyonu için PCR bileşenleri bütün örnekler için hazırlandı. MyGenie Bioneer cihazı ile örneklerin verilen döngü sıcaklıkları (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4) ayarlanıp reaksiyonların gerçekleştirilmesi sağlandı ve kopyaları elde edilmiş oldu.

Çizelge 3.2. IL-1 β -511 Primerleri ve PCR Bileşenleri

Stok Konsantrasyonu	Miktar (μl)	Final Kons.
10X PCR tampon	5	1X
d NTP	2	0,1 mM
Primer F 5'-TGGCATTGATCTGGTTCATC-3' (2,5 pmol/ μ l)	1	1 ng
Primer R 5'-GTTTAGGAATCTTCCCACCTT-3' (2,5 pmol/ μ l)	1	1 ng
DNA örneği (100 ng/ μ l)	2	1 ng
Taq Polimeraz (5 U/ μ l)	1	0,03 U
Steril saf su	13	
Toplam	25	

Çizelge 3.3. IL-6-174 Primerleri ve PCR Bileşenleri

Stok Konsantrasyonu	Miktar (μl)	Final Kons.
10X PCR tampon	5	1X
Dntp	2	0,1 mM
Primer F 5'-GGGGCTGCGATGGAGTCAGAG-3' (2,5 pmol/ μ l)	1	1 ng
Primer R 5'-TCCCTCACACAGGGCTCGAC-3' (2,5 pmol/ μ l)	1	1 ng
DNA örneği	2	1 ng
Taq Polimeraz (5 U/ μ l)	1	0,03 U
Steril saf su	13	
Toplam	25	

Çizelge 3.4. IL-1 β PCR Döngü Sıcaklıkları

Reaksiyon aşaması	Sıcaklık(°C)	Süre (dak.)	Döngü
Başlangıç Denatürasyon	95	2	1
Denatürasyon	95	1	35
Primer Bağlanması	53	1	
Zincir Uzaması	74	1	
Son Uzama	72	5	1

Çizelge 3.5. IL-6 PCR Döngü Sıcaklıkları

Reaksiyon aşaması	Sıcaklık(°C)	Süre (dak.)	Döngü
Başlangıç Denatürasyon	95	2	1
Denatürasyon	95	1	35
Primer Bağlanması	53	1	
Zincir Uzaması	74	1	
Son Uzama	72	5	1

3.8 Elektroforez ile Amplifikasyonların Kontrolü

PCR işlemi sonrası PCR ürünlerini kontrol etmek amacıyla 10 μ l PCR ürünü 2 μ l yükleme tamponu ile karıştırılarak % 2'lik agaroz jel elektroforezde yürütüldü. Elektroforez işleri için 3 gr agaroz tartılarak 150 ml TE (1X) tamponuyla karıştırılıp, mikrodalga fırında eritildi. 60° C'ye soğutulup üzerine 6 μ l etidyum bromid eklendi. Hazırlanan bu solüsyon tarakları yerleştirilmiş elektroforez tankının kamerasına dökülerek sertleşinceye kadar beklendi. 10 μ l PCR ürünü ve 2 μ l yükleme tamponu yüklendi. Kontrol olarak DNA marker eklendi. Elektroforez cihazında güç kaynağında 90V 300 A, 1 saat yürütüldüken sonra görüntüleme sisteminde görüntülendi.

3.9 Amplifiye DNA'ların restriksiyon enzimleri ile kesimi

Uygun primerlerle çoğaltılan IL-1 β -511 geni PCR ürünlerinin AvaI enzimi ile kesilmesi ve genotip tayini:

PCR ürünü :10 µl

1X Tampon :1 µl

AvaI Enzimi :1 µl

dH₂O :3 µl

olmak üzere toplam hacim 15 µl'dir. PCR ürünleri 37°C' de 1 saat bekletilerek enzim kesimleri gerçekleştirildi. Konsantrasyonu % 2,5 olan agaroz jelde yürütüldü ve resimleri çekildi. Resimlerden yararlanarak polimorfizm analizleri yapıldı.

IL-6-174 geni PCR ürünlerinin SfaNI Enzimi ile kesilmesi ve genotip tayini:

PCR ürünü :10 µl

1X Tampon :1 µl

AvaI Enzimi :1 µl

dH₂O :3 µl

olmak üzere toplam hacim 15 µl'dir. Pzr ürünleri 37°C'de 1 saat bekletilerek enzim kesimleri gerçekleştirildi. Restriksiyon ürüleri % 2,5'luk agaroz jelde yürütüldü ve resimleri çekildi. Resimlerden yararlanarak polimorfizm analizleri yapıldı.

3.10 İstatistiksel Analiz

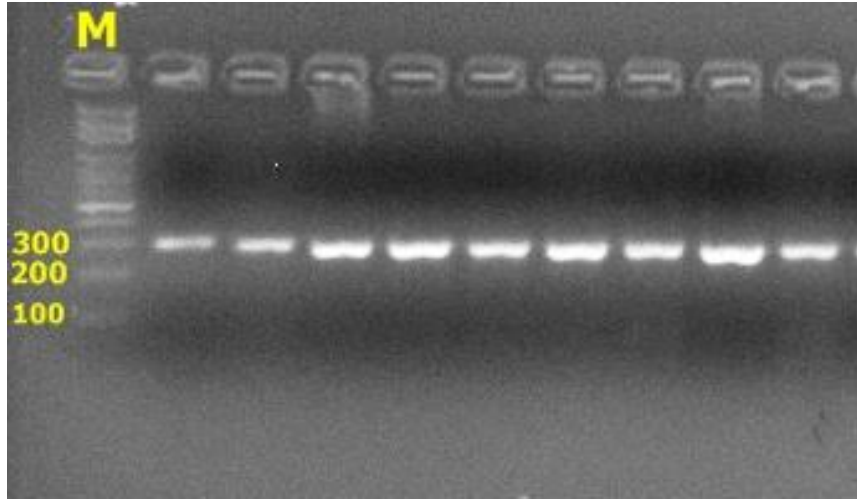
Hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin yaş ortalamaları arasında farklılık olup olmadığına göre varyans analizi yapılmıştır. Kategorik yapıdaki değişkenler arasındaki ilişkilerin kontrolünde X² tests kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde GraphPad Prism 6.02 programı kullanılmıştır. α=0,05 sınırı istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

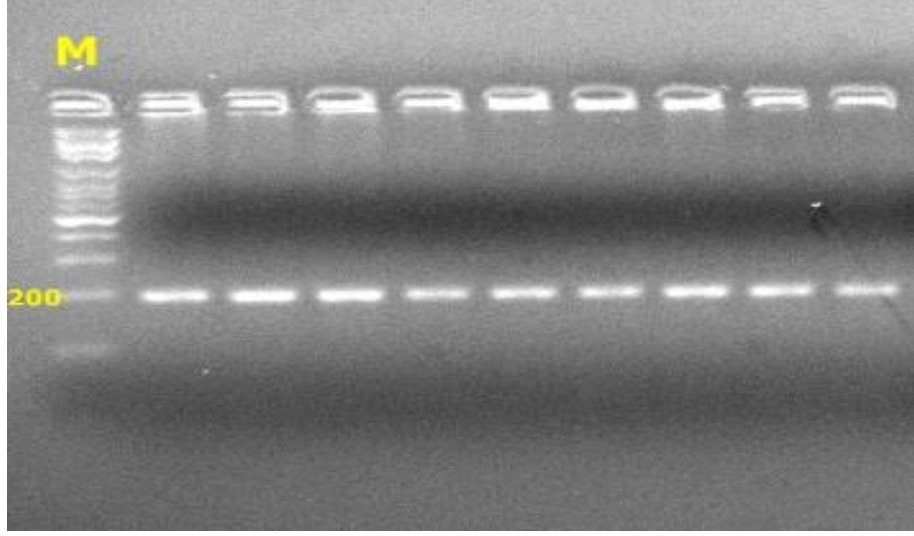
Bu çalışmaya, Eylül 2012-Mayıs 2013 yılları arasında Kars Devlet Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne başvuran, epilepsi tanısı konan 100 hasta ve hastalara benzer yaş gruplarında bulunan epilepsisi ya da herhangi bir kronik rahatsızlığı bulunmayan 100 sağlıklı birey dahil edildi. Bulgular GraphPad Prism 6.02 paket programı kullanılarak istatistik analizleri yapıldı.

Restriksiyon enzimleri ile kesim sonucu epilepsili hastalarda IL-1 β -511 polimorfizm dağılımları en sık CT genotipi (%62 oranında) ve T alleli (%56 oranında) görüldü. Kontrol grubunda ise restriksiyon enzim ile kesim sonucu en sık rastlanan CC genotipi (%65 oranında) ve T alleli (%22,5 oranında) gözlemlendi (Resim 4.1 ve Resim 4.3).

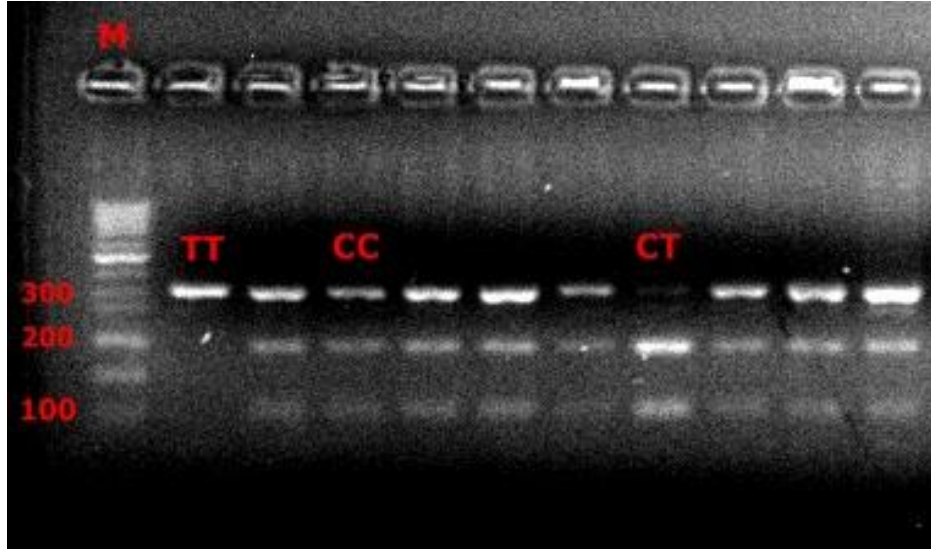
Hasta grubunda IL-6-174 gen polimorfizmi için GG genotipi %42 oranında ve G alleli %46 oranında rastlandı. Kontrol grubunda ise polimorfizm oranı GG genotipi %50 ve G alleli %52,5 gözlemlendi (Resim 4.2 ve Resim 4.4).



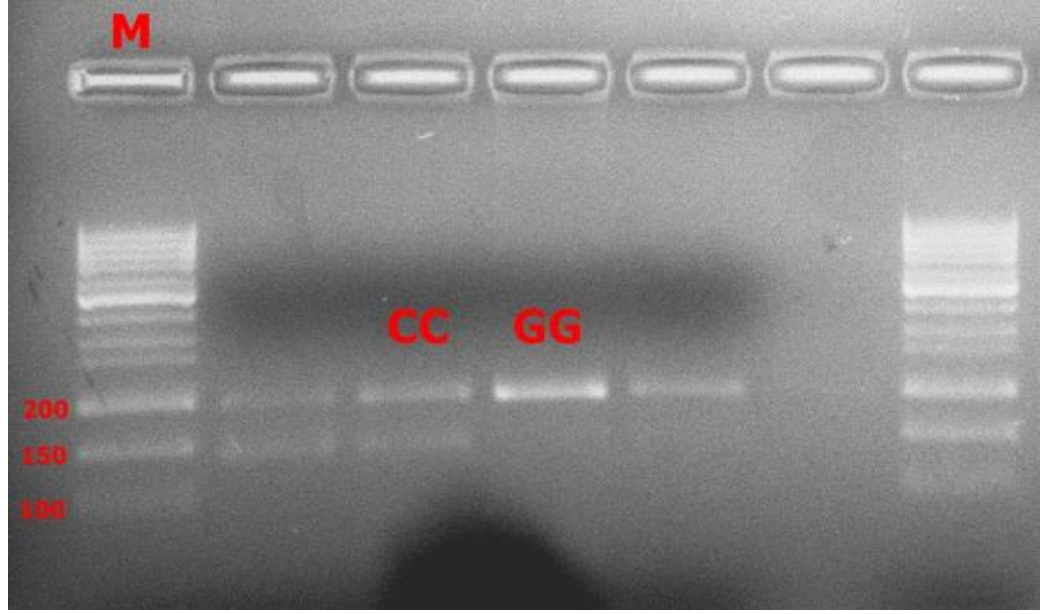
Resim 4.1. IL-1 β -511 bölgesi PCR ürünleri görüntüsü (300 kb)



Resim 4.2. IL-6-174 bölgesi PCR ürünleri görüntüsü (200 kb)



Resim 4.3. IL-1 β -511' nın AvaI enzimi ile kesim görüntüsü (300 kb bantlara sahip kişiler TT (homozigot) genotipli; 200kb +100 kb bantlara sahip kişiler CT (heterozigot) genotipli; 300 kb + 200 kb + 100 kb bantlara sahip kişiler CC (yabani tip) genotipli)



Resim 4.4. IL-6-174'nın SfaNI enzimi ile kesim görüntüsü (200 kb banta sahip kişiler GG (yabani tip) genotipli;200 kb +150 kb + 100 kb banta sahip kişiler GC (heterozigot) genotipli;200 kb + 150 kb bantlara sahip kişiler CC (homozigot) genotipli)

IL-1 β -511 geninin AvaI enzimi ile RFLP analizi sonuçları

IL-1 β -511 geninin AvaI enzimi ile RFLP analizi sonucunda genotip dağılımı ve allel frekans sıklığı bakımından değerlendirildi. Epilepsi grubundaki 100 bireyde ve sağlıklı kontrol grubunda 100 bireyde istatistiksel anlamlı sonuç elde edildi($p < 0,05$), (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1. IL-1 β -511 gen polimorfizm sıklıkları

Genotip	Hasta		Kontrol		P
	N	%	N	%	
CC (yabani)	13	13,00	65	65,00	<0,0001
CT (heterozigot)	62	62,00	25	25,00	
TT (homozigot)	25	25,00	10	10,00	

Epilepsi hasta grubunda kadın ve erkeklerin genotip karşılaştırmalarına göre istatistiksel anlamlı farklılık yoktur ($P>0,05$), (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Hasta grubu IL-1 β -511 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması

Genotip	Hasta				P
	Kadın		Erkek		
	N	%	N	%	
CC	4	8,51	9	16,98	0,447
CT	31	65,96	31	58,49	
TT	12	25,53	13	24,53	

Kontrol grubunda kadın ve erkeklerin genotip karşılaştırmalarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$), (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Kontrol grubunda IL-1 β -511 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması

Genotip	Kontrol				P
	Kadın		Erkek		
	N	%	N	%	
CC	18	56,25	47	69,12	0,453
CT	10	31,25	15	22,06	
TT	4	12,5	6	8,82	

Allel sıklığı açısından bakıldığında ise epileptogenez sürecinde rol oynayabileceği düşünülen T allelinin hasta grubunun %56'sında ve kontrol grubunun %22'sinde bulunduğu görüldü (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. IL-1 β -511 Allel frekanslarının karşılaştırması

Allel	Hasta	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
C	0,44	0,78
T	0,56	0,22

Aile öyküsü olan hasta grubu bireylerde CT, sağlıklı bireylerde CC genotipine sık rastlanmıştır. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0,05$), (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Aile öyküsü olan hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 genotipleri karşılaştırması

Genotip	Aile Öyküsü Olan Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
CC	2	8,00	65	65,00
CT	17	68,00	25	25,00
TT	6	24,00	10	10,00

Sağlıklı bireylerde C alleli sık görülürken aile öyküsü olan bireylerde T alleleline daha sık rastlanmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Aile öyküsü olan hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 allel frekansı karşılaştırması

Allel	Aile Öyküsü Olan Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
C	0,42	0,78
T	0,58	0,22

Ateşli nöbet geçiren hasta grubu bireylerde, sağlıklı bireylerde olduğu gibi CT genotipine en sık rastlanmıştır. Fakat CC genotip sıklığında bir düşüş gözlenirken TT genotipi artış göstermiştir. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark vardır ($p<0,05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 genotip karşılaştırması

Genotip	Ateşli Nöbet Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
CC	3	10.00	65	65.00
CT	20	66.67	25	25.00
TT	7	23.33	10	10.00

Sağlıklı bireylerde C alleli sık görülürken ateşli nöbet geçiren hasta bireylerde T alleleline daha sık rastlanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 allel frekansı karşılaştırması

Allel	Ateşli Nöbet Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
C	0,43	0,78
T	0,57	0,22

Kontrol grubunda CC genotipine en sık rastlanırken, kafa travması geçiren hasta grubunda da CC genotipine daha sık rastlanmıştır. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p>0,05$), (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Kafa travması geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 genotip karşılaştırması

Genotip	Kafa Travması Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
CC	8	50,00	65	65,00
CT	5	31,25	25	25,00
TT	3	18,75	10	10,00

Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubunda C alleli T allele göre daha sık gözlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Kafa travması geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 allel frekans karşılaştırması

Allel	Kafa Travması Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
C	0,66	0,78
T	0,34	0,22

Zor doğum geçiren hastalar ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık vardır (p=0,0003), (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Zor doğum geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 genotip karşılaştırması

Genotip	Zor Doğum Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
CC	1	8,33	65	65,00
CT	6	50,00	25	25,00
TT	5	41,67	10	10,00

Kontrol grubunda C allel frekansı yüksek iken, zor doğum geçiren grupta T allel frekansının daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Zor doğum geçiren hasta grubu ve sağlıklı grup IL-1 β -511 allel karşılaştırması

Allel	Zor Doğum Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
C	0,33	0,78
T	0,67	0,22

IL-6-174 Bölgesinin SfaNI enzimi ile RFLP analizi sonuçları

IL-6-174 polimorfik bölgesinin SfaNI enzimi ile RFLP analizi sonucunda genotip dağılımı ve allel frekans sıklığı bakımından değerlendirildi. Epilepsi grubundaki 100 bireyde ve sağlıklı kontrol grubunda 100 bireyde istatistiksel anlamlı sonuç elde edilmedi ($p>0,05$), (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. IL-6-174 gen polimorfizm sıklıkları

Genotip	Hastalar		Kontrol		P
	N	%	N	%	
GG(yabani)	42	42,00	50	50,00	0,438
CC(homozigot)	50	50,00	45	45,00	
GC(heterozigot)	8	8,00	5	3,00	

Epilepsili hastalar ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında üç genotip (GG / GC /CC) açısından da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Hasta grubunda kadın ve erkek genotipleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$), (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Hasta grubu IL-6-174 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması

Genotip	Hastalar				P
	Kadın		Erkek		
	N	%	N	%	
GG	23	48,90	19	35,85	0,405
GC	3	6,40	5	9,43	
CC	21	44,70	29	54,72	

Kontrol grubunda kadın ve erkeklerin genotip karşılaştırmalarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Sağlıklı kontrol grup IL-6-174 genotipleri cinsiyetlerine göre karşılaştırılması

Genotip	Kontrol				P
	Kadın		Erkek		
	N	%	N	%	
GG	19	59,37	31	45,59	0,340
GC	2	6,25	3	4,41	
CC	11	34,38	34	0,50	

Allel sıklığı açısından bakıldığında ise epileptogenez sürecinde rol oynayabileceği düşünülen G allelinin hasta grubunun %36'sında ve kontrol grubunun %53'ünde bulunduğu görüldü (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. IL-6-174 Allel frekans sıklıkları

Allel	Hasta	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
G	0,46	0,53
C	0,54	0,47

Aile öyküsü olan hasta grubu bireylerde, sağlıklı bireylerde olduğu gibi GG genotipine en sık rastlanmıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0,780$), (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Aile öyküsü olan hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 genotipleri

Genotip	Aile Öyküsü Olan Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
GG	28	56,00	50	50,00
GC	2	4,00	5	5,00
CC	20	40,00	45	45,00

Sağlıklı bireylerde ve aile öyküsü olan bireylerde G alleline daha sık rastlanmıştır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Aile öyküsü olan hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 allel frekansları

Allel	Aile Öyküsü Olan Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
G	0,58	0,53
C	0,42	0,47

Ateşli nöbet geçiren bireylerde ve kontrol grubu bireylerinde GG genotipine en sık rastlanmıştır. Hastalarda GC genotipinde azalış olurken CC genotipinde artma olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.19). İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,931$).

Çizelge 4.19. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 genotipleri

Genotip	Ateşli Nöbet Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
GG	13	54,17	50	50,00
GC	1	4,17	5	5,00
CC	10	41,66	45	45,00

Ateşli nöbet geçiren hasta grubunda ve kontrol grubunda G allel frekansı daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Ateşli nöbet geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 allel frekansları

Allel	Ateşli Nöbet Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
G	0,56	0,53
C	0,44	0,47

Kafa travması geçiren hasta grubunda GC genotipine hiç rastlanmamıştır. En fazla görülen genotip her iki grup içinde GG'dir. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p=0,409$), (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 genotipleri

Genotip	Kafa Travması Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
GG	16	59,26	50	50,00
GC	0	0,00	5	5,00
CC	11	40,74	45	45,00

Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubunda G allel frekansı en fazla olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Kafa travması geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 alleleri

Allel	Kafa Travması Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
G	0,59	0,53
C	0,41	0,47

Zor doğum geçiren hasta grubunda GC genotipine rastlanmamıştır. Kontrol grubunda GG ve CC genotip dağılımı yakın değerlerde iken, hasta grubunda GG genotip dağılımı daha yüksektir. İki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktur ($p=0,122$), (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Zor doğum geçiren hasta grubu ve kontrol grubu IL-6-174 genotipleri

Genotip	Zor Doğum Geçiren Hastalar		Kontrol	
	N	%	N	%
GG	11	78,57	50	50,00
GC	0	0,00	5	5,00
CC	3	21,43	45	45,00

Zor doğum geçiren hasta grubunun G allel frekansının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Zor doğum hasta grubu ve kontrol IL-6 allel frekansları

Allel	Zor Doğum Geçiren Hastalar	Kontrol
	Allel frekansı	Allel frekansı
G	0,78	0,53
C	0,22	0,47

TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi, dünya üzerinde görülen en sık rastlanılan nörolojik hastalıklardan biridir. Epileptik vakaların bir çoğunda sebebi bilinmemiş, tanı ve tedavide zorluklar yaşandığı için son 20 yılda birçok araştırmaya konu olmuştur. Yapılan bu çalışmalarda tanı ve tedavisinin yanı sıra etiyolojisinin bulunması amacıyla genetik çalışmalara çok büyük yer verilmiştir [90].

Epilepsi hastalığında genomik araştırmalar son yıllarda dikkat çeken bir durumdur. Sinir sistemi ve immün sistem arasında kompleks bir ilişkinin varlığı bilinmektedir. Epilepsili hastalarda nöbet esnasında veya sonrasında sitokin genlerinin ekspresyonu bireyin sahip olduğu polimorfik çeşitlilik dikkate alınırsa bazı değişimler gözlenebilmektedir. Ancak bu değişimler farklı coğrafyalarda ve farklı populasyonlarda değişiklik gösterir. Bireylerin genomik yapısı ile hastalık her zaman uyumlu mu, yoksa uyumsuzluklar da var mı sorusu sorulmuş bu anlamda genomik çalışmalara araştırmacılar yönelmiştir.

Epilepsi hastalığı bireyin yaşamında sosyal olarak bir takım sıkıntılar ortaya koymaktadır. Bir kısım bireyde sonradan gelişebilen bir durum iken (çeşitli travmatik kazalar vb. sebebiyle), çoğu bireyde doğuştan gelen bir durumdur. Anne ve babadan çocuğa aktarıldığı gibi, sadece çocukta meydana gelen genetik değişimlerle de ortaya çıkabilmektedir. Günümüze kadar epilepsi hastalarında genetik çalışmalarda hastalıkla ilişkisi farzedilen 15 gen araştırılmış, ayrıca çok daha fazla polimorfizm bölgeleri incelenmiştir [92].

Tüm bu çeşitlilikler göz önüne alındığında epilepsi hastalığının etiyolojisinin ortaya konması farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi açısından önemli olacaktır. Bu çalışmada epilepsinin genetik boyutunu sitokin gen polimorfizmleri ile ilişkisini genomik yöntemler kullanarak araştırıldı.

Çalışmada seçilen grupların cinsiyet dağılımına bakıldığında epilepsi hasta grubunun %47'si kadın, %53'ü erkek; sağlıklı kontrol grubunun %32'si kadın %68'i erkektir. Literatürde epilepsi hastalığının erkeklerde daha sık olduğunu gösteren yayınlar mevcut olup, bunun tam tersini söyleyen çalışmalar da bulunmaktadır [88]. Bu çalışmada hasta

grubunun erkekler ile kadın oranı arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadığı ancak epileptogenezde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada IL-1 β ve IL-6 pro-inflamatuvar sitokin gen polimorfizmleri incelendi. Pro-inflamatuvar sitokin polimorfizmlerinin epilepsili hastalarda ve ateşli nöbetlerin oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir. Bulgularımızda hasta grubunda sırasıyla T allelinin epileptogenezi etkilediği fakat G allelinin epileptogenezi etkilemediği tespit edildi.

Çalışmada hasta grubunun %25'inde aile öyküsü, %30'unda ateşli nöbet, %16'sında kafa travması ve %12'sinde zor doğum görülen populasyon incelendi. T alleli aile öyküsü olan hastalarda %58, ateşli nöbet olan hastalarda %57, kafa travması geçiren hastalarda %34 ve zor doğum olan hastalarda %67 oranında bulunmuştur.

Bulgularımızda epilepsi hastalarında ateşli nöbet olgularının IL-1 β -511 polimorfizmleri incelendiğinde hasta olmayanlara göre T allelinde %57 oranında artış olduğu ve T allelinin epilepsi hastalığını etkilediği tespit edildi. Kira ve ark. 2005 yılında Japonya'da çalışmaları bizim bulgularımızla paralel göstermektedir. Ayrıca Serdaroğlu ve ark. 2009 yılında Türkiye'de çocuklar üzerinde yaptığı çalışmada T allelinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha sık olduğunu ortaya koymuştur. Kanemoto ve arkadaşlarının 2003 yılında Japonya'da yaptığı çalışmada T allel frekansı ateşli nöbeti olanlarda olmayanlara göre daha sık görülmesi bu çalışmayı destekler niteliktedir. Kanemoto'nun sonuçları ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir. Bunun aksine; Tiwari ve ark. 2012 yılında Hindistan'da, Chou ve ark. 2010 yılında Tayvan popülasyonunda, Haspolat ve ark. 2005 yılında Türkiye'de, Matsuo ve ark. 2006 yılında Japonya'da, Buono ve ark. 2001'de Amerika'da yapılan çalışmalarda IL-1 β gen polimorfizmi ile epilepsinin arasında bir etkileşim olmadığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca, Tilgen 2002 yılında Almanya'da ve Tsai 2002 yılında Tayvan'da yaptıkları çalışmaları ise ateşli nöbet bulgularında C alleleline daha sık rastladıklarını ortaya koymuştur. Yukarıda verilen araştırma sonuçları bulgularımızla uyuşmamakta olup, uyuşmazlık popülasyonların farklı genetik varyasyonlarına sahip olmaları ile açıklanabilir. Değişik popülasyonlarda, sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda T allel sıklığı Japonlarda 0,46; Avrupa toplumlarında 0,34 ve Afrika toplumlarında 0,60 olarak saptanmıştır [45]. Haspolat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sağlıklı Türk

çocuklarda T allel sıklığı 0,42 olarak saptanmıştır [89]. Bu çalışmada ise sağlıklı bireylerde T allel frekansı 0,28 olarak saptanmıştır.

Bulgularımızda IL-1B-511 polimorfik bölgesindeki allel sıklıkları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ailesinde veya 1. derecede akrabalarında hastalık olan kişilerde T alleli sıklığının daha fazla olduğu tespit edildi.

Kafa travması geçirmiş bireylerle kontrol gruplarını karşılaştırdığımızda aynı sonuçlar elde edilmedi. Yani T alleleline daha az rastlanmıştır. Bu hastalarda C alleli daha sıktır. Bunun sebebi kafa travması geçirmiş kişiler genel olarak genetik değil, çevresel faktörlerle kazanılmış epilepsi hastaları oldukları için genetik olarak herhangi bir polimorfizm olmadığını, bu yüzden sağlıklı bireylerdeki gibi C allelleri sık görülmüştür.

İncelememizde zor doğum geçiren epilepsili hastalarda sağlıklı bireylere göre yine T allel frekansı daha yüksek oranda olduğu tespit edildi.

IL-6-174 polimorfik bölgesinde bu çalışmada incelenen kontrol grup ve hasta grupta sık görülen genotip GG ve CC'dir. Hasta grubunda allel frekans sıklığına göre G alleli sıklığı, sağlıklı gruba göre daha az tespit edildi. Bu durumun IL-6-174 polimorfizminin epileptogenezde rol oynamadığı kanaatindeyiz.

Elde edilen ateşli nöbet geçiren hastalar sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında G alleli frekansı açısından herhangi bir değişim saptanmadı. Epileptogenez süreci için ateşli nöbet geçiren hastanın genetik bilgiler açısından bir kriter olamayacağı düşünülmektedir. Chuo ve ark. 2010 yılında Tayvan'da, Mansoori ve ark. 2011 yılında Hindistan'da, Bagli ve ark. 2000 yılında Almanya'da ve Capurso ve ark. 2010 yılında İtalya'da ateşli nöbetli hastalarda G allelinin epilepsiyi etkilemediğini ortaya koymuşlardır [104]. Bu sonuçlar, bulgularımızla uyumluluk göstermektedir. Diğer bir çalışma da Shibata ve ark 2002 yılında Japonya'da, Mateo ve ark. 2006 yılında İspanya'da Pola ve ark. 2002 yılında İtalya'da ateşli nöbetlerin gelişiminde G allelinin etkili olduğunu savunmuşlardır [90]. Bu sonuç ile araştırma sonucumuz uygunluk göstermemektedir.

Nur ve arkadaşları 2011 yılında Türkiye'de çocuklarla yaptıkları bir çalışmada aile öyküsü olan hasta grubu bireylerinde GG genotipine daha sık rastlandığını ortaya

koymuşlardır. Çalışmamızda da aile öyküsü olan hastalarda nöbetler için risk faktörü olan GG genotipi yüksek frekansta bulunmuştur. Bu farklı sonuçların sebebini araştırmacılar yine farklı coğrafya, etnik varyasyonlar, genomik heterojenite ile açıklamaktadırlar [91].

Bu araştırmada kafa travması ve zor doğum geçiren hastalarda yine en sık rastlanan GG genotipi olup ve buna göre G allel frekansı en yaygın görülen allel olduğu tespit edildi. Ancak sağlıklı grupla karşılaştırıldığında bu grupta da en sık GG genotipinin varlığı tespit edildi. Buna göre bu iki farklı durum için GG genotipinin bir risk faktörü olarak gösterilemeyeceği kanısındayız.

Sonuç olarak; bu çalışmada IL-1 β -511 ve IL-6 -174 polimorfizmleri üzerinde çalışılmış olup, IL-1 β -511 gen polimorfizmlerinin hasta ve sağlıklı grup karşılaştırmaları ile T allelinin epileptogenezin ilerlemesinde ve nöbetlerin gelişiminde rol oynadığını ve ateşli nöbetlere etken oluşturan risk faktörü olabileceğini düşünmekteyiz. Aile yküsü olan bireylerde IL-6-174 gen polimorfizminde ise G alleli (yada GG genotipi) her iki grupta da sık görülmüştür. Ancak sağlıklı gruplardaki bu sıklığın yüksek olmasını GG'nin epileptogenezde kesin etkisinin olduğunu söylemenin çok doğru olmadığı kanaatindeyiz. Bu durumu tam olarak açığa kavuşturmak için daha önceden belirtildiği gibi IL-6 bölgesinin ekspirasyon seviyelerinin ayrıntılı olarak incelemenin gerektiği düşünceindeyiz.

Bölgemiz ve Türkiye'nin diğer bölgelerinde allel frekansları ve genotip dağılımının daha kesin ortaya konulması için benzer çalışmalar da araştırılan popülasyonlardaki birey sayısı artırılmalıdır. Bulgular epilepsi genetiği üzerine gelecekte geliştirilerek rutin klinik tanı ve gen tedavisine yardımcı olabileceğini umut etmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Büyük İ, “İdiyopatik Jeneralize Epilepsi ile EFHC1 Genindeki 662 G>A ve 685 T>C Polimorfizmi İlişkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Manisa, 2010.
- [2] Tekeli, H. vd, “The Prevalence of Epilepsy in Young Turkish Males”, *Epilepsy*, 2012;18(1):1-6.
- [3] Jackson, JH. “Lectures of the diagnosis of epilepsy in Taylor J, ed. Selected writings of John H. Jackson”, Vol 1. New York, Basic Books, 1951.
- [4] Bambal, G. vd. *Konuralp Tıp Dergisi* 2011;3(3):42-45.
- [5] Plata Salaman CR., et al. “Kindling modulates the IL-1beta system, TNF-alfa, TGF-beta1 and neuropeptide mRNAs in specific brain regions”, *Brain Res* 2000;75:248-58.
- [6] Ravizza T, Vezzani A. “Status epilepticus induces time-dependent neuronal and astrocytic expression of IL-1 receptor type-I in the rat limbic system”, *Neuroscience* 2006;137:301–8.
- [7] Lehtimäki, KA., et al. “Increased plasma levels of cytokines after seizures in localization-related epilepsy”, *Acta Neurol Scand* 2007;116:226–30.
- [8] Vezzani, A., et al. “Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis”, *Epilepsia*, 2002;43:30-5.
- [9] Kalueff, AV., et al. “Intranasal administration of human IL-6 increases the severity of chemically induced seizures in rats”, *Neurosci Lett*, 2004;365:106–10.
- [10] Balosso, S., et al. “Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors”, *Ann Neurol* 2005;57:804–12.
- [11] Dinarello, CA., “Biologic basis for interleukin-1 in disease”, *Blood*, 1996;87:2095-147.
- [12] Vitkovic, L., et al. “Inflammatory cytokines: Neuromodulators in normal brain”, *J Neurochem* 2000;74:457-71.

- [13] Browne, TH., Holmes, GL., “Handbook of Epilepsy. Epilepsy: Definitions and Background”, Third edition-USA-2004:6-7.
- [14] Fisher, RS., et al. “Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)”, *Epilepsia* 2005;46,470-472.
- [15] International League Against Epilepsy. Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. *Epilepsia* 1993; 34 (4):592-6.
- [16] Binder, KD., Scharfman, EH., “Recent Advances in Epilepsy Research”, Kluwer Academic Plenum Publishers, 2004;12-35.
- [17] Walter G., et al. “Neurology in clinical practice”, *The Epilepsies*, 2000;71: 1745
- [18] Wolf, P., Epilepsy and catalepsy in Anglo-American literature between romanticism and realism: Tennyson, Poe, Eliot and Collins. *J. Hist. Neurosci.* 2000; 9(3)286-293.
- [19] Cockerell, OC., Shorvon, SD., “Epilepsy Current Concepts. Epidemiology”. London, 1996.
- [20] Annegers, JF. “Epidemiology and genetics of epilepsy”, *Neurologic clinics* 1994;12:15-29.
- [21] Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989;30:389-99.
- [22] Chapman, AG. et al, “Cerebral metabolic changes during prolonged seizures in rats”, *J Neurochem*, 1977;28:1025.
- [23] Cain, DH. et al, “Failure of Aspartame to Affect Seizure susceptibility in kindled rats”, *Neuropharmacology*, 1989;28:433.

- [24] Guilarte, TR, “Regional changes in the concentrations of Glutamate, Glycine, Taurine and GABA in the Vitamin B6 Deficient developing rat brain: Association with neonatal seizures”, *Neurochemical Research*, 1989;14:889.
- [25] Bora, İ., Taşkapılıoğlu, Ö., “New Horizons in Epilepsy Treatment”, *Epilepsi*, 2003;9(2):91-102.
- [26] Sutula, TP. et al, “Do epileptic seizures damage the brain?”, *Curr Opin Neurol*, 2003;16:189-95.
- [27] Jutila, L. et al, “Neurobiology of epileptogenesis in the temporal lobe”, *Adv Tech Stand Neurosurg* 2002;27:5-22.
- [28] Robinson, RA., MA MBBS MRCP, “Genetic Analysis of Human Epilepsy”, A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy, 2009.
- [29] Gardiner, RM., “Genetic basis of the human epilepsies”, *Epilepsy Research*, 1999; 36(2-3): 91-95.
- [30] Gardiner, RM., “Molecular genetics of the epilepsies”, *The National Society for Epilepsy*, London, 2003.
- [31] Bebek, N., Baykan, B., “Epilepsilerin Genetik Yönü ve İdyopatik Epilepsi Genetiğinde Son Gelişmeler”, *Journal of Neurological Sciences*, 2006;23(2);70-83.
- [32] Nororiha, IL. et al, “Cytokines and growth factors in renal disease” *Nephrol Dial Transplant*, 1995;10: 775-786.
- [33] Güner, İ. et al, “Sitokinler”, *T Klin J Med Sci* 1997;17.
- [34] Abbas, AK., Lichtman, AH., Poper JS. “Cytokines”, *Cellular and Molecular Immunology Philadelphia: WB Saunders Company*, 1994;240-261.
- [35] Wrona, D., “Neural-immune interactions: An integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune system”, *Journal of Neuroimmunology*, 2006;172, 38-58.

- [36] Dorskind, K., Horseman, ND., “The roles of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I, and thyroid hormones in lymphocytes development and function: Insights from genetic models of hormone and hormon receptor deficiency”, *Endocr Reviews*, 2000;21, 292-312.
- [37] Altıntaş, A. “İmmün Kökenli Nörolojik Hastalıklar”, Nöroloji ABD Semineri, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 26 Nisan 2006.
- [38] Banks, WA. “Neuroimmune networks and communication pathways: the importance of locatio”, *Brain, Behavior, and Immunity*, 2004;18,120-122.
- [39] Turnbull, AV, Rivier, CL., “Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Cytokines: Actions and Mecahnism of Action”, *Physiological Reviews*, 1999;79,1-71.
- [40] Rook, GAW., “Glucocorticoids and immune function”, *Baillière’s Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1999;13,567-581.
- [41] Gang Li et al. “Cytokines and Epilepsy”, *Seizure*, 2011;20,249-256.
- [42] Virta, M. et al. “Increased Frequency of Interleukin-1 β (-511) Allele 2 in Febrile Seizures”, *Pediatric Norology*, 2002;26,3.
- [43] Dube, C, et al. “Interleukin-1b contributes to the generation of experimental febrile seizures”, *Ann Neurol* 2005;57:152–155.
- [44] Lehtimaki, KA. et al. “Expression of cytokines and cytokine reseptors in the rat brain after kainic acid-induced seizures”, *Mol Brain Res*, 2003;110:253-60.
- [45] Kanemoto, K, et al. “Interleukin (IL)-1 beta, IL-1alpha, and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy”, *Ann Neurol*, 2000;47:571–4.
- [46] Kanemoto, K, et al. “Increased frequency of interleukin-1beta-511T allele in patients with temporal lobe epilepsy, hippocampal sclerosis, and prolonged febrile convulsion”, *Epilepsia*, 2003;44:796–9.

- [47] Heils, A, et al. "Interleukin-1 beta polymorphism and susceptibility to temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis", *Ann Neurol*, 2000;48:948–50.
- [48] Buono, RJ, et al. "Lack of association between an interleukin 1 beta (IL-1b) gene variation and refractory temporal lobe epilepsy", *Epilepsia*, 2001; 42:782–4.
- [49] Jin, L, et al. "Association analysis of a polymorphism of interleukin 1b (IL-1b) gene with temporal lobe epilepsy in a Chinese population", *Epilepsia*, 2003; 44:1306–9.
- [50] Özkara, C, et al. "Lack of association between IL-1beta/alpha gene polymorphisms and temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis", *Seizure*, 2006; 15:288–91.
- [51] Tilgen, N, et al. "Association analysis between the human interleukin 1beta (-511) gene polymorphism and susceptibility to febrile convulsions", *Neurosci Lett*, 2002; 334:68–70.
- [52] Peltola, J, et al. "Interleukin-6 and Interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures", *Epilepsy Res*, 2000; 41:205–11.
- [53] Alapirtti, T, et al. "Interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production in patients with focal epilepsy: a video-EEG study", *J Neurol Sci*, 2009; 280:94–7.
- [54] Bauer, S, et al. "Etiology and site of temporal lobe epilepsy influence postictal cytokine release", *Epilepsy Res*, 2009; 86:82–8.
- [55] Nowak, M, et al. "Interictal immunological changes in patients with refractory epilepsy", *Epilepsia*, 2009;50(3):044.
- [56] Lahat, E, et al. "Interleukin-1b levels in serum and cerebrospinal fluid of children with febrile seizures", *Pediatr Neurol*, 1997;17:34–6.
- [57] Virta, M, et al. "Increased plasma levels of pro- and antiinflammatory cytokines in patients with febrile seizures", *Epilepsia*, 2002;43:920–3.

- [58] Ravizza, T, et al. “Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy”, *Neurobiol Dis*, 2008;29:142–60.
- [59] Giometto, B, et al. “Immune infiltrates and cytokines in gliomas”, *Acta Neurochir (Wien)*, 1996;138:50–6.
- [60] Brietzke, E, et al. “Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder”, *J Affect Disord*, 2009;116:214–217.
- [61] Baune BT, et al. “Association between cytokines and cerebral MRI changes in the aging brain”, *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 2009;22:23–34.
- [62] Tuncel, G, “Yenidoğanda Fototerapinin IL-6 ve IL-8 Düzeyine Etkisi”, *Uzmanlık Tezi, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul*, 2004.
- [63] Hirano, T, et al. “A multifunctional cytokine (IL-6/BSF-2) and its receptor”, *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1989;88:29–33.
- [64] Kishimoto, T, et al. “Interleukin-6 family of cytokines and gp130”, *Blood*, 1995;86:1243–54.
- [65] Hibi, M, et al. “Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130”, *Cell*, 1990;63:1149–57.
- [66] Saito, M, et al. “Molecular cloning of a murine IL-6 receptor-associated signal transducer, gp130, and its regulated expression in vivo.” *J Immunol*, 1992;148:4066–71.
- [67] Yasukawa, K, et al. “Association of recombinant soluble IL-6-signal transducer, gp130, with a complex of IL 6 and soluble IL-6 receptor, and establishment of an ELISA for soluble gp130”, *Immunol Lett*, 1992;31:123–30.
- [68] Müller-Newen, G, et al. “Soluble IL-6 receptor potentiates the antagonistic activity of soluble gp130 on IL-6 responses”, *J Immunol*, 1998;161:6347–55.

- [69] Peltola, J, et al. “Indicators of inflammation after recent tonic–clonic epileptic seizures correlate with plasma interleukin-6 levels”, *Seizure*, 2002;11:44–6.
- [70] Peltola, J, et al. “Elevated levels of interleukin-6 may occur in cerebrospinal fluid from patients with recent epileptic seizures”, *Epilepsy Res*, 1998;31:129–33.
- [71] Billiau, AD, et al. “Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure frequency, EEG activity, and cerebrospinal fluid cytokine profile”, *Epilepsia*, 2007;48:1739–49.
- [72] Rosenbaum, KJ, et al. “Sympathetic nervous system response to lidocaine induced seizures in cats”, *Acta Anaesthesiol Scand*, 1978;22:548–55.
- [73] Bauer, S, et al. “NK and CD4+ T cell changes in blood after seizures in temporal lobe epilepsy” *Exp Neurol*, 2008;211:370–7.
- [74] Meisel, C, et al. “Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome”, *Nat Rev Neurosci*, 2005;6:775–86.
- [75] Pacifici, R, et al. “Cytokine production in blood mononuclear cells from epileptic patients”, *Epilepsia*, 1995;36:384–7.
- [76] Birben, E, “Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)”, *Astım Allerji İmmünoloji*, 2006;4(2):92-94.
- [77] Mullis, KB, “The unusual origin of th polymerase chain reaction”, *Scientific American*, 1990;4:56-61.
- [78] Somma, M, Querci, M, “Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri”, Bölüm 6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu, WHO Regional Office For Europe
- [79] Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç. B., “Moleküler Biyoloji”, 1.Baskı,2007,ISBN 978-9944-77-184-9: 544-550.
- [80] Watson, JD., Gilman, M., Witowski, J., Zoller, M., “Polymerase Chain Reaction In:Recombinant DNA”, Second Edition, New York, 1992.

- [81] Innis, MA, Gelfand, DH., Optimization of PCRs In Innis, M.A, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.and White T.J “PCR protocols A guide to methods and applications”, Academic Press.3-12 pp.
- [82] Erlich, HA et al. “Recent advances in polymerase chain reaction”, Science, 1990; 252:1643-1650.
- [83] Temizkan, G, Arda, N., “Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler.” Nobel Tıp Kitabevleri. 2. Baskı, İstanbul, 2004.
- [84] Hadidi, AY. et al “Enzymatic cDNA amplification of hop stunt viroid variats from naturally infected fruit crops”, Acta Horticulturae , 1992; 309:339-342.
- [85] Dieffenbach, CW. et al. “General concepts for PCR primer design” PCR Methods and Applications, 1993;530-537.
- [86] <http://www.akuademi.net/USG/USG2007/B/b01.pdf> (Erişim tarihi:Mayıs 2013)
- [87] <http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/rflp.html> (Erişim tarihi: Mayıs 2013)
- [88] Jankowsky JL, Patterson PH. “The role of cytokines and growth factors in seizures and their sequelae”, Prog Neurobiol 2001; 63:125-49.
- [89] Haspolat, S, ve ark. “Interleukin-1 alpha, interleukin-1beta, and interleukin-1Ra polymorphisms in febrile seizures”, J Child Neurol 2005; 20:565–8.
- [90] Tiwari, P., et al. “Do gene polymorphism in IL-1 β , TNF- α and IL-6 influence therapeutic response in patients with drug refractory epilepsy?” Epilepsy Res, 2012
- [91] Nur BG. ve ark. “Interleukin-6 gene polymorphism in febrile seizures”, Pediatric Neurology, 2012;46, 36e38.
- [92] Bozkaya İO, “Ankara İlindeki Üç İlköğretim Okulu Öğrencilerinin Epilepsiye Yaklaşımı ve Hastalık Hakkında Bilgi Düzeyleri”, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Vasfiye ESEN
Dogum Yeri : Kırcaali
Dogum Tarihi : 04.06.1988
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Egitim Durumu
Lise : Başakşehir Lisesi, İstanbul 2002-2005
Lisans : Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji (İngilizce) Bölümü, 2005-2010
Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler
Biyoloji Bölümü, 2011-