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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR

İSKEMİK İNMELİ HASTALARDA CYP2C19 (rs4244285) POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Thabet SALEH

Referans no: 10167892

EDİRNE – 2019

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR

İSKEMİK İNMELİ HASTALARDA CYP2C19 (rs4244285) POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Thabet SALEH

Destekleyen kurum: TÜBAP 2019/21

Tez no:

EDİRNE – 2019

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof.Dr.Tevfik GÜLYAŞAR danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Thabet SALEH tarafından tez başlığı "İskemik İnmeli Hastalarda CYP2C19(rs4244285) Polimorfizminin Araştırılması" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 17/04/2019 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Yüksek Lisans Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR
JÜRİ BAŞKANI

İmza
Prof. Dr.Tammam SİPAHİ
ÜYE

İmza
Dr. Öğr. Üyesi. Nevra ALKANLI
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin belirlenmesinden bitimine kadar rehberliğini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR'a, Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Tammam SİPAHİ'ye, Doktora Öğrencisi İsmail KARA'ya, Dr. Öğr. Üyeleri Metin BUDAK ve Ayhan ÜNLÜ'ye, Araş. Görevlileri Dr. Arzu AY, Mustafa YILDIZ'a, Bilge Eren KORKMAZ'a ve Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necdet SÜT'e, maddi ve manevi desteklerinden dolayı sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **BEYİN KAN DOLAŞIMININ FİZYOLOJİSİ** 3
- **SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR** 4
- **İNME İNSİDANSI** 5
- **İNME PREVALANSI** 6
- **İNMENİN SINIFLANDIRILMASI** 7
- **İSKEMİK İNME** 7
- **İSKEMİK İNME FİZYOPATALOJİSİ** 10
- **İNME RİSK FAKTÖRLERİ** 13

GEREÇ VE YÖNTEM 20

BULGULAR 28

TARTIŞMA 33

SONUÇLAR 36

ÖZET 38

SUMMARY 39

KAYNAKLAR 40

ŞEKİLLER LİSTESİ 48

ÖZGEÇMİŞ 49

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ATP : Adenozin Trifosfat

Bç : Baz çifti

GİA : Geçici İskemik Atak

HDL : High Density Lipoprotein

LDL : Low Density Lipoprotein

MDI : Metalloproteinaz Doku İnhibitörü

OD : Optik Densite

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFUP : Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

SVH : Serebrovasküler Hastalıklar

UV : Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Serebrovasküler hastalıklar (SVH), mortalite nedeni olarak kanser ve kalp hastalıklarının ardından üçüncü sırayı alır. Kalıcı özürlülük ve sakatlık yapma açısından ise ilk sırada yer almaktadır (1). Serebrovasküler hastalıklar gelişmiş toplumlarda sağlık harcamalarında ve hastane başvurularında yüksek finansal harcamalara yol açmaktadır.

Beyin damarlarının farklı sebeplerden dolayı tıkanması ya da daralması sonucunda oluşan klinik olgulara iskemik serebrovasküler hastalıklar denilmektedir. İnme subtipleri içerisinde en sık (%70-80) görüleni iskemik inmedir. Serebral iskemi ise beyindeki kan akışının azalması ya da durması sonucunda beyin hücresi olan nöronun ihtiyacı olan oksijen ve glikozun sağlanamaması durumudur. Beyindeki kan akışının 6-8 dakikalık durması durumunu beyinde geri dönüşümsüz değişimlere neden olur (2,3).

Serebrovasküler hastalıklara yol açan nedenlerin başlangıç safhasında önlenmesi, kalıcı sakatlığın ve ölüm oranının düşürülmesinde cerrahi ve tıbbi tedavilerden daha önemlidir. Risk faktörlerinin bilinmesi ve bunların engellenmesi serebrovasküler hastalıkların ortaya çıkmadan önlenmesini sağlamaktadır. Her ne kadar son yıllarda gelişmiş olan ülkelerde serebrovasküler hastalıkların görülme sıklığı azalmış olsa da gelişmekte olan ülkelerde serebrovasküler hastalıkların görülme sıklığının ve bu hastalıklardan kaynaklı mortalitenin arttığı bilinmektedir (4).

Dünyanın farklı yerlerindeki inme insidansının farklılığı, bu bölgelerdeki yaşam şekli, diyet, sosyoekonomik ve çevresel faktörlerin farklılığından kaynaklanmaktadır (1,5). İskemik inme insidansı, yaş ile orantılı olarak artan, çevresel ve genetik faktörlerin de rol aldığı birleşik ve çok yönlü bir bozukluktur (6).

İnme hastalarının %20'si hastalığın ortaya çıkmasından ilk bir ay içerisinde, %30'u ise hastalığın oluşmasından bir yıl süre geçmeden ölmektedir. İnme hastalığına yakalanmış kişilerin üçte birlik kısmı da günlük yaşamlarında işlerini yapamadıklarından başkalarının yardımına ihtiyaç duymaktadırlar (7,8).

Sosyal Güvenlik Kurumu (SGK) verilerine göre yapılmış olan çalışmada Türkiye'de 2008-2013 yılları arasında 400,000 kişinin serebrovasküler olaylar sebebiyle hayatını kaybettiği ve bundan ortalama 1.5 milyon kişinin etkilendiği belirtilmiştir. Aynı çalışmaya göre inme görülme sıklığının yaklaşık %2,2 olduğu gösterilmiştir (9).

Organizmalar ksenobiyotik maddelerin zararlarından korunmak için farklı korunma sistemleri geliştirmiştir. Bu sistemlerden bazıları özelleşmiş olan enzimlerden oluşur. Koruyucu sistemlerden birisi olan Sitokrom p450 enzim ailesi, özelleşmiş enzimler tarafından oluşmaktadır (10).

Sitokrom p450 enzimleri bitkiler, hayvanlar, bazı bakteriler ve mayalarla, insanda bulunan kapsamlı enzimler sistemini oluşturur. Bu enzimler intraselüler matriks içerisinde çoğunlukla mitokondriyon ve granülsüz endoplazma retikulumu organelinde bulunur (11).

Sitokrom p450 enzimleri ilk olarak 1958 yılında Martin Klingenberg tarfından tanımlanmıştır. Martin Klingenberg pigmentlerin spektrofotometrik özellikleriyle ilgili yaptığı araştırmada, rat karaciğerinden hazırladığı mikrozomlara yavaşlatıcı ajan ekledikten sonra karbondioksit ile muamele etmiş ve bu sırada 450 nanometre bir emilim değeri saptamıştır (12). İnsanlarda görülen sitokrom P450, 57 adet gen bulunduran bir süper ailedir. Bu genler çeşitli biyosentetik ve metabolik reaksiyonlarda görev alırlar. Sitokrom p450 genlerindeki oluşan mutasyonlar doğuştan gelen veya daha sonra klinik olarak tanımlanan hastalıklara (behçet, inme gibi) neden olmaktadır (13).

Son yıllarda sitokrom p450 (CYP2C19) polimorfizminin serebrovasküler hastalıkların gelişmesindeki etkisini araştırmaya yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Yapılan bu çalışmaların sonucunda, CYP2C19'un işlev kaybı sonucunda (CYP2C19 n2 ve CYP2C19 n3 olarak bilinen) allel düzeylerindeki azalmasının sonucu olarak iskemik inme olabileceği belirtilmiştir (14).

Biz de bu çalışmada iskemik inme hastalığında önemli role sahip olduğu düşünülen sitokrom p450 (CYP2C19) (rs4244285) gen polimorfizmlerinin olası etkilisi iskemik inme hastalığının gelişmesindeki rolünü incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

BEYİN KAN DOLAŞIMININ FİZYOLOJİSİ

Beynin çalışma şekli, metabolizmasının ve dolaşımının fizyolojik mekanizmalarının bilinmesi, beyin damarlarının tıkanması sonucunda oluşan patolojik süreçleri anlayabilmek için gereklidir (15). Beynin metabolik ihtiyaçları diğer organlara kıyasla daha yüksektir. Beyin bu metabolik gereksinimlerini yalnız glikozdan karşılar. Erişkin insan beyninin ortalama ağırlığı 1.500 gr'dır. Bu ağırlığı ile beyin yaklaşık olarak insan vücut ağırlığının %2 'sini oluşturmaktadır. Beyin günde 150 gr glikoza ve 71 lt oksijene ihtiyaç duyar. Beynin ihtiyaç duyduğu toplam oksijen miktarı, vücudun oksijen tüketiminin yaklaşık %20'sine karşılık gelmektedir. Beyinde glikoz ve oksijen depolanamadığından bu maddelerin kritik düzeyin altına inmesi yoksunluğu takip eden birkaç dakika içerisinde fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır (16,17). Beynin ihtiyaç duyduğu standart glikoz ve oksijen, kalpteki kan debisinin %15'ini oluşturan ve akış hızı 800 ml/dk olan kan akışınca karşılanmaktadır. Bu değere denk gelen ortalama beyinsel kan akışı ihtiyacı 100 gram beyinde 40-60 dk/ml'dir. Dinlenme durumunda beynin kan akışı beyinsel dokuların metabolik ihtiyaçlarını karşılayacak miktardadır (15).

Beyindeki kan akışı farklı kimyasal ve sinirsel olgulardan etkilenir. Beyin kan akışını dengeleyen mekanizmalar da vardır. Standart kan basıncı aralığında, beyindeki statik perfüzyon basıncı sayesinde kan akışını sağlamak için, major serebral arterler, yükselen tansiyona ve düşük tansiyon ile ortaya çıkan genişlemeye yanıt olarak kasılmalarına olanak tanıyan, gelişmiş kasılabilir bir kılıfa sahiptir. Normal insanlarda beyinsel otoregülasyon, 60-140 mmHg aralığındaki standart damar basıncında sabit beyinsel kan akışına imkân

sağlamaktadır. Standart arteriyel tansiyonun 60 mmHg değerinin altında olması durumunda prekapiller arterlerin genişlemesi maksimum düzeye gelir. Arterlerin daha fazla genişleyememesi beyinsel kan akışınında düşmesine sebep olur. Standart arteriyel tansiyon 160 mmHg değerinin üstüne çıkması durumunda beyinsel damarlarda daralma maksimum seviyeye gelir. Beyin damar çapları daha fazla daralamadığından hiperemi ve vazojenik ödem ortaya çıkar. Bu duruma takiben intrakranial basınç yükselir ve bunun sonucunda da hipertansif ensefalopati belirtileri görülür. Beyinsel damar hastalıkları olan kişilerde bu mekanizmanın bozulduğu görülmektedir (15,17).

SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR

Serebrovasküler Hastalıklar (SVH), beynin bir kısmının kanama ya da tıkanmasıyla oluşan, beynin geçici ya da kalıcı şekilde hasar görmesi sonucunda beyin ile alakalı bir veya birden fazla damarın birincil patolojik hasarı şeklinde tanımalanabilir. Beyindeki kan damarlarının aniden tıkanması ya da kan akımının azalmasıyla o damarın beslediği beynin bölümünde oluşan, bölgeye özgü beyinsel iskemi, hücre ölümleri ile sonuçlanan bir takım olayların başlamasına sebep olur (18). İnme, aniden ortaya çıkan ve 24 saatlik sürenin üzerine çıkması durumunda ölüm ile sonuçlanabilen, damarsal sebeplerden farklı bir sebebi olmayan bölgeye özgü ya da genel bir sinirsel yoksunluktur (19). Dünya'da yılda yaklaşık 16 milyon kişi inme geçirmekte ve inmeden etkilenen kişi sayısının 60 milyondan fazla olduğu bilinmektedir (20). 60 yaşının üzerinde olan kişilerin ölüm nedenlerinde kardiyovasküler hastalıkların ardından serebrovasküler hastalıklar ikinci sırayı alır. Serebrovasküler hastalıklar kalıcı sakatlığın ve işgücü kaybının birinci sebebidir (18). Ülkemizde ölüme sebep olan hastalıklar sıralandığında ilk sırayı %21,7 ile kalp damar hastalıkları, ikinci sırayı da %15 ile beyinsel damar hastalıkları oluşturmaktadır (21). Amerika Birleşik Devletleri'nde inme şikâyeti ile hastaneye başvuranların sayısının yılda %38,6 oranında arttığı bildirilmiştir. İnme vakalarının yaklaşık olarak %70'i ilk inme olduğu için birincil koruma önemli yer alır. Risk faktörlerinin azaltılması ve koruma yöntemlerinin çoğaltılmasıyla son 20 yılda Amerika Birleşik Devletleri'nin Oxfordshire bölgesinde yaşayan kişilerin yaşa bağlı olarak inme olasılığında %40 azaldığı bildirilmiştir (18). İnmeye bağlı olarak ortaya çıkan mortalite ve kalıcı sakatlık durumları Disability Adjusted Life Years (DALY) ölçeği aracılığı ile değerlendirilir. DALY ölçeği yardımıyla yapılan varsayımlara göre 1990 yılında inme sebebiyle ölen insan sayısı 38 milyon olup, 2020 yılında bu sayının yaklaşık 61 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Benzer şekilde kalp damar hastalıkları sebebiyle ölen insan

sayısının 1990 yılında 47 milyon olup, bu sayının 2020 yılında 82 milyona erişeceği tahmin edilmektedir (22). İnmeler iki ana grupta incelenir:

- Tromboz, emboli ya da beyin damarlarındaki kan akımının yavaşlaması sebebiyle ortaya çıkan iskemik inme,
- Beyin damarlarındaki kanamalar ya da subaraknoid kanamalar sebebiyle oırtaya çıkan hemorajik inme.

İnme türlerinin %80'ini iskemik, %20'sini de hemorajik inme oluşturur (23).

İNME İNSİDANSI

Türkiyede 55 yaş ve üzeri yaşlarda total inme insidansının bir yılda 4.2 - 6.5/1000 olduğu görülmüştür. Bu inme tiplerinin yaklaşık 3.4 - 5.2/1000'lik kısmı iskemik inmeden, 0.3 - 1.2/1000'lik kısmını beyinsel damar kanamalarından, 0.03 - 0.2/1000'lik kısmını da subaraknoid kanamalardan oluşur (24). Erkeklerde inme hastalığı geçirme yaşı ortalama 69,8 iken bu sayı kadınlarda 74,8'dir. Genç ve orta yaşlarda ise bu verilerin aksine inme hastalığı geçirme riski erkeklerden daha yüksektir (25,26). Benzer şekilde 55 - 75 yaş arasındaki kadınların hayatları boyunca inme hastalığına yakalanma riski (%20-21), aynı yaş aralığındaki erkeklerin hayatları boyunca inme hastalığına yakalanma riskine (%14-17) kıyasla daha fazladır (27,28). Kişilerin yaş aralıkları baz alınarak yapılan çalışmalarda senelik inme hasta sayısı; 45 yaşının altındakilerde 0.1 - 0.3/1000 kişi/yıl, 75 - 84 yaş aralığındaki kişilerde 12 - 20/1000 kişi/yıl şeklinde farklılık göstermektedir (18). Kişilerdeki ırk farklılıklarına bakıldığında siyahi kişilerdeki inme insidansının beyaz kişilere oranla daha fazla olduğu görülmüştür (28,29). Brain Attack Surveillance In Corpus Christi Project (BASIC) projesine göre 2000 - 2010 yılları arasında 60 yaş üzeri kişilerde iskemik inme olasılığında azalma gözlemlenmiş fakat 45–59 yaş aralıklarında herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Gözlemlenen azalmanın beyaz ırklarda ve yaşlılarda olduğu belirtilmiştir (28,30). Cinsiyetin, etnik farklılıkların ve yaşın standart alındığı birçok çalışmada beyin damarlarındaki kanama insidansının insidansının 2000 - 2010 yıllarında azaldığı belirtilmiştir (31). The Reasons for Geographic And Differences in Stroke çalışmasında siyahlarda yaş ile intraserebral hemoraji riskinin değişmediği, beyazlarda ise yaş arttıkça intraserebral hemoraji riskinin de arttığı bulunmuştur (32).

İNME PREVALANSI

Kişilerin yaşlarının standart alındığı çalışmalarda özellikle 65 yaş ve üzeri yaklaşık 1000 kişilik çalışma grubunda yapılan çalışmalarda inme yaygınlığı (prevalans) 46.1 – 73.3 olarak hesaplanmıştır. Cinsiyetlerin kıyaslanması neticesinde kadınların inme prevalansı 32.2 – 61.2/1000 kişi iken erkeklerde bu oran 58.8 – 92.6/1000 kişi olarak bulunmuştur (24). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada 2009 – 2012 yılları arasında 20 yaş üstünde yaklaşık olarak 6.6 milyon kişide inme öyküsü olduğu belirtilmiştir. Bu sürelerdeki inme prevalansı ise %2.6 hesaplanmıştır. The Behavioral Risk Factor Surveillance System *(*BRFSS*)*'in 2013 yılı verileri 18 yaş üzerinde inme öyküsü bulunanların % 2.7 olduğu belirtilmiştir (33). İnme prevalansı yaşanılan yerlere göre çeşitlilik gösterir. Özellikle uzak doğu ülkelerindeki inme prevalansı batı ülkelerindeki inme prevalansına göre daha yüksektir. Bu oran farklılığı doğu ülkelerinde kan yağ düzeyinin düşük olması ve hipertansyonun fazla olmasına bağlanmaktadır. Özellikle Japonya'da yaşayan kişilerde intrakraniyal ateroskleroz ve intraserebral hemorajiye yatkınlık daha fazladır (24). Orta yaş üzeri zenci kişilerde inme prevalansının fazla olduğu görülmüştür. Yaş ile orantılı olarak artan bir başka iskemi türüyse sessiz iskemidir. Yaşlı kişilerde sessiz iskemi prevalansı %6 – 28 olduğu görülmüştür (29). Ülkemizdeki prevalans oranlarına bakıldığında 2002 – 2004 yılları aralığında Sağlık Bakanlığı ve Hıfzısıhha Enstitüsü'nün yaptığı Türkiye Hastalık Yükü çalışmasında serebrovasküler hastalıkların %15 oranı ile ölüme sebep olan hastalıklar kıyaslamasında % 21.7 olan kardiyovasküler hastalıkların ardından ikinci sırayı alır. Beyinsel damar hastalıklarından dolayı erkeklerde ölüm oranı % 15.5 iken bu oran kadınlarda %15.7'dir. 60 yaş ve üzeri kişilerde ise bu oranlar değişerek kadın ve erkekler için yaklaşık %20 değerlerine ulaşmaktadır (34). Dünya'da yaşayanlara kıyasla ülkemizde yaşayanlarda hemorajik inme görülme sıklığının daha fazla olduğu görülmüştür. Türkiye'de yapılmış olan çok merkezli inme çalışmasına göre iskeminin görülme sıklığı %71 ve kanama görülme sıklığının da %29 olduğu belirtilmiştir (35). Kumral ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Türkiye'de görülen inme türlerinin %77'sinin iskemi, %23'ünün de kanama kaynaklı olduğu ve bu kanama türlerinin de %17'sinin primer intraserebral, %4'ünün de subaraknoid kanama olduğu belirtilmiştir (36). Kişilerin beyinsel damar hastalığı risk faktör yaygınlıklarına bakıldığında beslenme ve yaşam tarzı farklılıklarından dolayı tüm yaşamları boyunca ağır bir yük oluşturacağı bununda ilerleyen dönemlerde çok önemli boyutlara ulaşabileceği düşünülmektedir (37). Günümüz ve gelecek nüfusu göz önüne alındığında 2030 yılında 18 yaşın üzerindeki kişilerin yaklaşık 3.4 milyonunda inme hastalıklarının görülebileceği ve

inme yaygınlığının daha da artacağı öngörülmektedir (38). Beyinsel damar hastalıkları ve bu hastalıkların risk faktörlerinin ülkemizde yükselmekte olduğu göz önüne alındığında bu hastalıklara karşı etkili ve güvenli önlemlerin alınması hem vatandaşlar hemde ülke ekonomisi için çok önemlidir.

İNMENİN SINIFLANDIRILMASI

İnmeler biyokimyasal, kardiyolojik, nöroradyolojik ve hematolojik bulgular göz önüne alındığında şu şekilde sınıflandırılabilirler.

A- Arteriyel İnme

1. İskemik İnme

a. Geçici iskemik ataklar

- Tekrarlayıcı iskemik ataklar (1-24 saat arası)
- Uzun tekrarlayıcı iskemik ataklar (1 gün – 3 hafta arası)

b. İnfarkt

2. Hemorajik inme

B- Venöz İnme

1. Yüzeyel kortikal ven trombozu

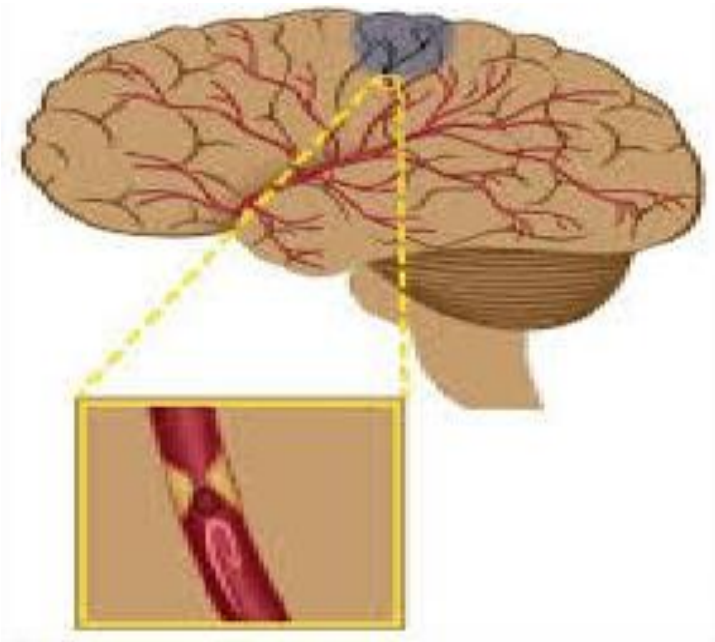
2. Sinüs ven trombozu

3. Derin ven trombozu şeklinde sınıflandırılabilir (39).

İSKEMİK İNME

Beyin dokusunda iskemi durumuna beynin tolere etme yeteneği çok azdır. Beyni besleyen arterlerde kanın akışı durduğunda, iskemi durumuna karşı hassas olan bölgeler yaklaşık 6-8 dakikalık sürede kalıcı sakatlıklar meydana gelmeye başlamaktadır. Beyin dokularında standart kortikolar kan akışı 60 ml/dk ‘dır. Bu durumun 30 ml/dk değerinin altına inmesi serebral otoregülasyon mekanızmasını çalıştırır ve bunun sonucunda da herhangi sinirsel bir semptom oluşmaz. Ancak bu değerin 20 – 30 ml/dk seviyelerine inmesi durumunda geçici iskemik ataklar görülmeye başlar. 20 ml/dk altına inmesi durumunda ise iskemik inme ile sonuçlanır. Beyinde herhangi bir arterin tıkanması durumunda (Şekil 1), beyinde kısıtlı bir yerde kan akışı kritik düzeyin altına iner ve bu da beyinde nekroza sebebiyet verir. Oluşan bu kısıma iskemik çekirdek adı verilir. İskemik çekirdekten perifere

doğru ilerledikçe fazlalaşan ve kollateral arter sistem tarafından desteklenen çeşitli kan akış kuşakları bulunmaktadır. Bahsekonu bölgelerde henüz iskemi ya da infarkt durumu ortaya çıkmamıştır. Beyinde kan akışının azaldığı fakat henüz herhangi bir hasarın oluşmadığı bölgelere penumbra adı verilmektedir. Penumbra günümüz tedavi yaklaşımının temel taşını oluşturmaktadır. Beyindeki kan akışının normal seviyesinden %20 kadar azaldığı durumda beyin dokularındaki ATP hızlıca tükenmeye başlar. Beyinde anoksik depolarizasyon dalgaları oluşmakta ve beyin hücrelerinin içerisindeki kalsiyum seviyeleri artmaktadır. Artan kalsiyum seviyesi fosfolipaz, endonükleaz, proteaz ve kinaz gibi çoğu hızlandırıcı enzim aktivesine sebep olur. Bu durum aynı zamanda fonksiyon bozukluklarına ve mitokondriyomlarda şişmelere sebep olarak hücrelerin enerji kaynaklarını yıkıma uğratır. Bu durumda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri peroksi nitrit ve nitrik oksitler farklı yolaklarla hücre ölümüne sebebiyet verirler (40).



Şekil 1. İskemik inme (40)

Beyinsel enfarktüs durumlarında etiyoloji açısından sınıflandırma iskeminin iyileştirilmesi ve prognozun yanında sekonder korumada çok önemli yer almaktadır. 1991 yılında Bamford ve arkadaşlarının yaptığı klinik bulguların baz alındığı şu sınıflandırmayı yapmışlardır (41):

1- Total anterior circulation infarcts (TACI)

2- Parial anterior circlation infarcts (PACI)

3- Posterior circulation infarcts (POCI)

4- Lacunar infarcts (LACI)

Trial Of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)' in 1993'te yapmış olduğu çalışmada kullanılan sınıflandırma çeşidi ise klinik olan semptomların yanında etiyolojik açıdan da değerlendirmiştir (42). TOAST'a göre yapılan sınıflandırma aşağıdaki gibidir:

1- Geniş arter aterosklerozu

2- Kardiyoembolik inme

3- Küçük arter oklüzyonu

4- Belirlenmiş olan farklı nedenlerden kaynaklanan iskemik inme

5- Sebebi belirlenmemiş iskemik inme

Geniş Arter Aterosklerozu

İskemik inme vakalarının yarısı geniş arter ateskleroz ile bağlantılıdır. Geniş arter aterosklerozları genellikle ekstra kranial ve nadirende intrakranial arterlerde ve bu arterlerin bifurkasyon kısımlarında ortaya çıkan aterom plaklarının rüptürü aynı zamanda bunu takiben trombozla birlikte oluşmaktadır. Oluşan mekanizmada proksimal damarın büyük kısmında (%70 – 80) daralmalar söz konusu olmaktadır. Geniş arter ateroskleroz tipi inmelerin hikayesinde genellikle ilk 15 dakika ile 60 dakikalık sürelerde olan geçici iskemik ataklar ve intermittant kladikasyo bulunur. Sinirsel yetersizlik, proksimal ağırlıklı ya da ekstremitelerde distal kuvvet kayıpları distal embolizm olaylarında yerleşik korkikal semptomlar meydana gelir. Oluşan inme olayının geniş arter aterosklerozu ile ilişkili olup olmadığını anlamak için kranial BT ve MR 'da bir damar bölgesine uygun olan infark çapının 1,5 cm 'den fazla olması, dopler ultrasonografi ve anjiyografide bulgulardan mesul arterde yarıdan fazla oklüzyon ya da stenoz bulunması gereklidir.

Kardiyoembolik İnme

İskemik inmelerin tamamının yaklaşık %20'ni kalpten kaynaklanan yani kardiyoembolik inmedir. Bu tip inmeler bir anda gelişir ve nadiren bilincin kapanmasına ya da bilinç bozukluğuna sebebiyet verir. Başlangıç döneminde sık sık sara nöbetleri inmeyle birlikte görülür. Nadiren birkaç saat sonra sinirsel yoksunlukta düzelme olduğu gözlemlenebilir. Kranial MR ya da kranial BT de tıpkı geniş arter aterosklerozundaki gibi bir

damar bölgesinde geniş kortikal infarktlar görülmesiyle beraber farklı vasküler bölgelerde de birçok lezyonun olduğu teşhis koymada yardımcı olur.

Küçük Arter Oklüzyonu

İskemik inme türlerinin tamamının %25'ini küçük arter oklüzyonu oluşturur. Bu tip hastalıklar sıklıkla diyabet ya da hipertansiyonu olan ileri yaşlı kişilerde görülür. Küçük arter oklüzyonu teşhisi için, bu grupakilere özel klinik bulguların olması (ataksik hemiparazi, sensori motor inme, pür motor ve pür sensoryal) ile beraber kranial MR ya da BT'de gözlemlenenen infarkt çapının yaklaşık 1,5 cm ve altı olması gerekir. Küçük arter oklüzyonunda emboliye sebep olabilecek bir kardiyak hastalık ya da ipsilateral damarda yarıdan fazla stenoza sebep olabilecek büyük arter hastalıkların bulunmaması gerekir.

Belirlenmiş Olan Farklı Nedenlerden Kaynaklanan İskemik İnme

İskemik inme türlerinin tamamının %5 veya daha az kısmında görülmektedirler. Anjiyografi, leptomeningeal biyopsi, detaylı mikrobiyolojik, biyokimyasal ve hematolojik tetkiklerle teşhis konmaktadır. Merkezi sinir sisteminin birincil ve ikincil vaskülitlerinde, beyinsel otozomal baskın arteriyopati subkortikal infarktlar ve lökoensefalopatide, serebral amilioid anjiyopatide, konjenital arter hastalıklarda, mitokondriyal hastalıklarda, travma, diseksiyon ve kan hastalıklarında bulunmaktadır.

Sebebi Belirlenmemiş İskemik İnme

Yapılmış tüm kontrollere ve testlere rağmen nedeni belirlenememiş ve yeterince tetkik edilememiş olaylar bulunmaktadır. Bunun yanında bir çok etiyolojik sebebi olan olaylar da bu gruba dahil edilir (39).

İSKEMİK İNMENİN FİZYOPATOLOJİSİ

Metabolik ihtiyacı çok olan beyin, enerjisini diğer organlara göre sadece glukozdan temin eder. 100 gram beyin dokusunun dakikada kullandığı glukoz miktarı 4.5-7 mg kadardır. Glukoz aerobik, anaerobik yollar metabolizmaya katılır. Anaerobik yolla sağlanan enerji nörolojik bütünlüğü korumada yetersiz olmaktadır. Kalsiyum ile sodyumun ekstraselüler matrikste ve potasyumunda intraselüler matrikste tutulması için gerekli olan adenozintrifosfat (ATP) ihtiyacını karşılamada yetersiz kalmaktadır. Dinlenme durumunda bulunan beynin normal beyinsel kan akışı yaklaşık 100 gramda 50/55 ml/dk' dır. Beynin kan akışı eğer

serebral perfüzyon basıncı da normal ise dokunun metabolik ihtiyacını karşılayabilir. Yine dinlenme durumunda beyine bilerek yapılan hareketten kaynaklı motor korteks uyarılacağından bu bölgede metabolik ihtiyaç daha da artar. Beyin ise ortaya çıkan bu ihtiyaca karşılık, o bölgeye özel, kan akımını arttırarak cevap vermektedir. Sistematik kan basıncı değerleri 60 - 160 mmHg arasında beyinde kan akımı sabit olmaktadır. Fakat ortalama arteriyel basıncın düşmesiyle veya kafa içi basıncın yükselmesiyle beyinsel dokuların beslenme basıncı azalır. Bu durumda prekapiller damarların çeperinin genişlemesi serebrovasküler direnimi düşürür ve beyinin kan akışını sabit tutmaktadır. Serebral perfüzyon basıncının yükselmesiyle arter çapında daralma, direnimde artış ve beyin kan akışında sabitlenme olur. Beyindeki kan akımının statik tutulduğu bu mekanizmaya otoregülasyon adı verilmektedir. Hipertansif ensefalopati benzeri durumlarda damar çapında yeterince daralma olmadığından otoregülasyon bozulur. Otoregülasyonun bozulması hiperemiyi ve vazojenik ödemi meydana getirir. Beyindeki kan akış değerlerinin kritik eşik noktasında (15 - 18 ml/100gr beyin dokusu/dk.) birkaç saat bulunması sonucu inme oluşmaktadır. Eğer beyindeki kanın akımı 10 - 20 ml/dk/100 gr olursa beyinde iskemik penumbra denilen bir bölge oluşur. Bu bölge beyinsel damar tıkanmasında infarktın oluştuğu şiddetli iskemik merkezi çevreleyen kolleteral dolaşımın ortaya çıkardığı rezidüel beyinsel kan akımı nedeniyle akut hücre nekrozunun görülmediği bir yerdir. Tekrar beyindeki kan akışı sağlanabilirse potansiyel olarak kurtarılabileceği öne sürülmektedir. Eğer beyindeki kanın akımı kesilirse ortalama 3 dakika içerisinde hücre ölümleri gerçekleşmeye başlar. Bu şekilde hücre ölümlerinin ani oluşmasından dolayı inme durumlarında girişimlerin imkânsız olduğu düşünülmektedir. Ancak pratikte iskemik inmelerin büyük çoğunluğu küçük bir alanı saran tamamlanmamış iskemik alan penumbra biçiminde olur. Penumbradaki sinir hücreleri perfüzyonun azalmasına rağmen canlı kalabilirler. Penumbra hareketlidir. Penumbrada iskemik bölgenin düzelmesi 36 saat sürebilir. İskemi kaynaklı infarktlar hemisferin tamamını, majör vasküler kollateral damarların borderzonlarını ve daha küçük olan uç damarları tutabilir. Borderzonlar iki tiptir. Bunlar anterior ve posterior borderzondur. Anterior borderzon, orta serebral ve anterior arterlerin santral arteriyel dalları tarafından beslenir. Posterior borderzon ise posterior serebral ve orta arterlerin santral arteriyel dalları tarafından beslenir. Vasküler oklüzyonun ardından Willis poligonu aracılığıyla kollateral akım, distaliskemik dokuyu beslemektedir. Yan ana vasküler dallardan çıkan leptomeningeal kollateraller de bölgesel kan akımını oluşturur. İskemi olan bölgede otoregülasyonun yok olmamasının yanı sıra adenozintrifosfat (ATP) pompaları ve iyonların geçişinin disfonksiyonu bulunur. Beyindeki kan akımının durması,

kısa zamanda sinirsel elektriksel aktivitenin durmasına sebep olur. Bu olayın ardından ilk birkaç dakika süre içerisinde kan homeostazının bozulumuna neden olabilir. Bu durumlar zardaki iyon pompasının iflasına, hücredeki potasyumun uzaklaşmasına, kalsiyum, su, klor ve sodyumun da hücre içine girerek hücre zarında depolarizasyon oluşumuna neden olur. Serebral hücreler iskemide ATP'nin kaybolması durumunu yaklaşık bir saat kadar tölere edebilir. İskemik olan bir hücrede ATP, anaerobik biçimde zayıf olan glukoz ve glikojen depolarından uygun seviyede üretilemez. Karbonhidratın depolanma miktarı ile orantılı şekilde laktat ve hidrojen iyonları hücrede birikmeye başlar. Astroglial yaralanmalar, hidrojen iyonlarının demire bağımlı serbest radikallerin oluşumuna neden olduğundan artmaktadır. Bozulmuş olan iyon pompası intrasellüler ve ekstrasellüler iyonların da dengesinin bozulumuna neden olur. İntrasellüler ve ekstrasellüler iyonların dengesinin bu şekilde bozulmasına anoksik depolarizasyon denilmektedir. Anoksik depolarizasyon durumunda potasyum iyonları hücre dışına, klor, sodyum ve kalsiyum iyonları da hücre içine girer. Glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler de toksik seviyede salınım yapar. Kalsiyumun hücre içine giriş yapması iskemik sinir hücrelerinde zedelenmeyi arttırır. ATP'nin bitmesi yüksek seviyede kalsiyumun hücre içine girmesine ve hücre içindeki kısımlarda salınmasına neden olmaktadır. Fosfolipaz, kalsiyum tarafından aktive olarak hücre zarına bağımlı olan gliserofosfolipidlerin serbest yağ asitlerinin hidrolizine ve diğer zar lipidlerinin serbest radikal peroksidasyonunu ortaya çıkarır. Kalsiyumun proteaz enzimlerinin aktifliğine neden olması proteinlerin lizisine ve nitrikoksit sentatazın aktifliğiyle serbest radikallerin çıkmasını sağlar. Ortaya çıkan tüm bu olaylar sonucunda irreversibl hücre hasarı oluşur. İskemi olduğu sıradaki kanın miktarı ve iskemi olayının süresinin uzaması parenkimal dokunun hasar miktarını da etkilemektedir. Fonksiyonu bozulan dokuların normale dönebilmesi için iskemik dokuların belirli bir zaman sonra reperfüze olması gerekir. Kan akışının standart durumuna gelmesine kadar geçen sürede ortaya çıkan hasara "reperfüzyon hasarı" denir. Reperfüzyon hasarı sonucu etkilenen hücrelerin iskemiye olan reaksiyon durumuna göre beyin iskemisinin prognozu farklılaşır. İskeminin derecesi, süresi ve kollateral kan akımının yeterli düzeyde olması iskeminin prognozunu etkileyen nedenlerdendir. Hücre tiplerinin farklı olması iskemilere de farklı yanıtların ortaya çıkmasına sebep olur. Sinir hücreleri iskemiye en fazla reaksiyon gösteren hücre türleridir. Bu hücrelerden sonra iskemiye reaksiyon gösteren hücre türleri; endoteliyal hücreler, oligodendroglialar, astrositler ve mikroglialardır. Beyinsel kan akımının farklı olması, oluşum süresi, oluştuğu bölge ve potansiyel kollateral döngü serebral arteriyel oklüzyonun prognozunda değişimlere neden olur (43).

İNME RİSK FAKTÖRLERİ

İnme hastalıklarından risk faktörleri, fazla sayıda ve gelişgüzel seçilmiş hata oranı düşük epidemiyolojik çalışmalar sayesinde belirlenmektedir. İnmelerdeki olası risk faktörleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

Yaş: 60 yaş üzeri kişilerde tüm inme türleri riskinin iki kata kadar arttığı bilinmektedir (44,45).

Cinsiyet: Kadınlarda erkeklere göre inme görülme olasılığı 1.25 kat daha azdır. Fakat kadınların inme hastalığı geçirmesi durumunda ölüm hızı erkeklere göre daha fazladır. Aynı zamanda kadınlarda ileri yaşlarda görülen menapoz dan dolayı oral kontraseptiflerin risk artırımından dolayı hormonların etkisinin varlığından da söz edilebilir.

Irk: Siyahi kişilerde Japonyalı ve Çinlilerde inme olasılığı diğer ırklara göre daha fazladır (46,47).

Aile öyküsü: Ailesinde daha önce inme geçirmiş bireyler bulunan kilşilerde inme görülme riski yüksektir (48,49). Aynı ailede yaşayan kişilerin benzer yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı ve benzer genetik özellikleri inme riskini etkilemektedir. Tek yumurta ikizlerinde görülen inme riski, çift yumurta ikizlerine göre 5 kat daha fazladır. Geçmişte iskemik inmenin bileşenlerini araştırmaya yönelik yapılmış olan bir çalışmada aile faktörünün büyük damar aterosklerozunu ve küçük damar hastalıkları için risk faktörü olduğu göstermiştir (50).

Kesinleşmiş Risk Faktörleri

Hipertansiyon: Beyinsel infarkt ve itraserebral hemoraji risk faktörleri için en çok önemlidir (51,52). Hipertansiyon intraserebral kanama, küçük damar tıkanıklığı ve büyük damar aterosklerozu nedenleri başında gelmektedir. Subaraknoid kanaması olan hastaların % 50'sinin yüksek tansiyonlu olduğundan, sakküler anevrizmaların rüptürünün daha kolay olmasını sağladığı bilinmektedir. Vasküler demans hastalığında en sık görülen risk faktörüdür. Hipertansiyonlu kişilerin tansiyon sorunu olmayan kişilere göre iskemik inme görülme sıklığı dört kat fazladır. Sistolik ya da diyastolik hipertansiyon inme olasılığını arttırmaktadır. Diyastolik basıncın artmasının olmadığı yalın sistolik hipertansiyon ileri yaşlı

kişilerde en önemli inme risklerinden birisidir. Hipertansiyonu azalmaya yönelik tedavilerin inme riskini düşürdüğü yapılmış olan birçok çalışma neticesinde belirlenmiştir. Gelişigüzel yapılmış olan on dört adet çalışmanın meta analizi, diyastolik kan basıncının 5 – 6 mmHg kadar düşmesi inme hastalığına yakalanma riskini %42 oranında düşürdüğü bildirilmiştir (53). 60 yaş üstü diyastolik kan basıncı standart ancak sistolik kan basıncı hipertansif olan kişilerin sistolik hipertansiyon düzeyinin beş yıllık sürede yaklaşık 2.6 mmHG civarında düşürülmesi, bu kişilerde inme görülme olasılığını %36 oranında azaltmaktadır. Hipertansiyonu düşürmeye yönelik tedaviler yalnız hipertansiyon olanların değil aynı zamanda normotansif olanlarda da inme görülme olasılığını azalttığının görülmesi kan basıncındaki düşüşün ne kadar olması gerektiği konusunu belirsiz hale getirmiştir. Hypertension Optimal Treatment (HOT) çalışmasında standart tansiyon değerleri belirlenmiştir. Sistolik kan basıncının maksimum 140 mmHG ve diyastolik kan basıncının da maksimum 85 mmHG olduğu durumlarda inme görülme olasılığının azaldığı belirtilmiştir (54,55).

Diyabetes mellitus: İskemik inme için bağımsız risk faktörlerinden birisi de diyabetes mellitustur. Yapılmış olan çalışmalar neticesinde diyabetes mellitusun inmede göreli riskin 1.8 – 6 kat arttırdığı bulunmuştur. Diyabetes mellitusun büyük damat aterosklerozunu arttırdığı, düşük ve yüksek yoğunluklu lipoporein kolestrollerinini üzerinde kötü yönde etki ettiği ve yüksek insülin değerinden dolayı aterosklerotik plakları genişlettiği tanımlanmıştır. Aterosklerotik risk faktörleri, hiperlipidemi ve insüline bağımlı diyabet hastalarında daha fazla görülmektedir. Honolulu Heart Program'da iskemik inme riski değeri 2.45 bulunmuştur (56). Aynı zamanda Unidetd Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) ve The Diabetes Control and Complication Trial Research Group (TDCCTRG) çalışmalarında kan şereki düzeylerinin uzun süre izlenmesi sonucunda bu kişilerin mikrovasküler yan etkilerde düşüş gözlemlenirken inme hastalığına yakalanma olasılığında herhangi bir azalma gözlemlenmemiştir. Fakat diyabetes mellituslu hastaların %40 – 60 kadarında yapılan hipertansiyon tedavilerinin inme hastalığına yakalanma riskini %44 kadar azalttığı görülmüştür (57).

Hiperlipidemi: Henüz serum lipid seviyelerinin bozuk olmasının iskemik inme ile ilişkili olup olmadığı tam olarak bilinmese de koroner arter hastalıkları için serum lipid düzey bozukluklarının risk faktörü olduğu ispatlanmıştır. Son zamanlarda yapılmış olan çalışmalar sürekli yüksek kolestrolün iskemik inme riskinde artışa sebep olduğu sonucuna varılmıştır (58,59). Serum kolestrol seviyesi 240 – 279 mg/dl değerinde inme riski 1.8 olarak, 280 mg/dl değerinin üzerindeki serum kolestrol düzeylerinde ise inme riski 2.6 olarak hesaplanmıştır.

Honolulu Heart Program çalışmasında kolesterol seviyelerindeki yükselişin, tromboembolik inme ve koroner arter hastalıkları riskini arttırdığı belirtilmiştir. Ekstrakranial doppler ultrasonografi yardımıyla yapılmış olan çalışmalar neticesinde kolesterol düzeyi ile karotis intima-media kalınlığının benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Kolestrol düşürücü ilaç grubuna dahil olan ilaçların kullanımının koroner damar hastalarında inme riskini %31'e kadar azalttığı yapılmış olan çalışmaların meta analizi sonucunda görülmüştür (60).

Kalp hastalıkları: Tüm iskemik inme türlerinin %20'lik kısmını kardiyoembolik inmeler oluşturur. Genç yaştaki kişilerde kriptojenik inmelerin %40'lık kısmında kardiyoembolizm görülmektedir. Genç yaşta kardiyoembolizme neden olan en önemli kardiyak hastalıklar atriyal fibrilasyonla beraber ya da sadece görünen mitral stenozu, Libman Sacks endokarditi, infektif endokardit, dilate kardiyomiyopatiler, mitral valv prolapsusu, kardiyak tümörler ve mitral regüjitasyonlardır. 40 yaş ve üzeri olan kişilerde ise en çok görünen sebep miyokardit infarktüstür. Yapılan Framingham Heart çalışmasında akut MI hikayesi sonrasında ilk 6 sene içinde erkeklerde yeniden inme görülme olasılığı %8, kadınlarda ise %11 olduğu görülmüştür. İskemik kardiyak hastalıklar sebebiyle Coronary Artery Bypass Grafting (CABG) yöntemi uygulanan kişilerde perioperatif inme olasılığı %1 – 7 olmaktadır. Ancak hastanın önceden inme hikayesi, yaşının ilerlemiş, atriyal fibrilasyon ve diyabet olması inme riskini daha da arttırmaktadır. Yapılan operasyonların süresi ve aortik ateroskleroz durumları da inme olasılığını arttıran nedenlerden sayılabilir. Özellikle 60 yaş üzeri kişilerde kardiyoembolik inme olasılığını yükselten hastalıklar arasında ilk sırayı non-valvüler atriyal fibrilasyon (NVAF) alır. NVAF hastalığı görüldükten sonra bir yıl içerisinde inme olayının gelişmesi olasılığı %3 – 5 oranında artış göstermektedir. Önceden geçirilmiş geçici iskemik atak ya da inme, sol ventrikül fonksiyonlarında azalma, sistolik hipertansiyon, diyabet, yaşın ilerlemesi ve kadınlarda bu riskin daha da arttığı görülmektedir. Antikoagülan tedavilerin (INR:2.5 ve üzeri) inme olasılığını %80 – 90 düşürdüğü görülmüştür (61).

Sigara: Gün içerisinde 20'den fazla sigara içen kişilerin koroner arter kalp hatalığına yakalanma riskinin sigara kullanmayanlara göre 2 – 3 kat daha arttığı gözlemlenmiştir. Sigaranın aynı zamanda C-reaktif protein (CRP) gibi iltihap belirteçlerini, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu yükselttiği de bilinmektedir. Sigara kullanan kişilerde endotel fonksiyon bozuklukları da görülmektedir. Endotel fonksiyon bozukluğunun ortaya çıkmasını sigara kullanımından kaynaklanan kandaki karbonmonoksit seviyesinin yükselmesinin

etkisinin olduğu öne sürülmektedir. Sigara aynı zamanda kandaki trombositlerin aktivitesini ve fibrinojen düzeylerini arttırdığından koagülasyona sebep olmaktadır. Framingham çalışmasında, sigara kullanan ve bu kişilerin sigarayı kullanmayı bırakmalarından 5 yıl sonra yeniden incelendiğin de inme riskinin sigara kullandıkları sürede 1.8, sigara kullanmayı bıraktıktan 5 yıl sonra ise bu oranın sigara kullanmayan kişilerin seviyesine indiği görülmüştür. Pasif içici olarak bilinen sigara dumanının olduğu ortamda bulunan kişilerle yapılmış olan çalışmalar ise inme riskinin minimum 1.2 olduğu gözlemlenmiştir.

Asemptomatik karotis stenozu: 60 yaş üstündeki erkeklerin yarısından fazlasında asemptomatik karotis stenozu görülme olasılığı %7 - 10'dir. Bu olasılık 60 yaş üstündeki kadınlarda %5 – 7 seviyelerine gerilemektedir. Karotis üfürümü görülen kişilerde yıllık inme olasılığı %1-2 civarıdır (62). Randomize olarak seçilen kişilerde doppler ultrasonografi ile birlikte yapılmış olan çalışmalar sonucunda 65 yaş üzeri kişilerin yarısından fazlasında asemptomatik karotis stenozunun görülme olasılığı % 4 – 5 olduğu görülmüştür (63). Stenozun seviyesi yükseldikçe inme riskinin görülme olasılığı da yükselmektedir (64). Üfürümün hissedildiği bölge ile infarkt olan bölge daima paralel değildir. Bu duruma hipertansiyon, koroner kalp hastalığı veya diyabet eşlik ederse risk daha da artmaktadır. Asymptomatic Carotid Atherosclerosis (ACAS) çalışmasında, endarterektomi yapılmış olan olaylarda, tedavi gören kişilere oranla 5 yılda mutlak riskin azalışı %5.9 olarak ölçülmüştür. Karotis darlığı %60 - 99 olan ve tahmin edilen yaşam süresi 5 yıl üzeri olan kişilere cerrahi riskin %3' ten az olduğu yerlerde operasyon önerilir (65).

Orak hücreli anemi: Orak hücreli anemi görülmesi durumunda inme yaygınlığı %11 olduğu görülmektedir. "The Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP)" çalışmasında, sürekli kan değişimleri uygulanan kişilerde inme riskinde %9'luk azalma görülmüştür (66).

Değiştirilibilir Risk Faktörleri

Obezite: 45 yaş ve üzeri kişilerde obezitenin kardiyovasküler hastalık riskini arttırdığı bilinmektedir. Abdominal şişmanlıkta bu durum çoğunlukla geçerlidir. Erkeklerde bel çevresinin 102 cm ve kadınlarda ise 88 cm veya üzerinde olması ateroskleroz için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Hiperlipidemi, hiperglisemi ve hipertansiyonun obezite ile birlikte olması inme riskini daha da arttırmaktadır. Diğer yandan standart kilonun 35-64 yaş

aralığındaki erkeklerde ve 65-94 yaş aralığındaki kadınlarda %30'u aşması durumunda, inme riski artmaktadır. Yapılan son çalışmalarda santral obezite ve abdominal yağ birikiminin önemi bir risk faktörü olduğu kanıtlanmıştır. Vücut kitle indeksinin 30 kg/m² 'nin üzerinde olması durumunun inme riskini 1.75-2.37 kat arttırdığı ispatlanmıştır (67).

Alkol kullanımı: Kullanılan alkol miktarı arttıkça miyokard infarktüs riski de artmaktadır (68). Alkolün aşırı alınması kan basıncını, trigliserid düzeylerini, paroksismal atriyal fibrilasyonu ve kardiyomiyopatiyi de arttırmaktadır. Nadiren alkol kullanımı inme için risk faktörü değildir (69).

Fiziksel inaktivite: Düzenli egzersiz yapmak kardiyovasküler olayların gelişme olasılığını azaltmaktadır. Ulusal Sağlık Enstitüsü (USE)'ne göre yapılan egzersizlerden yarar sağlayabilmek için orta seviyede en az 30 dakikalık süreyle egzersizlere devam edilmelidir. Kilo verme, sigarayı bırakma gibi olumlu değişikliklerin fiziksel aktiviteler ile birlikte olması inme riskini daha da azaltmaktadır (70,71).

Hiperhomosistinemi: Hiperhomosistineminin tromboembolik ve aterosklerotik hastalıklar için genel, bağımlı olmayan ve değiştirilebilir bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Yüksek plazma homosistein düzeyi B12 ya da folik asit desteği ile düşürülerek hiperhomosisteinemi giderilebilmektedir (72).

İlaç kullanımı ve bağımlılığı: İlaç ve madde kullanımı çeşitliliğine ve miktarına göre farklı tipte inme görülebilir (73). Henüz bu konuda yeterli epidemiyolojik çalışmalar yapılmamıştır. Ancak yapılmış olan bazı çalışmalar ilaç kullanımı ve bağımlılığının inme riskini 7 kat kadar arttırdığı belirlenmiştir. Özellikle psikostimulan ve amfetaminin vasküliteye yol açarak inmeye neden olduğu bilinmektedir. Kokain ise sıksık hemorajiye sebep olsa da kognitif bozulma ve beyin atrofisine neden olarak iskemik inmeye yol açmaktadır. Enjektör kullanarak damar yolu ile uyuşturucu kullanımı enfeksiyon oluşumuna zemin hazırladığından ve karaciğer hastalığı, emboli, endokardite neden olduğundan inme riskini arttırmaktadır.

Oral kontraseptif kullanımı: Orta yaş ve üzeri kadınlarda oral kontraseptif kullanımı inme riskini beş kat kadar artırmaktadır. Buna ek olarak sigara kullanılıyorsa risk daha da

artmaktadır. Oral kontraseptifler, içerdikleri östrojen miktarı ile trombositler ve koagülasyon faktörlerini değiştirerek tromboza eğilimi artırırlar. Bundan dolayı 50 µg üzeri estradiol içeren ilaçların düşük estradiollü kombine preparatlara göre inme riskini daha da artırdığı, ilacın bırakılması durumunda ise riskin azalacağı belirtilmektedir (74,75).

Hormon tedavisi: Düşük östradiol içeren, kombine preperatlarla yapılan çalışmalarda ve Dünya Sağlık Örgütü çalışmasında iskemik inme ve hemorajik inme riskinde az miktarda artış gözlenmiştir. Bu sebeple 35 yaş üzerinde olan, ailede subaraknoid kanama öyküsü, migren, hipertansiyon bulunan veya sigara içen kadınlara farklı kontrasepsiyon yöntemleri önerilmektedir (76,77).

Hiperkoagülabilite: Hiperkoagülabiliteye yol açan trombofililer, örneğin protein C ve S eksikliği, protrombin 20210 mutasyonu, antitrombin III eksikliği ve apoprotein C rezistansı genellikle venöz trombozlara yol açmakla birlikte, iskemik inmeye de sebep olabilmektedir (78). Yapılmış olan bir diğer hiperkoagülabilite nedeni olan antifosfolipid antikor sendromu ile ilgili çalışmada, farklı antikor izotipleri göz önüne alındığından, bu sendromun da prevalansı ve inme riski henüz kesinleşmemiştir (79).

Fibrinojen: 1984 ve 1997 yılında İsveç'te Smith ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, fibrinojen fazlalığı inme için risk faktörü olarak belirlenmiş olmasına rağmen; 1999 yılında yapılan "Atherosclerosis Risk in Communities" (ARIC) çalışmasında fibrinojen fazlalığının bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmamıştır (80).

İnflamasyon: Hücre içi adezyon moleküllerinin aterosklerozlu bölgede endotel tarafından hızlandırılması ve endarterektomi preparatlarında aktive T lenfositler ve makrofajların olması, akut inflamatuar etkinin, plak sabitlenmesinde bozulmaya sebep olduğu ve bulguların oluşmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (81,82). İskemik inme geçirme sırasında akut faz reaksiyon elemanı olan C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A değerlerinin yüksek olduğu bilinmektedir. "Cholesterol and Recurrent Events" (CARE) çalışmasında, pravastatin ve aspirinin C-reaktif proteini azaltarak, inme riskini düşürdüğüne dair sonuçlar elde edilmiştir (83). Tüm bu semptomlar inflamasyon ve enfeksiyonun, aterosklerozu hızlandırdığını ya da müsait bir çevre hazırladığını göstermektedir (58,60). Serebrovasküler olay sonrası hemiparezi ya da hemipleji geçiren

kişilerin bilişsel, fiziksel ve psikososyal engelleri olmaktadır. Bu durumlara postural ya da epizodik hipotansiyon, hipertansiyon, aritmi, barsak ve mesane disfonksiyonu, baş dönmesi, hemiparezik ekstremitede soğukluk, aşırı terleme veya terleme kaybı gibi başka bulgular da eşlik edebilmektedir. Bazı bulgular merkezi sinir sistemi lezyonunun anatomik bölgesine bağlı olabileceği gibi bazıları da hemiparezik hastalarda oluşan otonom sinir sistemi bozukluğundan dolayı ortaya çıkabilir. Parasempatik veya sempatik tutulum elektrofizyolojik testler yardımıyla gösterilebilir. Sempatik efferentlerin aşırı uyarılması sonucu ortaya çıkan aritmik olayları, refleks sempatik distrofi, hiperestezi, allodini ve komkomikan ağrı gibi durumlarda bu testler yardımıyla teşhis konulabilmektedir (84).

GEREÇ VE YÖNTEM

İskemik inmeli hastalarda CYP2C19 (rs4244285) Gen Polimorfizminin Araştırılması başlıklı tez çalışması için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuru yaptık.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından örnek bir çalışmanın genotip dağılımları esas alınarak yapacağımız çalışmanın etki büyüklüğü 0,333 olarak hesaplandı. Etki büyüklüğünde %5 yanılma payı ve %95 power değeriyle saptayabilmek için 120 kişinin (60 hasta, 60 kontrol) çalışmaya alınabileceği hesaplandı.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06/09/2017 tarihli toplantısı sonucu alınan 15/04 sayılı karar ile tez çalışmamız kabul edilmiştir (Ek 1).

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvurmuş ve iskemik inme tanısı almış hastalar ile diğer servislere başvurmuş ancak iskemik inme tanısı almamış kişilerin vermiş oldukları rutin kanlarla gerçekleştirilmiştir. Yaptığımız bu çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde Biyofizik Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Hasta grubu olarak:

1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran ve iskemik inme tanısı almış olanlar.

2) Yaşları 19 ve 19'dan büyük olan yetişkinler çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu olarak:

1) Yaşları 19 ve 19'dan büyük olan yetişkin kişiler,

2) Kronik, sistematik ve metabolik hastalığı bulunmayanlar,

3) İlaç ve alkol bağımlılığı olmayanlar çalışmaya alınmıştır.

Çalışmamızı 60 kişi hasta grubu ve 60 kişi kontrol grubu olmak üzere toplam 120 kişi ile gerçekleştirmeyi planladık. Hasta grubundaki 60 kişiden 38 kişi erkek, 22 kişi ise kadındı. Kontrol gurubundaki 60 kişiden 31 kişi erkek, 29 kişi kadındı. Hasta grubundaki erkeklerin yaş ortalaması 65,45, kadınların yaş ortalaması ise 67,86 idi. Kontrol gurubundaki erkeklerin yaş ortalaması 56,19 ve kadınların yaş ortalaması ise 63,86 idi. Genel olarak hasta grubunun yaş ortalaması 66,33 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 59,9 'dur.

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan örnekleri etilendiamintetraasetik asit (EDTA)'li vakumlu tüplere alınarak Trakya Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında saklanmıştır. Alınan kan örneklerinden Thermo Fisher Purelink® Genomic DNA Mini Kit saflaştırma kiti kullanılarak DNA'lar izole edilmiştir. İzole edilmiş olan DNA'lar % 0,8'lik agarozlu jel elektroforezinde yürütülerek ve ayrıca nanodrop cihazıyla ölçümler yapılarak izolasyon kalitesi ve saflığı gözlendi. İzole edilmiş DNA konsantrasyonları nanogram/mikrolitre (ng/µl) olarak belirlendi. CYP2C19 gen polimorfizmlerinin belirlenmesi için gerekli olan polimeraz zincir reaksiyonu öncesinde istenen bölgelere özgü primerler tasarlandı ve $MgCl_2$ titrasyonu yapılarak kullanılacak uygun miktarın tüm gen bölgeleri için 2,5 milimolar (mM) olduğu belirlendi.

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle çoğaltılan deoksiribonükleik asitler %2'lik agarozlu jellere yüklendi. Jel hazırlanırken boyar madde olarak etidyumbromit (EtBr) kullanıldı. Hazırlanmış olan %2'lik agaroz jele yüklenen örnekler yaklaşık 110 voltluk elektrik enerjisi kullanılarak jel üzerinde yürümesi sağlandı. Yeterince yürütülen DNA örnekleri transmilatörle ultraviyole (UV) ışık altında gözlemlendi. Ardından çoğaltılan polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri istenen bölgelere özel kesim enzimleri kullanılarak restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFUP) yöntemi ile 37°C'de 1 saat kesime bırakıldı. Kesim işlemi sonucunda elde edilen ürünler etidyumbromid karıştırılarak hazırlanmış %2,5'luk agaroz jele yüklendi. Yine 110 voltluk elektroforezde yürütüldü. Yeterince yürütülen bu ürünler yine ultraviyole ışık altında incelenerek polimorfizmler saptandı.

CYP2C19 gen polimorfizmi için SmaI restriksiyon enzimi kullanıldı. CYP2C19 gen polimorfizmleri genotip dağılımı kesim sonucunda belirlendi (Tablo 1).

SmaI Restriksiyon Enziminin Mekanizması

5' C C C ↓G G G 3'

3' G G G ↑C C C 5'

RFUP yöntemi kullanılarak elde edilen kesim ürünleri Tablo 1'de gösterilmiştir**.**

Tablo 1. CYP2C19 gen polimorfizmleri kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	**Genotipler**	**Kesim Sonuçları**
	AA	50 ve 118 bç
CYP2C19	GG	168 bç
(168 bç)	AG	168 bç, 118 bç ve 50 bç

AA: Adenin-Adenin; **GG:** Guanin-Guanin; **AG:** Adenin-Guan; **bç:** baz çiftçi.

KULLANILAN KİMYASAL MATERYALLER

Borik Asit (Sigma)

Agaroz (İnvitrogen)

DNA Marker seti, 100 bç (İnvitrogen)

Deoksinükleotittrifosfat (dNTP) (İnvitrogen)

Etanol (Riedel)

EtidyumBromid (EtBr) (İnvitrogen)

$MgCl_2$ (Fermentas)

SmaI restriksiyon enzimi (ThermoScientific)

Primerler (İnvitrogen)

Proteinaz K (İnvitrogen)

Taq DNA polimeraz (İnvitrogen)

Trisma (Bio Basic)

KULLANILAN CİHAZLAR

Agaroz jel için kullanılan elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320, Cleaver Scientific)

Derin dondurucu (HOTPOİNT - ARİSTON)

Güç kaynağı (EC-105, Cleaver Scientific MP-300V)

Otoklav (NÜVE)

Etüv (HARAEUS)

Otomatik mikro pipetler (FINN PIPETTE – THERMO SCIENTIFIC)

Terazi (SARTORIUS)

ThermalCycler (BOECO TS-100)

Vorteks (VELP SCİENTİFİCA)

Nanodrop (ALLSHENG NANO – 200)

Santrifüj Cihazları (HETTICH EBA 21, ALLEGRA X-22R)

Mikrodalga Fırın (VESTEL)

PZR Cihazları (TECHNE, TECHNE TC-3000)

YÖNTEMLER

DNA İzolasyonu

DNA moleküllerinin absorblandığı dalga boyunun 260 nanometre olduğu bilinmektedir. Deoksiribonükleik asit yoğunluğu belirlenmesinde de bu dalga boyu değeri kullanılmaktadır. 1 Optical Density (OD)'nin 50 µl/ml'ye tekabül ettiğini varsayarsak, DNA miktarı için; DNA = OD_{260} (260 nanometredeki optik yoğunluk) x Seyreltme Faktörü (DilutionFactor) x 50 formülü kullanılabilir (85). Teoride OD_{260} / OD_{280} değerleri 1,75 ile 2 arasında bulunmalıdır. Eğer bu oran beklenen değerler arasında bulunuyorsa sebebi ultraviyole skaladaki absorb nükleik asitlerdir. OD_{260} / OD_{280} değeri 1,75'ten daha az ise protein ve öteki ultraviyole absorblayıcıların var olduğu anlamı çıkarılır. OD_{260} / OD_{280} değeri 2 değerinden fazla ise alınan numunenin fenol ya da kloroform ile kontaminasyon olma ihtimalinden söz edilebilir. OD_{260} / OD_{280} oranından farklı olarak OD_{260} / OD_{230}oranı da nükleik asitlerin saflığının belirlenmesinde kullanılabilir. Ancak bu oranın OD_{260} / OD_{280} oranına kıyasla hasassiyeti daha azdır (86).

Kullanmış olduğumuz Thermo Fisher Purelink®Genomic DNA Mini Kit DNA izolasyon kit protokolü şöyledir:

1) 200 µl kana 20 µl Proteinaz K eklendi ve pipetle karıştırıldı.

2) Yapılmış olan karşıma 400µl Lysis Buffer eklendi ve homojen oluncaya kadar vortekslendi.

3) Ardından hazırlanmış olan karışım 56°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi.

4) 200 µl etanol eklendi ve otomatik pipet ile pipetleme yapıldı.

5) Hazırlanmış olan karışımThermo Fisher Purelink® Genomic DNA Mini Kit DNA izolasyon kitinin içerisinde bulunan spin kolonlarına aktarıldı ve 1 dakika 8000

RPM'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra alttaki kolon atılarak yerine yeni alt kolon yerleştirildi.

6) Üst kolona 500 µl Wash Buffer I eklendi ve 10.000 RPM'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra alt kolon otomatik pipet yardımıyla boşaltıldı.

7) Üst kolona 500 µl WashBuffer II eklendi. Ardından 3 dakika boyunca 14.000 RPM'de santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda alttaki kolon atıldı. Üstte kalan kolon ise yeni steril 1,5 ml kolonun üzerine yerleştirildi.

8) Üstte kalan kolonun alt kısmının tam ortasına değecek şekilde 200 µl Elution Buffer eklendi ve 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

9) Hazırlanan karışım 1 dakika 10.000 RPM'de santrifüj edildi. Bu kez üstte bulunan kolon atıldı.

10) Alt kolonda kalan izole edilmiş DNA'lar -20 °C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

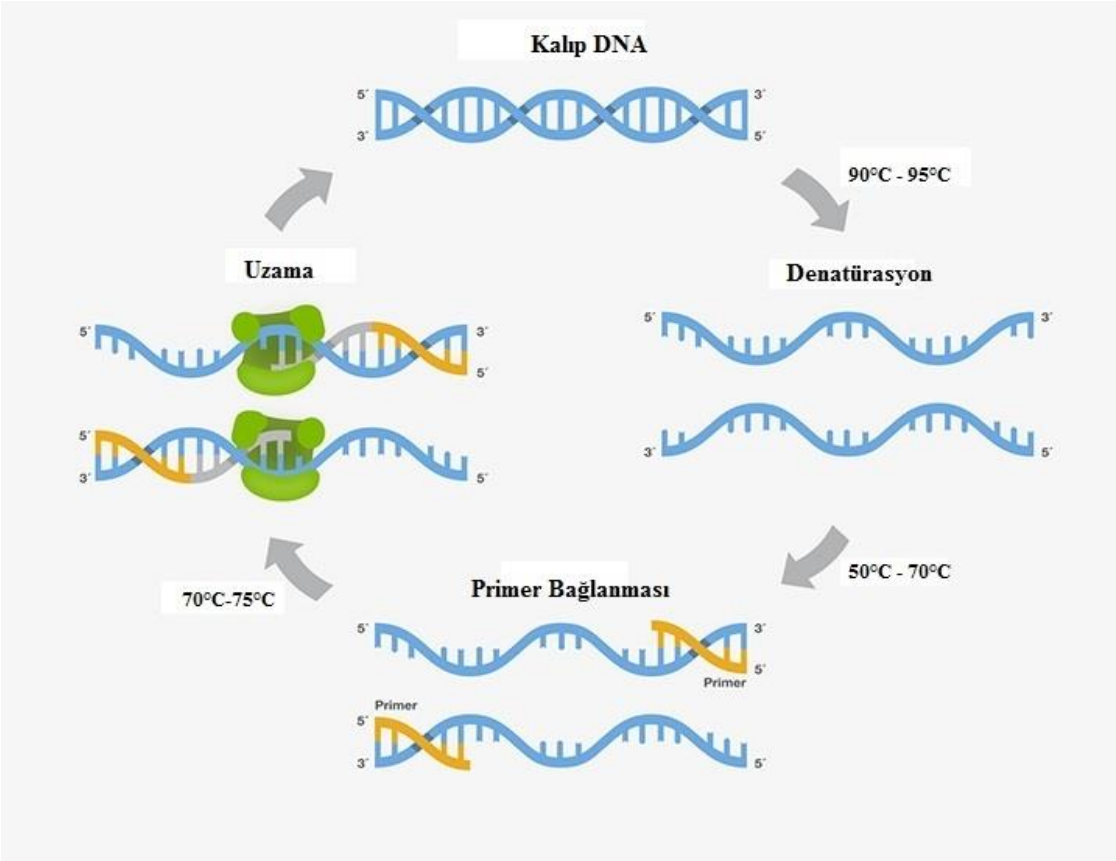
Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ilk olarak 1985 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde bulunan Cetus adlı şirkette çalışmakta olan Kary Mulis ve arkadaşlarınca keşfedilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu, DNA'da bilinen iki parçanın arasında uzanan spesifik DNA bölümünün enzimler kullanarak çoğaltılabildiği bir yöntemdir. Bu yöntem sayesinde kısa sürede milyonlarca gen kopyalanarak çoğaltılmaktadır. Bu teknik teşhiş ve adli tıpta gen belirlenmesinde ya da özel DNA kısımlarının klonlanmasında ve gen ifadelerinin tespitinde kullanılabilmektedir (87).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu yönteminde sırasıyla üç temel aşamadan söz edilebilir (Şekil 2). Bu aşamaların tekrarlanması sayısına bağlı olarak çoğaltılan DNA miktarı belirlenir.

1) Denatürasyon (90-95ºC): Bu aşamada normalde çift sarmalı olan DNA yüksek sıcaklığın etkisiyle tek sarmal haline gelir.

2) Primerbağlanması (50-70ºC): Primerler bu aşamada amaçladığımız DNA'ya bağlanır.

3) DNA sentezi ya da primer uzaması (70-75ºC): DNA zincirinini uzadığı aşamadır. Magnezyum (Mg^{+2}) iyonları olduğundan primerlere eklenir, katalize olan DNA polimeraz sayesinde nükletotid eklenir ve bu şekilde DNA zinciri uzamış olur. Bu üç aşama birlikte PZR yönteminde bir döngüyü (cycle) oluşturur (87,88).



Şekil 2. Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü (88)

Döngü bitince oluşan yeni DNA zincirleri sıradaki döngüler için kalıp DNA görevi üstlenebilir. İlk döngü sonucunda oluşan ürünlerin iki primerinin bağlanma kısımları arası mesafesi daha uzundur. İkinci döngü istenilen uzunluktaki DNA zincirini oluşturur. Döngü sayısına göre elde edilen ürün miktarı $(2^n-2n)x$ formülü ile hesaplanır. Bu formülde n döngü sayısını, x ise kalıp DNA'nın kopya sayısını göstermektedir (87).

PZR yönteminde kullanılan temel bileşenler, kalıp DNA, Taq DNA polimeraz enzimi, primerler, dNTP karışımları, enzim tamponu ve $MgCl_2$'dir (89).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminde Kullanmış olduğumuz Primer Dizisi;

5'-AATTACAACCAGAGCTTGGC-3' (Forward)

5'-TATCACTTTCCATAAAAGCAAG-3' (Reverse)

CYP2C19 gen polimorfizmi için örnek başına kullanılan miktarlar;

2,5 µl 10 x PZR $MgCl_2$ Tamponu (Buffer)

1,25 µl $MgCl_2$

0,3 µl Primer F

0,3 µl Primer R

0,5 µl dNTP

0,3 µl Taq DNA polimeraz

1,5 µl izole edilmiş DNA

18,35 µl dH_2O (Enjeksiyonluk Su)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Koşullar

CYP2C19 gen polimorfizmi için;

Başlangıç : 94ºC, 5 dakika
94ºC, 30 saniye
60ºC, 30 saniye 35 döngü (cycle)
72ºC, 30 saniye

Bitiş : 72ºC, 10 dakika

Kesim Fragment Uzunluk Polimorfizmleri

DNA diziliminin kısa kısımlarını özelleştirilmiş şekilde tanıyan ve bu dizilimlere yakın kısımlardan ya da dizilimlerin içerisindeki özgül kısımlardan çift taraflı ve simetrik şekilde DNA'yı kesen enzimlere kesim (restriksiyon) enzimleri denir. Kesim enzimleri çoğunluklukla bakterilerde, nadiren de virus ve ökaryot canlılarda bulunur (89). DNA fragmentlerinin büyüklüğüne göre kullanılacak kesim enzimi belirlenir. Restriksiyon işlemi sonucunda oluşan ürünlere kesim parçaları adı verilir. RFUP yöntemi kolay uygulanabilen, ucuz ve hızlı bir yöntemdir. Bu yöntemde kesim enzimlerinin DNA'da bulunan kesim noktalarındaki farklılaşmalardan yararlanılır (85).

CYP2C19 Gen Polimorfizmleri İçin Kesim Fragman Uzunluk Polimorfizmi Yöntemi

Örnek başına kullanılan miktarlar;

0,4 µl kesim enzimi (SmaI)

0,8 µl 10x Fast Digest RedBuffer

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ürünü

6 µl dH_2O (Enjeksiyonluk su)

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistics Package of Social Science) v20 (Lisans No:10240642) istatistik programı ile yapılmıştır. CYP2C19 gen polimorfizmi genotip dağılımları hipertansiyon, diyabetes mellitus, kalp hastalığı, geçirilmiş olan SVH, alkol kullanımı, sigara kullanımı bakımından karşılaştırılmıştır. Polimorfizm sonucu elde edilen genotip dağılımlarının istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığının kontrolü için ki-kare analiz yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

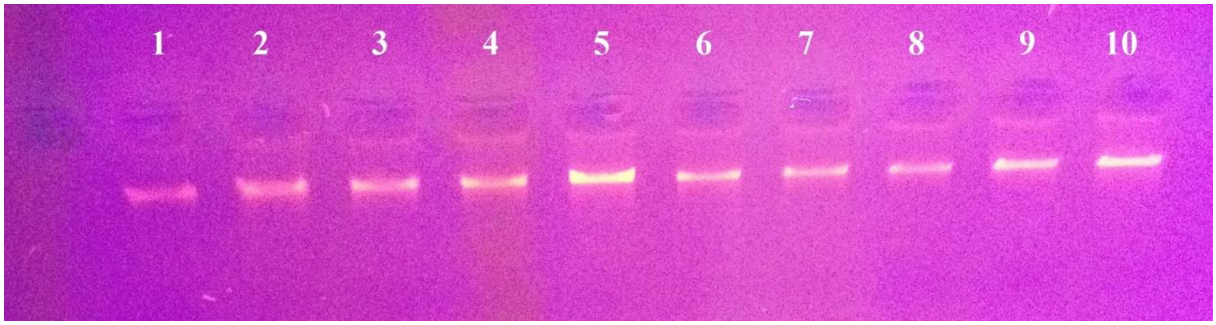
BULGULAR

Bu çalışmada, Nöroloji anabilim dalında iskemik inme tanısı almış olan 60 hasta ile Ortopedi anabilim dalında nörolojik bir hastalığı olmayan 60 birey, kontrol grubu olacak şekilde oluşturulmuştur. Polimorfizm çalışmaları Biyofizik A.D'da gerçekleştirilmiştir. Bunların arasında yaş, diyabetes mellitus, hipertansiyon, sigara kullanımı, alkol kullanımı, kalp hastalıkları karşılaştırması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hasta ve kontrol grupları arasındaki bulguların karşılaştırılması

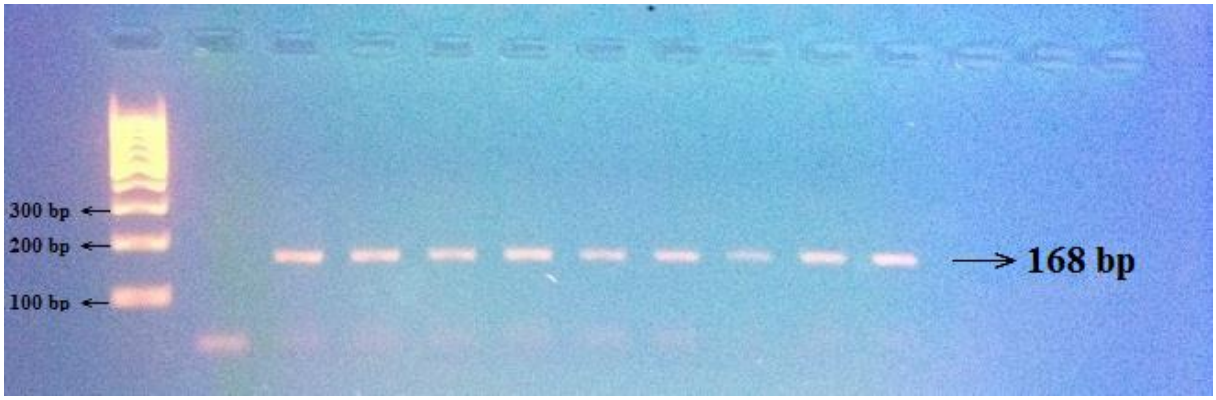
Bulgular	**Genel**		**p**
	Hasta Grubu (n=60)	**Kontrol Grubu (n=60)**	
Yaş	66,33 ± 13,226	59,90 ± 14,499	0,01
Hipertansiyon	% 63,3	% 40,0	0,01
Diyabetes Mellitus	% 21,7	% 25	0,67
Geçirilmiş SVH	% 10	% 0	0,01
Sigara	% 41,7	% 26,7	0,08
Alkol	% 20,0	% 21,7	0,82
Kalp Hastalıkları	% 25,0	% 0	0,00

Hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kanlardan izole edilmiş olan DNA'lar % 0.8'lik agaroz jelde yürütülerek elde edilen bantların ultraviyole ışık altındaki görüntüsü Şekil 3'te gösterilmiştir.



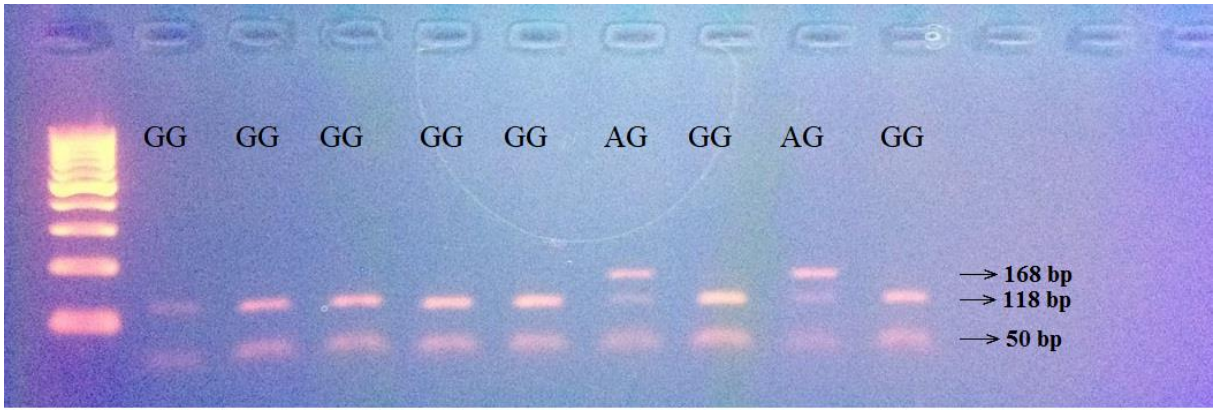
Şekil 3. Kan örneklerinden izole edilen DNA'ların % 0.8'lik agaroz jelde yürütülerek ultraviyole ışık altında görüntülenmesi

İzole edilmiş olan DNA'lar % 0.8'lik agaroz jelde gözlemlendikten sonra CYP2C19 gen polimorfizmi için özgün bölgelere ait primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütüldü. Yeterince yürütülen ürünler ultraviyole ışık alında incelendi (Şekil 4). Ürünlerin 168 bp büyüklüğünde olduğu gözlemlendi.



Şekil 4. CYP2C19 gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları için elde edilen PZR ürünlerinin % 2'lik agaroz jelde yürütülerek ultraviyole ışık altında görüntülenmesi

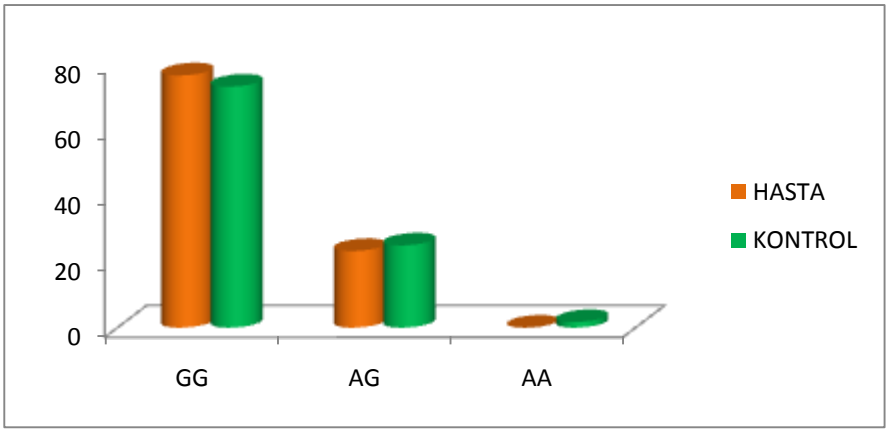
CYP2C19 gen polimorfizmi sonucunda elde edilen PZR ürünleri ilgili bölgeye ait SmaI kesim enzimi kullanılarak 37°C'de 1 saat süreyle bekletildi. 1 saat geçtikten sonra ürünler % 2.5'lik agaroz jelde yürütüldü ve ultraviyole ışık altında gözlemlenerek hasta ve kontrol grupları için polimorfizmler belirlendi (Şekil 5).



Şekil 5. CYP2C19 gen polimorfizmi için kesim ürünlerinin % 2.5'lik agaroz jelde yürütülmesinin ardından ultraviyole ışık altında görüntülenmesi

CYP2C19 Gen Polimorfizmi İçin Genotip Dağılımları

CYP2C19 gen polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda GG genotipinin görüldüğü 46 hasta (% 76,7), AG genotipinin görüldüğü 14 hasta (% 23,3) ancak AA genotipi görülmememiştir. Kontrol grubunda GG genotipinin görüldüğü 44 kişi (% 73,3), AG genotipinin görüldüğü 15 kişi (% 25,0) görülmüş AA genotipinin görüldüğü 1 kişi (%1,7) (Şekil 6).



Şekil 6. Hasta ve kontrol gruplarında CYP2C19 gen polimorfizmi sonucunda elde edilen GG, AG ve AA allelleri arasındaki ilişki

Allel frekanslarına bakıldığında hasta grubunda G alleli için 106 (% 88,33) bulunmuş, A alleli için 14 (% 11,67) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise G alleli için 103 (% 85,83), A alleli için ise 17 (% 14,17) bulunmuştur. İskemik inmeli hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin CYP2C19 gen polimorfizmi işlemi sonucunda GG, AG ve AA genotipleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülememiştir. Hasta ve kontrol grubundaki kadın ve erkeklerinde allel frekanslarını inceleyecek olursak; hasta grubunda bulunan erkeklerde G alleli için 70 (% 92,1) bulunmuş, A alleli için ise 6 (% 7,9) bulunmuştur. Kontrol grubunda bulunan erkeklerin allel frekanslarını incelediğimizde, G alleli için 52 (83,87), A alleli için ise 10 (16,13) bulunmuştur. Hasta grubunda bulunan kadınların allel frekanslarını incelediğimizde, G alleli için 36 (% 81,82), A alleli için ise 8 (% 18,18) bulunmuştur. Kontrol grubundaki kadınların allel frekanslarını incelediğimizde G alleli için 51 (% 87,93), A alleli için 7 (% 12,07) bulunmuştur. Her iki grupta bulunan kadın ve erkeklerden alınan kan örneklerinin CYP2C19 gen polimorfizmi işlemi sonucunda GG, AG ve AA genotipleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülememiştir ($p>0,05$) (Tablo3).

Tablo 3. Her iki grupta bulunan kadın ve erkeklerin CYP2C19 gen polimorfizmleri genotip dağılımları

CYP2C19	**GRUPLAR**			
GENOTİP / ALLEL FREKANSLARI	**ERKEK**		**KADIN**	
	HASTA	**KONTROL**	**HASTA**	**KONTROL**
GG	32	22	14	22
AG	6	8	8	7
AA	0	1	0	0
G ALLEL FREKANSI	70 (% 92,1)	52 (% 83,87)	36 (% 81,82)	51 (% 87,93)
A ALLEL FREKANSI	6 (% 7,9)	10 (% 16,13)	8 (% 18,18)	7 (% 12,07)
P	0,59		0,29	

İstatistiksel olarak değerlendiriğinde de hasta ve kontrol grupları arasında CYP2C19 gen polimorfizmi genotipleri bakımından anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (p:0,306) (Tablo 4).

Tablo 4. Her iki grupta CYP2C19 gen polimorfizmleri genotip dağılımları

CYP2C19	**GRUPLAR**		**p**
GENOTİPLER / ALLEL FREKANSLARI	**HASTA**	**KONTROL**	
GG	46 (% 76,7)	44 (%73,3)	0,306
AG	14 (% 23,3)	15 (%25,0)	
AA	0 (% 0,0)	1 (% 1,7)	
G ALLEL FREKANSI	106 (%88,33)	103 (% 85,83)	
A ALLEL FREKANSI	14 (% 11,67)	17 (% 14,17)	

G: Guanin, **A:** Adenin, **GG:** Guanin-Guanin**, AG:** Adenin-Guanin, **AA:** Adenin-Adenin.

TARTIŞMA

Son zamanlarda gen polimorfizmi ile inmeye neden olabileceği düşünülen genlerde yapılan çalışmalarda genellikle çelişkili sonuçlar bulunmuştur. 2007 yılında Amy R. Tso ve arkadaşlarının yapmış olduğu "Interleukin-6 −174G/C Polymorphism and Ischemic Stroke" adlı çalışmada iskemik inme ile interlökin-6 -174G/C polimorfizminin ilişkili olmadığı gözlemlenmiştir (90). Benzer şekilde 2017 yılında yapılan çalışmada iskemik inme ile matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizminin ilişkili olmadığı gözlemlenlenmiştir (91). Bilindiği üzere polimorfizm, yaşanılan yer, ırk ve etnik köken çeşitliliğine göre değişen bir durumdur. 2017 yılında King Khalid Üniversitesi'nde Adel Alhazzani ve arkadaşlarının yapmış olduğu "Pharmacogenetics of CYP2C19 genetic polymorphism on clopidogrel response in patients with ischemic stroke from Saudi Arabia" adlı çalışmada 50 Suudi Arabistan kökenli iskemik inme hastasından alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Sonuç olarak klopidogrel tedavisi alan hastalarda CYP2C19 gen polimorfizminin görülme sıklığının klopidogrel tedavisi almayanlara göre arttığı gözlenmiştir (14). Ancak 2014 yılında Shuzhen Gu ve arkadaşlarının yaptığı "Association between genetic polymorphisms of cyctochrome P450 2C19 and the risk of cerebral ischemic stroke in Chinese" adlı çalışmada Çin'de yaşayanlarda CYP2C19 G681A gen polimorfizminin serebral iskemik inme ile herhangi bir ilişkisi olmadığı saptanmıştır (92).

Sitokrom p450 enzimleri bitkiler, hayvanlar, bazı bakteriler, mayalar ve insanda bulunan kapsamlı bir enzimler sistemini oluşturur. Bu enzimler hücre içi matriks içerisinde genel olarak mitokondri ve granülsüz endoplazmik reikulum organelinde bulunur (11). Son yıllarda sitokrom p450 (CYP2C19) polimorfizmlerinin serebrovasküler hastalıkların

gelişmesindeki etkisini araştırmaya yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Yapılan bu çalışmaların sonucunda, CYP2C19'un işlev kaybından dolayı alel düzeylerindeki azalmanın sonucu olarak iskemik inme olabileceği belirtilmiştir (14). CYP2C19 gen polimorfizmi geçmişte birçok hastalık üzerinde incelenmiştir. Örneğin 2018 yılında Zahra Hashemizadeh ve ark. tarafından 120 hepatik hasta ve 52 kontrol grubu ile yapılan çalışma sonucunda CYP2C19 gen polimirfizmi için alel ve genotip kıyaslamalarında büyük bir farklılık olmadığını gözlemlemiştir (93). Kanakaiah Thota ve ark. tarafından, 110 meme kanserli hasta ve 100 kontrol grubu ile yapılan "Detection of Cytochrome P450 Polymorphisms in Breast Cancer Patients May Impact on Tamoxifen Therapy" adlı çalışmada, CP2C19 gen polimorfizminde meme kanserli hasta ve kontrol grupları arasında farklılık gözlemlemiş ancak istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir (94). Alexey Polonikov ve ark. tarafından yapılmış olan "Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in Russian population" isimli çalışmada 561 koroner kalp hastalığı olan kişi ve bu kişilerin yaş ve cinsiyet ortalamasına uygun kontrol grubu olarak 694 kişi ile çalışma yapılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarındaki kişilerin kökeni Rus olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda CYP2C gen polimorfizmlerinin koroner kalp hastalığı için genetik işaretleyiciler olduğunu belirlemişlerdir. Ancak CYP2C19 gen polimorfizminin koroner kalp hastalığı ile herhangi bir ilişkisi olmadığını saptamışlardır (95). Behçet hastalığının CYP2C19 gen polimorfizmi ile ilişkisini belirlemek amacıyla Mustafa Tuğrul Göktaş ve ark. tarafından yapılan "Decreased Activity and Genetic Polymorphisms of CYP2C19 in Behçet's Disease" adlı çalışmaya 59 behçet hastası ve 27 kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma neticesinde behçet hastalarında CYP2C19 gen polimorfizmi kontrol grubuna göre daha az görülmüş ve CYP2C19 gen polimorfizminin behçet hastalığı için genetik belirleyici olabileceği öne sürülmüştür (96).

Yaşın ilerlemesiyle iskemik inme geçirme riskinin arttığı bilinmektedir. GİA ve hemorajik inmede sistolik ve diyastolik kan basıncının fazla olduğu görülmüştür. Hemorajik ve kardiyoembolik tiplere kıyasla küçük damar hastalığında homosistein seviyelerinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Hemorajik inmede trigliserid seviyesi kardiyoembolik inmeye kıyasla daha azdır. Kardiyoembolik inmede yaş faktörünün ve kolestrol düzeylerinin diğer tip inmelere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (73).

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi NörolojiAnabilim Dalı'na başvuran ve yapılan kontroller sonucunda iskemik inme tanısı konmuş 60 iskemik inmeli hastadan oluşan hasta grubu ile 60 nörolojik hastalığı saptanmayan kontrol grubundan oluşmaktadır.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında CYP2C19 gen polimorfizmleri incelenmiştir. İskemik inme teşhisi konmuş olan hastalar ile kontrol grubu arasında cinsiyet, yaş, hipertansiyon, sigara kullanımı, alkol kullanımı, kalp hastalıkları bulguları karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızın neticesinde CYP2C19 gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; iskemik inmeli hasta grubunda AA genotipinin görülmedi, GG genotipinin görüldüğü 46 hasta (% 76,7), AG genotipinin görüldüğü 14 hasta (% 23,3) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise AA genotipinin görüldüğü 1 kişi (%1,7), GG genotipinin görüldüğü 44 kişi (% 73,3), AG genotipinin görüldüğü 15 kişi (% 25,0) görülmüştür. Allel frekansları için hasta grubunda G alleli için 106 (% 88,33) bulunmuş, A alleli için 14 (% 11,67) bulunmuştur. Kontrol grubu allel frekanslarına bakılacak olursa; G alleli için 103 (% 85,83), A alleli için ise 17 (% 14,17) bulunmuştur. İskemik inmeli hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin CYP2C19 gen polimorfizm işlemleri sonucunda AA, AG ve GG genotipleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık gözlemlenememiştir. İstatistiksel olarak değerlendiriğinde de hasta ve kontrol grupları arasında CYP2C19 gen polimorfizmi genotipleri bakımından anlamlı bir fark bulunmadı. ($p>0,05$).

Hasta alt gruplarının CYP2C19 gen polimorfizmi genotip dağılımları ile kıyaslamasında kadınlarda ve erkeklerde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$).

Hasta ve kontrol grupları için klinik bulgular ile CYP2C19 gen polimorfizmlerinin karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Adel Alhazzani ve ark. (14) Suudi Arabistanlı kişiler ile gerçekleştirdikleri çalışmada CYP2C19 gen polimorfizminin iskemik inme hastalığı için genetik bir risk faktörü olduğunu saptamış olsa da yapmış olduğumuz çalışmada bu gen polimorfizminin iskemik inme hastalarında genetik risk faktörü olmadığı görülmüştür. Bu çalışma sonuçlarındaki farklılıkların etnik köken, hasta ve kontrol grubunda kullanılan kişi sayısı, çevresel faktörler veya hasta ve kontrol grupları için daha farklı kriterlerin olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Yapmış olduğumuz çalışmada Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran, yapılan tetkikler sonucunda iskemik tanısı almış 60 kişiden oluşan hasta grubu ile Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi polikliniklerinden yada diğer servislere başvuran, yapılan tetkik ve kontroller sonucunda herhangi bir sinirsel hastalığı saptanmayan 60 kişiden oluşan kontrol grubu için CYP2C19 gen polimorfizmleri incelendi.

CYP2C19 gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grubu arasında CYP2C19 gen polimorfizmi genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Hasta alt gruplarında CYP2C19 gen polimorfizmi genotip dağılımları ile karşılaştırılmasında genel olarak erkek ve kadınlarda anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$).

Hasta ve kontrol grupları için klinik bulgular açısından CYP2C19 gen polimorfizmi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Literatürde birçok çalışmada CYP2C19 gen polimorfizminin iskemik inme ile ilişkisi olduğu saptanmış ise de, yapmış olduğumuz çalışmamız ile birlikte CYP2C19 gen polimorfizminin iskemik inme ile ilişkisi olmadığı sonucuna varılan çalışmalarda vardır. Sonuçların farklı çıkmasının sebebi; etnik köken farklılıkları, farklı yerlerde yaşayan veya aynı bölgenin farklı yerleşim bölgelerinde yaşayan kişiler veya çalışmalar için seçilen hasta ve kontrol grubu popülasyonunun seçim kriterlerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İleride yapılacak olan çalışmalarda hasta ve kontrol grubu sayısının arttırılmasıyla daha iyi sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir. Farklı yerlerde yaşayan kişiler ya da farklı etnik kökeni olan kişilerle veya farklı genlerin eklenmesi ile bu genlerde

meydana gelen gen polimorfizmleri açısından değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Eğer iskemik inmenin gelişiminde etkili olan genler bilinirse, iskemik inme için erken tanı ya da iskemik inme geçirmiş kişiler için yeni ilaçlar geliştirilebilecektir.

ÖZET

Büyük bir sağlık sorunu olarak ortaya çıkan inme, morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. İnme oranının yüksekliği hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, iskemik kalp hastalığı, atriyal fibrilasyon ve sigara gibi bilinen risk faktörlerine bağlıdır. İskemik inme beyine kan getiren damardaki tıkanma sonucu ortaya çıkar. Epidemiyolojik araştırmalardan elde edilen güçlü kanıtlar, iskemik inmenin patogenezindeki genetik etkileri ortaya çıkarmıştır.

Çalışmamızın amacı matriks CYP2C19 gen polimorfizminin iskemik inme hastalığı için genetik risk faktörü olma ihtimalini araştırmaktır.

Çalışmamızda hasta grubu olarak 60 iskemik inmeli hasta ve kontrol grubu olarak 60 nörolojik hastalığı olmayan kişi bulunmaktadır. CYP2C19 gen polimorfizmi, polimeraz zincir reaksiyonu ve ardından restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi yöntemleri yardımıyla belirlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda CYP2C19 gen polimorfizminin iskemik inme hastalığı için genetik risk faktörü olmadığı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: CYP2C19, Sitokrom p450, İskemik inme, Gen polimorfizmi

INVESTIGATION OF CYP2C19 GENE POLYMORPHISM IN ISCHEMIC STROKE PATIENTS

SUMMARY

Stroke, which has emerged as a major health problem, is an important cause of morbidity and mortality. A high proportion of strokes have an ischemic nature for which well-known risk factors as hypertension, hyperlipidemia, diabetes mellitus, ischemic heart disease, atrial fibrillation and smoking. Ischemic strokes occur as a result of an obstruction within a blood vessel supplying blood to the brain. Strong evidence from epidemiological studies have implicated genetic influences in the pathogenesis of ischemic stroke.

The aim of our study is to investigate the possibility of genetic risk factor of the CYP2C19 gene polymorphism in ischemic stroke disease.

Our study include 60 patients with ischemic stroke for patient group and 60 subjects without neurological disease for control group. The CYP2C19 gene polymorphism were identified using polymerase chain reaction and subsequent to restriction fragment length polymorphism methods.

Consequence of our study, we found that CYP2C19 gene polymorphism isn't a genetic risk factor in ischemic disease.

Keywords: CYP2C19, Cytochrome p450, Ischemic stroke, Gene polymorphism

KAYNAKLAR

1. Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. Lancet, 2008;371(9624);1612-23.

2. Wandelhag I, Gustavsson T, Suurküla M, Berglund G, Wikstrand j. Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. Clin Physiol 1991;11(6):565-77.

3. Biller J, Schnek MJ, (Sunter G,Aktan S,çeviri) İskemik Serebrovasküler Hastalıklar İn: Neurology İn Clinical Practice, Walter G. Bradley, Robert B. Darrof Gerald M. Fenichel, Joseph Jankovic, Tan E, Erdem Özdamar S. (çeviri editörleri) 5. baskı, 2008;1165-219.

4. Çoban O, Bebek N. Serebrovasküler Hastalıklar. In: Adams and Victor's Principles of Neurology 9. baskı, Allan H. Ropper, Martin A. Samuels. Emre M (çeviri editörü) 2011;746-845.

5. Chancellor AM, Glasgow GL, Ockelford PA, Johns A, Smith J. Etiology, prognosis, and hemostatic function after cerebral infarction in young adults. Stroke. 1989;20:477-82.

6. Bonita R, Beaglehole R, Asplund K. The worldwide problem stroke. Curr Opin Neurol 1994;7(1):5-10.

7. Hankey GJ. Potential New Risk Factors for Ischemic Stroke: What Is Their Potential? Stroke 2006;37(8):2181-8.

8. Kutluk K. İskemik İnme. Nobel tıp kitabevleri. 2004; s. 1-75.

9. OzturK Y, Demir C, Gursoy K, Koselerli R. What Factors Influence Survival In Stroke: Turkey Case. Value Health 2015;18:401-2.

10. Hasler JA, Estabrook R, Murray M, Pikuleva I, Waterman M, Capdevila J et al. Human cyctochromes P450. Mol Aspects of Med 1999;20:1-137.

11. Taşpınar M. Kronik Myelositer Lösemi Hastalarında CYP1A1 Gen Polimorfizmi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi;2005.

12. Klingenberg M, Grafinkel D. Pigments of rat liver microsomes. Arch Biochem Biophys 1958;75(2):86-376.

13. Nebert DW, Russel DW. Clinical importance of the cytochromes P450. Lancet 2002;360(9340):62-1155.

14. Adel A. Alhazzani, Murali Munisamy, Gauthaman Karunakaran. Pharmacogenetics of CYP2C19 genetic polymorphism on clopidogrel response in patients with ischemic stroke from Saudi Arabia. Neurosciences (Riyadh) 2017;22(1):31-7.

15. Zarko Bahar Z, Bakaç G.Beyin Kan Dolaşımının Anatomi ve Fizyolojisi. Nöroloji 2'ci Baskı. ÖGE A.E, Baykan B.(editör) 2011;(22);239-44.

16. Demirkaya Ş, Vural O. Serebral Kan Akımı ve Serebral Metabolizma. Editör Balkan Serebrovasküler Hastalıklar. 2009;2:9-16.

17. Sacco RI. Serebrovasküler Hastalığın Patogenezi,Sınıflandırılması ve Epidemiyolojisi. Merrit's Neurology. Ed.Lewis P. Rowland. Çev.Ed. Baslo B, Gürses C. 11'ci Baskı. 2008;4(36): 275-346.

18. Whisnant JP, Basford JR, Bernstein EF et al. Special Report From the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of Cerebrovascular ;Diseases III. Stroke 1990;21:637-76.

19. WHO MONICA Project Principal Investigators. The World Health Organisation MONICA Project (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases):A .major colloboration. J Clin Epidemiol 1988;41:105-14.

20. Mukherjee D, Patil CG. Epidemiology and the global burden of stroke. World Neurosurg 2011;76:85-90.

21. Öztürk Ş. Serebrovasküler Hastalık Epidemiyolojisi Ve Risk Faktörleri- Dünya ve Türkiye Perspektifi. Turk Geriatri Derg 2009;13:51-8.

22. Lackland DT, Elkind MSV, D'Agostino R et al. Inclusion of Stroke in Cardiovascular Risk Prediction Instruments: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association, Stroke 2012;43:1998-2027.

23. Caplan LR. Basic pathology, anatomy, and pathophysiology of stroke. In: Caplan's Stroke: A Clinical Approach, 4th ed., Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009:22.

24. Kumral E. Serebrovasküler hastalıkların epidemiyolojisi. Edt Balkan S. Serebrovasküler Hastalıklar. Ankara, Güneş Tıp Kitabevi 2009; s. 37-50.

25. Reeves MJ, Bushnell CD, Howard G, et al. Sex differences in stroke: epidemiology, clinical presentation, medical care, and outcomes. Lancet Neurol 2008;7(10):915-26.

26. Lewsey JD, Gillies M, Jhund PS, et al. Sex Differences in Incidence, Mortality, and Survival in Individuals With Stroke in Scotland, 1986 to 2005. Stroke 2009;40(4):1038-43.

27. Seshadri S, Beiser A, Kelly-Hayes M, et al. The lifetime risk of stroke: estimates from the Framingham Study. Stroke 2006;37(2):345-50.

28. Kleindorfer DO, Khoury J, Moomaw CJ. Stroke incidence ıs decreasing in whites but not in blacks: a population-based estimate of temporal trends in stroke ıncidence from the greater cincinnati/northern kentucky stroke study * supplemental material. Stroke 2010;41(7):1326-31.

29. Prevalence of Stroke United States, 2006 – 2010. http://www.cdc.gov/mmwr/preview /mmwrhtml/mm6120a5.htm. Erişim tarihi 18.10.2015.

30. Carandang R, Seshadri S, Beiser A. Trends in incidence, lifetime risk, severity, and 30-day mortality of stroke over the past 50 years. JAMA 2006;296(24):2939-46.

31. Zahuranec DB, Lisabeth LD, Sánchez BN, et al. Intracerebral hemorrhage mortality is not changing despite declining incidence. Neurology 2014;82(24):2180-6.

32. Howard G, Cushman M, Howard VJ, et al. Risk factors for intracerebral hemorrhage: the REasons for geographic and racial differences in stroke (REGARDS) study. Stroke 2013;44(5):1282-7.

33. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go a. S, et al. Heart Disease and Stroke Statistics--2015 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation 2015;131(4):e29-322.

34. Türkiye hastalık yükü Çalışması 2004- (Ed) Ünivar N, Mollahaliloğlu S, Yardım N. Ankara 2006, RSHMB Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı, Aydoğdu Ofset Matbaacılık, 2007; s. 24-41.

35. Özdemir G, Özkan S, Uzuner N ve ark (İzmir, Ege Ünv. Hastanesi). Türkiye'de beyin damar hastalıkları için major risk faktörleri: Türk çok merkezli strok çalışması. Türk BDH Derg 2000;6:31-35.

36. Kumral E, Ozkaya B, Sagduyu A, Sirin H, Vardarli E, Pehlivan M. The Ege Stroke Registry: a hospital-based study in the Aegean region, Izmir, Turkey. Analysis of 2,000 stroke patients. Cerebrovasc Dis 2015;8(5):278-88.

37. Hallstrom B, Jonsson A-C, Nerbrand C, Norrving B, Lindgren A. Stroke Incidence and Survival in the Beginning of the 21st Century in Southern Sweden: Comparisons With the Late 20th Century and Projections Into the Future. Stroke. 2007;39(1):10-5.

38. Ovbiagele B, Goldstein LB, Higashida RT, et al. Forecasting the future of stroke in the United States: a policy statement from the American Heart Association and American Stroke Association. Stroke 2013;44(8):2361-75.

39. Balkan S. Serebro Vasküler Hastalıklar. Güneş Kitabevi yayınları; 2005.

40. Deveci Ş,Çelebi A,Aşkın S,Gürsoy A,Kolukısa M.Akut iskemik inme ile ortalama trombosit hacmi ilişkisi. Ege Tıp Derg 2014;53:1-6

41. Bamford J, Sandercock P. Dennis M. Burn J. Warlow C. Classification and natural history of clinical subtypes of cerebral in infarction. Lavced 1991;337:1521-6.

42. Adams Jr HP, Bendixen BH, Kapelle J, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE, The TOAST inverstigators. Classification of subtypes of acute ischemic stroke. Definition for use in multicenter clinicinal trial. Stroke 1993;24:35-41.

43. Han H, He X,Tang J,liu W,Liu K.The C(-1562)T polymorphism of matrix metalloproteinase-9 gene is associated with schizophrenia in china. Phychiatry Res 2011;190:004-163.

44. Wolf PA, D'Agostino RB. ,O'Neal MA, Sytlowski P, Kase CS, Belanger AJ, Kannel WB. Secular trends in stroke incidence and mortality: the Framingham Study. Stroke 1992;23:1551-5.

45. Brown RD, hisnant JP, Sicks RD, O'Fallom WM, Wiebers DO. Stroke incidence, prevelance and survival: secular trends in Rochester, Minesota, through 1989. Stroke 1996;27:373-80.

46. Howad G, Anderson R, Sorlie P, Andrews V, Burke GL. Ethnic differences in stroke mortality. Between non- Hispanic Whites, Hispanic Whites and Blacks: the National Longitudinal mortality Study. Stroke 1994;25:2110-25.

47. He J, klag MJ, Whelton PK. Stroke in the People's Republic of China, I: Geographic variations in incidence and risk factors. Stroke 1995;26:2222-7.

48. Welin EL, Swardaud K, Wilhelmsen L, Larson B, Tıbblin B. Analysis of risk factors for stroke in cohort of men born in 1913. N Engl J Med 1987;317:521-6.

49. Kiely DK, Wolf PA, Cupples LA, Beiser AS, Myers RH. Famial Aggregation of stroke: the Framingham Study. Stroke 1993;24:1366-71.

50. Jerard Dunne P, Cloud G, Hassan A, Markus HS. Evaluating the genetic component of ischemic stroke subtypes. A family history study. Stroke 2003;34:1364-9.

51. LB Goldstein, R Adams, K Becker, CD Furberg, P.B.Gorelick, G.Hademenos, et al. Primary prevention of ischemic stroke: A statement for healthcare professionals from the stroke council of the american heart Association. Stroke 2001;32(1):280-99.

52. De Freitas GR, Bogousslavsky J. Primary stroke prevention. Eur J Neurology 2001;8(1):1-15.

53. D'Agostino RB, Wolf PA, Belanger AJ et al, Stroke risk profile: Adjustment for antihypertansive medication: the Framingham Study. Stroke 1994;25:40-3.

54. Curb JD, Pressel SL, Cutler JA. Effect of diuretic-based antihypertensive treatment on cardiovascular disease risk in older diabetic patients with isolated systolic hypertension. Systolic hypertension in the elderly program cooperative research group. JAMA 1996;276:1886-92.

55. SHEP Cooperative Research Group: Prevention of stroke by antyhypertensive drug treatment in older person with isolated systolic hypertension: the final results of them Systolic hypertension in the elderly program (SHEP). JAMA 1991;265:3255-64.

56. Burchfiel CM, Curb JD, Rodrigez BL. Glucose intolerance and stroke incidence: The honolulu heart program. Stroke 1994;25:951-7.

57. Gianfranco P,Grzegros B,Juan E.Benefits of tight blood pressure control indiabetic patients with hypertension. Diabetes Care 2011;34:297-303.

58. Simons LA, Simons J, friedlander Y, Mc Callum J. Cholesterol and other lipids predict coronary heart disease and ischemic stroke in the elderly, but only in those below 70 years. Atherosclerosis 2001;159(1):201-8.

59. Hess DC, Demchuk AM, Brass LM, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins): A promising approach to stroke prevention. Neurology 2000;54:790-6.

60. Blaw G, Lagay A, Smelt A, Westerdorp R. Stroke, statins and cholesterol: A metaanalysis of randomised, placebo- controlled, double blind trials with HMGCoA reductase inhibitors. Stroke 1997;28:946-50.

61. UK Prospective Diabetes Study Group tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes UKPDS 38 bmj 1998;317:703-713 (23*)Benjamin EJ, Wolf PA, D'agostino RB et al, Impact of AF on the risk of death., The Framingham Heart Study. Circulation 1998;98:946-652.

62. Zuber M, Mass JL: Epidemiologie des accidents vasculaires cerebreux.Rev Neurol 1992;148:245-55.

63. Ricci S, Flamini FO, Celani MG. Prevelance of internal carotid artery stenosis in subjects older than 49 year. Cerebrovascular Disease 1991;1:16-9.

64. Autret A, Saudeau D, Bertrand P et al. Stroke risk in patients with carotid stenosis. Lancet 1987;1:888-91.

65. Inzitari D, Eliasziw M, Gates P et al. The causes and risk of stroke in patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis. N Eng. J Med 2000;342:1693-700.

66. Ohene Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA et al, Cerebrovascular accidents in sicle cell disease; rates and risk factors. Blood 1998; 91:288-94.

67. Balkan S: Serebrovasküler Hastalıklar, Güneş Kitabevi Yayınları. 2002;5:56.

68. Palomaki H, Kaste M, Regular light to moderate intake of alcohol and the risk of ischemic stroke. Is there a beneficial effect? Stroke 1993;24:1828-32.

69. World Health Organization Stroke 1989, Recommendation on stroke prevention, diagnosis and therapy. Stroke 1989;20.1407-31.

70. Abbot RD, Rodriguez BL, Burchfield CM et al, Physical activity in older middle aged men and reduced risk of stroke: The Honolulu Heart Program. Am J Epidemiol 1994;139:881-93.

71. Manson JE, Stampfer MJ, Willet WC et al, Physical activity and incidence of coronary heart disease and stroke in women. Circulation 1995;91:5.

72. Sarkar PK, Lambert LA. Etiology and treatment of hyperhomocysteinemia causing ischemic stroke. Int J Clin Pract 2001;55(4):262-8.

73. Sloan MA, Kittner SJ, Freeser BR et al. Illicit drug associated ischemic stroke in Baltimore-Washington Young Stroke Study. Neorology 1998;50:1688-93.

74. Gillum LA, Mamidupidi SK, Johnston SC. stroke Ischemic risk with oral contraceptives, a metaanalysis. JAMA 2000;284:72-8.

75. Petiti DB, Sidney S, Bernstein A, Wolf S, Quesenberry C, Ziel HK et al, Stroke in users of low-dose oral contraceptives. N Eng J Med 1996;335:8-15.

76. Carlton C, Banks M, Sundararjan S. Oral contraceptives and ischemic stroke risk originally published. Stroke 2018;49:157-9.

77. Poulter NR and Meirik O. Ischemic stroke and combined oral contraceptives: results of an international, multicenter, case-control study: WHO colloborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception: Lancet 1996;348:498-505.

78. Warlow CP, Sandercock PAG, Hankey GJ, Van Gijn J, Dennis MS, Bamford J. et al. Stroke: A practical guide to management. 2nd edition, London: The Blackwell Science; 2001. s. 224-50.

79. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GRV. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. N Engl J Med 1995;332:993-7.

80. Rosamond WD, Folsom AR, Chambless LE, Wang CH, McGovern PG, Howard G. et al. Stroke incidence and survival among middle-aged adults: 9 year follow-up of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. Stroke 1999;30:736-743.

81. DeGraba TJ, Siren AL, Penix L, McCarron RM, Hargraves R, Sood S. et al. Increased endothelial expression of intercellular adhesion molecule–1 in symptomatic versus asymptomatic human carotid atherosclerotic plaque. Stroke 1998;29:1405-10.

82. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M Steinmetz H. et al. Inflammation in high grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. Stroke 1998;29:1652–30.

83. Plehn JF, Davis BR, Sacks FM, Rouleau JL, Pfeffer MA, Bernstein V. et al. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) study. The Care Investigators. Circulation 1999;99:216-23.

84. Zimmermann KP, Monga TN, Darouiche RO, Lawrence SA. Post-stroke autonomic nervous system function: palmar sympathetic skin responses thirty or more days after cerebrovacular accident. Arch Phys Med Rehabil 1995;76(3):250-6.

85. Oral B. Laktik Asit Bakterilerinde Tür İçi ve Türler Arası Ayrımda 16S-Ardra Tekniğinin Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi;2010.

86. Akçay F. İnsan Serum Paraoksonaz Enzimi (Pon 1) 192 Gln-Arg Gen PolimorfizminiBelirlenmesi (Tez). Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi;2006.

87. Maddalena Q, Marco J, Guy Van den Eede. Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri Kurs Elkitabı Bölüm 6; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR). JRJ European Commission 2006 (Çeviri 2010);9-10

88. https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/cloning/cloning-learning-center/invitrogen-school-of-molecular-biology/pcr-education/pcr-reagents-enzymes/pcr-cyclingconsiderations/jcr:content/MainParsys/image_c912/foregroundimg.img.320.medium.jpg/1498953629356.jpg. Erişim tarihi: 21 Temmuz 2017.

89. Alkanlı N. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ve Anjiyotensin II Tip 1 Reseptör GenPolimorfizmlerinin Türk Kadınlarında Görülen Preeklampsi İle İlişkisi (Tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi;2007

90. Amy R. Tso, Jose´ G. Merino, Steven Warach. Interleukin-6 174G/C Polymorphism and ischemic stroke a systematic review. Stroke 2007;38:3070-5.

91. Kara İ. İskemik İnmeli Hastalarda Matriks Metalloproteinaz-9 C-1562T Gen Polimorfizminin Araştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2017.

92. Shuzhen G, Yan S, Ruifa H, Lin W, Dongliang W, Jizuo W et al. Association between genetic polymorphisms of cytochrome P450 2C19 and the risk of cerebral ischemic stroke in Chinese. Biomed Central Med Genet 2014;15:83.

93. Z. Hashemizadeh SA, Malek H, Badiee P. Prevalence of CYP2C19 genetic polymorphism among normal people and patients with hepatic diseases. Int J Organ Transplant Med 2018;9(1):27–33.

94. Kanakaiah T, Prasad K, Mandava V. Basaveswara R. Detection of cytochrome p450 polymorphisms in breast cancer patients may impact on tamoxifen therapy. Asian Pac J Cancer Prev 2018;19(2):343–50.

95. Alexey P, Alexander K, Marina B, Svetlana S, Irina P, Anna B et al. Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in Russian population. Gene 2017;627:451-9.

96. Goktas MT, Karaca RO, Said K, Cevik L, Kilic L, Akdogan A et al. Decreased activity and genetic polymorphisms of CYP2C19 in Behçet's disease. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2017;121:266-71.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İskemik inme 8
Şekil 2. Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü 25
Şekil 3 Kan örneklerinden izole edilen DNA'ların % 0.8'lik agaroz jelde yürütülerek ultraviyole ışık altında görüntülenmesi. 29
Şekil 4. CYP2C19 gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları için elde edilen PZR ürünlerinin % 2'lik agaroz jelde yürütülerek ultraviyole ışık altında görüntülenmesi 29
Şekil 5. CYP2C19 gen polimorfizmi için kesim ürünlerinin % 2.5'lik agaroz jelde yürütülmesinin ardından ultraviyole ışık altında görüntülenmesi. 30
Şekil 6. Hasta ve kontrol gruplarında CYP2C19 gen polimorfizmi sonucunda elde edilen GG, AG ve AA allelleri arasındaki ilişki 30

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. CYP2C19 gen polimorfizmleri kesim sonuçları 22
Tablo 2. Hasta ve kontrol grupları arasındaki bulguların karşılarştırılması 28
Tablo 3. Her iki grupta bulunan kadın ve erkeklerin CYP2C19 gen polimorfizmleri genotip dağılımları 31
Tablo 4. Her iki grupta CYP2C19 gen polimorfizmleri genotip dağılımları 32

ÖZGEÇMİŞ

Ad:	**THABET**
Soyad:	**SALEH**
Doğum Yeri:	**SURİYE**
Doğum Tarihi:	**01/08/1990**
Görev Yeri:	**Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik A.D.**
Yabancı Dil:	**Arapça, İngilizce**
E-Posta Adresi	**thabetsaleh@trakya.edu.tr**
Tarih	**Eğitim**
20/11/2012	**Al-Baas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizik Tedavi Bölümü**
2016/2019	**Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitusu Biyofizik**
Varsa, İyi Klinik Uygulamalar Kapsamında Aldığı Eğitimler.	
Akademik Ünvanları	
İş Tecrübesi	
Varsa, Araştırmacı Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	
	İskemik İnmeli Hastalarda CYP2C19 Polimorfizminin Araştırılması
Varsa, Monitör/İzleyici Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	
Varsa, Saha Görevlisi Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	

EKLER

Ek 1

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2017/231	
	PROTOKOL ADI	İskemik İnmeli Hastalarda CYP2C19 (rs4244285) Gen Polimorfizminin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 15/04** **Tarih:06.09.2017**
	Fakültemiz Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Thabet SALEH'in tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. Ruhan Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	Mazereftli
Öğretim. Gör. Uzm. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	Mazereftli
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	Mazereftli
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	—
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	Mazereftli
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	—
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a.
Dekan Yrd.

Ek 2

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ

PROJE NO: 2019/21
PROJE NİTELİĞİ: YÜKSEK LİSANS

1-PROJE BAŞLIĞI

İskemik inmeli hastalarda CYP2C19 gen polimorfizminin araştırılması

2-PERSONEL BİLGİLERİ

	Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon
Proje Yöneticisi	Prof.Dr. Tevfik GÜLYAŞAR	Prof.Dr.	(555)555-5555
Araştırmacılar	Thabet SALEH		(535)779-2898

3-PROJE BÜTÇESİ

Teçhizatın Tanımı :	**Detay listesi ektedir.**
Ekonomik Kod	**Toplam Fiyatı (TL)**
03.03 Yolluk	
03.05 Hizmet Alımı	
03.02 Tüketime Yönelik Mal ve Malzeme Alımı	14,936.00
03.07 Menkul Mal, Gayrimaddi Hak Alım, Bakım ve Onarım Giderleri	
06.01 Mamul Mal Alımı	
TOPLAM ÖDENEK	14,936.00

3-PROJE GELİŞİMİ

1.Projenin Kabul Tarihi: 08-02-2019		
2.Projenin Başlama Tarihi :18-02-2019	**1.Ara Rapor** : 17-08-2019	**Sonuç :** ..... (+ / -)
3.Projenin Bitiş Tarihi : 18-02-2020	**Sonuç Raporu** : 17-02-2020	**Sonuç :** ..... (+ / -)
4.Projenin Süresi: 12 Ay		

5.İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE:

TIP FAKÜLTESİ / TEMEL TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ

6.PROJENİN UYGULAMASI

1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58.maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.
2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.
3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.
4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.
5. Bir ay geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.

	Adı-Soyadı	**Tarih**	**İmza**
Proje Yöneticisi :	Prof.Dr. Tevfik GÜLYAŞAR	25/02/2019	

Komisyon Başkanı

Prof. Dr. Cem UZUN
Rektör Yardımcısı