

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNTRAKRANİYAL ANEVİRİZMA İLE İLİŞKİLİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN
TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ**

AYŞEGÜL ERDEMİR

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. DİLEK TURGUT BALIK**

İSTANBUL, 2014

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNTRAKRANİYAL ANEVİZMA İLE İLİŞKİLİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN
TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ**

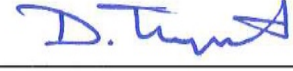
Ayşegül ERDEMİR tarafından hazırlanan tez çalışması 12/06/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Dilek TURGUT BALIK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Dilek TURGUT BALIK
Yıldız Teknik Üniversitesi



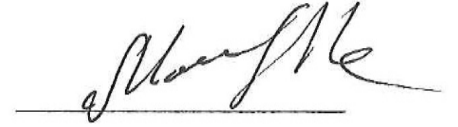
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Trakya Üniversitesi



Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Adil ALLAHVERDİYEV
Yıldız Teknik Üniversitesi



Doç. Dr. Fatma Sibel BAYRAMOĞLU
Bakırkör Dr. Sadi KONUK
Eğitim ve Araştırma Hastanesi



Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2012-07-04-KAP01 numaralı projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

ÖNSÖZ

Akademik eğitimim süresi boyunca ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerini paylaşıp, her konuda yakın ilgi ve desteğini esirgemeyerek gösterdiği sonsuz sabır için değerli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Dilek Turgut-Balık'a;

Tez çalışmam süresince bilgileri, tecrübeleri ve değerli fikirleri ile çalışmama katkıda bulunan tez izleme komitesi üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. İbrahim Işıldak ve Sayın Prof. Dr. Levent Öztürk'e;

Tez çalışmasının yürütülmesine maddi destek sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Başkanlığı'na ve bölümümdeki tüm hocalarıma;

Tez çalışmamda kullanılan kan örneklerini sağlayan ve çalışmamı içtenlikle destekleyen hocalarım Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği hekimleri Sayın Doç. Dr. Hakan Hatem Selçuk, Doç. Dr. Batuhan Kara ve Uzm. Dr. Nurten Turan Güner'e; istatistiksel analizler konusundaki değerli katkıları için Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü öğretim üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Hülya Ellidokuz ve Sayın Doç. Dr. Yasemin Baskın'a; verilerin düzenlenmesi aşamasındaki değerli katkılarından dolayı İstanbul Aydın Üniversitesi Yazılım Mühendisliği öğretim üyesi hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Balık'a;

Tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen Biyomühendislik Bölümü Rekombinant DNA Teknolojileri Laboratuvarı grup arkadaşlarım Dr. Ebru Özkan, Ayberk Akat, Arş. Gör. Emrah Sarıyer, Arş. Gör. Ebru Çayır, Ekrem Akbulut, Sinem Yakarsönmez, Arş. Gör. Belma Nural, Zeynep Büşra Bolat, İlke Güntan, Osman Uğurel, Erennur Uğurel ve bölümdeki diğer yüksek lisans, doktora öğrencisi arkadaşlarıma;

Bilgi ve dostluklarıyla her zaman yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Banu Mansuroğlu, Dr. Kadriye Kızılbey'e ve Arş. Gör. Dr. Serap Derman'a;

Hayatımın her döneminde varlıkları ile bana güç veren ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve akademik hayatı seçmemde bana yol göstererek her konuda hiçbir zaman sevgi ve emeklerini esirgemeyen dayım Prof. Dr. Mesut Güner'e,

Çok teşekkür ederim.

MAYIS 2014,

Ayşegül ERDEMİR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTIMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.1.1 İntrakraniyal Anevrizma	1
1.1.1.1 İntrakraniyal Anevrizma Tipleri ve Oluşum Sebebi	4
1.1.2 Epidemiyoloji	5
1.1.3 İntrakranial Anevrizma Risk Faktörleri	7
1.1.4 İntrakranial Anevrizma Tanı Teknikleri.....	9
1.1.5 İntrakranial Anevrizmada Tedavi Yöntemleri	10
1.1.6 İntrakranial Anevrizma ile İlgili Genetik Çalışmalar	12
1.1.6.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ve İntrakranial Anevrizma ile İlişkisi	16
1.1.7 SNP Analiz Yöntemleri	19
1.2 Tezin Amacı	23
1.3 Hipotez	24
BÖLÜM 2	25
MATERYAL VE YÖNTEM	25
2.1 Materyal.....	25
2.1.1 Çalışma Populasyonu	25
2.1.2 Hasta ve kontrol örneklerinin alınması ve arşivlenmesi.....	25
2.1.3 Kimyasal maddeler, enzimler ve kitler	26
2.1.4 Cihazlar	26

2.2	Yöntem.....	27
2.2.1	Genomik DNA izolasyonu	27
2.2.2	İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık tayini	28
2.2.3	Kütle spektroskopisi esaslı deney tasarımı.....	28
2.2.3.1	Assay dizaynı	28
2.2.3.2	Primer ve prob tasarımı	29
2.2.3.3	Multipleks PCR	31
2.2.3.4	dNTP Nötralizasyonu (SAP uygulaması).....	32
2.2.3.5	Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu.....	33
2.2.3.6	Rezin ile temizleme	35
2.2.3.7	Nanodispenser kullanılarak örneklerin çipe aktarımı	36
2.2.3.8	MALDI-TOF aracılığıyla genotipleme.....	36
2.2.4	İstatistik Analizler	36
2.2.4.1	Hardy-Weinberg Dengesinin Test Edilmesi.....	37
2.2.4.2	Olasılıklar Oranı (Odds Ratio=OR) Testi	37
2.2.4.3	Klinik ve Demografik Değişkenlerin SNP'lerle İlişkisinin Belirlenmesi	38
2.2.4.4	Lojistik Regresyon Analizi.....	39
BÖLÜM 3		40
SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....		40
3.1	İntrakranial Anevrizma Tanısının Yapılması ve Çalışma Populasyonunun Tanıtılması.....	40
3.2	DNA'ların Saflık ve Miktar Analizi	45
3.3	SNP Tayini ve Genom Dizisi Üzerindeki Konumları.....	50
3.4	Genotipleme uygulama sonuçları.....	52
3.5	İstatistik Analizler.....	54
3.5.1	Hardy-Weinberg Dengesi Testi Sonuçları.....	54
3.5.2	İntrakranial anevrizma ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi	56
3.5.2.1	İntrakraniyal anevrizma ile SNP genotiplerinin ilişkilendirilmesi. 56	
3.5.2.2	İntrakraniyal anevrizma ile SNP allelerinin ilişkilendirilmesi	58
3.5.3	İntrakranial Anevrizma Hastalarında SNP Genotiplerinin Bazı Klinik ve Demografik Değişkenlerle İlişkilendirilmesi.....	62
3.5.3.1	Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi.. 64	
3.5.3.2	Ailede İntrakranial Anevrizma Öyküsü ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi	65
3.5.3.3	Sigara Kullanımı ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi	67
3.5.3.4	İntrakranial Anevrizma Lokasyonu ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi 70	
3.5.4	Lojistik Regresyon Analizi	72
BÖLÜM 4		74
SONUÇ VE ÖNERİLER		74
4.1	Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi.....	74
4.2	Öneriler	78

KAYNAKLAR.....	79
EK-A	89
ETİK KURUL ONAYI	89
EK-B	90
ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	90
EK-C	92
HASTA BİLGİ FORMU.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	94

SİMGE LİSTESİ

A	Absorbans
Da	Dalton
ml	Mililitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
nl	Nanolitre
nm	Nanometre
OD	Optik dansite
rpm	Dakikadaki dönme sayısı
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
$^{\circ}$ C	Derece Santigrat

KISALTMA LİSTESİ

ACA	Anterior serebral arter
ACoA	Anterior kommunikan arter
BA	Baziler arter
bç	Baz çifti
BT	Bilgisayarlı tomografi
BTA	Bilgisayarlı tomografi anjiyografi
ddNTP	Dideoksiribonükleozid trifosfat
dH ₂ O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNDP	Deoksiribonükleozid difosfat
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
DSA	Dijital substraksiyon anjiyografi
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
eSNP	Ekzon SNP
GA	Güven aralığı
IA	İntrakranial anevrizma
ICA	İnternal karotid arter
iSNP	İntergenik SNP
iSNP	İntron SNP
MAF	Minör allel frekansı
MALDI	Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon
MCA	Orta serebral arter
MR	Manyetik rezonans
MRA	Manyetik rezonans anjiyografi
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
MS	Kütle spektrometrisi
OR	Olasılıklar oranı
PICA	Posterior inferior serebellar arter
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCoA	Posterior kommunikan arter
pSNP	Promotor SNP
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
rSNP	Düzenleyici SNP

SAP	Shrimp alkalen fosfotaz
SAK	Subaraknoid kanama
SCA	Superior serebellar arter
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
sSNP	Sinonim SNP
STR	Kısa ardışık tekrarlar
TOF	Uçuş zamanlı
U	Ünite
UEP	Uzamayan primerler
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-görünür bölge
VA	Vertebral arter
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. 1	Bir intrakraniyal anevrizmanın mikroskopik anatomisi. 2
Şekil 1. 2	İntrakraniyal anevrizma anatomisi genel görünüm ve tipleri..... 4
Şekil 1. 3	İntrakraniyal anevrizmaların en sık gözleendiği bölgeleri içeren intrakraniyal damar sistemi..... 6
Şekil 1. 4	Transversiyon ve transisyonların şematik gösterimi 16
Şekil 1. 5	Farklı SNP çeşitlerinin gendeki pozisyonları..... 17
Şekil 1. 6	Tek baz spesifik uzama reaksiyon (iPLEX reaksiyonu) basamakları şeması . 22
Şekil 1. 7	MALDI-TOF reaksiyon şeması 23
Şekil 2. 1	Primerlerin dört aşamalı uzama probu ayarlama metoduna göre gruplandırılması. 34
Şekil 3. 1	Çalışma grubundaki bireylerin yaşlarına göre yüzde dağılım grafiği 41
Şekil 3. 2	Çalışma grubundaki bireylerin cinsiyete göre yüzde dağılım grafiği 41
Şekil 3. 3	Çalışma grubunun hipertansiyon görülme durumlarına göre yüzde dağılım grafiği 42
Şekil 3. 4	Çalışma grubunun kardiyovasküler hastalık öyküsü durumlarına göre yüzde dağılım grafiği..... 42
Şekil 3. 5	Çalışma grubunun sigara kullanım durumlarına göre yüzde dağılım grafiği 43
Şekil 3. 6	Çalışma grubunun alkol kullanım durumlarına göre yüzde dağılım grafiği . 43
Şekil 3. 7	Çalışma grubunun ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü durumlarına göre yüzde dağılım grafiği 44
Şekil 3. 8	Çalışma grubundaki hasta bireylerde en sık gözlenen anevrizma lokasyonları yüzde dağılım grafiği..... 44
Şekil 3. 9	Çalışma grubundaki hasta bireylerdeki anevrizma boyutunun 7 mm referans değere göre yüzde dağılım grafiği 45
Şekil 3. 10	rs10757278 polimorfizmi için genotipleme sonucu örneği 53
Şekil 3. 11	rs10757272 için spektrum örneği. 54

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 1. 1	Hunt ve Hess Evrelemesi 3
Çizelge 1. 2	Subaraknoid kanamanın derecesini belirleme amacıyla kullanılan Fisher skalası 4
Çizelge 1. 3	İntrakraniyal anevrizma risk faktörleri 9
Çizelge 1. 4	Yaygın olarak kullanılan genotipleme assaylerinin temel özellikleri 20
Çizelge 2. 1	Multipleks reaksiyonlarda yer alan SNP'ler 29
Çizelge 2. 2	SNP'ler ve genotipleme primerleri..... 30
Çizelge 2. 3	SNP allelleri arasındaki kütle farklılıkları 31
Çizelge 2. 4	Multipleks PCR karışımı 32
Çizelge 2. 5	SAP reaksiyonu bileşenleri 33
Çizelge 2. 6	Tek baz spesifik uzama reaksiyonu bileşenleri..... 35
Çizelge 2. 7	Tek baz spesifik uzama reaksiyonu koşulları..... 35
Çizelge 2. 8	Olasılıklar oranı hesaplama prensibi 38
Çizelge 3. 1	Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini 45
Çizelge 3. 2	Analiz edilen SNP'lerin genomdaki konumları ve allel bilgileri 50
Çizelge 3. 3	rs9315204 no'lu SNP'nin bulunduğu DNA dizisi 51
Çizelge 3. 4	Hardy-Weinberg testi sonuçları 55
Çizelge 3. 5	SNP genotiplerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmesi 57
Çizelge 3. 6	SNP allellerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmesi..... 59
Çizelge 3. 7	İntrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı 62
Çizelge 3. 8	Tüm klinik ve demografik değişkenlerin SNP'lerle ilişkilendirilmesi. İlişkili olan SNP'ler kalın olarak gösterilmiştir 63
Çizelge 3. 9	Kardiyovasküler hastalık öyküsünün rs6538595 polimorfizmi ile ilişkisini gösteren çapraz tablo..... 64
Çizelge 3. 10	Ailede intrakraniyal anevrizma öyküsünün rs9298506 polimorfizmi için çapraz tablosu 65
Çizelge 3. 11	Ailede intrakraniyal anevrizma öyküsünün rs10757278 polimorfizmi için çapraz tablosu 66
Çizelge 3. 12	Sigara kullanımının rs1333040 polimorfizmi için çapraz tablosu..... 68
Çizelge 3. 13	Sigara kullanımının rs1429412 polimorfizmi için çapraz tablosu..... 68
Çizelge 3. 14	Sigara kullanımının rs9315204 polimorfizmi için çapraz tablosu..... 69
Çizelge 3. 15	Sigara kullanımının rs10757272 polimorfizmi için çapraz tablosu..... 69

Çizelge 3. 16	İntrakraniyal anevrizma lokasyonunun rs6841581 polimorfizmi için çapraz tablosu	71
Çizelge 3. 17	İntrakraniyal anevrizma lokasyonunun rs6842241 polimorfizmi için çapraz tablosu	71
Çizelge 3. 18	Lojistik regresyon analizi sonuçları.....	72
Çizelge 4. 1	Analiz edilen parametrelerle ilişkilendirilen SNP'lerin dağılımı	75
Çizelge 4. 2	SNP'ler ile IA ile ilişkilendirilen klinik ve demografik verilerin toplumsal dağılımı	76

İNTRAKRANİYAL ANEVİRİZMA İLE İLİŞKİLİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ

Ayşegül ERDEMİR

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek TURGUT BALIK

Intrakranial anevrizmalar (IA) beyindeki intrakraniyal arter duvarının baloncuk şeklinde genişlemesidir. Birçok genetik ve çevresel risk faktörlerinden kaynaklanan sebepler ile toplumun %2-5'ini etkilemektedirler. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) DNA dizilimindeki bir pozisyonda görülen varyasyonlardır ve bireylerin belirli hastalıkları geliştirme durumlarına karşı genetik yatkınlığını belirleme ile ilişkilendirilmektedirler. Son zamanlarda, genom boyu araştırma çalışmaları ile birkaç tek nükleotid polimorfizmi intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmiştir. Bilgimiz dahilinde, Türk populasyonundaki etkileri henüz değerlendirilmemiş olan bu SNP'lerin çalışılmasına büyük ihtiyaç doğmaktadır. Bu tez çalışması ile farklı toplumlarda IA ile ilişkilendirilen 15 farklı polimorfizmin Türk toplumunda genetik risk yatkınlığını belirlemek amacıyla genotipleme ve analizi gerçekleştirilmiştir. 15 SNP'nin 208 örnekte (105 hasta, 103 kontrol) genotiplenmesi iPLEX yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. 15 SNP'nin her biri için Hardy Weinberg Dengesi test edilmiştir ve tüm genotip frekanslarının dengede olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). SNP allel ve genotiplerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkisi araştırılmıştır ve çalışılan SNP'lerin istatistiki olarak toplumumuzda intrakraniyal anevrizma ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. SNP genotipleri ile hastaların bazı klinik-demografik değişkenlerinin ilişkisi araştırıldığında; kardiyovasküler hastalık öyküsü ile rs6538595; ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü ile rs9315204 ve rs 10757278; sigara kullanımı ile rs1333040, rs1429412, rs10757272 ve rs10757278 polimorfizmlerine ait genotiplerin hastalık ile istatistiki olarak ilişkisinin anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Lojistik regresyon analizi ile klinik-demografik faktörler ve genotiplerin

hastalık riski üzerine etkileri analiz edilerek, bu değerlendirmede çalışma grubunda cinsiyet, ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü ve sigara kullanımının intrakraniyal anevrizma için anlamlı risk faktörleri olduğu sonucu elde edilmiştir. Sonuç olarak; yapılan çalışma ile toplumumuzda ilk defa çoklu örnekte, oklu SNP intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilerek, örneklerin yüksek doğrulukta genotiplenmesini sağlayan bir uygulama gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tek nükleotid polimorfizmleri, intrakraniyal anevrizma, multipleks PCR, SNP genotipleme

**INVESTIGATION OF GENE POLYMORPHISMS ASSOCIATED WITH
INTRACRANIAL ANEURYSM IN TURKISH PATIENTS**

Ayşegül ERDEMİR

Department of Bioengineering

Ph.D. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Dilek TURGUT BALIK

Intracranial aneurysms (IA) are balloon like dilation of the intracranial arterial wall in the brain. It affects %2-5 of the general population and arise from the action of multiple genetic and environmental risk factors. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are variations at a single position in a DNA sequence among individuals and they are associated with certain diseases to evaluate an individual's genetic predisposition to develop a disease. Recently, several SNPs associated with IA have been identified in genome-wide association studies. To our knowledge, the effects of these SNP's in Turkish population has not been studied and this arises great necessity to study them. With this thesis study it is aimed to genotype and analyze 15 different polymorphisms, known to be associated with IA in different populations, to determine genetic risk predisposition of these SNPs in Turkish population. Genotyping of 15 SNPs was performed in 208 samples (105 patients, 103 controls) by iPLEX method. Hardy Weinberg Equilibrium was tested for each of 15 SNPs and it is obtained that all genotype frequencies was at HWE ($p \leq 0,05$). The association of SNP alleles and genotypes with intracranial aneurysm was investigated and it is found that SNPs which studied in this thesis have no statistically association with intracranial aneurysm in our population ($OR > 1$, $p \leq 0,05$). Associations between genotypes of SNPs and clinical-

demographic variables were investigated and SNPs that found to be statistically associated with history of cardiovascular disease was rs6538595; with family history of intracranial aneurysm were rs9315204 and rs10757278; with smoking were rs1333040, rs1429412, rs10757272 and rs10757278 ($p \leq 0,05$). Logistic regression analyses were used to ascertain the effects of clinical-demographic factors and genotypes in the intracranial aneurysm susceptibility and with this assessment gender, family history of intracranial aneurysm and smoking were found to be significant risk factors for intracranial aneurysm in study group. Consequently, with this study multiple SNPs in multiple sample associated with intracranial aneurysm for the first time in our population.

Keywords: Single nucleotide polymorphism (SNP), intracranial aneurysm, multiplex PCR, SNP genotyping

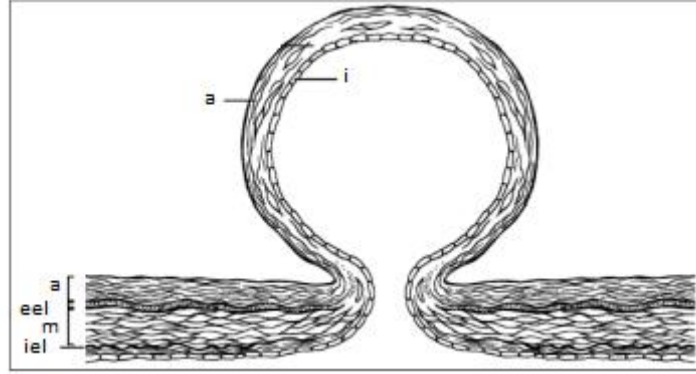
1.1 Literatür Özeti

1.1.1 İntrakranial Anevrizma

İntrakranial anevrizmalar genel toplumun %3-5'ini etkileyen ve arter duvarında internal elastik lamina tabakasındaki kollajen fiberlerin dejenerasyonu ve zayıflaması sonucunda oluşan bir hastalıktır [1]. Serebral anevrizmalar 19. yüzyılın sonlarına kadar ölümden önce tanımlanamamıştır. 1872'de Quincke lumbar porksiyon tekniğini tanımlamış ve bununla birlikte 1891'de ölümden önce subaraknoid kanama (SAK) tanısı Wichern tarafından yapılabilmıştır. SAK'ın klinik tanısının yapılabilmesine karşın, 1928 yılında Egal Moniz serebral anjiyografi tekniğini bulana kadar kanamanın yerinin tespiti mümkün olamamıştır. Anjiyografi tekniği 1940'lı yıllarda uygulanmaya başlanmış ve 1950'lerde kontrast maddelerin kullanımında yapılan iyileştirmeler sayesinde anevrizmaya bağlı SAK tanısının konulmasında artış gözlemlenmiştir [2]. Dijital substraksiyon anjiyografi (DSA), bilgisayarlı tomografi (BT) ve BT anjiyografi (BTA), manyetik rezonans görüntüleme (MRG), ve manyetik rezonans anjiyografi (MRA) yöntemlerindeki son 30 yıl içinde ilerlemeler ile anevrizma tanı ve tedavisinde büyük gelişmeler sağlanmıştır [3].

Serebral arterlerin bifurkasyon bölgeleri anevrizmaların en sık geliştiği yerlerdir. Bir arter duvarının histolojik kesitinde içten dışarıya doğru sırasıyla endotelial tabaka, intima, internal elastik lamina, arter duvarlarının bütünlüğünü sağlayan media tabakası ve bunun dışında da adventisya tabakası bulunur. Eksternal elastik lamina intrakranial

damarlarda bulunmaz. Anevrizma kesesinde ise internal elastik tabaka azalmış ve kaybolmuş, media tabakası ise yoktur (Şekil 1.1) [4] .



Şekil 1. 1 Bir intrakraniyal anevrizmanın mikroskopik anatomisi. İnternal elastik lamina anevrizma duvarında kaybolmuştur media tabakası ise anevrizma tepesinde incelmış ve devamlılığını kaybederek bozulmuştur. a: adventisya, i: intima, m:media, eel: eksternal elastik lamina, iel: internal elastik lamina.

Anevrizmalar baş ağrısından kitle etkisine, tromboemboliye ve subaraknoid kanamaya uzanan klinik tablolara yol açabilir. IA'ların en istenmeyen komplikasyon olasılığı değiştirilemeyen bir takım risk faktörlerine bağlı olarak oluşan kanamadır. SAK, anevrizmaların en sık görülen ortaya çıkma şeklidir [5]. Günümüzde gelişen hassasiyette ve non-invaziv görüntüleme teknikleri sayesinde anevrizmaların kanamadan önce etkin olarak tespiti giderek artmaktadır. Kanamamış bir anevrizma tesadüfen asemptomatik olabilir ya da semptomlar temelinde tanımlanabilir [6].

Anevrizma prevelansının yıllık SAK insidansından 200 kat fazla olduğu göz önüne alındığında anevrizmaların çoğunun rüptüre olmadığı bilinmektedir [7]. Rüptüre olmamış asemptomatik anevrizmaların rüptür riski ise yılda ortalama %1-2 arasında değişmektedir [8], [9]. Tanıdan sonraki 10 yıl içinde kümülatif kanama oranı % 20, 15 yıl içinde kanama oranı yaklaşık % 35 olup rüptür riski çoklu anevrizması olan hastalarda ise belirgin olarak daha fazladır [9].

Anevrizma oluşumunu hemodinamik kuvvetler başlatsa da anevrizma duvarındaki tensil stresler rüptür gelişiminde daha önemlidir [7]. Rüptür riskini etkileyen en önemli faktör anevrizmanın boyutudur. Anevrizmaların hacimleri ile orantılı olarak rüptür sıklığının arttığı bildirilmiştir [8], [10]. Yedi mm ve üstündeki çaplardaki anevrizmaların yıllık rüptür riski % 2.5 olup daha küçük anevrizmaların ise yaklaşık % 1'dir [11].

Anevrizma boyutu gibi anevrizma kesesi ile boyun oranı da rüptür riski ile korelasyon göstermektedir [12], [13].

Subaraknoid kanama intrakraniyal anevrizmaların en sık görülen ve acil müdahale gerektiren klinik prezentasyondur. Anevrizma kaynaklı subaraknoid kanamaları hastalar, "hayatımdaki en kötü baş ağrısı", şeklinde tanımlamaktadırlar. Diğer klinik prezentasyonları arasında baş ağrısına eşlik eden ense sertliği bulunmaktadır. İntrakranial anevrizmaya bağlı subaraknoid kanama geçiren hastalarda kanamaya bağlı oluşan basınç yükselmelerinde hastaların yaklaşık %10'unda herhangi bir tıbbi yardım alamadan ölüm görülebilir ve bu durum posterior sirkülasyonlu anevrizmalarda daha siktir. Birçok hastada ise koma veya felç gibi birtakım nörolojik bozukluklar gözlenir [14].

Hastalığın klinik derecelendirilmesi Hunt ve Hess evrelemesine göre yapılır (Çizelge 1.1). Erken cerrahi müdahaleye aday hastaların belirlenmesinde ve hastanın prognozunun belirlenmesinde bu evreleme sisteminden faydalanılır. Evre 1-3 arasındaki hastalarda erken cerrahi müdahalenin geç cerrahi müdahaleden daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Bu sonucun, hastanın yeniden kanamasının engellenmesine ve tedavi edilmiş anevrizmalı hastalardaki vazospazm tedavisinin daha etkin yapılabilmesine bağlı olduğu düşünülmektedir [15]. Ancak bu çalışmada Evre 4-5 hastalarda erken cerrahinin yararlı olduğu konusunda kesin sonuç elde edilememiştir. Yine de, bu konuda yapılan yoğun tartışmalar sonucunda uyanık ve denileni anlayabilen hastalarda erken cerrahi ve mobilizasyonun yararlı olduğu düşünülmektedir [15], [16].

Çizelge 1. 1 Hunt ve Hess Evrelemesi

EVRE	TANIM
0	Rüptüre olmamış anevrizma
1	Asemptomatik ya da hafif baş ağrısı, ense sertliği
2	Kranyal sinir felci/orta derece baş ağrısı, ense sertliği
3	Orta derecede fokal defisit, letarji ya da konfüzyon
4	Stupor, orta derecede hemiparezi, erken deserebre rijiditesi
5	Derin koma, deserebre postür

Akut SAK'ın görüntülenmesi kontrastsız bilgisayarlı tomografi (BT) ile yapılır veya özel MR sekansları kullanılır. SAK'ın miktarı ise Fisher skalası Çizelge 1.2 kullanılarak skorlandırılmaktadır [17].

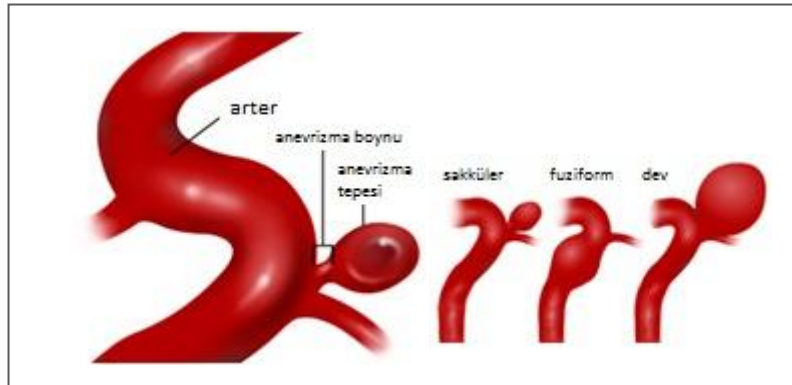
Çizelge 1. 2 Subaraknoid kanamanın derecesini belirleme amacıyla kullanılan Fisher skalası

EVRE	TANIM
0	Rüptüre olmamış anevrizma
1	Kan saptanmıyor
2	Diffüz veya vertikal olarak 1 mm'den az kalınlıkta kan
3	Lokalize pıhtı ve/veya vertikal tabaka şeklinde 1mm'den kalın kan
4	Serebral veya intraventriküler pıhtı, diffüz SAK eşlik ediyor ya da etmiyor

1.1.1.1 İntrakranial Anevrizma Tipleri ve Oluşum Sebebi

İntrakranial anevrizmalar morfolojilerine ve büyüklüklerine göre sınıflandırılabilir. Çapı 10 mm'den küçük olan sakküler anevrizmalar küçük, 10-25 mm arasındakiler büyük, 25 mm'den büyük olanlar ise dev anevrizma olarak adlandırılır [18].

Morfolojilerine göre anevrizmalar sakküler ve sakküler olmayan olarak ikiye ayrılır (Şekil 1.2).



Şekil 1. 2 İntrakranial anevrizma anatomisi genel görünüm ve tipleri [19]

Anevrizmaların %90-95'i sakkülerdir. Sakküler anevrizmalar genellikle arteriyel bifurkasyondan köken almaktadır ve sıklıkla Willis poligonunda bulunur. Sakküler anevrizmalar damar lümeni tarafında bulunan tunika intima, tunika media (kaslı orta

tabaka) ve genellikle bağ dokuyu içeren dış katman tunika adventisyadan oluşan normal arteriyal yapının bozulması sonucu meydana gelirler. Sakküler anevrizmalar internal elastik lamina da kollajen eksikliği ve tunika media'nın bozulması sonucu oluşurlar [20].

Sakküler olmayan anevrizmalar; fusiform, dissekan, serpentin ve mikotik olarak sıralanabilir. Fusiform anevrizmalar damar duvarındaki dejeneratif değişiklikler ve ateroskleroz nedeniyle gelişir. Yaşlılarda ve posterior sistemde daha sıklıkla bulunurlar.

Dissekan anevrizmalar intima ve internal elastik laminadaki bir yırtığa sekonder gelişir. Bu yırtık adventisya tabakasına ulaşır ise subaraknoid kanama gelişir. Genç hastalarda ve posterior sistemde daha sık görülür. Fibromusküler displazi, poliarteritis nodosa, sifiliz hastalarında ve medial kistik dejenerasyonu olan hastalarda daha sıklıkla rastlanır [21].

Serpentin anevrizmalar ayrı giriş ve çıkış yolları olan, dev, parsiyel tromboze, yavaş akımlı, irregüler vasküler kanal şeklinde, damar duvarındaki reküren kanamalara ikincil gelişen psödoanevrizmalardır [22].

Mikotik anevrizma teriminin ilk kullanımı 1885' de mantarlara bağlı anevrizmalar gerçekleştirilmiştir. Günümüzde arteriyal duvarın mikroorganizmalar ile enfekte olduğu ve bir enfeksiyon sonucu gelişen anevrizmalar mikotik anevrizma olarak nitelendirilmektedir. Mikotik anevrizmalar en sık aorta (%40), periferik arterler (%35) ve viseral arterlerde (%20) gelişmekle birlikte en önemli etkenleri (%30) stafilokok türleridir. Ayrıca hastaların yarısında immun yetmezlik olduğu bildirilmiştir [23], [24].

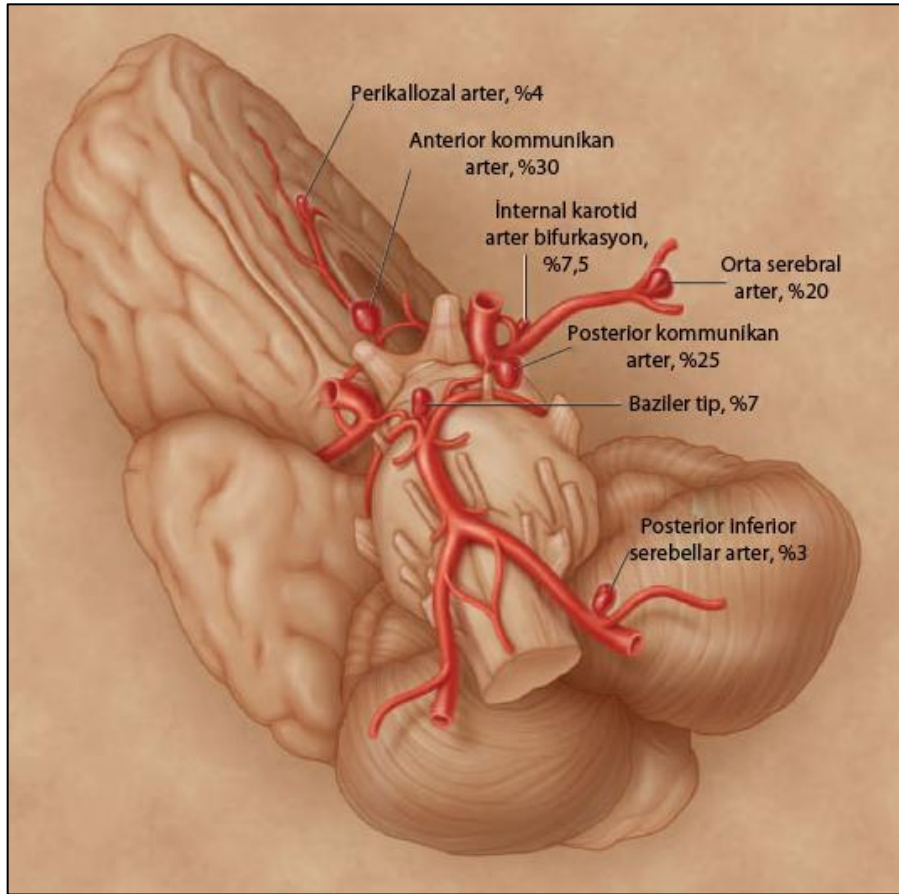
Travmatik anevrizmalar ve neoplastik anevrizmalar nadiren gelişir. Neoplastik anevrizmalar koryokarsinoma ve kardiyak miksomaya sekonder gelişebilir [25].

1.1.2 Epidemiyoloji

Yapılan birçok otopsi ve anjiyografi çalışmasında erişkin serilerde intrakraniyal anevrizma prevalansı %0.5 ile %6 arasında bulunmuştur [26]. İntrakranial arterler vücutta anevrizmaların en sık izlendiği lokalizasyonlardır ve sakküler tip anevrizmalar en sık izlenen intrakraniyal anevrizma tipidir. Sakküler anevrizmalar gelişim noktaları sıklıkla Willis poligonu proksimalindeki arterlerin bifurkasyon noktalarıdır. Bu

anevrizmaların izlediği yerler ise %85-90 oranında anterior sirkülasyon, %10-15 oranında ise posterior sirkülasyondur (Şekil 1.3). Anterior sirkülasyonda anterior kommunikan arterde (ACoA) %30-35, posterior kommunikan arter (PCoA) orijininde %30-35 ve orta serebral arter (MCA) bifurkasyonunda %20 oranında gözlenir [16], [27]. Posterior sirkülasyonda ise sıklıkla baziler arter bifurkasyonundan ve posterior inferior serebellar arter (PICA) orijininden kaynak alırlar [16].

Anevrizma olguları, kanamamış intrakraniyal anevrizma durumları referans alınarak kıyaslandığında kadınlarda erkeklere oranla üç kat daha fazla görülmektedir. Ayrıca IA %70-75 oranında tek olarak görülürken, %25-30 oranında çoklu anevrizmalar olarak ortaya çıkmaktadır [28].



Şekil 1. 3 İntrakraniyal anevrizmaların en sık gözleendiği bölgeleri içeren intrakraniyal damar sistemi. Yüzdeler intrakraniyal anevrizma insidansını belirtmektedir [1].

İntrakraniyal anevrizmaya bağlı olarak meydana gelen subaraknoid kanamalar ise kadınlarda erkeklere oranla 1.24 kat fazla ve siyahilerde beyazlara oranla 2.1 kat fazla görülmektedir [29], [30].

Subaraknoid kanamaların yıllık insidansı coğrafi bölgeler arasında geniş bir çeşitlilik göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yapmış olduğu geniş çaptaki yaş grubu ayarlanmış SAK vakaları ile ilgili çalışmada, vakalarının ülkeler arasında 10 kata varan oranda değiştiğini belirlemiştir. SAK insidansı Çin'de 100.000'de 2.0 iken Finlandiya'da ise 100.000'de 22.5 olarak tespit edilmiştir. Anevrizmaların yeri ve boyutuna bağlı kanama riski Japon popülasyonunda %2.7 ve beyaz popülasyonda ise %1.9 olarak rapor edilmiştir [31], [32].

Anevrizmaların gelişimini ve kanamasını birçok faktör etkilemesine rağmen bebeklik, çocukluk ve ergenlik dönemindeki bireylerde görülme sıklığı tüm serebral anevrizmaların %2'den azını oluşturmaktadır. Çocuklarda görülen anevrizmaların çeyreği sıklıkla internal karotid arter (ICA) bifurkasyon bölgesinde oluşmaktadır [33]. Bu grupta anevrizmaların oldukça nadir rastlanması bunun dejeneratif bir süreç olduğunu göstermektedir [16].

Tüm tıbbi ve nöroşirürjik gelişmelere karşın intrakraniyal anevrizmaya bağlı gelişen SAK olgularında bireylerin %40-50'si tedaviye rağmen kaybedilir. Buna ilave olarak %10-20'si çoğunlukla felç geçirir ve tüm vakaların yaklaşık %40'ı iyileşme göstermektedir. SAK inmenin en sık görülen ve genç erişkinlerde çoğunlukla ölümlü sonuçlanan bir formudur [34].

1.1.3 İntrakraniyal Anevrizma Risk Faktörleri

Damar duvarındaki bozukluklar, aterosklerotik değişimler, travma veya enfeksiyöz emboli sebebiyle meydana gelen lezyonlar gibi sebeplerin tetiklediği bilinen intrakraniyal anevrizmalarının oluşumunun etiyojisi hala tam olarak kesinleşmemiştir [35].

İntrakraniyal anevrizmaların gelişiminde hem kalıtsal hem de çevresel faktörlerin etkisi ile tetiklenen birçok risk faktörü bulunmaktadır. Kanamamış bir anevrizmanın rüptür riskini hesaplamak ve buna göre tedavi zamanına karar vermek üzerine çok çalışılmıştır ve birçok faktör ortaya atılmıştır [32].

Bu faktörleri, anevrizma ve çevre vasküler yapılarından bağımsız olanlar, anevrizma ve serebral sirkülasyon ile ilgili olanlar ve genetik faktörler olarak gruplandırmak

mümkündür. Yaş, cinsiyet, hipertansiyon, sigara kullanımı, alkol kullanımı, özgeçmişte diyabet, geçirilmiş SAK varlığı ve etnisite gibi faktörler anevrizma ve çevresel vasküler yapılardan bağımsız faktörler arasında yer almaktadır [4]. Bunlardan en çok incelenenler yaş, cinsiyet ve özgeçmişte intrakraniyal sirkülasyonda başka bir anevrizmaya bağlı ikincil gelişmiş SAK varlığıdır [4], [16].

Yapılan çalışmalarda anevrizmaya bağlı olarak rüptüre olma riskinin yaşa bağlı olarak arttığı ancak rüptür riskinin 60 yaş üzerindeki hastalarda genç hastalara göre %1.2 ile %1.7 oranında daha fazla olduğu bildirilmiştir [36]. Cinsiyete bağlı olarak yapılan çalışmalarda ise kadınların erkeklere oranla anevrizma oluşumunda daha fazla risk taşıdıkları ve kadınlarda erkeklere göre rölatif risk oranının %1.4 ile %1.6 arası olduğu tespit edilmiştir [4]. Bazı prospektif çalışmalarda ise hipertansiyon ve anevrizma kaynaklı SAK arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmektedir. Bu nedenle tansiyon kontrolü anevrizmal rüptür riskini azaltmak açısından bir önlem olarak görülmektedir. Ancak bazı araştırmacılara göre hipertansiyonun intrakraniyal anevrizma oluşumunda risk faktörü olmasına karşın anevrizma oluştuktan sonra rüptür riskini etkilemediği düşünülmektedir [37], [38]. Yapılan analitik çalışmalarda sigara kullanımının SAK oranını anlamlı şekilde arttırdığı saptanmıştır. Yaygın toplum bazlı kohort çalışmalarında sigara içenlerde içmeyenlere göre %2.2 rölatif risk artışı belirlenmiştir [4]. Ayrıca yüksek miktarda alkol tüketiminin anevrizma oluşumu ve büyümesine etki etmediği ancak SAK riskini arttırdığı rapor edilmiştir [39]. Bunların dışında siyah ırkta beyaz ırka göre SAK rölatif risk oranı 1.8 kat daha fazla saptanmıştır [4].

Anevrizma rüptürünü etkileyen faktörlerden en çok araştırılanlar anevrizmanın boyutu ve lokalizasyonudur [40]. Anterior kommunikan arter (ACoA) yerleşimli anevrizmalarda kanamamışların kanamış olanlara oranı, intrakraniyal sirkülasyonun diğer noktalarındakilere göre daha fazla bulunmuştur. Anevrizmaların rüptür riskinin boyutları 7 mm'nin üzerinde olduğunda arttığı bilinmektedir. Anevrizma boyutu ile rüptür riski arasında doğrusal bir ilişkinin varlığı hesaplandığında rüptüre olmamış anevrizmaların ortalama boyutunun 4 ile 6 mm ve rüptüre anevrizmaların ortalama boyutunun ise 5 ile 8 mm olduğu belirlenmiştir [11].

Çeşitli kalıtsal bağ doku hastalıklarının vasküler duvarların zayıflamasının bir sonucu olarak anevrizma oluşumu ile ilişkileri bildirilmiştir. Kalıtsal risk faktörleri ve diğer risk faktörleri Çizelge 1.3'de özetlenmiştir [41].

Çizelge 1. 3 İntrakranial anevrizma risk faktörleri. *İlişkinin önemi ile ilgili çalışmalar sürmektedir. [41]

Kalıtsal Risk Faktörleri	Diğer risk faktörleri
Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı	50 yaş üzeri
Tip IV Ehlers-Danlos sendromu	Kadın cinsiyeti
Pseudoxanthoma elasticum	Güncel sigara kullanımı
Kalıtsal hemorajik telenjektazi	Kokain kullanımı
Tip 1 Nörofibromatozis	Damar duvarının enfeksiyonu
Alpha1-antitripsin eksikliği	Kafa travması
Aort koarktasyonu	Intrakraniyal neoplazm/neoplastik emboli
Fibromusküler displazi	Hipertansiyon*
Feokromositoma	Alkol*
Klinefelter sendromu	Oral kontraseptif hap kullanımı *
Tüberoz skleroz	Hiperkolesterolemi *
Noonan sendromu	
Alfa-glukozidaz eksikliği	

1.1.4 İntrakranial Anevrizma Tanı Teknikleri

Travma dışı subaraknoid kanamaların etyolojisindeki en sık neden intrakraniyal anevrizma rüptürüdür. İntrakranial anevrizma rüptürü yüksek mortalite ve morbidite oranına sahiptir, bu nedenle anevrizmaların erken tanısı ve anatomik karakterizasyonunun belirlenmesi cerrahi ve endovasküler tedavinin planlanmasında önemli bir yere sahiptir [42] .

Serebral anevrizmaların tanısında geçerli olan üç yöntem vardır. Bunlar; manyetik rezonans anjiyografi (MRA), dijital substraksiyon anjiyografi (DSA) ve 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi anjiyografidir (BTA) [43].

Anevrizma büyüklüğü, konfigürasyonu ve morfolojisini belirlemek için üç farklı MR anjiyografi tekniği bulunmaktadır. Bunlar, time of flight (TOF), faz karşıtlığı (PC) ve karşıtlığı geliştirilmiş (CE) MR anjiyografidir. Her birinin kendi ayrı avantajları ve uygulamaları vardır [44]. MRA, iyonize radyasyon ve iyodin bazlı boya maddesi kullanmaz. MRA'nın en önemli avantajlarından biri, görüntülerin esnekliğidir. Kan damarı görüntüleri döndürülebilir ve farklı açılardan incelenebilir [44].

Anjiyografi, anevrizmaların tespitinde en iyi yöntem olmasına rağmen MRA da eğer anevrizma boyutu 3 mm'den büyük ise %95 oranında başarı gösterebilmektedir. İntrakraniyal anevrizmaların ancak %73.3'ü MRA ile tespit edilebilir [45]. Dijital substraksiyon anjiyografi (DSA) ise intrakraniyal anevrizma tanısında referans standart yöntem kabul edilmektedir. DSA girişimsel radyoloji alanında kullanılan floroskopik bir teknik olup incelenecek bölgede görüntülenecek damar dışında başta kemik olmak üzere tüm süperpozisyonları ortadan kaldırmak için uygulanan çıkarma yöntemidir [46]. DSA tekniğinde damar yapısı incelenecek bölgenin kontrast madde bölgeye ulaşmadan hemen önce, bir veya daha fazla sayıda sayısal grafileri çekilir ve bu görüntüler "Mask Görüntü" olarak adlandırılır. Kontrast madde inceleme bölgesine ulaştığında, aynı bölgenin seri şekilde sayısal grafileri çekilerek bilgisayar yardımı ile kontrast madde içeren sayısal grafilerden, kontrast madde içermeyen sayısal grafiler (mask görüntü) matematiksel olarak çıkartılır. Geriye yalnızca dinamik olaylar, hareketli yapılar yani kan akımı ile sürüklenen kontrast madde, özetle damarlar kalmaktadır [47]. DSA tanıda altın standart görüntüleme metodu olarak kabul edilmesine rağmen aynı zamanda %0.5 oranında kalıcı nörolojik defisite neden olabilen, pahalı, zaman alıcı ve invaziv bir yöntemdir [42].

Bilgisayarlı tomografi (BT) ise, SAK şüphesi olan hastalarda öncelikli olarak uygulanan bir teşhis yöntemidir. BT, fiyatının ucuz olması, akut kanamayı kolayca tanıyabilmesi, yaygın olarak ulaşılabilir olması ve genel durumu kötü hastaların yakın takibine izin vermesinden dolayı ilk tercih edilen yöntemlerden biridir. BT'de, kanamanın şekli ve dağılımına bakılarak yaklaşık %80 olguda kanamaya neden olan anevrizmanın lokalizasyonu hakkında bilgi elde edilebilir [48]. Bu, özellikle birden fazla anevrizması olan olgularda ilk müdahaleyi kanayan anevrizmaya yapmak açısından önemlidir. Kontrastsız BT ile genellikle 1 cm'den küçük anevrizmalar tespit edilemez. SAK yokluğunda ise kontrastlı BT ile 5 mm boyutundaki anevrizmaları tespit etmek mümkün olabilmektedir [49].

1.1.5 İntrakraniyal Anevrizmada Tedavi Yöntemleri

Serebrovasküler nörocerrahi son birkaç kuşaktan beri çok gelişmiştir. Endovasküler cerrahideki ayrılabilir koilleri, intrakraniyal stentler, balon modelleri ve kateter

tekniklerini de kapsayan yenilikler anevrizma tedavisine hızlı ilerlemeye yol açmıştır. Kompleks intrakraniyal anevrizmaları birçok çeşit teknik ve aygıt kullanarak hem cerrahi hem de endovasküler olarak tedavi etmek mümkün olmuştur. Var olan teknolojiler gelişmesini sürdürürken, endovasküler yenilikler de gelişmesine devam etmektedir [50].

Günümüzde intrakraniyal anevrizmalar için iki tedavi yöntemi mevcuttur. Geniş çapta uygulanan cerrahi ve endovasküler tedavi şeklidir. Anevrizma çevre beyin dokusundan ve damarlardan sıyrılarak genellikle titanyumdan yapılan küçük metal bir klip (bir tür küçük metal mandal) ile boynu kapatılır. Böylece anevrizmanın köken aldığı damarda kan akımının normal olarak devam etmesi sağlanmaktadır. Ameliyat sırasında çeşitli tekniklerle mandalın anevrizma boynunu tam olarak kapattığı ve diğer kan damarlarında akımın normal olarak devam ettiği kontrol edilebilmektedir. Uygulanan klipler kalıcı olmakla birlikte bu durum vücuda herhangi bir zarar vermez [50].

Cerrahi tedavinin avantajı, anevrizmanın ana damarı veya dallarını koruyarak, kanama riskini elimine ederek ve dolaşımın dışında tutarak tam olarak kliplenmesidir. Cerrahi aynı zamanda büyük anevrizma kesesinin kitlesini de elimine edebilir. En büyük dezavantajı ise klip yerleşiminde anevrizma kesesini göstermeyi başarmak için kraniyotomi ve beyin retraksiyonuna ihtiyaç duyulmasıdır. Diğer bir dezavantajı da anevrizma çevresinin bazı durumlarda görülemeyebilmesi nedeniyle diğer damarların da işleme dahil edilebilmesi ve hasara uğrayabilmesidir [51] .

1990'lı yıllardan itibaren endovasküler yaklaşım ile anevrizmaların tedavisi uygulanmaya başlanmıştır. Bu yaklaşım, transfemoral yaklaşım, yönlendirilebilir kateterler, road-map özelliğine sahip dijital fluoroskopiler ve ayrılabilen platinyum koiller ile mümkün olmuştur. Endovasküler tedavi intrakraniyal anevrizma tedavisinde en iyi yaklaşımlardan biridir ancak hastaların % 10'nunda yeniden tedavi gerekebilmektedir. [52].

Rüptüre olmuş veya nonrüptüre anevrizmalar için endovasküler tekniklerdeki avantajlar prosedürün hızı, transfemoral arteriyel yaklaşımların kullanılması, multipl anevrizmalar ve vazospazmı aynı anda tedavi etme becerisidir. Göreceli dezavantajları ise, nispeten dar anevrizma boynuna ihtiyaç duyulması ve uzun dönemli sonuçlarda

bilgi eksikliğidir. SAK riski taşıyan hastalarda anevrizma lümeninin kapatılması için yerleştirilen koillerin sıklığı önemlidir. Anevrizmanın koille doldurulması genellikle cerrahi kliplemeyi zorlaştırır ve anevrizmadan operatif koillerin çıkarımı zor olmaktadır [51].

1.1.6 İntrakranial Anevrizma ile İlgili Genetik Çalışmalar

İntrakranial anevrizmalar, kompleks genetik unsurlar ve değişebilir çevresel risk faktörlerini içeren iki ana grup altında sınıflandırılabilir birçok faktör ile ilişkilendirilmiştir. IA genetiği oldukça az bilinmesine rağmen; tek yumurta ikizleri, ailesel genetik analizler ve popülasyon temelli genetik epidemiyoloji çalışmaları ile genetik faktörlerin SAK ve IA patogenezinde oldukça önemli role sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır [53].

IA gelişimi ve rüptüründe etken olan moleküler mekanizmalar tam olarak bilinemediğinden, günümüze kadar yapılan çalışmalar belli toplumlarda genetik yatkınlığının araştırılması yönünde olmuştur. Ailesel IA, iki veya daha fazla birinci derece ile üçüncü derece yakınlarında IA'ların görülmesiyle tanımlanmaktadır [54], [55], [56]. IA hastalarının %5-10'unun birinci derece yakınlarında hastalığın görüldüğü bildirilmiştir. Bu ailelerde IA kümelenmesini açıklayabilmek için genetik ve çevresel faktörlerin her ikisi de göz önünde bulundurulmuştur [57], [58]. Bir ikiz çalışmasında, monozigotik ve dizigotik ikiz çiftler arası gruplar arası korelasyonlar hesaplanmış ve ikizlerin (monozigotik veya dizigotik) her birinin aynı çevresel faktörleri paylaştığı varsayılarak karşılaştırma yapılmıştır. Sonuç kalıtsal veya çevresel faktörlerin IA fenotipine katkıda bulunup bulmadığıyla ilgili bilgi sağlamaktadır. Eğer monozigotik (%100 gen paylaşımı) ikizler arası IA fenotip uyumu dizigotik (%50 gen paylaşımı) ikizler arası olduğundan daha yüksek ise, genetik etkilerin IA patogenezinde rol alıyor olması daha yüksek bir olasılıktır. IA'dan etkilenmiş ailelerin, hastalık başlangıcını daha erken göstermekte olduğu ve IA rüptürü ve SAK yaşama olasılıklarının 7 kat daha olası olduğu, genetik ve ailevi çalışmalarla ortaya konmuştur [59], [60], [61], [62].

Ailesel olarak görülmeleri ve çeşitli kalıtsal hastalıklar ile olan ilişkileri IA'ların gelişiminde genetik faktörlerin rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu amaçla geçtiğimiz 10 yıl içinde IA ile ilişkili olabilecek genetik etkenler ile ilgili çeşitli çalışmalar

yapılmıştır. IA ile ilgili genetik etkenlerin belirlenmesinde sınırlı sayıda kaynak olmakla birlikte günümüze kadar yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

İntrakranial anevrizmaların oluşumu ve rüptür riski ile ilişkili bir genetik markırın belirlenebilmesi, taramadaki gerekliliği ve tedavideki aciliyeti tanımlamada oldukça kolaylık sağlayabilir [63]. Fakat bu çalışmalar oldukça zordur, diğer karmaşık hastalıklar gibi bu hastalığın genetiği de birçok lokusu kapsamaması ve birçok genin etkileşiminden dolayı kompleks olarak görülmektedir [63], [64].

IA gibi kompleks bir hastalıktan sorumlu genetik faktörlerin belirlenmesinde farklı yaklaşımlar kullanılabilir, bu konuda kullanılan iki ana yaklaşım bağlantı analizi ve ilişkilendirme analizidir [63].

Bağlantı analizi aileleri kullanarak lokusun yerini belirlemeyi amaçlamaktadır [63], [65]. İlişkilendirme analizi ise fonksiyonlarından dolayı anevrizma gelişimiyle ilişkilendirilmiş aday genlerin karakterize edilmesine dayanmaktadır (elastin gibi fonksiyonel aday genler). Basit olarak, anevrizmalar ve fonksiyonel aday geni taşıyan spesifik allel arasındaki ilişki, anevrizma hastaları ve kontrol grupları arasında incelenmektedir [65].

Mendelian hastalıklarda, bağlantı analizi yüksek riskli nadir allelleri içeren lokusu tanımlamak için kullanılan en kuvvetli yöntem iken; ilişkilendirme analizi, IA gibi, yaygın ve kompleks hastalıklarla bağlantılı genetik değişkenleri tanımlamak için en iyi yöntemdir; her iki çalışmada da IA'ların genetik yapısının tamamen anlaşılması gerekmektedir [63].

IA'li ailelerde ve kardeş çiftler arasında yapılan genom boyu bağlantı çalışmaları, kromozomlarda birçok lokusta önerilebilir bağlantı kanıtları tanımlamıştır [63], [65].

Bu lokuslar arasında, 1p34.3–p36.13 [35], 7q11 [66], 19q13.3, ve Xp22 kromozomlarında olanlar en çok gelecek vaadenedir çünkü bu lokuslar ailesel IA'yla başarıyla ilişkilendirilmiştir ve farklı toplumlarda bu çalışmalar benzer sonuçlar vermiştir, sadece 7q11 bütün çalışılan toplumlarda doğrulanamamıştır [65]. Bu çelişkilerin genetik heterojenite veya hasta toplulukları arası farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği, bu nedenle bunlara ilaveten daha geniş örneklem boyutunu kapsayan çalışmalar yapılması gerektiği önerilmektedir [63].

Önerilebilir bir bağlantı kanıtı gösteren kromozomal lokusların tespitinden sonra, bu bölgelerden pozisyonel bir aday genin belirlenmesinin, IA oluşturmaya yatkın bireylerin belirlenmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir [63].

İlişkilendirme çalışmaları, daha geniş bir popülasyonda hastalık oluşumunda etkili olabileceği düşünülen aday genlerin değerlendirmesini yapabilmektedir [67]. IA'larda yapılan ilişkilendirme çalışmaları, hücre dışı matriksin bütünlüğünü sağlamaya yardımcı olan genlerle açıklanmıştır; hücre dışı matriksin yapısal proteinlerindeki anormallikler (örneğin, retiküler fiberlerin arteriyel medyada azalması ve kısalması) arteriyel duvarda, IA ile ilişkilendirilerek, tespit edilmiştir [63].

1p34.3-p36.13 ve 7q11 üzerindeki lokuslar için, pozisyonel aday genler ile orta derecede pozitif ilişki ortaya konulmuştur. 1p lokusunda perlekan geni olası bir aday genidir, bu gen bir arteriyel duvarın hücre dışı matrisinin (ECM) onarımı ile ilgili olan bir heparan sülfat proteoglikan kodlamaktadır [65].

7q11 bölgesi üzerinde en iyi bağlantı kanıtları gösteren markır elastin geninin yakınlarında tespit edilmiştir [64]. Elastin geni arter duvarının genişlemesi ve eski haline dönmesinde önemli bir unsur olan elastini kodlar [65]. Kromozom 7q11 bölgesi aday gen kolajen tip 1 A2'yi de içerir: Kolajen tip 1 fiberleri; kolajen tip 3 fiberleriyle birlikte bütün arter kolajenlerinin %90'ına kadar oluşturur ve arter duvarın sağlamlığı için oldukça önemlidirler [65].

5q22-31 kromozomunda da IA ile ilgili pozitif bağlantılar gözlemlenmiştir; 5q22-31 üzerinde IA lokusunun civarında hücre dışı matrisinde önemli bir rol oynayan versikan geni bir aday gen olarak tespit edilmiştir [65].

Temmuz 2008'e kadar olan tüm rüptüre olmuş veya olmamış hasta-kontrol çalışmalarının kapsamlı bir meta-analizinde iki gen üzerinde analiz edilen üç polimorfizmin rüptür olmuş ve olmamış IA'larla önemli ölçüde ilişkili olduğu belirlenmiştir [68]. Endotelial nitrik oksit sentaz (*eNOS*) geninin tek nükleotid polimorfizmleri IA riskini arttırdığı, interlökin-6 (*IL-6*) G174C polimorfizminin ise koruyucu olduğu gözlemlenmiştir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (*ACE*), endoglin, apolipoprotein (APO) E, elastin, matriks metalloproteinaz (MMP) -3, ve serin proteaz

inhibitörü (serpin) A3 gibi diğer aday genler de incelenmiştir, fakat bu genler anlamlı ilişkilendirmeler göstermemiştir [32], [68].

eNOS, vasküler bazal tonu, serebral kan akışı ve arteriyel endotelde düz kas hücre çoğalmasını regüle eden nitrik oksit (NO) sentezini katalize eder [69]. Çeşitli çalışmalar NO yolunun bozulmuş olduğunu göstermiştir ve deneysel olarak SAK'a maruz kalan hayvanlarda beyin omurilik sıvısında (BOS) NO miktarı artmıştır [68]; buna ilaveten anevrizmal SAK'ı takiben insanlarda NO miktarlarının arttığı gösterilmiştir [70]. İntrakranial anevrizmaların T768C polimorfizmiyle ilişkisinin, anormal NO sinyali aracılığıyla IA'nin gelişmesi ve rüptürü için bir yatkınlık ortaya çıkarabildiği bildirilmiştir [68].

IL-6 miyokard enfarktüsü ve juvenil kronik artrit gibi bir takım hastalıklarda görülen bir proinflamatuvar sitokindir [68]. 572C alleli *IL-6* plazma seviyesini yükseltirken, 174C alleli düşüğe sebep olmaktadır. Cerrahi kliplleme işlemi gören ve kanayan anevrizmalarda *IL-6*'nın artan seviyelerinin gözlemlenmesi [71], artan *IL-6* plazma seviyesi ile kemokin ve adezyon moleküllerinin salınımından kaynaklanan endotelial bozukluklara sebep olması sebebiyle IA patogeneğinde rol oynadığını düşünülmektedir [32].

Son zamanlarda *EDNRA* ve *CDKN2BAS* genomik lokusları, özellikle 4q31.22 ve 9p21.3 kromozomundakiler, Japon populasyonunda IA ile önemli derecede ilişkili bulunmuştur [72]. Endotelin-1 (*EDN-1*), etkisi iki majör reseptör alt türü olan *EDNRA* ve *EDNRB* aracılığıyla çıkan, endotelial hücreler tarafından üretilen önemli bir vazokonstriktördür [32]. *EDN-1/EDNRA* ve *EDNRB* yollarının hemodinamik strese karşı vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon dengesini sağlamada önemli olduğu düşünülmektedir [72].

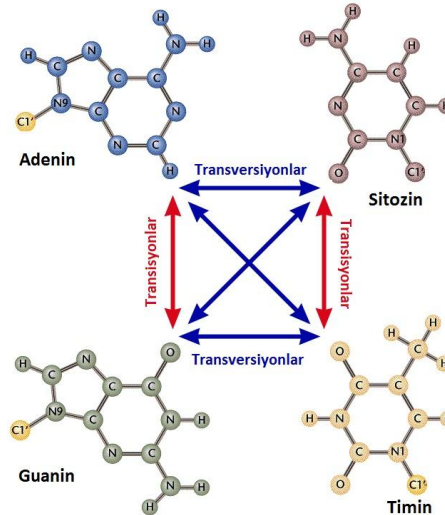
Günümüze kadar IA ile ilgili olarak kalıcı ve kesin bir tek gen aday gen olarak tanımlanmamış ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir, bunlara ilave olarak çalışmaların büyük çoğunluğu düşük örneklem boyutlarında gerçekleştirildiğinden ön çalışmalar olarak kalmıştır [63].

Ayrıca intrakraniyal anevrizmalar ile ilgili hayvan modellerinin çalışılmasının genetik etkenlerin tanımlanmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir ancak henüz hiçbir intrakraniyal anevrizmalı transgenik hayvan modeli geliştirilmemiştir [32], [65].

1.1.6.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ve İntrakraniyal Anevrizma ile İlişkisi

Tek nükleotid polimorfizmleri genomun herhangi bir bölgesinde bulunan tek nükleotid dizilim farklılıkları olup popülasyondaki örnek bireyler arasında yüksek substitüsyon yani yer değiştirme oranı gösteren, bir nükleotid olarak da tanımlanabilir [73]. Bir diğer tanımlamaya göre ise SNP, bazı popülasyonlardaki normal bireylerde bulunan farklı sekans alternatifli (allelli) genomik DNA'lardaki tek baz değişimidir [74].

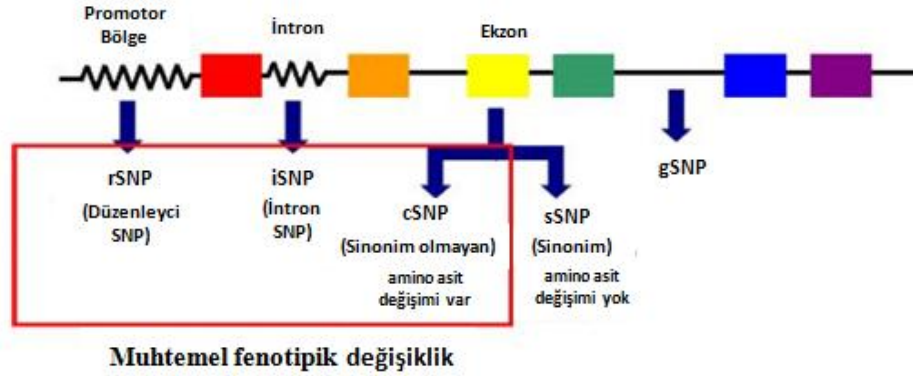
SNP'ler transisyonlar ve transversiyonlar gibi baz değişimlerini içermektedir. Bir pürin bazının bir pirimidin bazına değişmesi veya tam tersi transversiyonlar, bir pürin bazın (A,G) diğer bir pürin bazıyla veya bir pirimidin bazın (C,T) diğer pirimidin bazıyla değişmesi ise transisyonlar olarak tanımlanırlar (Şekil 1.4). G>A ve C>T transisyonları insan genomundaki tek nükleotid polimorfizmlerinin % 25'ini oluşturmaktadır. Tek nükleotid pozisyonundaki varyasyonlar ise allel frekansı olarak nitelendirilirler. Bir popülasyondaki tek baz değişiminin frekansı % 1'den büyük olduğunda bu değişimler SNP, % 1'den küçük olduğunda ise mutasyon olarak adlandırılır [75].



Şekil 1. 4 Transversiyon ve transisyonların şematik gösterimi [76]

SNP'lerin sınıflandırılmasında genomik DNA'nın yapısal elementleri ve fonksiyonel etkinlikleri göz önüne alınmaktadır. Ekzon (eSNP), intron (iSNP) ve promotor SNP

(pSNP) bir gendeki SNP pozisyonuna bağlı olarak SNP'leri sınıflandırmak için kullanılmaktadır (Şekil 1.4) [77]. Gen ifadesini kontrol eden düzenleyici bölgeleri içeren oligonükleotid değişimleri ise düzenleyici SNP ve rSNP olarak isimlendirilir ve promotor SNP'ler ile bazı intron SNP'leri kapsamaktadırlar [75].



Şekil 1. 5 Farklı SNP çeşitlerinin gendeki pozisyonları [75].

Herhangi iki insan genomu birebir karşılaştırıldığı zaman, bu genomlar %99 aynıdır. Fakat, 3.2 milyar baz çiftiyle, her bir insan kendi genomunda 3.2 milyon farklılık barındırır. Farklılıkların büyük çoğunluğu tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) olarak da bilinen, tek baz yer değiştirme polimorfizmlerinden kaynaklanmaktadır. Değişimlerinin çoğunun biyolojik sonuçları olmamakla birlikte, bir kısmı işlevsel öneme sahiptir ve insanlar arasındaki çeşitlilik için temel unsurdur [78]. Genetik markır olarak SNP'ler nesilden nesile kromozom bölgelerinin kalıtımını takip etmek için kullanılabilir ve insan hastalıklarıyla ilişkili genetik faktörleri çalışmak için çok güçlü araçlardır [79], [80], [81].

İntrakranial anevrizma ile tek nükleotid polimorfizmlerinin ilişkisi genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) araştırılmıştır. Yayımlanan tüm genom boyu ilişkilendirme çalışmaları ile ilgili bilgileri kapsayan GWAS kataloğunda [82] yapılan taramalar sonucunda intrakraniyal anevrizma ile tek nükleotid polimorfizmlerinin ilişkilendirildiği beş farklı çalışma bulunduğu belirlenmiştir [72], [83], [84], [85], [86]. İntrakranial anevrizma ile ilişkili olduğu düşünülen tek nükleotid polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışma 2008 yılında Avrupa'dan 1580 hasta ve 6276 kontrol ve Japonya'dan 495 hasta ve 676 kontrol örneğinin dahil olduğu bir çalışma grubunda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada rs10958409-A, rs1333040-T, rs9298506-A ve rs700651-G polimorfizmlerinin IA ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [84]. 2010 yılında

yapılan bir diğerk genom boyu ilişkilendirme çalışmasında ise Avrupa popülasyonundan 2780 hasta ve 12515 kontrol; Japon popülasyonundan ise 3111 hasta ve 1666 kontrol örneği kullanılarak rs11661542-C, rs9298506-A, rs12413409-G, rs9315204-T polimorfizmleri IA ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada rs1333040 polimorfizmi de tekrar değerlendirilerek IA ile ilişkisi doğrulanmıştır [83]. 2012 yılında Low ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise başlangıç örneklem boyutu olarak Japon popülasyonundan 1383 hasta ve 5484 kontrol örneği seçilmiş ve daha sonra aynı popülasyondan 1048 hasta ve 7212 kontrol örneği ile bir tekrar çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre sırası ile *EDNRA*, *CDKN2BAS*, *BET1L* ve *ALDDH2* genleri üzerinde bulunan rs6842241-C, rs10757272-T, rs2280543-T ve rs671-C polimorfizmleri intrakraniyal anevrizma ile ilişkili bulunmuştur [72]. İntrakraniyal anevrizma ile ilişkili olan tek nükleotid polimorfizmlerinin araştırıldığı en güncel genom boyu ilişkilendirme çalışması ise 2012 yılında Foroud ve arkadaşlarının Avrupa popülasyonunda yapmış oldukları araştırmadır. Bu çalışmada 1483 hasta ve 1683 kontrol örneği kullanılarak kromozom 9q21.3'de *CDKN2B-AS1* geni üzerinde bulunan rs6475606 polimorfizmi intrakraniyal anevrizma ile ilişkili olarak rapor edilmiştir [86].

GWAS dışındaki intrakraniyal anevrizma ile tek nükleotid polimorfizmlerinin ilişkilerinin araştırıldığı çalışmaların çoğu tek SNP'nin incelendiği araştırmalardır. Bu çalışmaların kapsamı genellikle GWAS çalışmalarında intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilen polimorfizmlerin aynı veya farklı popülasyonlarda tekrarlandığı doğrulama çalışmalarıdır. Ülkemizde intrakraniyal anevrizma ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerinin araştırıldığı çalışmalar bilginiz dahilinde oldukça sınırlıdır. Özüm ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada *eNOS* geninde G894T polimorfizminin anevrizmal SAK ile ilişkisi restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır [87]. Türk popülasyonunda gerçekleştirilen bir diğerk çalışmada ise yine *eNOS* genindeki iki polimorfizmle bir yapısal damar patolojisi olan kanamış kafa içi anevrizma varlığı arasındaki ilişki araştırılmıştır [88].

1.1.7 SNP Analiz Yöntemleri

Tek nükleotid polimorfizmlerinin tespiti için kullanılan teknolojik yöntemler yeni bir polimorfizmi taramak ve hedef dizide bilinen bir polimorfizmin allel veya allellerini belirlemek amacıyla kullanılır. SNP tayin teknolojileri emek isteyen, zaman alıcı ve pahalı işlemlerden otomatize, verimli ve göreceli olarak daha ucuz yöntemlere dönüşmüştür [89]. İnsan Genom Projesi önderliğinde, hem SNP keşfi hem de genotipleme alanında güçlü stratejiler geliştirilmekte ve bu teknolojiler olgunlaşmaktadır. Buna bağlı olarak SNP genotipleme çalışmaları son yıllarda oldukça artmıştır ve birçok güvenilir ve güçlü yöntem günümüzde uygulanabilmektedir [81].

SNP tespiti DNA dizilerinde daha önce bilinmeyen polimorfizmlerin taranması ve bilinen polimorfizmler için bireylerin taranması (genotipleme) olmak üzere iki geniş alanı kapsar. Bunlara ek olarak yeni SNP'ler için tarama, global veya rastgele yaklaşım ve bölgesel veya hedeflenmiş yaklaşım olarak ayrılabilir. Yeni polimorfizimler için DNA taraması yapabilen teknolojiler aynı zamanda bilinen polimorfizmler için bireyleri taramada da kullanılabilir ve SNP genotiplemesi için çok daha fazla seçenek vardır. Ayrıca, SNP tayin teknolojileri sadece insanlara değil, bütün canlı organizmalara uygulanabilir [81].

Endonükleaz kesimi, hibridizasyon, oligonükleotid ligasyonu, allel-spesifik PCR ve primer uzama SNP genotiplemede kullanılan beş ana yöntemdir. Endonükleaz kesimi yüksek işlem hacmine uygun olmamakla birlikte pahalı değildir ve geniş çalışma ekipmanları gerektirmemektedir. Hibridizasyon yöntemi; çoklu örnekte çalışılabilmesi, işaretleme yönteminin ucuz olması ve deneysel basamaklarının kolaylığı sebebiyle yaygın olarak tercih edilmektedir. Ancak bu yöntemde genotip ayrımı sınırlı olup hem hata oranı hem de kullanılan problemlerin maliyeti oldukça yüksektir. Oligonükleotid ligasyonu çoklu örneklerde çalışılabilmesi ve farklı deney tasarımlarına imkan vermesi sebebiyle tercih edilir. Bu yöntemin dezavantajı ise yüksek maliyeti olan çoklu işaretlenmiş problemler gerektirmesidir. Allel-spesifik PCR yönteminde real time PCR kullanılır, işaretleme yöntemi düşük maliyetli olup, deneysel basamaklarının uygulanması kolaydır. Buna karşın, reaksiyonların optimizasyonunun yapılması güçtür ve spesifik olmayan ürünler belirlenmemektedir. Primer uzama yönteminin

ekipmanları pahalı olmasına karşın oldukça hassas genotipleme gerçekleştirilir, işaretleme yöntemine gerek duyulmaz ve çoklu örnekte çalışılabilir. [90]. Allellerin tespitinde en sık kullanılan yöntemler ise kemiluminesans, floresans ve bu tez çalışmasında gerçekleştirilen kütle spektrometrisidir [91].

Genetik ilişkilendirme çalışmalarının en önemli parçası SNP genotiplemede çalışmanın başarısı için uygun genotipleme yönteminin seçilmesi oldukça büyük önem arz etmektedir [92]. SNP genotipleme teknolojileri, tüm genom ilişkilendirme çalışmaları (whole-genome association, WGA) çalışmaları için kullanılan sistemler ile tekrar ve bulguların doğrulanması, bağlantı analizi veya aday gen yaklaşımları sistemleri olmak üzere ikiye ayrılabilir.

Çizelge 1. 4 Yaygın olarak kullanılan genotipleme assaylerinin temel özellikleri [93].

	TaqMan	SNPlex	iPlex	Goldengate	Genechip	Infinium II
Assay tipi	5' ekzonükleaz /PCR	OLA/PCR	Primer uzama	Primer uzama/ ligasyon	Hibridizasyon	Hibridizasyon/ primer uzama ve ligasyon veya SBE (II)
Kullandığı teknoloji	TaqMan problemleri	Kapiler elektroforez	MALDI-TOF Kütle Spektrofotometresi	Bead array	Oligonükleotid array	Bead array
İşlem hacmi	384-1536 örnek/gün	1536 örnek/ 3 gün	3840 örnek/ 2.5 gün	172 örnek/ 3 gün	96 örnek/ 5 gün <small>otomatize sistemle</small>	32-128 örnek/ 5 gün <small>1-12 örnek çipi</small>
Multipleksleme	64-256	24-48 plex	12-40 plex	384-1536	10.000-1.8 milyon	6000-1.2 milyon
Uygulama alanı	SNP tayini Orta-geniş örneklem boyutu	SNP tayini Geniş örneklem boyutu	SNP tayini Geniş örneklem boyutu	SNP tayini Orta-geniş örneklem boyutu	WGA çalışmaları, linkage analizleri Küçük-geniş örneklem boyutu	WGA çalışmaları/ yüksek yoğunlukta özelleşmiş SNP çalışmaları Küçük-geniş örneklem boyutu

WGA çalışmalarında yaygın olarak 100.000-1.000.000 SNP genotipleme kapasitesine sahip; Illumina Infinium Beadchips, Invader, Perlegen, ve Affymetrix GeneChip sistemleri kullanılırken, validasyon çalışmalarında 1-100.000 SNP genotipleme kapasitesine sahip Affymetrix GeneChip ve MIP, Illumina Goldengate, ve Infinium assayleri, Invader, Sequenom MassARRAY, SNPlex, SNP stream, Taqman, ve Centaurus

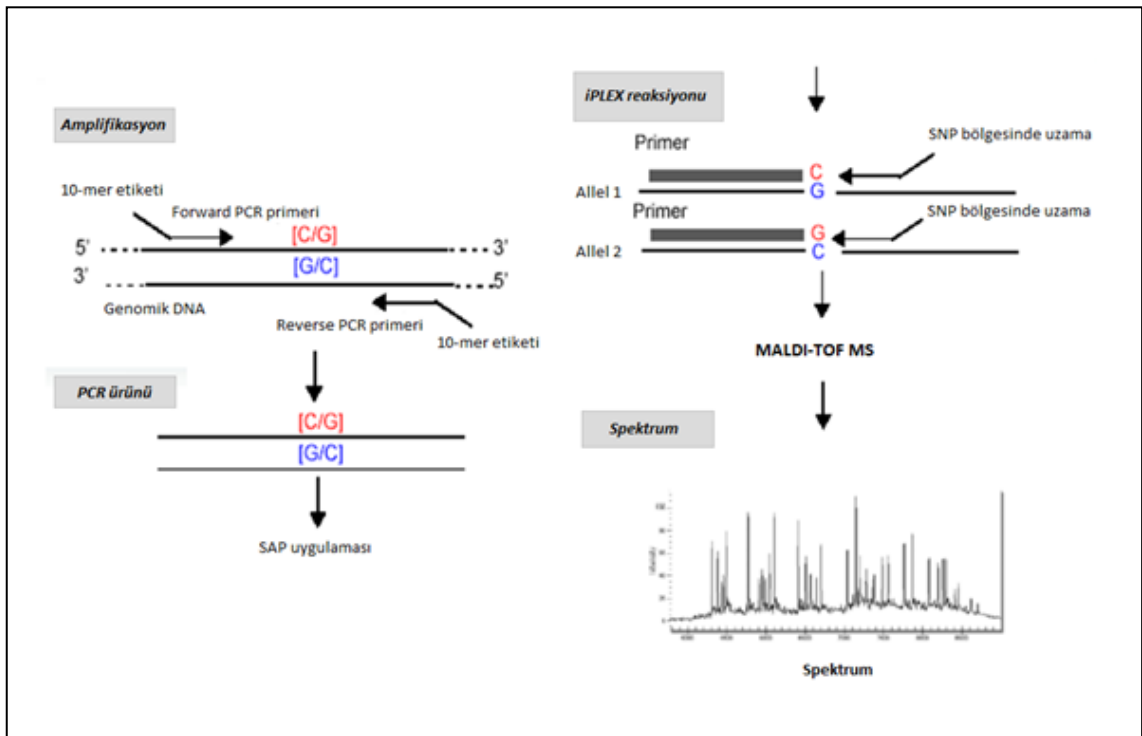
assayleri tercih edilmektedir. Tekrar ve doğrulama çalışmaları için tercih edilen özelleşmiş SNP assayleri; yüksek miktardaki örneklerin hızlı analizine izin verme, spesifik SNP'ler için kaliteli bir assay dizaynına sahip olma, güvenilir ve stabil olma ayrıca uygun maliyetli olma özelliklerini taşımalıdır. Tüm bu ihtiyaçları karşılamak için birçok farklı ve gelişmiş moleküler biyolojik yaklaşım bu teknolojilerin içine dahil edilmiştir. Yaygın olarak kullanılan ve ticari olarak elde edilebilen genotipleme assayleri Çizelge 1.4'de özetlenmiştir [93].

Bu tez çalışmasında iPLEX genotipleme yöntemi seçilmiştir (Sequenom Inc.). Bu genotipleme yöntemi; multipleks reaksiyonlara olanak sağlayan, verilerin % 99,7'den daha yüksek bir kesinlikte kısa sürede elde edebilen, bir SNP'nin analizi için nispeten düşük maliyet gerektiren ve Türkiye'de bulunabilen genotipleme sistemlerinden biri olma özelliklerini taşımasından dolayı tercih edilmiştir.

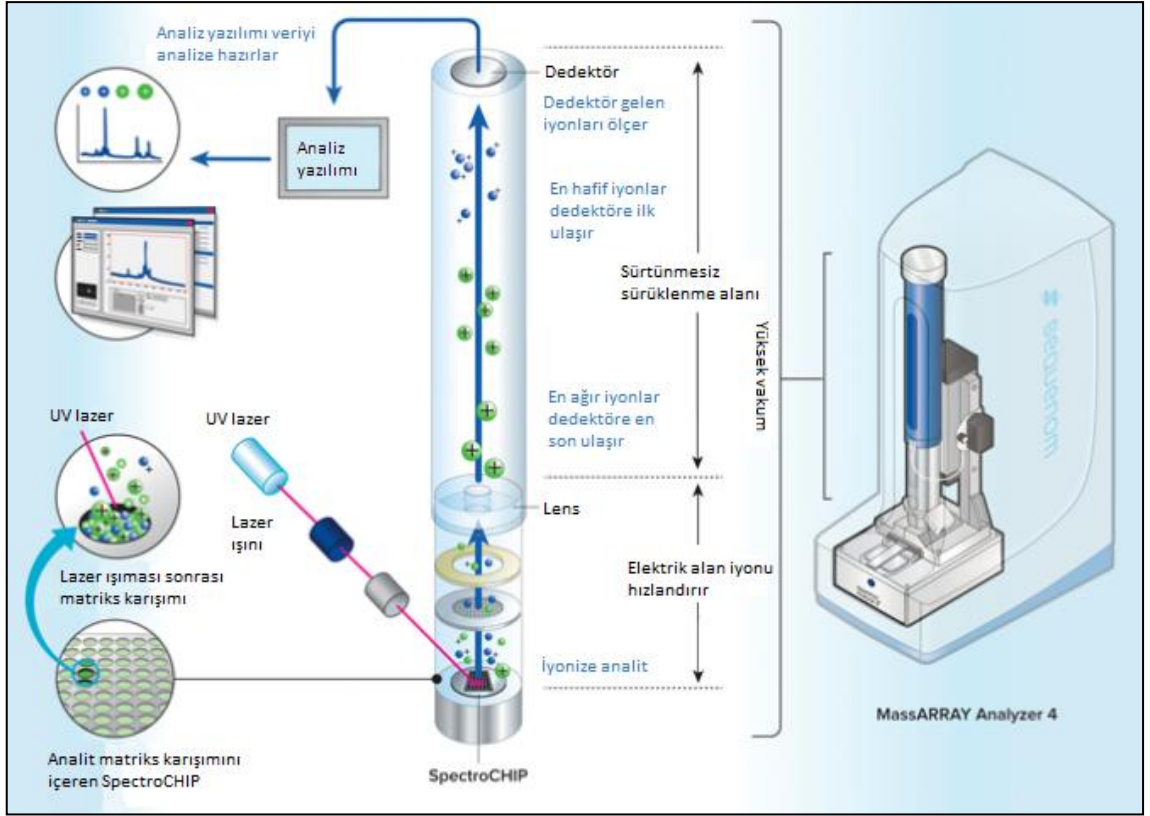
iPLEX yönteminde öncelikle SNP'nin bulunduğu genom bölgeleri spesifik primerler yardımıyla PCR ile amplifiye edilir ve elde edilen ürünler kalıp olarak kullanılıp daha sonra iPLEX reaksiyonu adı da verilen tek baz uzama reaksiyonu gerçekleştirilir. Uzama probu adı verilen bir tespit edici primer SNP'nin bulunduğu bölgenin 3' ucundaki nükleik asit dizisine komplementerdir ve bu primerin uzaması ddNTP içeren tek baz tarafından gerçekleştirilir [75]. Polimorfik bölgenin dahil olduğu PCR ürünü bu reaksiyonda kalıp görevini yapar. Primerin 3' ucu ise allelik bazdan meydana gelmektedir ve primerin uzatılması sadece 3' bazın hedef DNA'da bulunan allele komplementer olduğu durumda gerçekleşir. DNA örneğinde bulunan allelin anlaşılması primer uzama olayının izlenmesi ile gerçekleşir [94], [81]. Allellerin kütle esaslı tespit edilmesi matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi (MS: Mass Spectrometry) ile gerçekleştirilir (Şekil 1.6).

Protein, peptid, oligosakkarit ve oligonükleotid gibi çeşitli biyomoleküllerin kütlelerinin analizi için MALDI-TOF MS yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır [91]. DNA'nın kütle spektrometrisi ile analizinde yumuşak iyonizasyon gerekmektedir, bunu sağlamak için genellikle MALDI yöntemi olarak bilinen matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı (MALDI-TOF) analizi kullanılır. MALDI yönteminde bir metal plaka üzerindeki allel spesifik ürünler bir matris bileşimiyle

karıştırılır ve bu karışıma güçlü bir potansiyel fark uygulanarak, karışımın iyonizasyonun gerçekleştiği gaz fazına geçmesini sağlayan kısa lazer atışı ile ısıtılır. Kütle/yük oranının hesaplanmasını sağlayan uçuş zamanı dedektöre doğru hızlanan iyonların dedektöre ulaşma zamanı baz alınarak hesaplanır [95]. Spektral analiz için matrisle iyonizasyon yapılırken genellikle tek yüklü iyonlar üretilir. Çok sayıda oligonükleotid karışımı MALDI-TOF MS yöntemiyle hızlıca ayrıştırılıp, spesifik tespit etme etiketi (örneğin; florfor) olmadığı durumlarda da doğru bir analiz yapılabilir (Şekil 1.7) [91], [96]. Tüm bu nedenler ile çeşitli SNP genotipleme yöntemlerinde MALDI-TOF MS yaygın olarak kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir [91].



Şekil 1. 6 Tek baz spesifik uzama reaksiyon (iPLEX reaksiyonu) basamakları şeması [97]



Şekil 1. 7 MALDI-TOF reaksiyon şeması [98]

1.2 Tezin Amacı

SNP'lerin biyolojik etkisi bazı durumlarda bir ya da daha fazla hastalığa yatkınlığı arttırabilmektedir. Populasyonlar arasında bulunan farklılıklardan dolayı bir coğrafik ya da etnik grupta yaygın olan bir SNP alleli bir diğerinde daha nadir olabilmektedir ve bazı SNP'ler belirli bir populusyona özgüdür. Bu nedenle her toplumun SNP profillerinin ayrı ayrı tanımlanması gerekmektedir. Bu tez çalışmasının amacı, farklı populasyonlarda çalışılıp en az bir toplumda intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmiş olan SNP'lerin Türk toplumunda görülme durumunun kütle spektroskopisine dayalı bir yöntem ile belirlenmesidir. Sonuçta intrakraniyal anevrizma ile SNP'lerin ilişkisinin multipleks reaksiyonlar ile yüksek doğrulukta, kısa sürede SNP allel ve genotip frekanslarının yanında, klinik ve demografik veriler ile de ilişkilendirilmesi ve hastalığın toplumumuza özgü genetik risk tahmininin gerçekleştirilmesine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Epidemiyolojik bir çalışma gerçekleştirerek SNP'lerin intrakraniyal anevrizma ile toplumumuza özgü olarak allel ve genotip frekansları ile klinik-demografik veriler düzeyinde ilişkilendirilebileceği ve elde edilecek olan bilgilerin hastalık risk tahmininde kullanılabilir bir biyomarkır olarak kullanım potansiyelinin olabileceği öngörülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışma Populasyonu

Çalışma populasyonu dijital substraksiyon anjiyografi (DSA) ve bilgisayarlı tomografi anjiyografi (BTA) ve manyetik rezonans anjiyografi (MRA) yöntemlerinden en az biri kullanılarak kesin tanısı konulmuş 105 adet intrakraniyal anevrizmalı hasta ve yine aynı tanı yöntemleri ile intrakraniyal anevrizma olmadığı belirlenen 103 adet kontrol örneği olmak üzere 208 örnekten oluşmaktadır.

2.1.2 Hasta ve kontrol örneklerinin alınması ve arşivlenmesi

Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin 2012/03/02 Karar No'lu Etik Kurul Onayı (EK-A) ile, yine aynı hastanenin Girişimsel Nöroradyoloji ve Radyoloji Kliniğine başvuran hastalardan periferik kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınmıştır. Hastalardan örnek alınmadan önce kişiler çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve asgari bilgilendirilmiş olur formu (EK-B) ile hastaların onamı alınmıştır. Örnek alınan hastalardan IA ile ilişkili olabilecek diğer klinik ve demografik verilerin analizinin yapılabilmesi amacıyla hasta bilgi formu örneği doldurmaları istenerek bilgi alınmıştır (EK-C).

2.1.3 Kimyasal maddeler, enzimler ve kitle

Çalışmanın başlangıç materyali olan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonunu gerçekleştirmek için DNA izolasyon kiti (Invisorb Spin Blood Mini Kit) Invitrogen firmasından temin edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan dNTP'ler (100 mM) Applied Biosystems'den, HotStarTaq Plus DNA polimeraz (5 U/μl) , 10 x PCR tampon çözeltisi ve MgCl₂ (25 mM) QIAGEN'den ve tüm aşamalardaki ultrasaf distile su Invitrogen'den temin edilmiştir.

PCR ürünlerinin temizlenmesi amacıyla gerçekleştirilen reaksiyonda kullanılan shrimp alkaline fosfatase enzimi (1.7 U/μl) ve enzimin tampon çözeltisi; tek baz spesifik uzama reaksiyonunda kullanılan iPLEX enzim, 10 x iPLEX tampon çözeltisi, iPLEX Extension Mix ve örnekleri kütle spektroskopisi ile analize hazır hale getirmek için rezin uygulama aşamasında kullanılan SpectroCLEAN rezin Sequenom Inc.'den temin edilmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonunda ve genotipleme analizinde kullanılan primerler Sequenom Inc. tarafından sentezlenmiştir.

2.1.4 Cihazlar

Termal Çalkalayıcı-BIOSAN

Mini santrifüj ve vorteks-BIOSAN

Santrifüj-Beckman Coulter

Mikrosantrifüj-Beckman Coulter

Mikro-hacim UV-Vis spektrofotometre-Thermo

Termal döngüleyici-BIO-RAD

Döner çalkalayıcı-Scientific Industries

Emniyet kabini-Nüve

MassArray Nanodispenser- Sequenom Inc.

MassArray Analyser- Sequenom Inc.

2.2 Yöntem

Bu tez çalışmasında uygulanan yöntem aksi belirtilmediği sürece iPLEX® Gold Application Guide (2009) [99] ve iPLEX® Gold SNP Genotyping Training Protocol (2009) [100] referans alınarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.1 Genomik DNA izolasyonu

Temin edilen kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu Invisorb Spin Blood Mini Kit, (Cat No: 1031100200, Almanya) kit aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

İzolasyon işlemine başlamadan Elution Tamponu D 2.0 ml'lik tüpe alınır ve 56°C'de inkübasyona bırakılır. 1- 200 µl kan veya 1-30 µl serum 1.5 ml'lik reaksiyon tüpüne aktarılır. Eğer örnek hacmi 200 µl'den daha az ise 1 x PBS tamponu veya distile su ile 200 µl'ye tamamlanır. 200 µl lizis tamponu eklenir, pipetaj yapılarak (5 kere) 56°C' deki çalkalamalı inkübatörde 3 dk inkübe edilir. 20 µl Proteinaz K eklenir ve kısa süre vortekslenir. Reaksiyon tüpü 56°C' ye ayarlanmış çalkalamalı inkübatörde 5 dk inkübe edilir. Bağlanma tamponundan 200 µl eklenir ve örnek 4-5 kez pipetleme yapılarak ya da vortekslenerek karıştırılır.

(RTA Spin Filter Set) adı verilen tüplere hazırlanan karışım eklenerek örnekler 1 dakika inkübasyona bırakılmıştır. RTA Spin filtre setinin üst kısmında Spin Filtre ve alt kısmında Receiver (Alıcı) tüplerden oluşan birbiri içine geçebilen özel üretilmiş tüpler bulunmaktadır. Örneklerin 13.000 x g'de (12.000 rpm) 2 dakika santrifüjlenmesini takiben süzüntü atılır. RTA spin filtre seti yeni bir 2.0 ml RTA Receiver tüpe konur. Bu işlemin ardından RTA spin filtreye 500 µl ön yıkama tamponu eklenmiştir.

Örnekler 13.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenmesinin ardından süzüntü atılarak RTA spin filtre yeni bir alıcı tüpe konulur. Tüplere yıkama basamağında 700 µl yıkama tamponu eklenir, 13.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenerek süzüntü atılır. RTA spin filtre yeni bir alıcı tüpe yerleştirilir. Yıkama basamakları iki kez tekrar edilerek, RTA spin filtre tekrar yeni bir alıcı tüpe konulur ve kalan etanolün uzaklaştırılması amacıyla en yüksek hızda 4 dakika santrifüj yapılır. 1.5 ml'lik yeni bir alıcı tüpe konulan RTA spin filtreye önceden 56°C'ye ısıtılmış elüsyon tamponundan 75 µl eklenir. Örnekler 1 dakika boyunca oda

sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 1 dakika boyunca 8.000 x g'de (9.500 rpm) santrifüj gerçekleştirilerek DNA izolasyonu tamamlanmıştır.

2.2.2 İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık tayini

NanoDrop Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre ile izolasyon sonucu elde edilen genomik DNA'ların saflık dereceleri ve miktarları tespit edilmiştir. DNA konsantrasyonu genomik DNA örneklerinin 1'er µl'si cihaza pipetlenerek ng/µl cinsinden belirlenmiştir.

İzole edilen DNA örneklerinin saf olarak kabul edilebilmesi için 260nm ve 280 nm dalga boylarında alınan absorbans değerlerinin birbirine oranının 1.7 ile 2.0 arasında olması gerekmektedir ($A_{260}/A_{280}=1.7-2.0$) [101]. DNA miktarı hesaplanmasında 260 nm'deki bir optik dansite (OD) ünitesi 50 µg/ml çift iplikli DNA'ya eşit olarak kabul edilmiştir. DNA miktarının hesaplanmasında (2.1)'de verilen formül kullanılmıştır:

$$\text{DNA miktarı} = \text{OD ünitesi} \times \text{sulandırma faktörü}^* \times 50 \text{ µg/ml} \quad (2.1)$$

*DNA'nın 1:10 oranında sulandırılması durumunda sulandırma faktörü 10 olarak alınır.

DNA örneklerinin miktarları ve saflık dereceleri NanoDrop Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Saflık ve miktar tayininde izole edilen her genomik DNA örneğinin 1 µl'si cihaza pipetlenerek sonuçlar elde edilmiştir.

2.2.3 Kütle spektroskopisi esaslı deney tasarımı

2.2.3.1 Assay dizaynı

Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak 208 örnekte 15 SNP'nin genotiplemesi için assay tasarımı yapılmıştır.

Multipleks reaksiyonlarda tek bir kuyuda çalışılabilecek olan SNP sayısı plex terimi ile tanımlanmıştır. Çalışmada yer alan SNP bölgeleri için tasarlanan primerlerde multipleks reaksiyon oluşumunu engelleyecek dimer oluşumu olmadığından ve SNP'lerdeki hedef bölgelerde birbiri ile çakışan diziler bulunmadığından multipleks reaksiyonlar her bir örnek için tek plexte çalışılmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2. 1 Multipleks reaksiyonlarda yer alan SNP'ler

Multipleks reaksiyon	SNP'ler	
Plex 1	rs700675	rs11661542
	rs1333040	rs6842241
	rs6841581	rs911271
	rs10958409	rs6538595
	rs12413409	rs9315204
	rs10757278	rs700651
	rs1429412	rs10757272
	rs9298506	

2.2.3.2 Primer ve prob tasarımı

Multipleks PCR amplifikasyon primerlerinin tasarımında Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılmıştır. Çizelge 2.2'de bu tez çalışmasında genotiplenmesi gerçekleştirilen 15 SNP'ye ait rs (referans SNP) numaraları, polimorfik bölgeyi içeren ampikon uzunluğu, multipleks polimeraz zincir reaksiyonlarında kullanılan forward ve reverse primerler ve tek baz spesifik uzama reaksiyonunda kullanılan uzama problemleri belirtilmiştir.

Amplifikasyon primerlerinin tasarımında ideal olarak polimorfik bölgeyi içeren ideal ampikon boyutunun 80 ile 120 baz çifti arasında olması tercih edilerek 400 baz çiftinden daha büyük ampikon boyutlarından kaçınılması gerekmektedir. Amplifikasyon primerinin 5' ucuna 5'-ACGTTGGATG-3' dizisini içeren genel bir 10-mer etiketi eklenmektedir. Ayrıca multipleks PCR reaksiyonu aşamasında primerlerin bağlanması ile ilgili oluşabilecek sorunları engellemek ve verimli bir reaksiyon gerçekleştirmek amacıyla amplifikasyon primerleri tasarlanırken primer dimeri oluşumunu dikkate almak gerekmektedir. Primerlerin muhtemel dimer oluşumu açısından kontrolü Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. 2 SNP'ler ve genotipleme primerleri

SNP numarası	Forward Primerler	Reverse Primerler	Uzama Probu	Amplikon uzunluğu
rs700675	ACGTTGGATGACTCCTCATATTCACCCCT	ACGTTGGATGAACATGGCCTTTGCAAACTC	TTCTGGCAACCATC	100
rs1333040	ACGTTGGATGCCATATCTCATATCTGTACC	ACGTTGGATGTCTCAAGAGAGACAGGAG	TCTGTCCCAGCGTA	99
rs6841581	ACGTTGGATGCCACAAGTCTTTGGGAGAG	ACGTTGGATGCCACTTCAAGACAGTTCCAC	TGTGGAGAGCGCAC	98
rs10958409	ACGTTGGATGCACAGAAGAGTTAGAGTTAGG	ACGTTGGATGCTAGTGTATTGCCATCAGAG	ATTCTATTTCTCTGCCA	97
rs12413409	ACGTTGGATGCAGATACAGACTGCAGCTTC	ACGTTGGATGTTCCAGGAGGGATTCTCAAGC	GGGTTACAAGCAACA	100
rs10757278	ACGTTGGATGACTCTGTCTTGATCTGCAT	ACGTTGGATGAACTGAGGCCAGACAGGGCT	AGGATTCTGCATCGCTGC	99
rs1429412	ACGTTGGATGGATGTATTATGTGATCAGG	ACGTTGGATGTAGACTCTTCGAGGGCCAG	GTGATCAGGTATGGTGA	100
rs9298506	ACGTTGGATGTTGTTTTCTCAGACAGGAC	ACGTTGGATGGAAACAGCAAAACAGCCCTAC	CTCAGACAGGACCTTGTC	81
rs11661542	ACGTTGGATGCACCTGGATGGATCTACTGGG	ACGTTGGATGCCAAAGAGAAAACCTCACCCAC	GGTCTGGACTTTGTGAAAA	99
rs6842241	ACGTTGGATGGGTTAGACTAGATATTACCC	ACGTTGGATGGTTATTCTGGTTGGCTGATTC	ACTAATCTACAGCTTCTCA	94
rs911271	ACGTTGGATGGCGATCATGACAAGCTCAA	ACGTTGGATGGAAAGAGACTTAACATGGC	TCAAGCTCAATTTGATTAACCT	99
rs6538595	ACGTTGGATGGCATAATTCTGGCACTGTC	ACGTTGGATGCCCTTAAGTACTACTAGGGC	GCACTGTCAACAATAGGATAT	88
rs9315204	ACGTTGGATGCTTTTTGTGGCATAAAAAAC	ACGTTGGATGTGATGTGGGATTAGAGCG	TCTTAGTAATTTCTTTTGCATTC	99
rs700651	ACGTTGGATGGGGAAAAATTAGATACGAC	ACGTTGGATGCCAGCAGGAAAAACGTTAATG	GACGACTTTCATTCAGTTCTAAA	90
rs10757272	ACGTTGGATGCTTCTTCTTCAATATC	ACGTTGGATGGCTGGGATTATGAAAAGTGG	ACGTATAATAAAACATTCGAACATTC	94

Uzama problemleri (primerleri) amplifikasyondan sonra elde edilen PCR ürününe spesifik hibridizasyon gerçekleştirirler. Ortamda bulunan allelin belirlenebilmesi için ise tek bazlık bir uzama gerçekleştirerek kalıp diziyeye uygun şekilde uzama yaparlar. Böylece oluşan ürünlerin arasında allele spesifik olan kütle farklılıkları meydana gelmektedir. MassARRAY® Typer 4.0 yazılımı SNP'lerin allelleri arasında bulunan kütle farkı yardımıyla sonuçların analizini gerçekleştirir (Çizelge 2.3).

Uzama problemlerinin tasarımında probunun 3' ucu polimorfik bölgenin hemen yanında olacak şekilde 15-30 nükleotid uzunluğunda bir dizi seçilmiştir. Problemlerin Tm değeri yaklaşık olarak 60°C veya daha yüksek olacak şekilde sentezlenmiştir. Uzama problemleri ile yapılacak olan amplifikasyonlarda verimli sonuçlar alabilmek için uzama primerlerinin ve ürünlerinin kütleleri arasında aynı assayin allelleri hariç minimum 30 Da'luk fark bulunmaktadır ve analit kütleleri 4500-9000 Da arasında tercih edilmiştir. Tek baz uzama problemlerinin tasarımında da Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılmıştır. Uzama problemlerinin ve tek baz spesifik uzama reaksiyonu sonucunda elde edilebilecek dizilerin kütleleri ise yine aynı yazılım aracılığıyla belirlenmiştir.

Çizelge 2. 3 SNP allelleri arasındaki kütle farklılıkları [99]

Terminatör	A	C	G	T
A	0	-24	16	55.9
C	24	0	40	79.9
G	-16	-40	0	39.9
T	-55.9	-79.9	-39.9	0

2.2.3.3 Multipleks PCR

Genomik DNA'daki hedef bölgenin amplifikasyonunda tasarlanan primer çiftleri kullanılarak multipleks PCR gerçekleştirilmiştir. PCR bileşenleri Çizelge 2.4'de verilmiştir. Reaksiyon 95°C'de 2 dakika ön denatürasyon, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 56°C'de 30 saniye bağlanma, 72°C'de 1 dakika uzama ve 72°C' de 5 dakika son uzama basamakları ile 44 döngü olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. 4 Multipleks PCR karışımı (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

Bileşenler	Son Konsantrasyon	Reaksiyonda Kullanılan Bileşen Hacmi (μ l)
dH₂O	*	1,800
10X PCR Tamponu (20 mM MgCl₂)	1x (2 mM MgCl ₂)	0,500
MgCl₂ (25 mM)	2 mM	0,400
dNTP karışımı (her birinden 25 mM)	500 μ M	0,100
Primer karışımı (0,5 μM)	0,1 μ M	1,00
Roche PCR Enzimi (5 U/μl)	1.0 U/reaksiyon	0,200
PCR karışımı toplam hacim 4 μ l olacak şekilde hazırlandıktan sonra;		
DNA (10 ng/μl)	2 ng/ μ l	1,00
Toplam Hacim	*	5,00

2.2.3.4 dNTP Nötralizasyonu (SAP uygulaması)

Amplifikasyon ürünlerindeki bağlanmamış dNTP'lerin nötralizasyonunda shrimp alkalen fosfotaz (Shrimp alkaline phosphotase: SAP) enzimi kullanılmıştır. SAP enzimi fosfat gruplarını 5' ucundan uzaklaştırarak bağlanmamış dNTP'leri defosforile eder. Böylece bağlanmamış dNTP'ler amplifikasyon ürünlerinden temizlenir. Ortamdaki bağlanmamış ve serbest olarak bulunan dNTP'lerinin defosforilasyonu için SAP reaksiyonu hazırlanmıştır (Çizelge 2.5).

Multipleks PCR sonrası her bir kuyudaki PCR ürününün üzerine SAP enzimi ve tampon çözeltisini içeren reaksiyon karışımından 2 μ l eklenir. Örnek plakası hafif bir şekilde karıştırıldıktan sonra 1000 rpm hızında santrifüj gerçekleştirilmiştir. SAP reaksiyonu örnek plakasının 37°C'de 40 dakika inkübe edilmesini takiben enzimin inaktivasyonunu sağlamak için 85°C'de 5 dakika daha inkübasyon gerçekleştirilerek tamamlanır.

Çizelge 2. 5 SAP reaksiyonu bileşenleri (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

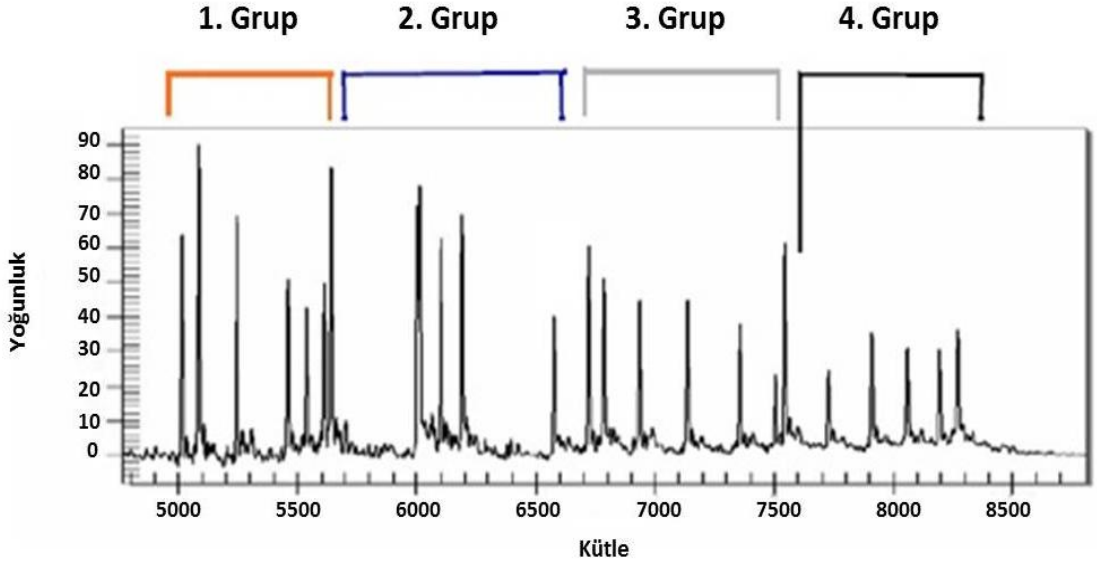
Bileşenler	7 µl reaksiyondaki son hacim (PCR + SAP)	2µl SAP karışımı içerisindeki bileşen miktarı [µl]
dH ₂ O	*	1,53
TS Tamponu (10X)	0,24 X	0,17
SAP Enzimi (1,7 U/µl)	0,5 U	0,30
Toplam Hacim (µl)	*	2 µl

2.2.3.5 Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu

Tek baz spesifik uzama reaksiyonunda pik yoğunluğu ve analit kütlesi arasındaki ters orantıdan dolayı uzama probu konsantrasyonlarının ayarlanması gerekmektedir. Oligoların konsantrasyonlarının ayarlanması sinyal-gürültü oranının dengelenmesi açısından önemlidir. En yüksek kütleyle sahip primerin (~8500 Da) pik yoğunluğunun düşük kütleli primerlerin ortalamasına göre % 25'ten daha az olduğu bilinmektedir. Bu durum kütlelerin artmasıyla sinyal-gürültü oranının azalma eğiliminde olduğunu gösterir. Uzama problemlerinin konsantrasyonları ayarlanmadığında sinyaller gürültüden dolayı ayırt edilemezler ve bu durum analit piklerinin kaçırılmasına sebep olarak genotipleme hatalarını ortaya çıkarabilmektedir.

Pik uzunluklarında beklenmeyen değişimlerin görülmesi aynı zamanda sentezlenen oligonükleotid kalitesine ve MALDI'deki düşük desorpsiyon/iyonizasyon davranışına bağlı olarak gözlenebilmektedir.

Bu çalışmada tek baz spesifik uzama reaksiyonunun gerçekleştirilebilmesi için primer konsantrasyonları, dört aşamalı olarak düşük kütleli primerlerden yüksek kütleli primerlere doğru ayarlanmıştır. Bütün primerlerin kütlelerine özgü konsantrasyonda karışımı düşük kütleli primer gurubundan yüksek kütleli primer gurubuna doğru konsantrasyonların sırası ile 7.0 µM, 9.3 µM, 11.6 µM, 14.0 µM olacak şekilde ayarlanmasıyla hazırlanmıştır. Tek baz spesifik uzama reaksiyonu için hazırlanan oligo karışımına uygun miktarda dH₂O eklenerek son hacim elde edilmiş ve elde edilen karışım reaksiyonda kullanılmıştır.



Şekil 2. 1 Primerlerin dört aşamalı uzama probu ayarlama metoduna göre gruplandırılması [99].

Uzama problemlerinin konsantrasyonlarının ayarlanmasının ardından önce uzama problemlerini içeren bir karışım hazırlanır. Shrimp alkaline fosfatase enzimi ile yapılan PCR sonrası temizleme işlemi sonucu elde edilen ürünlerin tasarlanan problemlerin hedef bölge ile hibridizasyonu ile tek kütle-modifiye nükleotid uzaması gerçekleştirilir.

Bu amaçla öncelikle uzama problemleri, tampon çözelti, enzim ve kütle modifikasyonlu ddNTP'leri içeren bir primer uzama reaksiyon kokteyli hazırlanarak amplifikasyon ürünlerinin üzerine eklenir. Bu reaksiyon ile primerin, allele ve deneyin tasarımına bağlı olarak, tek kütle modifikasyonlu nükleotid ile sonlanması sağlanır (Çizelge 2.6). Toplam 40 döngü olarak gerçekleştirilen tek baz spesifik uzama reaksiyonu ön denatürasyon, denatürasyon, bağlanma, uzama ve son uzama basamaklarından oluşmaktadır (Çizelge 2.7).

Çizelge 2. 6 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu bileşenleri (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

Bileşen	9µl reaksiyon hacmindeki son konsantrasyon	2 µl karışım içersindeki bileşen miktarı (µl)
dH ₂ O	*	0.619
iPLEX Tamponu (10X)	0.222X	0.200
iPLEX Terminasyon karışımı	1X	0.200
iPLEX Uzama Primeri Karışımı 7/9.3/11.6/14 µM	0.84/1.04/1.57	0.940
iPLEX Enzim	1X	0.041
Hacim (µl)	*	2
SAP+PCR	*	7
Toplam Hacim (µl)	*	9

Çizelge 2. 7 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu koşulları

Basamaklar	İşlem	Sıcaklık ve Süre
1	Ön denatürasyon	94 °C'de 30 saniye
2	Denatürasyon	94 °C'de 5 saniye
3	Bağlanma	52 °C'de 5 saniye
4	Uzama	80 °C'de 5 saniye
5	Son uzama	72 °C'de 3 dakika
Döngü sayıları		3-4 basamaklar 5 döngü; 2-4 basamaklar 40 döngü

2.2.3.6 Rezin ile temizleme

Örneklerin rezin ile temizlenmesinde; kütle spektrometrik analiz optimizasyonu için reaksiyon ürünlerindeki Na⁺, K⁺, and Mg⁺ gibi iyonların uzaklaştırılarak arka plan

kirliliğini minimuma indiren ve katyonik değişim sağlayan rezin minimum 30 dakika ürünler e uygulanır. Örnekler 25µl ddH₂O ve 6 mg resin kullanılarak seyreltilir. Bu aşamanın hazırlanması için 6 mg çukur plate kullanılır. Resin uygulaması sonrasında PCR ürünlerinin bulunduğu örnek plakası döner-çalkalayıcıda oda sıcaklığında 35 dakika çevirilmiştir ve 3200 x g'de 5 dakika santrifüj yapılmıştır.

2.2.3.7 Nanodispenser kullanılarak örneklerin çipe aktarımı

Resin uygulanması aşamasının ardından, ortalama 15nl modifiye PCR ürününün 384-element SpectroCHIP® II üzerine dağıtımını amacıyla nanodispenser kullanılmıştır. Nano hacimde gerçekleştirilen dağıtım ve delikli iğnelerin kapiler etkisi yardımıyla oligonükleotidlerin silika çip üzerindeki matriks spotlarına aktarılması gerçekleştirilmiştir. Oligonükleotidlerin çip üzerine aktarılmasıyla ürünler MALDI-TOF matriksine (3-hidroksipikolinik asit) dahil edilmiştir [97], [99].

2.2.3.8 MALDI-TOF aracılığıyla genotipleme

Kütle spektroskopisi (MassARRAY® Analyser 4) cihazı ile analiz için nanodispenser yardımıyla üzerinde PCR ürünleri dağıtılmış olan 384-element SpectroCHIP® II cihaza yüklenmiştir. MassARRAY® TYPHER 4.0 genotipleme yazılımı ile lazer atışı sonucu elde edilen allel spesifik piklerin, spektro görüntülerinin ve genotipleme verilerinin analizi gerçekleştirilmiştir. Spektrumda doğru analitin beklendiği pozisyonunun hesaplanması amacıyla assay tasarımında elde edilen bilgiler sisteme girilmiş ve analizde bu veriler sistem tarafından kullanılmaktadır.

2.2.4 İstatistik Analizler

Genotipleme analizi sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20.0, Chicago, IC, USA) paket programı kullanılmıştır. Tüm testlerde p≤0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

2.2.4.1 Hardy-Weinberg Dengesinin Test Edilmesi

Hardy-Weinberg kuralının genetik çıkarımlara temel oluşturması bakımından populasyon genetiğinde önemli bir yeri vardır. Bu kurala göre seleksiyon, mutasyon, göç olmayan ve rastgele çiftleşen gen ve genotip frekansları jenerasyondan jenerasyona değişmez ve sabit kalır. Sonuç olarak gen ve genotip frekansları dengede bulunan populasyonlar dengeli populasyon veya Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) olan populasyon olarak adlandırılır [102]. Bu dengeyi sağlayan populasyonların allel frekansları nesilden nesile aynı kalmaktadır böylelikle genotip frekanslarının allel frekanslarından tahmin edilmesi gerçekleştirilebilmektedir [103]. İnsanda bir çok tek nükleotid polimorfizminin allel ve genotip frekansları nesilden nesile sabit kalmakta sonuç olarak Hardy-Weinberg dengesinde bulunmaktadır [104], [105].

Bu tez çalışmasında genotiplerin çalışma grubundaki gözlenen birey sayıları bulunarak Hardy-Weinberg dengesi test edilmiştir ve daha sonra allel frekansları hesaplanmıştır. Allel frekansları aracılığıyla beklenen genotip frekansları hesaplanmıştır. Allel frekansları p ve q ile belirtilen ve iki allelden (A-a) bir lokusta genotip frekansları 3.1'de belirtilen denkleme uygun olmalıdır [103].

$$p^2+2pq+q^2=1 \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte $p^2 = AA$; $2pq = Aa$ ve $q^2 = aa$ genotiplerinin frekansını belirtmektedir.

Gözlenen değerler ile beklenen değerler arasındaki farkı test etmek ve elde edilen her bir genotipleme verisi için Hardy-Weinberg dengesinin analizi amacıyla ki-kare testi yapılmıştır. SNP'lerin HWE dengesinden sapma gösterdiği p değeri $\leq 0,05$ olan durumlarda kabul edilmiştir.

2.2.4.2 Olasılıklar Oranı (Odds Ratio=OR) Testi

Olasılıklar oranı (OR) hasta-kontrol çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir istatistik analiz yöntemi olup çalışma grupları kıyaslandığında hastalardaki genetik değişimin ortaya çıkma olasılığı olarak tanımlanmaktadır [106]. Her iki grup karşılaştırıldığında, belirli bir SNP'ye ait allelin veya genotipin frekansının daha artan bir oranda olması, o SNP'ye ait allelin bulunması durumunda hastalık riskinin de artabileceğini belirtmektedir [107]. Genetik değişimin hastalık ile ilişkilendirilebilmesi için olasılıklar

oranının 1'den büyük olması gerekmektedir [106]. Bu tez çalışmasında intrakraniyal anevrizma ve SNP'lerin ilişkisi allel ve genotiplerin OR değerleri hesaplanarak tespit edilmiştir.

Çalışma popülasyonunda kontrol grubuna göre yaygın olan allelin tespit edilerek referans olarak alınmasıyla SNP allellerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilebilmesi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca risk olduğu düşünülen allellerin referans olarak seçilen allele göre OR değerleri ve %95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler 1'den büyükse intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmiştir (3.2).

Çizelge 2. 8 Olasılıklar oranı hesaplama prensibi

	Allel 1	Allel 2
Hasta	A	B
Kontrol	C	D

$$OR = (A/B) / (C/D) = AD/BC \quad (3.2)$$

Çalışma popülasyonunda kontrol grubuna göre yaygın olan homozigot genotipin tespit edilerek referans olarak alınmasıyla SNP genotiplerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilebilmesi gerçekleştirilmiştir. OR değerlerinin ve %95 güven aralıklarının hesaplanmasında homozigot karşılaştırma modeli (Örneğin AA ile CC) ve dominant model (Örneğin AA+AC ile CC) kullanılmıştır. Hesaplanan değerler 1'den büyükse intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmiştir.

2.2.4.3 Klinik ve Demografik Değişkenlerin SNP'lerle İlişkisinin Belirlenmesi

Ki-kare testi, gözlenen frekanslar (G) ile beklenen frekanslar (B) arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olup olmadığı temeline dayanır. Bu çalışmada ki-kare testi dört gözlü düzende gerçekleştirilmiştir. Dört gözlü düzende incelenen değişkenin ikiside nitelik halinde sınıflandırılır ve ikili çapraz tablo haline getirilir. Ki-kare testinde, hücrelerdeki B'lerin çok küçük olmaması istenir. Ancak söz konusu B'ler, belirli bir sayıdan küçükse testin kullanılmaması belirtilmektedir. Dört gözlü düzenlerde gözlerin

herhangi birisinde B, 5'den küçük ise ki-kare dağılımı çarpık ve kesikli olur. Bu durumda, Fisher kesin ki-kare testi uygulanır [108].

Ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü, subaraknoid kanama (SAK) durumu, sigara kullanımı, alkol kullanımı, hastalık tanısının konulduğu dönemdeki yaş, cinsiyet, hipertansiyon, yüksek kolesterol, kalp ve kardiyovasküler hastalık öyküsü ve anevrizmanın konumu gibi klinik ve demografik değişkenlerin SNP'lerle ilişkisinin tespit edilebilmesi amacıyla ki-kare testi ve Fisher kesinlik testi (Fisher's exact test) kullanılmıştır.

2.2.4.4 Lojistik Regresyon Analizi

İstatistikte kullanılan diğer model yapılandırma tekniklerinde olduğu gibi lojistik regresyon analizinin de kullanım amacı, en az değişkeni kullanarak en iyi uyuma sahip olacak şekilde bağımlı ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi tanımlayabilen ve biyolojik olarak kabul edilebilir bir model kurmaktır [109].

Bu tez çalışmasında SNP genotipleri ile klinik ve demografik veriler açısından intrakraniyal anevrizma riskinin hesaplanmasında lojistik regresyon analizi kullanılmıştır.

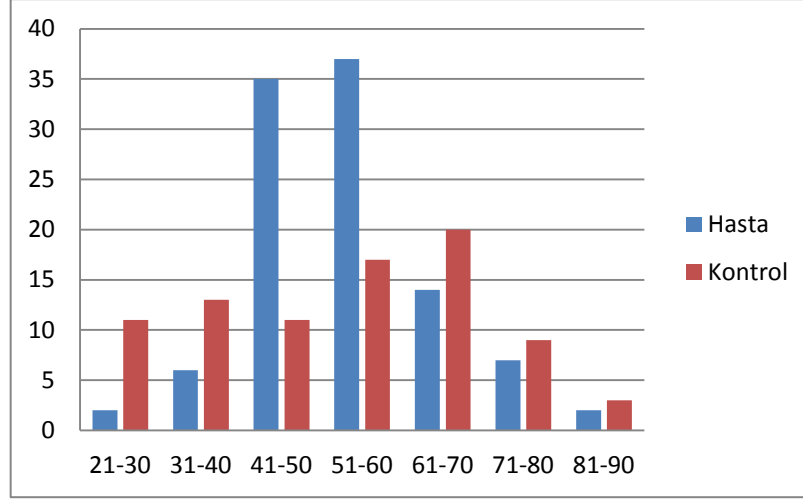
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

3.1 İntrakranial Anevrizma Tanısının Yapılması ve Çalışma Populasyonunun Tanıtılması

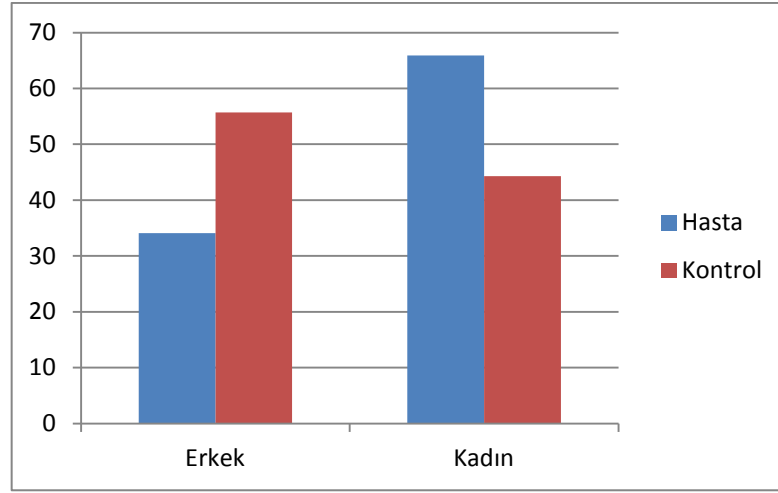
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği'ne başvuran bireylerde intrakraniyal anevrizma tanısı Doç. Dr. Hakan Hatem Selçuk, Doç. Dr. Batuhan Kara ve Uzm. Dr. Nurten Turan Güner tarafından gerçekleştirilmiştir. Kliniğe başvuran bireylerde hastalık tanısı DSA, BTA ve MRA yöntemlerinin en az biri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İntrakranial anevrizma teşhisi konulan 105 hasta ve 103 kontrol örneği olmak üzere toplam 208 örnek ile çalışma gerçekleştirilmiştir.

İntrakranial anevrizmalar her yaşta görülmekle birlikte, genellikle 35-60 yaş arasındaki kişilerde daha yüksek oranda gelişmektedir [110], [111]. Yaş faktörünün anevrizma için bir risk faktörü olmasından dolayı çalışma grubundaki bireylerin yaş dağılımları belirlenmiştir. Çalışma grubundaki bireylerin yaş dağılımı 21 ile 86 arasında değişmekte olup yaş ortalaması ise 52 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.1).

Anevrizma olguları kanamamış intrakraniyal anevrizma durumları referans alınarak kıyaslandığında, anevrizma oluşumu kadınlarda erkeklere oranla üç kat daha fazla görülmektedir [37]. Çalışmamıza katılan bireylerdeki cinsiyet dağılımına bakıldığında toplam 122 kadın ve 86 erkekten oluştuğu gözlenmektedir. İntrakranial anevrizma tanısı konulan kadın bireylerin sayısı 76, erkek bireylerin sayısı ise 34 olarak tespit edilmiştir. Cinsiyete bağlı olarak çalışma grubundaki bireylerin dağılım yüzdeleri Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

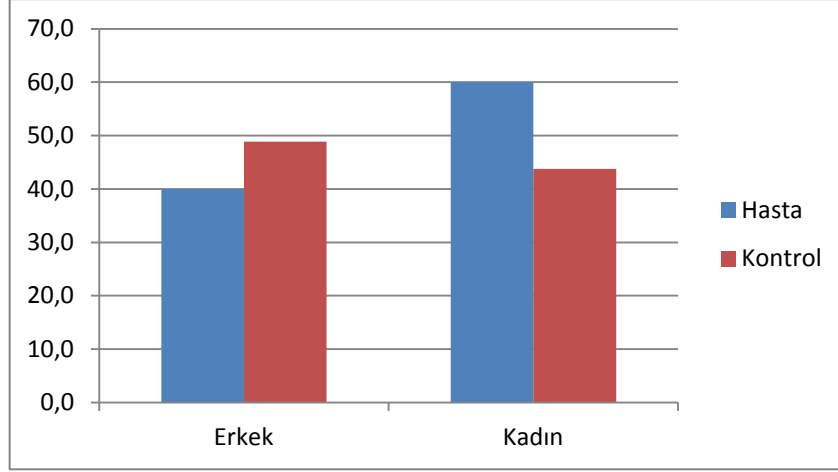


Şekil 3. 1 Çalışma grubundaki bireylerin yaşlarına göre yüzde dağılım grafiği



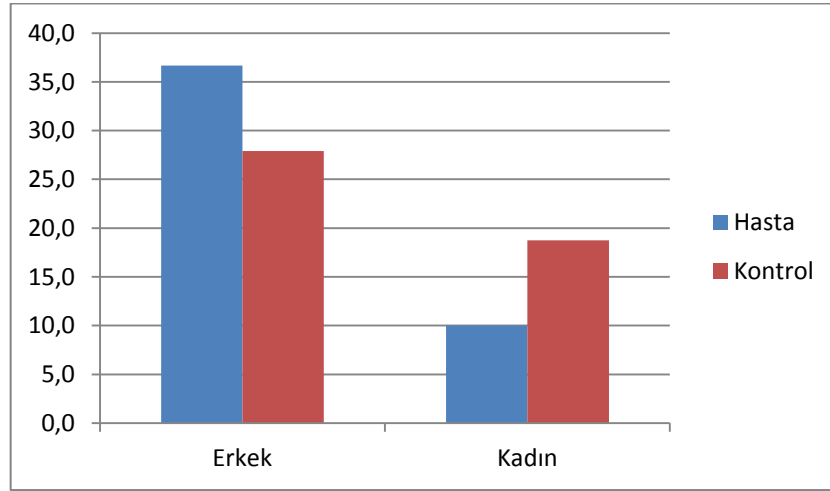
Şekil 3. 2 Çalışma grubundaki bireylerin cinsiyete göre yüzde dağılım grafiği

Hipertansiyon ile intrakraniyal anevrizma ve anevrizma kaynaklı SAK arasında pozitif bir korelasyon olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir [38]. Bu amaçla çalışmaya katılan bireylerdeki hipertansiyon durumu araştırılmıştır. Çalışma grubundaki hasta bireylerin 48'inde hipertansiyon gözlenirken, kontrol bireylerinde bu sayı 35 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.3).



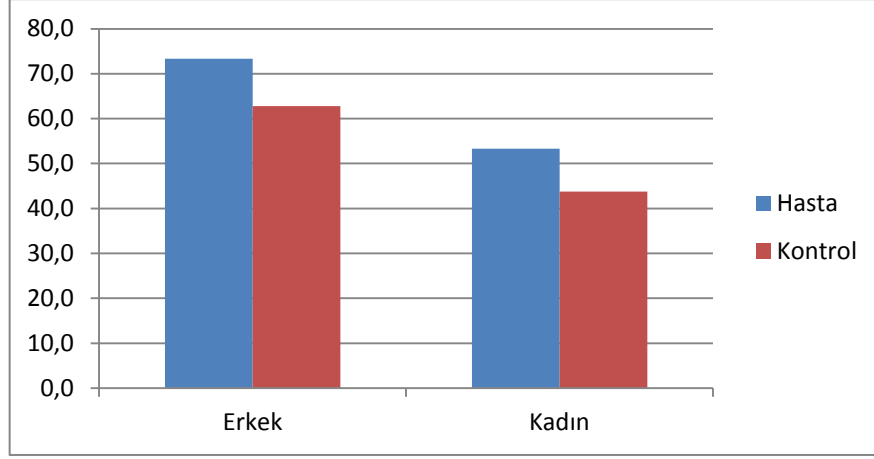
Şekil 3. 3 Çalışma grubunun hipertansiyon görülme durumlarına göre yüzde dağılım grafiği

İntrakranial anevrizmanın kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisi daha önceki çalışmalarda tanımlanmıştır [112], [113]. Çalışma popülasyonunda hasta bireylerin 16'sı kontrol bireylerinin ise 18'inde kardiyovasküler hastalık öyküsü belirlenerek, cinsiyetlere göre dağılım yüzdeleri Şekil 3.4'de verilmiştir.



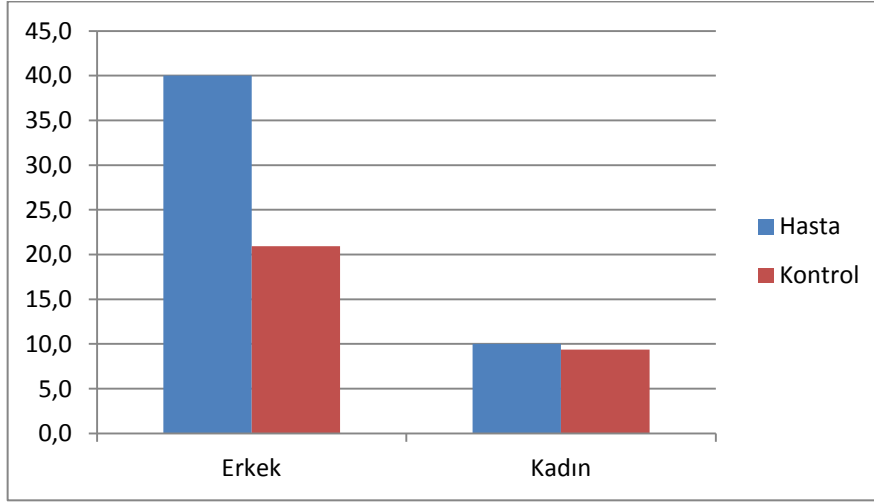
Şekil 3. 4 Çalışma grubunun kardiyovasküler hastalık öyküsü durumlarına göre yüzde dağılım grafiği

Sigara kullanımı intrakraniyal anevrizmaya sebep olan en önemli çevresel faktörlerden biri olarak bildirilmiştir [114]. Bu amaçla çalışma grupları sigara kullanım durumlarına bağlı olarak değerlendirildiğinde hastalarda sigara içen bireylerin sayısının 54 olduğu, kontrol grubuna ait bireylerde ise bu sayının 41 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.5).



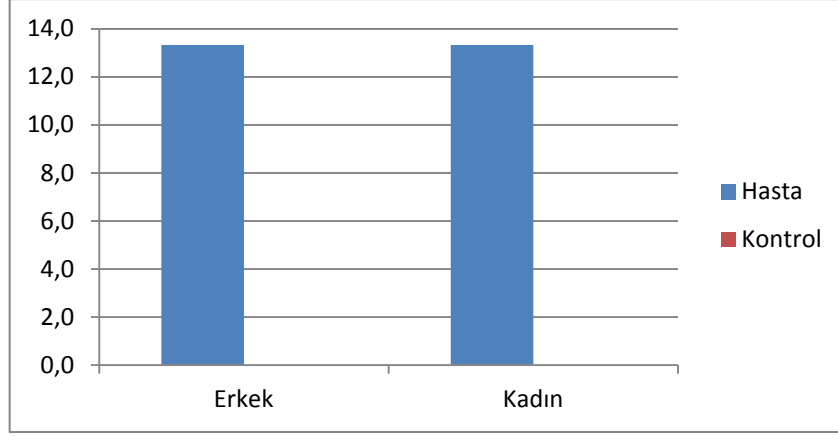
Şekil 3. 5 Çalışma grubunun sigara kullanım durumlarına göre yüzde dağılım grafiği

Çalışmaya katılan bireylerde alkol kullanım durumları incelendiğinde, alkol kullanan bireylerin sayısı hasta grubunda 18, kontrol grubunda ise 12 olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.6'da hasta ve kontrol grubuna ait kadın ve erkek bireylerdeki alkol kullanım yüzdeleri belirtilmiştir.



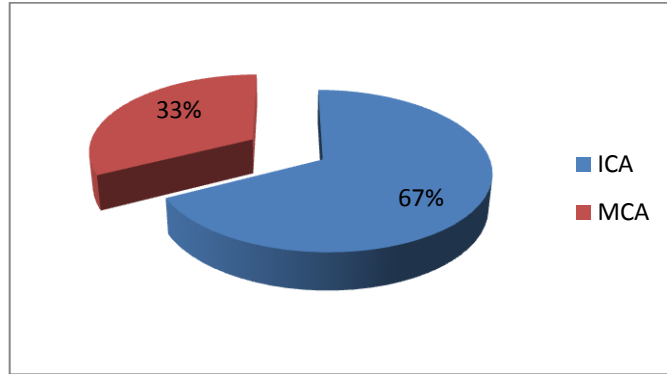
Şekil 3. 6 Çalışma grubunun alkol kullanım durumlarına göre yüzde dağılım grafiği

Ailesel anevrizma tanımı altında; aynı aile içerisinde birinci derece akrabalarından en az iki kişinin kanıtlanmış intrakraniyal anevrizma hastalığı olduğu bilinmektedir [115], [116], [117]. Bu amaçla hastaların ailesel intrakraniyal anevrizma öyküleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre hasta bireylerin 12'sinde ailede anevrizma öyküsü bulunmakta iken kontrol grubundaki bireylerde bulunmamaktadır (Şekil 3.7).



Şekil 3. 7 Çalışma grubunun ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü durumlarına göre yüzde dağılım grafiği

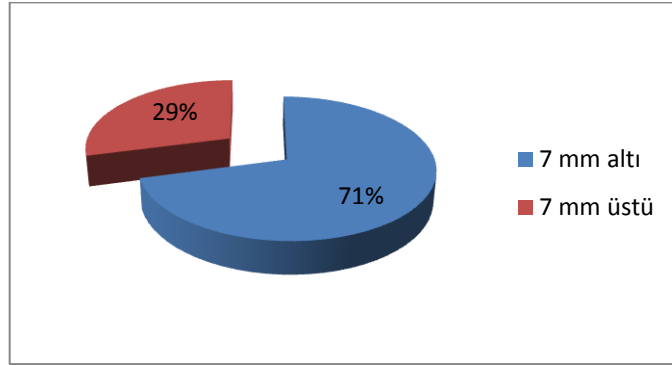
Anevrizmaların boyutları ve lokalizasyonları anevrizma rüptürünü etkileyen faktörler arasında en çok araştırılanların başında gelmektedir. Bu nedenle çalışma grubundaki hasta bireylerde bu kriterler de değerlendirilmiştir. Anevrizma lokalizasyonu bilinen 110 hastanın 54'ü ICA (internal karotid arter) yerleşimli anevrizmaya sahipken 26'sı MCA (orta serebral arter) yerleşimli anevrizma bulundurmaktadır. Diğer 30 hastanın ise anevrizma lokasyon dağılımları ACA (anterior serebral arter), BA (baziler arter), VA (vertebral arter), PICA (posterior inferior serebellar arter) ve SCA (superior serebellar arter) olarak çeşitlilik göstermektedir (Şekil 3.8).



Şekil 3. 8 Çalışma grubundaki hasta bireylerde en sık gözlenen anevrizma lokasyonları yüzde dağılım grafiği. ICA: İnternal karotid arter, MCA: Orta serebral arter.

Anevrizmaların rüptür riskini etkileyen bir diğer parametre ise anevrizmaların boyutlarıdır. Anevrizma boyutu ile rüptür riski arasında doğrusal bir ilişkinin varlığı hesaplandığında rüptüre olmamış anevrizmaların ortalama boyutunun 4 ile 6 mm ve rüptüre anevrizmaların ortalama boyutunun ise 5 ile 8 mm olduğu belirlenmiştir [11].

Bu amaçla çalışma grubundaki bireylerin anevrizma boyutları değerlendirilerek 7 mm referans değere [11] göre yüzde dağılım grafiği Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



Şekil 3. 9 Çalışma grubundaki hasta bireylerdeki anevrizma boyutunun 7 mm referans değere göre yüzde dağılım grafiği

3.2 DNA'ların Saflık ve Miktar Analizi

Çalışmada kullanılacak hasta ve kontrol örneklerine ait genomik DNA örnekleri ilerideki deneysel aşamalarda, örnek sayısının fazlalığı sebebiyle oluşabilecek herhangi bir hatayı engellemek amacıyla numaralandırılarak kodlanmıştır. Örneklerin nükleik asit konsantrasyonları (ng/ μ l) ve absorban değerleri NanoDrop Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Analiz sonucunda 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen absorban değerlerinin oranı 1.7 ile 2.0 arasında olan örnekler çalışmaya dahil edilmiştir [101].

Genomik DNA izolasyonu yapılan hasta ve kontrol grubuna ait örneklerden yeterli saflıkta DNA elde edilemeyenler çalışmadan çıkarılmış A_{260}/A_{280} değerleri 1.7-2.0 arasında elde edilen örnekler ise bir sonraki deneysel basamakların gerçekleştirilmesi için uygun olduklarından çalışmaya dahil edilmiştir.

Çizelge 3. 1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/ μ l)	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}
T0001	25,9	0,518	0,26	1,99
T0002	24,9	0,497	0,258	1,93
T0003	22,8	0,456	0,228	2
T0004	69,4	1,387	0,745	1,86
T0005	31,6	0,632	0,339	1,87
T0006	59,9	1,198	0,665	1,8
T0007	63,8	1,275	0,725	1,76
T0008	47,8	0,956	0,517	1,85

Çizelge 3.1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0009	65,1	1,302	0,719	1,81
T0010	103,9	2,078	1,11	1,87
T0011	46,8	0,937	0,487	1,92
T0012	42,3	0,845	0,481	1,76
T0013	75,5	1,51	0,813	1,86
T0014	35,7	0,713	0,412	1,73
T0015	74,8	1,496	0,812	1,84
T0016	112,9	2,257	1,225	1,84
T0017	30,4	0,609	0,314	1,94
T0018	94,3	1,886	1,027	1,84
T0019	34,9	0,697	0,378	1,85
T0020	42,7	0,854	0,469	1,82
T0021	31,9	0,637	0,332	1,92
T0022	25,8	0,516	0,269	1,92
T0023	62,2	1,243	0,681	1,82
T0024	27,2	0,544	0,281	1,94
T0025	67,3	1,345	0,749	1,8
T0026	33,4	0,668	0,363	1,84
T0027	33,9	0,678	0,363	1,87
T0028	21,8	0,436	0,228	1,91
T0029	57,5	1,15	0,649	1,77
T0030	34,5	0,69	0,381	1,81
T0031	40,6	0,811	0,428	1,9
T0032	16,1	0,321	0,162	1,99
T0033	46,5	0,931	0,497	1,87
T0034	67,6	1,353	0,749	1,81
T0035	154,3	3,087	1,679	1,84
T0036	57,7	1,153	0,636	1,81
T0037	114,5	2,291	1,26	1,82
T0038	29,1	0,582	0,312	1,87
T0039	76,9	1,539	0,853	1,8
T0040	65,8	1,315	0,72	1,83
T0041	80,3	1,606	0,872	1,84
T0042	30,2	0,604	0,313	1,93
T0043	42,4	0,848	0,456	1,86
T0044	33,8	0,677	0,372	1,82
T0045	47,8	0,956	0,507	1,89
T0046	46,4	0,929	0,499	1,86
T0047	69,2	1,384	0,786	1,76
T0048	165,8	3,315	1,823	1,82
T0049	51,7	1,034	0,577	1,79
T0050	26,9	0,538	0,288	1,87
T0051	123,3	2,466	1,339	1,84
T0052	42,3	0,847	0,457	1,85
T0053	123,7	2,475	1,337	1,85
T0054	75,7	1,515	0,836	1,81
T0055	24,5	0,489	0,253	1,93
T0056	24,1	0,483	0,256	1,89

Çizelge 3.1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0056	24,1	0,483	0,256	1,89
T0057	94,7	1,894	1,042	1,82
T0058	61,4	1,227	0,664	1,85
T0059	23,3	0,466	0,248	1,88
T0060	25,6	0,511	0,262	1,95
T0061	94,4	1,887	1,031	1,83
T0062	32,8	0,655	0,365	1,79
T0063	30,3	0,606	0,317	1,91
T0064	62,3	1,245	0,725	1,72
T0065	42,4	0,848	0,436	1,95
T0066	16,3	0,325	0,165	1,98
T0067	60,1	1,202	0,645	1,86
T0068	32,9	0,657	0,336	1,96
T0069	30,6	0,612	0,336	1,82
T0070	30,8	0,617	0,313	1,97
T0071	27,7	0,554	0,291	1,9
T0072	56,9	1,138	0,624	1,82
T0073	63,6	1,271	0,705	1,8
T0074	33	0,659	0,353	1,87
T0075	62,3	1,246	0,697	1,79
T0076	27,5	0,549	0,281	1,96
T0077	31,9	0,638	0,351	1,82
T0078	58,4	1,169	0,638	1,83
T0079	35,1	0,702	0,374	1,88
T0080	121	2,419	1,31	1,85
T0081	60	1,201	0,649	1,85
T0082	18,8	0,375	0,188	2
T0083	32,8	0,655	0,366	1,79
T0084	236,9	4,738	2,575	1,84
T0085	50,4	1,007	0,549	1,83
T0086	35,4	0,707	0,389	1,82
T0087	48,2	0,964	0,51	1,89
T0088	72,8	1,456	0,788	1,85
T0089	88,9	1,778	0,971	1,83
T0090	52,5	1,05	0,563	1,86
T0091	124,5	2,489	1,363	1,83
T0092	47,2	0,945	0,516	1,83
T0093	80,3	1,606	0,886	1,81
T0094	26,8	0,536	0,28	1,91
T0095	78,2	1,565	0,859	1,82
T0096	98,8	1,977	1,064	1,86
T0097	72,3	1,446	0,797	1,81
T0098	54	1,081	0,595	1,82
T0099	67,8	1,356	0,728	1,86
T0100	43,9	0,878	0,463	1,9
T0101	70,9	1,418	0,779	1,82
T0102	31,9	0,638	0,341	1,87
T0103	90,1	1,801	0,993	1,81

Çizelge 3.1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0104	43,1	0,862	0,472	1,83
T0105	140,7	2,813	1,509	1,86
T0106	96,6	1,931	1,038	1,86
T0107	22,5	0,451	0,234	1,92
T0108	38,1	0,763	0,42	1,81
T0109	24,7	0,493	0,284	1,74
T0110	42	0,841	0,488	1,72
T0111	31	0,62	0,325	1,91
T0112	47,6	0,953	0,5	1,91
T0113	21,8	0,437	0,237	1,85
T0114	222,7	4,454	2,373	1,88
T0115	75,4	1,509	0,833	1,81
T0116	90,8	1,816	0,988	1,84
T0117	56,2	1,125	0,624	1,8
T0118	82,4	1,648	0,911	1,81
T0119	27,5	0,55	0,292	1,89
T0120	36,4	0,728	0,41	1,77
T0121	40,2	0,804	0,468	1,72
T0122	51,8	1,037	0,599	1,73
T0123	45,9	0,918	0,489	1,88
T0124	107	2,141	1,17	1,83
T0125	172,2	3,445	1,862	1,85
T0126	139,4	2,787	1,432	1,95
T0127	49,8	0,997	0,54	1,84
T0128	32,1	0,641	0,333	1,93
T0129	36	0,719	0,389	1,85
T0130	56,1	1,122	0,613	1,83
T0131	51,7	1,034	0,553	1,87
T0132	154,7	3,093	1,665	1,86
T0133	40,2	0,804	0,441	1,82
T0134	75,3	1,507	0,824	1,83
T0135	96,1	1,921	1,052	1,83
T0136	24,9	0,499	0,268	1,86
T0137	93	1,86	1,02	1,82
T0138	37,5	0,75	0,42	1,79
T0139	100,6	2,012	1,082	1,86
T0140	31,3	0,626	0,326	1,92
T0141	24,1	0,483	0,254	1,9
T0142	33,3	0,667	0,357	1,87
T0143	60,4	1,208	0,675	1,79
T0144	63,8	1,275	0,709	1,8
T0145	33,4	0,668	0,351	1,91
T0146	28,2	0,564	0,296	1,91
T0147	61,1	1,221	0,667	1,83
T0148	44,6	0,892	0,471	1,89
T0149	58	1,16	0,658	1,76
T0150	249,2	4,984	2,582	1,93
T0151	39,8	0,796	0,442	1,8

Çizelge 3.1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0152	30	0,6	0,315	1,9
T0153	67,1	1,343	0,726	1,85
T0154	21,9	0,438	0,238	1,84
T0155	77,6	1,552	0,84	1,85
T0156	68,4	1,368	0,742	1,84
T0157	21,2	0,424	0,217	1,95
T0158	40,1	0,802	0,434	1,85
T0159	194,3	3,886	2,09	1,86
T0160	53,9	1,078	0,598	1,8
T0161	28,2	0,564	0,3	1,88
T0162	78,2	1,564	0,866	1,81
T0163	34,3	0,687	0,356	1,93
T0164	77,6	1,552	0,863	1,8
T0165	48,4	0,968	0,516	1,88
T0166	83,7	1,675	0,929	1,8
T0167	60,2	1,205	0,626	1,93
T0168	25,9	0,519	0,273	1,9
T0169	46,9	0,939	0,492	1,91
T0170	23,8	0,476	0,246	1,94
T0171	69,6	1,391	0,767	1,81
T0172	87,6	1,752	0,93	1,88
T0173	79	1,579	0,923	1,71
T0174	63,1	1,262	0,678	1,86
T0175	41	0,819	0,452	1,81
T0176	47,9	0,96	0,54	1,78
T0177	68,6	1,37	0,75	1,84
T0178	33,3	0,67	0,36	1,83
T0179	35,4	0,71	0,4	1,79
T0180	33,7	0,68	0,38	1,8
T0181	30,7	0,61	0,35	1,77
T0182	18,7	0,38	0,21	1,76
T0183	29,7	0,59	0,35	1,72
T0184	52,6	1,05	0,57	1,86
T0185	29,5	0,59	0,33	1,81
T0186	26,8	0,54	0,31	1,74
T0187	76,6	1,53	0,93	1,64
T0188	53,6	1,07	0,65	1,64
T0189	21,4	0,43	0,24	1,78
T0190	27,3	0,55	0,3	1,82
T0191	57,6	1,15	0,62	1,86
T0192	11,4	0,23	0,12	1,84
T0193	43,5	0,87	0,5	1,75
T0194	32,5	0,65	0,34	1,9
T0195	60,9	1,22	0,77	1,59
T0196	61,9	1,24	0,66	1,87
T0197	53,9	1,08	0,6	1,8
T0198	21,1	0,42	0,24	1,75
T0199	40,8	0,82	0,43	1,91

Çizelge 3.1 Hasta ve kontrol grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0200	52	1,04	0,55	1,88
T0201	78,3	1,57	0,83	1,88
T0202	44,6	0,89	0,47	1,9
T0203	62	1,24	0,67	1,86
T0204	172,5	3,45	1,81	1,9
T0205	53,8	1,08	0,58	1,85
T0206	40,2	0,8	0,44	1,82
T0207	89	1,78	0,97	1,83
T0208	27,2	0,54	0,3	1,81

3.3 SNP Tayini ve Genom Dizisi Üzerindeki Konumları

Bu çalışmada, genom boyu ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), araştırma makaleleri ve NCBI SNP veritabanı kullanılarak farklı populasyonlarda intrakraniyal anevrizma ile ilişkili olduğu bilinen SNP'ler tespit edilerek genotiplenmek üzere seçilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3. 2 Analiz edilen SNP'lerin genomdaki konumları ve allel bilgileri

SNP Numarası	Fiziksel Pozisyonu	Kromozom Lokasyonu	Genin Sembolü	Alleller	Kaynak (lar)
rs700651	198,631,714	2q33.1	<i>BOLL, PLCL1</i>	A/G	[84], [118]
rs700675	98,700,216	2	<i>PLCL1</i>	C/T	[84]
rs911271	236,310,024	1	<i>GPR137B</i>	A/C	[84]
rs1333040	22,073,404	9p21.3	<i>CDKN2A, CDKN2B</i>	C/T	[84], [118], [83], [119]
rs1429412	198,190,894	2	<i>intergenic</i>	C/T	[84]
rs6538595	95,506,623	12q22	<i>NDUFA12/NR2C1/FGD6/VEZT</i>	A/G	[120]
rs6841581	198,190,894	4q31.23	<i>EDNRA</i>	A/G	[120],[72]
rs6842241	148,400,819	4q31.22	<i>EDNRA</i>	A/C	[72],
rs9298506	55,600,077	8q11.23	<i>SOX17</i>	A/G	[83], [84]
rs9315204	32,591,837	13q13.1	<i>STARD13</i>	C/T	[83]
rs10757272	22,088,260	9p21.3	<i>CDKN2BAS</i>	C/T	[72]
rs10757278	22,124,477	9	<i>intergenic</i>	A/G	[118]
rs10958409	55,327,091	8q11.23	<i>SOX17</i>	A/G	[84], [118], [119]
rs11661542	20,223,695	18q11.2	<i>RBBP8</i>	A/C	[83]
rs12413409	104,719,096	10q24.32	<i>CNNM2</i>	A/G	[83]

İntrakranial anevrizma ile ilişkili olarak yapılan toplam 5 genom boyu ilişkilendirme çalışması bulunmaktadır. Yapılan taramalar sonucu çalışmada kullanılmak üzere seçilen SNP'ler, genomdaki konumları ve allel bilgileri Çizelge 3.2'de verilmiştir. Çalışılmak üzere seçilen 15 SNP'nin genom dizisi üzerindeki yeri ile ilgili doğrulama NCBI SNP veritabanı kullanılarak yapılmıştır. Bölüm 2.3.2.2'de belirtilen yöntemle göre yazılım kullanılarak tasarlanan ve polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan forward primerler, reverse primerler ile tek baz spesifik uzama problemlerinin genom dizisi üzerindeki konumları manuel olarak belirlenmiştir. Böylece tasarlanan primerler ve uzama problemlerinin dizisi üzerindeki konumları doğrulanmıştır. Çalışmamızda kullanılan rs9315204 polimorfizmine ait primerler ve uzama probu dizileri genom dizisi üzerinde SNP'nin bulunduğu konum merkezde olmak üzere yaklaşık 200 bç'lik bölgeler seçilerek gösterilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3. 3 rs9315204 no'lu SNP'nin bulunduğu DNA dizisi (Uzama probu kırmızı, forward primer mavi, reverse primer ise yeşil ile gösterilen diziyeye göre tasarlanmıştır)

SNP'yi içeren DNA dizisi	Uzunluk (bç)
5'GTTTTTGTATATGTCAGCCGAATGGATCACAGGGGAAATTATACACTGCTACTT TTTGTGGCCATAAAAACAGAATCTTAGTAATATTTCTTTCATTCC[C/T]AAGGTT	100 bç [C/T]
TATCGCTCTAATCCACACATCAGGATATTCAGGCTGATAATATTGTCACCTAAA ATATGAGTACTTTCTTTTTTATTCTTAAAGTTTGAAT 3'	100 bç

Multipleks PCR primerlerinin tasarımında amplifikasyon primerlerinin her birinin 5' ucuna genel bir 10-mer etiketinin (5'-ACGTTGGATG-3') eklenmesi gerektiği Bölüm 2.2.3.2'de açıklanmıştır. Kütle spektroskopisi ile analizde spektrumda meydana gelebilecek muhtemel bir karışıklığa engel olmak amacıyla uzama problemlerinin kütlelerinin amplifikasyonda kullanılan primerlerin kütlelerinden farklı olması gerekmektedir. Bu amaçla forward PCR primerinin tasarımında Çizelge 3.3'de mavi ile belirtilmiş olan dizinin 5' ucuna bir 10-mer etiketi eklenmiştir ve primerin dizisi 5'ACGTTGGATGCTTTTGTGGCCATAAAAAC 3' olarak elde edilmiştir. Reverse primer tasarlanırken ise yeşil ile gösterilen dizinin tersi ve komplementeri belirlenerek 5' ucuna 10-mer etiketi eklenmiştir ve bu primerinin dizisi

5'ACGTTGGATGCGCTCTAATCCCACACATCA 3' olarak elde edilmiştir (Çizelge 3.3). Uzama probu tasarlanırken ise Çizelge 3.3'de kırmızı renk ile gösterildiği gibi probun 3' ucu polimorfik bölgenin hemen yanında seçilmiştir.

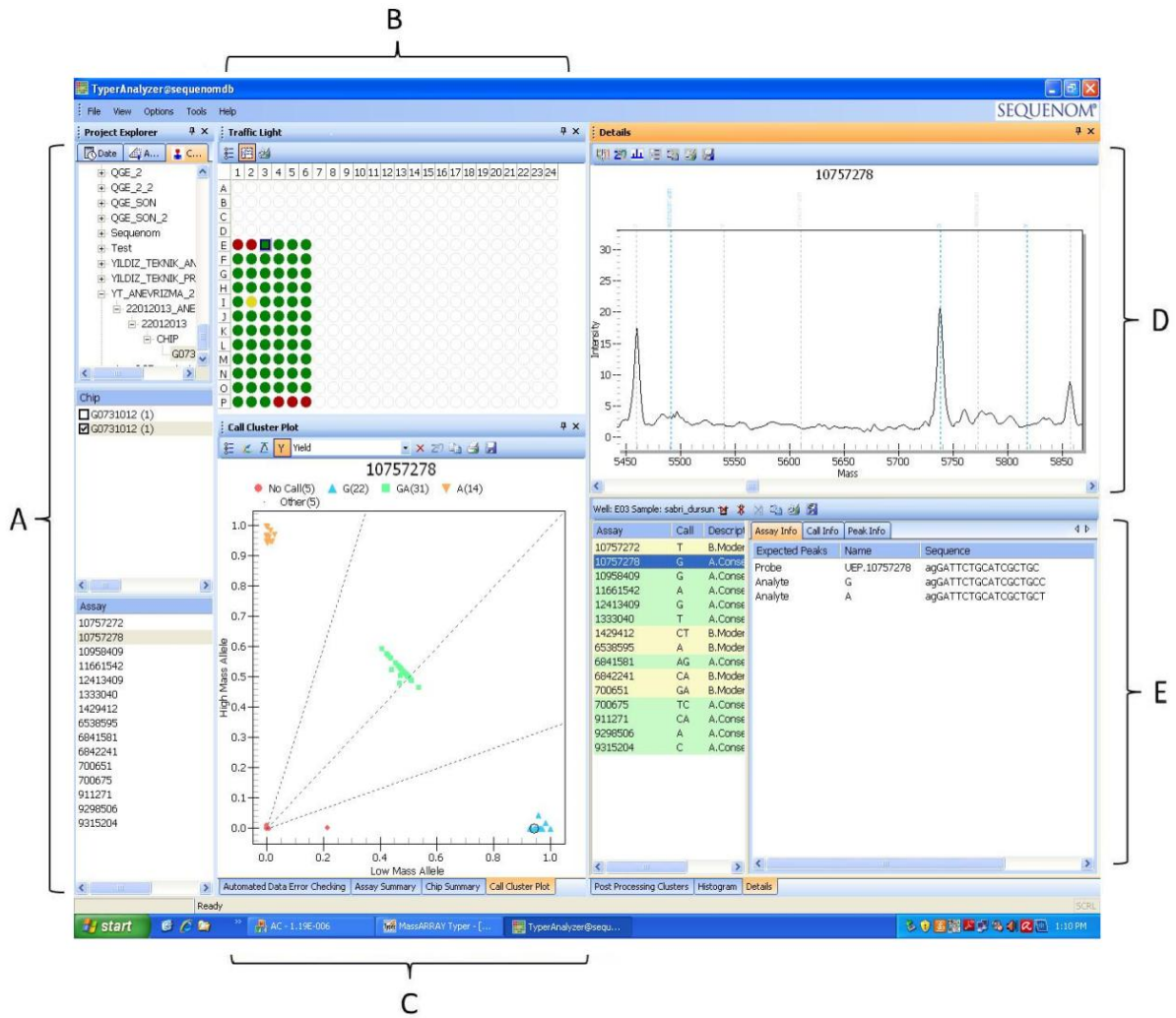
3.4 Genotipleme uygulama sonuçları

PCR sonucu elde edilen ürün Nanodispenser cihazı kullanılarak Bölüm 2.2.3.7'de belirtilen yöntemle göre 384-element SpectroCHIP® II üzerine dağıtılmış ve genotipleme analizi MALDI-TOF MS cihazının yazılımı MassARRAY TYPHER 4.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar verileri analizine hazır hale getiren MassARRAY TYPHER 4.0 yazılımının veritabanına yüklenmiştir. Şekil 3.10'da 72 örneğin çalışıldığı bir deney setinde, rs10757278 polimorfizmi için elde edilen genotipleme sonuçları gösterilmiştir.

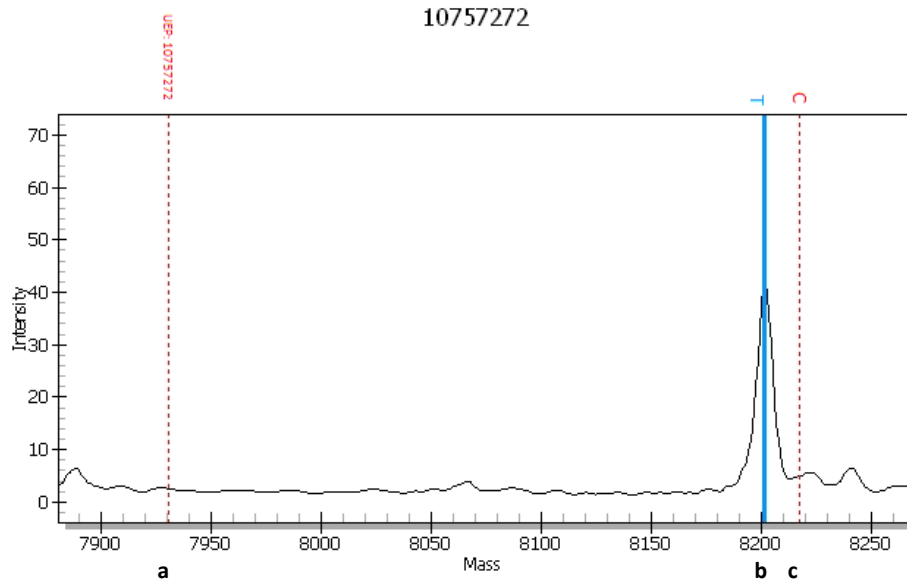
Şekil 3.10'da A ile belirtilmiş olan araç (Project Explorer) aracılığıyla analizi tamamlanan genotipleme sonuçlarının incelenmesi ve belirlenen assay ile çipin seçilmesi gerçekleştirilmektedir. B ile belirtilmiş olan araç (Traffic Lights) genotipleme analizi sonucu plakalardan 384-element çipe aktarılmış olan örneklerin sonuçlarına ait başarı yüzdesini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu araçta belirtilen noktaların her biri 384-element çipte ilgili kuyulara yüklemiş olan DNA örneklerini temsil etmektedir. Verilerin kaliteleri noktaların renklerine göre kodlanmıştır. İyi ve orta kalitedeki veriler koyu yeşil ve sarı ile belirtilirken zayıf veriler veya elde edilemeyen sonuçlar ise kırmızı renkli noktalar ile belirtmektedir. Düşük, yüksek ve orta düzeyde kütleli allellere ait dağılımlar C ile belirtilen araçta (Cluster Plot) belirtilen noktalar ile gösterilmektedir. Genotip ve kütle dağılımını gösteren spektrumlar ile analite ait sinyalleri içeren veriler D ile belirtilmiş olan araçta (Spectrum) bulunmaktadır. E ile belirtilen araç kuyularda bulunan SNP'lere ait genotipleme verilerini detayları ile listelemektedir.

rs10757272 no'lu polimorfizme ait spektrum Şekil 3.11'de gösterilmiştir. rs10757272 polimorfizmi için tasarlanan uzama primerinin 7930,2 Da olduğu bilinmektedir. Assay tasarımı sonucu elde edilen bilgilere göre iPLEX reaksiyonu sonrasında diziyeye dahil olacak alleller T veya C allelleridir. Bu allellerin eklenmesi ile T ve C allelleri için sırasıyla 8201,4 veya 8217,4 Daltonluk dizilerin elde edileceği yapılan tasarım sonucu bilinmektedir. Şekil 3.11'de gösterilen dikey çizgiler (a, b, c) rs10757272 polimorfizmi

için analiz edilmesi gereken değerlerdir. A ile gösterilen pik 7930,2 Da'luk bağlanmamış uzama primerini (UEP: Unexpended Primers) göstermektedir. B ile gösterilen pik 8201,4 Da olan T allelini belirtmektedir. Ancak 8217,4 Da için pik oluşumu bulunmadığından C allelinin var olmadığı anlaşılmaktadır (C). Spektrum sonucunda gözlenen diğer düşük yoğunluktaki pikler ise multipleks reaksiyon sonucu diğer SNP'lere ait bağlanmamış uzama primerleri ve allelleri belirtmektedir.



Şekil 3. 10 rs10757278 polimorfizmi için genotiplleme sonucu örneği. A: Project Explorer, B: Traffic Lights, C: Cluster plot, D: Spektrum, E: Genotiplleme sonucu.



Şekil 3. 11 rs10757272 için spektrum örneği. A: Bağlanmamış uzama primeri (UEP), B: T allelini belirten pik, C: C allelini belirten pik.

3.5 İstatistik Analizler

3.5.1 Hardy-Weinberg Dengesi Testi Sonuçları

Genetik ilişkilendirme çalışmalarında fenotiplerle ilişkilendirme yapılmadan önce ilk adımda Hardy-Weinberg Dengesi test edilmelidir. Bu kural geniş ve randomize eşleşen popülasyonların genotip frekansları ve allel frekanslarının sabit olması gerektiğini belirtmektedir [121]. Bu amaçla çalışma grubundaki gözlenen birey sayıları bulunarak Hardy-Weinberg dengesi test edilmiştir ve daha sonra allel frekansları hesaplanmıştır. Belirlenen allel frekansları sonuçları aracılığıyla beklenen genotip frekansları da tespit edilmiştir. Çalışma grubundaki her bir SNP için Hardy-Weinberg dengesinin değerlendirilmesinde ki-kare testi uygulanmıştır.

Bu çalışmada değerlendirilen 15 SNP için yapılan analiz sonuçlarını gösteren Çizelge 3.4 incelendiğinde tüm gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve istatistiki olarak anlamlı kabul edilen $p \leq 0,05$ koşulunda oldukları ve dengeden sapma göstermedikleri görülmektedir.

Çizelge 3. 4 Hardy-Weinberg testi sonuçları

SNP'ler	Genotipler	Gözlenen	Beklenen	Ki kare	P değeri
rs700651	AA	128	130,73	1,35	0,246
	GA	73	67,55		
	GG	6	8,73		
rs700675	TT	133	134,72	0,53	0,465
	TC	72	68,56		
	CC	7	8,72		
rs911271	CC	71	68,25	0,60	0,44
	CA	98	103,51		
	AA	42	39,25		
rs1333040	TT	102	95,78	3,75	0,053
	TC	81	93,43		
	CC	29	22,78		
rs1429412	CC	7	11,02	2,48	0,116
	TC	82	73,95		
	TT	120	124,02		
rs6538595	GG	87	87,25	0,01	0,942
	GA	98	97,51		
	AA	27	27,25		
rs6841581	AA	6	6,14	0,00	0,945
	GA	60	59,72		
	GG	145	145,14		
rs6842241	CC	145	145,00	0,00	1,000
	CA	59	59,00		
	AA	6	6,00		
rs9298506	AA	157	155,39	0,81	0,369
	GA	49	52,22		
	GG	6	4,39		
rs9315204	CC	137	134,56	1,09	0,296
	CT	63	67,88		
	TT	11	8,56		
rs10757272	TT	78	75,84	0,38	0,536
	TC	97	101,32		
	CC	36	33,84		
rs10757278	GG	66	68,25	0,40	0,528
	GA	108	103,51		
	AA	37	39,25		
rs10958409	GG	153	152,70	0,03	0,872
	GA	53	53,39		
	AA	5	4,70		
rs11661542	CC	77	79,10	0,37	0,543
	CA	105	100,79		
	AA	30	32,10		
rs12413409	GG	169	167,15	3,50	0,061
	GA	24	27,70		
	AA	3	1,15		

3.5.2 İnttrakranial anevrizma ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi

3.5.2.1 İnttrakranial anevrizma ile SNP genotiplerinin ilişkilendirilmesi

İnttrakranial anevrizma ile SNP genotiplerinin ilişkilendirilmesi amacıyla çalışılan 15 SNP'ye ait tüm genotipleme sonuçları başarı ile elde edilmiştir (Çizelge 3.5). Elde edilen genotipleme sonuçları için OR testi kontrol grubuna göre yaygın olan homozigot genotip referans alınarak gerçekleştirilmiştir.

OR değerleri ve %95 güven aralıkları homozigot karşılaştırma modeline ve dominant modele göre hesaplanmıştır. $OR > 1$ ve $p \leq 0,05$ koşulunu sağlayan genotipler hastalık ile ilişkili olarak kabul edilmiştir.

Yapılan analiz sonucu elde edilen genotipleme veriler incelendiği zaman rs1333040 polimorfizmine ait TT genotipi kontrol grubunda yaygın olarak bulunduğu için referans olarak seçilip OR testi uygulanmıştır (Çizelge 3.5). CC genotipi için p değeri 0,045 olarak elde edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir. Ancak aynı genotip için OR değeri 0.412 (%95 GA=0.173-0.981) olarak elde edildiği için hastalık ile ilişkilendirilmesi gerçekleştirilememiştir.

Genom boyu ilişkilendirme analizleri sonucu Avrupa ve Japon populasyonunda IA ile ilişkilendirilen [84] rs1333040 polimorfizmi için Hashikata ve arkadaşları Japon populasyonunda bir tekrar çalışması yapmışlardır [118]. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre araştırmanın yapıldığı populasyonda rs1333040 polimorfizmi için allel düzeyinde IA ile ilişki belirlenmesine karşın genotip düzeyinde yapılan analizde TT genotipi risk genotipi olarak belirlenmiş ve dominant modele göre OR değeri 1,55 (%95 GA=0,98-2,46) ve p değeri 0,06 olarak tespit edilerek genotip düzeyinde IA ile ilişkilendirilememiştir.

rs9298506 polimorfizmi için elde edilen sonuçlar incelendiğinde kontrol grubunda yaygın olarak bulunan AA genotipi referans olarak seçilmiştir ve dominant model (TC+TT) için yapılan analize göre p değeri 0,0216 olarak hesaplanmasına karşın OR değeri 0.469 (%95 GA=0.246-0.895) olarak hesaplanmış ve intrakraniyal anevrizma riski ile ilişkilendirilememiştir.

Çizelge 3. 5 SNP genotiplerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmesi

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	P değeri
rs700651	Hasta: 102 Kontrol: 101	AA	60 (0,587)	65 (0,650)	Referans 1.243 (0.697-2.216) 1.625 (0.262-10.063) 1.264 (80.72- 2.228)	0.4617 0.6017 0.4181
		GA	39 (0,375)	34 (0,330)		
		GG	3 (0,038)	2 (0,020)		
		GA+GG	42 (0,413)	36 (0,350)		
rs700675	Hasta: 105 Kontrol: 103	TT	61 (0,579)	69 (0,676)	Referans 1.414 (0.793-2.522) 2.262 (0.400-12.787) 1.464 (0.832-2.575)	0.2406 0.3556 0.1860
		TC	40 (0,374)	32 (0,305)		
		CC	4 (0,047)	2 (0,019)		
		TC+CC	44 (0,421)	34 (0,324)		
rs911271	Hasta: 105 Kontrol: 102	CC	39 (0,364)	32 (0,308)	Referans 0.666 (0.359-1.234) 1.110 (0.508-2.427) 0.774 (0.435-1.376)	0.1960 0.7935 0.3824
		CA	43 (0,402)	53 (0,529)		
		AA	23 (0,234)	17 (0,163)		
		CA+AA	66 (0,636)	70 (0,692)		
rs1333040	Hasta: 105 Kontrol: 103	CC	10 (0,103)	18 (0,171)	0.412 (0.173-0.981) 0.653 (0.361-1.181) Referans 0.581 (0.335-1.005)	0.0451 0.1587 0.0523
		TC	37 (0,355)	42 (0,410)		
		TT	58 (0,542)	43(0,419)		
		CC+TC	47 (0,458)	60 (0,581)		
rs1429412	Hasta: 105 Kontrol: 100	CC	6 (0,056)	1 (0,009)	5.700 (0.665- 48.829) 0.882 (0.500-1.555) Referans 0.994 (0.572-1.729)	0.1122 0.6646 0.9835
		CT	39 (0,374)	42 (0,412)		
		TT	60 (0,570)	57 (0,579)		
		CC+CT	45 (0,430)	43 (0,421)		
rs6538595	Hasta: 105 Kontrol: 103	AA	12 (0,112)	15 (0,144)	0.859 (0.360-2.050) 1.268 (0.707-2.276) Referans 1.164 (0.669-2.024)	0.7312 0.4258 0.5904
		GA	52 (0,495)	44 (0,428)		
		GG	41 (0,393)	44 (0,428)		
		AA+GA	64 (0,607)	59 (0,572)		
rs6841581	Hasta: 104 Kontrol: 102	AA	1 (0,019)	4 (0,038)	0.214 (0.023- 1.965) 0.696 (0.377-1.285) Referans 0.643 (0.354-1.169)	0.1730 0.2474 0.1473
		GA	26 (0,243)	32 (0,327)		
		GG	77 (0,738)	66 (0,635)		
		AA+GA	27 (0,262)	36 (0,365)		
rs6842241	Hasta: 104 Kontrol: 102	AA	2 (0,019)	4 (0,038)	0.429 (0.076-2.415) 0.670 (0.361-1.242) Referans 0.643 (0.354-1.169)	0.3368 0.2034 0.1473
		CA	25 (0,236)	32 (0,327)		
		CC	77 (0,745)	66 (0,635)		
		CA+AA	27 (0,255)	36 (0,365)		
rs9298506	Hasta: 105 Kontrol: 103	AA	86 (0,813)	70 (0,667)	Referans 0.523 (0.267-1.026) 0.163 (0.019-1.426) 0.469 (0.246-0.895)	0.0585 0.1011 0.0216
		AG	18 (0,178)	28 (0,286)		
		GG	1 (0,009)	5 (0,047)		
		GG+AG	19 (0.187)	33 (0.333)		
rs9315204	Hasta: 105 Kontrol: 102	CC	71(0,664)	64 (0,635)	Referans 0.792 (0.434- 1.447) 0.901 (0.250-3.258) 0.807 (0.455-1.430)	0.4485 0.8742 0.4620
		CT	29 (0,280)	33 (0,317)		
		TT	5 (0,056)	5 (0,048)		
		CT+TT	34 (0.336)	38 (0.365)		
rs10757272	Hasta: 105 Kontrol: 102	CC	13 (0,131)	22 (0,212)	0.467 (0.206-1.061) 0.842 (0.461-1.540) Referans 0.721 (0.409-1.270)	0.0690 0.5772 0.2575
		TC	49 (0,467)	46 (0,452)		
		TT	43 (0,402)	34 (0,336)		
		CC+TC	62 (0.598)	68 (0.664)		
rs10757278	Hasta: 104 Kontrol: 103	AA	13 (0,122)	24 (0,229)	0.436 (0.190-1.004) 0.886 (0.476-1.649) Referans 0.740 (0.411-1.335)	0.0512 0.7028 0.3173
		GA	55 (0,538)	50 (0,486)		
		GG	36 (0,340)	29 (0,285)		
		AA+GA	68 (0.660)	74 (0.715)		

Çizelge 3. 5 SNP genotiplerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmesi (devamı)

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	P değeri
rs10958409	Hasta: 104 Kontrol: 103	AA	2 (0,019)	3 (0,029)	0.607 (0.099-3.737)	0.5902
		GA	24 (0,226)	29 (0,276)	0.753 (0.402-1.413)	0.3776
		GG	78 (0,755)	71 (0,695)	Referans	
		AA+GA	26 (0,245)	32 (0,305)	0.740 (0.402- 1.360)	0.3318
rs11661542	Hasta: 102 Kontrol: 103	AA	13 (0,131)	16 (0,153)	0.609 (0.258-1.440)	0.2589
		CA	45 (0,458)	54 (0,533)	0.625 (0.343-1.139)	0.1248
		CC	44 (0,411)	33 (0,314)	Referans	
		AA+CA	58 (0,589)	70 (0,686)	0.622 (0.3515-1.099)	0.1018
rs12413409	Hasta: 99 Kontrol: 93	AA	2 (0,020)	1 (0,010)	1.773 (0.158-19.931)	0.6428
		AG	9 (0,089)	14 (0,158)	0.570 (0.234-1.389)	1.237
		GG	88 (0,891)	78 (0,832)	Referans	
		AG+AA	11 (0,109)	15 (0,168)	0.650 (0.282-1.499)	0.3123

3.5.2.2 İntrakranial anevrizma ile SNP allelerinin ilişkilendirilmesi

İntrakranial anevrizma ile SNP allelerinin ilişkilendirilmesi minör allelin yaygın allele göre kıyaslanarak OR ve p değerlerinin bulunması ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle her bir SNP için bulunan allellerin sayıları tespit edilerek birinci allel ve ikinci allelin frekansları hesaplanmıştır. Bu değerler kullanılarak olasılıklar oranı, %95 güven aralığı ve p değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.6).

rs700651 için hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımı incelendiğinde G allelinin frekansının A alleleline göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. SNP allellerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilerinin belirlenebilmesi amacıyla referans olarak çalışma popülasyonunda kontrol grubuna göre yaygın (majör) olan allel seçildiğinde, minör allelin yaygın allele göre OR değeri 1,29 (%95 GA=0,80-2,08) ve p değeri ise 0,297 olarak hesaplanmıştır. OR değeri hastalık ile ilişki olabileceğini öngörmesine rağmen p değerinin 0,297 olarak hesaplanması ile istatistiki olarak anlamlı bir sonuç elde edilemediği için rs700651 polimorfizmi intrakraniyal anevrizma riski ile ilişkilendirilememiştir.

Çalışma grubundaki allel dağılımları incelendiğinde rs700675 ve rs911271 polimorfizimleri için ise OR değeri sırasıyla 1,47 (%95 GA=0,91-2,38), 1,03 (0,70-1,51) ve p değerleri ise sırasıyla 0,112, 0,890 olarak hesaplanmıştır. OR değerinin

ilişkilendirmede uygun olmasına karşın istatistiki olarak anlamlılık içermediği için ($p \leq 0,05$) bu polimorfizmler intrakraniyal anevrizma riski ile ilişkilendirilememiştir.

Çizelge 3. 6 SNP allellerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmesi

SNP ID	SNP		1. Allelin Frekansı		2. Allelin Frekansı		Minör allelin Yaygın allele göre	
	1. Allel	2. Allel	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs700651	G	A	0,774	0,816	0,226	0,184	1,29 (0,80-2,08)	0,297
rs700675	T	C	0,776	0,829	0,234	0,171	1,47 (0,91-2,38)	0,112
rs911271	C	A	0,565	0,572	0,435	0,428	1,03 (0,70-1,51)	0,890
rs1333040	T	C	0,720	0,624	0,280	0,376	0,65 (0,43-0,97)	0,036
rs1429412	C	T	0,757	0,784	0,243	0,216	1,16 (0,73-1,83)	0,526
rs6538595	G	A	0,640	0,643	0,360	0,357	1,01 (0,68-1,50)	0,954
rs6841581	A	G	0,860	0,798	0,140	0,202	0,66 (0,38-1,16)	0,151
rs6842241	C	A	0,863	0,798	0,137	0,202	0,63 (0,37-1,05)	0,077
rs9298506	A	G	0,902	0,810	0,098	0,190	0,46 (0,26-0,82)	0,008
rs9315204	C	T	0,804	0,793	0,196	0,207	0,94 (0,58-1,51)	0,789
rs10757272	T	C	0,636	0,562	0,364	0,438	0,74 (0,50-1,09)	0,126
rs10757278	G	A	0,608	0,529	0,392	0,471	0,72 (0,49-1,06)	0,098
rs10958409	G	A	0,868	0,833	0,132	0,167	0,76 (0,44-1,30)	0,320
rs11661542	C	A	0,640	0,581	0,360	0,419	0,78 (0,53-1,15)	0,211
rs12413409	G	A	0,936	0,911	0,064	0,089	0,70 (0,33-1,48)	0,352

Bilguvar ve arkadaşları 2008 yılında intrakraniyal anevrizma ile belirli lokusları ilişkilendirmek üzere bir genom boyu ilişkilendirme çalışması gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada başlangıç popülasyonu olarak Avrupa atasal kökenli 1,580 hasta ve 6,276 kontrol grubu ve tekrar çalışması olarak Japon atasal kökenli 495 hasta ve 676 kontrol grubunun incelenmesi sonucu Avrupa popülasyonunda rs700651 ($p=4 \times 10^{-8}$, OR=1,24, %95 GA=1,15-1,34) ve rs700675 ($p=2 \times 10^{-7}$, OR=1,22, %95 GA=1,13-1,32) polimorfizmlerini ve Japon popülasyonunda rs911271 ($p=1 \times 10^{-5}$, OR=1,19, %95

GA=1,10-1,28) polimorfizmlerini intrakraniyal anevrizma ile ilişkili olarak tanımlamışlardır [84]. rs700651 ve rs1429412 polimorfizmlerinin fonksiyonları bilinmemekle beraber kromozom 2q33'de *BOLL* geni ve fosfolipaz C-like 1 geni etrafında yer aldıkları, ayrıca intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirildikleri çalışmaların sayılarının ikiden az oldukları bilinmektedir [122].

Bir diğer araştırmada ise, çalışmamızda da analizi yapılan rs700651, rs10958409, rs1333040 ve rs10757278 polimorfizmlerinin dahil olduğu 8 farklı SNP incelenmiştir. Japon populasyonunda gerçekleştirilen bu araştırmada 8 SNP'nin hem intrakraniyal anevrizma ile ilişkisini doğrulama hem de ailesel intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkisini tanımlamak üzere analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sadece rs1333040 polimorfizmi $p=0.02$, $OR=1,28$ (%95 GA=1,04-1,57) değerleri ile ailesel intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkilendirilmiştir. Ancak rs700651, rs10958409 ve rs10757278 polimorfizmlerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkisi belirlenememiştir [118].

rs1333040 polimorfizmi için çalışmamızda elde edilen sonuçlar incelendiğinde OR değeri 0,65 (%95 GA=0,43-0,97), p değeri ise 0,036 olarak tespit edilmiştir. Bu polimorfizm için yapılan istatistik analizde ise elde edilen p değeri çalışmamızda istatistiki anlamlılık referansı olarak kabul edilen değer olan 0,05'ten küçük olmasına karşın, OR değerinin 1'den düşük olması sebebiyle intrakraniyal anevrizma ile ilişkisi doğrulanamamıştır.

rs1333040 polimorfizmi intrakraniyal anevrizmalar ile güçlü olarak ilişkilendirilen 9p21.3'de siklin bağımlı kinaz inhibitör 2B antisense geni içinde yer almaktadır. Yasuno ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları Avrupa populasyonundaki 2,780 hasta ve 12,515 kontrol örneğinden oluşan genom boyu ilişkilendirme çalışmasında intrakraniyal anevrizma ve rs1333040 polimorfizmi ilişkisini tespit etmişlerdir ($p=2 \times 10^{-22}$; $OR = 1,32$, %95 GA=1,25-1,39)[83]. 2012 yılında ailesel ve sporadik intrakraniyal anevrizmalı hastaları içeren Kafkas populasyonunda 9p21.3'de bulunan 6 farklı SNP'yi incelemek amacıyla yapılan bir diğer genom boyu ilişkilendirme çalışmasında da rs1333040 polimorfizminin hastalık ile ilişkisi doğrulanmıştır [86].

Kromozom 8q üzerindeki rs10958409 ve rs 9298506 polimorfizmlerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise rs10958409 polimorfizmi Avrupa ve Japon populasyonlarında

intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkilendirilirken, rs9298506 polimorfizmi ise Japon populasyonunda intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkili bulunamamıştır [122].

Japon populasyonunda yapılan bir diğer genom boyu ilişkilendirme çalışmasında kromozom 4q31.22'de, *EDNRA* geni yanında yer alan rs6842241-C polimorfizmi için OR=1.25; 95% GA=1.16–1.34 ve $p=9.58 \times 10^{-09}$ sonuçları elde edilerek IA ile ilişkilendirilmiştir [72]. *EDNRA* geni polimorfizmleri ve IA ilişkilendirmesi için yine Japon populasyonunda yapılan benzer bir çalışmada da rs6841581 ve rs6538595 polimorfizmleri IA ile ilişkili bulunmuştur [120].

Kromozom 9p21.3'te *CDKN2BAS* geni üzerinde bulunan rs10757272 polimorfizminin IA ile ilişkisini araştırmak üzere yapılan tek araştırma Japon populasyonunda gerçekleştirilmiş olup bu populasyonda ilgili polimorfizmi IA ile ilişkili olarak bulmuşlardır [72]. Ancak 2013 yılında intrakraniyal anevrizma ile ilgili genetik faktörleri belirlemek amacı ile yapılan geniş kapsamlı bir meta-analiz çalışmasında rs10757272 polimorfizminin de dahil olduğu 22 SNP IA ile ilişkilendirilememiştir [122].

Yasuno ve arkadaşlarının 2010 yılında yapmış oldukları bir genom boyu ilişkilendirme çalışmasında rs9315204, rs11661542 ve rs12413409 polimorfizmlerinin Avrupa populasyonunda IA ile ilişkilendirilmiş olmasına karşın, bu polimorfizmi araştıran başka çalışma bulunmamaktadır [83]. Ayrıca Alg ve arkadaşlarının intrakraniyal anevrizma ile ilgili genetik faktörleri belirlemek amacı ile yapmış oldukları meta-analiz çalışmasında rs9315204 ve rs11661542 polimorfizmleri IA ile ilişkilendirilememiştir [122].

Çalışmamızda rs700651, rs700675, rs911271, rs1429412 ve rs6538595 polimorfizmlerinin intrakraniyal anevrizma ile ilişkilerini değerlendirmek üzere hesaplanan OR değerleri Çizelge 3.6'da belirtildiği gibi 1'den büyük olarak tespit edilmiştir. Ancak bu SNP'lere ait p değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bulunamaması sebebiyle örneklem sayısı artırılarak çalışmanın tekrar değerlendirilmesi gerektiği önerilmektedir (Çizelge 3.6). Daha önce farklı toplumlarda IA ile ilişkisi araştırılan ve bu tez çalışmasında değerlendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı çizelge 3.7'de özetlenmiştir.

Çizelge 3. 7 İntrakranial anevrizma ile ilişkilendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı

	Türkiye	Avrupa	Japonya	Finlandiya	Hollanda	Yeni Zelanda	Avustralya	Kafkas
rs700651	x	+	x	+	+	x	x	
rs700675	x	+	x					
rs911271	x	x	+	x	x			
rs1333040	x	+	x	+	+	+	+	+
rs1429412	x	+	x	+	+	x	x	
rs6538595	x	+	+	+				
rs6841581	x	+	+	+				
rs6842241	x	x	+					
rs9298506	x	+	x		x	x	x	
rs9315204	x	+						
rs10757272	x		+					
rs10757278	x		x			+	+	
rs10958409	x	+	x	+	+	+	+	
rs11661542	x	+						
rs12413409	x	+						

3.5.3 İntrakranial Anevrizma Hastalarında SNP Genotiplerinin Bazı Klinik ve Demografik Değişkenlerle İlişkilendirilmesi

Genotipleme analizleri tamamlanan 15 farklı SNP'nin bazı klinik ve demografik değişkenlerle olan ilişkisinin araştırılması amacıyla, hasta bilgi formu (EK-B) aracılığıyla elde edilen bilgiler kullanılarak ki-kare ve Fisher kesinlik testleri uygulanarak çapraz tablolar oluşturulmuştur.

Yapılan analizlerde hasta grubunda daha önce geçirilen cerrahi girişimler, trafik kazası düşme vb. travmalar, ışın tedavisi ve kemoterapi uygulanma durumları, sigara kullanımı, alkol kullanımı, hipertansiyon, yüksek kolesterol, kardiyovasküler hastalık öyküsü, ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü, intrakraniyal anevrizma lokasyonu ve subaraknoid kanama durumu değişkenleri ile genotiplerin ilişkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kardiyovasküler hastalık öyküsü, ailede intrakraniyal anevrizma

öyküsü, sigara kullanımı ve intrakraniyal anevrizma lokasyonu (ICA) klinik ve demografik değişkenleri ile SNP'lerin ilişkisi belirlenmiştir (Çizelge 3.8). Yapılan değerlendirme sonrasında klinik ve demografik veriler ile ilişkilendirilen SNP'lere ait çapraz tabloları içeren sonuçlar detaylı olarak açıklanacaktır.

Çizelge 3. 8 Tüm klinik ve demografik değişkenlerin SNP'lerle ilişkilendirilmesi. İlişkili olan SNP'ler kalın olarak gösterilmiştir ($p \leq 0,05$).

	Cerrahi Girişim	Trafik Kazası/ Travma	Işın Tedavisi/ Kemoterapi	Sigara Kullanımı	Alkol Kullanımı	Hipertansiyon	Yüksek kolesterol	Kardiyovasküler rahatsızlık öyküsü	Ailede IA öyküsü	IA lokasyonu (ICA)	SAK durumu
rs700651	0,159	0,513	0,402	0,250	0,640	0,441	0,306	0,236	0,111	0,627	0,193
rs700675	0,249	0,735	0,417	0,181	0,551	0,437	0,251	0,194	0,058	0,567	0,195
rs911271	0,189	0,735	1,000	0,308	0,052	0,403	0,790	0,675	0,120	0,165	1,000
rs1333040	0,249	0,508	0,476	0,031	0,623	0,851	0,114	0,935	0,656	0,479	0,536
rs1429412	0,451	0,743	1,000	0,034	0,173	0,092	0,779	0,728	0,419	0,307	0,199
rs6538595	0,949	0,738	1,000	0,896	0,480	0,101	0,695	0,040	0,242	0,441	0,747
rs6841581	0,462	0,491	1,000	0,435	0,665	0,063	0,878	0,768	0,176	0,040	1,000
rs6842241	0,462	0,491	1,000	0,435	0,665	0,063	0,878	0,768	0,176	0,040	1,000
rs9298506	0,594	0,679	1,000	0,528	0,730	0,426	1,000	0,725	0,046	0,370	1,000
rs9315204	0,303	1,000	1,000	0,199	0,940	0,104	0,518	0,192	0,744	0,374	0,744
rs10757272	0,875	0,738	1,000	0,009	0,473	0,278	0,878	0,146	0,115	0,427	0,519
rs10757278	0,960	1,000	1,000	0,015	0,395	0,235	0,787	0,226	0,048	0,969	0,322
rs10958409	0,854	1,000	1,000	0,935	0,105	0,845	0,536	1,000	0,488	0,530	1,000
rs11661542	0,809	1,000	1,000	0,313	0,706	0,886	0,065	0,219	0,203	0,817	0,758
rs12413409	0,726	0,312	1,000	0,847	1,000	0,552	0,392	1,000	0,347	1,000	1,000

3.5.3.1 Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamızda yer alan hasta bireylerin kromozom 12 üzerinde bulunan rs653895 polimorfizmi ile kardiyovasküler hastalık öyküsü arasındaki ilişkiyi incelemek üzere oluşturulan çapraz tabloda $p=0,040$ ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Çizelge 3.9 incelendiğinde kardiyovasküler hastalık öyküsü olan 15 hastanın 10'unda (%66,7) TT genotipi, 5'inde (%33,3) ise AA/GA genotipi gözlemlendiği belirlenmiştir.

Çizelge 3. 9 Kardiyovasküler hastalık öyküsünün rs6538595 polimorfizmi ile ilişkisini gösteren çapraz tablo

			rs6538595		Toplam	P değeri
			TT	AA+GA		
Kardiyovasküler hastalık	Yok	Hasta sayısı	26	43	69	0,040
		Yok grubundaki yüzdesi	37,7%	62,3%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	10	5	15	
		Var grubundaki yüzdesi	66,7%	33,3%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı	36	48	84		
	Toplamın yüzdesi	42,9%	57,1%	100,0%		

Öncelikle Avrupa popülasyonunda daha sonra bu popülasyondaki çalışmayı takiben bir tekrar çalışması olarak Japon popülasyonunda gerçekleştirilen bir seri genom boyu ilişkilendirme çalışması kromozom 9p21 lokusu üzerindeki varyantların intrakraniyal anevrizma, koroner arter hastalığı, miyokard enfarktüsü, abdominal aortik anevrizma gibi vasküler hastalıklar ile ilişkili olduğunu belirlemiştir [84], [123], [124], [125], [126]. Aynı lokustaki bazı SNP'ler tip 2 diyabet ile de ilişkilendirilmesine karşın IA ile ilişkili olarak bulunamamıştır [127]. Bu sebeple kromozom 9p21 lokusu arteriyel hastalık riski için potansiyel olarak önemli bir bölgedir. Bu bölgede yer alan ve daha önce koroner arter hastalığı, abdominal aortik anevrizma ve IA ile ilişkileri doğrulanmış [84], [123], [124] rs10757278 ve rs1333040 polimorfizmlerinin IA ile ilişkileri 2010 yılında yapılan ve Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya bölgelerinden hasta gruplarını içeren bir çalışmada da tekrarlanarak doğrulanmıştır [119]. Japon popülasyonunda yapılan bir

başka çalışmada ise sadece rs1333040 polimorfizmi IA ile ilişkilendirilirken, rs10757278 polimorfizmi IA ile ilişkili olarak tespit edilememiştir [118]. Yine Japon popülasyonunda gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise kardiyovasküler hastalıklar ile de ilişkili olduğu belirlenen kromozom 9p21 lokusunun IA üzerindeki etkileri araştırılmış ve rs1333040 polimorfizmi hastalık ile ilişkili olarak tespit edilmiştir [128].

3.5.3.2 Ailede İntrakraniyal Anevrizma Öyküsü ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Yapmış olduğumuz çalışmada hasta bireylerde, ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü ile SNP'lerin ilişkisi araştırıldığında rs9298506 ve rs10757278 polimorfizmleri ile ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu belirlenmiştir.

rs9298506 genotiplerinin ailede intrakraniyal anevrizma öyküsündeki dağılımlarına ait çapraz tablo Çizelge 3.10'da belirtilmiştir. Ki-kare testi ile elde edilen sonuçlara göre ailelerinde intrakraniyal anevrizma öyküsü bulunan hastaların sayısının 5 olduğu ve bu hastaların % 41,7'sinin GA genotipine sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,046$).

rs10757272 polimorfizmi için elde edilen çapraz tablo incelendiğinde TT genotipini taşıyan hastalarda ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü bulunmadığı, CC/CT genotipini taşıyan 5 (% 41,7) hastada ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü bulunduğu tespit edilmiştir ($p=0,042$) (Çizelge 3.11).

Çizelge 3. 10 Ailede intrakraniyal anevrizma öyküsünün rs9298506 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs9298506		Toplam	P değeri
			AA	GA		
Ailede IA Öyküsü	Yok	Hasta sayısı	61	11	72	0,046
		Yok grubundaki yüzdesi	84,7%	15,3%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	7	5	12	
		Var grubundaki yüzdesi	58,3%	41,7%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı	68	16	84		
	Toplamın yüzdesi	81,0%	19,0%	100,0%		

Çizelge 3. 11 Ailede intrakraniyal anevrizma öyküsünün rs10757278 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs10757278		Toplam	P değeri
			TT	CC+CT		
Ailede IA Öyküsü	Yok	Hasta sayısı	20	52	72	0,042
		Yok grubundaki yüzdesi	28,7%	72,2%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	7	5	12	
		Var grubundaki yüzdesi	58,3%	41,7%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		27	57	84	
	Toplamın yüzdesi		81,0%	19,0%	100,0%	

İntrakranial anevrizmalar boyut, morfoloji gibi fiziksel özellikleri ile sınıflandırılmalarının yanında ailesel ve sporadik olma durumları göz önünde bulundurularak da sınıflandırılırlar. Bölüm 1.1.6'da intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkili genetik çalışmalarda da belirtildiği gibi hastalığın patogenezi değerlendirildiği zaman kalıtsal faktörlerin klinik yansıması oldukça belirleyicidir [53]. Ailesel anevrizma tanımı, aynı aile içerisinde birinci derece akrabalarından en az iki kişinin kanıtlanmış intrakraniyal anevrizmaya sahip olduğunu belirtmektedir [115]. Ailesel intrakraniyal anevrizmaların genetik predispozisyonu göz önüne alındığı zaman poligenik bir hastalık olduğu ve Mendelian geçiş göstermediği bilinmekle beraber hastalıkta sorumlu genler ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır [129], [130].

Ailesel intrakraniyal anevrizmalar ile SNP'lerin ilişkisinin Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya popülasyonlarında araştırıldığı bir çalışmada hasta grubu olarak ailesel intrakraniyal anevrizmaya sahip bireyler seçilerek kromozom 2q33, 8q11 ve 9p21 üzerinde bulunan SNP'lerin ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada rs1429412, rs700651, rs10958409, rs9298506, rs1333040 ve rs10757278 polimorfizmlerinin IA ile ilişkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre rs10958409 ($p=9,2 \times 10^{-5}$), rs1333040 ($p=0,017$) ve rs10757278 ($p=0,021$) polimorfizmleri ailesel intrakraniyal anevrizmalı bireylerde hastalık ile ilişkili olarak tespit edilmiştir [119].

2012’de Foroud ve arkadaşlarının Kafkas populasyonunda yapmış olduğu bir çalışmada 9p21.3 lokasyonundaki 6 farklı SNP’nin intrakraniyal anevrizmalar ile ilişkisi araştırılmış olup rs6475606 polimorfizmi ailesel ve sporadik anevrizmalı bireylerde GWAS seviyesinde önemli ölçüde hastalık ile ilişkili olarak belirlenmiştir (OR=1.34, p=4.29 x 10⁻²⁹). Aynı çalışmada rs1333040 polimorfizminin de her iki çalışma grubunda IA ile ilişkisi doğrulanmıştır [86]. Japon populasyonunda gerçekleştirilen bir başka araştırmada ise rs1333040 polimorfizmi hem ailesel ve sporadik örneklerde IA ile ilişkilendirilmiştir [118].

Bu tez çalışmasında yapılan ki-kare testi sonucunda rs9298506 ve rs10757278 polimorfizmlerine ait genotipler ile ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Her iki polimorfizm de literatürdeki diğer çalışmalarda da ailesel IA’ların ilişkisinin tespit edildiği kromozom 8q ve 9p üzerinde bulunmaktadır. Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya populasyonlarında ailede IA öyküsü ile ilişkisi olmadığı tespit edilen rs9298506 polimorfizmi bu çalışmada Türk populasyonunda ailede IA öyküsü ile ilişkili olarak tespit edilmiştir. Literatürde ailesel IA ile ilişkili olarak tespit edilen rs10757272 polimorfizmi kromozom 9p21.3’de 22,88,260 pozisyonunda bulunmaktadır, rs10757278 polimorfizmi de aynı kromozom üzerinde 22,124,477 pozisyonunda bulunmaktadır ve bu tez çalışmasında p=0,042 değeri ile Türk populasyonunda ailede IA öyküsü ile ilişkilendirilmiştir.

3.5.3.3 Sigara Kullanımı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışma grubundaki hasta bireylerin sigara kullanım durumları ile SNP'ler arasındaki ilişki incelendiğinde rs1333040, rs1429412, rs9315204 ve rs10757272 polimorfizmleri ve sigara kullanım durumları arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

rs1333040 genotiplerinin hasta bireylerdeki sigara kullanım durumlarına ait dağılımlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde TT genotipini taşıyan 44 (% 67,7) hastanın 23’ünün (%43,4) sigara kullandığı; CC/CT genotipini taşıyan 40 (% 45,2) hastanın ise 30’unun (% 56,6) sigara kullandığı belirlenmiştir (p=0,031) (Çizelge 3.12).

rs1429412 genotipleri ve hastaların sigara kullanım durumlarına ait dağılımları gösteren çapraz tabloda belirtilen sonuçlara göre sigara kullanan 53 hastadan 25 (% 47,2) tanesinin TT genotipini, 28'inin (% 52,8) ise CC/CT genotipini taşıdığı saptanmıştır (p=0,034) (Çizelge 3.13).

Çizelge 3. 12 Sigara kullanımının rs1333040 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1333040		Toplam	P değeri
			TT	CC+CT		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	21	10	31	0,031
		Yok grubundaki yüzdesi	67,7%	32,3%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	23	30	53	
		Var grubundaki yüzdesi	43,4%	56,6%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		44	40	84	
	Toplamın yüzdesi		16,5%	83,5%	100,0%	

Çizelge 3. 13 Sigara kullanımının rs1429412 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1429412		Toplam	P değeri
			TT	CC+CT		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	22	9	31	0,034
		Yok grubundaki yüzdesi	71,0%	29,0%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	25	28	53	
		Var grubundaki yüzdesi	47,2%	52,8%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		47	37	84	
	Toplamın yüzdesi		56,0%	44,0%	100,0%	

rs9315204 için yapılan çapraz tabloda ise p değeri 0,009 olarak elde edilmiş ve sigara kullanan 53 hastanın 39'unun (% 73,6) tanesinin CT/TT genotipine, 14 (% 26,4) hastanın ise CC genotipine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.14).

rs10757272 genotiplerinin hastaların sigara kullanım durumlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde sigara kullanan 53 hastanın 12'sinin (%22,6) TT genotipine sahip olduğu

41'inin (%77,4) ise CC/CT genotipine sahip olduğu belirlenmiştir (p=0,031) (Çizelge 3.15).

Çizelge 3. 14 Sigara kullanımının rs9315204 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs9315204		Toplam	P değeri
			CC	CT+TT		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	17	14	31	0,009
		Yok grubundaki yüzdesi	54,8%	45,2%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	14	39	53	
		Var grubundaki yüzdesi	26,4%	73,6%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		31	53	84	
	Toplamın yüzdesi		36,9%	63,1%	100,0%	

Çizelge 3. 15 Sigara kullanımının rs10757272 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs10757272		Toplam	P değeri
			TT	CC+TC		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	15	16	31	0,031
		Yok grubundaki yüzdesi	48,4%	51,6%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	12	41	53	
		Var grubundaki yüzdesi	22,6%	77,4%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		27	57	84	
	Toplamın yüzdesi		32,1%	67,9%	100,0%	

Sigara kullanımının arter duvarında hemodinamik strese yol açan bir mekanizma ile anevrizmaların oluşumu, gelişimi ve rüptüründe önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir [38].

Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya'da bulunan merkezlerden alınan örnekler ile kromozom 8 ve 9'da bulunan ve daha önce intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilmiş olan SNP'lerin bu populasyonlarda tekrar ilişkilendirilmesinin araştırıldığı bir çalışmada, aynı SNP genotiplerinin sigara kullanımı ile ilişkisi de araştırılmıştır. Çalışmada rs1429412, rs700651, rs10958409, rs9298506, rs1333040 ve rs10757278 polimorfizmleri olmak üzere toplam 6 polimorfizm değerlendirilmiştir. Elde

edilen sonuçlara göre rs1333040, rs10958409, rs10757278 genotiplerine sahip bireylerde intrakraniyal anevrizma görülme riskinin arttığı belirlenmiştir [119].

Deka ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada incelenen 6 farklı SNP'den rs1429412, rs9315204, rs10757272 ve rs1333040 polimorfizmleri ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. 2010 yılında gerçekleştirilen bu çalışmada değerlendirilen tüm SNP'ler, bu tez çalışmasında Türk popülasyonu için değerlendirilmiş olup rs1333040 polimorfizmi sigara kullanımı ile istatistiksel olarak ilişkili bulunmuştur.

Bir başka çalışmada sigara kullanımının, kromozom 8q ve 9p üzerinde bulunan genetik varyantlara sahip hastalarda intrakraniyal anevrizma oluşumu riskini arttırabileceği belirtilmiştir [38]. Literatürde belirtilen bilgilere paralel olarak kromozom 9p üzerinde bulunan rs1333040 ve rs10757272 polimorfizmleri bu tez çalışmasında sigara kullanımı ile istatistiksel olarak ilişkilendirilmiştir.

İki farklı siklin bağımlı kinaz geni olan *CDKN2A* ve *CDKN2B* ile kodlanmayan RNA transkripti olan *ANRIL*, kromozom 9p üzerinde bulunan rs1333040 ve rs10757272 polimorfizmlerine oldukça yakın pozisyonadadır. *CDKN2A* ve *CDKN2B* genleri hücre yaşlanmasında ve apoptozu ile ilişkili olan siklin bağımlı kinaz inhibitörlerini kodlarlar [131]. *ANRIL* kromozom 9p SNP'lerine en yakın gen olup, rs1333040 polimorfizminden 38kb uzakta, rs10757272 polimorfizminden ise yaklaşık olarak 3kb uzakta yer almaktadır. *ANRIL* geninin ateroskleroz ile ilişkili hücre ve dokularda ekspresyon yaptığı bilinmektedir [132]. Kromozom 9p üzerinde bulunan varyantların intrakraniyal anevrizmalar ve diğer arteriyel hastalıklarda risk oluşturmalarına ilişkin etki mekanizmaları ise tam olarak bilinmemektedir [119].

3.5.3.4 İntrakranial Anevrizma Lokasyonu ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışma grubundaki intrakraniyal anevrizma hastalarının anevrizma gözlenen lokasyonlar internal karotid arter (ICA), orta serebral arter (MCA), ACA (anterior serebral arter), BA (baziler arter), VA (vertebral arter), PICA (posterior inferior serebellar arter) ve SCA (superior serebellar arter) ile SNP'ler arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere oluşturulan çapraz tablolarda kromozom 4q üzerinde *EDNRA* geninde

bulunan rs6841581 ve rs6842241 polimorfizmleri ve internal karotid arterde görülen anevrizmalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır.

rs6841581 genotiplerinin hastaların internal karotid arterlerinde gelişen anevrizma durumlarındaki dağılımlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde GA/AA genotipine sahip 22 (%28,2) hastanın 3'ünde (%12,5) ICA anevrizmasının olmadığı, 19'unda (%35,2) ICA anevrizmasının gözlemlendiği belirlenmiştir (p=0,040) (Çizelge 3.16). rs6842241 genotiplerinin hastaların internal karotid arterlerinde gelişen anevrizma durumlarındaki dağılımlarını gösteren Çizelge 3.17'deki çapraz tablo incelendiğinde ise CA/AA genotipine sahip 22 (%28,2) hastanın 3'ünde (%12,5) ICA anevrizmasının olmadığı, 19'unda (%35,2) ICA anevrizmasının gözlemlendiği belirlenmiştir (p=0,040).

Çizelge 3. 16 İntrakranial anevrizma lokasyonunun rs6841581 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs6841581		Toplam	P değeri
			GG	GA+AA		
İnternal karotid arter (ICA)	Yok	Hasta sayısı	21	3	24	0,040
		Yok grubundaki yüzdesi	87,5%	12,5%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	35	19	54	
		Var grubundaki yüzdesi	64,8%	35,2%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı	56	22	78		
	Toplamın yüzdesi	71,8%	28,2%	100,0%		

Çizelge 3. 17 İntrakranial anevrizma lokasyonunun rs6842241 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs6842241		Toplam	P değeri
			CC	CA+AA		
İnternal karotid arter (ICA)	Yok	Hasta sayısı	21	3	24	0,040
		Yok grubundaki yüzdesi	87,5%	12,5%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	35	19	54	
		Var grubundaki yüzdesi	64,8%	35,2%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı	56	22	78		
	Toplamın yüzdesi	71,8%	28,2%	100,0%		

Yaş, cinsiyet, sigara kullanma alışkanlıkları, hipertansiyon öyküsü gibi iyi tanımlanmış IA risk faktörlerinin yanında SAK öyküsü, çoklu IA'ların görülmesi ve IA lokasyonu gibi anevrizmaya karakteristik özellikler klinik olarak önemli faktörlerdir. 2010 yılında Japon popülasyonunda yapılan bir çalışmada kromozom 9p21'de bulunan SNP'ler ile intrakraniyal anevrizmaların ilişkisi ve IA lokasyonları ile genotiplerin ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada p=0,031 değeri ile rs1333040 polimorfizmi ile posterior sirkulasyon veya posterior kommunikan arter anevrizmalarının anterior sirkulasyona göre daha güçlü ilişkili olduğu belirlenmiştir [128]. 2013 yılında intrakraniyal anevrizmalar ile genetik faktörlerin ilişkisinin araştırıldığı meta-analiz çalışmasında da Nakaoka ve arkadaşlarının PcomA anevrizma ile ilişkili olarak elde ettikleri sonuçların ön çalışmalar olduğu, daha geniş örneklem grupları ile anevrizma yeri ve genetik faktörlerin ilişkisinin araştırılması gerektiğini önermişlerdir [122].

3.5.4 Lojistik Regresyon Analizi

Lojistik regresyon analizi yaş, cinsiyet, ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık öyküsü ve sigara kullanımı değişkenlerinin ve genotiplerin ilişkisinin intrakraniyal anevrizma riski için incelenmesi amacıyla backward stepwise seçim yöntemiyle uygulanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre rs700651, rs700675 ve rs9298506 genotipleri ile cinsiyet (kadın) p=0.000, OR=4.322 (%95 GA= 2.018-9.255), ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü p=0.008, OR=18.776 (%95 GA=2.144-164.392) ve sigara kullanımı (>20 yıl) p=0.031, OR=2.450 (%95 GA= 1.084-5.539) intrakraniyal anevrizma riskini açıklayan en uygun model olarak bulunmuştur (Çizelge 3.18).

Çizelge 3. 18 Lojistik regresyon analizi sonuçları

	p≤0,05	OR	%95 GA
Cinsiyet (Kadın)	0.000	4.322	2.018-9.255
Ailede IA öyküsü	0.008	18.776	2.144-164.392
Sigara kullanımı(>20 yıl)	0.031	2.450	1.084-5.539

Lojistik regresyon analizi sonuçlarını gösteren Çizelge 3.18 incelendiğinde rs700651, rs700675 ve rs9298506 genotiplerini taşıyan; kadın cinsiyetine sahip bireylerde intrakraniyal anevrizma görülme riskinin 4,32 kat arttığı belirlenmiştir. 20 yıldan fazla sigara kullanan ve rs700651, rs700675, rs9298506 genotiplerini taşıyan bireylerde de hastalığın görülme riskinin 2,45 kat arttığı tespit edilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi

Intrakranial anevrizmalar birçok genetik ve çevresel risk faktörlerinden kaynaklanan sebepler ile beyindeki intrakraniyal arter duvarının baloncuk şeklinde genişlemesidir. IA gelişimi ve rüptüründe etken olan moleküler mekanizmalar tam olarak bilinemediğinden, günümüze kadar yapılan çalışmalar belli toplumlarda genetik yatkınlığının araştırılması yönünde olmuştur. Tek nükleotid polimorfizmleri ise DNA dizilimindeki bir pozisyonda görülen varyasyonlardır ve bireylerin belirli hastalıkları geliştirme durumlarına karşı genetik yatkınlığını belirleme ile ilişkilendirilmektedirler. Intrakranial anevrizmaların oluşumu ve rüptür riski ile ilişkili bir genetik markırın belirlenebilmesi, taramadaki gerekliliği ve tedavideki aciliyeti tanımlamada oldukça kolaylık sağlayabilir. Fakat bu çalışmalar oldukça zordur, diğer karmaşık hastalıklar gibi bu hastalığın genetiği de birçok lokusu kapsaması ve birçok genin etkileşiminden dolayı kompleks olarak görülmektedir.

Bu tez çalışması ile toplumumuzda ilk defa çok sayıda SNP ile intrakraniyal anevrizmanın ilişkisi incelenmiştir. Genotipleme tamamlanan 15 SNP'nin tamamının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. OR testi sonucunda çalışmamızda değerlendirilen 15 polimorfizmin Türk popülasyonunda intrakraniyal anevrizma ile allel ve genotip düzeyinde ilişkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir ($OR > 1$, $p \leq 0,05$). SNP genotipleri ile hastaların klinik ve demografik değişkenleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla uygulanan ki-kare ve Fisher kesinlik testi sonuçlarına göre; rs6538595 polimorfizmi kardiyovasküler hastalık öyküsü ile, rs9298506 ve rs10757278

polimorfizmleri ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü ile, rs1333040, rs1429412, rs10757272 ve rs10757278 polimorfizmleri sigara kullanımı ile, rs6841581 ve rs6842241 polimorfizmlerine ait genotiplerin ise internal karotid arterde görülen anevrizmalar ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır ($p \leq 0,05$) (Çizelge 4.1).

Klinik ve demografik değişkenler ile 15 SNP'nin bağımsız olarak değerlendirildiği lojistik regresyon analizinde, rs700651, rs700675 ve rs9298506 genotipleri ve cinsiyet (kadın), ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü, sigara kullanımı (>20 yıl) değişkenleri intrakraniyal anevrizma riskini açıklayan en uygun model olarak bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

Çizelge 4. 1 Analiz edilen parametrelerle ilişkilendirilen SNP'lerin dağılımı

SNP'ler	SNP Allelleri ve IA	SNP Genotipleri ve IA	Kardiyovasküler hastalık öyküsü	Ailede IA öyküsü	Sigara Kullanımı
rs700651					
rs700675					
rs911271					
rs1333040					+
rs1429412					+
rs6538595			+		
rs6841581					
rs6842241					
rs9298506				+	
rs9315204					
rs10757272					+
rs10757278				+	+
rs10958409					
rs11661542					
rs12413409					

Bu tez çalışmasında değerlendirilen 15 farklı SNP'ye ait genotipler ile hastaların klinik ve demografik değişkenlerinin ilişkisi araştırıldığında 9 SNP'nin çeşitli değişkenler ile ilişkisi ki-kare ve Fisher kesinlik testi uygulamaları sonucu belirlenmiştir. Farklı populasyonlardaki intrakraniyal anevrizmalı hastalarda SNP'lerin klinik ve demografik

değişkenlerle ilişkilerinin araştırıldığı çalışmalara ait sonuçlar ile Türk toplumu için elde edilen sonuçların karşılaştırılması Çizelge 4.2'de gösterilmektedir. Kardiyovasküler hastalık öyküsü, ailede intrakraniyal anevrizma öyküsü, sigara kullanımı ve intrakraniyal anevrizmanın lokasyonu gibi intrakraniyal anevrizma risk faktörleri ve genotiplerin ilişkisinin farklı toplumlarda araştırıldığı çalışmalar Çizelge 4.2'de de belirtildiği gibi oldukça sınırlıdır. Bu tez çalışması ile çok sayıda örnekte çok sayıda SNP'nin intrakraniyal anevrizma ile ilişkisi araştırılarak, SNP genotipleri ile bazı hastalık risk faktörlerinin ilişkisi Türk toplumu için ilk defa tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 2 SNP'ler ve IA ile ilişkilendirilen klinik ve demografik verilerin toplumsal dağılımı. x: ilişkilendirilmeyen SNP; +: ilişkilendirilmiş SNP; - çalışılmayan SNP olarak tanımlanmıştır.

SNP	Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü	Ailede IA Öyküsü	Sigara Kullanımı	IA Lokasyonu (ICA)	Ülkeler
rs700651	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	x	-	Kuzey Amerika
	-	-	x	-	Yeni Zelanda
	-	-	x	-	Avustralya
rs700675	-	-	-	-	Kafkas
	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
rs911271	-	-	-	-	Avustralya
	-	-	-	-	Kafkas
	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
rs1333040	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
	-	-	-	-	Kafkas
	x	x	+	x	Türkiye
	x	-	-	-	Avrupa
	+	-	-	+	Japonya
rs1429412	x	+	+	-	Kuzey Amerika
	x	+	+	-	Yeni Zelanda
	x	+	+	-	Avustralya
	x	+	-	-	Kafkas
	x	x	+	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
rs1429412	-	-	-	-	Japonya
	-	-	x	-	Kuzey Amerika
	-	-	x	-	Yeni Zelanda
	-	-	x	-	Avustralya
	-	-	-	-	Kafkas

Çizelge 4. 2 SNP'ler ve IA ile ilişkilendirilen klinik ve demografik verilerin toplumsal dağılımı. x: ilişkilendirilmeyen SNP; +: ilişkilendirilmiş SNP; - çalışılmayan SNP olarak tanımlanmıştır (devamı)

SNP	Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü	Ailede IA Öyküsü	Sigara Kullanımı	IA Lokasyonu (ICA)	Ülkeler
rs6538595	+	x	x	x	Türkiye
	x	-	-	-	Avrupa
	x	-	-	-	Japonya
	x	-	-	-	Kuzey Amerika
	x	-	-	-	Yeni Zelanda
	x	-	-	-	Avustralya
rs6841581	x	x	x	+	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
rs6842241	x	x	x	+	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
rs9298506	x	+	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	x	-	Kuzey Amerika
	-	-	x	-	Yeni Zelanda
	-	-	x	-	Avustralya
rs9315204	x	x	+	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
rs10757272	x	+	+	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
rs10757278	x	x	x	x	Türkiye
	x	-	-	-	Avrupa
	x	-	-	x	Japonya
	+	-	+	-	Kuzey Amerika
	+	-	+	-	Yeni Zelanda
	+	-	+	-	Avustralya
rs10958409	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	+	+	-	Kuzey Amerika
	-	+	+	-	Yeni Zelanda
	-	+	+	-	Avustralya
rs10958409	-	-	-	-	Kafkas
	-	-	-	-	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda

Çizelge 4. 2 SNP'ler ve IA ile ilişkilendirilen klinik ve demografik verilerin toplumsal dağılımı. x: ilişkilendirilmeyen SNP; +: ilişkilendirilmiş SNP; - çalışılmayan SNP olarak tanımlanmıştır (devamı)

SNP	Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü	Ailede IA Öyküsü	Sigara Kullanımı	IA Lokasyonu (ICA)	Ülkeler
rs11661542	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
	-	-	-	-	Kafkas
rs12413409	x	x	x	x	Türkiye
	-	-	-	-	Avrupa
	-	-	-	-	Japonya
	-	-	-	-	Kuzey Amerika
	-	-	-	-	Yeni Zelanda
	-	-	-	-	Avustralya
	-	-	-	-	Kafkas

4.2 Öneriler

Gerçekleştirilmiş olan bu tez çalışmasının sonucunda ileriki çalışmalar ile detaylandırılması önerilen konular aşağıda sıralanmıştır;

1. Örneklem sayısı artırılıp replikasyon çalışması gerçekleştirilerek, toplumumuzda intrakraniyal anevrizmanın SNP'ler ile ilişkisinin özellikle allel ve genotip frekansları düzeyinde belirlenmesi,
2. Bu tez çalışmasına dahil edilmiş olan SNP'ler farklı toplumlarda çalışılmış ve en az bir toplumda hastalık ile ilişkilendirilmiş SNP'ler olmasına rağmen, bizim toplumumuzda allel ve genotip frekansı düzeyinde ilişkilendirilememiş olması nedeniyle toplumumuza özgü yeni SNP'lerin tespiti için genom boyu ilişkilendirme çalışmalarının gerçekleştirilmesi,
3. Klinik ve demografik veriler açısından intrakraniyal anevrizma ile ilişkilendirilen SNP'lerin üzerinde bulunduğu genlerin, hastalık ile fonksiyonel ilişkisinin araştırılması,
4. Yapılan çalışma sonucunda klinik-demografik veriler ile ilişkilendirilen SNP'lerin değerlendirildiği bir IA risk tahmin panelini tasarlanarak bu SNP'lerin hekime yardımcı olabilecek şekilde bir biyomarkır olarak kullanım potansiyelinin çalışılması ve risk grubunda olduğu tespit edilen bireylerin düzenli kontrollere ve yaşam düzeninde değişikliklere yönlendirilmesi, önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Brisman, J.L. Song, J.K. ve Newell, D.W., (2006). "Cerebral aneurysms", New England Journal of Medicine, 355: 928-939.
- [2] Chyatte, D., (1995). The epidemiology, genetics and clinical behavior of intracranial aneurysms I. Awad, ed. Current management of cerebral aneurysms New York: American Association of Neurological Surgeons 1-20.
- [3] Şimşek, O. Hamamcıoğlu, M. ve Çobanoğlu, S., (2006). "Kanamamış İntrakranyal Anevrizmalar", Trakya Univ Tip Fak Derg, 23: 158-162.
- [4] Evliyaoğlu, Ç., (2012). "İntrakraniyal Anevrizma Patofizyolojisi ve Genetiği", Türk Nöroşirurji Dergisi, 22: 189-196.
- [5] Edlow, J.A., (2005). "Diagnosis of subarachnoid hemorrhage", Neurocritical care, 2: 99-109.
- [6] Dell, S., (1982). "Asymptomatic cerebral aneurysm: assessment of its risk of rupture", Neurosurgery, 10: 162-166.
- [7] Edlow, J.A. Malek, A.M. ve Ogilvy, C.S., (2008). "Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: update for emergency physicians", The Journal of emergency medicine, 34: 237-251.
- [8] Wiebers, D.O. Whisnant, J.P. Sundt Jr, T.M. ve O'Fallon, W.M., (1987). "The significance of unruptured intracranial saccular aneurysms", Journal of neurosurgery, 66: 23-29.
- [9] Yasui, N. Suzuki, A. Nishimura, H. Suzuki, K. ve Abe, T., (1997). "Long-term follow-up study of unruptured intracranial aneurysms", Neurosurgery, 40: 1155-1160.
- [10] Forbes, G. Fox, A.J. Huston, J. Wiebers, D.O. ve Torner, J., (1996). "Interobserver variability in angiographic measurement and morphologic characterization of intracranial aneurysms: a report from the International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms", American journal of neuroradiology, 17: 1407-1415.

- [11] Juvela, S. Porras, M. ve Poussa, K., (2008). "Natural history of unruptured intracranial aneurysms: probability of and risk factors for aneurysm rupture", *Journal of neurosurgery*, 108: 1052-1060.
- [12] Wiebers, D.O., (2003). "Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment", *The Lancet*, 362: 103-110.
- [13] Nader-Sepahi, A. Casimiro, M. Sen, J. ve Kitchen, N.D., (2004). "Is aspect ratio a reliable predictor of intracranial aneurysm rupture?", *Neurosurgery*, 54: 1343-1348.
- [14] Wijdicks, E.F. Kallmes, D.F. Manno, E.M. Fulgham, J.R. ve Piepgras, D.G., (2005). "Subarachnoid hemorrhage: neurointensive care and aneurysm repair": Elsevier.
- [15] Hunt, W.E. ve Hess, R.M., (1967). "Surgical risk as related to the time of intervention in the repair of intracranial aneurysms", *Neurosurgical Classics II*: 342-346.
- [16] Özpeynirci, Y., (2011). İnkranial Anevrizmalarda 3D Rotasyonel Anjiyografi ile Duvar Modellemesi, ed^eds. Radyoloji. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 8-10.
- [17] Ogilvy, C.S. ve Carter, B.S., (1998). "A proposed comprehensive grading system to predict outcome for surgical management of intracranial aneurysms", *Neurosurgery*, 42: 959-968.
- [18] "Types of and Location of Cerebral Aneurysms", Available at: <http://www.rnceus.com/sah/sahtypes.html>. Accessed 30 Ocak, 2014.
- [19] "Unruptured aneurysm", Available at: <http://www.mayfieldclinic.com/PE-AneurUn.htm>. Accessed 30 Ocak, 2014.
- [20] Keedy, A., (2006). "An overview of intracranial aneurysms", *McGill Journal of Medicine: MJM*, 9: 141.
- [21] Setton, A. Davis, A. Bose, A. Nelson, P. ve Berenstein, A., (1996). "Angiography of cerebral aneurysms", *Neuroimaging Clinics of North America*, 6: 705.
- [22] Christiano, L.D. Gupta, G. Prestigiacomo, C.J. ve Gandhi, C.D., (2009). "Giant serpentine aneurysms", *Neurosurgical Focus*, 26: E5.
- [23] Noel, A.A. Gloviczki, P. Cherry, K.J. Bower, T.C. Panneton, J.M. Mozes, G.I. Harmsen, W.S. Jenkins, G.D. ve Hallett, J.W., (2001). "Ruptured abdominal aortic aneurysms: the excessive mortality rate of conventional repair", *Journal of vascular surgery*, 34: 41-46.
- [24] Yang, C.-Y. Liu, K.-L. Lee, C.-W. Tsang, Y.-M. ve Chen, S.-J., (2005). "Mycotic aortic aneurysm presenting initially as an aortic intramural air pocket", *American Journal of Roentgenology*, 185: 463-465.
- [25] van Gijn, J. Kerr, R.S. ve Rinkel, G.J., (2007). "Subarachnoid haemorrhage", *The Lancet*, 369: 306-318.

- [26] Schievink, W.I., (1997). "Intracranial aneurysms", *New England Journal of Medicine*, 336: 28-40.
- [27] Osborn, A.G., (1999). *Diagnostic cerebral angiography: Lippincott Williams & Wilkins*.
- [28] Krex, D. Schackert, H. ve Schackert, G., (2001). "Genesis of cerebral aneurysms—an update", *Acta neurochirurgica*, 143: 429-449.
- [29] de Rooij, N.K. Linn, F.H. van der Plas, J.A. Algra, A. ve Rinkel, G.J., (2007). "Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends", *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 78: 1365-1372.
- [30] Broderick, J.P. Brott, T. Tomsick, T. Huster, G. ve Miller, R., (1992). "The risk of subarachnoid and intracerebral hemorrhages in blacks as compared with whites", *New England Journal of Medicine*, 326: 733-736.
- [31] Ingall, T. Asplund, K. Mähönen, M. ve Bonita, R., (2000). "A multinational comparison of subarachnoid hemorrhage epidemiology in the WHO MONICA stroke study", *Stroke*, 31: 1054-1061.
- [32] Caranci, F. Briganti, F. Cirillo, L. Leonardi, M. ve Muto, M., (2013). "Epidemiology and genetics of intracranial aneurysms", *European journal of radiology*.
- [33] Huang, J. McGirt, M.J. Gailloud, P. ve Tamargo, R.J., (2005). "Intracranial aneurysms in the pediatric population: case series and literature review", *Surgical neurology*, 63: 424-432.
- [34] Juvela, S. Poussa, K. ve Porras, M., (2001). "Factors Affecting Formation and Growth of Intracranial Aneurysms A Long-Term Follow-Up Study", *Stroke*, 32: 485-491.
- [35] Grobelny, T.J., (2011). "Brain aneurysms: epidemiology, treatment options, and milestones of endovascular treatment evolution", *Disease-a-Month*, 57: 647-655.
- [36] Clarke, M., (2008). "Systematic review of reviews of risk factors for intracranial aneurysms", *Neuroradiology*, 50: 653-664.
- [37] Sandvei, M.S. Romundstad, P.R. Müller, T.B. Vatten, L. ve Vik, A., (2009). "Risk Factors for Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage in a Prospective Population Study The HUNT Study in Norway", *Stroke*, 40: 1958-1962.
- [38] Chalouhi, N. Hoh, B.L. ve Hasan, D., (2013). "Review of cerebral aneurysm formation, growth, and rupture", *Stroke*, 44: 3613-3622.
- [39] Chalouhi, N. Chitale, R. Jabbour, P. Tjoumakaris, S. Dumont, A.S. Rosenwasser, R. ve Gonzalez, L.F., (2011). "The case for family screening for intracranial aneurysms", *Neurosurgical Focus*, 31: E8.
- [40] İLHAN, Y. ESEOĞLU, M. ve DEMİRGİL, B.T., (2012). "Anevrizmaya Bağlı Spontan Subaraknoid Kanamalar: 328 Vakahk Retrospektif İnceleme", *Firat Tıp Dergisi*, 17.

- [41] Vega, C. Kwon, J.V. ve Lavine, S.D., (2002). "Intracranial aneurysms: current evidence and clinical practice", American family physician, 66: 601-610.
- [42] UYSAL, E., "İntrakranial Anevrizmaların Tanısında Çok Kesitli Kranyal BT Anjiyografi".
- [43] Altaş, M. Aras, M. Bayaroğulları, H. Yılmaz, A. Serarslan, Y. Yılmaz, N. ve Atıcı, N., "Kafa içi Anevrizmalarda Bilgisayarlı Tomografik Anjiyografinin Yeri".
- [44] Krings, T. Hans, F.-J. Möller-Hartmann, W. Thiex, R. Brunn, A. Scherer, K. Stein, K.-P. Meetz, A. Dreeskamp, H. ve Allery, E., (2002). "Time-of-flight-, phase contrast and contrast enhanced magnetic resonance angiography for pre-interventional determination of aneurysm size, configuration, and neck morphology in an aneurysm model in rabbits", Neuroscience letters, 326: 46-50.
- [45] Villablanca, J.P. Jahan, R. Hooshi, P. Lim, S. Duckwiler, G. Patel, A. Sayre, J. Martin, N. Frazee, J. ve Bentson, J., (2002). "Detection and characterization of very small cerebral aneurysms by using 2D and 3D helical CT angiography", American journal of neuroradiology, 23: 1187-1198.
- [46] Bozkurt Karazincir, S., (2002). İntrakranial anevrizma ve vasküler varyasyon/anomali birlikteliğinin sıklığı. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- [47] SANLIDİLEK, U., (1990). "Dijital Subtraksiyon Anjiyografi DSA", Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 10: 75-93.
- [48] Mallouhi, A. Rieger, M. Czermak, B. Freund, M.C. Waldenberger, P. ve Jaschke, W.R., (2003). "Volume-rendered multidetector CT angiography: noninvasive follow-up of patients treated with renal artery stents", American Journal of Roentgenology, 180: 233-239.
- [49] Inoue, Y. Saiwai, S. Miyamoto, T. Ban, S. Yamamoto, T. Takemoto, K. Taniguchi, S. Sato, S. Namba, K. ve Ogata, M., (1981). "Postcontrast computed tomography in subarachnoid hemorrhage from ruptured aneurysms", Journal of computer assisted tomography, 5: 341-344.
- [50] "Beyin Anevrizmaları-Hasta Bilgilendirme Formu", Available at: <http://www.turknorosirurji.org.tr/TNDDData/Books/154/beyin-anevrizmalari.pdf>. Accessed 19.04, 2014.
- [51] Teber, M.A. Sakarya, M.E. ve Çetin, H., "İntrakranial anevrizmalarda endovasküler tedavi".
- [52] Guglielmi, G., (2000). "History, technical principles, and philosophy of detachable platinum coils for the endovascular treatment of brain aneurysms", Operative Techniques in Neurosurgery, 3: 191-194.
- [53] Zhang, J. ve Clatterbuck, R.E., (2008). "Molecular genetics of human intracranial aneurysms", International Journal of Stroke, 3: 272-287.
- [54] Ter Berg, H. Dippel, D. Limburg, M. Schievink, W. ve Van Gijn, J., (1992). "Familial intracranial aneurysms. A review", Stroke, 23: 1024-1030.

- [55] Schievink, W.I., (1997). "Genetics of intracranial aneurysms", *Neurosurgery*, 40: 651-663.
- [56] Schievink, W., (1998). "Genetics and aneurysm formation", *Neurosurgery Clinics of North America*, 9: 485-495.
- [57] Struycken, P. Pals, G. Limburg, M. Pronk, J. Wijmenga, C. Pearson, P. Luijten, J. van den Berg, J. Vermeulen, M. ve Rinkel, G., (2003). "Anticipation in familial intracranial aneurysms in consecutive generations", *European journal of human genetics*, 11: 737-743.
- [58] Ruigrok, Y.M. Rinkel, G.J. Wijmenga, C. ve van Gijn, J., (2004). "Anticipation and phenotype in familial intracranial aneurysms", *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 75: 1436-1442.
- [59] Ronkainen, A. Hernesniemi, J. Puranen, M. Niemitukia, L. Vanninen, R. Ryyänen, M. Kuivaniemi, H. ve Tromp, G., (1997). "Familial intracranial aneurysms", *The Lancet*, 349: 380-384.
- [60] Okamoto, K. Horisawa, R. Kawamura, T. Asai, A. Ogino, M. Takagi, T. ve Ohno, Y., (2003). "Family History and Risk of Subarachnoid Hemorrhage A Case-Control Study in Nagoya, Japan", *Stroke*, 34: 422-426.
- [61] Vega-Basulto, S. Montejo-Montejo, J. Silva-AdAn, S. ve Mosqueda-Betancourt, G., (2002). "Familial intracranial aneurysms in Camaguey", *Revista de neurologia*, 36: 218-223.
- [62] Wang, M.C. Rubinstein, D. Kindt, G.W. ve Breeze, R.E., (2002). "Prevalence of intracranial aneurysms in first-degree relatives of patients with aneurysms", *Neurosurgical Focus*, 13: 1-4.
- [63] Krichcek, B. ve Inoue, I., (2006). "The genetics of intracranial aneurysms", *Journal of human genetics*, 51: 587-594.
- [64] Onda, H. Kasuya, H. Yoneyama, T. Takakura, K. Hori, T. Takeda, J. Nakajima, T. ve Inoue, I., (2001). "Genomewide-linkage and haplotype-association studies map intracranial aneurysm to chromosome 7q11", *The American Journal of Human Genetics*, 69: 804-819.
- [65] Ruigrok, Y.M. ve Rinkel, G.J., (2008). "Genetics of intracranial aneurysms", *Stroke*, 39: 1049-1055.
- [66] Baldauf, J. Kiwit, J. ve Synowitz, M., (2005). "Cerebral aneurysms associated with von Recklinghausen's neurofibromatosis: report of a case and review of the literature", *Neurology India*, 53.
- [67] Ruigrok, Y.M. Rinkel, G.J. ve Wijmenga, C., (2005). "Genetics of intracranial aneurysms", *The Lancet Neurology*, 4: 179-189.
- [68] McColgan, P. Thant, K.Z. ve Sharma, P., (2010). "The genetics of sporadic ruptured and unruptured intracranial aneurysms: a genetic meta-analysis of 8 genes and 13 polymorphisms in approximately 20,000 individuals: Clinical article", *Journal of neurosurgery*, 112: 714-721.

- [69] Faraci, F.M. ve Brian, J., (1994). "Nitric oxide and the cerebral circulation", *Stroke*, 25: 692-703.
- [70] Sadamitsu, D. Kuroda, Y. Nagamitsu, T. Tsuruta, R. Inoue, T. Ueda, T. Nakashima, K. Ito, H. ve Maekawa, T., (2001). "Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of nitric oxide metabolites in postoperative patients with subarachnoid hemorrhage", *Critical care medicine*, 29: 77-79.
- [71] Sablotzki, A. Ebel, H. Mühling, J. Dehne, M. Nopens, H. Giesselmann, H. ve Hempelmann, G., (2000). "Dysregulation of immune response following neurosurgical operations", *Acta anaesthesiologica scandinavica*, 44: 82-87.
- [72] Low, S.-K. Takahashi, A. Cha, P.-C. Zembutsu, H. Kamatani, N. Kubo, M. ve Nakamura, Y., (2012). "Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA", *Human molecular genetics*, 21: 2102-2110.
- [73] Wang, D.G. Fan, J.-B. Siao, C.-J. Berno, A. Young, P. Sapolsky, R. Ghandour, G. Perkins, N. Winchester, E. ve Spencer, J., (1998). "Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome", *Science*, 280: 1077-1082.
- [74] Brookes, A.J., (1999). "The essence of SNPs", *Gene*, 234: 177-186.
- [75] Ateş Sönmezoğlu, Ö. Yıldırım, A. ve Eserkaya Güleç, T., (2010). "Tek nükleotid farklılıkları (Snp) ve buğdayda kullanımı", *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3: 55-66.
- [76] "Transisyon ve transversiyonlar", Available at: <http://rosalind.info/glossary/transitiontransversion-ratio/>. Accessed 30 Nisan 2013.
- [77] Xu, Y., (2010). *Molecular plant breeding*: CABI.
- [78] Collins, F.S. Guyer, M.S. ve Chakravarti, A., (1997). "Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation", *Science*, 278: 1580-1581.
- [79] Johnson, G.C. ve Todd, J.A., (2000). "Strategies in complex disease mapping", *Current opinion in genetics & development*, 10: 330-334.
- [80] Risch, N.J., (2000). "Searching for genetic determinants in the new millennium", *Nature*, 405: 847-856.
- [81] Kwok, P.-Y. ve Chen, X., (2003). "Detection of single nucleotide polymorphisms", *Current issues in molecular biology*, 5: 43-60.
- [82] "Catalog of Genome Wide Association Studies", Available at: <http://www.genome.gov/gwastudies/>. Accessed 13 Aralık, 2013.
- [83] Yasuno, K. Bilguvar, K. Bijlenga, P. Low, S.-K. Kirschke, B. Auburger, G. Simon, M. Krex, D. Arlier, Z. ve Nayak, N., (2010). "Genome-wide association study of intracranial aneurysm identifies three new risk loci", *Nature genetics*, 42: 420-425.

- [84] Bilguvar, K. Yasuno, K. Niemelä, M. Ruigrok, Y.M. Von Und Zu Fraunberg, M. van Duijn, C.M. van den Berg, L.H. Mane, S. Mason, C.E. ve Choi, M., (2008). "Susceptibility loci for intracranial aneurysm in European and Japanese populations", *Nature genetics*, 40: 1472-1477.
- [85] Akiyama, K. Narita, A. Nakaoka, H. Cui, T. Takahashi, T. Yasuno, K. Tajima, A. Krischek, B. Yamamoto, K. ve Kasuya, H., (2010). "Genome-wide association study to identify genetic variants present in Japanese patients harboring intracranial aneurysms", *Journal of human genetics*, 55: 656-661.
- [86] Foroud, T. Koller, D.L. Lai, D. Sauerbeck, L. Anderson, C. Ko, N. Deka, R. Mosley, T.H. Fornage, M. ve Woo, D., (2012). "Genome-wide association study of intracranial aneurysms confirms role of Anril and SOX17 in disease risk", *Stroke*, 43: 2846-2852.
- [87] Özüm, Ü. Bolat, N. Gül, E. ve Özdemir, Ö., (2008). "Endothelial nitric oxide synthase gene [G894T] polymorphism as a possible risk factor in aneurysmal subarachnoid haemorrhage", *Acta neurochirurgica*, 150: 57-62.
- [88] Söylemez, B. ve Özüm, Ü., (2013). "Kanamış kafa içi anevrizması olan hastalarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) geninin intron 4 (27 baz çifti tekrarı) ve promotor T786C polimorfizmi", *Cumhuriyet Medical Journal (CMJ)*, 35: 400-406.
- [89] Gray, I.C. Campbell, D.A. ve Spurr, N.K., (2000). "Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics", *Human molecular genetics*, 9: 2403-2408.
- [90] Syvänen, A.-C., (2001). "Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms", *Nature Reviews Genetics*, 2: 930-942.
- [91] Kim, S. ve Misra, A., (2007). "SNP genotyping: technologies and biomedical applications", *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 9: 289-320.
- [92] Kwok, P.-Y., (2001). "Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms", *Annual review of genomics and human genetics*, 2: 235-258.
- [93] Ragoussis, J., (2006). "Genotyping technologies for all", *Drug Discovery Today: Technologies*, 3: 115-122.
- [94] Pastinen, T. Raitio, M. Lindroos, K. Tainola, P. Peltonen, L. ve Syvänen, A.-C., (2000). "A system for specific, high-throughput genotyping by allele-specific primer extension on microarrays", *Genome Research*, 10: 1031-1042.
- [95] Twyman, R.M., (2005). "Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Techniques—An Overview", *Encyclopedia of Diagnostic Genomics and Proteomics*: 1202-1207.
- [96] Tost, J. ve Gut, I.G., (2005). "Genotyping single nucleotide polymorphisms by MALDI mass spectrometry in clinical applications", *Clinical biochemistry*, 38: 335-350.

- [97] Gabriel, S. Ziaugra, L. ve Tabbaa, D., (2009). "SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform", Current protocols in human genetics: 2.12. 11-12.12. 16.
- [98] "MALDI-TOF MS", Available at: <http://bioscience.sequenom.com/oncology>. Accessed 20 Nisan, 2014.
- [99] Sequenom, (2009). iPLEX Gold Application Guide, ed^eds.
- [100] Sequenom, (2009). iPLEX® Gold SNP Genotyping Training Protocol, ed^eds.
- [101] Sambrook, J. Fritsch, E.F. ve Maniatis, T., (1989). Molecular cloning: Cold spring harbor laboratory press New York.
- [102] Çıtak, B. ve Kesici, T., (1999). "Hardy-Weinberg Dengesine Uygunluğun Exact Test ile Kontrolü", Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 23: 435-439.
- [103] Dudek, R.W., (2010). Genetics: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- [104] Hardy, G.H., (1908). "Mendelian proportions in a mixed population", Science, 28: 49-50.
- [105] Weinberg, W., (1908). Über den nachweis der vererbung beim menschen.
- [106] Wang, W.Y. Barratt, B.J. Clayton, D.G. ve Todd, J.A., (2005). "Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns", Nature Reviews Genetics, 6: 109-118.
- [107] Lewis, C.M., (2002). "Genetic association studies: design, analysis and interpretation", Briefings in bioinformatics, 3: 146-153.
- [108] Güngör, M. ve Bulut, Y., (2008). "Ki-Kare Testi Üzerine ", Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları.
- [109] Bircan, H., (2004). "Lojistik regresyon analizi: Tıp verileri üzerine bir uygulama", Kocaeli Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 2: 185-208.
- [110] "What You Should Know About Cerebral Aneurysms", Available at: http://www.strokeassociation.org/STROKEORG/AboutStroke/TypesofStroke/HemorrhagicBleeds/What-You-Should-Know-About-Cerebral-Aneurysms_UCM_310103_Article.jsp. Accessed 01 Mayıs, 2014.
- [111] "Understanding : Brain Aneurysm Statistics and Facts", Available at: http://www.bafound.org/Statistics_and_Facts. Accessed 01 Mayıs, 2014.
- [112] Uehara, T. Tabuchi, M. ve Mori, E., (1998). "High frequency of unruptured intracranial aneurysms in female patients with ischaemic heart disease", Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 64: 536-538.
- [113] Schievink, W.I. Raissi, S.S. Maya, M.M. ve Velebir, A., (2010). "Screening for intracranial aneurysms in patients with bicuspid aortic valve", Neurology, 74: 1430-1433.
- [114] Woo, D. Khoury, J. Haverbusch, M. Sekar, P. Flaherty, M. Kleindorfer, D. Kissela, B. Moomaw, C. Deka, R. ve Broderick, J., (2009). "Smoking and family

history and risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage", *Neurology*, 72: 69-72.

- [115] Acar, F. Çıtak, G. Erbayraktar, S. Acar, Ü.D. ve Güner, M.E., "Familial İntrakraniyal Anevrizmalar".
- [116] Kato, S. Yamasita, T. Nomura, S. Kashiwagi, S. Ito, H. ve Yamashita, H., (1996). "Giant intracranial aneurysms in two sisters: case report", *Surgical neurology*, 46: 240-246.
- [117] Nakajima MD, H. Kishi MD, H. Yasui MD, T. Komiyama MD, M. Iwai MD, Y. Yamanaka MD, K. ve Nishikawa MD, M., (1998). "Intracranial aneurysms in identical twins", *Surgical neurology*, 49: 306-308.
- [118] Hashikata, H. Liu, W. Inoue, K. Mineharu, Y. Yamada, S. Nanayakkara, S. Matsuura, N. Hitomi, T. Takagi, Y. ve Hashimoto, N., (2010). "Confirmation of an association of single-nucleotide polymorphism rs1333040 on 9p21 with familial and sporadic intracranial aneurysms in Japanese patients", *Stroke*, 41: 1138-1144.
- [119] Deka, R. Koller, D.L. Lai, D. Indugula, S.R. Sun, G. Woo, D. Sauerbeck, L. Moomaw, C.J. Hornung, R. ve Connolly, E.S., (2010). "The relationship between smoking and replicated sequence variants on chromosomes 8 and 9 with familial intracranial aneurysm", *Stroke*, 41: 1132-1137.
- [120] Yasuno, K. Bakırcioğlu, M. Low, S.-K. Bilgüvar, K. Gaál, E. Ruigrok, Y.M. Niemelä, M. Hata, A. Bijlenga, P. ve Kasuya, H., (2011). "Common variant near the endothelin receptor type A (EDNRA) gene is associated with intracranial aneurysm risk", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108: 19707-19712.
- [121] Lunetta, K.L., (2008). "Genetic association studies", *Circulation*, 118: 96-101.
- [122] Alg, V.S. Sofat, R. Houlden, H. ve Werring, D.J., (2013). "Genetic risk factors for intracranial aneurysms A meta-analysis in more than 116,000 individuals", *Neurology*, 80: 2154-2165.
- [123] Helgadóttir, A. Thorleifsson, G. Magnusson, K.P. Grétarsdóttir, S. Steinthorsdóttir, V. Manolescu, A. Jones, G.T. Rinkel, G.J. Blankensteijn, J.D. ve Ronkainen, A., (2008). "The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm", *Nature genetics*, 40: 217-224.
- [124] Helgadóttir, A. Thorleifsson, G. Manolescu, A. Gretarsdóttir, S. Blondal, T. Jonasdóttir, A. Jonasdóttir, A. Sigurdsson, A. Baker, A. ve Palsson, A., (2007). "A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction", *Science*, 316: 1491-1493.
- [125] Samani, N.J. Erdmann, J. Hall, A.S. Hengstenberg, C. Mangino, M. Mayer, B. Dixon, R.J. Meitinger, T. Braund, P. ve Wichmann, H.-E., (2007). "Genomewide association analysis of coronary artery disease", *New England Journal of Medicine*, 357: 443-453.

- [126] McPherson, R. Pertsemlidis, A. Kavaslar, N. Stewart, A. Roberts, R. Cox, D.R. Hinds, D.A. Pennacchio, L.A. Tybjaerg-Hansen, A. ve Folsom, A.R., (2007). "A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease", *Science*, 316: 1488-1491.
- [127] Saxena, R. Voight, B.F. Lyssenko, V. Burt, N.P. de Bakker, P.I. Chen, H. Roix, J.J. Kathiresan, S. Hirschhorn, J.N. ve Daly, M.J., (2007). "Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels", *Science*, 316: 1331-1336.
- [128] Nakaoka, H. Takahashi, T. Akiyama, K. Cui, T. Tajima, A. Krischek, B. Kasuya, H. Hata, A. ve Inoue, I., (2010). "Differential Effects of Chromosome 9p21 Variation on Subphenotypes of Intracranial Aneurysm Site Distribution", *Stroke*, 41: 1593-1598.
- [129] Phillips, J. Roberts, G. Bolger, C. El Baghdady, A. Bouchier-Hayes, D. Farrell, M. ve Collins, P., (1997). "Lipoprotein (a): a potential biological marker for unruptured intracranial aneurysms", *Neurosurgery*, 40: 1112-1117.
- [130] Roberts, G.A. Corcoran, B.T. Pfouts, L.L. Phillips, J.P. Farrell, M.A. Bouchier-Hayes, D.J. ve Collins, P.B., (2001). "Genetic evaluation of lipoprotein (a) in intracranial aneurysm disease", *Neurosurgery*, 49: 133-142.
- [131] Janzen, V. Forkert, R. Fleming, H.E. Saito, Y. Waring, M.T. Dombkowski, D.M. Cheng, T. DePinho, R.A. Sharpless, N.E. ve Scadden, D.T., (2006). "Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a", *Nature*, 443: 421-426.
- [132] Broadbent, H.M. Peden, J.F. Lorkowski, S. Goel, A. Ongen, H. Green, F. Clarke, R. Collins, R. Franzosi, M.G. ve Tognoni, G., (2008). "Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p", *Human molecular genetics*, 17: 806-814.

ETİK KURUL ONAYI



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
BAKIRKÖY
HASTANESİ
KORU VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

BAKIRKÖY DR. SADİ KONUK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU



BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tek nükleotit polimorfizminin intrakraniyal anevrizma oluşumundaki rolünün araştırılması		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	2011/111		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Hasan H.Balık, Uz. Dr. Aysegül Erdemir, Uz. Dr. Hakan Selçuk, Uz. Dr. Nurten Turan Güner		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Noküler Biyoloji ve Genetik, Genetik Mühendisliği, Biyokimya		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü		
	DESTEKLEYİCİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 4		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Diğer ise belirtiniz: Prospektif			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	16.11.2011	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	16.11.2011	1	Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	16.11.2011	1	Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	25 000TL(YIRMİBEŞBİN TÜRK LİRESİ) Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2012/03/	Tarih: 13.02.2012
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

BEAH KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Uz. Dr. Gülsüm Oya HERGÜNSEL

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Uz. Dr. Gülsüm Oya HERGÜNSEL	Anesteziyoloji	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Gülsüm</i>
Uz. Dr. Sadık Sami HATİPOĞLU	Çocuk Hastalıkları	BEAH	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Sadık</i>
Prof.Dr. Ayşe KAVAK	Dermatoloji	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Ayşe</i>
Prof.Dr. Fatma Tülin KAYHAN	K.B.B.	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Fatma</i>
Doç.Dr. Özlem KAPTANOĞULLARI	İç Hastalıkları	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Özlem</i>
Doç.Dr. Osman KARAKAYA	Kardiyoloji	BEAH	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Osman</i>
Uzm. Dr. Asuman GEDİKBAŞI	Biyokimya	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Asuman</i>
Prof.Dr. Ufuk EMEKLİ	Plastik Ve Estetik Cerrahi	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Ufuk</i>
Prof.Dr. Gülsüm Nurhan INCE	Halk Sağlığı	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Gülsüm</i>
Doç.Dr. Ayşe PALANDÜZ	Çocuk Hastalıkları	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Ayşe</i>
Uz. Dr. Gülay ÖZGÖN	Farmakolog	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Gülay</i>
Can ÇELİK	Biyomedikal	Ditimed Bil.Çöz.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Can</i>
Hüseyin Hilmi ÖZTÜRK	Elek.Ve Elektr. Müh.	BEAH	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Hilmi</i>
Rana KONYALIOĞLU	Biyostatistik	ARK İst. Danış.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Rana</i>
Avukat Özkan TUM	Hukuk	İst. Sağ. Müd.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>Özkan</i>

ASGARI BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası: Tek nükleotit polimorfizminin intrakraniyal anevrizma oluşumundaki rolünün araştırılması

Araştırmanın Konusu: Bu araştırmanın konusu tek nükleotit polimorfizminin beyin anevrizması (baloncuk) oluşumundaki rolünün araştırılmasıdır.

Araştırmanın Amacı: Bu araştırmanın temel amacı; kolay uygulanabilir bir kan testi ile beyin kanaması olmadan, genetik olarak anevrizma oluşma riski yüksek olan kişileri, anevrizmanın büyüklüğünden bağımsız olarak ve radyolojik yöntemler kullanılmaksızın tespit edilmesidir. Bu amacın gerçekleştirilmesi durumunda genetik yatkınlığı tespit edilen bu kişiler takibe alınabilecek anevrizma patlamadan, cerrahi veya damar içi yöntemler kullanılarak tedavi edilebilecektir.

Araştırmanın Süresi: 18 ay

Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı: 700

Araştırmada İzlenecek Yöntem: Çalışmaya başlayabilmek için yöntemin ilk basamağında hasta ve kontrol bireylerinden periferik kan alımına ihtiyaç duyulmaktadır. Deneysel basamaklar; Kan örneklerinin alınması, Genomik DNA izolasyonu, Multiplex PCR, Genotip Analizi, İstatistik Analiz şeklindedir. İzole edilecek olan DNA örnekleri deneysel çalışma tamamlanıp önerilen çalışma ile ilgili bütün bilimsel veriler yayınlanıncaya kadar muhafaza edilecektir.

Alternatif Tedavi veya Girişimler: -

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler: Hastadan rutin kontroller için alınan kan örnekleri kullanılacaktır. Kan alımı sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.

Araştırma İlacının Olası Yan Etkileri: Araştırmada hastaya ilaç uygulaması yapılmayacaktır.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Prof. Dr. Dilek Turgut-Balık, 05332312831

Alınan örnekler sadece önerilen çalışmada kullanılacaktır. Hasta veya temsilcisinin araştırmaya katılmayı kabul etmedikleri durumda hastanın tetkik ve tedavisinde hiçbir aksama yaşanmayacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

HASTA BİLGİ FORMU

HASTA BİLGİ FORMU

İşlem esnasında ve sonrasında gerekli olabileceği düşünülen bilgileri içeren aşağıdaki soruları lütfen dikkatlice okuyarak cevaplayınız

Adı Soyadı :

Bölüm :

Protokol No :

Tarih :

Doğum Tarihi :

Cinsiyeti : E K

Doğum Yeri :

Tanı Yöntemi :

1.	Böbrek rahatsızlığınız var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
	Cevabınız evet ise tanısı:		
2.	Bilinen başka hastalığınız var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
	Cevabınız evet ise türü ve tarihi:		
3.	Daha önce cerrahi girişim veya ameliyat geçirdiniz mi?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
	Cevabınız evet ise türü ve tarihi:		
4.	Işın tedavisi ya da kemoterapi gördünüz mü?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
	Cevabınız evet ise; Ne zaman ve kaç seans:		
5.	Trafik kazası, düşme ya da benzeri travma geçirdiniz mi?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
	Cevabınız evet ise; Türü: Zamanı: Sonucu:		
6.	Sigara kullanıyor musunuz?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>

Cevabınız evet ise; Sıklığı (Adet/gün): Süresi (Yıl):			
7.	Alkol kullanıyor musunuz?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
Cevabınız evet ise; Sıklığı: Süresi (Yıl):			
8.	İlaç veya madde bağımlılığınız var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
Cevabınız evet ise; Sıklığı: Süresi (Yıl):			
9.	Hipertansiyonunuz var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
10.	Yüksek kolesterol şikayetiniz var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
11.	Kalp (kardiyovasküler) rahatsızlığınız var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
Cevabınız evet ise tanısı:			
12.	Ailenizde anevrizma (baloncuk) tanısı konmuş hasta var mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>
Cevabınız evet ise; Yakınlık derecesi			

Ev tel:

Cep tel.:

Adres:

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşegül ERDEMİR
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.12.1987, Malatya
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : aysegulerdemir@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2010
Lisans	Biyoloji	Ege Üniversitesi	2008
Lise	Fen	İskenderun Şemsettin Mursaloğlu Lisesi	2004

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2011-	Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü	Uzman

YAYINLARI

Makale

1. **Erdemir A.**, Ozkan E., Turan Guner N., Selcuk HH., Kara B., Baskin Y., Ellidokuz H., Balik HH., Turgut-Balik D. "İntrakranial Anevrizma için rs911271 Polimorfizminin Genotiplenmesi ve Analizi", Sigma Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, (2014), (Accepted).
2. Ozkan E., **Erdemir A.**, Törer BD., Tasci Al., Baskin Y., Ellidokuz H., Turgut-Balik D. " Prostat Kanseri için rs7501939 Polimorfizminin Genotiplenmesi ve Analizi", Sigma Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, (2014), (Accepted).
3. Bolat Z.B., Cayir E., Ozkan E., **Erdemir A.**, Mutlu O., Ata O., Balik H.H., Turgut-Balik D., "Cloning, expression, purification and characterization of the gene encoding D-lactate dehydrogenase enzyme from *Bacteroides fragilis* that promotes colon tumorigenesis." (2014) (submitted for publication).
4. Cayir E., **Erdemir A.**, Ozkan E., Topuzogullari M., Bolat Z.B., Akat A., Turgut-Balik D., Cloning of intron-removed enolase gene and expression, purification, kinetic characterization of the enzyme from *Theileria annulata*, Molecular Biotechnology, DOI: 10.1007/s12033-014-9747-z, (2014).
5. Cicek M., Mutlu Ö., **Erdemir A.**, Ozkan E., Sariçay Y., Turgut-Balik D. "Single mutation in shine-dalgarno like sequence present in the amino terminal of lactate dehydrogenase of Plasmodium effects the production of an eukaryotic protein expressed in a prokaryotic system". Molecular Biotechnology, 54:602–608, (2013).
6. **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "Isolation, cloning and sequence analysis of the lactate dehydrogenase gene from *Theileria annulata* may lead to design of new antitheilerial drugs", Veterinarni Medicina, 57(10):59-567, (2012).

Bildiri

1. **Erdemir A.**, Ozkan E., Turgut-Balik D. "Multiple SNP genotyping of intracranial aneurysm patients by MassARRAY iPLEX platform to be used for risk assessment of the disease" III. International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, Sarajevo, Bosnia Herzegovina, 02-06 June 2014.
2. Ozkan E., **Erdemir A.**, Turgut-Balik D. "Evaluation of SNPs prior to genotyping studies" III. International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, Sarajevo, Bosnia Herzegovina, 02-06 June 2014.
3. Ozkan E., **Erdemir A.**, Torer B.D., Tasci A.I., Baskin Y., Ellidokuz H., Turgut-Balik D. "Association of Single Nucleotide Polymorphism rs10896449 on Prostate Cancer in Turkish Population", The FEBS EMBO 2014 Conference, Paris, France, 30 Aug-04 September 2014 (Accepted).

4. Cayir E., **Erdemir A.**, Ozkan E., Topuzoğulları M., Bolat Z.B., Akat A., Turgut-Balik D. "Kinetic characterization of enolase enzyme from *Theileria annulata*" III. International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, Bosnia Herzegovina, 02-06 June 2014.
5. Cayir E., **Erdemir A.**, Ozkan E., Topuzoğulları M., Bolat Z.B., Akat A., Turgut-Balik D. "Expression and purification of enolase enzyme from *Theileria annulata*" II. International BAU Drug Design Congress, Istanbul, Turkey, 17-19 April 2014.
6. Nural B., **Erdemir A.**, Turgut-Balik D. " Production of Lactate Dehydrogenase from *Theileria annulata* in High Purity". 2nd International BAU Drug Design Congress. Istanbul, Türkiye, 17-19 Nisan 2014.
7. Nural B., **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "Evaluation of the lactate dehydrogenase gene sequence of *Theileria annulata* to find a possible solution for protein being synthesized from inactive to active form." 2nd International Congress of Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey, 22-23 Nov. 2013.
8. Bolat ZB., Cayir E., Ozkan E., **Erdemir A.**, Turgut-Balik D. "Sequence Analysis of D-Lactate Dehydrogenase from Nontoxic and Enterotoxigenic strains of *Bacteroides fragilis*." 2nd International Congress of Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey, 22-23 Nov. 2013.
9. Bolat ZB., **Erdemir A.**, Ata O., Balik HH., Turgut-Balik D. "Screening and Analysis of *Bacteroides fragilis* Genome Sequence for D-Lactate Dehydrogenase Enzyme using Bioinformatic Tools." 2nd International Congress of Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey, 22-23 Nov. 2013.
10. Sariyer E., **Erdemir A.**, Milward MR., Cooper PR., Özkan E., Turgut-Balik D. "Expression of Lactate Dehydrogenase Gene From *Fusobacterium nucleatum*." 38th Federation of European Biochemical Societies Congress. Saint Petersburg, Russia. 6-11 July 2013.
11. Bolat ZB, Çayır E., Özkan E., Sears C., **Erdemir A.**, Turgut-Balik D. "Amplification and Cloning of the Gene Encoding Lactate Dehydrogenase Enzyme from *Bacteroides fragilis* that is Known to be Localized in Colon Cancer Tissues." 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. Istanbul, Turkey. 23-24 November 2012.
12. **Erdemir A.**, Turgut-Balik D. "Removal of introns from *Theileria annulata* lactate dehydrogenase gene by genetic engineering methods opens a route to the expression of the protein towards design of new anti-theilerial drugs." 22nd IUBMB Congress/37th FEBS Congress. Seville, Spain. 04-09 September 2012.
13. **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "Aminoacid sequence and protein homology modelling analyses of lactate dehydrogenase gene from *Theileria annulata*." 36th FEBS Congress, Biochemistry for Tomorrow's Medicine. Torino, Italy, 25-30 June 2011.
14. **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "Isolation, cloning and sequence analysis of lactate dehydrogenase gene from *Theileria annulata*."

35th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies. Gothenburg, Sweden. FEBS Journal, 277, Suppl. 1, 95-95. 26 June-1 July 2010.

15. **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "Restriction enzyme analysis of two introns of lactate dehydrogenase gene from different *Theileria annulata* isolates may help to distinguish strains" 5th International Bioengineering Congress. Izmir, Turkey, 25-30 June 2010.
16. **Erdemir A.**, Aktas M., Dumanli N., Turgut-Balik D. "*Theileria annulata* laktat dehidrogenaz enzimini kodlayan genin nükleotid düzeyinde analizi", I. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 26-29 Ekim 2010.
17. **Erdemir A.**, Akat A., Çiçek M., Turgut-Balik D. "*Theileria annulata*'nın laktat dehidrogenaz geninin klonlanması sırasında transformasyon verimliliğini arttırmak amacıyla yapılan optimizasyon çalışmaları", I. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 26-29 Ekim 2010.
18. Sarıyer E., **Erdemir A.**, Milward MR., Cooper PR., Özkan E., Turgut-Balik D. "*Fusobacterium nucleatum* Laktat Dehidrogenaz Enzimini Kodlayan Genin Klonlanması", II. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 15-18 Kasım 2012.
19. Çayır E., Akat A., **Erdemir A.**, Özkan E., Turgut-Balik D. "Removal of an intron from *Theileria annulata* enolase gene by PCR site directed mutagenesis", II. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 15-18 Kasım 2012.
20. Turgut-Balık D., Özkan E., **Erdemir A.**, Akat A. "Modern Bilimin Mona Lisa'sı: DNA", Batman Üniversitesi Uluslararası Katılımlı Bilim ve Kültür Sempozyumu", Batman, 8-12 Nisan 2012.

Kitap

1. Turgut-Balık D, **Erdemir A.** 2012. "DNA Replikasyonu". Moleküler Biyoloji, Editör: Prof. Dr. Mehmet Karataş. 1. Basım. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayınları, ISBN: 9786058801271. Sayfa: 87-99. Ankara, 2012.
2. Turgut-Balık D, **Erdemir A.**, Ozkan E, Akbulut E, Schaum's Outlines Biology Third Edition, Chapter 7, The Nature of the Gene, Nobel Akademik Yayıncılık, Editör: Mehmet Karataş (Çeviri Editör'e gönderildi).

Proje

1. "Tek nükleotit polimorfizminin intrakranyal anevrizma oluşumundaki rolünün araştırılması" BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) Projesi, Proje No: 2012-07-04-KAP01, Araştırmacı, 2012-.
2. "*Theileria annulata*'nın Enolaz Enzimini Kodlayan Genin İntrondan Arındırılarak İzole Edilmesi, İfadesinin Yapılması ve Yönlendirilmiş Mutagenез ile Analiz Edilmesi" Yıldız Teknik Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) Projesi, Proje No: 2011-07-04-KAP03, Araştırmacı, 2011-2014.

3. "İlaç Tasarım Çalışmalarında Kullanılmak Üzere Bazı Apicomplexa Parazitlerinin Laktat Dehidrogenaz Enzimini Kodlayan Genin İzolasyonu ve Klonlanması" Yıldız Teknik Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) Projesi, Proje No: 2010-07-04-KAP01, Araştırmacı, 2010-2012.

Ödülleri

1. "Bilimsel Çalışmalarda İstatistiğin Rolü: Bilinmesi Gereken Yöntemler & Uygulama Alanları" 26/27 Mart 2012, İstanbul, Katılım Bursu.
2. 22nd IUBMB Congress/37th FEBS Congress, 2012, Sevilla-Spain, Kongre Katılım Bursu.