

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**AURALI MİGRENDE SLC1A3 GEN
MUTASYON ANALİZİ**

FÜSUN ÇAKIR
UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2008

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**AURALI MİGRENDE SLC1A3 GEN
MUTASYON ANALİZİ**

FÜSUN ÇAKIR
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. FETHİ İDİMAN

İZMİR-2008

Bu araştırma TUBİTAK tarafından SBAG-HD-272(107S436)sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	III
KISALTMALAR.....	V
ÖNSÖZ.....	VI
1.ÖZET.....	1
2.SUMMARY.....	3
3.GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
4.GENEL BİLGİLER.....	12
4.1.Migren ve klinik özellikler.....	12
4.2.Migren patofizyolojisi.....	14
4.2.1.Aura patofizyolojisi.....	14
4.2.2.Baş ağrısı patofizyolojisi.....	15
4.3.Kortikal yayılan depresyon.....	17
4.4.Migren ve kortikal ekstabilité.....	19
4.5.Migren ve Glutamat.....	22
4.6.Migren ve Genetik.....	23
4.6.1.Genetik epidemiyolojik çalışmalar.....	23
4.6.1.1.Pozitif aile öyküsü.....	23
4.6.1.2.Migren ve ikiz çalışmaları.....	24
4.6.1.3.Migren ve kalıtım Modeli.....	24
4.6.2.Migren ve Moleküler Genetik.....	25
4.6.2.1.Migrende Linkage (bağlantı) çalışmaları.....	25
4.6.2.1.1.Genom taraması bağlantı çalışmaları.....	26
4.6.2.1.2.Aday bölge bağlantı çalışmaları.....	26
4.6.2.2.Migrende asosiyasyon (ilişkilendirme) çalışmaları.....	27

4.6.2.3.Migren ve diğer sorumlu genler	28
4.6.2.4.Familyal hemiplejik Migren ve genetik	29
4.6.2.5.Migren genetiğindeki son veriler.....	31
5. GEREÇ VE YÖNTEM	34
6. BULGULAR	38
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
8. KAYNAKLAR.....	52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1:Hastaların bazı önemli klinik özelliklerinin bireysel görünümü

Tablo 2:Hastalarda saptanan gen varyantları ve bazı klinik özellikleri

Tablo 3:Kontrol grubunda saptanan gen varyantları

Tablo 4:Hasta ve kontrol grubu sonuçlarının karşılaştırılması

SEKİL LİSTESİ

Şekil 1:Eksitatör nörotransmisyon ve glutamat taşıyıcıları

Şekil 2:Familyal hemiplejik gen mutasyonları ve nörotransmisyonundaki rolleri

KISALTMALAR

ACE	: Angiotensin Converting Enzyme,
BOLD	: Blood Oxygenation Level Dependent
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CSD	: Cortical Spreading Depression
CSP	: Cortical Silent Period
CGRP	: Calcitonine gene related peptid
DC	: Direct Current
EA	: Episodic Ataxia
EAAT	: Excitatory Amino Acid Transporter
FHM	: Familial Hemiplegic Migraine
fMRG	: Functional Magnetic Resonans Imaging
KYD	: Kortikal Yayılan Depresyon
MEG	: Magnetoencephalography
MO	: Migraine without aura
MA	: Migraine with aura
SPECT	: Single Photon Emission Computed Tomography
PET	: Positron Emission Tomography
nNOS	: nöronal Nitric Oxide Synthetas
TMS	: Transcranial Magnetic Stimulation
IHS	: International Headache Society
MTHFR	: Metil Tetra Hidro Folat Redüktaz
SHM	: Sporadic Hemiplegic Migraine

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimi süresince bilgi ve deneyimlerini bizlerden esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Fethi İdiman, Prof. Dr. Egemen İdiman, Prof. Dr. Ahmet Genç, Prof. Dr. Kürşat Kutluk, Prof. Dr. Barış Baklan, Prof. Dr. Raif Çakmur, Prof. Dr. Görsev Yener, Doç. Dr. Vesile Öztürk, Doç. Dr. Gülden Akdal, Doç. Dr. Serkan Özakbaş, Doç. Dr. İhsan Şengün, Doç. Dr. Beril Dönmez Çolakoğlu, Doç. Dr. İbrahim Öztura'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında çok önemli desteğini gördüğüm tez danışmanım Prof. Dr. Fethi İdiman'a, Prof. Dr. Afig Berdeli'ye, yazım aşamasındaki katkılarından ötürü Prof. Dr. Egemen İdiman ve Prof. Dr. Meral Sakızlı'ya ayrıca teşekkür ederim.

Çalışma arkadaşlarım, Uz.Dr. Burcu Uğurel, Uz.Dr. Erdem Yaka, Dr. Gökhan Gürel, Dr. Görkem Kösehasanoğulları, Dr. Derya Kaya, Dr. Ahmet Evlice, Dr. Özlem Özkan, Dr. Serap Kasar, Dr. Turan Poyraz, Dr. Yüksel Güven, Dr. Ozan Sagut, Dr. Ayşegül Özer, Dr. Bilge Piri, Dr. Özlem Eser, Dr. Özlem Sezer ve tüm hemşire, sekreter, yardımcı sağlık personeline teşekkür ederim.

Sevgili anne ve babam Asiye Boyacıoğlu, Yüksel Boyacıoğlu, sevgili kardeşim Coşkun Boyacıoğlu ve sevgili eşim Dr. Emre Çakır'a destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Migren bulantı, kusma, fotofobi ve fonofobi ile hastaların 1/5’de nörolojik aura semptomlarının eşlik ettiği tekrarlayıcı baş ağrısı ataklarıyla karakterize, sık görülen ve disabiliteye yol açan bir hastalıktır. Migrenle uğraşan bir çok araştırmacı, migrenli bireylerdeki nöronal hipereksitabilitenin bazı tetikleyici faktörlerin de etkisiyle kortikal yayılan depresyon, nörojenik inflamasyon ve son olarak da baş ağrısı oluşumuna neden olduğuna inanmaktadır. Kortikal yayılan depresyon dalgasının, aura patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir, ancak son yıllarda, hayvan modelleri, kortikal yayılan depresyon dalgasının trigeminovasküler afferentlerin aktivasyonu ile baş ağrısı oluşumunda da rol oynayabileceğini göstermektedir. Migrenin nadir görülen Mendelian formu olan familial hemiplejik migrenle ilgili yürütülen genetik çalışmalar, migrenin moleküler temelinin anlamamıza önemli katkılar sağlamıştır. Familial hemiplejik migren’den (FHM) sorumlu olduğu gösterilen üç farklı gen bulunmuştur. İyon kanallarını kodlayan bu üç gendeki mutasyonlar olasılıkla ekstrasellüler potasyum ve glutamat düzeylerinde artışa yol açarak, nöronal eksitabilite artışına yol açmaktadır.

Biz çalışmamızda, auralı migren hastalarında SLC1A3 geninde mutasyon analizi yaptık. Bu gen eksitator amino asit taşıyıcı olarak bilinen EAAT1’i kodlar ve glial hücrelere glutamat taşınmasında rol alır. Bu amaçla çalışmaya alınan, farklı ailelerden 14 auralı migren ve 10 sağlıklı kontrol olgusunun tüm ekson/intron bölgelerini içeren mutasyon analizinde, altı yeni gen varyantı bulunmuştur (IVS2+28-29insA, IVS4+17C>T, Phe389Phe (1167C>T), 3’UTR 33+ G>A, 3’UTR 515+A>C). Bu gen varyantlarından; IVS2.+28-29, IVS+17C>T ve Phe389Phe (1167C>T) üç hastamızda saptanırken kontrol olgularında saptanmamış, 3’UTR 33+ G>A, 3’UTR 515+A>C varyantları ise hem hasta hem de kontrol olgularında saptanmıştır. Yine sadece üç hastamızda saptanan, Glu219Asp (657G>C) varyantı ve yedi hasta ve üç kontrol olgusunda saptanan IVS8+22C>T varyantı literatürde daha önceden polimorfizm olarak bildirildiği görülmüştür. Olguların klinik özellikleri incelendiğinde, IVS2+28-29insA varyantı bulunan hastada, aura atakları diğer hastalardan farklı olarak hem görsel hem de somatik duysal semptomlardan oluşmaktaydı, ek olarak paroksimal dengesizlik ve baş dönmesi atakları oluyordu. IVS4+17C>T varyantı saptanan hastada ise yine farklı bir özellik olarak, özgeçmişinde taşıt tutması ve vertigo atakları bulunmaktaydı.

Çalışmamız, her ne kadar kısıtlı sayıda bir hasta grubunda yapılmış olsa da, bu gendeki mutasyonların hastalık oluşturmada rolü olabileceğini düşündüren önemli bulgular elde edilmiştir. Bulduğumuz, bu gen varyantlarının, patojen mutasyonlar ya da hastalıkla ilişkili polimorfizmler olup olmadığının, fonksiyonel çalışmalarla ve ilişkilendirme (assosiyasyon) çalışmalarıyla belirlenmesinin önemli olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Auralı migren, SLC1A3 gen mutasyonları, migren patogenezi migren ve genetik

SUMMARY

Migraine is a common disorder, characterized by recurrent disabling attacks of headache associated with nausea, vomiting, photophobia and phonophobia and, in a five of patients, neurological aura symptoms (migraine with aura). Many migraine researchers believe that migraneous brains are hyperexcitable and some triggering factors can give rise to cortical spreading depression (CSD) and neurogenic inflammation, and finally to migraine headache. Cortical spreading depression (CSD) is well established as the underlying mechanism for the migraine aura, and findings based on the animal experiments show that it might also trigger the headache phase of migraine attacks by activating the trigeminovascular system. The rare Mendelian form of migraine FHM is the most successful model for the identification of migraine associated cellular mechanisms. Three genes —two ion-channel genes and one encoding an ATP exchanger— have been found to underlie FHM. These mutations probably contribute to hyperexcitability of neurons by leading to either an increased release or an inefficient clearing of synaptic glutamate.

The gene encoding EAAT- 1 which transports excitatory aminoacid played a role in glutamate transporting into the cells. Therefore we have investigated SLC1A3 gene mutations in migraine patients with aura.

Our studies were conducted with 14 migraine patients with aura and 10 healthy control subjects of different family, and they have been analyzed for mutations in all exon/intron regions. We have found 6 new gene variants (IVS2.+28-29insA, IVS4+17C>T, Phe389Phe(1167C>T), 3'UTR 33+ G>A, 3'UTR 515+A>C). IVS2.+28-29, IVS+17C>T, Phe389Phe(1167C>T) gene variants have only been found in three patients but not in healthy subjects, while 3'UTR 33+ G>A, 3'UTR 515+A>C gene variants have been found in both patients and control subjects. Moreover, Glu219Asp(657G>C) gene variant encountered only in three patients, along with IVS8+22C>T gene variant found in seven patients and three healthy control subjects, are considered as polymorphism in the related literature . Among two patients, some clinical features have been evaluated as being different from the others. The patient exhibiting IVS2.+28-29insA gene variant had both visual and somatosensorial aura symptoms. Moreover this patient had episodic vertigo and unsteadiness attacks. The patient having IVS4+17C>T gene variant described vertigo attacks and motion

sickness in personal history and this was different from the other patients. Our study was conducted with limited number of patients, but since this study is first among the related literature, the results bear hope to reveal the role of these gene mutations in migraine pathogenesis. However we will require new functional and polymorphism studies for a better understanding of the effects of gene mutations on migraine pathogenesis.

Key words: SLC1A3 gene mutations, migraine genetics, migraine pathogenesis, migraine with aura

GİRİŞ VE AMAC

Migren, sık görülen, epizodik ataklarla seyreden, nörolojik, otonomik, gastrointestinal semptomların çeşitli kombinasyonlarının bir arada görülebildiği primer başağrısı bozukluğudur. Prevelansı erkeklerde yaklaşık %6, kadınlarda ise %15-18 olarak bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre dünyada ağır disabiliteye yol açan 20 hastalık arasında yer almaktadır. Hem iş gücü kaybına yol açması, hem de tedavi maliyetinin yüksek olması ülkelere ağır maddi yükümlülükler getirmektedir.

M.Ö. 400 yıllarında, Hipokrat'ın migren aurasını 'mideden başa yükselen buhardan kaynaklanır' şeklinde tanımlamasından, günümüze dek, bu hastalığın nasıl oluştuğu ile ilgili çok çeşitli varsayımlar öne sürülmüştür. Bugün gelinen noktada ise, migrenin sanılandan çok daha karmaşık bir hastalık olduğu gerçeği karşımızda durmaktadır. Klinik ve patofizyolojik olarak oldukça heterojen olan bu hastalıkta, farklı formların ortaya çıkmasının altında yatan mekanizma, olasılıkla genetik ve non-genetik yatkınlık faktörlerinin çeşitli kombinasyonlarının bir araya gelmesidir.

Migrenle ilgili çalışmalar, daha çok aura ve başağrısı fazı üzerinde yoğunlaşmıştır ve patofizyoloji konusunda çok fazla ilerleme sağlanmıştır. Aura fazı, nörolojik semptomlardan oluşur. Görsel belirtiler en sık görülen aura semptomudur ve bunların arasında en sık pozitif skotomlar görülür. İkinci sıklıkta, parestezi ya da hissizlik şeklinde somatik duysal belirtiler görülmektedir. Motor belirtiler; parezi ya da pleji şeklinde olabilirken, konuşma ve algı bozukluklarının eşlik edebildiği çok çeşitli nörolojik belirtiler aura döneminde ortaya çıkabilmektedir(1).

Günümüzde klinik ve deneysel kanıtlar, aura fazının kortikal yayılan depresyon (KYD) ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Kortikal yayılan depresyon, kortekste yavaş bir şekilde, yaklaşık 2-3mm/dk hızla ilerleyen, kısa süreli bir nöronal depolarizasyon ve arkasından gelen daha uzun süreli nöronal inaktivasyon fazından oluşur. Deneysel olarak kortikal travma, glutamat ve potasyumun ekstrasellüler artışı, Na/K ATP az inhibisyonu ile KYD tetiklenebilmektedir(2). İnsanda, fonksiyonel MRG (fMRG) ve magnetoensefalografi (MEG) çalışmaları ile migren aurası ve deneysel KYD modelleri arasında büyük benzerlikler

olduğu ortaya konmuştur(3). Ayrıca, hayvan modellerinde KYD'nun, migren başağrısı fazında önemli rol oynadığı düşünölen trigeminovasköler sistemi aktive ettiği gösterilmiştir(4). Günümüzde kullanılan migren tedavisinin temel hedefi KYD'nun inhibisyonudur.

Son on yılda büyük gelişme gösteren genetik çalışmalar, diğer nörolojik hastalıklarda olduğu gibi migren patofizyolojisinin aydınlatılmasına da önemli katkılar sağlamıştır. Özellikle, migrenin otozomal dominant kalıtlı formu olan familial hemiplejik migrendeki genetik çalışmalar, KYD'nun migrendeki yeri ve oluşum mekanizmaları konusunda bize çok ciddi ipuçları sağlamaktadır.

Migrendeki ailesel kümelene uzun yıllardır bilinmektedir. Yapılan kontrollü çalışmalar, migrenli bireylerin akrabaları arasında migren riskinin artmış olduğunu göstermektedir. Russel ve Olesen'in yaptığı bir çalışmada, birinci dereceden akrabalarda migren bulunma riski auralı migren (MA) için 4 kat, aurasız migren (MO) için 1.9 kat artmış olarak bulunmuştur(6). Stewart ve ark.'nın 1997'de yaptığı popölasyon temelli bir başka çalışmada migrenli bireylerin akrabalarının ailesel kümelene açısından en fazla riski taşıdığı gösterilmiştir(5). İkiz çalışmalarında, monozigot ikizlerdeki konkordans, dizigotik ikizlere göre daha yüksektir. Ancak monozigot ikizlerde, %100 konkordans gösterilememesi migrende genetik faktörlerin tek başına etkili olmadığını düşöndürmektedir(7). Kalıtım modeli ile ilgili yapılan aile ağacı incelemeleri ve segregasyon analizlerinde, migren için tüm kalıtım modelleri düşünölmüştür. Günümüzde en fazla multifaktöriyel kalıtım veya düşük penetranslı otozomal dominant kalıtım modeli üzerinde durulmaktadır. Migrende genetik faktörlerin yaklaşık %50 oranında etkili olduğu düşünölmektedir(5). Genetik komponentin varlığı auralı migrende daha fazladır(8). Auralı migrenin alt tipi olan familial hemiplejik migren (FHM)'de yürütölen genetik çalışmaların migrenin moleköler temelini anlamamıza büyük katkıları olmuştur ve migrendeki genetik çalışmalar için iyi bir model özelliği taşımaktadır.

Familial hemiplejik migren, auralı migrenin seyrek görölen ve otozomal dominant kalıtım paterni gösteren alt tipidir. Etkilenmiş bireylerde motor güçsözlük ve eşlik edebilen diğer aura semptomlarını, (pozitif-negatif görsel semptomlar, konuşma bozukluğu) migren

tipi başağrısı izler. Aynı aile içerisinde birinci derece veya ikinci dereceden en az iki bireyin benzer atakları göstermesi FHM'nin tanı kriterlerinden biridir. FHM'li aileler içerisinde aynı zamanda non-hemiplejik migrenli bireyler bulunabilir. Yapılan bir çalışmada FHM'li kişilerin akrabalarında, auralı migren görülme riski normal popülasyona göre sekiz kat artmış olarak bulunmuştur(8). FHM'li ailelerin 1/3'de, nistagmus, epizodik ataksi veya progresif serebellar bulgular görülebilmektedir. FHM'nin genetik heterojenitesi, yapılan yoğun araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Şu ana kadar bu hastalıktan sorumlu üç farklı gen saptanmıştır.

Familiyal hemiplejik migren-1 geni olarak bilinen CACNA1A, kromozom 19p13'de lokalizedir ve Cav2.1'in (nöronal voltaj bağımlı kalsiyum kanal veya P/Q tipi kalsiyum kanalı olarak da bilinir) alfa-1 alt tipini kodlar(9). Cav2.1 kanalları, beyinde; presinaptik terminallerde ve somatodendritik membranlarda yoğun olarak yerleşmiştir. Temel olarak, nörotransmitter salınımının kontrolünü sağlar. Migren patogenezinde rolü olan serebral korteks ve beyin sapı nukleuslarında ayrıca serebellumda yüksek oranda eksprese edilir(10). FHM'li olguların %50'den fazlasında CACNA1A genindeki mutasyonların, hastalıktan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu hastalarda serebellar ataksi ve travma ile tetiklenen atakların daha sık görüldüğü saptanmıştır(11). Bu gendeki mutasyonlar, aynı zamanda epizodik ataksi tip-2 (EA-2) ve spinoserebellar ataksi tip-6 (SCA-6) ile de ilişkilidir(12). CACNA1A geninde, şu ana kadar FHM1'den sorumlu 18 farklı 'missense' mutasyon saptanmıştır(13).

Familiyal hemiplejik migren-2'den sorumlu gen, kromozom 1q23'de lokalize ATP1A2'genidir. ATP1A2, çoğunlukla glial hücrelerde lokalize Na-K-ATPaz pompasının alfa-2 alt tipini kodlar. FHM2'de, 23 farklı ATP1A2 gen mutasyonu saptanmıştır(13,14). ATP1A2 mutasyonları, ayrıca, benign familiyal infantil konvulsiyonla (BFIC) birliktelik gösteren FHM'li bir ailede de tanımlanmıştır. Bu hastalıkla daha önceden ilişkisi gösterilmiş olan ATP1A2 gen mutasyonları, aynı zamanda baziler migren, alternan hemipleji ve klasik migren ile de ilişkili bulunmuştur(15,16,17).

Familiyal hemiplejik migren-3 geni olarak bilinen SCN1A geni ise kromozom 2q24'de lokalizedir. Bu gen nöronal voltaj bağımlı sodyum kanalını (Nav1.1) kodlar. Üç

farklı FHM'li ailede Q1489 mutasyonu, arkasından bir Amerika'lı ailede L1649Q mutasyonunun, hastalığa neden olduğu gösterilmiştir(18). SCN1A geniyle ilgili çok sayıda mutasyonun daha önceden epilepsinin bazı formları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu gen mutasyonlarının, FHM'de diğerlerine oranla çok daha nadir olduğu düşünülmektedir(19).

Familyal hemiplejik migren-1, FHM2, FHM3, klinik olarak birbirinden net olarak ayrılamaz. Genotip-fenotip ilişkisi tam değildir. Ancak FHM2'de epileptik nöbetlerle FHM1'de ise, ataksi ile birliktelik daha sıktır(12,18,19). Bu mutasyonları taşımayan FHM'li ailelerin bulunması sorumlu başka genlerin de bu hastalıkta rol oynadığını göstermektedir. Çeşitli elektrofizyolojik çalışmalar ve fare modelleri ile, bu üç iyon kanalı genlerindeki mutasyonlar, fonksiyonel açıdan değerlendirildiğinde;

- 1-CACNA1A gen mutasyonlarının; mutant Cav2.1 kanalları üzerinden kalsiyum iyonlarının, hücre içine kontrolsüz girişi, bununla ilişkili olarak glutamatın artmış salınımına,
- 2-ATP1A2 gen mutasyonlarının; glutamat ve potasyumun sinaptik yarıktan taşınmasında disfonksiyona,
- 3-SCN1A gen mutasyonlarının; nöronların kendiliğinden ve kontrolsüz deşarjı ile ateşlenme hızında artışa yol açtığı görülmüştür.

Bu verilere dayanarak, bu genetik mutasyonların, ekstrasellüler glutamat ve potasyum düzeylerinin artışına ve kortekste eksitabilite değişikliğine yol açarak, KYD oluşumu ve yayılmasına yatkınlık sağladığı öne sürülmektedir(18,20).

Migrenin sık görülen diğer formlarında, hastalığa yol açan genlerin identifikasyonu FHM'deki kadar kolay değildir. Yaygın görülmesi, genotip ve fenotipik olarak heterojen olması, etyolojide olasılıkla, çevresel faktörlerin de rol oynaması genetik çalışmalar açısından zorluklar yaratmaktadır.

Familyal hemiplejik migren-1 ve FHM2'den sorumlu olduğu bilinen CACNA1A ve ATP1A2 gen mutasyonları, hem auralı hem de aurasız migrende taranmış, her iki gende de daha önce saptanmış mutasyonlar ya da yeni mutasyon gösterilememiştir(22). Bağlantı (linkage) çalışmalarında ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Aday gen linkage analizlerinde,

kromozom 19p13 lokusu ile anlamlı bağlantı gösterilmişse de, bu bölgedeki sorumlu gen henüz saptanamamıştır(21,22,23). Genom taraması çalışmalarında; 4q24, 6p12.2-p21.1, 11q24 ve 14q21.2-q22.3 gen lokusları ile bağlantı gösterilmiştir(24,25,26,27).

Migren patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen, nörotransmitter, vasküler ve hormonal süreçlerde rol alan aday gen ilişkilendirme (assosiyasyon) çalışmalarında, dopamin tip-2 reseptör, TNF (tümör nekrotizan faktör), dopamin tip-4 reseptör, serotonin taşıyıcı, metil tetrahidrofolat redüktaz ve ACE (anjiyotensin konverting enzim) gen polimorfizmleri migrenle ilişkili saptanmıştır(20).

Ancak dopamin reseptör tip 1, 3, 5, apolipoprotein E, 5HT1B, 5 HT2A, 5HT2B reseptör ve nitrik oksit sentaz gen polimorfizmlerinin migren ile ilişkisi gösterilememiştir(20).

Geçtiğimiz yıllarda epizodik ataksi, hemiplejik migren ve nöbetleri olan bir hastada 'SLC1A3' geninde, kontrol gurubunda ve asemptomatik akrabalarında bulunmayan yeni bir mutasyon saptanmıştır(28). 'SLC1A3' geni, (excitatory amino asid tranporter 1-EAAT1) ya da diğer bilinen adıyla 'glial glutamat taşıyıcı proteini' kodlar. EAAT1 yüksek oranda serebellum ve beyin sapında eksprese edilir ve sinaptik yarıktan glutamatın glial hücrelere taşınmasını sağlar. Çalışmacılar, SLC1A3 genindeki mutasyonun, da diğer FHM genlerine benzer şekilde, glutamat geri alımında azalmaya yol açtığını göstermişlerdir ve ekstrasellüler glutamat artışının nöronal hipereksitabiliteye yol açarak olgudaki nöbet, hemiplejik migren ve epizodik ataksi kliniğinden sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir(28).

Nöronal hipereksitabilite ile migren ilişkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Uyarılmış potansiyeller, TMS (transkranyal manyetik stimülasyon) ve MEG (magnetoensefalografi) gibi teknikler kullanılarak yapılan çalışmalarda, migrenli bireylerde, iktal ve interiktal dönemlerde, kortikal hipereksitabilitenin varlığı gösterilmiştir(29). Migrendeki, nöronal hipereksitabilitenin nedeni, çok iyi anlaşılammış olsa da, glutamatın çok önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Glutamat, KYD, trigeminovasküler sistem aktivasyonu ve santral sensitizasyonda rol oynadığı düşünülen SSS'nin önemli eksitatör nörotransmitteridir. İyonotropik ve metobotropik olarak sınıflandırılan reseptörler üzerinden etkisini gösterir.

İyonotropik reseptörler, NMDA, AMPA ve kainat reseptörleri olarak da bilinir. Bu reseptörler, trigeminal nukleus kaudaliste yoğun olarak bulunur. Bir çalışmada, glutamat reseptör antagonistlerinin, superior sagittal sinus stimülasyonu ile tetiklenen nöronal ateşlenme eşiğini, düşürdüğü gösterilmiştir(30). Migren proflaksisinde kullanılan antiepileptik ilaçların temel etkilerinin, glutamat reseptör modülasyonu üzerinden olduğu düşünülmektedir. Glutamatın beklenen etkisini göstermesi kadar, sinaptik yarıktaki subtoksik düzeylerde tutulması da büyük önem taşır. Glutamatı, ekstrasellüler alanda yıkan enzimatik bir sistem bulunmamaktadır. Glutamatın ekstrasellüler alandan temizlenmesi, özelleşmiş proteinler tarafından yerine getirilir. Şu ana kadar tanımlanmış beş farklı glutamat taşıyıcısı bulunmaktadır (EAAT1-5). Bu taşıyıcı proteinler nöron ve astrositlerde yoğun olarak mevcuttur. Glutamat geri alımı, büyük olasılıkla, EAAT1 genin transkripsiyonel kontrolü, transporter moleküllerinin membran translokasyonu ve olasılıkla fosforilasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonun rol oynadığı farklı ve karmaşık mekanizmalarla kontrol edilir(31).

Glutamat ve baş ağrısı ilişkisi, ilk olarak 'Çin restoranı sendromu' olarak bilinen tablonun tanımlanması ile ortaya atılmıştır. Yapılan prelinik ve klinik çalışmalar, glutamatın migren patofizyolojisinde çok önemli bir yere sahip olduğunu desteklemektedir. Migrenli hastalarda yapılan biyokimyasal çalışmalarda; plazma, BOS ve platelet glutamat düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir(32,33,34). Ayrıca migrenli hastalarda glutamat artışının, apoptotik mekanizmalarla, migrenöz enfarktlar ve beyin MRG'de görülen non-spesifik değişikliklerle ilgili olabileceği şeklinde görüşler bulunmaktadır(29). Keza bu lezyonların vasküler olaylara bağlı geliştiği öngörülmüşse de bu konuda yeterli kanıt bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, genetik olarak yatkın bireylerde, glutamat taşınmasında, salınımında ya da sinaptik boşluktan temizlenmesindeki disfonksiyon, nöronal eksitabilite değişikliğine yol açarak, bireyleri, endojen ve eksojen tetikleyicilere yatkın hale getiriyor olabilir. Bu tetikleyicilerin frekans ve yoğunluğundaki küçük değişiklikler, yatkın bireylerde, kortikal yayılan depresyon oluşumu ve yayılımına yol açarak migren atağını başlatıyor olabilir. Bu bağlamda, migren spesifik beyin bölgelerindeki glutamatın, anormal düzeyleri glutamat taşıyıcılarındaki bozulmuş aktiveyle, bu da EAAT1 genindeki mutasyonlarla ilişkili olabilir.

Biz bu varsayım doğrultusunda, nöronal dokulara spesifitesi yüksek ve nöronal eksitabiliteyi düzenlediği düşünölen SLC1A3 (EAAT1) geni için, 10 ekzon ve intron bölgesinin her birinde, 14 auralı migren hastası ve 10 sağlıklı kontrolde mutasyon taraması yapmayı amaçladık.

Bu çalışmada; daha önce auralı migren hastalarında hiç çalışılmamış olan SLC1A3 geninde saptanacak olası mutasyonların,

1-Migren için spesifik genetik belirteçlerin saptanmasına

2-Glutamatın, nöronal eksitabilite ve KYD oluşumundaki, dolayısıyla migren oluşumundaki rolünün açıklanmasına

3-Yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesine yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

4.1.Migren ve Klinik Özellikleri

Migren, nörolojik, gastrointestinal ve otonomik semptomların çeşitli kombinasyonlarının bir arada görüldüğü primer başağrısı bozukluğudur. Özellikle genç bireyleri etkileyen ve sık görülen bu hastalığın toplumlara ciddi sosyal ve ekonomik yükü vardır.

Migren temel olarak dört fazdan oluşur. Prodrom fazı; depresyon, hiperaktivite, öfori, huzursuzluk, fotofobi, disfazi, yorgunluk gibi belirtileri içerir. İyi sorgulandığında bu semptomların birçok hastada, migren başağrısı öncüsü olduğu saptanabilir. Aura fazı başağrısından hemen önce, başağrısı ile birlikte bazen de başağrısı olmaksızın görülebilen, fokal nörolojik belirtilerle karakterizedir. Genellikle 5-20 dakika kadar sürer ve 60 dakikadan kısa sürede sonlanır. Bunu, başağrısı fazı izler ve son olarak rezolüsyon dönemi ile atak sonlanır. Hastalarda migren atağı sırasında bu fazların hepsi bir arada görülmeyebilir ve tanı için gerekli de değildir. Ancak bu özelliklerin tümünü taşıyan olgularda hastalığın daha şiddetli seyrettiği söylenebilir(35).

Günümüzde migren ve diğer primer başağrıları için kullanılan herhangi bir tanısız test yoktur. Tanı, hastanın atağını tanımlaması ve olası diğer başağrısı nedenlerin dışlanması temeline dayanır. ‘Uluslararası Başağrısı Topluluğu’ (IHS), klinik pratikte ve bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere bazı tanı kriterleri yayınlamıştır. İlk olarak 1988’de yayınlanan bu kriterler 2004’te yeniden gözden geçirilmiştir(36). Migrenin en sık görülen iki formu auralı migren (MA) ve aurasız migrendir (MO).

IHS 2004 Aurasız Migren (yaygın migren, MO) tanı kriterleri

Tanımı: Ataklar şeklinde ortaya çıkan, 4-72 saat süren, genellikle tek taraflı, zonklayıcı, orta veya şiddetli, günlük bedensel hareketlerle artış gösteren, fotofobi, fonofobi,

bulantı ve kusmanın eşlik ettiği tekrarlayıcı bir baş ağrısı hastalığıdır.

Tanı Ölçütleri:

- A. B-D ölçütlerine uyan en az 5 atak varlığı
- B. 4-72 saat süren baş ağrısı atakları (tedavi edilmiş olsun ya da olmasın)
- C. Baş ağrısı atakları aşağıdaki özelliklerden en az ikisini taşımaktadır:
 - 1. Tek taraflı
 - 2. Zonklayıcı özellikte
 - 3. Orta ya da ağır şiddetli
 - 4. Fiziksel aktivite ile artma veya fiziksel aktiviteden kaçınmaya neden olma
- D. Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az birisi bulunmalıdır
 - 1. Bulantı ve /veya kusma
 - 2. Fotofobi ve fonofobi
- E. Başka bir hastalığa atfedilemez

IHS-2004 Auralı Migren (Klasik Migren, MA) tanı kriterleri:

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

Tanı Ölçütleri:

- A.B ve D ölçütlerini dolduran en az 2 atak olmalı
- B.Aşağıdakilerden en az birini içeren motor güçsüzlük olmayan aura
 - 1.Tamamen geri dönüşümlü pozitif ve/veya negatif görsel semptomlar
 - 2.Tamamen geri dönüşümlü pozitif ve/veya negatif duysal semptomlar
 - 3.Tamamen geri dönüşümlü konuşma bozukluğu
- C.Aşağıdakilerde en az ikisi
 - 1.Homonim vizüel semptomlar ve/veya unilateral duysal semptomlar

- 2.>5dk. Sürede basamaklı gelişen ve/veya ardı sıra oluşan farklı aura semptomları
- 3.Her bir semptom 5-60dakikada sonlanır

D. Aurasız migren kriterlerini karşılayan başağrısı aura sırasında ya da aurayı takiben 60 dakika içinde gelişir.

E.Başka bir hastalığa atfedilemez

4.2.Migren Patofizyolojisi

Migren patofizyolojisi uzun yıllar süren çalışmalar sonrasında ve son dönemlerde eklenen genetik çalışma verileriyle büyük oranda anlaşılmaya başlanmıştır. Harold Wolf'un 1952'de öne sürmüş olduğu 'vasküler teori'nin yerini günümüzde 'nörovasküler teori' almıştır. Vasküler teoride, migrende görülen aura fazının kranyal damarlardaki vazokonstriksiyona, başağrısı fazının ise vazodilatasyona ikincil geliştiği öne sürülmekteydi(37). Entegre nörovasküler teori ise, vasküler değişikliklerin nöronal olaylara bağlı oluştuğunu, migrendeki temel anormalliğin kortikal hipereksitabilite şeklindeki nöronal eksitabilite değişikliği olduğunu öne sürmektedir(29).

4.2.1.Aura Patofizyolojisi

Günümüzde, migren aurasının altında yatan mekanizmanın kortikal yayılan depresyon olduğu kabul edilmektedir. Kortikal yayılan depresyon kavramı ilk kez 1944 yılında Leo tarafından tanımlanmıştır(38). Leo, tavşan serebral korteksinde zararlı uyarılarla ortaya çıkan 2-3mm/dk. hızla yayılan kısa bir nöronal depolarizasyon dalgası ve arkasından gelen yavaşlamış elektriksel aktivite olduğunu göstermiştir. Olesen ve Lauritzen, SPECT kullanarak yaptıkları çalışmada, karotis anjiyografi ile atakları tetiklenen auralı migren hastalarında, oksipital polden başlayıp öne doğru yayılan oligemi dalgasını göstermişlerdir(35). Yayılan oligeminin herhangi bir vasküler alana uymaması ve yayılma hızının, 1941'de Lashley (39) tarafından kendi migren atağında ortaya çıkan fortifikasyon spektrumunun gelişme hızı (2-3mm/dk) ile ve Leo'nun tanımladığı kortikal yayılan depresyon hızı ile benzer olması, bu olayların birbiri ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Welch ve ark.'nın 1999'da yaptığı bir çalışmada, görsel stimulyonla migren atakları uyarılan hastalarda, fMRI-(BOLD) tekniği kullanılarak beyin kan akımı değişiklikleri incelenmiştir. Altı kontrol hastasının hiçbirinde başağrısı oluşmamış ve BOLD

sinyal değişikliği görülmemiştir. Altı MA ve iki MO hastasında, ataklar görsel stimülasyonla tetiklenmiş ve oksipital kortekste 3-6mm/dk hızla yayılan BOLD sinyal değişiklikleri gösterilmiştir(40). Hadjiakani ve ark.'ı spontan MA atağı olan bir hastada aynı teknikle, benzer kan akımı değişikliklerini göstermiştir(41). Woods ve ark.'ı ise bir kadın olguda, spontan migren atağının başlangıcından itibaren, PET (Pozitron Emisyon Tomografi) kullanarak, yayılan oligemiyi göstermiştir. Bu olguda kan akımı değişiklikleri iki taraflı ve oksipital bölgede başlamış ve öne doğru yayılım göstermiştir. Ancak aura olmaksızın, geçici görme bulanıklığı dışında oligemi ile ilişkili herhangi bir nörolojik defisit ortaya çıkmamış olması bu fenomenin sessiz de olabileceğini ortaya koymuştur(42). Bir başka çalışmada 19 MA hastasının, 28 migren atağı perfüzyon ağırlıklı görüntüleme kullanarak değerlendirilmiş, görsel defektin karşı tarafındaki oksipital bölgede görece azalmış kan akımı olduğu görülmüştür, ancak beynin diğer alanlarında kan akımı değişikliği saptanmamıştır. Difüzyon ağırlıklı görüntülemelerde de değişiklik gözlenmemiştir(43). Bu durum migrende iskemik olayların olmadığına işaret etmektedir. Oksipital korteksin magnetoensefalografi ve transkranyal magnetik stümülasyonu ile yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, saptanan iktal ve interiktal nöronal hipereksitabilitenin migrenli hastalardaki kortikal olayların başlamasında etkili olduğunu düşündürmektedir(44,45). Havyan modellerinde glutamat ve aspartat gibi eksitator nörotransmitterlerin yayılan depresyona yol açtığı gösterilmiştir(2). Migrenli hastalarda platelet ve BOS'ta artmış glutamat düzeylerinin saptanması, ve genetik çalışma sonuçlarından elde edilen veriler, glutamat salınmasında ve taşınmasındaki bir bozukluğun, nöronal hipereksitabiliteye yol açarak kortikal depresyon oluşumu ve yayılmasında çok önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir(29).

4.2.2.Başığrısı Patofizyolojisi

Trigeminal sinir, oftalmik dalı aracılığıyla pia, araknoid ve duramaterdeki damarları, intrakranyal damarların proksimalini yoğun bir biçimde innerve etmektedir. Trigeminal aksonların ve ağrı duyusunu algılayan reseptörlerin damar çevresindeki yerleşimi nedeniyle meninksler ve büyük damarlar ağrıya duyarlı olduğu halde, trigeminal innervasyondan yoksun olan beyin parankimi ağrı duyusuna hassas değildir. Küçük çaplı trigeminal sinir liflerinin bir kısmı aksonal dallanma nedeniyle hem pia-araknoid (orta serebral arter) hem de dural damarları (orta meningeal arter) innerve etmektedir.

Trigeminal sinirin periferik aksonlarının aktivasyonu ağrı duyusunu trigeminal gangliona ulaştırır. Trigeminal ganglionlara ulaşan ağrı duyusu da trigeminal sinirin santral aksonları aracılığıyla, sinirin ikinci nöronlarının bulunduğu ve bulbustan C2 seviyesine kadar uzanan trigeminal nukleus kaudalise (TNC) iletilir. Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu bir yandan da antidromik olarak, içerdiği nöropeptitlerin (CGRP, substans P, nörokinin A) perivasküler alana salınmasıyla vazodilatasyon, kan akımı artışı ve protein ekstravazasyonuna, yani nörojenik inflamasyona neden olur(46). Bu vazodilatasyon ve ödem perivasküler trigeminal aksonların daha fazla uyarılmasına ve beyin sapındaki trigeminal nükleusta *c-fos* ekspresyonuna yol açarak daha fazla ağrıya yol açmaktadır. Günümüzde migren modellerinde nörojenik inflamasyonun varlığı gösterilmiştir. Etkili bir tedavi edici ilaç olan triptanlarla nörojenik inflamasyon bloke edilebilmektedir(46). Ataklar arasında CGRP düzeylerinin yüksek bulunması da periferik trigeminal aktivasyonun bir göstergesidir. Ağrının TNC'den ön beyin bölgelerine iletilmesi sırasında beyin sapındaki çoklu sinaptik bağlantıları nedeniyle superior salivator nükleus uyarılmakta, ganglion piterigopalatinum ve ganglion otikum aracılığı ile parasempatik aktivasyonla NO(nitrik oksit) ve VIP(vazoaktif intestinal peptid) salınmakta ve bu yolla da vazodilatasyona neden olmaktadır. Ağrı duyusu TNC'den çıkarak beyin sapında orta hattı çaprazlayıp trigeminal lemniskus içinde talamusa ulaşır. Buradan da kortekse, birincil duyu merkezine (3,1,2 Brodman alanı) ve singulat kortekse ulaşır. Ağrıya eşlik eden affektif ve emosyonel durumdan ise parabrakial nükleus, talamusun intralaminar nükleusu, amigdala ve insüler korteksi içine alan farklı bir yolağın aktivasyonu sorumludur.

Beyin sapı yapılarının migren atakları sırasında aktive olduğu PET ve fMRG çalışmalarıyla gösterilmiş, bu bulgulara dayanarak beyin sapının migren ağrısının jeneratörü olabileceği de öne sürülmüştür(47,48). Trigeminovasküler nosiseptif uyarının akomodasyonunda, lokus seruleus ve dorsal rafe çekirdekleri gibi aminerjik beyin sapı çekirdeklerinin önemli rol oynadığı görüntüleme çalışmalarıyla ortaya çıkarılmıştır. Bu yapılar serebral kan akımını düzenleyebilmekte ve kortikal nöronal uyarılabilirliği etkileyebilmektedir. Yine bu yapıların trigeminovasküler sistemi dolaylı veya doğrudan etkilemesiyle de ağrının ortaya çıkabileceği bir ihtimal olarak görülmektedir(49). Ancak başka bazı ağrılı durumlarda da aynı beyin sapı bölgelerinde aktivasyonun gözlenmesi söz konusu bölgelerin migrene ne kadar özgül olduğunun sorgulanmasına neden olmaktadır.

Görüntüleme yöntemleri ile saptanan beyin sapı aktivasyonu ağrının modülasyonu ile daha ilişkili gibi görünmektedir.

Migren ağrısının üretiminden temelde iki mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir; bunlardan birincisi, meningeal damarlardaki nörojenik inflamasyon, ikincisi ise periferik ve santral trigeminal afferentlerin duyarlılaşmasıdır(46).

4.3.Kortikal Yayılan Depresyon

Kortikal yayılan depresyon (KYD) beyin korteksinin iritatif, zararlı uyarılara cevap olarak oluşturduğu bir fenomendir. Nöronal ve glial hücre popülasyonunu ilgilendiren santral sinir sistemine özgü bir olaydır. Tekrarlayıcı uyarılar verilerek KYD başlatılabilir ve in-vivo ve in-vitro deneysel modeller oluşturulabilir. İskemi ve travma gibi nörolojik olaylarda da rol oynadığı düşünülmektedir. KYD, ilk olarak tavşan korteksinde, kısa tetanik ve faradik uyarılarla oluşturulmuştur. Bunun dışında mekanik ya da kimyasal olarak da oluşturulabilmektedir(2). Önceki çalışmalarda kortikal yayılan depresyon dalgası EEG ile kaydedilirken, günümüzde ‘doğru akım ölçüm’ (DC) aletleri yaygın bir şekilde ve güvenilir olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda, kortikal yayılan depresyon dalgasının oluşumu ile ilgili olarak farklı varsayımlar öne sürülmüştür. Van Harreveld, 1953’de kortikal yayılan depresyon dalgasının, serebral damarlardaki vazokonstriksiyona sekonder iskemi ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür(50). Grafstein ise, 1956’da, interstisyel alanda birikmiş potasyumun ve bu iyonların difüzyonun nöronal depolarizasyon dalgasından sorumlu olabileceğini belirtmiştir. Serebral kortekse KCL damlatılmasıyla oluşturulan KYD modelleri bu görüşü desteklemektedir(51). Son olarak Van Harreveld, 12 yıl sonra, KYD’nun, potasyum ve glutamatın sorumlu olduğu iki farklı mekanizma ile oluşabileceğini öne sürmüştür(52). Kortikal yayılan depresyon dalgası temel olarak, hücre içi ve dışı iyon/ nörotransmitter dengesi ile ilişkilidir. Deneysel modellerde, kortekste iyon değişiklikleri ile KYD dalgasının daha kolay veya kendiliğinden oluşabileceği gösterilmiştir(2). Glial hücre popülasyonunun alttipi olan astrositler, iyonik denge, ekstrasellüler nörotransmitter düzeyleri ve enerji metabolizmasında yer alan laktat, glutamin, alanin gibi substratların nöronlara temin edilmesinde rol alırlar, dolayısıyla KYD oluşumu ve yayılımında önemli oldukları düşünülmektedir(2). Ekstrasellüler potasyum konsantrasyonları, yayılan depresyon sırasında ‘50mM’luk’ değerlere ulaşır, bu artış bir eksitasyon periyodu oluşturur, hemen arkasından

depolarizasyon, sonrasında da elektriksel olarak sessiz bir periyod oluşur. Potasyumun hücre dışına akışından sonra 'NaCl' ve su hücre içine girer. Kalsiyum, potasyumla birlikte, ancak daha yavaş olarak hücre içine geçer. Diğer iyonlar da kompartmanlar arasında yer değiştirerek ekstra-intrasellüler iyon dengesini sağlamaya çalışır ve yayılan depresyon dalgası bilinmeyen bir mekanizma ile sonlanır, nöronal aktivite normale döner. Kortikal yayılan depresyon dalgasının kortekste kan akımı değişikliklerine yol açtığı gösterilmiştir. Bu, önce kısa süreli bir hiperperfüzyon, sonrasında ise uzun süren bir hipoperfüzyon şeklinde olmaktadır. Sıçan modellerinde, yayılan depresyon esnasında kortikal kan akımının %30 kadar azalabildiği, ancak bunun iskemik hasar yapacak düzeylere ulaşmadığı gösterilmiştir(2). İlginç olarak tekrarlayıcı KYD'nun iskemiye tolerans oluşturarak beyni iskemik hasarlardan koruyabileceği öne sürülmüştür. KYD sırasında, meningeal arterlerde de kan akımı değişiklikleri olduğu gösterilmiştir. Hayvan modellerinde, beş dakikalık latansın ardından, meningeal kan akımının 20 dakika boyunca yavaş bir şekilde arttığı, bir saat sonra bazal değerine döndüğü görülmüştür(2).

Kortikal yayılan depresyon dalgasının migren aurasının altında yatan temel mekanizma olduğu günümüzde yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. FHM'de saptanan gen mutasyonlarının, hayvan modellerine uygulanması, ekstrasellüler alanda artmış potasyum ve glutamat düzeylerinin KYD'nu kolaylaştırdığını göstermiştir. Migren profilaksisinde kullanılan amitriptilin, B-bloker ve antiepileptik ilaçların, uzun dönem kullarımlarının KYD'nu baskıladığı da bugünkü bilgilerimiz arasındadır(18).

Bundan başka, yayılan depresyonun trigeminovasküler sistem aktivasyonu yolu ile migren baş ağrısının da altında yatan mekanizma olabileceği ileri sürülmektedir. Trigeminoasküler sistem aktivasyonu periferik sinir sonlamalarından CGRP, substans-P, nörokinin A gibi vazoaaktif peptidlerin salınmasına, bu da steril nörojenik inflamasyon oluşumuna yol açar. Santral nosiseptif bilgiler ortodromik olarak, trigeminovasküler liflerle trigeminal sinirin kaudal çekirdeğine taşınır ve burada santral nosiseptif işaretleyici olan c-fos ekspresyonuna yol açar. Deneysel çalışmalarda KYD'nun c-fos ekspresyonuna ve meningeal steril inflamasyona yol açtığı gösterilmiştir(53). Bir başka çalışma ise KYD'nun siklooksijenaz 2, proinflamatuvar sitokinler (TNF-alfa, IL-B), nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS) ve oksidatif strese rol alan birçok genin ekspresyonunu düzenlediğini

göstermiştir(2). Bu veriler, KYD'nun sadece migren aurasında değil, aynı zamanda migren baş ağrısının da altında yatan temel mekanizma olduğu düşüncesini güçlendirmektedir.

4.4.Migren ve Kortikal Eksitabilite

Migrenli bireylerde kortikal eksitabilite değişiklikleri olduğu farklı elektrofizyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. EEG, kortikal eksitabilite değişikliklerinin gösterilmesinde ilk kullanılan tekniklerden biridir. Primer baş ağrılarında tanısal değeri gösterilemeyen EEG'de genel olarak araştırmacılar, dört parametre kullanmışlardır. Bunlar zemin ritmi, fotik veya H-yanıtı, spektral analizle haritalama tekniği ve magnetoensefalografidir(54). Migrenli çocuk ve yetişkinlerde atak sırasında, zemin ritmi yavaşlaması bildirilmişse de bu genel bir kabul görmemiştir(55,56). Bir çalışmada, atakları diyetle tetiklenmiş migrenlilerin %32'sinde bir veya iki gün süren EEG anormallikleri saptanmıştır(57). Başka bir çalışmada nitrogliserin ile atakları tetiklenen migrenli hastalarda, sumatriptan verilmesi ile düzelen ritm bozuklukları saptanmıştır(58). Bir başka çalışmada ise non-spesifik EEG değişikliklerinin flunarizin ile baskılandığı gösterilmiştir(29). Migrenlilerde, artmış fotik veya H-yanıtın karakteristik olduğu, spektral analizlerle de desteklenmiştir. Ancak bu artmış yanıtın spesifitesi şüphelidir, çünkü diğer primer baş ağrılarında da görülebilmektedir. Kantitatif-topografik EEG tekniği ile yapılan beyin haritalaması çalışmalarında vizüel aurası olan çocuk ve yetişkinlerde unilateral alfa aktivitesinde baskılanma olduğu gösterilmiştir. Asimetrik alfa değişiklikleri özellikle atağın olduğu üç günlük dönemde daha belirgin olmuştur(73). Magnetoensefalografi çalışmaları, migrenlilerde büyük amplitüdlü dalgaları ve doğru akım kaymalarını (DC shift) ortaya çıkarmak için kullanılır. Bu elektromagnetik fenomenin benzeri kortikal yayılan depresyonun deneysel modellerinde de gösterilmiştir. Bir çalışmada atakları görsel stimülasyonla tetiklenmiş beş auralı migren hastasında, altı kontrol hastasında ortaya çıkmayan DC-MEG (shift) saptanmıştır(45). Bu teknik ayrıca, valproik asitin nöronal eksitabilite üzerine etkisini değerlendirmek için de kullanılmıştır. Benzer şekilde, görsel stimülasyonla auralı migren atakları uyarılan ve oksipital bölgede nöronal hipereksitabilite olduğu gösterilen hastalarda 30 günlük valproik asit tedavisinden sonra hipereksitabilitenin baskılandığı, ayrıca bununla uyumlu olarak migren ataklarında azalma olduğu gösterilmiştir(59). Bu çalışma, MEG'nin migrenli hastalarda tedavi öncesi ve sonrası nöronal eksitabilite durumunun non-invazif olarak değerlendirilebileceği sonucunu doğurmuştur(59).

Çeşitli paradigmlar kullanılarak yapılan VEP çalışmalarında, migrenli hastalarda anormal yanıtların varlığını göstermiştir. Özellikle amplitüd artışı bildirilen anormallikler arasındadır. Bir çalışmada B-bloker ile P100 amplitüdünde düşme olduğunu gösterilmiştir(60). Duysal auralı migrenli hastalarda yapılan SEP çalışmasında atak sırasında, yanıt amplitüplerinde düşme olduğu görülmüştür. Başka bir çalışma benzer bulguların interiktal dönemde de olduğunu göstermiştir. Ancak diğer çalışmalarda kontroller ve migrenli bireyler arasında bir fark bulunamamıştır(29).

Büyük bir hasta grubunda yapılan bir çalışmada, perikranial kaslarda EMG yapılmış, migrenli ve gerilim başağrılı hastalarda temporal kaslarda aktivite artışı saptanmıştır(61). Yine başka bir çalışma ile migrenli hastalarda da atak sırasında temporal ve sternokleidomastoid kaslarda artmış aktivite gösterilmiştir(62). Migrenlilerde nöromuskuler hipereksitabilite, iskemik egzersiz testi ile gösterilmiş ve pozitif EMG testi düşük magnezyum düzeyleri ile korele bulunmuştur(63).

Migren ve hipereksitabilite ile ilgili çalışmalarda kullanılan diğer bir non-invaziv teknik TMS'dir. Migrenlilerde hem motor korteks, hem de oksipital korteksle ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Motor korteksle ilgili çalışmaların birinde, auralı ve aurasız migrenli hastalar ve kontroller karşılaştırılmış, auralı migrenli hastalarda aura ile uyumlu tarafta motor eşiğin yüksek olduğu gösterilmiştir. Eşik farklılığı ile atak sayısı arasında bir ilişki bulunmamıştır(64). Diğer bir çalışmada ise, menstrüel migrenli hastalar ve kontroller kıyaslanmış ve migrenlilerde ilk çalışmaya benzer şekilde motor eşiğin yüksek olduğu bulunmuştur(65). Başka bir çalışmada iktal ve interiktal fazlar arasında fark gösterilememiştir(66). Aynı çalışmacılar FHM'li hastaları incelemişler ve auranın olduğu tarafta motor eşiğin daha yüksek olduğunu, ayrıca MEP(motor evoked-uyarılmış potansiyel) amplitüplerinin düşük, santral motor iletim zamanının uzamış olduğunu göstermişlerdir(67). Bu teknik aynı zamanda migrende kullanılan ilaçların kortikal eksitabilite üzerindeki etkisini değerlendirmek için de kullanılmaktadır.

Yüksek yoğunlukta stimülasyon ile yapılan farklı çalışmalarda, CSP (kortikal sessiz

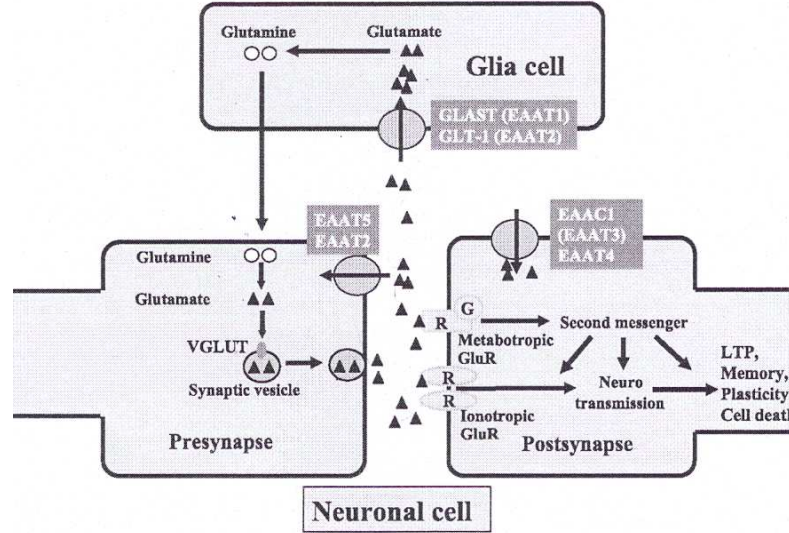
periyod-cortical silent period) migrenli ve kontroller arasında benzer bulunmuştur. Bir çalışmada, kronik migren, aurasız migren ve kontrol gruplarında, latans, amplitüd, eşik değerler ve CSP süresi değerlendirilmiş ve kronik migrenlilerde CSP'un kontrollere ve aurasız migrenlilere kıyasla daha uzun olduğu saptanmıştır. Diğer parametrelerde gruplar arası farklılık saptanmamıştır(118). Düşük yoğunluklu stimulus ile yapılan bir çalışmada auralı migrenlilerle, kontroller karşılaştırıldığında daha kısa CSP olduğu gösterilmiştir(68). CSP, aslında motor yolların santral inhibisyonunun ölçümüdür. Auralı migren hastalarında saptanan kısa CSP, santral inhibisyonun yetersiz olduğunu ve bu bireylerdeki kortikal eksitabilite artışının dolaylı kanıtı olabilir.

Migrende oksipital korteks eksitabilitesini değerlendiren çalışmalarda, oksipital kortekse TMS uygulanması ile fosfenlerin oluşumu arasındaki bağlantı incelenmiş, bir çalışmada auralı migrende, fosfen oluşumu için daha düşük eşik değerler olduğu bildirilmiştir(70). Bu çalışmayı takiben benzer teknikle yapılan diğer iki çalışmada, oksipital korteksteki hipereksitabiliteyi destekleyen bulgular doğrulanmıştır(71,72). Young ve ark.'nın yaptığı çalışmada aynı olgularda fosfen eşiklerinin tekrarlayan ölçümleri yapılmış, atak süresi ve menstrüel periyod üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir(73). Batelli ve ark.'ı, yaptıkları çalışmada, hareket algısında önemli bir görme alan olan V5'i değerlendirmişler, hem auralı hem de aurasız migren hastalarında, fosfen hareketinin induksiyonu için kontrollere göre, anlamlı olarak düşük magnetik alan kuvveti gerektiğini göstermişlerdir(74). Vizüel korteksin hipereksitabilitesi aynı zamanda repetitif TMS (rTMS) kullanılarak da gösterilmiştir. Bir çalışmada, 1Hz-rTMS kullanılarak, 15 dakika ara ile fosfen oluşum eşikleri ölçülmüş, normal kontrollerde tekrarlayan uyarımla, fosfen eşikleri artmış, tersine migrenli hastalarda eşik değerleri azalmış olarak bulunmuştur(75). TMS ile yapılan birçok çalışma subjektif verilere dayandığı için yorumlanması zordur. Oksipital korteks eksitabilitesinin değerlendirilmesi için daha objektif tekniklere ihtiyaç vardır. Bowyer ve ark.'ı, 148 kanallı MEG (magnetoensefalografi) kullanarak yaptıkları çalışmada, görsel olarak atakları tetiklenmiş auralı migren hastalarında, ilk beş dakika içinde yapılan ölçümlerde kontrollerde görülmeyen DC shift olduğunu saptamışlardır. Bu teknikle migren profilaktik tedavisinde kullanılan valproik asit ve topiramatin DC değişikliklerine etkisi de değerlendirilmiş ve bu ilaçların kortikal eksitabiliteyi baskıladıkları gösterilmiştir(76).

4.5.Migren ve Glutamat

Glutamat, santral sinir sisteminin en önemli eksitatör nörotransmitteridir. Bu nörotransmitter, etkisini iyonotropik ve metabotropik olarak sınıflandırılan reseptörleri üzerinden gösterir. İyonotropik reseptörler; ligand bağımlı iyon kanalları olan AMPA, NMDA ve kainat reseptörleridir. Hızlı sinaptik iletimden sorumludur. Metabotropik reseptörler ise yapısal olarak üç gruba ayrılır ve hücre içi süreçlerle ilgilidir. Yavaş iletimde rol alırlar. Glutamat reseptörlerin uyarılması, öğrenme ve hafıza gibi karmaşık süreçlerde ve sinaptik plastisitede rol oynarken, ekstrasellüler glutamatın artması ve reseptörlerin aşırı aktivasyonu nöronal hücre ölümüne yol açar. Glutamat eksitotoksitesi olarak bilinen bu fenomenin, iskemi, travma gibi akut nörolojik hastalıklarla, Alzheimer, ALS ve Huntington gibi kronik nörodejeneratif hastalıkların altında yatan mekanizma olduğu düşünülmektedir(31). Bu hastalıklar ve glutamaterjik nörotransmisyon ile ilgili oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Fizyolojik koşullarda glutamatın büyük kısmı hücre içinde bulunur, ekstrasellüler sıvıda bir milyon kat daha az miktardadır. Bu artmış konsantrasyon farkı, hızlı sinaptik nörotransmisyon sırasında, glutamat reseptörlerinin etkili uyarımı için gereklidir. Glutamat düzeylerinin, sinaptik yarıktaki makul düzeylerde tutulması için, ekstrasellüler alandan hızla uzaklaştırılması gereklidir. Glutamatı ekstrasellüler alanda metabolize edecek, inaktif haline dönüştürecek bir enzim bulunmamaktadır. Bu nedenle glutamatın sinaptik yarıktan uzaklaştırılması, özelleşmiş, taşıyıcı sistemler sayesinde gerçekleşir. Glutamat, konsantrasyon farkına karşı, aktif transport ile hücre içine taşınır ve bu transport, sodyum ve potasyumun elektrokimyasal gradiyenti ile yönetilir. Glutamat taşıyıcıları, hücre tipleri ve beyin bölgelerine göre farklılaşmış, 5 alt tipten oluşur. Bunlar, EAAT-1,2,3,4,5 olarak isimlendirilir. EAAT1, temel olarak serebellumdaki astrositlerde, kortekste ve daha az olarak da beyin sapında eksprese edilir. Bundan başka retina ve periventriküler yapılarda bulunur. EAAT2, frontal bölgedeki astrositlerde, EAAT3, bazal ganglia, hipokampus, serebellumdaki nöronlarda, EAAT4, serebellumun moleküler tabakasındaki purkinje hücrelerinde, EAAT5 ise, retinada fotoreseptör ve bipolar hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur. Glutamat geri alım süreci çok farklı mekanizmalarla düzenleniyor gibi görünmektedir. Bunlar arasında EAAT1 geninde transkripsiyonel kontrol, transporter moleküllerinin membran translokasyonu ve fosforilasyon gibi posttranslasyonel

modifikasyon olası regülasyon mekanizmaları olarak gösterilmiştir(77).



Şekil 1. Eksitator nörotransmisyon mekanizması ve glutamat taşıyıcıları. (Y. Shigeri ve ark. Brain Research Reviews, 2004;45:250-265)

4.6.Migren ve Genetik

4.6.1.Genetik Epidemiyolojik Çalışmalar

4.6.1.1.Pozitif aile öyküsü

Bir hastalıkta aile öyküsünün olması o hastalığın genetik olarak aktarıldığına dair ilk ipucudur. 17. yy başlarında Willis ve ark. migrenin kalıtılan bir hastalık olduğuna dikkati çekmişti. Yapılan sayısız çalışma ile migrenli probandlarda, pozitif aile öyküsü yaklaşık %37 ila %91 arasındaki değişen oranlarda bildirilmiştir. Migreni olmayan probandlarda ise bu oran %5-26 olarak saptanmıştır(6). Prevalansın çok yüksek olduğu bir hastalıkta pozitif aile öyküsünün basit bir tesadüf olabileceğini düşünen otörler de vardır(5).

Yapılan çalışmalarda, rölatif ailesel risk artışı 1.5-19 gibi çok değişik oranlarda saptanmıştır. Çalışmalardaki metodolojik farklılıklar bunun nedeni olarak gösterilmektedir. IHS tanı kriterlerinin kullanıma girmesinden sonraki çalışmalar kuşkusuz daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Russel ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 193 migrenli proband (121 MO, 72 MA) IHS tanı kriterlerine göre seçilmiş, genel popülasyonla karşılaştırıldığında

MO'lu probandların 1. derece akrabalarında MO görülme riski 3.0 kat MA'lı probandların birinci derece akrabaları için ise MA ve MO görülme riski 2.0 kat artmış olarak bulunmuştur(78). Olgu sayısını yetersiz bulan çalışmacılar daha büyük bir hasta grubunda (n=378) birinci derece akrabalar ve probandların eşlerinde risk belirlemesi yapmışlar. MO için 1.9 kat artmış risk saptanırken MA'da bu 4.0 kat olarak saptanmıştır. Bu çalışmada ilginç bir bulgu da, aynı çevrede yaşayan, fakat farklı genetik özellikler taşıyan probandların eşlerinde, MO için 1.5 kat artmış risk bulunurken MA'de risk artışı bulunmamıştır. Bu bulgu MO'da genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı, MA'da ise genetik faktörlerin daha etkili olduğunu düşündürmektedir(79).

Stewart ve arkadaşları 1997'de yaptıkları çalışmada 73 migrenli probandin akrabalarında migren görülme sıklığını araştırmışlar ve sonuçları, Russel ve ark.'nın çalışma sonuçları ile karşılaştırmıştır. Yapılan analizde MA ve MO için genetik faktörlerin %50 oranında etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

4.6.1.2.Migren ve İkiz Çalışmaları

İkizlerde konkordans çalışmaları genetik faktörlerin hastalığındaki rolünü belirlemek için çok klasik ve kullanışlı bir metoddur. Migrenlilerde yapılan konkordans çalışmalarının hepsinde monozigotik ikizlerde konkordans hızı anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur(80). Danimarka'da yapılmış 2680 olgunun seçildiği büyük bir çalışmada, konkordans hızı aurasız migren için, monozigotik ikizlerde %28, dizigotik ikizlerde %18, auralı migren için ise, sırasıyla; %34 ve %12 olarak saptanmıştır. Monozigotik ikizlerdeki konkordansın %100 olmaması, ancak dizigotik ikizlerden anlamlı olarak daha yüksek olması genetik faktörlerin önemli rol oynadığını, ama basit Mendelian kalıtımın olmadığını düşündürmektedir(81). İkiz çalışmalarında Ziegler ve arkadaşları, doğum sırasında ayrılmış, farklı çevrede büyümüş monozigotik ikizlerde migren oluşmasının, yanında atak başlangıç yaşlarının da aynı olması gibi ilginç bir veri saptamışlardır(82).

4.6.1.3.Migrende Kalıtım Modeli

Migrenin geçiş modeli ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Aile ağacının gözleminden segregasyon analizine kadar yapılan çalışmaların çoğu çelişkili sonuçlar vermektedir ve migren için tüm kalıtım modellerini düşündürmektedir.

Üç büyük segregasyon analizine dayalı çalışmadan biri olan, Devoto ve ark.'nın yaptığı 128 migrenli probandin seçildiği anket tabanlı çalışmada, basit otozomal dominant ve resesif geçiş modelini dışlayarak migrenin genetik heterojenite gösterdiği sonucuna varılmıştır(83). Diğer bir segregasyon analizine dayalı 46 probandin alındığı çalışmada, maternal ve X'e bağlı geçiş dışlanırken, MA ve MO'nun her ikisi için otozomal resesif kalıtım modeli olduğu gösterilmiştir. Kalfakis ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise, migrendeki kalıtım modelinin büyük olasılıkla multifaktöriyel olduğu düşünülmüştür(84). Multifaktöriyel kalıtım modelini destekleyen birkaç çalışma daha yapılmış ancak, otozomal dominant kalıtım dışlanamamıştır(85).

Kalıtım modeli ile ilgili yapılan çalışmaların çelişki sonuçlar vermesi hastalığın yaygın görülmesi ve çok farklı klinik alt grupların bulunması olabilir. Tüm bu çalışma sonuçları değerlendirildiğinde migrende multifaktöriyel kalıtım modeli veya düşük penetranslı otozomal dominant kalıtım modeli olduğu söylenebilir(86).

4.6.2.Migren ve Moleküler Genetik

4.6.2.1.Migrende Linkage (bağlantı) Çalışmaları

Linkage (bağlantı) analizi temel olarak iki veya daha fazla genetik loküsün birbirine olan yakınlığını araştırmak için kullanılır. Linkage analizi için hastalığın kalıtım modelinin kesin olarak bilinmesi gerekir. Genellikle üç kuşaklı aileler tercih edilir. Eğer otozomal resesif kalıtılan bir hastalık haritalanmak isteniyorsa, örnekler, taşıyıcı anne ve baba ile tüm çocuklardan, otozomal dominant kalıtılan bir hastalık söz konusu ise hasta bireyler, eşleri ve tüm çocuklardan oluşmalıdır. Değerlendirmede LOD (logarithm of odds ratio) skor analizi kullanılır. LODs linkage saptanma olasılığının, saptanmama olasılığına oranının logaritmik değerde ifadesidir. LODs '3' ve üzerinde ise bağlantıyı desteklemesi açısından anlamlı kabul edilir, '-2' ve altındaki değerler ise kesin olarak bağlantı yokluğunu gösterir. Bu analizde bulunan değer bir olasılık değeridir, hastalıktan sorumlu gen veya gen mutasyonu gösterilene kadar loküs bilgisi yanıtıcı olabilir.

4.6.2.1.1.Genom Tarama Çalışmaları

Günümüze kadar yapılmış genom tarama çalışmaları ile migrenle bağlantılı olabilecek bir çok lokus identifiye edilmiştir. Ancak bu bu lokuslardaki hastalığa neden olabilecek gen değişiklikleri henüz saptanamamıştır. 50 Fin'li ailede yapılmış büyük bir çalışmada 4q24 lokusu auralı migrenle bağlantılı bulunmuştur(27). Bu kromozom lokusu ile bağlantı daha sonra 103 İslanda'lı ailede yapılan çalışma ile doğrulanmıştır. 43 Kanada'lı ailede yapılan yine büyük bir çalışmada MA için 4q24 lokusu ile bağlantı saptanmamış, onun yerine 11q24 lokusu ile oldukça anlamlı linkage gösterilmiştir(26). İki küçük çalışmada ise bir İsveç ailesinde MA ve MO için 6p12.2-p21.1(24), bir İtalyan ailede MO için 14q21.2-q22.3 lokusu ile bağlantı gösterilmiştir(25). Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada, migren hastaları farklı bir yaklaşımla sınıflandırılmış, temel olarak hastalığın şiddeti gözönünde buldurulmuştur. Sonuç olarak, 18p11 lokusunun ve kromozom 3'ün şiddetli migren fenotipi, ve kromozom 5q212in zonklayıcı başağrısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. 18p11 lokusunun daha önce MO ile bağlantısı gösterilmişti. Bu bölgede miyoinositol fosfotaz geninin migrenle ilişkili olabileceği ileri sürülmüşse de henüz bir mutasyon saptanamamıştır(87).

4.6.2.1.2.Aday Bölge Linkage Çalışmaları

Aday bölge linkage çalışmalarında, bugüne kadar, üç farklı lokus ile bağlantı gösterilmiştir.(19p13,Xq24-28,1q31). Bunlardan 19p13 lokusu FHM2den sorumlu CACNA1A genini taşıması açısından önemlidir. MA ve MO için bu genle ilgili yapılmış çalışmalar çelişen sonuçlar vermektedir(88). Son yıllarda, 16 MA'lı ailenin alındığı bir çalışmada 19p13 lokusu ile bağlantı araştırılmış, 13 ailede CACNA1A bölgesine çok yakın bir bölgede bağlantı saptanmıştır(89). İnsülin reseptör geninde oldukça geniş bir hasta-kontrol grubu örneğinde saptanan tekli nükleotid değişimleri, bu bölgedeki hastalıktan sorumlu genin İnsülin reseptör geni olduğunu düşündürmüş, ancak saptanan nükleotid değişimlerinin genin işlevinde bir değişikliğe yol açmadığı gösterilmiştir(90).

Linkage çalışmalarında saptanan lokusların çeşitliliği, migrenin genetik heterojenitesini yansıtır, ya da sınıflandırmanın yetersiz kaldığını gösteriyor olabilir. Bu

nedenle migrenle ilgili yapılan genetik çalışmalarda alt grupların çok iyi belirlenmesi gerekmektedir(91).

4.6.2.2.Migrende Assosiyasyon(iliskilendirme) Çalışmaları

Gen haritalamada kullanılan diğ er bir metod da ilişkilendirme çalışmalarıdır. Kompleks hastalıklarda hipotez oluşturmakta büyük zorluklar yaşanır. Ayrıca her zaman birkaç kuş ağı bir arada bulmak zordur. Bu durumlarda parametrelerden bağımsız olan assosiyasyon çalışmaları yapmak en uygundur. İlişkilendirme çalışmalarında kalıtım modelinin bilinmesine gerek yoktur, ailelerden ziyade vaka ve kontrol gruplarına ihtiyaç vardır. Ancak bu tür çalışmalarda örnek sayısının çok yüksek olması gereklidir ve maliyetleri oldukça yüksektir. Bu metod polimorfik bir genetik işaretleyicinin, alel frekans sıklığının hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması esasına dayanır. Bir toplumda farklı gen dizilimleri belirli bir sıklıkta bulunuyorsa buna o genetik lokusun polimorfizmi denir. Eskiden iyi huylu oldukları düşünölen polimorfizmlerin son yıllarda yapılan çalışmalarda hastalık fenotipini etkilediğı gösterilmiştir. İlişkilendirme çalışmalarında hastalık patogenezinde rol oynayan ve polimorfizm gösteren protein belirlenerek, bu polimorfizmin yatkınlık geni içinde bulunup bulunmadığına bakılır. Ancak bu çalışmalar genin doğrudan hastalıkla ilişkili olduğunu göstermez ve etnik farklılıklardan çok etkilenir.

Literatürde polimorfizm çalışmaları ile ilgili inanılmaz bir bilgi yoğunluğu bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, migrenle ilişkili bir çok gen polimorfizmi saptanmış, buna karşın bu genlerin az bir kısmı sonraki çalışmalarda doğrulanabilmiştir(90).

Migren ve Dopamin:

Migren patogenezinde santral dopamin hipersentivitesinin rolü olduğu öne sürölmektedir. Migrenlilerle sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında dopamin reseptör aktivitesi için eşik değerlerin düşük olduğu ve lenfositlerde dopamin reseptör ekspresyonunda artış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca, plateletlerde dopamin düzeyinin migrenlilerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir(4). Dopamin reseptör gen polimorfizmleri migrenli hastalarda bir çok defa çalışılmıştır. Peroutka ve ark. 1997'de 129 migrenli hastada D2 reseptör genin (DRD2) Nco I allelinin MA'ya yatkınlıkta rolü olduğunu göstermiştir(92). Dichgans ve ark.'ı ise 1998'de küçük bir Alman grupta bu ilişkiyi saptayamamışlardır. Del Zompo 1998'de, 50 MO'lı ailede yaptığı bir çalışmada

dopaminerjik semptomların yoğun olduğu (esneme, bulantı-kusma) grupta DRD2 geni ile ilişki olduğunu göstermiştir(93). Son olarak Mochi ve ark.'nın yaptığı çalışmada D4 reseptör geni (DRD4) ile ilişki saptanmıştır. Diğer çalışmalarda ise ilişki bulunmamıştır(90). Migrenle ilişkili olduğu gösterilen, dopamin yolunda rol oynayan genlerden bir diğeri de dopamin beta hidroksilaz genidir. 2000 yılında Lea ve ark.'ı, 82 migrenli ailede dopamin beta hidroksilaz gen polimorfizminin MA ve MO ile ilişkili olduğunu göstermiştir(94).

Migren ve serotonin:

Migren patofizyolojisinde önemli rolü olduğu düşünülen bir diğeri nörotransmitter de serotoninidir. Serotonerjik sistemle ilgili genler migrende çok fazla çalışılmıştır. büyük kısmı negatif sonuçlanmıştır. Erdal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 61 hasta (MA+MO) ve 41 sağlıklı kontrolde 5HT2A gen polimorfizminin migrenle ilişkisi araştırılmış ve anlamlı ilişki saptanmıştır(95), ancak büyük olgu sayısı ile yapılan başka bir çalışmada bu veri doğrulanamamıştır(96). Diğer serotonin reseptör alt gruplarıyla yapılan çalışmalarda da (5HT1B/1D, 5HT2C) herhangi bir ilişki gösterilememiştir(90). Serotoninin ekstrasellüler alandan serotonerjik nöron ve trombositlere taşınmasını düzenleyen serotonin transporter genindeki polimorfizmlerin migrenle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır(90).

4.6.2.3.Migren ve diğer sorumlu genler:

Migrenlilerde vasküler değişiklikler bilinmektedir. Vasküler fonksiyonlarda görev alan genlerin migrene yatkınlıkta rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bunlardan en önemlisi metiltetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) genidir. MTHFR metionin ve homosistein metabolizmasında rol alır. Homosisteinin plazma düzeyleri vasküler hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. Ancak bunun neden mi, yoksa sonuç mu olduğu pek bilinmemektedir. Son yıllarda yapılan bir meta-analizde MTHFR C677T mutasyonu taşıyan bireylerde artmış homosistein düzeyleri ile birlikte anlamlı olarak vasküler hastalık riskinde artış olduğu görülmüştür(91). Kowa ve ark. MTHFR C677T mutasyonu ile migren ilişkisini, özellikle de MA alt tipinin ilişkisini ortaya koymuş(97), Kara ve ark.'ı ise yaptıkları çalışmayla bunu doğrulamışlardır(99). Scher ve ark.'ı, 2006'da yayınladıkları, büyük bir vaka grubunda (n=1625) yaptıkları çalışmada, MTHFR C677T mutasyonun migrenle ilişkili olduğunu bulmuşlardır(98). Diğer vasküler genlerden anjiotensin konverting enzim (ACE) ve endotelin tip A reseptör geni ile yapılan çalışmalar da pozitif sonuçlanmıştır(90).

Bunların dışında migrenle ilişkili olduğu gösterilen aday gen çalışmalarında TNF, INSR (insülin reseptör), GST (glutasyon sentetaz), LDLR genleri bulunmaktadır. ApoE, iNOS, cNOS genleri ile yapılan assosiasyon çalışmaları negatif sonuçlanmıştır(90).

4.6.2.4.Familial Hemiplejik Migren ve Genetik

Familial hemiplejik migren genetik olarak heterojen bir hastalıktır. Şu ana kadar bu hastalıkla ilgili üç farklı gende çok sayıda mutasyon saptanmıştır. Genetik olarak FHM, üç grupta sınıflandırılmaktadır.

FHM I

İlk FHM geni 1996 yılında bulunan CACNA1A genidir. Bu gen daha önce FHM ile bağlantısı gösterilen kromozom 19p13'de lokalizedir. CACNA1A nöronal voltaj kapılı kalsiyum kanalının (veya P/Q tipi kalsiyum kanal) alfa-2 alt tipini (Cav2.1) kodlamaktadır. CACNA1A geninde saptanan ellinin üzerinde mutasyon çok farklı klinik fenotiplerle ilişkili bulunmuştur. Bunlar arasında epizodik ataksi tip-2, spinoserebellar ataksi tip-6, bazı epilepsi tipleri ve mental retardasyon bulunur(100).

Cav2.1 kanalları, presinaptik terminaller ve somotodendritik membranlar üzerinde yerleşmiştir. Kalsiyum akımını düzenleyerek, nörotransmitter salınımının kontrolünde rol alır. Cav2.1 kanalları migren patogenezinde önemli olan serebral korteks, trigeminal ganglia ve beyin sapında yüksek oranda eksprese edilmektedir. Bundan başka yüksek oranda serebellumda eksprese edilir. Bir çok CACNA1A mutasyonu nöronal veya non-nöronal hücre modellerinde bazı elektrofizyolojik yöntemlerle analiz edilmiştir. Hücresel modellerde FHM1 mutasyonlarının, kalsiyum akımında dolayısıyla da nörotransmitter salınımında artışa yol açtığı gösterilmiştir(114). Transgenik fare modellerinde, FHM1 R192Q mutasyonunun, Ca akımında artış, artmış bazal ve uyarılmış nörotransmitter salınımı ve KYD için azalmış eşik düzeyine yol açtığı gösterilmiştir. KYD için eşik düzeyi dışı farelerde daha düşük bulunmuştur. Mutasyonu homozigot taşıyan farelerin fenotipinin daha ağır olduğu görülmüştür. Yine fare modellerinde Cav2.1 gen delesyonu şiddetli serebellar ataksi ve distoni ile sonuçlanmıştır. Bu kanalların eksitator aminoasit glutamat salınımı ve 5-

hidroksitriptamin salınımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (şekil 2). Knock-in fare modelleri (tottering, leaner, rocker gibi) ile yapılan çalışmalarda ise serebellar nöronlarda artmış kalsiyum akım yoğunluğu, artmış nöromusküler transmisyon, kortikal yayılan depresyon için azalmış eşik bildirilmiştir(105,106,113,114,118)

FHM 2

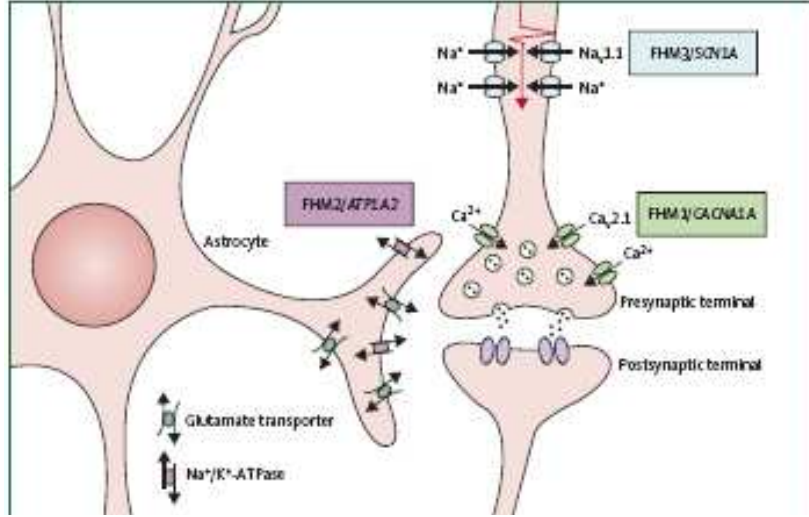
FHM'den sorumlu olduğu gösterilen ikinci gen kromozom 1q23'de lokalize Na-K ATPaz genidir. Na-K-ATPaz alfa-2 alt ünitesi erişkinlerde yoğun olarak astrositlerde bulunmaktadır. Ekstrasellüler alandaki potasyum ve glutamatın geri alımında rol alır. ATP1A2 geni, astrositlerden Na⁺/K⁺-ATP α 2 subunit ekspresyonunu kodlar. EAAT1 ve EAAT2 aracılığı ile sinaptik yarıktan glutamat gerilimini için gerekli olan ekstrasellüler potasyum temizlenmesini ve bir sodyum gradientini sağlar. Mutasyonlar glutamat ve potasyum iyonlarının temizlenmesini yavaşlatır (şekil 2).

FHM2'de eşlik eden epilepsi, mental tutulum ve serebellar bulgular sık olarak bulunur. %87 penetrans bildirilen, bir fenotip analizi yapılan çalışmada D718N mutasyonu sık ve uzun süreli hemiplejik migren ataklarına yol açmakta, P979L ise tekrarlayan komaya neden olmaktadır. D718N ve P979L mutasyonlarının her ikisinin de nöbet ve mental retardasyonla ilişkili olduğu görülmüştür. FHM2'de ayrıca anjiyografi ve egzersiz ile tetiklenme, ve atipik aura fenomenleri bildirilmiştir(105,106,113,).

FHM 3

Bu her iki gende de mutasyon bulunamayan ailesel hemiplejik migren olgularında Dichgans ve arkadaşları SCN1A nöronal voltaj kapılı sodyum kanalının alfa-1 alt ünitesinde FHM3'e neden olan bir mutasyon belirlemiştir. Nöronal voltaj kapılı sodyum kanalları, aksiyon potansiyellerinin oluşumu ve yayılmasında önemli rol oynarlar. Bu genle ilgili yüzün üzerinde mutasyon bazı epilepsi sendromlarında bildirilmiştir. 2005'te üç Alman FHM ailesinde Q1486K mutasyonu, sonrasında güney Amerika'lı bir ailede L1649Q mutasyonu bulunarak SCN1A ve FHM ilişkisi gösterilmiştir(18). Büyük ailelerde yapılan mutasyon taramalarında SCN1A geninin nadir olarak FHM'den sorumlu olabileceği bildirilmiştir. SCN1A-null farelerde ataksi geliştiği ve doğduktan 15 gün sonra öldükleri gözlenmiştir. Heterozigot fare modellerinde ise epilepsi ortaya çıkmış, bunlarda 21 gün

içinde yaşamlarını kaybetmişlerdir(90). Bu fonksiyonel çalışmalar SCN1A geninde saptanan mutasyonun fonksiyon kazanımı mutasyonu olduğunu, kortekste hipereksitabilite artışı ve nörotransmitter salınımı artışına (şekil 2) yol açtığını düşündürmektedir(89,90).



Şekil 2. Familial hemiplejik migrendeki gen mutasyonlarının nörotransmisyon üzerindeki etkileri(Wessman ve ark, Lancet Neurology ,2007;6:521-532).

4.6.2.5.Migren genetiğindeki son veriler

Populasyon temelli bir çalışmada Danimarka'lı 44 FHM'li ailenin üçünde, CACNA1A gen C1369Y mutasyonunun hastalıktan sorumlu olabileceği bildirilmiş, üç ailede ATP1A2 mutasyonları (V138A,R202Q,R763C) saptanmış, ancak fonksiyonel çalışma henüz yapılmamıştır(117). İki kızkardeşte ise CACNA1A geninde A454T mutasyonu saptanmıştır. Kardeşlerden birinde erken başlangıçlı progresif ataksi, diğerinde epizodik vertigo ve migrenöz baş ağrısı bulunmaktadır. Ancak kontrollerin %2'de aynı varyasyon saptandığından bu mutasyonun hastalığa yol açıp açmadığı belirsizdir(102).

Son bir yıl içinde, FHM2 geninde (ATP1A2) 11 yeni mutasyon bildirilmiştir. Bunların dördü (R65W, I286T, T415M, R763C), pür FHM'li hastalarda saptanmıştır(18). İki mutasyon (V138A, R202Q), paroksizmal serebellar ataksi ile ilişkili iken, psikiyatrik ve mental problemleri de olan küçük bir Portekiz ailesinde 'V362E' ve 'P796S' mutasyonları saptanmıştır(103). İnme benzeri uzamış hemipleji atakları olan genç bir hastada R1002Q

mutasyonu bildirilmiştir(104). G900R mutasyonu büyük bir Belçika'lı FHM ailesinde saptanmış, mutasyon taşıyan 9 olgunun dördünde ateş, meningismus ve koma ile giden atipik ataklar, ikisinde migren olmaksızın epileptik nöbetler, üçünde ise ise migren ataklarından bağımsız epileptik nöbetler tanımlanmıştır. Epilepsi ile birliktelik ve şiddetli FHM atakları daha önce özellikle FHM2 alt grubunda bildirilmiştir(105). Yine büyük bir İrlanda'lı ailede yapılan çalışmada 39 hastanın 20'sinde D999H mutasyon taşıyıcılığı saptanmış, bunların beşinde nistagmus ve tremor gibi serebellar bulgular, altısında febril konvülsiyon veya nöbet, birinde ise mental retardasyon bildirilmiştir(106).

Aday gen çalışmaları şu ana kadar çok sayıda yapılmış olmasına karşın örnek sayısının az olması, migren alt tiplerinin iyi belirlenememesi, sonraki çalışmalarla doğrulanmaması gibi nedenlerle eldeki veriler çok kısıtlı kalmıştır. Şimdilerde hemokromatozis (HFE), adenosin reseptör-tip2 (A2AR), triptofan hidroksilaz (TPH), matriks metaloproteinaz-3 (MMP3) ve ACE (angiotensin converting enzyme) gen polimorfizmlerinin migrenle ilişkili olduğu bildirilmektedir(107,108,109,110). Ayrıca daha önce yapılan assosiasyon çalışmalarını doğrulamak amacıyla çok sayıda serotonin ve dopamin yolağı ilgili çalışmalar yapılmaktadır, ancak şu ana kadar çok az sayıda çalışma pozitif sonuç vermiştir(117).

Fernandez ve arkadaşları kromozom 1q23'de lokalize 6 aday gende (ATP1A4,CASQ, KJNJ9, KJNJ10, FasL, CACNA1E) yaptığı polimorfizm çalışmasında herhangi bir ilişki bulamamıştır(111). İki büyük assosiyasyon çalışması (toplam 1547 hasta-15552 kontrol) 15q11-q15'de lokalize olan GABA-reseptör kompleks geni ile auralı migren arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir(112,113).

Migren bazı monogenik hastalıkların bir parçası olabilir. Örneğin subkortikal enfarkt ve lökoensefalopati (CADASIL) hastalarının %33 gibi önemli bir kısmında auralı migren bulunmaktadır. CADASIL hastalarında Notch3 gen mutasyonları saptanmıştır(117). Notch3 reseptör küçük arter ve arteriollerde vasküler düz kasların fonksiyonda rol oynar. Bu migrenin vasküler komponentinin açıklamakta önemli olabilir. Migren ayrıca diğer küçük damar hastalıkları ile de birliktelik gösterebilir. COL4A1 mutasyonu bulunduran infantil hemiparezi vakalarında auralı migren görülme sıklığının yüksek olduğu bildirilmiştir. COL4A1, vasküler membranın integral komponentinde bulunan tipIV kolajeni kodlamaktadır(117). Son zamanlarda otozomal dominant retinal vaskülopati ve serebral

lökodistrofli hastalarda (RVCL) TREX1 mutasyonu saptanmıştır(114). RVCL retinal vaskülopatiyeye sekonder, progresif vizyon kaybı ile karakterize nörovasküler bir hastalıktır. Görme kaybına serebral enfarkt, vasküler demans, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında bozulma eşlik eder. TREX1 memeli hücrelerinde oksidatif strese yanıt olarak eksprese edilir. Ek olarak bazı otoimmün hastalıklarla ilişkili olarak da bu gende mutasyonlar bildirilmiştir(117). Bu mutasyonun da migrenin vasküler komponentinin açıklanmasında önemli olabileceği düşünülmektedir(117).

Jen ve ark.'ı CACNA1A ve ATP1A2 mutasyonu saptanmayan, epizodik ataksi (EA) ve hemiplejik migrenli hasta popülasyonunda glutamat taşıyıcı olarak bilinen EAAT1'i kodlayan SLC1A3 geninde mutasyon taraması yapmışlar ve nöbetleri de olan bir hastada, 1047C>G heterozigot mutasyonu saptamışlardır. Ayrıca bu mutasyonun sinaptik yarıktan glutamat geri alımının azalmasına yol açtığı göstermişlerdir. Yazarlar, SLC1A3 genindeki mutasyonun nöronal eksitabilite artışına yol açarak olgudaki hemiplejik migren, epilepsi ve epizodik ataksi kliniğinden sorumlu olabileceğini ileri sürmektedir(28).

Sporadik hemiplejik migren

Hemiplejik migren sporadik olarak da görülebilmektedir. Genetik çalışmalar, FHM genlerindeki mutasyonların sporadik hemiplejik olgularında da görülebileceğini göstermiştir(115).

Son yıllarda, sporadik hemiplejik migrende 7 yeni ATP1A2 mutasyon (Y9N, E120A, E492K, N717K, P786L, R834X, R908Q) bildirilmiştir(117). Her üç FHM geni için, 39 iyi tanımlanmış pür SHM hastasında yapılan genetik analizde; bir CACNA1A mutasyonu (R583Q), beş farklı ATP1A2 mutasyonu (E120A, E492K, P786L, R834X, R908Q) bulunmuştur(115). Fonksiyonel elektrofizyolojik çalışmalarla R583Q mutasyonunun Ca kanal anormalliklerine yol açtığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, SHM hastalarının %15'nin FHM ile ilgili mutasyonları taşıdıkları gösterilmiştir(115).

GEREC VE YÖNTEMLER

Hasta ve sağlıklı kontrol olgularının seçimi:

DEUTF Nöroloji A.D, başağrısı polikliniğinde takip edilmekte olan ve genetik çalışma için onam formunu imzalamış, 14 auralı migren hastası ve gönüllü 10 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastalarda, IHS'nin auralı migren kriterlerini karşılaması, ek nörolojik hastalığın veya ciddi sistemik hastalığın bulunmaması, ayrıca görüntüleme yöntemleri ile semptomatik migrenin dışlanmış olması göz önünde bulunduruldu.

Kontrol grubu: 10 gönüllü sağlıklı kontrol denek . Bu çalışma için onam formu alınmış deneklerden 5-10ml.periferik kan örneği alındı.

Hasta grubu: ICHD-II (2004) Auralı migren kriterlerini karşılayan 14 hasta. Bu çalışma için onam formu alınmış hastalardan 5-10ml periferik kan örneği alındı.

Çalışmaya alınma kriterleri

1.ICHD-II (2004) sınıflamasına göre auralı migren kriterlerini(39) karşılama

Auralı Migren (Klasik Migren, MA) tanı kriterleri

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

Tanı Ölçütleri:

A.B ve D ölçütlerini dolduran en az 2 atak olmalı

B.Aşağıdakilerden en az birini içeren motor güçsüzlük olmayan aura

1. Tamamen geri dönüşümlü pozitif ve/veya negatif görsel semptomlar
2. Tamamen geri dönüşümlü pozitif ve/veya negatif duysal semptomlar
3. Tamamen geri dönüşümlü disfazik konuşma bozukluğu

C.Aşağıdakilerde en az ikisi

- 1.Homonim vizüel semptomlar ve/veya unilateral duysal semptomlar
- 2.>5dk. Sürede basamaklı gelişen ve/veya ardı sıra oluşan farklı aura semptomları
- 3.Her bir semptom 5-60dakikada sonlanır

D.1.1 Aurasız migren kriterlerini karşılayan başağrısı aura sırasında ya da aurayı takiben 60 dakika içinde gelişir

Aurasız Migren (yaygın migren, MO) tanı kriterleri:

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

Tanı Ölçütleri:

A. B-D ölçütlerine uyan en az 5 atak varlığı

B. 4-72 saat süren baş ağrısı atakları (tedavi edilmiş olsun ya da olmasın)

C. Baş ağrısı atakları aşağıdaki özelliklerden en az ikisini taşımalıdır:

1. Tek taraflı

2. Zonklayıcı özellikte

3. Orta ya da ağır şiddetli

4. Fiziksel aktivite ile artma veya fiziksel aktiviteden kaçınmaya neden olma

D. Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az birisi bulunmalıdır

1. Bulantı ve /veya kusma

2. Fotofobi ve fonofobi

E. Başka bir hastalığa atfedilemez

2.18-55 yaşında olma

Çalışmaya alınmama kriterleri

1. ICHD-II (2004) sınıflamasına göre auralı migren kriterlerini karşılamamak

2. 18 yaşından küçük, 55 yaşından büyük olma

3. Eşlik eden başka tipte başağrısı olması

4. Eşlik eden başka bir nörolojik (ALS, Epilepsi, Alzheimer, MS vs.) psikiyatrik (Bipolar bozukluk, Şizofreni vs.) ya da ciddi sistemik hastalığın olması

5. Çalışmaya uyum gösterememe

Genetik Analiz

Gen mutasyon taramasının yapılması için çalışmaya katılmayı kabul etmiş ve genetik analizlerin yapılması için hasta onay formunu imzalamış, sağlıklı bireylerden ve hastalardan EDTA'lı tüpe 5 cc (Hemogram tüpü 2 adet, her biri 2.5 cc) periferik kan alındı. Genetik analiz Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları A.D. Moleküler Tıp Laboratuvarında yapıldı.

Toplanan periferik kan örneklerinden, her defasında 500 mkl alınarak genomik DNA elde edildi. Bu amaçla tuzsuz DNA ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntem için QIAGEN (QIAGEN, Ontario Kanada,) Maxi Blood DNA izolasyon kiti kullanıldı ve ekstraksiyon işlemleri kit prospektüsüne göre yapıldı.

Elde edilen genomik DNA, 280 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülerek kantitasyonu yapıldıktan ve DNA 50 ng/mkl olarak 200 mkl volümde çözüldükten, sonra bu DNA molekülünün kalitasyonu yapıldı. Bu amaçla 2 mkl (100 ng) DNA molekülü % 1' lik Agaroz (Sigma) jelde elektroforeze tabi tutuldu. Moleküler biyolojide kullanılan Agarozdan 1 gr. tartılarak 100 mkl 1XTBE (10XTBE; Sigma, Blue View Nucleic Acid Stain) tamponunda magnetik karıştırıcıda boncuklar kullanılarak karıştırıldı. Bu karışım mikrodalga fırınında eritildi. Magnetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak 60 C kadar soğutulurak üzerine 10 mkg/ ml konsantrasyonlu Etidyum Bromür (Sigma) solüsyonundan 7 mkl ilave edildi ve karıştırıldı. Bu agaroz solüsyonu önceden hazırlanmış elektroforez tankının (Owl, Heidelberg, Germany) taraklar yerleştirilmiş kamerasına dökülerek sertleşinceye kadar bekletildi. Üzerine 1XTBE tamponu eklendikten sonra taraklar çıkarıldı ve 2mkl DNA-1 mkl 1X6 yükleme solüsyonu ve 3 mkl su ile karıştırılarak jele yüklendi. Elektroforez EC 105, (EC Apparatus Corporation, <500mA) güç kaynağı 100 mV, 80mA koşullarında kullanılarak 30-40 dakika arasında uygulandı.

Jeldeki DNA dijital DNA görüntüleme sisteminde (SynGene) ultraviyole (UV) transluminatöründe görüntülenerek, baz çift sayısı bilinen standart olarak kullanılan DNA marker ile (Hae III, Fermentas) karşılaştırıldı. Kontrol edilen bu DNA'dan tüm DNA dizi analizi için PCR reaksiyonları yapıldı.

PCR işlemleri

SLC1A3 geninin kodlayan 10 eksonu için ExonPrimer programı kullanılarak intron-exon sınır bölge primerleri seçilerek, MWG firmasında sentezlendi. SLC1A3 geni için 14 sekans bölgesini kapsayan toplam 700 nukleotid bazı içeren sentetik oligonukleotid ısmarlandı. Bu sentetik oligonukleotid primerleri ve AmpliTaq Gold PCR kitleri (Applied Biosystems) kullanılarak Gradientli Thermal Cycler (Bioneer) ve GeneAmp 9700 TermalCycler makineleri kullanılarak her sekans bölgesi için PCR yapıldı. Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi ve pozitif PCR örneklerinden saflaştırma yapıldı.

PCR saflaştırma işlemleri Millipore Genomics Sentricon PCR purifikasyon kolonları (Millipore) kullanılarak yapıldı. Her sekans bölgesi ürünü için ayrı kolan kullanıldı. Purifikasyon işlemleri 14000 rpm'li soğuk santrüfuj (Eppendorff) kullanılarak yapıldı. Elde edilen saflaştırılmış PCR ürünü tekrar %2lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek, saf PCR ürünlerinden Cycle-Sequencing PCR yapıldı.

Cycle Sequencing PCR BigDye Terminator v3.1 kiti kullanılarak ve her sekans bölgesine uygun ya 'reverse' ya da 'forward' primer kullanılarak kit prospektüsünde yazılan protokole göre yapıldı. Elde edilen Cycle Sequencing PCR ürünleri Sodyum asetat ve Etanol kullanılarak presipite edildi ve kurutulmaya bırakıldı. Kurutulmuş örnekler 20 mkl Formamidde çözüldükten sonra dizi analizi için hazır hale gelmiş oldu.

DNA dizi analizleri ABI 3100 Otomatik Jel Kapiller Analizatör sisteminde sekans bölgesinin boyutlarına göre kısa ve ya uzun kapiller kullanılarak yapıldı. Elde edilen diziler aynı sistemin kendi software ve SeqScape2.0 programı kullanılarak FASTA elektronik kütüphaneden elde edilen normal gen dizisi ile karşılaştırılarak ve varolan nukleotid yerdeğişimleri ve uygun aminoasit mutasyonları kayıt edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza, SLC1A3 geninde mutasyon taraması için, farklı ailelerden toplam 14 auralı migren hastası ve 10 sağlıklı kontrol alındı.

Kontrol grubunun beşi kadın (%50), beşi erkek (%50) cinsiyette idi. Ortalama yaş 26 ± 9.6 olarak saptandı. Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde migren veya diğer primer baş ağrısı öyküsü bulunmuyordu.

Hastaların hepsi kadın cinsiyette ve yaş ortalaması 37.1 ± 10.3 yılı (19-50y). Migren başlangıç yaşı, 10 ila 40yaş arasında değişmekle birlikte ortalama $26\pm9,95$ yıl olarak saptandı. Hastaların atak sıklığı ortalaması 4.53 ± 3.5 /ay (1-12/ay), maksimum atak süresi ise ortalama 48 saatti. Hastaların atak şiddetleri değerlendirildiğinde; 12 hastada günlük yaşam aktivitelerini bozan şiddetli ataklar, iki hastada ise orta şiddette ataklar olmaktadır.

Hastalarımızda bildirilen prodromal semptomlar, halsizlik, yorgunluk, mizaç değişikliği, uyku bozuklukları, gastrointestinal yakınmalar ve ensede sertlik hissi idi. Bunların arasında en sık görülen prodromal semptomlar halsizlik- yorgunluk ve mizaç değişikliği idi(sırasıyla, n=7 (%50), n=7 (%50)). İkinci sıklıkta, uyku bozukluğu (n=6 (%42.8)), daha az sıklıkta da ensede sertlik(n=2(%14)) ve gastrointestinal yakınmalar (n=1(%7.14)) bulunmaktaydı.

Dokuz (%64.2) hastada, birinci derece, iki hastada (%14.2) ikinci derece akrabalarında migren öyküsü bulunuyordu. Üç hastada (%21.4) aile öyküsü yoktu.

Aura semptomları incelendiğinde, 12 hasta saf görsel (çoğunlukla pozitif skotom), bir hasta saf somatik duysal, bir hasta ise görsel ve somatik duysal aura semptomları tanımlıyordu (Tablo 1).

SLC1A3 geninde tüm ekson/intron bölgelerini içeren mutasyon analizinde, kontrol grubunda bulunmayan dört farklı nükleotid değişimi saptandı (IVS2.+28-29insA, IVS4+17C>T het., Glu219Asp 657G>C het., Phe389Phe 1167C>T het.).

Üç hastada, altıncı eksonda 657G>C varyantı (Glu219Asp) saptandı.

Bir hastada, sekizinci eksonda heterozigot nükleotid değişimi C>T (Phe389Phe) saptandı. Yakınmaları 40 yaşında başlayan hastanın, ayda ortalama 2 kez olan, maksimum 24 saat süren, parlak titrek ışık, gürültü ve menstruasyonla tetiklenen, şiddetli atakları olmaktaydı. Eşlik eden semptomlar olarak bulnatı-kusma ve görme bozukluğu bulunmaktaydı. Hastanın, aura semptomları, başağrısı sırasında diğer gözde ortaya çıkan görsel semptomlardan oluşmaktaydı ve yaklaşık 30 dakika sürüyordu. Hastanın, ablasının kızında migren öyküsü bulunuyordu.

Bir hastada (no=14), ikinci eksonda, intron bölgesinde daha önce tanımlanmamış 'IVS2+28-29 insA' varyantı, saptandı. 27 yaşında olan kadın hastanın, 23 yaşında başlayan, ayda ortalama, iki kez olan ve günler süren, şiddetli atakları olmaktaydı. Prodrom döneminde mizaç değişikliği ve sinirlilik semptomları tanımlayan hastanın, aura semptomları başağrısının karşı tarafında olan görme bozukluğu, sonrasında, elden başlayıp yüzüne ve diline yayılan pareteziler şeklindeydi. Yaklaşık 20 dakika sürüyordu. Hastanın ayrıca dengesizlik ve baş dönmesi yakınmaları da bulunmaktaydı.

Yine bir hastada (no=6) dördüncü eksonda 'IVS4+17 C>T', nükleotid değişimi saptandı. Hasta 28 yaşındaydı ve 20 yaşında başlayan, ayda ortalama dört kez olabilen, maksimum 72 saat süren, az uyuma, fiziksel aktivite, gürültü, keskin koku ile tetiklenen şiddetli atakları mevcuttu. Aura semptomları yaklaşık 30 dakika süren görsel semptomlardan (pozitif skotom), oluşuyordu. Birinci derece akrabasında (kızkardeş) aurasız migren öyküsü bulunan hastanın, ayrıca taşıt tutuması ve vertigo öyküsü de bulunuyordu (Tablo 2).

Çalışmamızda üç farklı gen varyantı (IVS8+22 C>T, 3'UTR 33+ G>A , 3'UTR 515+ A>C) hem hasta hem de kontrol olgularında saptandı.

IVS8+22 C>T varyantı yedi hasta ve üç kontrol olgusunda saptandı. 3'UTR33+G>A varyantı, üç hastada ve bir kontrol olgusunda saptanırken, 3'UTR 515+ A>C varyantı, sekiz hasta ve üç kontrol olgusunda saptandı (Tablo 3).

Ayrıca bir kontrol olgusunda hasta grubunda saptanmayan Gly264Gly varyantı saptandı.

Çalışmamızda hasta grubunda 11 (%73.33), kontrol grubunda ise dört (%40) bireyde

SLC1A3 gen varyantları saptandı. Dört (%26.66) hasta ve altı (%60) kontrol olgusunun genetik analiz sonuçları tamamen normal bulundu (Tablo4).

Tablo1.Hastaların bazı önemli klinik özelliklerinin bireysel görünümü

<u>Hasta no</u>	<u>başlangıç yaşı</u>	<u>aura semptom ve süre</u>	<u>ağrı şiddeti</u>	<u>atak sıklığı(ay)</u>	<u>aileöyküsü</u>
1	10	görsel/15dk	siddetli	4	1. derece
2	40	görsel/15dk	siddetli	2	2.derece
3	38	parestezi/30dk	siddetli	1	1.derece
4	31	görsel/10 dk	orta	1	2.derece
5	39	görsel/30dk	orta	2	1. derece
6	20	görsel/30 dk	siddetli	4	1. derece
7	34	görsel/10dk	siddetli	12	yok
8	20	görsel/20dk	şiddetli	3	1. derece
9	23	görsel/30dk	şiddetli	7	1. derece
10	25	görsel/15dk	şiddetli	12	1. ve 2. derece
11	17	görsel/15 dk	şiddetli	1	yok
12	16	görsel/30dk	şiddetli	3	1. ve 2. derece
13	39	görsel /30dk	şiddetli	8	1.derece
14	23	görsel/parestezi/20dk	şiddetli	2	yok

Tablo2.Hastalarda saptanan gen varyantları ve bazı klinik özellikleri

<u>Hasta no</u>	<u>sıklık</u>	<u>süre</u>	<u>ağrı şiddeti</u>	<u>saptanan gen varyantları</u>
1	4/ay	7-72h	şiddetli	Glu219Asp G>C Het., IVS8+22 C>T Het., 3' UTR+515 A>C Het.
2	2/ay	4-24h	şiddetli	Phe389Phe C>T Het. , 3' UTR+515 A>C Hom.
3	1/ay	72h	şiddetli	Glu219Asp G>C Het., IVS8+22 C>T Het., 3' UTR+515
4	1/ay	48-72h	orta	<i>Normal</i>
5	2/ay	24-72h	orta	IVS8+22 C>T Het., 3' UTR+515 A>C Het.
6	4/ay	24-72h	şiddetli	IVS4+17 T>C Het. , Glu219Asp G>C Het
7	10/ay	4-24h	şiddetli	<i>Normal</i>
8	3/ay	8-24h	şiddetli	<i>Normal</i>
9	7/ay	24-48h	şiddetli	IVS8+22 C>T Het., 3' UTR+515 A>C Het.
10	4/ay	4-24h	şiddetli	IVS8+22 C>T Het. 3'UTR+33G>A Hom.3' UTR+515 A>C Hom.
11	2/ay	24-48h	şiddetli	<i>Normal</i>
12	1/ay	24-48h	şiddetli	IVS8+22 C>T Het., 3'UTR+33G>A Het.,3' UTR+515 A>C Het
13	8/ay	4-24h	şiddetli	IVS8+22 C>T Hom., 3'UTR+33G>A Het., UTR+515 A>C Het
14	3/ay	4-24h	şiddetli	IVS228_29insA

Tablo3.Kontrol grunuda saptanan gen varyantlari

<u>Kontrol no</u>	<u>saptanan gen varyantlari</u>
1	Normal
2	Normal
3	Normal
4	Normal
5	Normal
6	IVS8+22 C>T Het.,3' UTR+515 A>C Het
7	IVS8+22 C>T Het.,3' UTR+515 A>C Het
8	Normal
9	IVS8+22 C>T Het., 3'UTR+33G>A Hom., UTR+515 A>C Hom
10	Gly264Gly

Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun sonuçlarının karşılaştırılması

	<i>Hasta(n=14)</i>	<i>Kontrol(n=10)</i>
Ekzon 1	normal	normal
Ekzon 2	IVS2+ 28-29 insA (n=1)	normal
Ekzon 3	normal	normal
Ekzon 4	IVS4 +17 C>T het (n=1)	normal
Ekzon 5	normal	normal
Ekzon 6	Glu219Asp (n=3)	Gly268Gly (n=1)
Ekzon 7	normal	normal
Ekzon 8	IVS8 +22 C>T Het (n= 6) IVS8 +22 C>T Hom (n=1) Phe389Phe (n=1)	IVS8+22 C>T Het (n=3)
Ekzon 9	normal	normal
Ekzon 10.1	3'UTR 33+ G>A Het (n=2) 3 'UTR 33+G>A Hom (n=1)	3 'UTR 33+G>AHom (n=1)
Ekzon 10.2	3'UTR 515+ A>C Het (n=5) 3'UTR 515+ A>C Hom (n=3)	3'UTR 515+ A>C Het (n=2) 3'UTR 515+ A>C Hom (n=1)

TARTIŞMA VE SONUC

Migren patofizyolojisi, yapılan çok sayıdaki klinik ve prelinik çalışmalarla, büyük oranda anlaşılmiş olmasına karşın, hala aydınlatılmayı bekleyen noktalar bulunmaktadır. Günümüzde kabul gören entegre nörovasküler teoriye göre, migrende ortaya çıkan vasküler değişiklikler nöronal olaylara bağlı oluşmaktadır ve migrendeki temel anormallik kortikal hipereksitabilite niteliğindeki nöronal eksitabilite değişikliğidir(29). Oksipital korteksin magnetoensefalografi ve transkranyal magnetik stümlasyonu ile yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, saptanan iktal ve interiktal nöronal hipereksitabilitenin migrenli hastalardaki kortikal olayların başlamasında etkili olduğunu düşündürmektedir(29,59,66). Hayvan modellerinde glutamat ve aspartat gibi eksitatör nörotransmitterlerin kortikal yayılan depresyona yol açtığı gösterilmiştir(2,52). Migrenli hastalarda platelet ve BOS'ta artmış glutamat düzeylerinin saptanması, ve FHM'den elde edilen genetik çalışma sonuçları, glutamat salınmasında ve taşınmasındaki bir bozukluğun, nöronal hipereksitabiliteye yol açarak kortikal depresyon oluşumunu ve yayılımını kolaylaştırdığını düşündürmektedir(2,32,33,34,35).

Kortikal yayılan depresyon dalgasının migren aurasının altında yatan temel mekanizma olduğu günümüzde yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. FHM'de saptanan gen mutasyonlarının, hayvan modellerine uygulanması, ekstrasellüler alanda artmış potasyum ve glutamat düzeylerinin KYD'nu kolaylaştırdığını göstermiştir(18,20). Migren profilaksisinde kullanılan amitriptilin, B-bloker ve antiepileptik ilaçların, uzun dönem kulanımlarının KYD'nu baskıladığı da bugünkü bilgilerimiz arasındadır(18).

Bundan başka, KYD'nun trigeminovasküler sistem aktivasyonu yolu ile migren baş ağrısının da altında yatan mekanizma olabileceği ileri sürülmektedir(53). Trigeminovasküler sistem aktivasyonu periferik sinir sonlamalarından CGRP, substans-p, nörokinin-A gibi vazoaktif peptidlerin salınmasına, bu da steril nörojenik inflamasyon oluşumuna yol açar. Santral nosiseptif bilgiler ortodromik olarak, trigeminovasküler liflerle trigeminal sinirin kaudal çekirdeğine taşınır ve burada santral nosiseptif işaretleyici olan c-fos ekspresyonuna yol açar. Deneysel çalışmalarda KYD'nun c-fos ekspresyonuna ve meningeal steril inflamasyona yol açtığı gösterilmiştir(53). Bir başka çalışma ise KYD'nun

siklooksijenaz 2, proinflamatuvar sitokinler, nöronal nitrik oksit sentetaz ve oksidatif strese rol alan birçok gen ekspresyonunu düzenlediğini göstermiştir. Günümüzde KYD'nun trigeminovasküler sistemin sensitizasyonunda da rolü olduğu kabul edilmektedir(2). Bu veriler, KYD'nun sadece migren aurasında değil, aynı zaman da migren baş ağrısının da altında yatan, temel mekanizma olduğu düşüncesini güçlendirmektedir.

Migren klinik ve patofizyolojik olarak çok karışık bir nörovasküler hastalıktır. Hastalığın farklı formlarının, genetik ve genetik dışı yatkınlık faktörlerinin çeşitli kombinasyonlarıyla meydana gelebileceği düşünülmektedir. Migrenin kompleks genetik yapısının kesin olarak çözülmesi, migren ataklarının nasıl tetiklendiği konusunda önemli bilgiler sağlayacak, dolayısıyla migren önleyici tedavilerin geliştirilmesinde bizlere yardımcı olacaktır. Ancak bir çok klinisyen için genetik çalışmalar dipsiz bir kuyu gibidir.

İnsanların çoğu, bir ya da iki aura veya baş ağrısı atağı yaşar. Bu ataklar ancak tekrarlayıcı olursa anormal kabul edilirler. Şu ana kadar artan kanıtlar, tekrarlayan ataklar için, genetik olarak etkilenmiş bireylerde, migren tetikleyicilerine karşı, azalmış eşik değeri olduğunu göstermektedir. Ataklar, özellikle, tetikleyiciler güçlü veya sık olduğunda, bazı endojen faktörlerin (menstruasyon, uykusuzluk, stres veya stres sonrası rahatlama vb.), tetikleyici faktörlerin etkisine katkıda bulunduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Migren ataklarını önleyici tedavi, tetikleyiciler için eşik değerin artırılması ile mümkün olabilir, bunun için anlamamız gereken tek şey tetikleyiciler için eşik düzeylerin nasıl bir mekanizma ile değiştiğidir(119).

FHM seyrek görülen, otozomal dominant kalıtılan ve hemiparezi ile birlikte görülen auralı migrenin bir alttipidir. Aynı zamanda sporadik hemiplejik migren (SHM) vakaları da görülmektedir. FHM ve SHM ile sıklıkla, epilepsi, inme, ensefalit ve konversiyon bozukluğu arasında ayırıcı tanı zorluğu yaşanmaktadır. FHM ile ilgili ilk genetik gelişmeler bu hastalığın kromozom 19p13 lokusu ile bağlantısının gösterilmesi ile başlamıştır(22). Yaklaşık 5 yıl sonra bu lokus üzerinde bulunan birçok gen arasından CACNA1A geni identifiye edilmiş, bu gendeki mutasyonların yaklaşık %50 oranında FHM1'den sorumlu olduğu gösterilmiştir(18). Bu gen nöronal P-Q tipi kalsiyum kanallarının alfa-2 alt tipini kodlamaktadır. Bu gendeki bazı mutasyonlar, aynı zamanda epizodik ataksi tip-2 (sıklıkla

migrenle birliktelik gösterir), progresif ataksi, epilepsinin bazı formları ve kafa travması ile tetiklenen ölümcül migren ile ilişkilidir(90). Sonraki yıllarda FHM'den sorumlu olduğu düşünülen iki gen daha bulunmuştur. Bunların biri kromozom 1q23'de yerleşmiş, ATP1A2, diğeri ise kromozom 2q24'de yerleşmiş SCN1A genidir(18). ATP1A2 geni, glial hücre Na/KATP-az alfa alt tipini kodlarken, SCN1A, nöronal voltaj bağımlı sodyum (Nav.1.1) kanalını kodlamaktadır

Bir hastalıkla ilgili, sorumlu gen saptandığında sonraki aşama, bu gendeki mutasyonların fonksiyonel önemini araştırmaktır. Bu, hastalığın altında yatan mekanizmaların anlaşılması açısından çok önemlidir. Cav2.1 kanalları, kalsiyum akımını kontrol eder ve bu yolla nörotransmitter salınımını düzenler. Hücresel modellerde, FHM1 veya CACNA1A mutasyonlarının, kalsiyum akımında ve dolayısıyla nörotransmitter salınımında artışa yol açtıkları görülmüştür. Arn van der Maagdenberg ve ark'ı, 2004'de yayınlanan çalışmalarında, FHM1 mutasyonları taşıyan iki knock-in fare modelinde, kortikal yayılan depresyon için eşik değerin düştüğünü göstermişlerdir(116). İlk transgenik FHM1 fare modeli, insanlarda hafif FHM fenotipinden sorumlu R129Q mutasyonu taşıyan, ikincisi ise, insanlarda kafa travması ile tetiklenen ölümcül migrenden sorumlu S218L mutasyonu taşıyan transgenik fare modeliydi. Bu sıra dışı migren spektrumunda yer alan hastalıkta olgular hafif bir kafa travması sonucu tetiklenen migren atakları sırasında aşırı serebral ödem nedeniyle hayatlarını kaybedebilmektedir. FHM1 R192Q mutasyonunun, kalsiyum akımı, bazal ve uyarılmış nörotransmitter salınımında (özellikle glutamat) artma ve kortikal yayılan depresyon için eşik değerde düşmeye neden olduğu, bu etkilerin, dişi farelerde daha fazla olduğu ve overektomi sonrası düzelebildiği gösterildi. Ayrıca mutasyonu homozigot taşıyan farelerde, heterozigot olanlara göre etkiler daha şiddetliydi. Yine, şiddetli fenotipi temsil eden S218L modelinde de etkiler çok daha fazlaydı. Ayrıca ilginç olarak, farelerin migren de yaygın görülen fotofobi gibi bazı davranışlar sergilediği görüldü(116). Bu iki fare modelindeki çalışmalar glutamatın sinaptik yarıktaki artışının, kortikal yayılan depresyonun oluşması ve yayılmasında çok önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. Benzer mekanizmaların FHM2 ve FHM3'de de rol oyanayabileceği düşünülmüş ve fonksiyonel çalışmalarda FHM2 mutasyonlarının, artmış glutamat salınımı ile kortikal hipereksitabiliteye yol açtığı, FHM3 mutasyonlarının ise sinaptik yarıktan glial hücrelere azalmış potasyum ve glutamat alımına neden olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak her üç gendeki mutasyonların,

sinaptik yarıktaki artmış potasyum veya glutamat düzeylerine neden olarak, kortikal yayılan depresyon oluşumuna yatkınlık sağladığı bugün için kabul edilmektedir(90). Bu üç farklı proteini kodlayan üç gendeki mutasyonların hepsinin, FHM'ne neden olması monogenik ve görece homojen klinik gösteren bu hastalık için bile genetik heterojenitenin varlığını yansıtmaktadır. Bu genlerdeki mutasyonu taşımayan FHM'li olguların varlığı, sorumlu başka genlerin de bulunabileceğine işaret etmektedir.

Jen ve arkadaşları 2005'de yayınladıkları çalışmalarında, CACNA1A ve ATP1A2 mutasyonu saptanmayan, epizodik ataksi (EA) ve hemiplejik migrenli hasta popülasyonunda glutamat taşıyıcı olarak bilinen EAAT1'i kodlayan SLC1A3 geninde mutasyon taraması yapmışlar ve nöbetleri de olan bir hastalarında, bu gende mutasyon 1047C>G heterozigot mutasyonu saptamışlardır. EA koordinasyon bozukluğu ve dengesizlik atakları ile seyreden heterojen bir hastalıktır. Bu hastalıkla ilgili iki gende mutasyonlar bulunmuştur. EA-tip 1'e, KCNA1 mutasyonları neden olurken, EA-tip2'ye CACNA1A mutasyonları yol açmaktadır. İlginç olarak bu gendeki mutasyonlar aynı zamanda FHM1'e de neden olmaktadır. Bu hastaların büyük kısmında EA-tip2'den klinik olarak ayrılması güç progresif serebellar disfonksiyon görülmektedir. İn vivo ve invitro modellerde, EAAT1'in yokluğu ya da azalması eksitotoksositeye ve nöbetlere yakınlık ile travma sonrası serebellar injuriye yol açtığı gösterilmiştir. EAAT1 glutamatın sinapslardan temizlenmesinde kritik bir role sahip gibi görünmektedir. Bu çalışmada hemiplejik migren, epizodik ataksi ve nöbetleri olan bir hastada asemptomatik akrabalarında ve kontrol grubunda saptanmayan 1047C>G heterozigot mutasyonu saptanmıştır(28).

SLC1A3 genindeki 1047C>G mutasyonu EAAT1'in beşinci transmembran domaininde yüksek derecede korunmuş prolin kalıntısının arginin ile yer değiştirmesine yol açmaktadır. Çalışmacılar, mutant taşıyıcı ile transfekte hücrelerde radioaktif glutamat kullanılarak yapılan gerilim analizinde, vahşi-tip ile kıyaslandığında, çok belirgin olarak glutamat geriliminin azaldığını göstermiştir (sırasıyla;7.7±1.0,103.2±11.0). Heterozigot mutasyon durumunu simüle etmek için yapılan koekspresyon çalışmasında, hem vahşi-tip hem de mutant EAAT1 yapıları ile transfekte edilen hücrelerdeki analizler mutant EAAT1 etkisiyle glutamat geriliminin azaldığını göstermiştir. Mutant ve vahşi tip EAAT1 ilişkisinin spesifitesini değerlendirmek için diğer EAAT taşıyıcıları olan EAAT2 ve EAAT3

ile de benzer analizler yapılmış, mutant EAAT1'in her iki vahşi-tip taşıyıcının da aktivitesini azaltmadığı gösterilmiştir. Böylece, mutant EAAT1'in dominant negatif etkisinin EAAT1 için spesifik olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmacılar, mutant taşıyıcı aktivitesindeki azalmanın, biofiziksel özelliklerinin değişmesi ve/veya mutant taşıyıcının ekspresyonunda bozulma sonucu olmuş olabileceğini düşünerek, EAAT1'in ekspresyonunu değerlendirmek için, Western Blot Analiz ve epifloresan görüntüleme tekniği ile mutant EAAT1 taşıyan hücrelerde vahşi tip EAAT1 ile transfekte hücrelere göre belirgin olarak daha az düzeyde eksprese edildiğini de göstermişlerdir(28).

Yazarlar, tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde SLC1A3 mutasyonunun, diğer FHM mutasyonlarına benzer şekilde, glutamatin geri alımında bozulmaya yol açarak, kortikal hipereksitabiliteye neden olduğu ve olgudaki, nöbet ve FHM kliniğinden sorumlu olabileceğini ifade etmektedir(28).

Yaygın görülen multifaktörel hastalıkların, genetik yönünün ve daha da önemlisi altta yatan mekanizmalarının çözülmesi açısından, bu hastalıkların monogenik subtiplerinden elde edilen bilgiler oldukça önem taşır. Klinik ve genetik bulgular, FHM'nin, aslında auralı ve hatta aurasız migren için geçerli bir model olduğunu göstermektedir. Hemiparezi dışında, aura ve baş ağrısı özellikleri FHM, SHM ve yaygın görülen migren alt tiplerinde benzer şekildedir, hepsinde de baş ağrısı triptanlara yanıt verir. FHM ve SHM hastalarının büyük kısmında aynı zamanda non-hemiplejik migren atakları olmaktadır. Her üç form da benzer tetikleyicilere sahip ve benzer profilaktik ilaçlara yanıt verir. Dolayısıyla, şu ana kadar elde edilen genetik çalışma sonuçları, migrenin diğer tipleri için anahtar rol oynamaktadır. Yapılan fonksiyonel çalışmalar ve fare modelleri, genetik mutasyonların, kortikte eksitabilite değişikliğine yol açarak, kortikal yayılan depresyon oluşumunu kolaylaştırdığını göstermektedir ve bu olaylardan, ekstrasellüler glutamat düzeylerindeki değişimler, büyük oranda sorumlu gibi görülmektedir.

Sonuç olarak, genetik olarak yatkın bireylerde, glutamat taşınmasında, salınımında ya da sinaptik boşluktan temizlenmesindeki disfonksiyon, nöronal eksitabilite değişikliğine yol açarak, bireyleri, endojen ve eksojen tetikleyicilere yatkın hale getiriyor olabilir, bu tetikleyicilerin frekans ve yoğunluğundaki küçük değişiklikler, yatkın bireylerde, kortikal

yayılan depresyon oluşumu ve yayılımına yol açarak migren atağını başlatıyor olabilir. Bu bağlamda, migren spesifik beyin bölgelerindeki glutamatın anormal düzeyleri, glutamat taşıyıcılarındaki bozulmuş aktiveyle, bu da EAAT1 geni veya diğer glutamat taşıyıcı genlerdeki mutasyonlarla ilişkili olabilir.

Bizim çalışmamızda, bu hipotezden yola çıkarak, auralı migren hastalarında, nöronal dokulara spesifitesi yüksek, glial hücelere glutamat taşınmasından sorumlu, 'SLC1A3' geninde mutasyon taraması yaptık. Bu çalışma, auralı migrende, bu genle ilgili yapılan ilk genetik çalışma özelliği taşımaktadır.

SLC1A3 geni, kromozom 5p13'de lokalize, 10 eksondan oluşan ve 525 aa'i kodlayan, yaklaşık 86kb uzunluğunda bir gendir. Serebellumda ve kortekste yüksek oranda, daha az olarak da beyin sapında eksprese edilir.

Çalışmamızda, altı auralı migren hastasında, kontrol grubunda saptanmayan, 4 farklı 'tekli nükleotid değişimleri' saptadık. Altıncı eksonda, hasta grubunda üç kişide saptadığımız, ancak kontrol grubunda saptamadığımız, Glu219Asp varyantı, literatürde polimorfizm olarak tanımlanmıştır (bkz:NCBI:SNP for SLC1A3). Türk populasyonundaki sıklığı bilinmemektedir.

Diğer üç hastamızda daha önceden literatürde tanımlanmayan yeni gen varyantlarının, (IVS2+28-29insA, IVS4+17 C>T het., Phe389Phe) aminoasit değişimine yol açmaması, klinik olarak homojen olduğunu düşündüğümüz hasta grubumuzda, diğer hastalarda benzer varyantların yaygın olarak saptanamamış olması, hastalık oluşumundaki rollerinin, yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Hastaların klinik özellikleri incelendiğinde; IVS2+28-29insA varyantı saptadığımız hastada aura atakları, diğer hastalardan farklı olarak, hem görsel hem de somatik duysal semptomlardan oluşmaktaydı. Görsel semptomlar bulanık görme şeklinde olurken sonrasında ellerden başlayıp, yüze yayılan parestezi yakınmaları ekleniyordu ve yaklaşık 20 dk. sürüyordu. Atakları 23 yaşında başlayan hastanın aurasız atakları da olmaktaydı.. Atak sıklığı, iki/ay, atak süresi maksimum 72/h'ti. Hastanın ek olarak dengesizlik ve vertigo atakları da olmaktaydı. Sekizinci eksonda yeni bulduğumuz Phe389Phe, nükleotid değişimi saptanan hastanın, yakınmaları 40 yaşında başlamıştı ve

ayda ortalama iki kez olan, maksimum 24 saat süren, parlak titrek ışık, gürültü ve menstruasyonla tetiklenen, şiddetli atakları olmaktadır. Hastanın aura semptomları, başağrısı sırasında diğer gözde ortaya çıkan görsel semptomlardan oluşmaktaydı ve yaklaşık 30 dakika sürüyordu. Hastanın ikinci derece akrabasında migren öyküsü bulunmaktaydı.

IVS4+17 C>T, nükleotid değişimi saptanan hastanın, 20 yaşında başlayan, ayda ortalama dört kez olabilen, maksimum 48 saat süren, az uyuma, fiziksel aktivite, gürültü, keskin koku ile tetiklenen şiddetli atakları mevcuttu. Aura semptomları yaklaşık 30 dakika süren görsel semptomlardan (pozitif skotom), oluşuyordu. Hastanın, birinci derece akrabasında (kızkardeş) aurasız migren öyküsü bulunuyordu. Bu hastada da tekrarlayıcı vertigo atakları olmaktadır , ayrıca taşıt tuması öyküsü bulunuyordu.

Gen varyantları saptanan bu hastaların fenotipik farklılıklar göstermesi belirtilmesi gereken ancak genotipik farklılıkla ilişkilendirilmesi bugün için mümkün olmayan bir özelliktir.

Diğer taraftan daha önceden tanımlanmamış yeni 3'UTR 33+ G>A , 3'UTR 515+ A>C varyantları, hem hasta hem de kontrol grubunda saptandı, bunların olasılıkla Türk popülasyonuna özgü polimorfizmler olabileceğini düşünmekteyiz. Yine hasta ve kontrol grubunda saptadığımız, IVS8+22 C>T varyantının daha önceden polimorfizm olarak bildirildiği görüldü (bkz:NCBI:SNP for SLC1A3). Ayrıca tek bir kontrol olgusunda Gly264Gly gen varyantı saptandı.

Çalışmamızda daha önce literatürde tanımlanmamış, altı yeni gen varyantı (Phe389Phe, 3'UTR 33+ G>A, 3'UTR 515+ A>C, IVS2+28-29insA, IVS4+17 C>T het, Gly264Gly) bulunmuştur. Bunlardan üçü yalnız hasta grubunda, ikisi hem hasta hem de kontrol grubunda, biri ise kontrol olgusunda saptanmıştır. Bu gen varyantlarının Türk popülasyonuna özgü plimorfizmler, olup olmadığı ancak daha büyük olgu sayılı çalışmalarla gösterilmesi ile mümkün olacaktır. Çalışmamızda, ayrıca daha önce polimorfizm olarak bildirilmiş olan Glu219Asp varyantı sadece üç hastada saptanırken kontrol grubunun hiç birinde saptanmamıştır. Hasta sayımızın az olması nedeniyle bu polimorfizmin hastalıkla ilişkili olup olmadığı konusunda yorum yapılamamaktadır.

Çalışmamız, SLC1A3 genindeki mutasyonların, auralı migrendeki rolünü araştıran ilk proje olması açısından büyük önem taşımaktadır. Genetik çalışmaların, yüksek maliyeti nedeniyle küçük grupta yapılmış olması, bulduğumuz sonuçların yorumlanmasını zorlaştırırsa da, saptadığımız yeni gen varyasyonlarının, literatüre büyük açılımlar kazandıracağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, üç hastamızda bulduğumuz 'SLC1A3' gen varyantlarının, hastalıkla ilişkisi konusunda kesin kanıtlar elde edilememiştir. Ancak, bazı alt gruplarda auralı migrene yatkınlıkta rol oynayabileceği ile ilgili önemli ipuçları elde edilmiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalarla, saptanan bu gen varyantlarının, fonksiyonel öneminin belirlenmesi veya daha büyük bir olgu grubunda yapılacak polimorfizm çalışmaları ile hastalıkla ilişkisinin saptanması şüphesiz bu konudaki bilgilerimizi daha çok artıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Cutrer M, Huerter K. Migraine aura. *The Neurologist*, 2007;13:118-125.
2. Smith J, Bradley D, James M, Huang C. Physiological studies of cortical spreading depression. *Biol. Rew.*,2006;81:457-481.
3. Sanchez U, Moskowitz MA. New insights in to migraine pathophysiology. *Curr. Opin. Neurology*, 2006;19:294-298.
4. Ferrari MD, Goadsby PJ. Migraine as a cerebral ionopathy with abnormal central sensory processing. *Neurobiology of disease*, 2006;5:333-334.
5. Stewart WF, Staffa J, Lipton RB. Familial risk of migraine; a population-based study. *Ann Neurol.*, 1997;41:166-172.
6. Russel MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *Br. Med. J.*, 1995;311:541-544
7. Honkasalo ML, Kaprio J, Winter T. Migraine and concomitant symptoms among 8167 adult twin pairs. *Headache*, 1995;35:70-78.
8. Thomsen LL, Olesen J, Russell MB. Increased risk of migraine with typical aura in probands with hemiplegic migraine and their relatives. *Eur J Neurol.*, 2003;10:421-427.
9. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNA1A. *Cell*, 1996;87:543-552.
10. Fletcher CF, Tottene A, Lennon VA, Wilson SM, et al. Dystonia and cerebellar atrophy in CACNA1A nul mice lacking P/Q channel activity. *FASEB J.*, 2001;15:1288-1290.
11. Ducros A, Denier C, Joutel A, Cecillon M et al. The clinical spectrum of FHM associated with mutations in a neuronal calcium channel. *N Engl J Med.*, 2001;345:17-24.
12. Terwindt G, Ophoff RA, Haan J, Frants R et al, Variable clinical expression of mutations in the P/Q type calcium channel gene in FHM. Dutch Migraine Research Group. *Neurology*, 1998;50:1105-1110.
13. Haan J, Kors EE, Ferrari MD, Frants R et al Migraine genetics: an update. *Curr. Pain Headache rep.*, 2005;9:213-220.

14. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat. Genet.*, 2003;33:192-196.
15. Swoboda KJ, Kanavakis E. Alternating hemiplegia of childhood or FHM? A novel ATP1A2 mutation *Ann Neurol.*, 2004;55:884-887,
16. Ambrosini A, D'onofrio A, Grieco GS, Di Mambro A, et al. Familial basilar migraine associated with a new mutation in the ATP1A2 gene. *Neurology*, 2005;13:1826-1828.
17. Todt U, Dichgans M. Rare missense variants in ATP1A2 in families with clustering of common forms of migraine. *Hum Mutat.*, 2005;26:315-321.
18. Pietrobon D. Familial hemiplegic Migraine. *Neurotherapeutics* 2007;4:274-284.
19. De Vries B, Haan J, Frants RR, Ferrari MD, et al. Genetic biomarkers for migraine. *Headache* 2006;46:1059-1068.
20. K.L. Gardner. Genetics of migraine: an Update. *Headache*, 2006;46:19-24.
21. May A, Ophoff RA, Terwindt GM, Urban C, et al. Familial hemiplegic locus of 19p13 is involved in the common forms of migraine with and without aura. *Hum. Genet.* 1995;96:604-608
22. Nyholt DR, Lea RA, Griffiths LR. Familial typical migraine linkage to chromosome 19p13 and evidence for genetic heterogeneity. *Neurology*, 1998;50:1428-1432.
23. Terwindt GM, Ophoff RA, van Eijk R, Vergouwe MN, et al. Involvement of CACNA1A gene containing region on 19p13 in migraine with and without aura. *Neurology*, 2001;56:1028-1032.
24. Carlsson A, Forsgren L. Identification of a susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 6p12.2-p21.1. *Neurology*, 2002;59:1804-1807.
25. Soragna D, Vettori A, Carraro C, Marchioni E, et al. A locus for migraine without aura maps on chromosome 14q21.2-q22.3. *AJHG.*, 2003;72:161-167.
26. Cader ZM, Dyment D, Brown J, Cherny S, et al. Significant linkage to migraine with aura on chromosome 11q24. *Hum Mol Genet.*, 2003;12:2511-2517.
27. Björnsson A, Gudmundsson G, Gudfinnsson E, Hrafnisdóttir M, et al. Localization on of a gene for migraine without aura to chromosome 4q24. *Am J Hum Genet.*, 2003;73:986-993.
28. Jen JC, Wan J, Palos T.P. Howard B.D, et al. Mutation in the glutamate transporter EAAT1 causes episodic ataxia, hemiplegia and seizures. *Neurology*, 2005;65:529-534.

29. Aurora SK, Wilkinson F. The brain is hyperexcitable in migraine. *Cephalalgia*, 2007;27:1442-1453.
30. Shigeri Y, Seal R, Shimomoto K. Molecular pharmacology of glutamate transporters. *Brain Research Reviews*, 2004;45:250-265.
31. Maragakis N, Rothstein J. Glutamate Transporters in Neurologic Disease, *Arc Neurol.*, 2001;58:365-370.
32. Cananzi AR, D'Andrea G, Prini F. Platelet and plasma levels of glutamate and glutamine in migraine with and without aura. *Cephalalgia*, 1995;15:132-135.
33. Alam Z, Coombes N, Waring RH, Williams AC, et al. Plasma levels of neuroexcitatory aminoacids in patients with migraine or tension headache. *J Neurol Sci.* 1998;156:102-106
34. Rothrock JF, Mar KR. Cerebrospinal fluid analyses in migraine patients and controls. *Cephalalgia*, 1995;15:489-493.
35. Silberstein SD, Lipton RB, Goadsby PJ. *Klinik Uygulamada baş ağrısı*, Ertaş M, Akman Demir G, Yelkovan yayıncılık, İstanbul (2004),69
36. Headache Classification subcommittee of the International Headache society. International classification of headache disorders: ed 2. *Cephalalgia*, 2004;24(suppl 1):25-36.
37. Wolf HG. Headache and other head pain, 2nd ed., Oxford University press:1963 Rasmussen BE, Olesen J. Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study. *Cephalalgia*, 1992;12:221-228.
38. Leo AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.*, 1944;8:379-390.
39. Lashley KS. Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. *Arch Neurol Psych*, 1941;46:331-339.
40. Welch KMA, Aurora SK. Functional MRI-BOLD of visually triggered headache and visual change in migraine sufferers. *Arch of Neurol.*, 1999;56:548-554.
41. Hadjikhani N, Sanchez Del Rio M, Wu O. Mechanism of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl acad Sci USA*, 2001;98:4687-4692.
42. Woods RB, İocobani M, Maziotta J.C. Bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med*, 1994;331(25):1689-1692.

43. Sanchez Del Rio M, Bakker D. Perfusion weighted imaging during migraine spontaneous visual aura and headache, *Cephalalgia*, 1999;19:701-707.
44. Barkley GL, Tepley N, Moran JE, Simkins R.T, et al. Magnetoencephalographic studies in migraine. *Headache*, 1990;30:428-434.
45. Bowyer SM, Aurora SK, Moran JE, Tepley N, et al. Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura. *Annals of Neurology*, 2001;50:582-587.
46. Edvinssona L, Uddman R. Neurobiology in primary headaches *Brain Research Reviews* . 2005;48: 438– 456.
47. Weiller C, May A, Limmroth V. Brainstem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nature Medicine*, 1995;1:658-660.
48. Aurora SK, Barrodale PM, Tipton RL. Brainstem and cortical dysfunction in chronic migraine as evidenced by neurophysiological and PET studies. *Headache* 2007;47:996-1003.
49. Bolay M, Reuter U, Dunn A, et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model, *Nature medicine*, 2002;8:136-142.
50. Van Harreveld A. Cerebral asphyxiation and cortical spreading depression. *Am J Physiol* 1953;173:171-175.
51. Grafstein B. Mechanism of spreading depression. *J Neurophysiol* 1956;19:154-171.
52. Van Harreveld A. Two mechanism for spreading depression in the chicken retina. *J Neurobiology*, 1978;9:419-431.
53. Moskoowitz MA, Nozaki K, Kraig RP. Neocortical spreading depression provokes the expression of c-fos protein like immunoreactivity within TNC via trigeminovasküler mechanism. *J Neurosci.*, 1993;13:1167-1177.
54. Kramer U, Nevo Y, Harel S. Electroencephalography in the evaluation of headache patients: a review. *Isr J Med Sci* 1997; 33:816-820.
55. Sand T. EEG in migraine: a review of the literature. *Func Neurol.*, 1991; 6:7–22.
56. Lai C, Carenini L, Degioz C. Computerized EEG analysis in migraine patients. *Ital J Neurol Sci.*, 1995; 16:249–254.
57. Lai CW, Dean P, Ziegler DK, Hassanein RS. Clinical and electrophysiological responses to dietary challenge in migraineurs. *Headache* 1989; 29:180–186.

58. Thomaides T, Tagaris G, Karageorgiou C. EEG and topographic frequency analysis in migraine attack before and after sumatriptan infusion. *Headache* 1996; 36:111–114.
59. Bowyer S, Mason K, Moran JE. Cortical Hyperexcitability in migraine Patients Before and After Sodium Valproate Treatment. *Journal of Clinical Neurophysiology*. 2005;22:11-18.
60. Diener HC, Scholz E, Dichgans J, Gerber WD, et al. Central effects of drugs used in migraine prophylaxis evaluated by visual evoked potentials. *Ann Neurol.*, 1989;25:125–130.
61. Jensen R, Frederiksen A, Olessen J. Quantitative surface EMG of pericranial muscles in headache. A population study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 1994;93:335–344.
62. Clifford T, Lauritzen M, Bakke M, Olesen J, et al. Electromyography of pericranial muscles during treatment of spontaneous common migraine attacks. *Pain*, 1982;14:137–147.
63. Pritchard DW. EMG cranial muscle levels in headache sufferers before and during headache. *Headache*, 1989; 29:103–108.
64. Maertens de Noordhout AL, Pepin JL, Schoenen J, et al. Percutaneous magnetic stimulation of the motor cortex in migraine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85:110–115.
65. Bettucci D, Cantello R, Gianelli M, Naldi P, Mutani R. Menstrual migraine without aura: cortical excitability to magnetic stimulation. *Headache*, 1992; 32:345–347.
66. Van der Kamp W, Maassenvandenbrink A, Ferrari MD, van Dijk JG. Interictal cortical hyperexcitability in migraine patients demonstrated with transcranial magnetic stimulation. *J Neurol Sci.*, 1996; 139:106–110.
67. Van der Kamp W, Maassenvandenbrink A, Ferrari MD, vanDijk JG. Interictal cortical excitability to magnetic stimulation in familial hemiplegic migraine. *Neurology*, 1997;48:1462–1464.
68. Aurora SK, Al-Sayed F, Norris L, Welch KMA. Cortical stimulation silent period is shortened in migraine with aura. *Cephalalgia*, 1998; 18:397-340.
69. Aurora SK, Welch KMA. Brain excitability in migraine; evidence from transcranial magnetic stimulation studies. *Curr Opin Neurol.*, 1998; 11:205–209.

70. Aurora SK, Ahmad BK, Welch KMA, Ramadan NM, et al. Transcranial magnetic stimulation confirms hyperexcitability of occipital cortex in migraine. *Neurology*, 1998; 50:1111–1114.
71. Aggugia M, Zibetti M, Febbraro A, Mutani R. Transcranial magnetic stimulation in migraine with aura: further evidence of occipital cortex hyperexcitability *Cephalalgia*, 1999; 19:465-469.
72. Aurora SK, Cao Y, Bowyer SM, Welch KMA. The occipital cortex is hyperexcitable in migraine; evidence from TMS, fMRI and MEG studies (Wolff Award 1999). *Headache*, 1999; 39:469–476.
73. Young WB, Oshinsky ML, Shechter AL, Gebeline-Myers C, et al. Consecutive transcranial magnetic stimulation: phosphene thresholds in migraineurs and controls. *Headache*, 2004; 44:131–135.
74. Battelli L, Black KR, Wray SH, Aurora SK, Ba. Cortical inhibition is reduced in chronic and episodic migraine and demonstrates a spectrum of illness. *Headache*, 2005;45:546-552.
75. Brighina F, Piazza A, Daniele O, Fierro B. Modulation of visual cortical excitability in migraine with aura: effects of 1 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res.*, 2002; 145-151.
76. Bowyer SM, Aurora SK, Moran JE, Tepley N, et al. Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura. *Ann Neurol*. 2001;50:582-587.
77. Sattler R, Rothstein JD. Regulation and Dysregulation of Glutamate Transporters *HEP*, 2006;175:277–303.
78. Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ*. 1995; 311: 541–44.
79. Russell M, Iselius L, Olesen J. Inheritance of migraine investigated by complex segregation analysis. *Hum Genet.*, 1995; 96: 726–730.
80. Honkasalo ML, Kaprio J, Winter T, Heikkila K, et al. Migraine and concomitant symptoms among 8167 adult twin pairs. *Headache*, 1995; 35:70–78.

81. Larsson B, Bille B, Pederson NL. Genetic influence in headaches: a Swedish twin study. *Headache*. 1995; 35: 513–519.
82. Ziegler DK, Bouchard TJ, Hassanein RS. Migraine in twins raised together and apart. *Headache*, 2003;38:417-422.
83. Devoto M, Lozito A, Staffa G, Romeo G, et al. Segregation analysis of migraine in 128 families. *Cephalalgia*, 2002;6:101-105.
84. Kalfakis N, Panas M, Vassilopoulos D. Migraine with aura: segregation analysis and heritability estimation. *Headache*, 2002;35:320-322.
85. Russel M.B., Iselius L, Olesen J. Inherited migraine investigated by complex segregation analysis. *Human Genet.*, 1995;96:726-730.
86. Gervil M, Ulrich V, Kaprio J, Olesen J, Russell MB. Genetic and environmental factors in migraine. *Neurology*, 1999;53:995–999.
87. Wessman M, Terwindt G, Kaunisto M. A, Ophoff RA, et al. Migraine: a complex genetic disorder *Lancet Neurol*. 2007; 6: 521–532.
88. Wesnman M, Kaunisto A, Kallela M. The molecular genetics of migraine. *Ann Med.*, 2004;36:462-473.
89. Van Den Maagdenberg, Haan J, Terwindt M. Migraine: gene mutations and functional consequences *Curr Opin Neurol.*, 2007;20:299-305.
90. Colson J, Fernandez F, Griffiths R. The search for migraine genes: an overview of current knowledge, *Cell Mol Life Sci.*, 2007;64:331-344.
91. Van den Maagdenberg, Ferrari D. Genetic biomarkers for migraine. *Headache*, 2006;46:1059-1068.
92. Peroutka J. Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor(DRD2) Nco I alleles. *Neurology*, 1997;49:201-206.
93. Del Zompo M, Palmas MA, et al. Association between dopamine receptor genes and migraine without aura Sardinian sample. *Neurology*, 1998;51:781-786.
94. Lea RA, Dohy A, Jordan K et al. Evidence for allelic association of the dopamine beta-hydroxylase gene with susceptibility to typical migraine. *Neurogenetics*, 2000;3:35-40.

95. Erdal ME, Herken H, Yılmaz M, Bayazit YA. Association of the T102C polymorphism of 5-HT_{2A} receptor gene with aura in migraine. *J Neurol Sci.*, 2001;186:27-30.
96. Juhasz G, Zsombok T, Laszik A, Gonda X, et al. Association analysis of 5HTTLPR variants 5HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism and migraine. *J Neurogenet.*, 2003;17:231-240.
97. Kowa H, Yasui K, Takeshima T . The homozygous C677T mutation in MTHFR gene is a genetic risk factor in migraine. *Am J Med Genet.*, 2000;96:762-764.
98. Scher AI, Terwindt GM, Verschuren WM. Migraine and MTHFR C677T genotype in population-based sample. *Ann Neurol.*, 2006;59:372-375.
99. Kara I, Sazcı A, Ergul E. Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the MTHFR gene in patients with migraine risk. *Brain Res Mol Brain Res.*,2003;111:84-90
100. Thomsen LL, Kirchman M, Bjornsson, et al. The genetic spectrum of a population-based sample of familial hemiplegic migraine. *Brain*, 2007;130:346-356.
101. J Haan, GM Terwindt, AMJM Van Den Maagdenberg A, MD Ferrari. A review of the genetic relation between migraine and epilepsy Cephalalgia, 2007;28:105–113.
102. Cricchi F, Di lorenzo , et al. Early onset progressive ataxia associated with the first CACNA1A mutation identified within the I-II loop. *J Neurol Sci.*, 2007;254:69-71.
103. Castro MJ, Nunes B, De Vries B. Two novel functional mutations in the Na-K ATPase alpha2-subunit ATP1A2 gene in patients with familial hemiplegic migraine and associated neurological phenotypes. *Clin Genet.*, 2008; 73:37–43.
104. Jen JC, Klein A, Boltshauser E, et al. Prolonged hemiplegic episodes in children due to mutations in ATP1A2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78:523–526.
105. Deprez L, Weckhuysen S, Peeters K, et al. Epilepsy as part of the phenotype associated with ATP1A2 mutations. *Epilepsia*, 2008; 49:500–508.
106. Fernandez DM, Hand CK, Sweeney BJ, Parfrey NA. A Novel ATP1A2 gene mutation in an Irish familial hemiplegic migraine kindred. *Headache*, 2008; 48:101–108.
107. Rainero I, Rubino E, Rivoiro C, et al. Haemochromatosis gene (HFE) polymorphisms and migraine: an association study. *Cephalalgia*, 2007; 27:9–13.
108. Hohoff C, Marziniak M, Lesch KP, et al. An adenosine A_{2A} receptor gene haplotype is associated with migraine with aura. *Cephalalgia*, 2007; 27:177–181.

109. Erdal N, Herken H, Yilmaz M, et al. The A218C polymorphism of tryptophan hydroxylase gene and migraine. *J Clin Neurosci.*, 2007;14:249–251.
110. Kara I, Ozkok E, Aydin M, et al. Combined effects of ACE and MMP-polymorphisms on migraine development. *Cephalalgia*, 2007; 27:235–243.
111. Fernandez F, Curtain RP, Colson NJ, et al. Association analysis of chromosome 1 migraine candidate genes. *BMC Med Genet.*, 2007; 8:57-60.
112. Oswell G, Kaunisto MA, Kallela M, . No association of migraine to the GABA-A receptor complex on chromosome 15. *Am J Med Genet Part:B; Neuropsychiatr Genet.*, 2008;147:33–36.
113. Netzer C, Freudenberg J, Toliat MR, et al. Genetic association studies of the chromosome 15 GABA-A receptor cluster in migraine with aura. *Am J Med Genet Part:B; Neuropsychiatr Genet* 2008; 147:37–41.
114. Richard A, Van den Maagdenberg AM, Jen JC, et al. Truncations in the carboxyl-terminus of human 30–50 DNA exonuclease TREX1 cause retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy. *Nat Genet.*, 2007; 39:1068– 1070.
115. De Vries B, Freilinger T, Vanmolkot KR, et al. Systematic analysis of three FHM genes in 39 sporadic patients with hemiplegic migraine. *Neurology*, 2007;69:2170–2176.
116. Van Den Maagdenberg A.M, Pietborn D, et al. A CACNA1A knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron*, 2004;4:701-710.
117. Stam A, van den Maagdenberg A.M, Haan J, Terwindth G, et al. Genetics of migraine: an update with special attention to genetic comorbidity. *Curr opinion in neurol.* 2008;21;288-293.
118. Ozturk V, Cakmur R, İdiman F et al. Comparison of cortical excitability in chronic migraine and migraine without aura. *Journal of Neurology*, 2002;1:1452-1459.
119. Ferrari M.D. Migraine Genetics:A Fastinating Journey Towards Improved Migraine Therapy. *Headache*, 2008;4:697-700