

**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİMDALI**

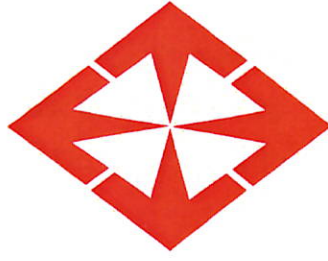
**AURASIZ MİGRENLİLERDE TNF- α 308G/A POLİMORFİZMİ VE SERUM TNF- α
DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Derya TATLISULUOĞLU

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ufuk Can

Ankara, 2009



**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİMDALI**

**AURASIZ MİGRENLİLERDE TNF- α 308G/A POLİMORFİZMİ VE SERUM TNF- α
DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Derya TATLISULUOĞLU

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ufuk Can

Ankara, 2009

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık eğitimim süresince, tıbbi bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve desteklerini gördüğüm değerli hocalarım Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Turgut ZİLELİ'ye ve Prof.Dr. Sibel BENLİ'ye

Projenin tasarlanmasında yürütülmesinde ve yazılmasında her türlü yardım destek ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Ufuk CAN'a,

Projenin tasarlanmasında yürütülmesinde ki katkılarının yanı sıra moleküler biyoloji ve laboratuvar çalışmaları konusunda beni aydınlatan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Belgin ATAÇ'a

Laboratuvar çalışmalarını titizlikle ve özveri ile yürüten, her türlü yardım , bilgi ve desteğini; ayrıca dostluğunu esirgemeyen Uzm. Dr. Nilüfer BAYRAKTAR'a

İstatistiksel değerlendirmede ki katkıları nedeni ile Yrd. Doç. Dr. Canan YAZICI'ya

Uzm. Biyolog Hasibe VERDİ'ye

Hastaların seçilmesinde ve çalışmanın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, her zaman desteklerini gördüğüm sayın Yrd. Doç. Dr. Münire KILINÇ, Uzm. Dr. Yıldız Kaya, Uzm. Dr. Ruhsen ÖCAL, Uzm. Dr. Firdevs Eraslan, eş kıdemlim olmasından çok mutluluk duyduğum Dr. Berdar KILINÇ ve Nöroloji kliniğinde birlikte çalıştığım tüm arkadaşlarıma;

Desteklerinden dolayı aileme
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla
Dr. Derya TATLISULUOĞLU

ÖZET

Migren primer bir baş ağrısıdır ve patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen genetik ve çevresel komponentlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) nörovasküler inflamasyonda ağrı mediyatörüdür; ayrıca migren tipi baş ağrısı oluşumunda potansiyel mekanizma olabilir. Bu çalışmada, TNF α -308 G/A polimorfizminin varlığının migren riskini artırıp artırmadığı ve serum TNF- α düzeyi üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Aurasız migren tanısı alan 70 hasta ve sağlıklı 65 gönüllü çalışmaya alındı. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra DNA izalasyonu için kan örneği alındı ve TNF- α 308-A/G polimorfizmine bakıldı. Ayrıca hastalardan migren atağı sırasında ve baş ağrısının olmadığı en az yedi günden sonra da ataksız dönem kanı alındı ve serum TNF- α düzeyine bakıldı. Türk popülasyonu için hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden elde edilen bulgular istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Aurasız migrenli hastalarda sağlıklı popülasyona göre ^{PC 0.01)} A/A genotipi daha fazla görüldü.

Migren atağı sırasında serum TNF- α düzeyi daha yüksek bulundu. ^{335 (P=0.03)} G/A genotipi taşıyan hastaların ataklı ve ataksız dönemlerindeki serum TNF- α düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. G/A ve A/A genotipli hastaların atak sırasında alınan ^{8.36 P=0.02 (Grubbs S.2) TPC} serum TNF- α düzeyleri arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıydı ve G/A genotipli hastalarda serum TNF- α düzeyleri daha yüksekti.

TNF- α 308 G/A polimorfizmi etnik gruplara göre farklılık göstermektedir. Türk popülasyonunda A/A genotipine sahip olmak migren gelişimi açısından bir risk faktörü olabilir. TNF- α 308 G/A polimorfizmi ve TNF- α düzeyi arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için; TNF- α 'nın plazma profili atakların başlangıcından sonra geçen zamanla korele edilmelidir.

ABSTRACT

Migraine is a primary headache disorder and although its exact pathophysiology has not been elucidated to date genetic and environmental factors are considered as the contributing factors for its development. Tumour necrosis factor- α (TNF- α) is a pain mediator in neurovascular inflammation and it may potentially play important role in the occurrence of migraine type headache. The association between TNF- α -308 G/A polymorphism and occurrence of migraine and its effect on serum TNF- α level were investigated in this study.

Seventy patients diagnosed as migraine without aura and 65 volunteers were included in the study. After signing of the consent form blood samples were taken for DNA isolation from all patients and TNF- α -308 G/A polymorphism was evaluated. As well, two additional blood samples were taken for determining serum TNF- α level during a migraine attack and during the interictal period at least seven days after an attack. The data collected from migraine patients and volunteers were statistically compared for the Turkish population.

A/A genotype was more common in patients with migraine without aura than healthy volunteers. Serum TNF- α level were higher during a migraine attack. Patients with G/A genotype had higher serum TNF- α level during a migraine attack than attack free period, and this was statistically significant. The difference between TNF- α serum levels during a migraine attack in patients with G/A and A/A genotype was statistically significant and patients with G/A genotype had higher serum TNF- α levels

Polymorphism of the TNF- α 308 G/A shows variation among different ethnic groups. Having A/A genotype may be a risk factor for development of migraine in Turkish population. For a better demonstration of the relation between TNF- α -308 G/A polymorphism and the serum levels of TNF- α , its serum profile should be correlated with time during an attack.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİL ve TABLO DİZİNLERİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tanımlama	2
2.2. Migren sıklığı	2
2.3. Migrenin Evreleri	4
2.3.1. Öncü Belirtiler	4
2.3.2. Aura evresi	5
2.3.3. Baş ağrısı evresi	5
2.3.4. Düzelme evresi	5
2.4. Migren Sınıflaması	5
2.4.1. Aurasız migren	7
2.4.2. Auralı migren ve diğerleri	8
2.5. Migren Patofizyolojisi	10
2.6. Migren Patogenezindeki Diğer Nedenler	12
2.6.1. Nitrik oksitin rolü	12
2.6.2. Magnezyumun rolü	12
2.6.3. Mitokondriyal hastalıkların rolü	13
2.6.4. Migrenin İmmünopatogenezi	13
2.6.5. Migrende Kanal Patolojilerinin Yeri	14
2.6.6. Hormonlar ve Migren	14
2.6.7. Trombositler ve Serotonin	15
2.6.8. Migren Patogenezinde Glutamatın Rolü	15
2.7. Migren Komorbiditesi	16
2.8. Migren Genetiği	16

2.8.1. Ailesel Kümelenme Çalışmaları	16
2.8.2. İkiz Çalışmaları	17
2.8.3. Familial Hemiplejik Migren	17
2.9. Migren ve Alerji	18
3. SİTOKİNLER	18
3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri	18
3.2. Sitokinlerin Fonksiyonel Kategorileri	19
3.3. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)	20
3.3.1. TNF'nin Biyolojik Etkileri	21
3.3.2. TNF'nin Başlıca Sistemik Etkileri	22
3.4. Sitokinler ve Nörofizyoloji	23
3.5. TNF- α Gen Özellikleri	25
4. HASTALAR VE YÖNTEM	26
4.1. TNF- α düzeyi	26
4.2. TNF- α Gen 308 G/A polimorfizmi	26
4.3. İstatistiksel Analiz	32
5. BULGULAR	33
6. TARTIŞMA	39
7. SONUÇ	42
8. KAYNAKLAR	43

KISALTMALAR

ADP: Adenozindifosfat

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

C GRP: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid

Ca: Kalsiyum

CADASİL: Serabral otozomal dominant arteriopati subkortikal infarkt ve lökoensefalopati

FHM: Familyal hemiplejik migren

IHS: Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu

KYD: Kortikal yayılan depresyon

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentetaz

IL: İnterlökin

ICAM: İntraselüler adezyon molekülü

VCAM: Vasküler hücre adezyon molekülü

K: Potasyum

NO: Nitrik oksit

5-HIAA: 5 Hidroksi-indol-asetik asit

5-HT: 5 Hidroksi triptofan

4-HTE: 5 Hidroksi triptamin

PET: Pozitron emisyon tomografi

FMRG: Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

FMRS: Fonksiyonel manyetik rezonans spektroskopisi

LPS: Lipopolisakkarit

MHK: Majör histokompatibilite

IFN: İnterferon

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RFLP: Restriksiyon fragman analizi

VIP: Vazoaktif intestinal polipeptid

ŞEKİL ve TABLO DİZİNLERİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
2.1. '2004' yılında yapılan yeni IHS migren sınıflaması	6
2.2. Aurasız migren tanı kriterleri	7
2.3. Auralı migren tanı kriterleri	9
4.1. TNF α geni -308 G/A'nın PZR için kullanılan primer dizisi	30
4.2. PZR protokolü	31
4.3. RFLP analizinde kullanılan kesim enzim ve paternleri	32
5.1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri	33
5.2. TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların genotip dağılımı	33
5.3. Çalışma gruplarının Hardy-Weinberg analizi	34
5.4. Hastalarda cinsiyet ve yaşın, TNF- α düzeyleri (pg/ml) ile ilişkisi	34
5.5. Kontrol grubunda cinsiyet ve yaşın, TNF- α düzeyleri (pg/ml) ile ilişkisi	35
5.6. Hasta ve kontrol grubunda TNF- α düzeyleri (pg/m)	35
5.7. TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların genotip dağılımı ile migren atağı durumuna göre TNF α düzeyleri arasındaki ilişki	37
5.8. G/A ve G/G genotipini taşıyan hastaların ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması	38

Grafik No:

5.1. Kontrol grubunun ve migrenli hastaların ataklı ataksız dönem TNF- α düzeyleri	36
5.2. G/A genotipli migrenli hastaların ataklı-ataksız dönem TNF- α düzeyinin karşılaştırılması	36
5.3. A/A ve G/A genotipini taşıyan hastaların ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması	38

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Baş ağrısı kişiyi ağrı özelliği ve ağrı ile ilişkili semptomları nedeni ile etkileyebilmektedir. Migren patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu primer bir baş ağrısıdır ve oldukça yaygındır. Son yıllarda migren patofizyolojisinde entegre nörovasküler teori kabul edilmektedir ve trigeminovasküler sistemin aktivasyonu sonucu vazoadaktif peptidlerin salınmasına bağlı ağrıya duyarlı yapılarda kan damarlarının dilate olması nörojenik inflamasyonu artırmakta trigeminal sinir aktivasyonu ile ağrıya yol açmaktadır (1,2). Sitokinlerden biri olan tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α)'da nörovasküler inflamasyonda ağrı mediyatörüdür ve migren ağrısı oluşumunda potansiyel mekanizmalardan biri olabilir. Sitokin genlerindeki polimorfizmler transkripsiyon aktivitesini etkilemek suretiyle sitokin üretiminde bireysel farklılıklara neden olarak klinikte enfeksiyonların sonlanması ya da otoimmün hastalıklara direnç veya yatkınlıkta artışla sonuçlanabilir. Bir çok çalışma göstermiştir ki; TNF- α A aleli, G aleline göre daha güçlü transkripsiyonel aktivatörüdür ve yüksek TNF- α düzeyi ile sonuçlanır. Yüksek TNF- α düzeyi ise çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, TNF- α -308 G/A polimorfizminin varlığının migren riskini artırıp artırmadığını ve TNF- α -308 G/A polimorfizminin serum TNF- α düzeyi üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanımlama

Baş ağrısı toplum içinde sık görülen semptomlardan bir tanesidir ve insanları etkileyen ağrılı durumlardan en yaygın olanıdır (3).

Migren, primer baş ağrıları içinde en sık olanı değilse de, hayat kalitesini etkilediği için önemlidir. Migrende tanı öyküye dayanarak konulur. Fizik muayene, nörolojik muayene, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri ise benzer baş ağrısına sebep olan başka nedenleri dışlamak için yapılır (4).

Migren ailesel özelliği olan, periyodik, sıklıkla tek taraflı zonklayıcı baş ağrısı ile karakterize olup, çocukluk çağında, adolesan veya erişkin yaşta başlayabilir ve genellikle yaş ilerledikçe sıklığı azalır (5). Bu ağrılar hemen her zaman stereotipik uyaranlar tarafından provake edilir (6).

1988 yılında Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu (IHS) tarafından baş ağrısı tanısında standart olacak ve özellikle klinik araştırmalarda kullanılmak üzere bir sınıflama sistemi oluşturulmuştur ve 2003 yılında bazı değişiklikler yapılarak yeniden yayınlanmıştır (7).

2.2. Migren sıklığı

Beyaz ırktaki migren prevalansı erkeklerde %4-8, kadınlarda %13-18 arasındadır, Asya'lılarda ise daha düşüktür. Hastaların %80'inden fazlasında başlangıç yaşı 30'un altındadır (5).

Migren prevalansı ergenlik öncesi dönemde erkek ve kadınlarda benzer oranlardayken, ergenlik yaklaştıkça kadınlardaki prevalans erkelere oranla daha hızlı artış gösterir. Kadınlardaki prevalans ortalama 40 yaşına kadar artış göstermekte, sonrasında ise azalmaktadır (7)

Danimarka'da yapılan bir epidemiyolojik çalışmada migrenin yaşam boyu prevalansı %16 (%8 erkek, %25 kadın); bir yıllık prevalansı ise %10 (erkeklerde %6, kadında %15) bulunmuştur. Aurasız migren prevalansı %6 auralı migren prevalansı ise %4 olarak

belirlenmiştir (8). Migrenin bir yıllık prevalansı erişkinlerde %10-12 (erkeklerde %6, kadınlarda %15-18) arasındadır (9).

1999'da yapılan 2. Amerikan migren çalışmasında, migren prevalansının 8 ile 40 yaşları arasında artış gösterdiği, daha sonra her iki cinsiyette de azaldığı saptanmıştır. Migren prevalansı 1989'daki çalışma ile benzer olarak kadınlarda %18.2, erkeklerde %6.5 olarak bulunmuştur (10).

Ülkemizde gerçekleştirilen baş ağrısı epidemiyolojisi çalışmasında, 15-55 yaş grubunda migren prevalansı %16.4 olarak bulunmuş olup, bu oran kadınlar için %21.8, erkekler için %10.9 olarak belirlenmiştir (11). Bölgesel olarak bakıldığında Marmara, Orta Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde migren prevalansı %11.4-17.7 arasında değişmekteyken; Ege, Akdeniz, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da artarak %20.6-%24 gibi değerlere ulaşmaktadır (11).

Stovner ve arkadaşlarının Avrupa'da yaptığı epidemiyolojik çalışma ile migren prevalansının %9.6-24.6 (erkeklerde ortalama %7.5, kadınlarda ortalama %16.6) arasında değiştiği saptanmış ve her yaş grubu için ayrı değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (12).

Queriaz ve arkadaşlarının Brezilya'da yaptığı epidemiyoloji çalışmasında ise migren prevalansı %22.1 olarak saptanmıştır. Bu oran Avrupa ile Kuzey Amerika'dan daha yüksektir. Yine bu çalışmada, sosyoekonomik durumu ve öğrenim düzeyi düşük olanlar ile eşinden ayrılmış olanlarda migren görülme oranı daha yüksek bulunmuştur (13).

Amerikan popülasyonunda migrenin bir yıllık prevalansı %12 (erkeklerde %6 kadınlarda %18) olarak bildirilmektedir (13). Fransa'da da benzer oranlar bulunmaktadır (14).

Ülkemizde Karlı ve arkadaşlarının 12-17 yaş arası öğrencilerde yapmış olduğu çalışmada migren prevalansı %10.4 olarak saptanmıştır. Demografik faktörler açısından migren ve migren dışı baş ağrıları arasında fark saptanmamıştır (15).

Migrenle karşılaşma olasılığı çocukluk döneminde anlamlı bir cinsiyet farkı göstermezken, puberteden sonra kadınlarda artmakta ve erişkin nüfusta kadın/erkek oranı 2/1'e

ulaşmaktadır. Aile bireylerinden birinde migren bulunması sözkonusu ailenin diğer fertlerinde migrenle karşılaşma olasılığını ailesinde migren olmayanlara göre 2-4 kez daha artırmaktadır. Migren prevalansı yaş, cinsiyet, ırk, genetik faktörler, çevresel faktörler, sosyokültürel seviye gibi birçok neden tarafından etkilenmektedir (9).

2.3. Migrenin Evreleri

Migren atağında dört evre bulunabilir. Baş ağrısından saatler veya günler önce ortaya çıkan öncü belirtiler (prodrom) evresi, hemen öncesinde yer alan aura evresi, ağrı evresi ve düzelme evresidir. Çoğu olguda birden fazla evre görülse de migren tanısı için mutlaka bulunması gereken bir evre yoktur (4,7,16).

2.3.1. Öncü Belirtiler

Baş ağrısından saatler veya bazen günlerce önce başlayabilir. Bu öncü belirtilerden hipotalamusun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Öncü belirtiler migren hastalarının %20-60'ında görülmektedir. Belirtiler kişiler arasında değişkenlik gösterebilmekte ve hastalar tarafından ani ortaya çıkan psikolojik, nörolojik veya otonomik semptomlar şeklinde tarif edilmektedir (4,7,17).

Griffin ve arkadaşları, yeni bir elektronik güncelleme sistemi kullanarak, migren hastalarının bu öncü belirtileri kullanarak baş ağrısı ataklarının geleceğini %72 oranında öngörebildiklerini göstermiştir. En sık gözlenen öncü belirtiler, yorgunluk-bitkinlik hissi (%72), konsantrasyon güçlüğü (%51) ve ense sertliğidir (%50)'dir (7).

Kelman ve arkadaşlarının prodrom fazında 893 migrenli hastayı inceledikleri çalışmada, %17 hastada yorgunluk, duygudurum değişikliği veya gastrointestinal semptomlardan en az biri görülmüştür. Prodrom fazının %45 olguda bir saatten az, %13.6 olguda 1-2 saat, %15 olguda 2-4 saat, %13.1 olguda 4-12 saat ve %13.2 olguda ise 12 saatten uzun sürdüğü saptanmıştır (19).

2.3.2. Aura evresi

Migren aurası bir atağın öncesinde, beraberinde veya nadiren sonrasında görülen pozitif veya negatif karakterli fokal nörolojik belirtilerin bir karışımıdır. Aura belirtilerinin çoğu, 5 ile 20 dakika içinde gelişir ve sıklıkla 60 dakikadan kısa sürer (18). Aura görsel, duyuşal veya motor fenomenler şeklinde olabilir ve bazen lisan ve beyinsapı işlevlerini de etkileyebilir (18).

Baş ağrısı sıklıkla auranın bitiminden sonraki 60 dakika içinde ortaya çıkarsa da bazen birkaç saat gecikebilir veya hiç ortaya çıkmayabilir (20,21). Prospektif bir çalışmada baş ağrısının aurayı %80 oranında izlediği gösterilmiştir (21).

Kirchman'ın auralı migreni olan 362 olguda yaptığı araştırmada %99 görsel aura semptomları, %54 duyuşal aura semptomları ve %32 afazik aura semptomları izlenmiştir (22). Görsel aura görme alan defektleri, görme alanının yarısında parlak ışıklar görme zigzaglı çizgiler, karanlık noktalar görme şeklindedir. Nadir olarak aura bulguları duyuşal, motor, afazi, oftalmopleji veya beyinsapı disfonksiyonları şeklinde olabilir (6,7).

Aura 40 yaşından sonra başlamışsa, negatif belirtiler baskınsa, uzun ya da çok kısa süreli ise ileri araştırma yapılmalıdır (16).

2.3.3. Baş ağrısı evresi

Migrenin tipik baş ağrısı tek taraflı zonklayıcı, orta-ağır şiddettedir ve fiziksel aktivite ile artar. Ağrı başlangıçtan itibaren iki yanlı olabilir (hastaların %40'ında) veya tek taraflı başladıktan sonra jeneralize olabilir (23). Migren ağrısı en sık sabaha karşı 5 ile öğlen 12 arasında başlar (23). Başlangıç genellikle tedricidir ve ağrı sıklıkla başlangıçtan sonraki 2-12 saat içinde maksimum şiddete ulaşarak atağa dönüşür, sonra da yavaş yavaş azalarak geçer. Tedavi edilmemiş bir migren atağının ortalama süresi 24 saattir ve alışılmış zaman aralığı erişkinlerde 4-72 saat arasında, çocuklarda ise 1-48 saat arasında değişebilmektedir (18). Şiddeti 0 ile 10 arasında değişen ölçekten genellikle 7-8 puan alır (24).

2.3.4. Düzelme evresi

Düzelme evresinde ağrı giderek azalır ve kaybolur. Hasta kendini tükenmiş, huzursuz ve kayıtsız hissedebilir. Konsantrasyon güçlüğü, kafa derisinde hassasiyet duygu durum değişiklikleri olabilir (4,7).

2.4. Migren Sınıflaması

Baş ağrısı pek çok hastalığa eşlik edebileceği için, sistematik bir yaklaşım migrende doğru tanı ve tedavi için çok önemli bir basamaktır (7). İlk baş ağrısı sınıflaması 1962’de yapılmıştır (25). Daha önceki baş ağrısı sınıflandırmasında bir isimlendirme bütünlüğü olmadığı için 1988 yılında IHS baş ağrısı tanısında standart olacak ve özellikle klinik araştırmalarda kullanılacak yeni bir sınıflama sistemi oluşturmuştur (18).

IHS kriterleri Dünya Sağlık Örgütü tarafından da kabul görmüştür. Böylece IHS çeşitli baş ağrısı tiplerinde bütün dünyada bir terminoloji bütünlüğü sağlanmasında ve tanı kriterlerinin oluşturulmasında önem kazanmıştır (7). IHS sınıflamasında ilk grubu migren baş ağrıları oluşturmaktadır. 1988’de migren baş ağrısı yedi başlık altında toplanmış daha sonra 2004 yılında bu sınıflama yeniden düzenlenmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. ‘2004’ yılında yapılan yeni IHS migren sınıflaması (159)

1.1	Aurasız migren
1.2	Olası auralı migren
1.3.1	Auralı migren
1.3.2	Migren baş ağrılı tipik aura
1.3.3	Migren olmayan baş ağrılı tipik aura
1.3.4	Baş ağrısız tipik aura
1.3.5	Familiyal hemiplejik migren (FHM)
1.3.6	Sporadik hemiplejik migren
1.4	Baziler tip migren
1.5	Sıklıkla migrenin öncüsü çocukluk dönemi periyodik sendromları
1.5.1	Siklik kusma
1.5.2	Abdominal migren
1.5.3	Çocukluk döneminin iyi huylu paroksizmal vertigosu
1.6	Retinal migren
1.7	Migren komplikasyonları
1.7.1	Kronik migren
1.7.2	Migren statusu
1.7.3	Enfarktsız ısrarlı aura
1.7.4	Migrenöz enfarkt
1.7.5	Migren ile tetiklenen nöbetler

2.4.1.Aurasız migren

Aurasız migren en sık görülen migren alt tipidir. Aurasız migren tanı kriterleri Tablo 2.2’de özetlenmiştir. Habersiz başlayan, dakikalar veya daha uzun süreler içinde yerleşen yarım baş ağrısı veya daha az sıklıkla yaygın baş ağrısı ile karakterizedir. Birkaç saat veya bir-iki gün sürer. Migren baş ağrısının tek taraflı ve zonklayıcı olması en karakteristik özelliğidir (5,16).

Tek taraflı ağrı, eşlik eden bulantı veya kusma, pozitif aile öyküsü, ergotamin cevabı kafa derisi hassasiyetinin değişen kombinasyonları migren tanısını koymakta kullanılır (26).

Baş ağrı öncesinde veya süresince fokal serebral veya beyinsapı bozukluğu yoktur. Başlangıçta tek taraflı olan ağrı tüm başa yayılabilir. Baş ağrısı istirahatde de devam edebilir ya da aktivite ve/veya valsalva manevrası ile şiddetlenebilir (27).

Tablo 2.2. Aurasız migren tanı kriterleri (159)

- | |
|---|
| <p>A. B-D maddelerine uyan en az 5 atak</p> <p>B. 4-72 saat süren baş ağrısı atakları</p> <p>C. Baş ağrısı aşağıdaki özelliklerden en az ikisine sahiptir:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Tek taraflı yerleşim2. Zonklayıcı nitelik3. Orta veya şiddetli ağrı4. Günlük fiziksel aktivite ile artış ya da onlardan kaçınmaya neden olma <p>D. Baş ağrısı sırasında aşağıdakilerden en az birisinin bulunması:</p> <ol style="list-style-type: none">1. bulantı ve/veya kusma2. fotofobi ve fonofobi <p>E. Başka bir bozukluğa bağlanamamalı</p> |
|---|

2.4.2.Auralı migren ve diğerleri

Auralı migren günümüzde klasik migren için kullanılan bir terimdir. Tablo 2.3’de auralı migren tanı kriterleri özetlenmiştir. Sıklıkla nöral fonksiyonlarda görsel bir bozukluk ile başlar. Bir iki dakika içinde yarım baş ağrısı veya vakaların üçte birinde iki taraflı baş ağrısı gelişir, bulantı ve bazen de kusma tabloya eklenir. Hepsi birkaç saat ya da 1-2 gün kadar sürer (28).

Aura; geçici görsel, duyuşal, motor veya diğer fokal serebral veya beyin sapı semptomlarından oluşabilir. Baş ağrısı özellikleri aurasız migren ile benzerdir fakat tek taraflı olma özelliği auralı migrende daha sıktır.

Aura 5-20 dakika içinde yavaşça ortaya çıkan 60 dakikadan kısa süren tekrarlayıcı, geri dönebilen fokal nörolojik semptom atağıdır (7).

Görsel aura beyaz veya gümüş ışık çakmaları veya nadiren çok renkli ışıklar (fotopsi) şeklinde olabilir. Bunu titrek köşeli, genişleyen kör nokta (sintilasyonlu skotom) veya göz kamaştırıcı ziz zag çizgi (teikopsi) oluşumu izleyebilir (28).

Diğer fokal nörolojik bulgular görsel olanlardan daha azdır. Dudak yüz ve elde uyuşukluk ve seyirme, hafif konfüzyon, güçsüzlük, hafif afazi veya dizartri, baş dönmesi, sersemlik olabilir (7).

Tablo 2.3. Auralı migren tanı kriterleri (159)

A. B ve C maddelerine uyan en az iki atak

B. Aşağıdaki dört özellikten en az üçünün olması

1. Fokal beyin fonksiyon bozukluğu ile açıklanabilecek ve tamamen düzelen aura belirtileri
2. En az bir aura belirtisinin en az 4 dakika veya daha uzun sürede yavaşça ortaya çıkması veya birbiri ardına iki veya daha fazla belirtinin çıkması
3. Her belirtinin 60 dakikadan kısa sürmesi; eğer birden fazla aura belirtisi varsa süre bununla orantılı olarak artabilir.
4. Baş ağrısının aura sırasında başlaması veya daha sıklıkla auradan sonra arada 60 dakikadan kısa bir belirtisiz dönem sonrasında başlaması

C. Baş ağrısının başka bozukluğa bağlanamaması gerekir.

Baziler migren; kadınlarda daha sık olmak üzere her iki cinsiyeti her yaşta etkileyebilir (7). Görsel aura bazen her iki görme alanını etkileyebilir ve geçici körlüğe yol açabilir. Bu görsel auranın ardından sıklıkla ataksi, vertigo, kulak çınlaması, çift görme, bulantı, kusma, nistagmus, iki yanlı parestezi, uykuya meyil veya mental durum değişikliği görülebilir. Bu semptomları sıklıkla oksipital baş ağrısı takip eder.

Konfüzyonel migren; bir migren varyantı olarak kabul edilmektedir. Tipik aura, baş ağrısı ve konfüzyonla karakterizedir, uyanıklığı ve bilinç durumunu kontrol eden merkeze ait bir auradır (5,7,27).

Familyal hemiplejik migren; tipik olarak çocuklukta başlayıp genellikle erişkin dönemde sonlanır. Kalıtımı otozomal dominanttır. IHS hemiplejik migreni sporadik ve familyal olmak üzere iki alt gruba ayırmıştır. Ailesel hemiplejik migrenlilerin %20'sinde nistagmus ve progresif ataksi gibi serebellar belirti ve bulgular izlenebilmektedir. Olgular asetazolamide cevap vermektedir. Etkilenen ailelerin %60'ında sorumlu gen 19p13 kromozomunun kısa kolunda lokalize edilmiş ve klonlanmıştır (29). Hemipleji auranın bir parçası olabilir ve bir saatten kısa sürebilir (tipik auralı migren) veya günlerce haftalarca sürebilir. Baş ağrısı hemipareziden önce olabilir veya hiç bulunmayabilir (30).

2.5. Migren Patofizyolojisi

Migren patogenezinde vasküler hipotez 1930'da ilk defa Wolff tarafından tanımlanmıştır. Son yıllarda elde edilen bilgiler ışığında migren patofizyolojisinde vasküler teoriden uzaklaşmış entegre nörovasküler teori kabul edilmiştir. Vasküler teoride kraniyal damarlardaki vazospazm ve vazodilatasyon ile migren semptomlarının ortaya çıktığı öne sürülmüştür. Nörovasküler teori de ise trigeminovasküler sistemin aktivasyonu sonucu vazoaaktif peptidlerin salınmasına bağlı olarak vasküler değişikliklerin olduğu savunulmaktadır. Bu olaylar sonrasında ağrıya duyarlı yapılarda kan damarlarının dilate olması nörojenik inflamasyonu artırmakta ve trigeminal sinir aktivasyonu ile ağrıya yol açmaktadır (1,2).

Trigeminal sinir oftalmik dalı aracılığı ile pia, araknoid ve dura materdeki damarları, intrakraniyal damarların proksimalini yoğun bir biçimde innerve etmektedir. Trigeminal aksonların ve nosiseptörlerin perivasküler lokalizasyonu nedeniyle meninksler ve büyük damarlar ağrıya duyarlı iken, trigeminal innervasyondan yoksun beyin parankiminde ağrı duyusu bulunmamaktadır (2,32). Trigeminal sinirin periferik aksonlarının aktivasyonu, ağrı duyusunu trigeminal ganglion ve santral aksonları aracılığı ile 2. nöronları oluşturan C2 den bulbusa dek uzanan "trigeminal nucleus caudalis" (TNC) iletir. Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu ile bir yandan da antidromik olarak içeriğindeki kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), substans P ve nörokinin A (NKA) gibi nöropeptidlerin salınımı gerçekleşir. Bu nöropeptidlerin perivasküler alana salınması sonucunda vazodilatasyon, kan akımı artışı ve protein ekstrasvazasyonu yani nörojenik inflamasyon gelişir. Bu vazodilatasyon ve ödem perivasküler trigeminal aksonların daha fazla uyarılmasına ve dolayısıyla daha fazla ağrıya yol açmaktadır. Bugün migren modellerinde nörojenik inflamasyonun varlığı gösterilmiştir ve etkin bir terapötik ilaç olan triptanlarla bu nörojenik inflamasyon bloke edilebilmektedir (33,34) . Ataklar sırasında CGRP düzeylerinin yüksek bulunması da periferik trigeminal aktivasyonun bir göstergesidir. Ağrının TNC'den rostral beyin bölgelerine iletilmesi sırasında beyin sapındaki multisinaptik bağlantılar nedeniyle süperior salivator nükleus uyarılmakta, pterigopalatin ve otik ganglia aracılığı ile parasempatik aktivasyona (NO ve VIP salınımı) ve bu yolla da vazodilatasyona neden olmaktadır (35,36, 38) . Ağrı duyusu TNC'den çıkarak beyin sapında orta hattı çaprazlayıp trigeminal lemniskusu oluşturur ve daha sonra talamusun retro-postero-medial nükleusunda sonlanır. Buradan çıkan lifler ise primer

somatosensoriyel korteks ve singulat kortekse ulaşır. Ağrıya eşlik eden affektif ve emosyonel durumdan ise parabrakial nükleus, talamusun intralaminar nükleusu, amigdala ve insuler korteksi içine alan farklı bir yolağın aktivasyonu sorumludur (38,39).

Pozitron Emisyon Tomografi (PET) ve Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme (fMRI) çalışmalarıyla migren atakları sırasında beyin sapı yapılarının aktive olduğu gösterilmiş ve buna dayanarak beyin sapının migren jeneratörü olabileceği öne sürülmüştür (40).

Trigeminovasküler nosiseptif uyarıların modülasyonunda locus seruleus ve dorsal raphe çekirdekleri gibi aminojik beyin sapı çekirdeklerinin önemli rol oynadığı görüntüleme çalışmaları ile ortaya çıkarılmıştır. Bu yapılar serebral kan akımını düzenleyebilmekte ve kortikal nöronal uyarılabilirliği etkileyebilmektedir. Trigeminovasküler sistemin dolaylı veya doğrudan etkilenmesiyle de ağrının ortaya çıkabileceği bir olasılık olarak görülmektedir. Migrenlilerin 1/5'inde ağrıdan 20-40 dk önce ortaya çıkan görsel semptomlara bir oksipital lobdan kaynaklanan, kortikal yayılıcı depresyon (KYD) neden olmaktadır (41-44).

Lashley, kendi görsel aurasını çizerek, kortikal bozukluğun 2-3 mm/dak hızında ilerlediğini hesaplamıştır. Aura sırasında kan akımında da bölgesel bir azalma olur. Azalma oksipital lobdan başlar ve yavaşça ileri doğru (2.2 mm/dk) arter besleme alanlarına uymayan 'yayılan oligemi dalgası' şeklinde yayılır (28) . Bu yayılan oligemi veya hipoperfüzyon aura patogenezi açıklamaktadır. Hipoperfüzyon baş ağrısı ile aynı tarafta, aura ise karşı tarafta olmaktadır. PET ile değerlendirilen bir vakada bilateral hipometabolizmanın oksipital loblardan başladığı, temporal ve parietal lobun ön kısmına kadar yayıldığı gösterilmiştir (45) . fMRG'de ise görsel aura esnasında karşı oksipital kortekste aktivite azalması gözlenmiştir. MRG ve PET bulguları auradan Leao'nun tanımladığı KYD'nun sorumlu olduğunu desteklemektedir (46).

Migren de PET ile yapılan bir çalışmada migren atağı esnasında, dorsal pons, hipotalamus ve rostral limbik sistemde metabolizma değişiklikleri gösterilmiştir. Bu da retino-hipotalamik-pineal aksın primer baş ağrısı patofizyolojisinde stres cevabını bozmak suretiyle rol oynadığı düşünülmektedir (47). Hipotalamusun suprakiazmatik nükleusu

sirkadiyen ritimleri düzenleyen iki ana merkezden biridir ve migrenin periyodikliğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (48).

2.6. Migren Patogenezindeki Diğer Nedenler

2.6.1. Nitrik oksitin rolü

Migren baş ağrısında nitrik oksitin (NO) yeri değişik çalışmalarda incelenmiştir. Nitrogliserin deney hayvanlarında geç dönemde (4- 6 saat) endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve İnterlökin-6 (IL-6) gibi diğer inflamatuvar sitokinleri uyarmaktadır. Bu aktivasyon sadece trigeminal sinirden yoğun innervasyon alan dura materde bulunan perivasküler makrofajlarda ortaya çıkmaktadır (49). Bir çalışmada 156 migren hastasında eNOS Glu298Asp gen mutasyonu kontrol grubuna göre 2 kat fazla bulunmuş; bunun da migren için bağımsız bir risk faktörü olabileceği iddia edilmiştir. Bellamy ve arkadaşları tarafından NO'nun CGRP sentezini ve sekresyonunu artırarak inflamasyona yol açtığı ileri sürülmüştür (50). Migren tedavisinde NOS inhibitörleri yeni bir tedavi seçeneği olabilir (51).

2.6.2. Magnezyumun rolü

Magnezyumun (Mg) özellikle menstrüel migren patogenezinde önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. Mg-Kalsiyum (Ca) dengesini sağlamak için glutamat NMDA reseptörlerine bağlanmaktadır. Düşük Mg düzeyleri, Ca kanallarının açılmasına ve intraselüler Ca'un artmasına, aspartat ve glutamat salınımına yol açmaktadır. Buna bağlı olarak hücre dışında Potasyum (K⁺) düzeyinin artması KYD'ü tetikleyebilmektedir. Bir çalışmada 1000 mg intravenöz Mg verilmesinin auralı migrende daha fazla olmak üzere kontrol grubuyla karşılaştırıldığında migrenlilerde belirgin etkinlik gösterdiği saptanmıştır (52). Mg düzeyindeki düşüklük trombosit agregasyonunun artmasına ve vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Menstrüel migrenlilerde Mg düşüklüğü ve Ca⁺²/Mg⁺² oranının yüksek olması Mg'un patogenezedeki rolünü desteklemektedir (53).

2.6.3. Mitokondriyal hastalıkların rolü

Mitokondriyal ensefalopati (mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve strok benzeri sendrom, MELAS) olan kişilerde migren benzeri ataklar sık görülmektedir. Bu atakların mitokondriyal metabolizma defektine bağlı gelişen hücrel enerji metabolizma bozukluklarının bir sonucu olabileceği öne sürülmektedir (54,55).

Mitokondriyal metabolizma defekti bulunan hastalarda hücrel enerji metabolizması bozulmuştur. Sandor ve arkadaşları fonksiyonel manyetik rezonans spektroskopisi (fMRS) ile görsel stimülasyon esnasında kortikal laktat düzeylerinde değişiklikler olduğunu belirlemişlerdir (56). Migrenlilerde trombosit ve kas biyopsi materyallerinde solunum zincir enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (57). Migrenlilerde mitokondriyal oksidatif fosforilasyon bozukluğunun ve beyin ve/veya dokulardaki intraselüler serbest Mg düzeylerinde azalma olduğunun saptanması sonucunda, bu değişikliklerin nöronal disfonksiyon ve kortikal aşırı uyarılabilirliğe neden olabileceği öne sürülmüştür (58,59).

2.6.4. Migrenin İmmünopatogenezi

Trigeminal ganglion stimüle edildiğinde trombosit agregasyonu ve mast hücrelerinde degranülasyon olduğu ve histamin salgılandığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (60). Histamin salgılanması ile lokal kan akımı ve vasküler permabilitede artış olmakta, antikorlarla birlikte diğer proteinlerin de hızla birikmesine yol açılmaktadır. Mast hücrelerinden salgılanan kinaz, triptaz ve serin esteraz gibi enzimler metalloproteinazları aktive etmektedir. Mast hücreleri aktive olduğunda prostoglandin D₂, lökotrien C₄, IL 4-13 ve TNF- α salgılanmaktadır (61). Alerjik riniti olan hastalarda, olmayanlara göre migren prevalansı yüksek olup bu durum migren patogenezinde infalasyon ve vazodilatasyonun histamin aracılığı ile olabileceğini destekler (62). Histamin infüzyonunun migren atağını tetiklediği ve migrenli hastaların hem atak sırasında hem de ataklar arasında daha yüksek kan ve idrar histamin düzeyine sahip olduğu gösterilmiştir (63).

Histaminerjik H₃ agonistlerinin migren profilaksisindeki etkisini değerlendirmek amacı ile yapılan faz 3 klinik farmakolojik bir çalışmada N- α -metil-histamin, haftada 2 gün subkutan uygulanmış ve aktif ilaç alan grupta yan etki açısından farklılık olmaksızın atak süresi, sıklığı ve şiddetinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır (p=0.0001) (64).

Kemokinler ve integrinler, intraselüler adezyon molekülü (ICAM) ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) gibi adezyon moleküllerini aktive ederek inflamatuvar hücrelerin merkezi sinir sistemine invazyonunda rol oynamaktadırlar (65). Sitokin, kemokin ve adezyon moleküllerinin atak esnasında artışı vazodilatasyon, plazma protein ekstrasvazasyonu ve nörojenik inflamasyon oluşumu ile koreledir. Tedavide kullanılan nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, triptanlar ve ergo alkaloidleri plazma protein ekstrasvazasyonunu önleyerek ağrıyı azaltmaktadır (66).

2.6.5. Migrende Kanal Patolojilerinin Yeri

Kalsiyum kanal defekti, glutamat, potasyum ve serotonin gibi nörotransmitterlerin salınım ve geri alımında bozukluğa ve ayrıca beyin enerji metabolizmasında değişikliğe neden olmaktadır. Böylece santral nöronal aşırı uyarılabilirlik durumuna yol açmaktadır (67). Otozomal dominant geçiş gösteren ailevi hemiplejik migren olgularında yapılan çalışmalar da migren patogenezinde kanal patolojilerinin rolü olabileceğini düşündürmektedir. FHM' de P/Q voltaj bağımlı Ca kanal alt ünitesini kodlayan CACNA1A geninde, 1. kromozomda (1q23) Na-K ATPaz geninde ve SCN1A Na kanal kodlayıcı gende mutasyon saptanmıştır (68).

2.6.6. Hormonlar ve Migren

Menarş, menopoz, gebelik ve kontraseptif kullanımı gibi olaylar ve girişimler hormonların döngüsünü ve seviyesini değiştirerek migren sıklığını ve şiddetini değiştirebilmektedir. Östrojenler ve progestinler santral serotonerjik ve opioid reseptörler üzerinde güçlü etkiler göstererek nöronal aktiviteyi ve reseptör yoğunluğunu değiştirebilmektedir. Menstrüel migrenin primer tetikleyicisi yüksek ya da düşük östrojen seviyesi değil, östrojenin geri çekilmesidir. Bunun yanında östrojen seviyesindeki artış ve menopoz gibi kalıcı düşüklük yaratan durumlar da baş ağrılarını etkilemektedir (69).

Menstrüel siklusta migrenli kadınların baş ağrısı insidansı %60'lara ulaşmaktadır. Bu da patogeneizde hormonların rolü olabileceğini düşündürmektedir. Östrojenin ani azalmasının serotonerjik kayba ve baş ağrısına yol açtığı ileri sürülmüştür. Migrenli çoğu kadında

menstrüel dönemdeki baş ağrısı atakları diğer dönemlerden daha şiddetlidir ve daha uzun sürmektedir (70).

2.6.7. Trombositler ve Serotonin

Migrenlilerden elde edilen trombositlerin serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HTE), adenozin difosfat (ADP), katekolaminler ve tiramin gibi çeşitli vazomotorik aminlerle karşılaştıklarında daha kolay agregasyon oldukları bilinmektedir. Normalde kanda bulunan serotoninin çoğunun trombositlerde bulunduğu ve migren atağının başlangıcında plazma serotonin konsantrasyonunda önemli bir artışın ardından idrarda, serotoninin bir yıkım ürünü olan 5-hidroksi-indol-asetik-asit'in (5-HIAA) artış gösterdiği bilinmektedir. Serotonin büyük arterleri daraltırken, arterioller ve kapillerleri genişletir. Serotonin içeren nöronlar, uzantıları diğer nöronal merkezlere ve serebral mikrodamarlara yaygın dağılımı olan beyinsapı raphe nükleusunda özellikle yoğunlaşmıştır. Bir migren atağı sırasında ve sonrasında PET ile beyinsapı aktivasyonunun görüntülenmesi (Weiller ve ark,1995) beyin sapının rolünü göstermektedir.(71).

Migrenli hastalarda idrarda 5-HIAA ve 5-hidroksi triptofan (5-HT) salınımı değerlendirilmiş ve baş ağrısı esnasında başlıca 5-HIAA salınımının arttığı gözlenmiştir (72). 5HT-1B/D reseptörlerinin trigeminal akson uçlarında yoğun olarak bulunduğu, trigeminal aktivasyona bağlı nöropeptid salınımını ve nörojenik inflamasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (73, 74). 5-HT'in afferent sinir liflerini duyarlılaştırması inflamasyon ve sinir hasarında hiperaljeziye yol açmaktadır (75). 5-HT1B/D reseptör agonisti olan triptanlar migren tedavisi için geliştirilmiştir. Triptanlar nörojenik inflamasyonu azaltıp, meningeal damarlarda vazokonstriksiyon yapmaktadır (76). Auralı migrenlilerde serotonin taşıyıcı gen (SLC6A4) polimorfizmi gösterilmiş ve predispozan bir faktör olduğu ileri sürülmüştür. PET ile yapılan bir çalışmada migrenli hastalarda serotonerjik aktivite artışı gösterilmiş ve ayrıca triptanlarla migrenli hastaların baş ağrılarında düzelme olması serotoninin rolünü desteklemiştir (74).

2.6.8. Migren Patogenezinde Glutamatın Rolü

Epileptik hastalarda olduğu gibi, glutamat düzeyindeki artış ve Mg düzeyindeki azalma anormal nöronal eksitabiliteye neden olur. Glutamat SSS'nin majör eksitator

nörotransmitterdir ve belirgin bir şekilde beyin enerji metabolizmasına katılır. Klinik ve preklinik çeşitli deneyler ve gözlemler, migrende glutamerjik sistemi işaret etmektedir.

Rodentlerdeki çalışmalarda KYD sırasında glutamat ve taurin salındığı gösterilmiştir. Ayrıca glutamat KYD'nun ortaya çıkmasına ve ilerlemesine neden olabilir (77- 79).

2.7. Migren Komorbiditesi

İlk kez Feinstein tarafından ortaya atılmış olan komorbidite terimi bir bireyde iki ayrı hastalığın tesadüf dışı bir ilişki sonucu birlikte görülmesi anlamında kullanılmaktadır (80). İki hastalığın birlikteliği rastlantısal, ortak risk faktörlerine bağlı, hastalıklardan birinin diğerine bağlı olması veya aynı gen lokusunda yer alan iki hastalığın birlikte gen dağılımı göstermesine bağlı olabilir. İskemik serebrovasküler olay, epilepsi, multipl skleroz, mitokondriyal hastalıklar, serebral otozomal dominant arteriyopati subkortikal infarkt ve lökoensefalopati (CADASIL), alerji, astım, bipolar bozukluk, depresyon, anksiyete bozukluğu gibi hastalıkların migren ile birlikte görülme sıklığının anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (7).

2.8. Migren Genetiği

FHM'in genetik bölgesinin kromozom 12'de bulunduğunun gösterilmesi ve bu bölgeden aday bir gen ürününün ortaya konması ile migren genetiği çalışmalarında moleküler çağa girilmiştir (81,82).

2.8.1. Ailesel Kümelenme Çalışmaları

Auralı migreni bulunan bireylerin birinci dereceden akrabalarında auralı migren bulunma riski dört kat artmış olarak bulunmuştur. Aurasız migreni bulunan bireylerin birinci dereceden akrabalarında auralı migren bulunma riski ise 1.9 kat artmıştır. Bazı aileler bariz otozomal dominant geçiş gösterirken, bazıları inkomplet penetranslı otozomal resesif geçiş göstermektedir (83).

2.8.2. İkiz Çalışmaları

Klinik temelli ikiz çalışmaları tutarlı bir biçimde monozigot ikizlerde migren birlikteliğinin dizigotik ikizlere göre daha sık görüldüğünü ortaya koymuştur. Bu da genetik faktörlerin etiyolojik rolünü ortaya çıkarmaktadır (84, 85).

Avustralya çalışmasında (n=5844) aynı cinsten ikizlerde proband açısından birliktelik kadınlarda monozigot ikizlerde 0.44, dizigotik ikizlerde 0.24 bulunurken erkeklerde ise, monozigot ikizlerde birliktelik oranı 0.31, dizigotik ikizlerde ise 0.18 olarak bulunmuştur (83). Monozigot ikizlerde dizigotik ikizlerden daha yüksek konkordans saptanmıştır. Bu veriler ayrıca monozigotik ikizlerde birliktelik oranının 1.0'ın hayli altında olması dolayısıyla genetik dışı faktörlerin de önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. İkiz çalışmaları migrende hem genetik faktörlerin hem de risk faktörlerinin önemini desteklemektedir (83).

2.8.3. Familial Hemiplejik Migren

FHM mendel tipi dominant kalıtmalı auralı migren şeklidir (86). Tipik bir atakta tek yanlı motor güçsüzlük ve en az bir başka aura semptomu (görsel aura, duyuşsal bozukluk, afazi) görülmektedir. 1-2 saat süren bu auranın ardından migren tipi baş ağrısı gelmektedir. FHM'li ailelerin yarısında 19. kromozoma ait gen mutasyonları saptanmıştır (FHM1) (87). Bu migrene spesifik anormallik 19. kromozomdaki nöronal P/Q tipi Ca^{+2} kanallarının α -1a alt ünitesini kodlayan CACNA1A genindeki 'missens' mutasyondur. Bu migren patogenezinde kanalopatinin de sorumlu olabileceği görüşüne yol açmıştır (88). Hayvan deneylerinde P/Q tipi Ca^{+2} kanal mutasyonlarının kortikal uyarılabilirliği ve KYD'u modifiye edebileceği gösterilmiştir. Bu kanalların eksitatör bir aminoasit olan glutamat ve 5-HT salınımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (89).

İkinci FHM mutasyonu 1.kromozomda (1q23) Na-K-ATPaz geninde bulunmuştur. Na-K-ATPaz α -2 alt ünitesinin başlıca astrositlerde bulunduğu ve depolarizasyon sonrası hücre dışına çıkan K^{+} iyonlarının hücre dışı ortamdan uzaklaştırılması ve glutamatın dolaylı olarak sinaptik aralıktan geri alınmasında kritik rol oynadığı saptanmıştır (90).

Dichgans ve ark. SCN1A nöronal voltaj kapılı Na^{+2} kanalının α -1 subünitesinde FHM tip3'e neden olan kanalın hızlı inaktivasyonundan sorumlu bir mutasyon belirlemişlerdir (91).

Sporadik hemiplejik migren olgularında da FHM genlerinde mutasyonlar saptanabilmektedir. Ancak ATP1A2 ve CACNA1A2 mutasyonunun sporadik hemiplejik migren için çok nadir olduğu bildirilmiştir (92).

2.9. Migren ve Alerji

Migren ataklarında sekonder parasempatik nasal semptomlar görülebilir. Cady ve Schreiber migren atağı sırasında nazal konjesyon ve rinore varlığını endoskopik olarak göstermiştir (93). Alerjik rinitte olduğu gibi migrenöz midfasiyal ya da nazal ağrıda, substans P, CGRP, VIP gibi çeşitli nöropeptidlerin salınımı olabilir (94,95). Alerjik rinit ve migren benzer nöronal yolu paylaşırlar (96).

Gazerani ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 70 aurasız migreni olan hastada total IgE ve histamin düzeylerini değerlendirmişler ve migren grubunda kontrol grubuna göre histamin ve IgE düzeylerinde belirgin bir yükselik saptamışlardır (96).

3. SİTOKİNLER

Sitokinler, kalıtsal ve kazanılmış immünite hücrelerinden salınan ve bu hücrelerin birçok fonksiyonuna aracılık eden proteinlerdir. Yabancı mikroorganizmalar ve antijenlere yanıt olarak üretilirler. Farklı sitokinler immünite ve inflamasyonda yer alan hücrelerin birbirinden farklı yanıtlarını uyarırlar (97).

3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri

Sitokin salınımı kısa ve kendi kendini sınırlayan bir olaydır. Sitokinler çoğunlukla önceden yapılmış moleküller olarak depolanmazlar. Sentezleri hücresel bir aktivasyon sonucu yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Transkripsiyonel aktivasyon geçicidir ve çoğu sitokinin mRNA'sının kodlanması stabil değildir. Yani sitokin sentezi de geçicidir (97).

Sitokinlerin etkileri sıklıkla pleiotropiktir ve fazladır. Pleiotropizm bir sitokinin farklı hücre tipleri üzerine etki etme yeteneğine işaret eder. Bu özellik sayesinde sitokinler farklı biyolojik etkilere aracılık edebilirler. Yalnız aynı özellik sitokinlerin terapötik amaçlı kullanımını sınırlandırmaktadır. Çünkü istenen bir klinik etki için sitokin uygulanması çok sayıda istenmeyen yan etkinin ortaya çıkmasına neden olur. Fazladan kast edilen ise birçok sitokinin aynı fonksiyonel etkilere sahip olmasıdır. Bu özellik nedeniyle tek bir sitokin antagonisti veya bir sitokin geninin mutasyonu fonksiyonel olarak yanıt bulmayabilir. Çünkü diğer sitokinler o fonksiyonu kompanse edebilirler (97).

Sitokinler sıklıkla diğer sitokinlerin sentez ve fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirinin etkilerini antagonize edebilir veya birbirinin etkilerini artırabilir hatta beklenenden daha büyük sinerjistik etki oluşturabilirler (97).

Sitokin etkileri lokal ve sistemik olabilir. Birçok sitokin üretildikleri yere yakın alanda etki gösterirler. Sitokinin salındığı hücre üzerinde etki göstermesi otokrin etki, çevredeki başka hücreler üzerinde etki göstermesi ise parakrin etki olarak tanımlanır. Çok fazla miktarda üretildiklerinde sitokinler dolaşıma geçerek üretildikleri hücreden uzak alanlara da etki ederler. Bu da endokrin etki olarak tanımlanır (97)

Sitokinler etkilerini hedef hücrelerdeki spesifik membranlara bağlanarak başlatırlar (97).

Eksternal sinyaller sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu ve dolayısıyla hücrelerin sitokine yanıtını düzenler (97).

Birçok sitokin hedef hücrede gen ekspresyonu değişikliklerine neden olarak hücre cevabı geliştirir. Bu da hedef hücrelerin yeni fonksiyonlarının ekspresyonu ve bazen de hücre proliferasyonu ile sonuçlanır. Sitokinlerin indüklediği gen ekspresyon değişikliklerinin çoğu T ve B lenfosit farklılaşması ve makrofaj gibi efektör hücrelerin aktivasyonu ile sonuçlanır (97)

3.2. Sitokinlerin Fonksiyonel Kategorileri

Sitokinler üç ana fonksiyonel kategoride değerlendirilebilir:

Kalıtsal immünitinin medyatörleri ve düzenleyicileri esas olarak enfeksiyöz ajanlara yanıt olarak mononükleer fagositler tarafından üretilirler. Lipopolisakkarit (LPS) gibi bakteriyel ürünler ve çift iplikli RNA gibi viral ürünler kalıtsal immünitinin bir parçası olarak makrofajları bu sitokinleri salmaları yönünde direkt uyarırlar. Aynı sitokinler, adaptif hücre-aracılı immünitinin bir parçası olarak, antijenin stimüle ettiği T hücreleri tarafından aktive edilen makrofajlardan da salınır (97).

Adaptif immünitinin medyatörleri ve düzenleyicileri yabancı antijenin spesifik olarak hatırlanmasına yanıt olarak T lenfositlerde üretilirler. Bazı T hücre sitokinleri çeşitli lenfosit popülasyonlarının büyümesi ve farklılaşmasını düzenler. Bu nedenle T hücre bağımlı immün yanıtların aktivasyonunda önemli rol oynarlar (97).

Hematopoez uyaranları kemik iliği stromal hücreleri, lökositler ve diğer hücreler tarafından üretilirler ve immatür lökositlerin büyümesini ve farklılaşmasını uyarırlar (97).

3.3. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF- α ve β olmak üzere iki TNF formu mevcuttur. TNF- α makrofajlar, TNF- β ise çoğunlukla T hücreleri tarafından üretilirler. İkisi de aynı reseptöre bağlanır ve birçok etkileri paylaşırlar. İnsan TNF'si 233 aminoasit içeren bir prohormon olarak üretilmektedir. TNF geni 6. kromozomun kısa kolu üzerine lokalizedir ve major histokompatibilite kompleksinin (MHK) yakınında yerleşmiştir (98,99).

Gram negatif bakteriler ve diğer enfeksiyöz ajanlara karşı akut inflamatuvar yanıtın başlıca mediyatörüdür ve ciddi enfeksiyonlardaki sistemik komplikasyonların çoğundan sorumludur. TNF'nin ana hücresel kaynağı mononükleer fagositlerdir. Bununla birlikte T hücreleri, NK (natural killer) hücreler ve mast hücreleri de TNF salgılayabilirler. Moleküler büyüklüğü 55-kD olan tip I TNF reseptörü (TNF-RI veya p55 reseptörü) ve 75-kD olan tip II TNF reseptörü (TNF-RII veya p75 reseptörü) olmak üzere iki farklı TNF reseptörü vardır. Her iki TNF reseptörü neredeyse bütün hücre tiplerinde bulunmaktadır. TNF-RI eksikliği olan farelerde TNF-RII eksikliği olanlara göre konakçı savunması daha fazla bozulmuştur. Bu da TNF-RI'in sitokin fonksiyonları için daha önemli olduğunu düşündürmektedir (97).

TNF- α 'nın inflamatuvar sitokin ve nörotransmitter olarak fonksiyon görebildiği ve hipotalamusun regülatuvar merkezlerini innerve eden nöronlar tarafından üretildiği ileri sürülmüştür (100). TNF- α immünolojik etkilerinin yanında sinir hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmasını yönlendiren bir sitokindir (101). Bunun bir sonucu olarak TNF- α hem nörogelişim hem de nörodejenerasyon etkisi ile birtakım hastalıkların patofizyolojisinde yer alabilir (102). TNF- α oligodentrositler için sitotoksiktir ve multipl skleroz, bakteriyel menenjit, HIV enfeksiyonu ve SSS yaralanmalarından sonra seviyesi yükselir (103). TNF genleri tarafından üretilen sitokinler, inflamatuvar reaksiyon ve endotel fonksiyonlarının polipeptid efektörleridir (104). TNF'nin servikojenik baş ağrısında çok önemli bir aracı olduğu gösterilmiştir (105,106). Meningeal damarlardan TNF- α 'nın lokal ekspresyonu KYD ile uyarılır (107).

3.3.1. TNF'nin Biyolojik Etkileri

TNF'nin başlıca fizyolojik fonksiyonu nötrofil ve monositleri uyararak mikropların eradikasyonunu sağlamaktır. TNF bu etkilerini vasküler endotelial hücreler ve lökositler üzerinden gösterir (97).

TNF vasküler endotelial hücrelerin adezyon molekülleri eksprese etmelerini sağlar. Bu da endotelial yüzeyi öncelikle nötrofiller onu takip eden şekilde de monositler ve lenfositler için adeziv hale getirir. Bu adezyon moleküllerinin en önemlileri selektinler ve lökosit integrinleri için ligandlardır (97).

TNF endotel hücrelerinin ve makrofajların kemokin salınımını da uyarır. Kemokinler lökosit integrinlerinin ligandlarına afinitelerini artırır ve lökosit kemotaksisi ve ayrılmasını indükler (97).

TNF mononükleer fagositlerden TNF'nin kendisi gibi fonksiyon gören IL-1 salınımını uyarır. Ayrıca nötrofil ve makrofajların mikrobisidal aktivitelerini uyarır ve invitro olarak bazı hücre tiplerinin apoptozunu indükler.

TNF'nin endotel ve lökositler üzerine etkileri mikroplara karşı lokal inflamatuvar yanıt için kritiktir. Eğer yetersiz miktarda TNF varsa (örneğin nötralize edici anti-TNF antikorları uygulanan hayvanlar ya da TNF gen eksikliği olan fareler) enfeksiyonun

sınırlanmasında problem yaşanabilir. TNF ayrıca konakçıya zarar veren lokal inflamatuvar reaksiyonlarda da yer alır (örneğin otoimmün hastalıklar). TNF'ye karşı nötralize edici antikorlar veya çözünebilir TNF reseptörlerinin klinik kullanımı romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarında inflamasyonu azaltmıştır (97).

Ciddi enfeksiyonlarda TNF çok miktarlarda üretilir ve sistemik klinik ve patolojik anormalliklere neden olur (97).

3.3.2. TNF' nin Başlıca Sistemik Etkileri

TNF hipotalamus üzerinden ateşi indükler. Bu nedenle endojen pirojen olarak da bilinir. TNF'ye yanıt olarak ateşin yükselmesi artmış prostaglandin sentezi ile olur. Prostaglandin sentez inhibitörleri TNF ve IL-1'in bu etkisini bloke ederek ateşi düşürürler (97).

TNF hepatositlerde serum amiloid A ve fibrinojen gibi serum protein sentezini artırır. TNF'nin indüklediği hepatosit kaynaklı plazma proteinlerinin IL-1 ve IL-6 ile kombinasyonu inflamatuvar uyarana akut-faz yanıtını oluşturur (97).

TNF'nin uzamış üretimi kaşeksiye neden olur. İştahı baskılar ve lipoprotein lipaz sentezini azaltır. Bu enzim dolaşımdaki lipoproteinlerden yağ asidi ayrılmasını sağlar (97).

Çok miktarda TNF üretilince (serum konsantrasyonu 10^{-7} veya daha fazla) miyokardiyal kontraktilite ve vasküler düz kas tonusu baskılanır. Bu da kan basıncının düşmesi ve şok ile sonuçlanır (97).

TNF intravasküler tromboz nedenidir. Endotel normal antikoagülan özelliklerini kaybeder. TNF koagülasyonun kuvvetli bir aktivatörü olan doku faktörünün endotelial hücre ekspresyonunu uyarır ve koagülasyon inhibitörü olan trombomodulinin ekspresyonunu azaltır. Bu endotelial değişiklikler nötrofil aktivasyonu ile daha abartılı hale gelir. Vasküler tıkanma meydana gelir. Bu sitokinin tümör nekrozuna neden olabilmesi tümörü besleyen kan damarlarının trombozu sonucunda gerçekleşir (97).

TNF'nin dolaşımdaki yüksek düzeyleri hayatla bağdaşmayacak derecede kan şekeri düzeyinin düşmesi gibi ciddi metabolik bozukluklara yol açar. Glukoz kaslar tarafından aşırı derecede kullanılır, karaciğer de glukozu yerine koymakta sıkıntı yaşar (97).

Ciddi gram negatif bakteriyel sepsis komplikasyonu septik şok olarak adlandırılır. Vasküler kollaps, dissemine intravasküler koagülasyon ve metabolik bozukluklar izlenir. Bu sendrom LPS'lerin indüklediği TNF ve IL-1, IFN- γ gibi diğer sitokinlerin üretimine bağlıdır. Serum TNF konsantrasyonu ciddi gram negatif enfeksiyonların belirtici olabilir. Bu bir hastalık için dolaşımdaki sitokin düzeyinin bilgilendirici olduğu nadir örneklerden biridir. Deney hayvanlarına LPS ya da TNF uygulanarak septik şok oluşturulabilir (97).

3.4. Sitokinler ve Nörofizyoloji

Sitokinler çeşitli beyin işlevleri ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar, immünolojik, nörokimyasal, nöroendokrin ve davranışsal etkinliklerdir (108). Enfeksiyon ve yaralanma gibi özgül etkilerin yanında beyin kan akımı değişikliklerine bağlı olarak da sitokin salınımı değişebilmektedir (109). IL-1, TNF- α ve IL-6 gibi sitokinler hipotalamus ve hipofiz üzerine direkt etkiye sahiptirler. IL-1 ve IL-6 vücut ısısını düzenler. IL-1 aynı zamanda yavaş dalga uyukularını uyarır ve iştahı baskılar. Ayrıca immün sistemin bir çok hücresi nörotransmitterler, opioidler ve nöropeptidler için reseptörler eksprese eder (110-113). Nöronal ve glial hücre fonksiyonları, oldukça düzenli bir sitokin ve çözünebilir sitokin reseptör ağı ile düzenlenmektedir (114,115). Bu durum özellikle sitokinlerin nörotransmisyon yetenekleriyle de bağlantılıdır. Sistemik ya da santral her iki şekilde de sitokin verilmesi, hipotalamus, hipokampus ve nükleus akübensde noradrenerjik, dopaminerjik ve serotonerjik metabolizmada artışa yol açabilir (116-119). IL-1, IL-6 ve TNF nöron ve glia gelişimi üzerine trofik etkiler gösterirler. IFN- γ nöronal farklılaşmada rol oynamaktadır (120,121). Sitokinlerin in vivo olarak glial hücreleri aktive edebileceği ve tersine de glial hücrelerin aktive olduklarında sitokin üretebileceği ileri sürülmüştür (122,124).

Sitokinler infalamatuvar yolağın çok önemli medyatörüdür. Migren patogenezi ile yakın zamanda ilişkilendirilmiştir. Sitokin reseptörleri SSS'nin tüm hücrelerinde geniş bir şekilde eksprese edilir. TNF- α ve IL-6 santral ve periferik etkilerle hiperaljeziye neden olur. Bu kanıtlara göre sitokinler günümüzde, nörovasküler inflamasyonda ağrı mediyatörüdür ve migren de ağrı jeneratörünü oluştururlar (125). Aurasız migreni olan hastalarda yapılan bir

çalışmada interiktal dönemde TNF- α ve IL-1 düzeyleri yüksek bulunmuştur, fakat atak esnasında TNF- α , IL-1 α ve IL-1 β düzeylerinde artış saptanmamıştır (126). Migrenli hastalar sağlıklı kontrol grubu ile TNF- α düzeyleri açısından ataklı ve ataksız dönem sırasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (125). Munno ve arkadaşları migrenli hastalarda ve kontrol grubunda IFN- γ düzeyinde farklılık olmadığını gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak bu konu halen tartışmalıdır (127).

Proinflamatuvar sitokinler IL-1 β (128,129), TNF- α (130,131) ve anti-inflamatuvar sitokinler IL-10, IL-4, IL-13 ve IL-2 (132,133) ağrı eşliğinin modülasyonunda çok önemli rol oynarlar. Ayrıca trigeminal sinirin sensitizasyonuna da katkıda bulunurlar. Yapılan bir çalışmada migren hastalarında pro- ve anti-inflamatuvar sitokinlerde dalgalanma olduğu görülmüştür (134). Baş ağrılı ve ağrısız dönem karşılaştırıldığında, önceki çalışmalardan farklı olarak migren atağı sırasında TNF- α düzeyi yüksek bulunmuştur (134).

TNF- α , kontrol grubu ile kıyaslandığında, migrenlilerde baş ağrısız dönemde metabolizmasındaki azalma nedeni ile belirgin bir şekilde düşük bulunmuştur. Emple ve arkadaşları inflamatuvar sitokinlerin plazma düzeyindeki azalmanın TNF- α çözünabilir reseptör düzeyindeki azalma ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (135). Rainero ve arkadaşları TNF- α 308G/A gen polimorfizmi ve migren arasında ilişkiyi göstermişlerdir (136). TNF- α enjeksiyonu, sinir terminallerinde sensitizasyon ve/veya aktivasyon ile doz bağımlı hiperalejiye neden olur (130-132). TNF- α ayrıca nosiseptif afferent liflerde sinir boyunca topikal uygulandığında ya da subkutan enjeksiyonunda ektopik aktiviteye neden olur (137). TNF- α 'nın klinik çalışmalarda ağrıya neden olduğu ve TNF- α antikorlarının da insanda ağrıyı azalttığı görülmüştür (138).

Atak esnasında sitokinlerin yükselmesinin nedeni bilinmemektedir. Ancak bu olayda CGRP'nin yol oynadığı düşünülmektedir. CGRP, insan lenfositlerinden in vitro olarak reseptör spesifik bağlantı yolu ile TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını ve üretimini uyarır (139-141). CGRP migren atağının ilk bir saatinde juguler vende artar. Hayvan modellerinde nörojenik inflamasyon ve vazodilatasyona neden olur (34, 35,142,,). Migren atak ağrısı CGRP salınımına bağlıdır. CGRP'de sitokin ve diğer aljezik maddelerin beyaz küreler, trombositler ve endotelden salınımına neden olur (136).

TNF- α , IL-1 β , IL-6-8 protanoid salarak, NGF ve reseptör ekspresyonunu artırarak ya da sempatik liflerin aktivitesini modüle ederek hiperalejiyi destekler (130,145). Sitokinler

primer aferentlerdeki inflamasyonla ilişkili olarak hipersensitiviteye katkıda bulunur (146,147). TNF- α 'nın santral ve periferik uygulanması hiperalejiye neden olur (130,145,146) Migrenlilerde TNF- α 'nın yüksekliği dökümanate edilmiştir.

Birçok sitokin geninin kritik promotor bölgesi ile diğer regülatör bölgelerinde polimorfizm varlığı kanıtlanmıştır. Sitokin üretimindeki bireysel farklılıklar sitokin genlerindeki polimorfizmin transkripsiyon aktivitesini etkilemesinden kaynaklanır. Bu varyasyonların varlığı enfeksiyonların sonlanması ya da otoimmün hastalıklara direnç/yatkınlıkta artışa etki edebilir.

3.5. TNF- α Gen Özellikleri

TNF- α geni 6. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (148). 233 Aminoasit prekürsörünün işlenmesi ile 157 aminoasitlik polipeptid kodlanır (149). Genin promotor bölgesinin pozisyon -308'de guaninin adeninle yer değiştirdiği tek bir baz değişiminin olduğu tanımlanmıştır (151). Bir çok çalışma göstermiştir ki mutant allelin fonksiyonel varyantı A-308 aleli tarafından genin transkripsiyonel aktivitesini artırır (151). TNF- α A aleli, G aleline göre daha güçlü transkripsiyonel aktivatördür ve yüksek TNF- α düzeylerine neden olur (151). A aleli çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (152). Diğer taraftan TNF- α nörovasküler inflamasyonda ağrı medyatörüdür ve migren ağrısı oluşumunda potansiyel mekanizma olabilir.

ve de otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir

4. HASTALAR VE YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Nöroloji polikliniğine ve Acil polikliniğine başvuran;

1. IHS kriterlerine göre aurasız migren tanısı alan

2. 18-55 yaş arası

3. Bilinen enfeksiyöz, immün ve inflamatuvar hastalığı olmayan; Başkent Üniversitesi etik komitesi tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş onam formunu doldurarak çalışmamıza katılmayı kabul eden, 70 aurasız migreni olan ve 65 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan hastaların 54'ü kadın, 16'sı erkek; kontrol grubunun 50'si kadın, 15'i erkekti. Hastaların ortalama yaşı 33, kontrollerin 32'ydi.

Migrenli hastalardan migren atağı sırasında ve en az 7 gün migren tipi baş ağrısının olmadığı ataksız dönemde olmak üzere iki kez, kontrol grubundan da bir kez, kan alınarak TNF- α düzeyi çalışıldı. Ayrıca DNA izalasyonu için 0.5 M EDTA'lı tüplere 10cc. kan örneği alınarak TNF- α 308 G/A gen polimorfizmine bakıldı.

4.1. TNF- α düzeyi

Serum TNF- α düzeylerini çalışabilmek için düz biyokimya tüpüne alınan kanlar (6cc) 3000 rpm'de santrifüj edilip serum şeklinde ayrılarak -70 °C'de çalışma gününe kadar saklandı.

Serum TNF- α düzeyleri, Bio Source Invitrogen, Camarillo, CA marka kit kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçüldü. TNF- α enzim immunoassay kitinin sensitivitesi 1,7 pg/ml'ydi.

4.2. TNF- α 308 G/A polimorfizmi

4.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trizma Baz (Sigma T6066), Borik Asit (Sigma B6768), EDTA (Sigma E5134), NaCl (Sigma S3014), SDS (Sigma S3014), Proteinaz K (Sigma P2308), Fenol (Sigma P4557),

Kloroform (Sigma C2432), İzoamilalkol (Sigma I-9392), Agaroza (Sigma A5093), Agaroza Wide Range/Standard 3:1 (Sigma A7431), Tris-Asetat-EDTA Tamponu (Sigma T8280), %100 EtOH (Riedel-de Haën), Primer (Alpha DNA), dNTP (Roche 11814362001), Taq DNA polimeraz (Roche 11596594001), CfoI (Roche 10688541001), MboII (MBI-Fer ER0822), BshNI (MBI-Fer ER1001), MgCl₂ (Sigma M1028), DMSO (Sigma D8418), Amonyum persülfat (APS) (Sigma A9164), Akrilamid (Sigma A9099), Bisakrilamid (Sigma M2022), Orange G (Sigma Q3756), Etidium Bromür (10 mg/ml) (Sigma E1510), TEMED (Sigma T9281), 50 bç. DNA ağırlık belirleyici (Fermentas SM0371), pUC8 DNA ağırlık belirleyici (Fermentas SM0301), 6X yükleme boyası (Fermentas R0611)

4.2.2. Tampon ve Çözeltiler

Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler:

- **10mM Tris-1mM EDTA:**

Tris	25 ml 0,2 M Tris (242 g Trizma Baz + 1 L dH ₂ O, (pH:8.0)
EDTA	1 ml 0,5 M EDTA (163,6 g EDTA + 1 L dH ₂ O, (pH:8.0)
dH ₂ O	474 ml

- **1 M NaCl**

NaCl	1,45 g
dH ₂ O	25 ml

- **%10 SDS**

SDS	2,5 g
dH ₂ O	25 ml

- **Fenol-Kloroform-İzoamilalkol (25:24:1)**

Fenol	100 ml
Kloroform	96 ml
İzoamilalkol	4 ml

- **%100 EtOH**

- **Proteinaz K (10 mg/ml)**

Proteinaz K	100 mg
-------------	--------

dH₂O 10 ml

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan çözeltiler:

- **%10 DMSO**

DMSO 10 ml

dH₂O 90 ml

- **25 mM MgCl₂**

- **10X Taq Buffer**

Agaroz Jel Elektroforezi:

- **0,5X TAE**

Tris-Asetat-EDTA Tamponu 100 ml

dH₂O 2 lt

- **Etidium Bromür**

Etidium Bromür 500 µlt

dH₂O 750 µlt

- **50 bç. DNA ağırlık belirleyici**

DNA marker 1 µlt

6X Yükleme boyası 1 µlt

dH₂O 5 µlt

- **Yükleme Tamponu**

Gliserol 55 ml

1X TAE 45 ml

Orange G 0,1 g

Poliakrilamid Jel Elektroforezi:

- **Akrilamid/Bisakrilamid (29:1)**

- **%10 APS**

APS 0,5g

dH₂O 5ml

- **5X TBE**

Trizma Baz	54 g
Borik Asit	27,5 g
0,5M EDTA	20 ml
dH ₂ O	1 lt

- **1X TBE**

5X TBE	200 ml
dH ₂ O	800 ml

4.2.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Kodak EDAS 290 görüntü analiz sistemi

Biorad yatay elektroforez tankı

Cleaver yatay elektroforez tankı

Biorad dikey elektroforez tankı

Biofuge stratos santifüj

Biofuge pico santrifüj

Nüve FN500 etüv

Nüve EN400 etüv

Thermolyne Maxi MixII vorteks

Elde edilen kan örnekleri (70 hasta ve 65 kontrol grubundan) Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı laboratuvarlarına götürüldü.

Genomik DNA izolasyonu

Fenol-Kloroform Ekstraksiyonu

1. 500 µlt'lik kan örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplere konulur.
2. Üzerlerine 750 µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenerek çok iyi karışması sağlanır. 12.000 rpm'de 3 dk santrifüjlenir.
3. Üst faz atıldıktan sonra 2. tur lizis tamponu ile bir kez daha yukarıda bahsedilen işlem aynen tekrarlanır.
4. 3. ve 4. turlar için ise 500 µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenir ve 12.000 rpm'de 2 dk santrifüjlenir.
5. 4. tur sonunda üst faz atılır ve her bir tüpe;

- 300 µlt Tris-EDTA,
- 150 µlt 1M NaCl
- 150 µlt %10'luk SDS
- 100 µlt Proteinaz K eklenir
- 6. 37°C'de 1 gece bekletilir.
- 7. Her bir tüpe 450 µlt Fenol-Kloroform-İzoamilalkol eklenir ve vorteks yapılır.
- 8. 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrasında üst faz yeni tüplere aktarılır.
- 9. 800 µlt %100'lik EtOH eklenir.
- 10. 3 saat -20°C'de bekletildikten sonra 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir ve alkol fazı dökülür.
- 11. Alkolü tamamen uçurmak için tüpler kapakları açık bırakılarak 37°C'lik kuru blokta bekletilir.
- 12. DNA'lar 150 µlt dH₂O çözülerek kullanılacakları güne kadar -86°C'de bekletilir.

TNF α geni -308 G/A genotiplemesi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

TNF α geninin -308 G/A .polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan primer dizisi Tablo (4.1)'de verilmiştir.

Tablo4.1. TNF α geni -308 G/A'nın PZR için kullanılan primer dizisi

Polimorfizm	Primer Dizisi
TNF α -308 G/A	F 5'agg caa tag gtt ttg agg gcc at 3 R 5'tcc tcc ctg ctc cga ttc cg 3'

PZR'lar son hacim 30 µlt olacak şekilde 25 mM MgCl₂, 10 mM deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) ve 5 U/µlt Tag DNA polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır.

PZR koşulları:

94°C'de 5 dakika

94°C'de 30 saniye

54°C'de 45 saniye

} 35 döngü

72°C'de 45 saniye

72°C'de 5 dakika

PCR ürünü Nco I kesim enzimi kullanılarak kesilmiştir. PCR ürünü amplifikasyonu etidyum bromid (EtBr) ile boyanmış % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir.

Tablo 4.2. PZR protokolü

PZR Master Mix		Son Konsantrasyon
dH ₂ O	15 µlt	
10X Taq Buffer	5 µlt	1X
dNTP (10 mM)	1 µlt	200 µM/her bir dNTP
MgCl ₂ (25 mM)	3 µlt	2,5 mM
Primer "Forward"	0,75 µlt	10 pmol/µlt
Primer "Revers"	0,75 µlt	10 pmol/µlt
Taq Polimeraz (5u/µlt)	0,25 µlt	1,25 u
%10 DMSO	2,5 µlt	%8
Genomik DNA	2,5 µlt	100-200 ng

Restriksiyon Fragman Analizi (RFLP)

%12'lik poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülen restriksiyon enzim kesim ürünleri EtBr ile boyanarak, görüntülemesi **Kodak EDAS 290** ile gerçekleştirilmiştir. Tablo (4.3)'de kesim paternleri ile ilgili bilgi verilmektedir.

Tablo 4.3. RFLP analizinde kullanılan kesim enzim ve paternleri

Kesim Enzimi	Kesim Paterni
Nco I	GG: 87 bç.+20 bç. AG:107bç.+87bç.+20bç. AA:107 bç.

4.3. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi. Parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği görüldüğünden iki bağımsız grup ortalamasının karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U testi, bağımlı grupların karşılaştırılması amacıyla ise Wilcoxon testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama (ort) $\pm$ standart sapma (SS) ve ortanca değer olarak ifade edildi. Kategorik değişkenlerin analizinde, çapraz tabloda yer alan bazı hücrelerdeki frekansların düşüklüğü nedeniyle ki-kare analizi yöntemlerinden olabilirlik oran testi ve Fisher Exact test kullanıldı. Sonuçlar n ve % olarak ifade edildi. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri seti SPSS programı (SPSS version 15.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak değerlendirildi.

5. BULGULAR

Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Nöroloji polikliniğine ve Acil polikliniğine başvuran; IHS kriterlerine göre aurasız migren tanısı alan 70 ve kontrol grubu olarak da yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı 65 olmak üzere toplam 135 kişi çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan 70 hastanın 54'ü (%77,1) kadın, 16'sı (%22,9) erkek; kontrol grubu olarak seçilen 65 kişinin 50'si (%76,9) kadın, 15'i (%23,1) erkek idi. Hastaların ortalama yaşı 33, kontrollerin 32'ydi (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

	Hasta (n%)	Kontrol (n%)
Kadın	54 (%77,1)	50 (%76,9)
Erkek	16 (%22,9)	15 (%23,1)
Toplam	70	65
Yaş (ort ± SS)	33.12 ± 7.89	32.01 ± 8.23

TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların 38'i (% 54.3) G/A, 30'u (% 42.9) A/A ve 2'si (% 2,9) G/G; kontrollerin ise 52'si (%80) G/A, 13'ü (%20) ise A/A genotipine sahipti. Kontrol grubunda G/G genotipine sahip birey yoktu (Tablo 5.2). Migreni olanlarda A/A genotipi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oranda bulundu ($p < 0.01$).

Tablo 5.2. TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların genotip dağılımı ile hasta olup olmama arasındaki ilişki.

	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	P
Genotip G/G	2 (2.9)	0 (0)	0.003
Genotip G/A	38 (54.3)	52 (80)	
Genotip A/A	30 (42.9)	13 (20)	

(Tablo bu şekilde değiştirildi.)

TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların genotip dağılımı Hardy-Weinberg eşitliği değerlendirildi (Tablo 5.3). Kontrol grubumuzda G/G genotipine sahip hiçbir bireyin olmaması nedeniyle hasta sayılarımız Hardy-Weinberg analizine uymuyordu.

Tablo 5.3. Çalışma gruplarının Hardy-Weinberg analizi

Genotipler	Frekans			
	Kontrol		Hasta	
	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen
AA	13	23,4	30	34,3
GA	52	31,2	38	29,4
GG	0	10,4	2	6,3
P	0.000***		0.05*	

*: $p < 0.05$

***: $p < 0.001$

Her iki grup da HWE'ye uymamaktadır.

Kadın migrenlilerde ($n=54$) ortalama yaş 33.12 ± 7.89 , erkeklerde ($n=16$) 34.31 ± 9.51 'di ($p=0.75$). Kadınlarda atak sırasındaki ortalama serum TNF- α düzeyi 13.54 ± 2.94 (pg/ml), erkeklerde ise 13.73 ± 2.58 (pg/ml) ($p=0.675$); ataksız serum TNF- α düzeyi ise kadınlarda 12.72 ± 2.89 (pg/ml); erkeklerde 13.55 ± 4.77 (pg/ml) bulundu ($p=0.75$). Migrenli hasta grubunda kadın ve erkekler arasında serum TNF- α düzeyi açısından ataklı veya ataksız dönem ve yaş açısından anlamlı bir fark yoktu (Tablo 5.4). ($p=0.571$)

Tablo 5.4. Hastalarda cinsiyet ve yaşın, TNF- α düzeyleri (pg/ml) ile ilişkisi

	Erkek(16)	Kadın (54)	P
TNF α (atak)	13.73 ± 2.58	13.54 ± 2.94	0.675
TNF α (ataksız)	12.91 ± 3.39	12.72 ± 2.89	0.571
Yaş	33.12 ± 7.89	33.12 ± 7.89	0.75

34.31 ± 9.51

Kontrol grubunda ortalama yaş kadınlarda ($n=50$) 29.9 ± 7.91 , erkeklerde ($n=15$) 32.53 ± 8.3 ($p=0.128$); TNF- α düzeyi kadınlarda 12.97 ± 2.51 pg/ml; erkelerde ise 14.15 ± 3.25

pg/ml idi ($p=0.159$). Kontrol grubunda kadın ve erkek arasında serum TNF- α düzeyi ve yaş açısından anlamlı bir fark yoktu (Tablo 5.5).

Tablo 5.5. Kontrol grubunda cinsiyet ve yaşın, TNF- α düzeyleri (pg/ml) ile ilişkisi

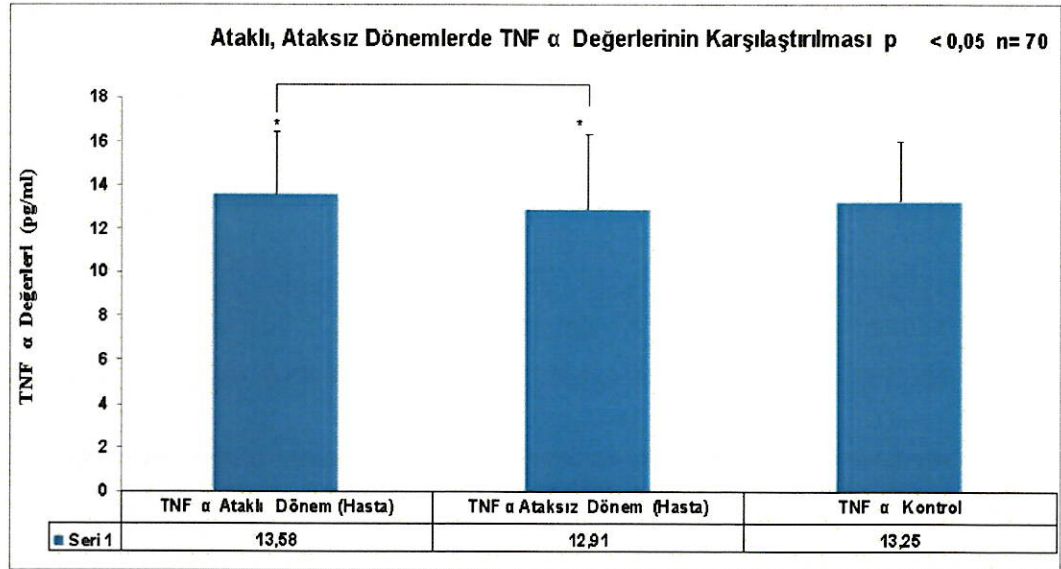
	Erkek(n=15)	Kadın(50)	P
TNF α	14.15 $\pm$ 3.25	12.97 $\pm$ 2.51	0.159
Yaş	32.53 $\pm$ 8.3	29.92 $\pm$ 7.91	0.128

Hasta grubunun TNF- α düzeyi ataklı dönemde 13.58 $\pm$ 2.84 pg/ml, ataksız dönemde ise 12.91 $\pm$ 3.39 pg/ml idi. Kontrol grubunun TNF- α düzeyi ise 13.25 $\pm$ 2.72 pg/ml idi. Hasta grubunun ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeyleri ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 5.6).

Tablo 5.6. Hasta ve kontrol grubunda TNF- α düzeyleri (pg/ml)

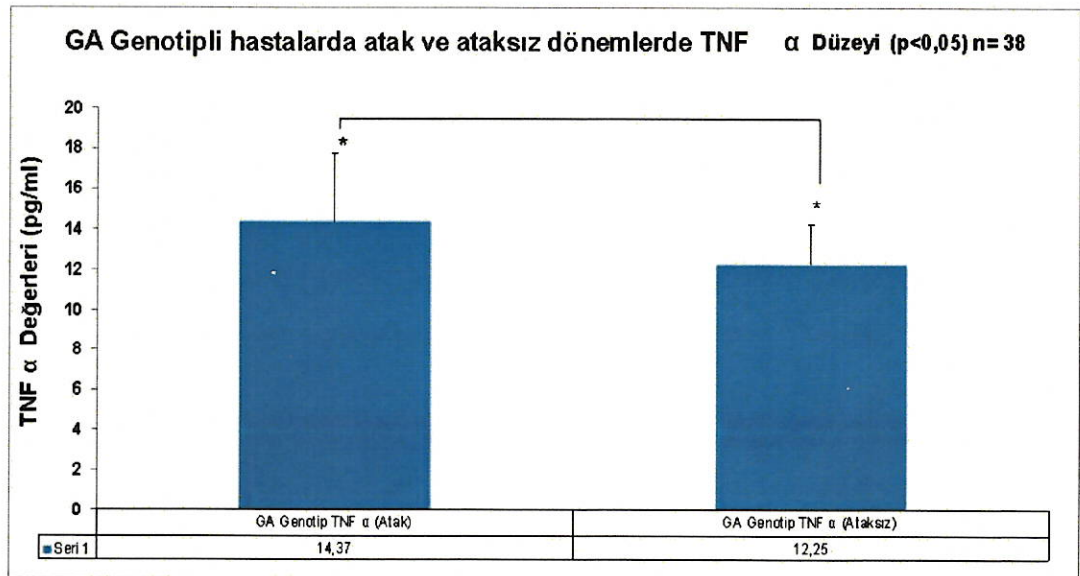
	Hasta Ortalama $\pm$ SS	Kontrol Ortalama $\pm$ SS	P
TNF- α (atak)	13.58 $\pm$ 2.84	13.25 $\pm$ 2.72	0.354
TNF- α (ataksız)	12.91 $\pm$ 3.39	13.25 $\pm$ 2.72	0.254

2 Tümü migren hastaları ele alındığında ($n=70$) migren atağında ortalama TNF- α düzeyi 14.37 $\pm$ 3.4 pg/ml; ataksız dönemde ise 12.91 $\pm$ 3.39 pg/ml'ydı ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p=0.033$) (Grafik 5.1). Hasta grubunun ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeyleri ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken migrenli hastaların atak sırasındaki ve ataksız dönemdeki TNF- α düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0.033$).



Grafik 5.1. Kontrol grubunun ve migrenli hastaların ataklı ataksız dönem TNF- α düzeyleri

TNF- α 308 G/A gen polimorfizmi belirlenen hastaların genotip dağılımı ile migren atağı durumuna göre TNF α düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde, G/A genotipi taşıyan hastalarda ortalama TNF- α düzeyi migren atağı sırasında 14.37 ± 3.4 pg/ml, ataksız dönemde ise 12.25 ± 2.03 pg/ml'ydı. G/A genotipi taşıyan migrenli hastalarda ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeyleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p=0.001$) (Grafik 5.2).



Grafik 5.2: G/A genotipli migrenli hastaların ataklı-ataksız dönem TNF- α düzeyinin karşılaştırılması

A/A genotipi taşıyan hastalarda ortalama TNF- α düzeyi migren atağı sırasında 12.79 ± 1.54 pg/ml, ataksız dönemde ise 13.91 ± 4.47 pg/ml idi ve aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu. G/G genotipi taşıyan sadece iki hasta olduğundan G/G genotipi için istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 5.7).

Tablo 5.7. TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların genotip dağılımı ile migren atağı durumuna göre TNF α düzeyleri arasındaki ilişki

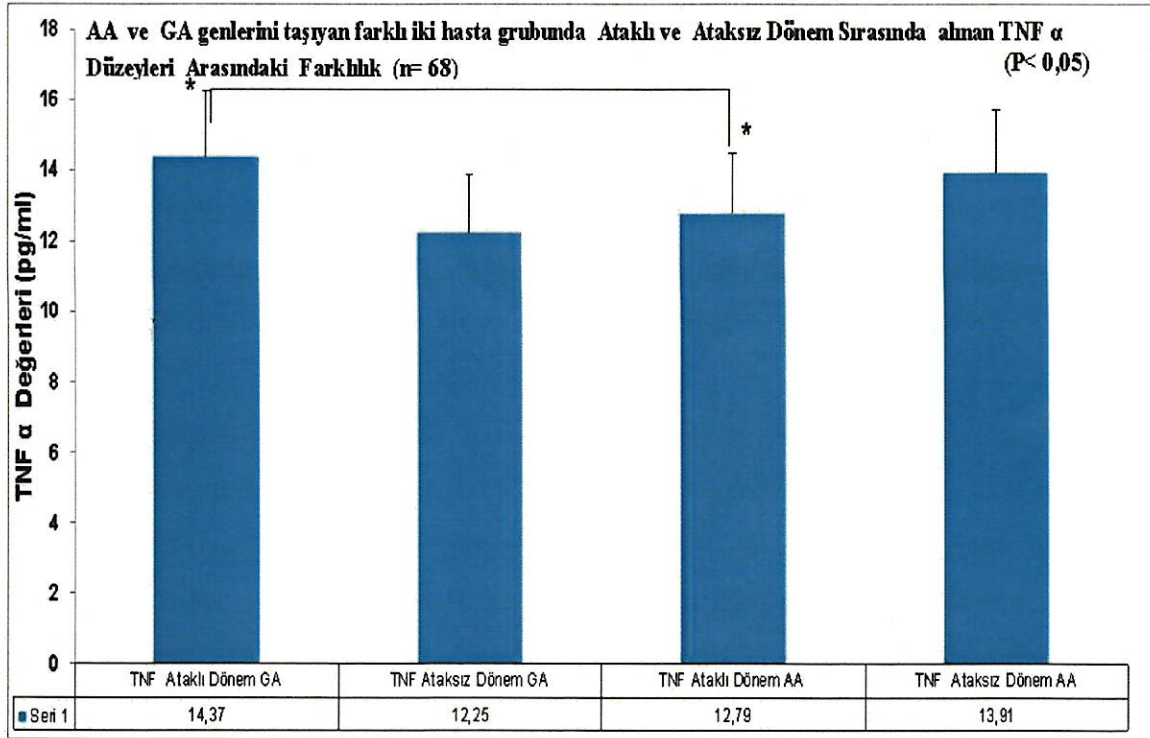
	N	TNF- α (pg/ml) (atak) Ortalama $\pm$ SS	TNF- α (pg/ml) (ataksız) Ortalama $\pm$ SS	P
G/A Genotipi	38	14.37 ± 3.4	12.25 ± 2.03	0.001
A/A Genotipi	30	12.79 ± 1.54	13.91 ± 4.47	0.622
Toplam (G/A, A/A, G/G)	70	13.58 ± 2.84	12.91 ± 3.39	0.033

- ① G/A genotipli migren hastalarında (n=38) migren atağı sırasında bakılan serum TNF- α düzeyi 14.37 ± 3.4 pg/ml; A/A genotiplilerde (n=30) ise 12.79 ± 1.54 pg/ml'ydi (p=0.034) (Tablo 5.8). Migren atağı sırasında, hasta grubunda G/A ve A/A genotipleri açısından TNF- α düzeyi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı (Grafik 5.3). Ataksız dönemde bakılan serum TNF- α düzeyi G/A genotipine sahip hastalarda 12.25 ± 2.03 pg/ml ve A/A genotipine sahip hastalarda ise 13.91 ± 4.47 pg/ml idi ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05). Kontrol grubunda G/A genotipine sahip kişilerde (n=52) TNF- α düzeyi 13.25 ± 2.72 pg/ml, A/A genotipine sahip kişilerde ise (n=13) 13.25 ± 2.72 pg/ml'di (p=0.159). Kontrol grubunda G/A ve A/A genotipleri arasında TNF- α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Ataki sırasında TNF α düzeyi ortalamaları arasında
G/A ve A/A arasında anlamlı fark var
p < 0.05 (p = 0.034)

Tablo 5.8. TNF- α 308G/A gen polimorfizmi açısından incelenen hastaların atak sırasında TNF- α düzeyi (pg/ml) ile G/A ve A/A genotipleri arasındaki ilişki

	G/A	A/A	P
TNF- α atak	14.37 $\pm$ 3.4	12.79 $\pm$ 1.54	0.034
TNF- α ataksız	12.25 $\pm$ 2.03	13.91 $\pm$ 4.47	0.130
TNF- α Kontrol	13.12 $\pm$ 2.80	13.77 $\pm$ 2.36	0.222



Grafik 5.3. A/A ve G/A genotipini taşıyan hastaların ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması

6.TARTIŞMA

Migren ile ilişkili olarak immünolojik değişikliklerin olduğu bilinmektedir (137). Sitokinler nörovasküler inflamasyonda olası ağrı mediyatörü ile ilişkili olup migren ağrı jeneratörünü oluştururlar (125). Migrede TNF- α düzeyinin, TNF- α 308G/A polimorfizmi ile ilişkisinin anlaşılması, migren patogenizini anlamamıza yardımcı olabilir. Birçok sitokin geninin kritik promotor bölgesi ile diğer regülatör bölgelerinde polimorfizm varlığı kanıtlanmıştır (155).

Sitokin üretimindeki bireysel farklılıklar, sitokin genlerindeki polimorfizmin, transkripsiyon aktivitesini etkilemesinden kaynaklanır. Bu varyasyonların varlığı enfeksiyonların sonlanması ya da otoimmün hastalıklara direnç veya yatkınlıkta artışa etki edebilir (155). Genin promotor bölgesinin pozisyon -308'de guaninin adeninle yer değiştirdiği tek bir baz değişiminin olduğu tanımlanmıştır (150). Bir çok çalışma göstermiştir ki; mutant alelin fonksiyonel varyantı olan A-308 aleli, genin transkripsiyonel aktivitesini artırır (151). TNF- α A aleli, G aleline göre daha güçlü transkripsiyonel aktivatördür, yüksek TNF- α düzeyi ile sonuçlanır (151) ve de çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (152). Diğer taraftan TNF- α nörovasküler inflamasyonda ağrı mediyatörüdür ve migren ağrı oluşumunda potansiyel mekanizma olabilir (155).

Bizim çalışmamızda tüm migrenli hastaların % 54.32'si G/A, %42.9'u A/A ve %2.9'u G/G; kontrol grubunun ise %80'i G/A, %20'si A/A genotipine sahipti. A/A genotipine sahip olanlarda migren görülme oranı daha fazla idi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.01$). Trabece ve ark.'larının İtalya'da yaptıkları bir çalışmada ise aurasız migrenli hastalarda ($n=47$) % 89.36 G/G, % 10.64 G/A bulunmuşken A/A genotipli hasta ise yoktu; kontrol grubunda ($n=101$) ise %89.11 G/G, %8.91 G/A ve %1.98 A/A genotipi saptanmıştı. Hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit etmemişlerdi (156). Bizim çalışmamızda çok farklı sonuçların elde edilmesinin nedeni çalışmayı farklı etnik gruplarda yapmış olamamızla açıklanabilir.

Yapılan başka bir çalışmada TNF- α (-308 A) aleli, rastgele popülasyon kontrolü ile karşılaştırıldığında TNF- α (-308A) aleli ve aurasız migrenli kadınlar arasında belirgin bir ilişki bulunmuştur (155). Bu nedenle TNF- α -308 pozisyonundaki A, yüksek üreticili genotip olup TNF- α üretimi ve transkripsiyonda artış ile ilişkilidir (157,158). Migren hastalarında -308 pozisyonundaki TNF- α promotor polimorfizminde belirgin farklılık

bulunmuştur. Kadın hastaların büyük çoğunluğunun yüksek üreticili alel taşıması aurasız migrenin genetik aktarımının heterojen bir durum olabileceği düşüncesini desteklemektedir (155).

Perini ve ark.'ları yaptıkları çalışmada TNF- α düzeyi ile yaş ve cinsiyet arasında bir korelasyon bulmamışlardır (134). Bizim çalışmamızda da kadın ve erkekler arasında serum TNF- α atak sırası ve ataksız dönem düzeyleri ve yaş açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0.005$).

G/A genotipli migren hastalarında ($n=38$) migren atağı sırasında bakılan serum TNF- α düzeyi 14.37 ± 3.4 pg/ml; A/A genotiplilerde ($n=30$) ise 12.79 ± 1.54 pg/ml idi ($p=0.034$). Migren atağı sırasında, hasta grubunda G/A ve A/A genotipleri arasındaki TNF- α düzeyi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ve G/A genotipinde da daha yüksekti. Bizim çalışmamızda G/A genotipi taşıyan hastalarda ataklı- ataksız dönem TNF- α düzeyi arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p=0.001$) ve ataklı dönemde daha yüksekti. A/A genotipi taşıyan hastalarda ataklı ve ataksız dönem TNF- α arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu. Rainero ve ark., -308GG homozigot genotipe sahip kişilerde aurasız migren riskinin arttığına dair bir ilişki olduğunu yayınladılar (136). Bununla beraber yapılan başka bir çalışmada ise migrenle TNF- α nın G-308A promotor varyantı arasında bir ilişki görüldü (155); bu sonuç bizim sonucumuzla uyumluydu; ancak önceki çalışmalardan farklıydı. Bizim bu sonucu elde etmemizin nedeni hasta ve kontrol grubumuzda G/A genotipli hasta sayısının A/A dan fazla olmasına bağlı olabilir. Ayrıca G/A genotipinde TNF- α düzeyinin ataklı dönemde yüksek olması A alelinin varlığına da bağlı olabilir. Tüm bu sonuçların farklılığı etnik popülasyon farklılığına ya da metod seçimi ve istatistiksel analize bağlı olabilir.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda G ve A alelinin görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak bir fark yoktu. Rainero ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise homozigot G alelinin görülme sıklığı A ve G/A aleline göre yüksekti. Aurasız migrenlilerde homozigot G alelini daha yüksek olarak bulmuşlardır (136). Trabace ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise alel sıklığı açısından auralı ve aurasız migren arasında bir fark yoktu. Hasta ve kontrol grubu arasında da TNF- α genotipi açısından belirgin bir farklılık yoktu (156).

Tüm hastalar ele alındığında ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeyleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p=0.033$). Aurasız migreni olan hastalarda aşırı spontan

TNF- α salınımı mevcuttur (126,160). Diğer taraftan migren atağı başladığında artmış TNF- α düzeyi baş ağrısı gelişimde bu sitokinlerin rolünü göstermektedir. TNF- α üretimine genetik yatkınlık bu etkileri daha da kötüleştirebilir (155). Daha önce yapılan çalışmalarda Perini ataklı dönemde TNF- α düzeyinin arttığını, ataksız dönemde ise azaldığını, Gallai ataklı dönemde TNF- α düzeyinin arttığını, Emple ve Muller ise ataklı ve ataksız dönemde TNF- α düzeyinin değişmediğini bildirmişlerdir (134).

Bizim çalışmamızda; hastaların ataklı ve ataksız dönemdeki TNF- α düzeyleri, kontrol grubunun TNF- α düzeyi ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark yoktu. Perini ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da migren hastalarında pro ve anti-inflmatuvar sitokinlerin değişkenlik gösterdiği görüldü (134). TNF- α 'nın plazma profili atakların başlangıcından sonra geçen zamanla korelasyon göstermiştir. En yüksek kan düzeyleri, kan örnekleri ağrı başlangıcından sonra en kısa zamanda alınan kişilerde gözlenmiştir (134). Atak dışında TNF- α düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük bulunması baş ağrısı olmayan dönemde TNF- α metabolizmasının down regülasyonuna bağlı olabilir (134). Gallai bu molekülün plazma düzeyinin migren ağrısının başlangıcından itibaren ilk 2 saat içinde değerlendirildiğinde daha yüksek olduğunu bildirmiştir (164). İnflamatuar sitokin plazma düzeylerinin azalması Empl ve ark.'larının bildirdiği düşük düzeyde TNF- α çözülebilir reseptörleri ile uyum göstermektedir (125).

Marchielli ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada aurasız migrenli hastalara atak sırasında internal juguler vene kateter takarak TNF- α düzeyine bakmışlardır. TNF- α nın 1 saatte en yüksek düzeye ulaştığı, sonrasında giderek azalıp başlangıç değerine döndüğünü göstermişlerdir (165). Bizim çalışmamızda hastaların atak sırasında kanları alındığında migren atağının kaçınıcı saatinde oldukları kaydedilmemiştir. Biz çalışmamızda, A/A genotipini taşıyan hastalarda atak döneminde TNF- α düzeyini yüksek bulmamızın nedeni A/A genotipli hasta sayımızın G/A genotipini taşıyanlara göre daha az olması ve atak zamanı ile ilişkisini göz önünde bulundurmamıza bağlı olabilir. Eğer A/A genotipli hastalarda ataklı dönemde, kan alma zamanımız birinci saatten sonra; G/A grubunda birinci saatten önce ise ; bundan dolayı TNF- α düzeyini, G/A genotipini taşıyan hastalarda yüksek; A/A genotipini taşıyan hastalarda ise düşük bulmuş olabiliriz.

7. SONUÇ

Migren patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre aurasız migrenli hastalarda sağlıklı popülasyona göre A/A genotipi daha sık görülmekteydi. Tüm hastalar ele alındığında, TNF- α düzeyi ataklı-ataksız dönem arasındaki fark değerlendirildiğinde, ataklı dönemde daha yüksek bulundu. G/A genotipi taşıyan hastalarda TNF- α düzeyi atak sırasında daha yüksekti ve ataksız dönemle arasındaki fark anlamlı idi. Ayrıca G/A ve A/A genotipini taşıyanlarda ataklı dönem TNF- α düzeyi ortalamaları arasındaki fark anlamlı ve G/A'da daha yüksekti. Aleller açısından kontrol ve hasta grubu arasında fark yoktu. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet, ataklı ve ataksız dönem TNF- α düzeyi arasında anlamlı bir fark yoktu.

Bizim popülasyonumuzda A/A genotipine sahip olmak aurasız migren için bir risk faktörü olabilir. TNF- α 308 G/A polimorfizmi ve TNF- α düzeyi arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için; TNF- α nın plazma profili atakların başlangıcından sonra, geçen zamanla korele edilmelidir. TNF- α 308 G/A etnik gruplara göre farklılık göstermektedir. Bundan dolayı farklı toplumlarda yapılan geniş çalışmalar migren patogenezi anlamamıza yardımcı olacaktır.

8. KAYNAKLAR

1. Silberstein SD Migraine pathophysiology and its clinical implications. *Cephalalgia* 24 Suppl 2:2-7,2004
2. Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD Migraine-current understanding and treatment. *N Engl J Med* 24;346(4):257-70,2002
3. Öge AE. Nöroloji Nobel Tıp Kitapevi: 309-321,2004
4. Ertaş M. Migren. *Türkiye Klinikleri* 2:116-124,2003.
5. Adams RD, Victor M, Ropper AH. Principles of Neurologia. Sevent Edition. New York. Mc Graw Hill: 175-189, 1997
6. Lewis P. Rowland, Raskin N, Green N. Paroksizmal Bozukluklar. Meritt's Neurology.. (Çeviri editörü: Barış Baslo, Candan Gürses)11. baskı.140:981-990, 2003
7. Silberstein SD, Lipton RB, Goadsby PJ. Baş ağrısının patofizyolojisi ve epidemiyolojisi, Primer baş ağrısı bozuklukları. Klinik Uygulamada Baş Ağrısı. (Çeviri editörü: Mustafa Ertaş, Gülşen Akman-Demir) İkinci baskı. İstanbul, Yelkovan Yayıncılık 1:11-47; 2:62-147,2002
8. Russell MB, Rasmussen BK, Thorvaldsen P, Olesen J. Prevalence and sex-ratio of the subtypes of migraine. *Int J Epidemiol* 24(3):612-8,1995
9. Silberstein SD, Stiles MA, Young WB, Peres M. Epidemiology of migraine. Atlas of Migraine and Other Headaches. Second Edition. Taylor and Francis 3:41-51,2005
10. Lipton RB. Stewart WF, Diamond M, Reed M. Prevalence and burden of migraine in United States data from the American Migraine Study 2. *Headache* 41(7):646-57,2001
11. Siva A. Başağrısı Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri* 2:94-7,2003
12. Stovner LJ, Zwart JA, Hagen K, Terwindt GM, Pascual J. Epidemiology of headache in Europe. *Eur J Neurol* 13(4):333-45,2006
13. Querioz LP, Barea LM, Blank N. An epidemiological study of headache in Florianopolis, Brazil. *Cephalalgia* 26:122-7,2006
14. Henry P, Michel P, Brochet B, Dartigues JF, Tison S, Salamon R. A nationwide survey of migraine in France: prevalence and clinical features in adults. *GRIM. Cephalalgia* 12(4):229-37;1992

15. Karlı N, Akış N, Zarifoğlu M, Akgöz S, Irgil E, Ayvacioğlu U, Çalışır N, Haran N, Akdoğan O. Headache prevalence in adolescent aged 12 to 17: a student based epidemiological study in Bursa. *Headache* 46(4):649-55,2006
16. Evans RW, Mathew MT. Handbook of headache. Lippincott Williams & Wilkins. Second Edition Çeviri Editörü: Mustafa Ertaş:28-60,1999.
17. Silberstein SD, Young WB. Migraine aura and prodrome. *Semin Neurol.* 15(2):175-82,1995
18. Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia* 8 Suppl 7:1-96,1988
19. Kelman L. The premonitory symptom (prodrome): A tertiary care study of 893 migraineurs. *Headache* 44(9):865-72,2004
20. Jensen K, Tfelt-Hansen P, Lauritzen M, Olesen J. Classic migraine. A prospective recording of symptoms. *Acta Neurol Scand.* 73(4):359-62,1986
21. Blau JN. Classical migraine: symptoms between visual aura and headache onset. *Lancet* 8,340(8815):355-6,1992
22. Kirchmann M. Migraine with aura: new understanding from clinical epidemiologic studies. *Curr Opin Neuro* 19(3):286-93,2006
23. Selby G, Lance JW. Observations on 500 cases of migraine and allied vascular headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 23:23-32,1960
24. Stewart WF, Shechter A, Lipton RB. Migraine heterogeneity. Disability, pain intensity, and attack frequency and duration. *Neurology.* 44(6 Suppl 4):S24-39,1994
25. Olesen J, Lipton RB. Migraine classification and diagnosis. International Headache Society Criteria. *Neurology.* 44(6 Suppl 4):S6-10,1994
26. Raskin NH. Migraine and Headache. In Merit's Neurology. Ed: Rowland LP. Tenth Edition Lippincott Williams & Wilkins: 807-10,2000
27. Does JC, Capobianco DJ, Cutrer FM, Dodick DW, Enoss EJ, Swanson JW: Headache and other craniofacial pain. In *Neurology in Clinical Practice.* Ed: Bradley WG, Draff RB, Feninhel GM, Marsden CD. Third Edition. Volume 2. Butter-Worth-Heinemann: 2055-80,2000
28. Allan H. Ropper, Robert H. Brown. Baş ağrısı ve diğer kraniyofasiyal ağrılar. Adams and Victor's Principle of Neurology.(Çeviri editörü: Emre M.) Sekizinci baskı. Ankara, İstanbul. Güneş Kitapevi 2:144-168,2006
29. Gardner K, Barmada MM, Ptacek LJ, Hoffman EP. A new locus for hemiplegic migraine maps to chromosome 1q31. *Neurology.* 49(5):1193-5,1997

30. Hasking G. Special forms: variants of migraine in childhood. In: Hockaday JM, ed. *Migraine in childhood*. Boston: Butterworths 35-53,1988
31. Penfield W, McNaughton F. Dural headache and innervation of the dura mater. *Arch Neurol Psychiatr* 44:43-75,1940
32. Ray BS, Wolff HG. Experimental studies on headache: pain sensitive structures of the head and their significance in headache. *Arch Surg* 41:813-56,1940
33. Moskowitz MA. Neurogenic versus vascular mechanisms of sumatriptan and ergot alkaloids in migraine. *Trends Pharmacol Sci* 13(8):307-11,1992
34. Buzzi MG, Moskowitz MA. The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol* 99(1):202-6,1990
35. Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med* 8(2):136-42,2002
36. Lambert GA, Bogduk N, Goadsby PJ, Dukworth JW, Lance JW. Decreased carotid arterial resistance in cats in response to trigeminal stimulation. *J Neurosurg* 61(2), 307-15,1984
7. Drummond PD, Gonski A, Lance JW. Facial flushing after thermocoagulation of the Gasserian ganglion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 46:611-6,1983
3. Allen GV, Barbrick B, Esser MJ. Trigeminal-parabrachial connections: possible pathway for nociception-induced cardiovascular reflex responses. *Brain Res* 9;715(1-2):125-35,1996
- Bolay H, Moskowitz MA. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. *Neurology* 59 (5 Suppl 2):S2-7,2002
- Weiller C, May A, Limmroth V, Jupther M, Kaube H, Schayck RV, Coenen HH, Diener HC. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med*. 1(7):658-60,1995
- Leao A. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology* 7:32,1944
- Hadjikhani N, Sanchez Del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong KK, Cutrer FM, Rosen BR, Tootell RB, Sorensen AG, Moskowitz MA. Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 10;98(8):4687-92,2001
- Cao Y, Welch KM, Aurora S, Vikingstad EM. Functional MRI-BOLD of visually triggered headache in patients with migraine *Arch Neurol* 56(5):548-54,1999

58. Welch KMA: Pathogenesis of migraine. *Seminars in Neurology* 17(4):335-341,1997
9. Mauskop A, Altura MB: Role of magnesium in the pathogenesis and treatment of migraine. *Clinical Neuroscience* 5:24-27, 1998
0. Dimitriadou V, Buzzi MG, Moskowitz MA, Theoharides TC. Trigeminal sensory fiber stimulation induces morphological changes reflecting secretion in rat dura mater mast cells. *Neuroscience* 44:97-112,1991
- . Gantenbein AR, Sandor PS. Physiological parameters as biomarkers of migraine. *Headache* 46(7):1069-74,2006.
- . Ku M, Silverman B, Prifti N, Ying W, Persaud P, Schneider A. Prevalence of migraine headaches in patients with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 97(2):226-30,2006
- Akerman S, Williamson DJ, Kaube H, Goadsby PJ. The role of histamine in dural vessel dilation. *Brain Res* 956(1):96-102,2002
- Millian-Guerrero RO, Isais-Millian R, Benjamin TH, Tene CE. Nalpa-methyl histamine safety and efficacy in migraine prophylaxis: Phase 3 study. *Can J Neurol Sci* 33(2):195-9,2006
- Martelletti P, Stirparo G, Morreno S, Rinaldi C, Giacobazzo M. Inhibition of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), soluble ICAM-1 and interleukin-4 by nitric oxide expression in migraine patients. *J Mol Med* 75(6):448-53,1997
- İrkeç C. Migren ve immün sistem. *Türkiye Klinikleri* 2:124-6,2003
- Vagenes H, Schaible H. Effects of antagonist to high-threshold calcium channels upon spinal mechanism of pain, hyperalgesia and allodynia. *Pain* 85(1-2):9-18,2000
- Goadsby PJ. Recent advances in understanding migraine mechanisms, molecules and therapeutics. *Trends Mol Med* 13(1):39-44,2007
- Dowson AS, Kilminster SG, Salt R, Clark M, Bundy MJ. Disability associated with headaches occurring inside and outside the menstrual period in those with migraine. A general practice study. *Headache* 45:274-82,2005
- Loder EW. Menstrual migraine: Pathophysiology, diagnosis and impact. *Headache* 46 (suppl2):55-50,2006
- Walter G, Bradley, Robert B, Daroff GM, Fenichel JJ. *Neurology in Clinical Practise*. Beşinci baskı. Çeviri Editörü: Ersin Tan, Sevim Erdem Özdamar. 2011-2063,2008

72. Dearovic Z, Iskrac S, Dupeli M. Fluctuation of 5-hydroxy-indole compounds in the urine of migrainous patients. *Biomedicine* 23(9):346-9,1975
73. Ferrari MD, Saxena PR. Clinical and experimental effects of sumatriptan in humans. *Trends Pharmacol Sci* 14:129-33,1993
74. Cumberbatch MJ, Williamson DJ, Mason GS, Hill GS, Hargreaves RJ. Dural vasodilation causes a sensitization of rat caudal trigeminal neurons in vivo that is blocked by a 5HT_{1B/1D} agonist. *Br J Pharmacol* 126:1478-86,1999
75. Sommer C. Is serotonin hyperalgesic or analgesic. *Curr Pain Headache* 10(2):101-6,2006
76. Rapoport AM, Tepper SJ, Sheftell FD, Kung E, Bigal ME. Which triptan for which patients? *Neurol Sci* 27 suppl:2;123-9,2006
77. Scheller D, Szathmary S, Kolb J, Tegtmeier F. Observations on the relationship between the extracellular changes of taurine and glutamate during cortical spreading depression, during ischemia, and within the area surrounding a thrombotic infarct. *Amino Acids* 19:571-583,2000
78. Lauritzen M, Hansen AJ. The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. *J Cereb Blood Flow Metab* 12:223-229,1992
79. Mody I, Lambert JD, Heinemann U. Low extracellular magnesium induces epileptiform activity and spreading depression in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 57:869-888,1987
80. Lipton RB, Silberstein SD. Why study the comorbidity of migraine? *Neurology* 44:4-516,1994
1. Joutel A, Bousser MG, Biousse V, Labauge P, Chabriat H, Nibbio A, Maciazek J, Meyer B, Bach MA, Weissenbach J. Familial hemiplegic migraine. Localization of a responsible gene on chromosome 19. *Rev Neurol* 150(5):340-5,1994
2. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD, Frants RR. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* 1;87(3):543-52,1996
3. Stewart WF, Staffa J, Lipton RB, Ottman R. Familial risk of migraine: a population-based study. *Ann Neurol* 41:166-72,1997
4. Merikangas KR, Tienney C, Martin NG. Genetic of migraine in the Australian Twin Registry. In: Rose CF, ed. *New Advances in Headaches Research*, 4. London: Smith-Gordon: 27-8, 1994

5. Ulrich V, Gervil M, Kyvik KO, Olesen J, Russell MB. Evidence of a genetic factor in migraine with aura: a population-based Danish twin study. *Ann Neurol* 45(2):242-6,1999
6. Russell MB. Genetic epidemiology of migraine and cluster headache. *Cephalalgia*. 17(6):683-701,1997
- Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* 26;311(7004):541-4,1995
- Ptáček LJ. The place of migraine as a channelopathy. *Curr Opin Neurol* 11(3):217-26,1998
- Jun K, Piedras-Rentería ES, Smith SM, Wheeler DB, Lee SB, Lee TG, Chin H, Adams ME, Scheller RH, Tsien RW, Shin HS. Ca(2+) channel currents, altered synaptic transmission, and progressive ataxia in mice lacking the alpha (1A)-subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 21;96(26):15245-50,1999
- Spadaro M, Ursu S, Lehmann-Horn F, Veneziano L, Antonini G, Giunti P, Frontali M, Jurkat-Rott K. A G301R Na⁺/K⁺ -ATPase mutation causes familial hemiplegic migraine type 2 with cerebellar signs. *Neurogenetics* 5(3):177-85,2004
- Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, Ferrari MD, Herzog J, van den Maagdenberg AM, Pusch M, Strom TM. Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 5;366(9483):3,2005
- Terwindt G, Kors E, Haan J, Vermeulen F, Van den Maagdenberg A, Frants R, Ferrari M. Mutation analysis of the CACNA1A calcium channel subunit gene in 27 patients with sporadic hemiplegic migraine. *Arch Neurol* 59(6):1016-8,2002
- Cady RK, Schreiber CP. Sinus headache: a clinical conundrum. *Otolaryngol Clin North Am* 37(2):267-88,2004
- Mehle ME, Schreiber CP. Sinus headache, migraine, and the otolaryngologist. *Otolaryngol Head Neck Surg* 133(4):489-96,2005
- en P, Georgalas C, Papesch M. Co-morbidity of migraine and Ménière's disease - is allergy the link? *J Laryngol Otol* 119(6):455-60, 2005
- azerani P, Pourpak Z, Ahmadiani A, Hemmati A, Kazemnejad A. A correlation between migraine, histamine and immunoglobulin E. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2(1):17-24,2003
- oul K, Abbas Andrew H, Lichtman. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology. Second edition, updated Edition 11:243-273 ,2006-2007
- acey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin and tumor necrosis factor. *Lancet* 122-1126,1989

9. Scott K, Durum and Joost J. Macrophage derived mediators: Interleukin 1, Tumor Necrosis Factor, Interleukin 6, Interferon and Related Cytokines. Fundamental immunology. Second edition, William E. Paul (Ed). New York: Raven Press Ltd 639-656, 1989
10. Tracey KJ. Tumor Necrosis Factor G. The Cytokine Handbook. New York: Academic Press 289-304, 1994
11. Merrill JE. Tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 and related cytokines in brain development: normal and pathological. Dev Neurosci 14:1-10, 1992
12. Weinberger DR, Lipska BK. Cortical maldevelopment, antipsychotic drugs and schizophrenia: a search for common ground. Schizophr Res 16:87-110, 1995
13. Baker I, Masserano J, Wyatt RJ. Serum cytokine concentrations in patients with schizophrenia. Schizophr Res 20:199-203, 1996
14. Makhatadze NJ. Tumor necrosis factor locus: genetic organization and biological implications. Hum Immunol 59:571-579, 1998
15. Martelletti P, Stirparo G, Giacobazzo M. Proinflammatory cytokines in cervicogenic headache. Funct Neurol 14:159-162, 1999
16. Martelletti P. Proinflammatory pathways in cervicogenic headache. Clin Exp Rheumatol 118(suppl 19):33-38, 2000
17. Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. Brain 117:199-210, 1994
18. Rothwell NJ, Luheshi G. Pharmacology of interleukin-1 actions in the brain. Adv Pharmacol 25:1-20, 1994
19. Licinio J, Kling MA, Hauser P. Cytokines and brain function: relevance to interferon alpha-induced mood and cognitive changes. Seminars in Oncology 25(suppl.1):30-38, 1998
20. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). Annals of Allergy, Asthma, Immunology 85:9-21, 2000
21. Vaday GG, Lider O. Extracellular matrix moieties, cytokines and enzymes: dynamic effects on immune cell behaviour and inflammation. J Leukocyte Biol 67:149-159, 2000
22. Romagnani S. Th1/Th2 cells. Inflamm Bowel Dis 5:285-294, 1999
23. Vitkovic L, Varolomeeve EE, Malinin NL, Kovalenko AV, Boldin MP. Tumour necrosis factor receptor and fas signalling mechanisms. Annu Rev Immunol 17:331-367, 1999

114. Benneviste EN. Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev* 9:259-275,1998
15. Vitkovic L, Boackaert J, Jackue C. Inflammatory cytokines: Neuromodulators in normal brain. *J Neurochem* 74:457-471,2000
16. Mohankumar PS, Thyagarajan S, Quadri SK. Interleukin-1 stimulates the release of dopamine and dihydroxyphenylacetic acid from the hypothalamus in vivo. *Life Sci* 48:925-930,1991
17. Shintani F, Kanba S, Nakaki T, Nibuya M, Kinoshita N, Suzuki E, Yagi G, Kato R, Asai M. Interleukin-1 beta augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J Neurosci* 13:3574-3581,1993
18. Linthorst AC, Flachskamm C, Müller-Preuss P, Holsboer F, Reul JM. Effect of bacterial endotoxin and interleukin-1 beta on hippocampal serotonergic neurotransmission, behavioral activity, and free corticosterone levels: an in vivo microdialysis study. *J Neurosci* 15(4):2920-34,1995
9. Merali Z, Lacosta S, Anisman H. Effects of interleukin-1beta and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study. *Brain Res* 761:225-235,1997
0. Zhao B, Schwartz JP. Involvement of cytokines in normal CNS development and neurological disease: recent progress and perspectives. *J Neurosci Res* 52:7-16,1998
1. Jonakait GM. Cytokines in neuronal development. *Adv Pharmacol* 37:35-53,1997
2. Giulian D, Ingeman JE. Colony-stimulating factors as promoters of ameboid microglia. *J Neurosci* 8:4707-4717,1988
- Giulian D, Woodward J, Young DG, Krebs JF, Lachman LB. Interleukin-1 injected into mammalian brain stimulates astrogliosis and neovascularization. *J Neurosci* 8(7):2485-90,1988
- Lieberman AP, Pitha PM, Shin HS, Shin ML. Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neurotropic virus. *Proc Natl Acad Sci* 86(16):6348-52,1989
- Empl M, Sostak P, Riedel M, Schwarz M, Müller N, Förderreuther S, Straube A. Decreased sTNF-RI in migraine patients? *Cephalalgia* 23(1):55-8,2003
- Covelli V, Munno I, Pellegrino NM, Di Venere A, Jirillo E, Buscaino GA. Exaggerated spontaneous release of tumor necrosis factor-alpha/cachectin in patients with migraine without aura. *Acta Neurol* 12(4):257-63,1990
- Munno I, Centonze V, Marinaro M, Bassi A, Lacedra G, Causarano V, Nardelli P, Cassiano MA, Albano O. Cytokines and migraine: increase of IL-5 and IL-4 plasma levels. *Headache* 38(6):465-7,1998

128. Maier SF, Wiertelak FP, Martin D, Watkins LR. Interleukin-1 mediates behavioral hyperalgesia produced by lithium chloride and endotoxin. *Brain Res* 623:321-324,1993
129. Jeanjean AP, Moussaoui SM, Maloteaux JM, Laduron PM. Interleukin-1 beta induces long-term increase of axonally transported opiate receptors and substance P. *Neuroscience* 68:151-157,1995
130. Cunha FQ, Poole S, Lorenzetti BB, Ferreira SH. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 107:660-664,1992
131. Wagner R, Myers RR. Endoneurial injection of TNFalpha produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport* 7:2897-2901,1996
132. Vale ML, Marques JB, Moreira CA, Rocha FA, Ferreira SH, Poole S, Cunha FQ, Ribeiro RA. Antinociceptive effects of interleukin-4, -10, and -13 on the writhing response in mice and zymosan-induced knee joint incapacitation in rats. *J Pharmacol Exp Ther* ;304(1):102-8,2003
133. Yao MZ, Gu JF, Wang JH, Sun LY, Lang MF, Liu J, Zhao ZQ, Liu XY. Interleukin-2 gene therapy of chronic neuropathic pain. *Neuroscience* 112(2):409-16,2002
134. Perini F, D'Andrea G, Galloni E, Pignatelli F, Billo G, Alba S, Bussone G, Toso V. Plasma cytokine levels in migraineurs and controls. *Headache* 45(7):926-31,2005
135. Mueller L, Gupta AK, Stein TP. Deficiency of tumor necrosis factor alpha in a subclass of menstrual migraineurs. *Headache* 41:129-137,2001
136. Rainero I, Grimaldi LM, Salani G, Valfrè W, Rivoiro C, Savi L, Pinessi L. Association between the tumor necrosis factor-alpha -308 G/A gene polymorphism and migraine. *Neurology* 13;62(1):141-3,2004
137. Kemper RH, Meijler WJ, Korf J, Ter Horst GJ. Migraine and function of the immune system: a meta-analysis of clinical literature published between 1966 and 1999. *Cephalalgia* 21(5):549-57,2001
138. Sorkin LS, Xiao WH, Wagner R, Myers RR. Tumour necrosis factor-alpha induces ectopic activity in nociceptive primary afferent fibres. *Neuroscience* 81:255-262,1997
139. Cuesta MC, Quintero L, Pons H, Suarez-Roca H. Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells. *Neurochem Int* 40(4):301-6,2002

140. Levite M. Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci* 95:12544-49,1998
141. McGillis JP, Humphreys S, Reid S. Characterization of functional calcitonin gene-related peptide receptors on rat lymphocytes. *J Immunol* 147:3482-3489,1991
142. Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 28:183-7,1990
143. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Poole S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 110(3):1227-31,1993
144. Watkins LR, Goehler LE, Relton J, Brewer MT, Maier SF. Mechanisms of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) hyperalgesia. *Brain Res* 18;692(1-2):244-50,1995
145. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchorne A, Winter J, Woolf CJ. Contribution of interleukin-1 beta to the inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 115(7):1265-75,1995
146. Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T. Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(23):8535-9,1987
147. Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 17-23;320(6063):584-8,1986
148. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1(5):353,1992
149. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci* 1;94(7):3195-9,1997
150. Hohjoh H, Nakayama T, Ohashi J, Miyagawa T, Tanaka H, Akaza T, Honda Y, Juji T, Tokunaga K. Significant association of a single nucleotide polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene promoter with human narcolepsy. *Tissue Antigens* 54(2):138-45,1999
151. Mazaheri S, Hajilooi M, Rafiei A. The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with migraine without aura. *J Neurol* 253(12):1589-93,2006

140. Levite M. Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci* 95:12544-49,1998
141. McGillis JP, Humphreys S, Reid S. Characterization of functional calcitonin gene-related peptide receptors on rat lymphocytes. *J Immunol* 147:3482-3489,1991
142. Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 28:183-7,1990
143. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Poole S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 110(3):1227-31,1993
144. Watkins LR, Goehler LE, Relton J, Brewer MT, Maier SF. Mechanisms of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) hyperalgesia. *Brain Res* 18;692(1-2):244-50,1995
145. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchorne A, Winter J, Woolf CJ. Contribution of interleukin-1 beta to the inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 115(7):1265-75,1995
146. Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T. Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(23):8535-9,1987
47. Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 17-23;320(6063):584-8,1986
48. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1(5):353,1992
49. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci* 1;94(7):3195-9,1997
0. Hohjoh H, Nakayama T, Ohashi J, Miyagawa T, Tanaka H, Akaza T, Honda Y, Juji T, Tokunaga K. Significant association of a single nucleotide polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene promoter with human narcolepsy. *Tissue Antigens* 54(2):138-45,1999
- . Mazaheri S, Hajilooi M, Rafiei A. The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with migraine without aura. *J Neurol* 253(12):1589-93,2006