

**A szerotonin és a CGRP szerepe migrénben: genetikai és neurokémiai  
vizsgálatok**

Ph. D. értekezés tézisei

**Juhász Gabriella**

neurológus

**Témavezető:**

Prof. Dr. Bagdy György

Semmelweis Egyetem

Idegtudományok Doktori Iskola

Program: Neuropszichiátriai megbetegedések neurobiológiai alapjai

Programvezető: Prof. Dr. Nagy Zoltán

*Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézet*

*Neurokémiai és Neuropszichofarmakológiai Laboratórium*

Budapest, 2003

## 1 Bevezetés

Annak ellenére, hogy ma már számos, klinikailag hatásos migrénellenes gyógyszerrel rendelkezünk, mindmáig nem sikerült teljes egészében megismernünk a migrén kialakulásának pontos patofiziológiai hátterét (6). A múlt század 40-es éveiben két alapvető elméletet dolgoztak ki, amelyek azonban csak részben tudtak magyarázatot adni a migrén okaira és tüneteire. A Wolff és munkatársai nevéhez fűződő vasculáris hipotézis azon a megfigyelésen alapult, hogy az intracraniális nagyerek ingerlése a migrénhez hasonló fájdalommal jár és a migrénes roham során ezen erek átmérője változik. A Leao és munkacsoportja által kidolgozott neurogén migrénelmélet kiindulópontja az, hogy a vasculáris történéseket egy 2-5 mm/perc sebességgel tovahaladó agykérgi gátlás (cortical spreading depression) előzi meg. A biokémiai ismereteink fejlődésével egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a szerotonin is rendkívül fontos szerepet játszik a migrén kialakulásában. Erre utaltak azok a megfigyelések, amelyek szerint a migrénesek szerotonerg anyagcseréje megváltozik a migrénes roham alatt (1), valamint a szerotoninfelszabadulást okozó szerek, illetve bizonyos szerotoninreceptor agonista készítmények migrénes rohamot provokálnak (2). A szerotonin jelentőségét támasztja alá az a tény is, hogy a ma használatos migrénellenes gyógyszerek többsége a szerotonerg rendszeren keresztül hat (3). A fenti elméleteket és az újabb neurokémiai eredményeket próbálta ötvözni és kiegészíteni a ma legelfogadottabb ún. trigemino-vasculáris migrénelmélet, melynek kidolgozása Moskowitz és Fozard kutatócsoportjainak köszönhető (2, 5).

Populációgenetikai vizsgálatok bizonyították, hogy a migrén gyakrabban előforduló variánsai poligénes öröklődésmenetű, multifaktoriális kórképek (4). Mivel a molekuláris genetikai módszerek ugrásszerű fejlődése gyökeres változást hozott a kutatásban, ma már alapvető igény a biokémiai módszerekkel kimutatott eltérések genetikai hátterének megismerése a migrén vizsgálata során is.

## 2 Célkitűzések

Dolgozatomban a szerotonerg rendszer és a migrén kapcsolatának továbbra is kérdéses pontjaival foglalkozom. Irodalmi adatok alapján valószínű, hogy a szerotonin nem oki kapcsolatban áll a migrénnel, hanem bonyolult szabályozó folyamatokban vesz részt. Ugyanakkor, főként állatkísérletes eredmények alapján feltételezzük, hogy a CGRP (calcitonin gén relációs peptid) kulcsszerepet játszik a migrénes fájdalom kialakulásában. Sajnos rendkívül kevés humán vizsgálatot végeztek ezzel kapcsolatban és az állatkísérletes migrénmodellek alapján nyert eredmények több szempontból is megkérdőjelezhetőek. Továbbá a szerotonin és a CGRP kölcsönhatásairól nem áll rendelkezésünkre humán, klinikai adat. Egy másik alapvető probléma, hogy a szerotonerg rendszeren keresztül ható migrénellenes szerek pontos hatásmechanizmusát ma sem ismerjük. A fentieket figyelembe véve munkám során a következő kérdésekre keresem a választ:

- 1) A migrénesek szerotonerg anyagcseréje eltér-e a kontroll személyekétől az általunk vizsgált populációban?
- 2) A szerotonin transzporter és az 5-HT<sub>2A</sub> receptor gének általunk vizsgált polimorfizmusai szerepet játszanak-e a migrén kialakulásában?
  - a) Eltérőek-e az allél és genotípus frekvenciák a migrénes betegekben a kontroll populációhoz képest?
  - b) Az 5-HT transzporter gén funkcionális 5-HTTLPR polimorfizmusa összefüggést mutat-e a trombocita szerotonin koncentrációval?
  - c) Önmagában az 5-HT transzporter gén funkcionális 5-HTTLPR polimorfizmusa lehet-e a migrén rizikófaktora?
- 3) Igazolható-e a szerotonin és a CGRP szerepe a migrén modellnek tekintett nitroglicerinnel provokált migrénes roham létrejöttében?
  - a) A migrénesek érzékenyebbek-e az NO-donor nitroglicerinnel?
  - b) Milyen neurokémiai tényezők hajlamosítanak az NO provokált migrénes roham kialakulására?

- c) Milyen neurokémiai változások következnek be a migrénes roham során?
- d) Milyen szoros összefüggést mutatnak ezek a fejfájással?
- e) Milyen neurokémiai változásokat idéz elő a migrénes roham sumatriptan terápiaja?

### **3 Módszerek**

#### **3.1 Vizsgálati személyek**

Vizsgálatainkban az Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézet, a Zuglói Egészségügyi Szolgálat Ideggyógyászati Szakrendelőjének és a Sport Kórház Fejfájás Ambulanciájának migrénes betegek (aura nélküli és típusos aurával járó migrén), valamint egészséges kórházi dolgozók és diákok vettek részt. Mindannyian magyar származású nők voltak, felmenőiket tekintve a közép-európai (kaukázusi) népcsoporthoz tartoztak. Valamennyiüktől részletes anamnézist vettünk föl, különös tekintettel a fejfájásra és egyéb pszichiátriai vagy neurológiai betegségre. Ezután, még a vizsgálatokba történt beválasztásuk előtt, belgyógyászati, neurológiai és pszichológiai kivizsgáláson estek át. A fejfájás diagnózisának megállapításában az IHS (International Headache Society) kritériumrendszerét használtuk. Vizsgálataink során a betegpopuláció adatait egészséges kontroll személyekéhez hasonlítottuk. A vizsgálati protokollokat az Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézet Etikai Bizottsága engedélyezte. A vizsgálatok megkezdése előtt valamennyi résztvevő személytől írásos beleegyező nyilatkozatot kértünk.

#### **3.2 Mért paraméterek**

- trombocita szerotoninkoncentráció mérése, trombocitadús plazmából, HPLC-hez kapcsolódó elektrokémiai detektor segítségével
- progeszteron és ösztadiol koncentráció mérése RIA módszerrel
- a szerotonin transzporter gén 5-HTTLPR polimorfizmusának meghatározása PCR segítségével

- az 5-HT<sub>2A</sub> receptor gén 102 T/C polimorfizmusának meghatározása PCR és Msp.I. restrikciós endonukleáz enzim emésztés módszerével
- calcitonin gén relációs peptid (CGRP) koncentrációjának mérése speciális és érzékeny RIA módszer segítségével
- fejfájás napló vezetése a fejfájás gyakoriságának, jellegének és az alkalmazott terápia hatékonyságának nyomon követésére
- a fejfájás erősségének mérése 0-tól 10-ig pontozó verbális skála segítségével
- a fejfájás minőségének és az alkalmazott terápia hatásának követése előre összeállított kérdőívek segítségével

### 3.3 Statisztika

A kapott adatokat egy és többszemponos varianciaanalízissel (ANOVA) elemeztük, Newman-Keuls post hoc összehasonlításokkal kiegészítve. A non-paraméteres eredményeket Friedman-féle ANOVA-val és Mann-Whitney U teszttel vizsgáltuk. A többszörös összehasonlítások esetén Bonferroni-féle korrekciót végeztünk. A résztvevők, az allélok és a genotípusok statisztikai megoszlását a különböző csoportok között khi négyzet próbával vizsgáltuk. Korrelációs vizsgálatainkhoz Spearman-féle rank order korrelációs próbát és Pearson product moment korrelációs tesztet alkalmaztunk. Logisztikus regresszió módszerével teszteltük az általunk vizsgált két polimorfizmus kölcsönhatását. Az Odds értékeket és a 95%-os konfidencia határt standard módszerekkel számítottuk ki.

## 4 Eredmények

Munkám– mely a szerotonerg rendszer és a migrén kapcsolatának mélyebb megismerésére, valamint a migrénes rohamot kísérő neurokémiai változások vizsgálatára irányult – eredményei a következőkben foglalhatók össze:

- Az aura nélküli migrénesek trombocita szerotonin koncentrációja, fejfájásmentes állapotban, szignifikánsan alacsonyabb, amennyiben a

kontrollcsoportot nem, életkor és menstruációs ciklus szempontjából gondosan illesztjük a betegpopulációhoz.

- A szerotonin transzporter gén vagy egy vele kapcsolatos öröklődő génszakasz a migrén kialakulásának rizikófaktora lehet, mert az *5-HTTLPR* polimorfizmus S allélja migrénesekben szignifikánsan gyakrabban fordul elő, mint kontroll személyekben. A migrénes betegekben mért alacsonyabb trombocita szerotonin koncentráció viszont nem az *5-HTTLPR* polimorfizmus eltérő allél-gyakoriságának következménye, tehát a két rizikófaktor külön-külön is fennáll. Az ún. „stressz szenzitív” S allél a szorongásosság fokozásán keresztül is kifejtheti migrénre hajlamosító hatását.
- Az  $5\text{-HT}_{2A}$  receptor gén nem befolyásolja a migrén kialakulását.
- Mind a spontán migrénes rohamok, mind az NO provokálta migrénes rohamok kialakulásának fokozott kockázati tényezője a fejfájás-mentes állapotban mérhető alacsonyabb trombocita szerotonin koncentráció és a magasabb plazma CGRP koncentráció.
- A plazma CGRP koncentráció a migrénes fájdalommal időben és mértékében egyaránt szorosan együtt változó marker, mely alapján valószínűsíthető, hogy a CGRP oki szerepet játszik a migrén kialakulásában.
- A nitroglicerinnel kiváltott akut, enyhe fejfájás nem mutat összefüggést a CGRP koncentráció változásával.
- A trombocita szerotonin felszabadulás nem oka a nitroglicerinnel indukált migrénes rohamnak, hanem ellenkezőleg, megelőzheti vagy csökkentheti a migrénes fájdalom kialakulását, feltehetően az  $5\text{-HT}_{1B/1D}$  receptorok aktiválásán keresztül.
- Az  $5\text{-HT}_{1B/1D}$  receptor agonista sumatriptan a fájdalommal együtt csökkenti a plazma CGRP koncentrációt, ami nagy valószínűséggel szerepet játszik migrénellenes hatásában

## 5 Összefoglalás

Munkám során a szerotonerg rendszer és a CGRP migrénben betöltött szerepét vizsgáltam. Arra kerestem a választ, hogy mely neurokémiai és genetikai eltérések hajlamosíthatnak migrénre, illetve, hogy migrénes roham alatt miként változnak ezek a neurokémiai paraméterek.

Vizsgálataink során alacsonyabb trombocita szerotonin koncentrációt mértünk aura nélküli migrénes betegeinkben, fejfájás-mentes állapotban, a kontroll csoporthoz képest. A trombocita szerotonin koncentráció és a migrén kapcsolatának genetikai hátterét vizsgálva azt találtuk, hogy a szerotonin transzporter gén funkcionális *5-HTTLPR* polimorfizmusának S allélja gyakoribb migrénesekben a kontroll csoporthoz képest, bár az alacsonyabb trombocita szerotonin koncentrációt nem az S allél eltérő allélfrekvenciája határozza meg. A migrénesekben észlelt fokozott szorongásosság arra utal, hogy a szerotonin transzporter gén un. „stressz szenzitív” S allélja önmagában is a migrén kialakulásának rizikófaktora lehet. Továbbá bizonyítottuk, hogy az *5-HT<sub>2A</sub>* receptor gén nem befolyásolja a migrén kialakulását.

Az NO donor nitroglicerinnel által provokált fejfájás az egyik legelterjedtebben alkalmazott humán migrénmodell. Vizsgálatainkkal bizonyítottuk, hogy a fejfájás-mentes állapotban mérhető alacsonyabb trombocita szerotonin koncentráció és a magasabb plazma CGRP koncentráció együttes jelenléte fokozott kockázatot jelent mind a spontán migrénes rohamok, mind az NO provokálta migrénes rohamok kialakulására. Eredményeink szerint a plazma CGRP koncentráció a migrénes fájdalommal szorosán együtt változó marker, koncentrációja együtt növekszik a fejfájással. Ugyanakkor, az *5-HT<sub>1B/1D</sub>* receptor agonista sumatriptan a plazma CGRP koncentráció csökkentését idézi elő a migrénes roham oldásával egyidejűleg. Továbbá igazoltuk, hogy a nitroglicerinnel kiváltott akut, enyhe, nem migrénes jellegű fejfájás nem jár CGRP koncentráció-változással. Ezekkel az eredményekkel humán bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy a CGRP oki szerepet játszik a migrén kialakulásában.

Végül vizsgálataink alapján megállapíthatjuk, hogy a trombocita szerotonin felszabadulás nem oka a nitroglicerinnel provokálta migrénes rohamnak, hanem ellenkezőleg, megelőzheti vagy csökkentheti a migrénes fájdalom kialakulását.

## 6 Irodalomjegyzék

1. Ferrari, M.D., Saxena, P.R. On serotonin and migraine: a clinical and pharmacological review. *Cephalalgia* 13:151-165; 1993
2. Fozard, J.R., Kalkman, H.O. 5-Hydroxytryptamine (5-HT) and the initiation of migraine: new perspectives. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 350:225-229; 1994
3. Johnson, K.W., Phebus, L.A., Cohen, M.L. Serotonin in migraine: Theories, animal models and emerging therapies. *Progress in Drug Research*. 51:219-244; 1998
4. Montagna, P. Molecular genetics of migraine headaches: a review. *Cephalalgia* 20:3-14; 2000
5. Moskowitz, M.A. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology* 43:16-20; 1993
6. Parsons, A.A., Strijbos P.J. The neuronal versus vascular hypothesis of migraine and cortical spreading depression. *Curr Opin Pharmacol* 3:73-77; 2003

## 7 Köszönetnyilvánítás

Ezúton fejezem ki köszönetemet mindazoknak, akiknek segítsége és támogatása nélkül ez az értekezés nem jött volna létre. Elsősorban témavezetőmnek, Prof. Dr. Bagdy Györgynek, akinek szakmai irányítása és rendkívüli kutatói tapasztalata jelentett felbecsülhetetlen segítséget. Külön köszönet illeti Dr. Karcagi Veronikát (Fodor József Országos Közegészségügyi Központ, OKI, Molekuláris Genetikai és Diagnosztikai Osztály) és Dr. Lászik András (Semmelweis Egyetem Igazságügyi Orvostani Tanszék, DNS Laboratórium), akik a genetikai vizsgálatok elsajátításában voltak segítségemre. Köszönöm Dr. Németh Józsefnek (Pécsi Orvostudományi Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet) a CGRP mérések gondos kivitelezését. Szeretném megköszönni Dr. Zsombók Teréziának és Dr. Kárpáti Gyöngyvérnek (Zuglói Egészségügyi Szolgálat, Ideggyógyászati Szakrendelő) a vizsgálati személyek gyűjtésében nyújtott pótolhatatlan segítségüket. Köszönöm Ozoróczy Szász Ilonának, Nagy Sándorné Marinak és Deák Erzsébetnek kitűnő asszisztensi munkájukat, valamint



munkatársaimnak Dr. Anheuer Egonné Zsuzsának, Dr. Módosné Ányok Editnek, Nagy Rezsőné Nórának, Dr. Jakus Ritának, Gonda Xéniának, Balogh Brigittának, Dr. Moszkovkin Georgijnak, Dr. Kántor Sándornak és Dr. Gráf Mártonnak szakmai és baráti jótanácsait. Nem jöhetett volna létre ez a munka a sok kedves önkéntes nélkül, akiknek ezúton is köszönöm a vizsgálatokban való részvételüket. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családom megértő türelmét, szeretetét és támogatását, melyből nap mint nap erőt meríthettem.

## 8 Saját közlemények jegyzéke

### 8.1 Az értekezés anyagát képező szakcikkek, megjelent előadás kivonatok

#### 8.1.1 Szakcikkek:

1. **Juhász, G.**, Bagdy, G. A buspiron és a benzodiazepinek eltérő neurológiai hatásai – elméleti áttekintés és klinikai tapasztalatok. *Ideggyógyászati Szemle (Clinical Neuroscience)* 53:220-228; 2000
2. Zsombok, T., **Juhász, G.**, Budavari, A., Vitrai, J., Bagdy, G. The effect of autogenic training on drug consumption in primary headache patients; an eight month follow up study. *Headache* 43:251-257; 2003
3. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Laszik, A., Jakus, R., Faludi, G., Sotonyi, P., Bagdy, G. Despite the general correlation of the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism (*5-HTTLPR*) and platelet serotonin (5-HT) concentration, lower platelet serotonin concentration in migraine patients is independent of the *5-HTTLPR* variants. *Neuroscience Letters* 350:56-60; 2003
4. Bagdy, G., Zsombok, T., Gonda, X., **Juhász, G.** Autogenic training might help headache patients. *Focus on Alternative and Complementary Medicine (FACT)* 8:345-347; 2003
5. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Modos, E.A., Olajos, S., Jakab, B., Nemeth, J., Szolcsányi, J., Vitrai, J., Bagdy, G. NO-induced migraine attack: strong increase in plasma calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentration and negative correlation with platelet serotonin release. *Pain* 106:461-470; 2003

6. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Lászik, A., Gonda, X., Sotonyi, P., Faludi, G., Bagdy, G. Association analysis of 5-HTTLPR variants, 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene 102T/C polymorphism and migraine. *Journal of Neurogenetics* in press 2003

#### 8.1.2 Megjelent előadáskivonatok

1. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Lászik, A., Faludi, G., Bagdy, G. Az 5-HT<sub>2A</sub>-receptor-gén és az 5-HT-transzporter-gén polimorfizmusának vizsgálata migrénben. Magyar Klinikai Neurogenetikai Társaság IV. Symposiuma. 2001. november 8-10. Szombathely. *Ideggyógyászati Szemle (Clinical Neuroscience)* 54:310; 2001
2. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Lászik, A., Faludi, G., Bagdy, G. Aura nélküli migrénes betegek genetikai vizsgálata a szerotonerg rendszerben mérhető neurokémiai eltérések tükrében. Kezdeti eredmények. A Magyar Fejfájás Társaság IX. Kongresszusa. 2002. május 3-4. Balatonalmádi. *Cephalalgia Hungarica* 9:pótlap; 2002
3. **Juhász, G.**, Zsombok, T., Bagdy, G. A szerotonin szerepe a migrén kialakulásában. A Magyar Fejfájás Társaság X. Kongresszusa. 2003. május 2-3. Siófok. *Cephalalgia Hungarica* 10:9; 2003

#### 8.2 Egyéb közlemények, előadások, poszterek

1. **Juhász, G.**, Mayer, I. A gyakoribb neurogenetikai betegségek diagnosztikai lehetőségei. Neuro. A *Medicus Anonymus* különszáma. 1:22-25; 2002. Szakcikk.
2. Jakus, R., Graf, M., **Juhász, G.**, Gerber, K., Levay, G., Halasz, P., Bagdy, G. 5-HT<sub>2C</sub> receptors inhibit and 5-HT<sub>1A</sub> receptors activate the generation of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Experimental Neurology* in press 2003. Szakcikk.
3. **Juhász, G.**, Jakus, R. Neurológiai betegek gondozása Skóciában és Floridában. Fiatal Neurológusok XII. Országos Fóruma. 1997. szeptember 26-28. Vác.

- Poszter. *Ideggyógyászati Szemle (Clinical Neuroscience)* 50:339; 1997. Absztrakt.
4. Karcagi, V., **Juhász, G.**, Herczegfalvi, A., Silander, K. Correlation between clinical symptoms and molecular genetic analysis of Hungarian patients affected by Charcot-Marie-Tooth neuropathy type I (CMT1). 30<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society of Human Genetics. 10-13 May, 1998 Lisbon, Portugal. Poszter. *European Journal of Human Genetics* 6(S1):121; 1998. Absztrakt.
  5. **Juhász, G.**, Baraczka, K. A humoralis és sejtes immunválasz vizsgálata sclerosis multiplexes betegek long time követésénél. Ifjú Neurológusok IX. Fóruma. 1993. szeptember 24-26. Győr. Előadás.
  6. **Juhász, G.**, Baraczka, K. Vérből és liquorból nyert mononuclearis sejtek tipizálása monoclonalis ellenanyagok segítségével neuroimmunológiai betegségekben. Magyar Ideg- és Elmeorvosok Társasága Jubileumi Nagygyűlése. 1994. június 2-4. Hajdúszoboszló. Előadás.
  7. **Juhász, G.**, Baraczka, K., Jankó, Zs., Szegedy, L. Diagnosztikus problémák autoimmun belgyógyászati betegség és neurológiai tünetek együttes előfordulásakor - esetismertetés. Magyar Ideg- és Elmeorvosok Társasága 32. Nemzeti Nagygyűlése és a Brit-Magyar Neurológusok Szimpóziuma. 1995. március 7-11. Budapest. Előadás.
  8. **Juhász, G.** A secretinnel kapcsolatos vizsgálatok autizmusban. A Magyar Pszichofarmakológiai Egyesület II. Neuropszichofarmakológiai Kongresszusa. 1999. október 7-9. Tihany. Előadás.
  9. Danics, Z., **Juhász, G.**, Bagdy, G. Genetikai faktorok és a terápiás válasz összefüggései szkizofrénia esetén. Magyar Pszichiátriai Társaság X. Vándorgyűlése. 2003. január 29 - február 1. Sopron. Előadás. (Absztraktgyűjtemény 32.)
  10. **Juhász, G.** Receptorok genetikai polimorfizmusának jelentősége a klinikai gyakorlatban. A Magyar Biokémiai Egyesület munkaértekezlete: „G fehérjéhez kapcsolt receptorokon ható gyógyszerek kutatása”. 2003. május 26-28. Balatonöszöd. Előadás.
  11. Bagdy, G., **Juhász, G.** A szerotonin anyagcsere genetikai eltérései. A Magyar Tudományos Akadémia Orvostudományok Osztálya és a Magyar

Pszichofarmakológusok Társasága 2003. évi tudományos ülése: „A neuropszichofarmakológia genetikája”. 2003. november 11. Budapest. Előadás.