



Ogólnoswiatowy Rok na Rzecz Ulgi w
Bólach Głowy
Październik 2011-Październik 2012

Aspekt genetyczny w bólach głowy

Metody badań genetycznych w bólach głowy

Migrena – pierwotny ból głowy najczęściej badany pod kątem genetyki – jest prawdopodobnie spowodowana zarówno czynnikami środowiskowym, jak i genetycznymi. Badania epidemiologiczne rodzin oraz bliźniąt wskazują na to, iż komponent genetyczny ma większe znaczenie w migrenie z aurą w porównaniu do migreny bez aury. Chociaż czynniki genetyczne są także istotne w etiologii innych bólów głowy, jak napięciowe oraz klasterowe bóle głowy, to brakuje badań genetycznych w tych zespołach bólowych.

W celu identyfikacji czynników genetycznych wpływających na podatność na rozwój migreny stosowano wiele metod badawczych, mających zastosowanie także w badaniach genetycznych innych zespołów bólów głowy. Przede wszystkim można zastosować klasyczną analizę powiązań, której celem jest znalezienie w oparciu o koligacje rodzinne odcinków chromosomów wspólnych dla osób chorujących. Ta metoda jest szczególnie skuteczna w migrenie monogenowej typu A. Kolejną metodą stosowaną w celu oznaczania potencjalnych wariantów genowych zaangażowanych w rozwój choroby jest tzw. strategia asocjacji genów kandydujących. Te badania testują znamienność różnic w częstości występowania poszczególnych alleli potencjalnych genów zaangażowanych w rozwój choroby pomiędzy chorymi a grupą kontrolną. W ciągu ostatnich dwóch lat technologie typowania wariantów DNA znacznie się rozwinęły, pozwalając na opłacalną analizę setek tysięcy wariantów DNA u wielu tysięcy pacjentów w tzw. badaniach asocjacyjnych całego genomu (*genome-wide association studies* - GWAS). Chociaż GWAS zidentyfikowały setki genów dla wielu złożonych cech, szczególnie chorób neurologicznych, wyniki pozostają w tyle, prawdopodobnie z powodu tego, iż jakość homogenowego fenotypowania jest trudniejsza dla takich chorób. GWAS nie jest "świętym Graalem" w genetyce bólów głowy, ponieważ najczęstsze warianty genów mogą wyjaśniać jedynie w części genetyczne zróżnicowanie. W celu identyfikacji rzadziej występujących wariantów genowych z wyższą wielkością efektu są stosowane dodatkowe metody genetyczne, takie jak sekwencjonowanie eksonów oraz sekwencjonowanie całego genomu, choć aktualnie są one zbyt kosztowne. Kontynuacja odkryć genetycznych w zwierzęcych modelach komórkowych i transgenicznym może wyjaśnić, w jaki sposób geny migreny wywołują chorobę.

Wyniki badań w migrenie monogenowej

Większość pozytywnych odkryć genetycznych pochodzi z badań dotyczących monogenowej rodzinnej migreny hemiplegicznej (FHM), jednego z podtypów migreny z aurą. W 1996 zidentyfikowano pierwszy gen zaangażowany w powstawanie FHM, który koduje podjednostkę regulowanego napięciem kanału wapniowego $Ca_v2.1$. W następnej dekadzie zidentyfikowano dwa kolejne geny, kodujące podjednostkę regulowanego napięciem kanału sodowego $Na_v1.1$ oraz podjednostkę ATPazy sodowo-potasowej. Mutacje w obrębie tych genów nie zawsze były związane z występowaniem klasycznej FHM, ale czasami także z występowaniem niektórych fenotypów padaczki, ataksji mózgowej, udaru, czasem nawet letalnymi następstwami. Funkcjonalne badania genetyczne w modelach komórkowych i na transgenicznym myszach wskazują na wspólny szlak nasilonej transmisji glutaminergicznej, która może wyjaśniać nadmierną skłonność do rozprzestrzeniającej się depresji korowej (CSD), prawdopodobnej przyczyny aury migrenowej. Przykładowo transgeniczne myszy z mutacją genu FHM1 i tym samym posiadające zmienione kanały wapniowe $Ca_v2.1$ wykazują zwiększoną podatność na powstawanie rozprzestrzeniającej się depresji korowej oraz nasilone uwalnianie glutaminianów z neuronów korowych. Normalizacja uwalniania glutaminianów normalizuje również parametry rozprzestrzeniającej się depresji korowej u zmutowanych myszy. Modele układów komórkowych, gdzie obserwowano obniżoną aktywność glicynowej pompy sodowo-potasowej oraz obniżoną aktywność kanałów sodowych $Na_v1.1$ neuronów hamujących, stanowiły pozytywny czynnik prognostyczny dla nadpobudliwości neuronów pobudzających *in vivo*, podobnie do tych wykazanych w mutacjach FHM1.

Wyniki badań w migrenie złożonej

Przeprowadzono wiele badań asocjacji genów kandydujących, np. w badaniach genów kodujących elementy układu serotonergicznego oraz dopaminergicznego, ale większość asocjacji nie może być replikowana, co sugeruje, iż niektóre

z uzyskanych wyników mogą być fałszywie dodatnie. Najlepsze wyniki uzyskano z badań nad genem reduktazy 5',10'-metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*), który koduje kluczowy enzym w metabolizmie homocysteiny i kwasu foliowego. Większość badań wykazała powiązanie pomiędzy występowaniem alleli T w polimorfizmie genu *MTHFR* C677T a migreną z aurą. Pierwsze badania GWAS prowadzono u kilku tysięcy pacjentów z migreną z aurą i badania te wykazały pojedyncze związanie z podatnością na migrenę miejsce na chromosomie 8 w pobliżu genu *MTDH*, genu który może wpływać na poziom glutaminianów w mózgu. Kolejne kohortowe populacyjne badania GWAS u kobiet z migreną wykazały trzy dodatkowe lokalizacje wskazujące na geny *PRDM6*, *LPR1* oraz *TRPM8* jako potencjalne geny migreny. Dalsze badania GWAS są w toku, a ilość potencjalnych genów migreny będzie się szybko zwiększać. Ponieważ badanie GWAS jest zaprojektowane do wykrywania tylko powszechnie występujących wariantów genowych (>5%), metoda ta nie wykryje rzadziej występujących wariantów. Takie rzadko występujące warianty mogą mieć wyższą wielkość efektu i dać lepszy wgląd w patofizjologię migreny. Została więc opracowana technologia wykrywania takich wariantów tzw. sekwencjonowanie nowej generacji (next-generation sequencing - NGS), ale jak dotychczas w tej metodzie pozytywne wyniki uzyskano tylko dla rzadkich monogenowych chorób recesywnych. Brak jest jednak danych o pozytywnych wynikach badań w migrenie.

Wyniki badań w innych bólach głowy

Wyniki badań genetycznych w innych bólach głowy nadal są w początkowej fazie. Klasterowe bóle głowy uważane były za rzadko występujące, jednak od lat 90tych wykazano rodzinne współwystępowanie schorzenia. Badania rodzin wykazały 14-krotne zwiększenie ryzyka rozwoju klasterowego bólu głowy u krewnych pierwszego stopnia z chorym na ten typ bólu głowy, dwukrotnie u krewnych drugiego stopnia, co wskazuje na komponent genetyczny w rozwoju klasterowego bólu głowy. Obecnie są również wiarygodne dowody na zaangażowanie czynników genetycznych w napięciowych bólach głowy, szczególnie w postaci o wysokiej częstotliwości napadów. Prowadzono jedynie kilka badań genetycznych w niemigrenowych bólach głowy. Prócz wielu negatywnych badań asocjacyjnych genów kandydujących wykazano znamienne ulegający replikacji polimorfizm genu receptora hipokretyny 2 (*HCRTR2*) w klasterowych bólach głowy.

Wnioski

Badania genetyczne pierwotnych bólów głowy, jak migrena i ból klasterowy, pozwoliły na lepsze zrozumienie molekularnego podłoża tych schorzeń. Identyfikacja mutacji genów u pacjentów z rodzinną migreną hemiplegiczną (FHM) dotyczących podjednostek kanałów wapniowych i sodowych oraz ATPazy sodowo-potasowej pozwoliła na lepszy wgląd w etiologię tej choroby. Badania funkcjonalne tych mutacji genowych w modelach komórkowych oraz na zwierzętach transgenicznym wskazują na istotną rolę zaburzeń uwalniania neuroprzekazników, głównie na nasiloną pobudzającą transmisję glutaminergiczną w FHM. Najnowsze badania GWAS wykazały, iż ten mechanizm prawdopodobnie może również wywoływać częściej występujące postaci migreny. Badania te pozwoliły na oznaczenie genu *MTDH*, który poprzez regulację w dół transportera glutaminianów *EAAT2* może powodować nadpobudliwość neuronów u osób z migreną. Najnowsze badania GWAS pokazały swój rzeczywisty potencjał w badaniach genetycznych, gdyż odkryte genetycznie powiązania pomiędzy *TRPM8*, *LRP1* i *PRDM6* podkreśliły dodatkowy mechanizm patofizjologiczny z włączeniem znanych już szlaków zaangażowanych w ból neuropatyczny. Podobnie interesujące wyniki być może wynikną w nadchodzących latach z badań GWAS w innych pierwotnych bólach głowy. Technologia GWAS wykrywa jedynie powszechne warianty z niską wielkością efektu, natomiast warianty rzadsze z wysoką wielkością efektu pozostają nie wykryte. Jednakże na skutek postępu w technologii badań genetycznych te warianty DNA także prawdopodobnie mogą być wykrywane z zastosowaniem metod sekwencjonowania nowej generacji. Zastosowanie takich nowoczesnych metod w badaniach genetycznych w bólach głowy da ogromny postęp w identyfikacji nowych genów. Prawdziwym wyzwaniem będzie połączenie badań genetycznych i neurobiologicznych w celu określenia funkcji nowo odkrytych wariantów genowych i wyjaśnienia ich zaangażowania w wywoływanie bólu głowy. Z pewnością w nadchodzącej dekadzie wykryte zostaną molekularne mechanizmy bólów głowy, które staną się celem badań nowych terapii farmakologicznych.

Piśmiennictwo

- [1] Anttila V, et al. Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. *Nat Genet* 2010;42:869–73.
- [2] Chasman DI, Schürks M, Anttila V, de Vries B, Schminke U, Launer LJ, Terwindt GM, van den Maagdenberg AM, Fendrich K, Völzke H, Ernst F, Griffiths LR, Buring JE, Kallela M, Freilinger T, Kubisch C, Ridker PM, Palotie A, Ferrari MD, Hoffmann W, Zee RY, Kurth T. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population. *Nat Genet* 2011;43:695–8.
- [3] Headache Classification Committee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders, 2nd ed. *Cephalalgia* 2004;24(Suppl 1):1–160.
- [4] van den Maagdenberg AM, Haan J, Terwindt GM, Ferrari MD. Migraine: gene mutations and functional consequences. *Curr Opin Neurol* 2007;20:299–305.
- [5] van den Maagdenberg AM, Pietrobon D, Pizzorusso T, Kaja S, Broos LA, Cesetti T, van de Ven RC, Tottene A, van der Kaa J, Plomp JJ, Frants RR, Ferrari MD. A *Cacna1a* knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron* 2004;41:701–10.