

AVALUACIÓ DE GENS DE SUSCEPTIBILITAT A FORMES COMUNES DE MIGRANYA

Memòria presentada per
Roser Corominas Castiñeira

Per optar al grau de
Doctora per la Universitat de Barcelona

Programa de Genètica
Departament de Genètica
Bienni 2003-2005

Tesi dirigida pel **Dr. Bru Cormand Rifà** i el **Dr. Alfons Macaya Ruiz** al Laboratori de Neurologia Infantil i Psiquiatria Genètica de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron i al Departament de Genètica de la Universitat de Barcelona.

Dr. Bru Cormand Rifà

Dr. Alfons Macaya Ruiz

Roser Corominas Castiñeira

2009

INTRODUCCIÓ



1 Característiques de les migranyes

1.1 Característiques clíniques generals

La migranya és un trastorn neurològic primari molt freqüent a la població. Es caracteritza generalment per episodis recorrents i incapacitants de mal de cap de naturalesa pulsativa, distribució unilateral, intensitat moderada o severa, que empitjora amb el moviment, i que pot anar acompanyat de fotofòbia, fonofòbia, nàusees i/o vòmits. Precedint o acompanyant el mal de cap, alguns pacients presenten un fenomen anomenat aura que consisteix en alteracions neurològiques transitòries, en la majoria dels casos visuals i/o sensitives (Wessman et al. 2007). Els pacients poden desenvolupar diferents tipus d'episodis al llarg de la vida. Alguns d'ells poden presentar símptomes premonitoris (pròdroms) que tenen lloc des d'hores fins a un o dos dies abans de la crisi de migranya. Aquests símptomes inclouen diverses combinacions de fatiga, malestar, dificultat per concentrar-se, rigidesa a la nuca, sensibilitat a la llum i al so, nàusees, visió borrosa, badalls, pal·lidesa o irritabilitat, entre d'altres (Kallela et al. 2001; Kelman 2004). S'han identificat diversos factors desencadenants que afavoreixen l'aparició d'episodis migranyosos: factors químics com l'alcohol, edulcorants artificials, la cafeïna o certs medicaments; aliments com ara formatge, xocolata, cítrics o fruits secs; condicions físiques com emocions, fatiga, menstruació, exercici físic o estrès; i condicionants ambientals com sorolls forts o canvis climatològics. Un cop la cefalea remet, els pacients poden presentar una fase de recuperació o postdròmica durant la qual se senten fatigats, tenen la sensació de 'ressaca' i poden presentar dificultats cognitives, símptomes gastrointestinals, canvis d'humor i debilitat (Kelman 2006).

A causa de l'absència de marcadors biològics objectius i inequívocs per a aquest trastorn, i a la presentació aleatòria dels episodis, el diagnòstic clínic es basa en criteris subjectius explicats pels pacients (Loder et al. 2006; Russell 2007; Wessman et al. 2007).

1.2 Diagnòstic de la migranya

1.2.1 Classificació de les cefalees

Durant molts anys les cefalees van ser considerades un problema psiquiàtric o psicològic, i a causa del seu ampli espectre hom pensava que es tractava d'una sola entitat amb un contínuum de manifestacions (Olesen 2008). L'any 1963 es van intentar establir criteris diagnòstics per les diferents cefalees i es va proposar aquesta definició per la migranya:

'Recurrent attacks of headache, widely varied in intensity, frequency, and duration. The attacks are commonly unilateral in onset; are usually associated with anorexia, and sometimes with nausea and vomiting; and are often familial' (Headache Committee 1962).

Malauradament, aquesta classificació no va permetre un gran avanç en la recerca de la migranya per l'ambigüitat que presentava a l'hora de diagnosticar els pacients. Com a conseqüència, l'any 1985, durant el segon congrés de la *International Headache Society* (IHS) es va constituir un comitè per a la creació d'un sistema de classificació comprensiu i universal de les cefalees. El treball d'un ampli grup d'experts va permetre la publicació, l'any 1988, de *'The International Classification for Headache Disorders'* (ICHD-I; IHS 1988). Aquesta classificació fou ràpidament acceptada a nivell internacional i va ser objecte de poques crítiques, la qual cosa es va reflectir en una acceleració de la recerca en el camp de les cefalees (Olesen 2008). Aquests criteris van ser posteriorment revisats donant lloc a la classificació utilitzada actualment, ICHD-II, publicada l'any 2004 (IHS 2004). Les principals categories de la ICHD-II es detallen a la taula 1. En qualsevol camp de la medicina és important disposar d'una classificació acceptada de forma general i utilitzada arreu del món. Actualment es considera que la cefalea és una de les àrees de la neurologia més ben definides (Olesen 2008) i amb una classificació fiable, vàlida i exhaustiva (IHS 2004).

Els dos subtipus principals de migranya són: la migranya sense aura (1.1, MO), síndrome clínica caracteritzada per cefalea amb característiques específiques i simptomatologia associada; i la migranya amb aura (1.2, MA), caracteritzada per quadres focals neurològics que habitualment precedeixen o acompanyen la cefalea. La classificació també indica que alguns pacients poden presentar una fase premonitòria prèvia a la cefalea i/o una fase de resolució. Finalment, un dels criteris fonamentals per al diagnòstic és que la cefalea no pot ser atribuïble a cap altre trastorn (IHS 2004).

Taula 1. Classificació de la migranya (ICHD-II): codi i diagnòstic (IHS 2004).

MIGRANYA	
1.1	Migranya sense aura
1.2	Migranya amb aura
1.2.1	Aura típica amb cefalea de tipus migranyós
1.2.2	Aura típica amb cefalea no migranyosa
1.2.3	Aura típica sense cefalea
1.2.4	Migranya hemiplègica familiar
1.2.5	Migranya hemiplègica esporàdica
1.2.6	Migranya de tipus basilar
1.3	Síndromes periòdiques de la infància habitualment precursora de migranya
1.3.1	Vòmits cíclics
1.3.2	Migranya abdominal
1.3.3	Vertigen paroxíctic benigne de la infància
1.4	Migranya retiniana
1.5	Complicacions de la migranya
1.5.1	Migranya crònica
1.5.2	Estatus migranyós
1.5.3	Aura persistent sense infart
1.5.4	Infart migranyós
1.5.5	Crisis comicials desencadenades per migranya
1.6	Probable migranya
1.6.1	Probable migranya sense aura
1.6.2	Probable migranya amb aura
1.6.3	Probable migranya crònica

1.2.2 La migranya sense aura (MO)

La migranya sense aura (MO, 1.1 ICHD-II) és el subtipus més freqüent de migranya, presenta una major freqüència de crisis i aquestes són més severes. Es presenta en forma d'episodis recurrents de cefalea de 4 a 72 hores de durada i amb les següents característiques del dolor: localització unilateral, qualitat pulsativa, intensitat de moderada a severa, empitjorament per activitat física; i està associat a nàusees i/o fotofòbia i fonofòbia. Per a un diagnòstic de MO cal que es compleixin els criteris diagnòstics que s'indiquen a la taula 2.

Aquests criteris vàlids per als adults presenten alguna variació quan es tracta de diagnosticar pacients en edat pediàtrica: la durada de les crisis pot ser de 2 a 72 hores i el dolor que presenten acostuma a ser bilateral (IHS 2004).

En alguns casos s'ha observat que la MO té una relació estricta amb els períodes mensuals. Per aquesta raó, la classificació ICHD-II ha inclòs a mode d'apèndix tres

noves entitats: la migranya menstrual pura (A1.1.1), la migranya relacionada amb la menstruació (A1.1.2) i la migranya no relacionada amb la menstruació (A1.1.3). Aquestes noves entitats encara no estan recolzades per suficients evidències per poder integrar-les a la classificació general, però es tindran en compte en properes revisions de la classificació (IHS 2004).

Taula 2. Criteris diagnòstics per la migranya sense aura (IHS 2004).

MIGRANYA SENSE AURA

- A. Un mínim de 5 crisis que compleixin els criteris B-D
- B. Cefalea de 4 a 72 hores de durada (no tractada o amb tractament ineficaç)
- C. Cefalea que presenti un mínim de dues de les següents característiques:
 - 1. Localització unilateral
 - 2. Qualitat pulsativa
 - 3. Intensitat moderada a severa
 - 4. Empitjora o fa evitar l'activitat física (ex. caminar, pujar escales)
- D. Durant el dolor presenta com a mínim una de les següents característiques:
 - 1. Nàusees i/o vòmits
 - 2. Fotofòbia i fonofòbia
- E. No atribuïble a una altra causa

1.2.3 La migranya amb aura (MA)

La migranya amb aura (MA, 1.2 ICHD-II) es manifesta amb episodis de símptomes focals neurològics reversibles que normalment es desenvolupen gradualment i poden durar de 5 a 60 minuts. L'aura acostuma a precedir una cefalea amb característiques de MO (aura típica amb cefalea migranyosa 1.2.1), no obstant, algunes vegades, la cefalea no compleix els criteris de MO (aura típica amb cefalea no migranyosa 1.2.2) o està totalment absent (aura típica sense cefalea 1.2.3). Altres tipus de MA menys freqüents són la migranya hemiplègica familiar (FHM, 1.2.4) o esporàdica (SHM, 1.2.5) i la migranya de tipus basilar (1.2.6; taula 1). El diagnòstic de MA requereix dos episodis d'aura que compleixin els criteris per a un dels subtipus de MA (IHS 2004).

Entre un 15% i 20% dels migranyosos presenten aura, que es caracteritza per símptomes 'positius' (excés de sensació) o 'negatius' (manca de sensació) (Kalra and Elliott 2007). L'aura típica consisteix en símptomes visuals i/o sensitius amb o sense trastorns del llenguatge (taula 3; Russell and Olesen 1996). L'aura visual es presenta sovint en forma de figures en ziga-zaga en el punt de fixació, que s'estenen progressivament cap a dreta o esquerra i adopten formes convexes, poden centellejar i deixar un cert grau d'escotoma (zona de ceguera parcial; figura 1). En altres casos, l'escotoma es dona sense fenòmens positius i pot ser percebut com un fenomen sobtat, agut, o gradual. L'aura sensitiva es presenta en forma de formigueig o

punxades que s'estenen des del punt d'origen cap al voltant i afecten en major o menor grau una banda del cos o la cara. L'adormiment pot presentar-se com a símptoma associat o de forma aïllada. En algunes ocasions apareixen trastorns del llenguatge de tipus disfàsic (IHS 2004).

Taula 3. Criteris diagnòstics de l'aura típica (IHS 2004).

AURA	
A.	Un mínim de dues crisis que compleixin els criteris B-D
B.	Aura caracteritzada per un mínim d'una de les següents característiques, sense dèficit motor: <ol style="list-style-type: none"> 1. Síntomes visuals totalment reversibles que inclouen fenòmens positius (ex. llums brillants, punts o línies) i/o negatius (ex. pèrdua de visió) 2. Síntomes sensitius totalment reversibles, positius (ex. formigueig i parestèsies) o negatius (ex. hipoestèsia) 3. Trastorn del llenguatge totalment reversible
C.	Un mínim de dos dels següents punts: <ol style="list-style-type: none"> 1. Síntomes visuals homònims i/o sensitius unilaterals 2. Com a mínim un dels símptomes de l'aura es desenvolupa gradualment durant 5 o més minuts i/o diferents símptomes d'aura tenen lloc en successió de 5 minuts o més. 3. Cada símptoma té una durada d'entre 5 i 60 minuts.

La migranya amb aura hemiplègica (HM) inclou un dèficit motor completament reversible. Segons si hi ha o no familiars de primer o segon grau amb el mateix fenotip, es qualificarà de familiar (FHM) o esporàdica (SHM).

Finalment, la migranya de tipus basilar es caracteritza per migranya amb símptomes d'aura que s'originen clarament en el tronc de l'encèfal i/o afecten simultàniament ambdós hemisferis, però sense dèficit motor.



Figura 1. Dibuixos de fenòmens d'aura visual realitzats per pacients. British Migraine Association; New York Times; (Sacks).

1.2.4 Sistema de classificació alternatiu: anàlisi de les classes latents

Durant els darrers anys s'ha suggerit un sistema de classificació alternatiu a les categories de la ICHD-II. L'anàlisi de les classes latents (LCA) és un mètode estadístic per identificar subgrups de pacients (classes latents) a partir de dades categòriques multivariades. S'aplica a les dades simptomatològiques de les cefalees per obtenir grups ordenats segons la severitat. Aquests grups poden incloure tan individus amb MO com amb MA, així com individus que no complirien estrictament els criteris ICHD (Nyholt et al. 2004).

1.3 Epidemiologia

La migranya és el trastorn neurològic del cervell més prevalent a Europa, on s'estima que 41 milions de persones el pateixen (Andlin-Sobocki et al. 2005; Stovner and Andree 2008).

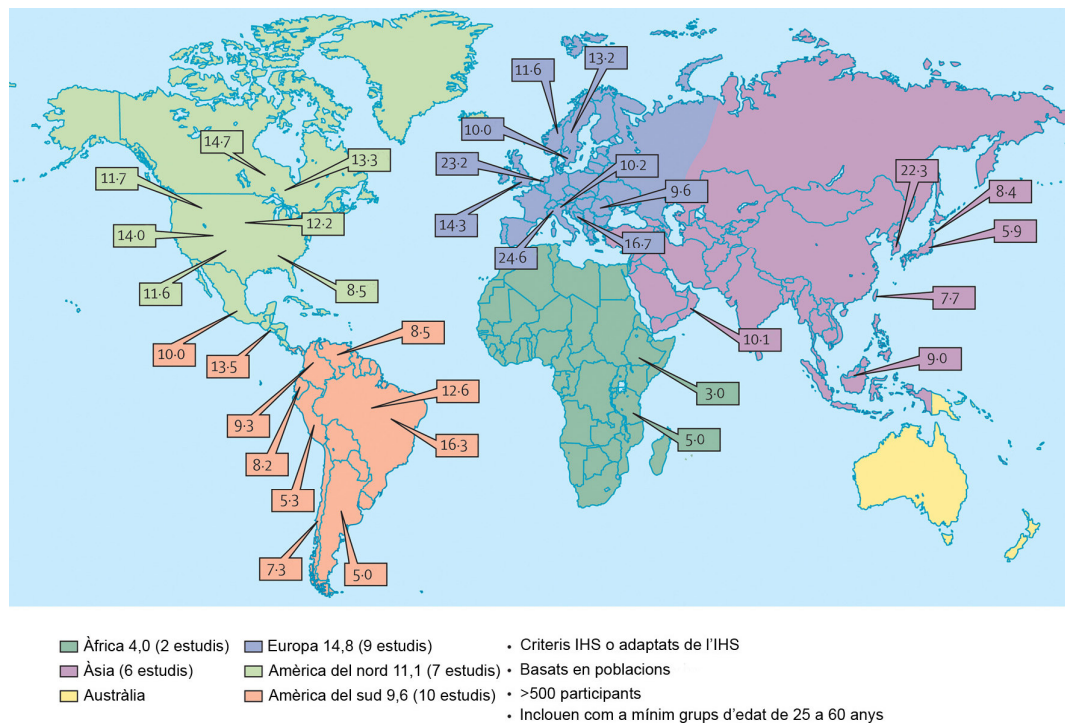


Figura 2. Estudis de prevalença anual de migranya en adults. Adaptada de (Jensen and Stovner 2008).

1.3.1 Prevalença de la migranya

La classificació ICHD ha permès la unificació dels criteris diagnòstics i ha obert la possibilitat de comparar estudis epidemiològics realitzats en diferents països. Una anàlisi comparativa dels múltiples estudis realitzats en diversos països arreu del món calcula que la prevalença al llarg de la vida és del 14% (Jensen and Stovner 2008). A

nivell Europeu, aquesta prevalença augmenta fins a 18,5% (Stovner et al. 2006). S'ha observat que la migranya és més freqüent a Europa i als Estats Units que a Àfrica (figura 2), tot i que es desconeix si les causes d'aquestes diferències són reals o són degudes a variacions metodològiques dels estudis com per exemple el mètode de recollida de dades, l'estructura de la població estudiada, la forma d'aplicació dels criteris diagnòstics, o la formulació de les preguntes entre d'altres (Stovner et al. 2006; Jensen and Stovner 2008). Dos estudis realitzats als Estats Units en un interval de 10 anys utilitzant la mateixa metodologia mostren que la prevalença de la migranya s'ha mantingut estable en aquest període (Stewart et al. 1992; Lipton et al. 2001b).

1.3.2 Distribució de la migranya per edat i sexe

La distribució de la migranya a la població varia en funció de l'edat i el sexe. La prevalença al llarg de la vida en dones és del 16,6% a Europa i del 18,2% a Estats Units (Estats Units), mentre que la dels homes és del 7,5% o 6,5% a Europa i als Estats Units, respectivament (Lipton et al. 2001b; Stovner et al. 2006).

Fins als 10 anys, la prevalença de la migranya és lleugerament més alta en nens que en nenes, però a partir d'aquest punt és sempre més elevada en dones. En les dones aquest augment és gradual i assoleix el pic al voltant dels 35 anys, després del qual la prevalença va disminuint fins a valors lleugerament superiors als dels homes a les darreres dècades de la vida (figura 3). La prevalença en homes augmenta lleugerament després de la infància i presenta el seu màxim a l'entorn dels 45 anys per tornar a disminuir a valors similars als inicials (figura 3). Cap als 40 anys, el desequilibri és màxim i la relació home:dona és de 1 a 3 (Lipton and Bigal 2005; Stovner et al. 2006; Gupta et al. 2007).

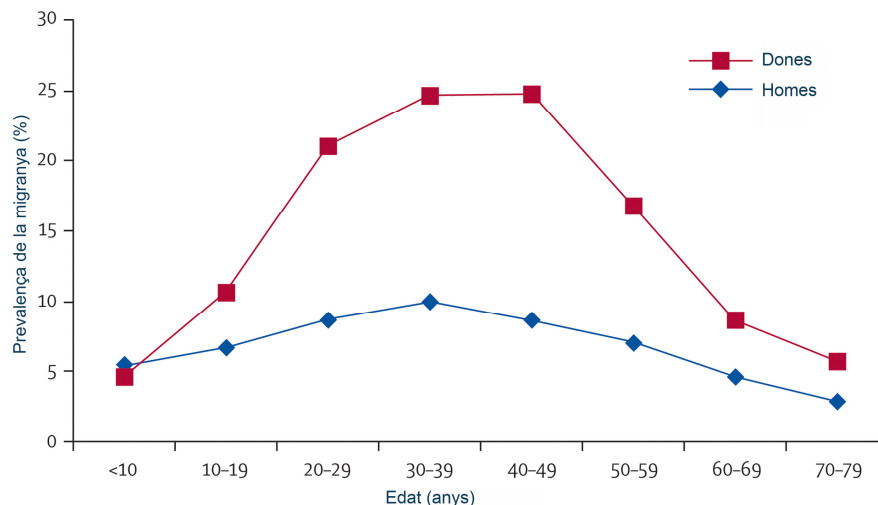


Figura 3. Distribució de la prevalença de la migranya per edat i sexe. Adaptada de (Stovner et al. 2006).

1.3.3 Prevalença de les diferents categories diagnòstiques

Hi ha pocs estudis centrats específicament en la distribució de la migranya segons les diferents categories diagnòstiques. Es va estimar que la prevalença al llarg de la vida de MO és del 14,7% (relació home:dona 1:2,2) mentre que per MA és del 7,9% (relació home:dona 1:1,5) (Russell et al. 1996). En un altre estudi en què es diferenciaven més subtipus de migranya s'estimà que la prevalença en dones era del 16% per MO, 7% per MA amb cefalea i 3% per MA sense cefalea, mentre que en homes era de 8%, 4% i 1%, respectivament (Russell et al. 1995b). Finalment, la prevalença de la FHM es va estimar en 0,005% en població danesa i, d'altra banda, s'ha observat que FHM i SHM tenen freqüències similars (Thomsen et al. 2002; Ducros 2008).

1.4 Fisiopatologia de la migranya

Actualment la migranya es considera un trastorn neurològic primari del cervell, en què, episòdicament, una depressió cortical propagant (CSD), provoca l'aura i l'activació del sistema trigeminovascular (Welch 2003; Silberstein 2004; Goadsby 2005). Aquesta teoria neural ha desbancat l'antiga hipòtesi d'un trastorn primari neurovascular, tot i que és ben reconegut que la fase de cefalea pròpiament dita coincideix amb la dilatació dels vasos sanguinis cranials (Wolff 1948; Dodick 2008; Goadsby 2008).

1.4.1 La depressió cortical propagant provoca l'aura

Durant la dècada de 1940, el neuròleg Lashley va estudiar la velocitat de propagació de la seva pròpia aura visual i va postular que es devia tractar d'un fenomen amb propagació cortical (Lashley 1941). Posteriorment, el fisiòleg Leão va provocar en còrtex cerebral de rates una depressió de l'activitat cortical que es propagava de forma gradual al còrtex adjacent a una velocitat de 3-4 mm/min, tot suggerint la relació entre CSD i aura (Leão 1944). La CSD és una ona de despolarització auto-propagant de neurones i glia que progressa lentament a través del còrtex, associada a una depressió de l'activitat elèctrica neuronal amb pèrdua transitòria de gradients iònics de membrana, amb sortida massiva de K^+ a l'espai extracel·lular i entrada de Ca^{2+} a les neurones provocant l'alliberament de neurotransmissors (Iadecola 2002; Dalkara et al. 2006; van de Ven et al. 2007).

Hi ha diverses aproximacions experimentals que recolzen la presència de CSD tan en models animals com en humans, i que aquest és el fenomen subjacent a l'aura (Pietrobon and Striessnig 2003; Sanchez del Rio and Alvarez Linera 2004). Utilitzant tècniques de neuroimatge funcionals en pacients capaços de provocar-se atacs de

migranya, es va demostrar que un esdeveniment electrofisiològic com la CSD genera l'aura en el còrtex humà (Hadjikhani et al. 2001).

S'ha proposat que la CSD també es podria donar en pacients amb MO i causar cefalea sense aura prèvia, possiblement originada en àrees 'silencioses' del còrtex cerebral (Pietrobon and Striessnig 2003; Granziera et al. 2006).

1.4.2 La depressió cortical propagant activa el sistema trigeminovascular

Evidències experimentals apunten a la CSD com a l'esdeveniment clau en l'activació episòdica del sistema trigeminovascular (TGVS) que desemboca en la cefalea migranyosa. Aquest procés s'esquemmatitza a la figura 4.

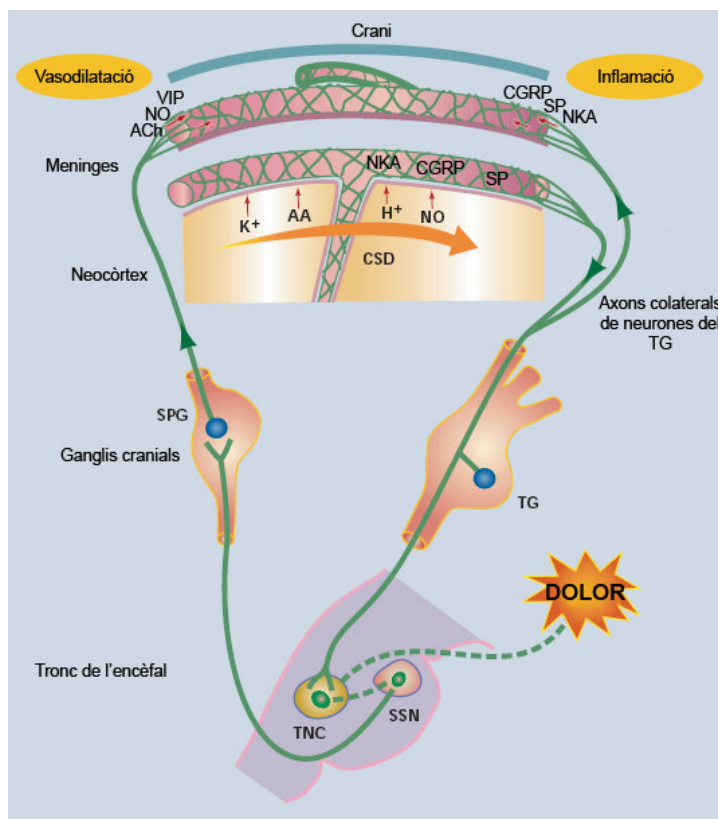


Figura 4. Esquema de les estructures neuronals i vies implicades en la transmissió i modulació de dolor cefàlic. CSD: depressió cortical propagant, VIP: pèptid intestinal vasoactiu, NO: òxid nítric, ACh: acetilcolina, CGRP: pèptid relacionat amb el gen de la calcitonina, SP: substància P, NKA: neurokinina A, SPG: eferents parasimpàtics del gangli esfenopalatí, TG: gangli trigeminal, TGN: nucli caudat trigeminal, SSN: nucli salivar superior, AA: àcid araquidònic. Adaptada de (Iadecola 2002).

El TGVS es compon dels vasos sanguinis de les meninges i de la superfície cortical que estan innervats per fibres sensorials nociceptives aferents de la divisió oftàlmica del nervi trigemin, el qual es projecta al nucli caudat trigeminal (TNC) del tronc de l'encèfal el qual, al seu torn, es projecta als centres del dolor (Schreiber 2006).

Una intensa activitat neurometabòlica cortical com la provocada per la CSD provoca l'alliberació de ions K^+ i H^+ , neurotransmissors i metabòlits (ex. òxid nítric (NO), adenosina, àcid araquidònic (AA)) a l'espai extracel·lular i perivascular provocant hiperèmia transitòria i dilatació dels vasos sanguinis de la pia i la dura mater. Aquestes molècules activen i sensibilitzen els aferents perivasculars del trigemin i transmeten els impulsos al gangli trigemin (TG) i al nucli caudat trigeminal (TNC; figura 4; Bolay et al. 2002; Levy et al. 2004).

Alternativament, alguns autors han suggerit que la depressió propagant podria estar a la base de l'activació cortical per una banda, i de forma independent podria provocar l'activació del tronc de l'encèfal. D'aquesta manera l'activació cortical podria donar lloc en un nombre reduït de casos a aura, mentre que en la majoria hi hauria una aura 'silent'. En canvi, el tronc de l'encèfal podria ser el 'generador de migranya' i la seva activació seria la responsable del dolor. Una depressió cortical que activaria de forma diferencial còrtex i tronc de l'encèfal podria explicar els casos de MA sense cefalea i els casos de MO sense aura.

1.4.3 L'activació del sistema trigeminovascular provoca dolor, inflamació neurogènica i sensibilització

Els impulsos que arriben al TNC es transmeten a estructures cerebrals implicades en la transmissió i processament del dolor. Les estructures cerebrals involucrades en la percepció del dolor inclouen diversos nuclis talàmics i una àrea de la substància gris periaqueductal (PAG). La PAG està implicada en el dolor craniovascular no només a través de les projeccions ascendents del tàlem, sinó també mitjançant vies descendents moduladores (majoritàriament inhibidores) d'informació aferent nociceptiva (Pietrobon and Striessnig 2003).

L'activació del TGVS també provoca l'alliberament de neuropèptids vasoactius com el pèptid relacionat amb el gen de la calcitonina (CGRP), substància P (SP) o neurokinina A (NKA), continguts a les terminals perifèriques (figura 4). Aquests neuropèptids, sobretot el CGRP, produeixen la inflamació neurogènica: vasodilatació de les meninges, extravasació de plasma i desgranulació de mastòcits amb la consegüent secreció de substàncies proinflamàtores a la dura (Bolay et al. 2002). L'activació del nervi trigemin també produeix la vasodilatació dels vasos sanguinis de les meninges a través de l'activació del reflex parasimpàtic a nivell del nucli salivar superior (SSN) i eferents parasimpàtics via gangli esfenopalatí (SPG), on neurones postganglionars promouen l'augment de flux a la dura mater mitjançant l'alliberament de pèptid intestinal vasoactiu (VIP), òxid nítric (NO) i acetilcolina (ACh; figura 4; Bolay et al.

2002). La vasodilatació neurogènica estimula encara més els nociceptors aferents i contribueix al dolor (Pietrobon 2005).

Amb l'activació dels nociceptors de les meninges, aquests es tornen hiperreactius, i es produeix una sensibilització perifèrica, és a dir, augmenta l'activitat aferent en resposta a un estímul no canviant, com el de la fluctuació de la pressió intracranial, altrament innòcua, amb el resultat de la característica palpitant del dolor migranyós (Link et al. 2008). L'activació sostinguda de nociceptors sensibilitzats acaba portant finalment a l'activació i subseqüent sensibilització de neurones centrals trigeminals de segon ordre, que processen les senyals sensorials que s'originen no només a la dura, sinó també a la pell periorbital, donant com a resultat un increment de la resposta a canvis lleus de la pressió intracranial i també a estimulacions innòcues de la pell. Aquesta sensibilització central que es dona en molts pacients durant la migranya es manifesta com a al·lodínia cutània, és a dir, sensació de dolor en resposta a estímuls tàctils normalment no dolorosos (Pietrobon and Striessnig 2003; Levy et al. 2004; Link et al. 2008).

1.4.4 Possibles desencadenants de la CSD i la migranya en el cervell humà

No es coneixen exactament els factors que desencadenen la CSD i la migranya en humans. Històricament s'han proposat dos possibles orígens per a la migranya: el tronc de l'encèfal o el còrtex.

La hipòtesi del tronc de l'encèfal es recolza en la seva funció clau en la modulació descendent. Un canvi en la modulació per part d'estructures rostrals activaria el tronc de l'encèfal iniciant l'episodi migranyós (Moskowitz 2007).

D'altra banda, la migranya es podria iniciar a causa d'un canvi en la susceptibilitat a la CSD. S'ha proposat que factors genètics i ambientals modulen la susceptibilitat individual baixant el llindar per desencadenar la CSD, i que l'excitabilitat cortical pot causar un augment de K^+ i glutamat extracel·lular suficient com per iniciar la CSD (Dalkara et al. 2006; Moskowitz 2007). Diversos estudis de comportament, electrofisiologia i d'imatge mostren que el sistema visual a nivell cortical és hiperexcitable en el sentit que respon amb més potència a estímuls intensos, repetitius o de llarga durada (Aurora and Wilkinson 2007). En canvi, segons altres estudis sembla més possible que el nivell d'activació cortical dels migranyosos oscil·li entre una alta i una baixa excitabilitat (Stankewitz and May 2007). Pel que fa a la propagació de la CDS es creu que es basa en l'alliberament de glutamat (Moskowitz 2007).

Introducció

S'han identificat mutacions en tres gens responsables de formes mendelianes de migranya hemiplègica i tots ells codifiquen proteïnes implicades en el transport iònic (en detall a l'apartat 2.2; Moskowitz et al. 2004; Pietrobon 2007). El model animal d'aquesta canalopatia presenta hiperexcitabilitat cortical i un llindar inferior al normal per la CSD (van den Maagdenberg et al. 2004; Aurora and Wilkinson 2007). Aquestes dades afegides a la periodicitat dels episodis de migranya, així com a l'existència de factors desencadenants dels episodis, suggereixen que les formes més comunes de migranya també podrien ser canalopaties (Moskowitz et al. 2004). No obstant, cal mencionar un exhaustiu estudi d'associació genètica entre la migranya comú i més de 150 gens relacionats amb el transport iònic que no donaria suport a aquesta hipòtesi (veure l'apartat 2.3.3; Nyholt et al. 2008).

Les dades actuals apunten a una disfunció en el transport iònic com a factor clau en la determinació del llindar de CSD en els atacs de migranya. Disfuncions en canals o transportadors iònics implicats en l'aportació d'energia poden fer que el cervell esdevingui sensible a la CSD i a la migranya. Els múltiples mecanismes moleculars que poden estar potencialment a la base de la vulnerabilitat a la CSD són consistents amb l'aparent complexitat dels factors genètics que hi ha rere la migranya, així com amb la variabilitat en la resposta a fàrmacs profilàctics de pacients migranyosos (Pietrobon 2005).

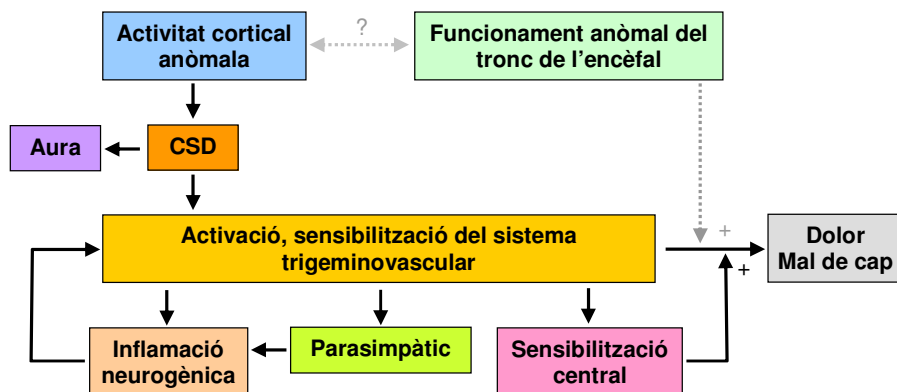


Figura 5. Mecanismes fisiopatològics propoats per a la generació de cefalea migranyosa. La relació entre l'activitat cortical anòmala i funcionament anòmal del tronc de l'encèfal encara no està clara. CSD: depressió cortical propagant.

Finalment, s'ha suggerit que les alteracions genètiques que augmenten la susceptibilitat a la migranya podrien actuar disminuint el llindar de resposta a factors desencadenants, pel fet que la migranya és un trastorn episòdic que implica mal de cap i fenòmens corticals sense anomalies estructurals.

1.5 Tractament

Un diagnòstic acurat és un punt crític per al correcte tractament de la migranya, però també és crucial que el pacient identifiqui els factors ambientals que li desencadenen els episodis per tal de poder evitar-los, així com intentar mantenir una regularitat en els hàbits quotidians (Goadsby et al. 2002; Rapoport 2008).

En la selecció del tractament farmacològic a seguir es consideraren les característiques dels episodis que més afecten el pacient (severitat, freqüència, intensitat, durada, simptomatologia acompanyant, etc) i que produeixen dolor, discapacitat i/o símptomes associats (Rapoport 2008). La teràpia farmacològica de les migranyes es divideix en tractament agut i teràpia preventiva. L'objectiu del tractament agut és revertir l'episodi una vegada aquest s'ha iniciat, limitar la discapacitat produïda i eliminar o reduir tant el dolor com la simptomatologia associada. El tractament preventiu o profilàctic s'aplica en aquells pacients que presenten un número elevat d'episodis severos de cefalea al mes i/o a aquells que no responen al tractament agut o presenten efectes secundaris per tal d'evitar l'aparició d'episodis (Rapoport 2008).

1.5.1 Tractament agut

El tractament farmacològic agut es pot dividir en fàrmacs no específics per a les migranyes i fàrmacs específics. Per aconseguir la màxima eficàcia del tractament és molt important prendre la medicació en el moment en què es detecta l'inici de l'episodi.

S'ha demostrat clínicament que els analgèsics simples com l'aspirina, sols o en combinació, i els antiinflamatoris no esteroides (AINEs) són efectius en el tractament agut. L'ús d'analgèsics de tipus opiaci, també molt eficaços, s'ha de restringir a causa de la creació de dependència (Kalra and Elliott 2007; Rapoport 2008).

Els triptans són els fàrmacs més selectius i específics per al tractament agut de la migranya que s'utilitzen actualment. Són agonistes selectius dels receptors de serotonina de tipus 1B i 1D. Actuen constrenyent les artèries de les meninges a través de l'activació dels receptors 1B de les parets vasculars. També inhibeixen l'alliberament de neurotransmissors i la transmissió nociceptiva mitjançant l'estimulació dels receptors 1D en els nervis sensorials trigeminals centrals i perifèrics. Poden comportar alguns efectes secundaris transitoris com marejors o problemes cognitius. (Goadsby et al. 2002; Kalra and Elliott 2007; Mehrotra et al. 2008; Rapoport 2008)

Abans dels triptans, l'única medicació amb acció vasoactiva àmpliament utilitzada eren els ergots i els seus derivats com l'ergotamina o la dihidroergotamina. Tenen una farmacologia complexa i a causa del seu efecte relativament no selectiu a nivell de receptors serotoninèrgics, dopaminèrgics i adrenèrgics presenten múltiples efectes

secundaris adversos com l'exacerbació de les nàusees i vòmits, dolor abdominal, parestèsies, i vasoconstricció coronària i/o perifèrica. S'utilitzen en aquells pacients que no responen als triptans, tenen l'avantatge de ser més econòmics, amb efecte més llarg i baixa taxa de recurrència de la cefalea, però s'han d'administrar en combinació amb antiemètics (Kalra and Elliott 2007; Rapoport 2008).

1.5.2 Tractament preventiu

Es poden utilitzar diferents fàrmacs en el tractament preventiu de la migranya. Tot i que no se sap exactament com funciona aquesta teràpia, sembla que produeix una modificació del nivell de sensibilitat del cervell (Goadsby et al. 2002).

Els fàrmacs β -bloquejants, antagonistes de receptors β -adrenèrgics, actuarien a nivell de receptors neuronals post-sinàptics, però el mecanisme d'acció en la prevenció de la migranya no està clar (Rapoport 2008). També s'han utilitzat extensament diversos fàrmacs antidepressius: inhibidors de la monoamina oxidasa, inhibidors selectius del recaptador de serotonina, inhibidors no selectius de la recaptació de serotonina i noradrenalina, i antidepressius tricíclics (Rapoport 2008). També s'han emprat altres fàrmacs com antagonistes dels canals de calci o anticonvulsius (Calabresi et al. 2007).

Cal tenir molta cura en la selecció del tractament perquè aquests fàrmacs tenen efectes secundaris i poden estar contraindicats en alguns casos. La dosi s'ha d'anar augmentant progressivament fins a assolir l'efecte sense sobrepassar un màxim raonable (Goadsby et al. 2002; Rapoport 2008).

1.5.3 Futurs tractaments

Actualment s'està treballant en el desenvolupament de fàrmacs antimigranyosos amb acció exclusivament neuronal. També s'estudien fàrmacs amb acció inhibidora sobre la sintasa d'òxid nítric, agonistes selectius de receptor d'adenosina A1 o antagonistes de CGRP, entre d'altres (Goadsby et al. 2002; Link et al. 2008). D'altra banda, també s'investiga sobre la utilització de diferents vies d'administració (Goadsby et al. 2002; Goadsby 2005; Hargreaves 2007).

De forma general, els tractaments actuals per a les migranyes són relativament inespecífics, presenten una eficàcia moderada i tenen efectes secundaris substancials. L'estudi dels mecanismes implicats en l'inici de la migranya així com dels factors de predisposició als atacs permetrà identificar fàrmacs més específics, més eficaços i amb una millor tolerabilitat.

1.6 Comorbiditat

Es parla de comorbiditat quan dues condicions mèdiques estan presents de forma simultània en una mateixa persona de forma més freqüent que allò que s'esperaria per atzar. De forma general, la migranya s'ha associat preferentment a diferents trastorns neurològics, vasculars o psiquiàtrics (Jensen and Stovner 2008). El coneixement de la comorbiditat és fonamental per tal d'adequar el tractament dels pacients, tot i que els mecanismes pels quals es donen aquestes associacions sovint són desconeguts.

La co-ocurrència de diferents tipus de cefalea en un mateix individu és altament prevalent. Els pacients poden presentar episodis amb diferents diagnòstics de la ICHD-II (IHS 2004). Un estudi realitzat en població danesa va estimar que el 94% dels pacients amb migranya presenten també cefalees tensionals, un 9% més que la població general (Lyngberg et al. 2005; Russell 2005).

Durant més de 40 anys s'ha debatut sobre la relació entre la migranya i els accidents vasculars cerebrals. Actualment, la comorbiditat d'aquestes dues malalties està recolzada tan per estudis clínics com poblacionals (Narbone et al. 2008).

Un dels trastorns neurològics crònics amb manifestacions episòdiques en què s'ha observat una alta comorbiditat amb la migranya és l'epilèpsia. Tot i que els resultats varien segons els estudis, els individus amb migranya o epilèpsia presenten el doble de risc de patir l'altre trastorn que la resta de la població (Haut et al. 2006). Estudis realitzats a la població general recolzen de forma consistent un augment de risc de depressió i trastorn d'ansietat en persones amb migranya, especialment les que presenten MA; en canvi, les evidències no són concloents per al trastorn bipolar o l'abús de substàncies (Radat and Swendsen 2005). Estudis recents en població dels Estats Units i Canadà han identificat associació entre migranya i depressió, trastorn bipolar, pànic i fòbia social amb valors d'*Odds Ratio* (OR) entre 2,2 i 7,3 (Hamelsky and Lipton 2006; Jette et al. 2008).

La comorbiditat pot ser el resultat d'un artefacte diagnòstic degut al solapament dels perfils simptomatològics o pot donar-se en casos de causalitat (Scher et al. 2005). Alternativament, dues condicions poden ser comòrbides perquè comparteixen factors genètics o ambientals que augmenten el risc de presentar ambdues condicions. El coneixement d'aquests factors comuns pot ajudar a un millor coneixement dels mecanismes subjacents a la migranya.

1.7 Impacte socioeconòmic

La magnitud del cost de les cefalees a la societat està subestimat, i les cefalees primàries estan infradiagnosticades i mal tractades (Lipton et al. 2001a; Stovner et al. 2007). S'han dut a terme algunes iniciatives a nivell mundial centrades en avaluar l'abast i la repercussió de les cefalees (Stovner et al. 2007). La iniciativa '*Cost of the Brain Disorders in Europe*' inclou l'avaluació de la migranya com a entitat neurològica, i posiciona aquest trastorn en novena posició en el rànquing dels trastorns neurològics més costosos en ambdós sexes, i en tercera posició quan només es consideren les dones (Andlin-Sobocki et al. 2005; Stovner et al. 2007). En considerar el cost d'un trastorn s'han de sumar els costos directes com la prevenció, el diagnòstic i el tractament, els costos indirectes conseqüència de la pèrdua de producció o reducció de la productivitat, així com els costos intangibles patits pels afectats com el dolor, el patiment psicològic i l'alteració de les activitats quotidianes (Andlin-Sobocki et al. 2005). Els objectius del projecte '*Eurolight*', presentat el maig de 2007, són la unificació de les organitzacions mèdiques i científiques per recollir informació actualitzada, fiable i comparable sobre les migranyes, la cefalea tensional i la cefalea crònica, per tal d'avaluar l'impacte d'aquests trastorns (Stovner and Andree 2008).

Recentment s'ha publicat una revisió de l'impacte econòmic i no econòmic de les cefalees a Europa (Stovner and Andree 2008). L'estimació del cost de la migranya per pacient i any està entre 100 i 900 €, amb una mitjana de 585€, de manera que s'estima que el cost anual de la migranya se situa en 27 mil milions d'euros (Stovner i Andree 2008). S'ha calculat que els pacients migranyosos poden faltar a la feina entre 1,5 i 4,5 dies a l'any, i que treballar amb migranya produeix una pèrdua de productivitat del 35% (Stovner i Andree 2008). A part de la vida professional, la migranya afecta negativament molts aspectes de la vida personal com la situació familiar, el temps de lleure, els estudis, la vida sexual, la posició social, l'amor i les amistats, entre d'altres (Jensen i Stovner 2008; Stovner i Andree 2008).

Possiblement, el cost de les cefalees varia considerablement entre diferents parts del món, a causa de diferències en el bagatge genètic, les condicions climàtiques i socioeconòmiques, l'estil de vida i l'estat de salut en general (Stovner et al. 2007).

2 Bases genètiques de les migranyes

2.1 Heretabilitat de la migranya

L'heretabilitat és la proporció de la variabilitat fenotípica d'una població que és deguda a diferències genètiques. Els càlculs d'heretabilitat permeten avaluar l'existència de factors genètics i/o ambientals de risc, així com estimar la seva importància relativa.

2.1.1 Estudis familiars

L'existència d'història familiar positiva en migranya és una dada imprecisa a causa de l'elevada prevalença de la malaltia a la població que fa que per atzar més del 65% de les famílies presentin història familiar positiva. Per tal de calcular de forma més precisa l'ocurrència familiar s'estima el risc relatiu (RR) de la malaltia, que és la relació entre la probabilitat que un familiar estigui afectat *versus* la probabilitat que ho sigui una persona presa a l'atzar de la població general. Tots els estudis de RR realitzats en migranya, excepte un, han permès observar que els familiars de primer grau dels pacients presenten un augment significatiu del risc de patir el mateix trastorn que el pacient comparat amb la població general (Mochi et al. 1993; Russell i Olesen 1995; Kalfakis et al. 1996; Stewart et al. 1997). Els resultats obtinguts en diversos estudis de RR es recullen a la taula 4. L'estudi d'epidemiologia genètica amb un disseny experimental més acurat estima que els familiars de primer grau de persones amb MO presenten un RR augmentat 1,9 vegades de tenir MO i 1,4 vegades de patir MA. Pel que fa als pacients amb MA, el RR dels familiars de presentar MA s'eleva fins a 3,8 vegades, mentre que el risc de MO no augmenta.

L'increment del risc familiar pot estar causat tant per factors genètics com ambientals. Per avaluar aquesta relació s'utilitza el risc a la parella, ja que estan exposats a factors ambientals similars sense estar vinculats genèticament. Les parelles de pacients amb MO presenten un lleuger augment de la probabilitat de patir MO, mentre que les parelles de pacients amb MA no tenen cap augment en el risc de presentar MA respecte a la població control (Russell i Olesen 1995). Aquestes dades recolzen la importància de factors genètics i ambientals en la MO, mentre que en la MA sembla que els factors genètics serien més determinants.

Taula 4. Càlculs de riscos relatius en migranya. Adaptada de (Russell 2007).

Fenotip cas	Tipus d'estudi poblacional	Fenotip parent de 1er grau	N de parents afectats		Risc relatiu població (95% IC)	Referència (1er autor, any)
			Observats	Esperats		
MO	Clínic	MO	64	17,7	3,6 (1,1-6,1)	(Mochi et al. 2003a)
	General	MO	102	54,8	1,9 (1,6-2,2)	(Russell i Olesen 1995)
		MA	42	29,2	1,4 (1,0-1,9)	
	General	MO	30	21,0	1,4 (0,8-2,5)	(Stewart et al. 1997)
MA		10	4,2	2,4 (0,9-6,4)		
MA	Clínic	MA	13	1,9	7,0 (3,2-10,8)	(Mochi et al. 2003a)
	General	MO	56	54,9	1,0 (0,8-1,3)	(Russell i Olesen 1995)
		MA	111	29,3	3,8 (3,2-4,4)	
	Clínic	MA	58	4,9	11,9 (7,0-16,7)	(Kalfakis et al. 1996)
	General	MO	17	12,1	1,4 (0,7-2,8)	(Stewart et al. 1997)
		MA	3	2,4	1,2 (0,3-5,5)	

MO: migranya sense aura, MA: migranya amb aura, IC: interval de confiança.

2.1.2 Estudis de bessons

Diversos estudis han investigat la concordança de la migranya en bessons però aquests no van ser comparables fins que no es van començar a aplicar els criteris diagnòstics ICHD. En població sueca i danesa s'ha detectat una major concordança en bessons monozigòtics (MZ) que en dizigòtics (DZ) tant en MO (MZ 43%, DZ 31%) com en MA (MZ 50%, DZ 21%) (Larsson et al. 1995; Gervil et al. 1999; Ulrich et al. 1999). Un estudi més ampli emmarcat en el projecte GenomeEUtwin (Peltonen 2003), en què s'estudien gairebé 30.000 parelles de bessons procedents de sis països diferents (Austràlia, Dinamarca, Finlàndia, Holanda, Suècia i Regne Unit), confirma que la concordança entre bessons MZ (34-56%) és el doble que en bessons DZ (12-28%), dada que dona suport a una contribució genètica en la migranya (Mulder et al. 2003). D'altra banda, el fet que la concordança en parelles de bessons MZ no arribi al 100% recolza la participació de factors ambientals a banda dels genètics. L'estimació de l'heretabilitat de la migranya en aquestes sis poblacions ha obtingut valors significatius que oscil·len entre el 34% i el 57% (Mulder et al. 2003). D'altra banda, estudis d'heretabilitat basats en la classificació fenotípica de LCA obtenen valors del 50% (Ligthart et al. 2006). Per tant, els estudis de bessons revelen que aproximadament la meitat de la variació en la migranya es pot atribuir a factors genètics, mentre que la resta estaria causada per factors ambientals.

2.1.3 Model de transmissió genètica

El model d'herència de la migranya ha estat motiu de controvèrsia durant anys. Per a les formes comuns de migranya es van proposar múltiples models de transmissió: autosòmic dominant o recessiu (amb penetració variable), lligat al cromosoma X, matern, poligènic i multifactorial (Montagna 2008b). Finalment, l'aplicació d'anàlisis

complexes de segregació va establir el model d'herència multifactorial per MO i MA com el més probable, i és el model d'herència actualment acceptat (Russell et al. 1995a; Kalfakis et al. 1996). Aquests resultats no exclouen la possibilitat que en algunes famílies es presentin herències compatibles amb patrons de tipus mendelià. La migranya amb aura hemiplègica (HM), per exemple, pot presentar patrons d'herència de tipus autosòmic dominant, que s'han demostrat a nivell molecular (Pietrobon 2007).

La contribució de la genètica a la migranya és complexa, multifactorial i està subjecta a importants modificacions per factors ambientals.

2.2 Estudis genètics en formes rares de migranya: migranya hemiplègica (HM)

La migranya hemiplègica familiar (FHM) és una forma rara de migranya que presenta sovint patrons d'herència compatibles amb un model mendelià autosòmic dominant amb penetració incompleta. Estudis de lligament genètic i anàlisis mutacionals han permès identificar fins ara tres gens responsables de la HM, així com dos *loci* a 1q31 i 14q32, aquest darrer identificat per membres del nostre grup, en què encara no s'ha determinat el gen responsable (Gardner et al. 1997; Pietrobon 2007; Cuenca-Leon et al. 2009). Tot i l'heterogeneïtat genètica associada al fenotip HM, a nivell clínic hi ha molt poques diferències simptomatològiques entre els diferents tipus genètics de HM (Pietrobon 2007; Montagna 2008b).

L'any 1993 es va localitzar mitjançant anàlisi de lligament genètic el primer *locus* per a la FHM a la regió cromosòmica 19p13 (Joutel et al. 1993). Posteriorment, es va identificar el gen responsable, *CACNA1A*, que codifica la subunitat $\alpha 1A$ del canal neuronal de Ca^{2+} dependent de voltatge de tipus P/Q (FHM1, OMIM #141500, figura 6; Ophoff et al. 1996). Fins ara s'hi han descrit un mínim de 27 mutacions diferents en individus amb FHM o SHM (Pietrobon 2007; Stam et al. 2008). També s'han identificat mutacions en aquest gen en pacients amb atàxia episòdica de tipus 2 (EA2) i atàxia espinocerebel·losa de tipus 6 (SCA6) (Terwindt et al. 1998). La majoria de les mutacions identificades en pacients amb HM presenten un guany de funció i es creu que provoquen un increment de l'alliberament del neurotransmissor glutamat a les sinapsis excitadores del còrtex cerebral, de manera que s'afavoreix la neurotransmissió i disminueix el llindar per a la CSD (Pietrobon 2007). En canvi, les mutacions relacionades amb EA2, en general, són mutacions que trenquen la pauta de lectura (Jen et al. 2007).

Introducció

El gen responsable de FHM2 (OMIM #602481) es va localitzar a 1q21-23 mitjançant estudis de lligament (Ducros et al. 1997) i, anys més tard, es van identificar mutacions en el gen *ATP1A2* que codifica la subunitat $\alpha 2$ d'una ATPasa intercanviadora de Na^+/K^+ (De Fusco et al. 2003). Aquesta bomba de tipus P utilitza l'energia de l'ATP per al transport actiu de ions Na^+ cap a l'exterior de la cèl·lula i de K^+ cap a l'interior (figura 6). A la literatura hi ha descrites més de 45 mutacions i dues delecions en aquest gen responsable de HM, en alguns casos associada a d'altres característiques clíniques com atàxia o epilèpsia, entre d'altres (Pietrobon 2007; Stam et al. 2008). En aquest cas les mutacions impedeixen la recaptació de K^+ i glutamat pels astròcits durant l'activitat neuronal cortical, despolaritzant les neurones i afavorint un augment de la concentració de glutamat a l'espai sinàptic impedit així, la recuperació de l'excitació neuronal, facilitant potencialment la CSD (Estevez i Gardner 2004; Pietrobon 2007).

Durant els darrers anys s'ha identificat un altre *locus* i el tercer gen responsable de la FHM (FHM3, OMIM #609634; Dichgans et al. 2005). Es tracta del gen *SCN1A*, situat a 2q24 i àmpliament associat a epilèpsia, que codifica la subunitat $\alpha 1$ d'un canal neuronal de Na^+ dependent de voltatge en què es va identificar inicialment una mutació de pèrdua de funció (figura 6). Fins ara s'han identificat tres mutacions més en aquest gen en famílies amb FHM acompanyada o no d'epilèpsia, i presenten un espectre complex de conseqüències funcionals (Gargus i Tournay 2007; Vanmolkot et al. 2007; Kahlig et al. 2008).

Les mutacions identificades en aquests tres gens expliquen només el 50-70% dels casos publicats amb FHM, valor encara menor si hom considera la SHM. Això sembla indicar que l'heterogeneïtat de *locus* és major del que s'havia assumit inicialment (Thomsen et al. 2007; Cuenca-Leon et al. 2008; Cuenca-Leon et al. 2009).

D'altra banda, és interessant que mutacions en tots tres gens poden causar també epilèpsia i d'altres trastorns episòdics (Haan et al. 2008).

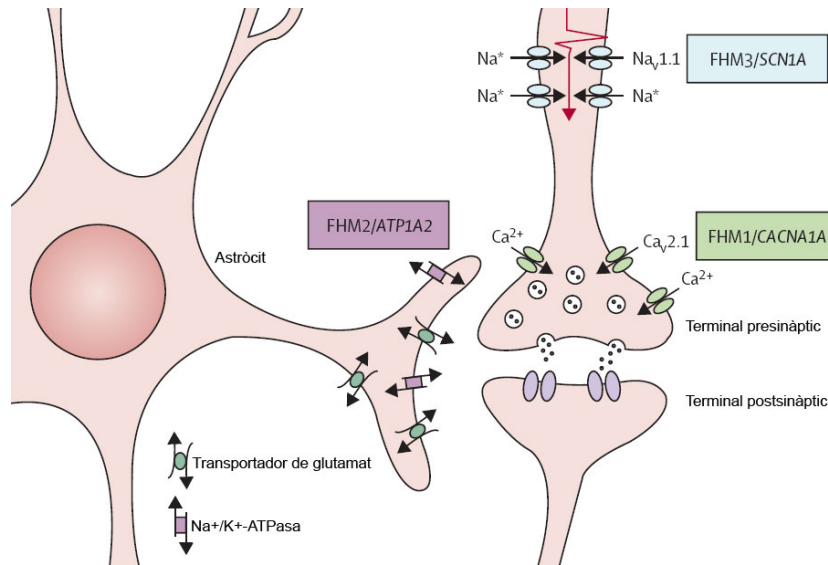


Figura 6. Esquema integrador de la funció de les proteïnes codificades pels gens responsables de FHM a la sinapsi glutamatèrgica. L'arribada de potencials d'acció arriba a la terminal presinàptica provoca l'obertura de canals dependents de voltatge amb la consegüent entrada de Ca^{2+} dins la neurona i posterior alliberament de glutamat. Mutacions en el gen *CACNA1A* (FHM1), que codifica la subunitat $\alpha 1$ de canals de tipus P/Q, provoquen un guany de funció, augmentant l'entrada de calci i afavorint l'alliberació de glutamat. Les mutacions del gen *ATP1A2* (FHM2), que codifica la subunitat $\alpha 2$ de l'ATPasa de Na^+/K^+ expressada en astròcits eliminant el K^+ extracel·lular i produint un gradient de Na^+ utilitzat per la recaptació de glutamat de l'espai sinàptic pels transportadors, alenteixen l'eliminació del glutamat i del K^+ . El gen *SCN1A* (FHM3) codifica una subunitat del canal de sodi $\text{Na}_v1.1$, essencials en la generació i propagació dels potencials d'acció, i mutacions en aquest gen provocarien la recuperació accelerada de la inactivació ràpida de canal permetent una major freqüència d'activació. Adaptada de (Wessman et al. 2007)

2.3 Estudis genètics en formes comunes de migranya

2.3.1 Estudis de lligament genètic en formes comunes de migranya

El lligament genètic consisteix en la segregació conjunta de variacions genètiques d'un mateix cromosoma físicament properes. Els estudis de lligament genètic aplicats al mapatge de *loci* responsables de malalties es basen en la identificació de regions cromosòmiques concretes que es transmeten en famílies de la mateixa manera que el fenotip patològic (Strachan i Read 2005). En cas de no disposar de famílies extenses es poden utilitzar parelles de germans per realitzar estudis de lligament genètic. Per calcular el grau de lligament entre dos *loci*, com poden ser un marcador polimòrfic de posició coneguda i el gen responsable d'una malaltia, s'aplica un test per calcular el valor de *LOD score* (logaritme de probabilitats) que correspon al logaritme del quocient entre la probabilitat que dos *loci* estiguin lligats a una determinada fracció de recombinació i la probabilitat que no ho estiguin. El llindar de significació per a cribratges genòmics correspon a un valor de *LOD score* de 3,3, mentre que el llindar d'exclusió correspon a valors inferiors a -2. Per valors $\geq 1,86$ que no arriben a ser significatius es parla de lligament 'suggestiu' (Lander i Kruglyak 1995).

Hi ha dos mètodes principals per a l'anàlisi de lligament genètic: el paramètric, en què cal assumir un determinat model d'herència, i el no paramètric, en què no s'assumeix cap tipus d'herència concret. En els estudis de parelles de germans, aquest últim mètode avalua si parelles d'afectats comparteixen més marcadors idèntics per descendència (IBD), és a dir heretats del mateix progenitor, del que s'esperaria per atzar (Barnette et al. 2005). Els mètodes no paramètrics es poden aplicar també a famílies amb un elevat nombre d'afectats. Sovint els mètodes no paramètrics es consideren els més adequats per a l'estudi de malalties complexes (Strachan i Read 2005).

Mitjançant estudis de lligament s'han identificat diversos *loci* de susceptibilitat per a les formes més comuns de migranya, MO i MA (taula 5).

2.3.1.1 Estudis de lligament genètic a escala genòmica

El primer cribratge a escala genòmica per identificar *loci* de susceptibilitat a la migranya en famílies amb MA va estudiar 50 famílies finlandeses amb un patró d'herència compatible amb un model autosòmic dominant (252 individus amb MA), i van trobar evidències significatives de lligament a la regió cromosòmica 4q24 (Wessman et al. 2002). Un estudi posterior de 117 famílies islandeses amb una definició laxa de MO també va obtenir evidències significatives de lligament a la regió 4q21, sobretot en considerar el grup de dones, i es va suggerir que es podria tractar del mateix *locus* (Bjornsson et al. 2003). Aquestes troballes recolzen l'existència de *loci* comuns per a les dues categories principals de migranya.

El segon estudi va analitzar una única família àmplia de Suècia amb pacients amb MO i MA, i van obtenir evidències de lligament a la regió 6p12.2-p21.1 (Carlsson et al. 2002). Es va acotar una regió a 10 Mb i es van descartar tres gens candidats mitjançant anàlisi mutacional.

En un cribratge genòmic d'un pedigrí italià de quatre generacions amb una herència autosòmica dominant i 22 individus amb MO es va detectar lligament a migranya a la regió cromosòmica 14q21.2-q22.3 (Soragna et al. 2003).

L'estudi de 43 famílies canadenques amb MA, amb un patró de transmissió aparentment autosòmic dominant, va permetre identificar una regió de lligament a 11q24 (Cader et al. 2003), i es van descartar mutacions en quatre gens candidats posicionals que codifiquen diverses subunitats de canals iònics.

El següent estudi es va realitzar en 92 famílies australianes amb individus diagnosticats segons els criteris ICHD-II, però, a més a més, es van realitzar anàlisis segons els grups de LCA. El model d'herència en aquestes famílies era aparentment

no-mendelià i es va realitzar una anàlisi multipuntual no paramètrica que va identificar dues regions suggestives de lligament per a la classe 'migranya severa' als cromosomes 18p11 i 3q (Lea et al. 2005). D'altra banda es va observar un excés d'al·lels compartits en regions que coincideixen amb *loci* prèviament implicats en formes comunes de migranya.

L'estudi de 756 famílies de bessons aplicant LCA va permetre identificar lligament a 5q21 i diverses regions suggestives. A més, es van replicar els *loci* de susceptibilitat descrits prèviament a les regions 6p12.2-p21.1 i 1q21-q23 (Nyholt et al. 2005). Finalment, en aquest treball es va realitzar una anàlisi individual per a cada símptoma clínic o endofenotip per a aquestes regions i es van obtenir resultats significatius per alguns trets concrets.

Considerant que el model de classificació de l'ICHD podria no ser el més adequat per explicar les bases genètiques de la migranya, Anttila i col·laboradors van reanalitzar les dades obtingudes en el seu primer estudi utilitzant trets quantitius o endofenotips, i obtingueren resultats significatius per a diversos trets a 4q24, el *locus* identificat inicialment (Anttila et al. 2006). També van observar l'existència de lligament entre el tret pulsatiu i un nou *locus* a 17p13, una combinació de fenotips i la regió 18p12, i el tret edat d'inici a 4q28. D'altra banda, es van identificar diversos *loci* suggestius de lligament, alguns d'ells corresponents a *loci* prèviament lligats a migranya.

Es van seguir dues estratègies per a la classificació dels individus de 105 famílies alemanyes: en primer lloc LCA i a continuació els símptomes migranyosos individualment. Tot i identificar regions suggestives de lligament, cap d'elles assolí significació estadística (Ligthart et al. 2008).

Un darrer treball presenta estudis de lligament a escala genòmica en sèries de famílies d'origen finlandès o australià, utilitzant els tres mètodes de fenotipació per a la migranya (diagnòstic clínic, LCA i endofenotips) i aplicant mètodes de correcció. Troben evidències significatives de lligament al *locus* 10q22-q23 en dues poblacions. A més, aquest treball replica els *loci* 14q21 i 18q12 identificats prèviament. En canvi, un estudi d'associació de marcadors d'aquesta regió no va mostrar diferències entre 256 casos de MA i 230 controls (Anttila et al. 2008).

Tot i la identificació d'aquests *loci*, en cap cas s'ha identificat el gen alterat responsable del fenotip migranyós. Els diferents *loci* lligats a les formes comunes de migranya es recullen a la taula 5.

2.3.1.2 Estudis de lligament genètic a regions candidates

A part dels estudis de lligament a escala genòmica també s'han realitzat estudis a menor escala centrats en regions candidates que han permès la identificació d'altres *loci* implicats en les formes més comunes de migranya (taula 5).

En primer lloc es va avaluar la possible contribució de la regió 19p13, on està situat el gen *CACNA1A*, i s'observà en algunes famílies cosegregació del fenotip MO o MA i un marcador intragènec (Nyholt et al. 1998b). A les dues famílies en què no s'havia observat lligament a 19p13 es van obtenir evidències significatives de lligament a la regió Xq (Nyholt et al. 1998a), acotada posteriorment a Xq24-28 (Nyholt et al. 2000). Per a una d'aquestes famílies es va detectar també lligament a la regió cromosòmica 1q31, regió també lligada a FHM. L'anàlisi posterior de 82 famílies més per lligament genètic i mitjançant estudis d'associació familiar va permetre reforçar la hipòtesi de la presència d'un gen de FHM en aquesta regió (Lea et al. 2002).

Finalment, en 10 famílies en què la MA segregava de forma autosòmica dominant, i després de l'exclusió dels *loci* descrits anteriorment, es va analitzar la regió 15q11-q13, seleccionada perquè conté gens candidats en base a criteris farmacològics i funcionals (receptors de GABA, àcid γ -aminobutíric), tot obtenint-se evidències significatives de lligament (Russo et al. 2005).

Taula 5. *Loc*i lligats a formes comunes de migranya.

Nom locus	Ref OMIM	Regió cromosoma	Fenotip estudiat	Marcador de referència	LOD	Origen Població	N	Cobertura	Referència (1er autor, any)
MGR1	157300	4q24 (4q21)	MA	D4S1647	4,2 ^b	Finlàndia	50	Genoma	Wessman, 2002
			MO (dones)	D4S2409	4,08 ^a	Islàndia	117	Genoma	Björnsson, 2003
			Edat d'inici	D4S1647	4,52 ^b	Finlàndia	50	Genoma	Anttila, 2006
MGR2	300125	Xq24-q28	MO i MA	DXS1001	2,57 ^a	Austràlia	1	Regió	Nyholt, 1998
			MO i MA	DXS1123	2,74 ^a	Austràlia	1 ^c	Regió	
MGR3	607498	6p12-p21	MO i MA	D6S452	5,41 ^b	Suècia	1	Genoma	Carlsson, 2002
MGR4	607501	14q21-q22	MO	D14S978	3,70 ^b	Itàlia	1	Genoma	Soragna, 2003
MGR5	607508	19p13	MO i MA	(CAG) _n	6,64 ^a	Austràlia	1	Regió	Nyholt, 1998
MGR6	607516	1q31	MO i MA	D1S2782	3,36 ^a	Austràlia	1 ^c	Regió	Lea, 2002
MGR7	609179	15q11-q13	MA	GABRB3	5,56 ^b	Itàlia	10	Regió	Russo, 2005
MGR8	609570	5q21	LCA 'migranya'	D5S2501	3,7 ^a	Austràlia	756*	Genoma	Nyholt, 2005
MGR9	609670	11q24	MA	D11S4464	4,24 ^b	Canadà	43	Genoma	Cader, 2003
MGR10	610208	17p13	Tret pulsatiu	D17S945	4,65 ^b	Finlàndia	50	Genoma	Anttila, 2006
MGR11	610209	18q12	Criteris IHS	D18S877	3,29 ^b	Finlàndia	50	Genoma	Anttila, 2006
MGR12	611706	10q22-q23	IHS, LCA, endofenotips	103 cM	5,18 ^a	Finlàndia	58	Genoma	Anttila, 2008
				100 cM	3,50 ^a	Austràlia	125		
				102 cM	2,41 ^a	Finlàndia	27		

MO: migranya sense aura, MA: migranya amb aura, cM: centimorgan, LCA: anàlisi de classes latents, N: numero de famílies, * parcelles de germans, ^a Anàlisi multipuntual no paramètrica, ^b Anàlisi paramètrica de dos punts, ^c Mateixa família

Totes aquestes dades recolzen l'existència tan d'heterogeneïtat fenotípica com genètica, amb múltiples gens que contribueixen a la susceptibilitat a patir migranya.

2.3.2 Anàlisi mutacional dels gens *CACNA1A* i *ATP1A2* en MO i MA

Les evidències de lligament genètic en els *loci* FHM1 i FHM2 per a formes comunes de migranya, així com la presència, en famílies amb FHM, d'individus que presenten el fenotip MO i/o MA i són portadors de mutacions en els gens *CACNA1A* o *ATP1A2*, suggereixen la possible participació d'aquests gens en les formes comunes de migranya (Nyholt et al. 1998b; Ducros et al. 2001; Lea et al. 2002; Vanmolkot et al. 2003).

No obstant, les diverses anàlisis mutacionals realitzades fins ara en els gens *CACNA1A* o *ATP1A2* en famílies amb MO i/o MA amb evidències de lligament a algun d'aquests *loci* no han permès identificar-hi cap mutació (Lea et al. 2001a; Curtain et al. 2005b). Tampoc s'han identificat mutacions en aquests gens en famílies amb patrons d'herència aparentment autosòmics dominants però sense estudis de lligament previs (48 amb MA i 25 amb MO) (Jen et al. 2004; Kirchmann et al. 2006). És cert que en un estudi de 45 famílies amb MA es van descobrir dues mutacions en el gen *ATP1A2*, absents en 520 cromosomes control, però la cosegregació entre genotip mutat i fenotip patològic no és perfecta, i això va portar als autors a suggerir que es tracta d'una variant rara de susceptibilitat (Todt et al. 2005). També s'ha detectat una mutació en aquest gen en una família amb migranya basilar, un subtipus de migranya en què l'aura s'origina al tronc de l'encèfal i hi participen simultàniament els dos hemisferis (IHS 2004; Ambrosini et al. 2005).

2.3.3 Identificació de variants de susceptibilitat: estudis d'associació

La cerca de variants genètiques implicades en malalties complexes comunes és difícil perquè cadascuna de les variants de predisposició és tan sols un dels múltiples factors, entre els genètics i els ambientals, que participen en el desenvolupament de la patologia, i cada un d'ells per si sol no és ni necessari ni suficient per causar-la. Tot i que aquestes variants d'efecte menor poden suposar tan sols un petit augment del risc global, és important identificar-les per determinar finalment el panorama genètic complet de predisposició a la patologia, i per la seva potencial rellevància a nivell de salut pública.

Els estudis d'associació són mètodes que permeten la identificació de variants i gens de susceptibilitat implicats en les malalties complexes. Hi ha dos tipus principals d'estudis d'associació genètica: els estudis de tipus cas-control poblacionals, basats en l'anàlisi d'individus no emparentats, i els estudis cas-control familiars, basats en

Introducció

famílies. En els estudis d'associació de tipus cas-control poblacionals (en oposició als familiars) l'estratègia es basa en la comparació de les freqüències al·lèliques i/o genotípiques d'un determinat marcador entre un grup d'individus afectats i un grup d'individus control que en principi no presenten la patologia. Entre els estudis d'associació familiars el més destacat és el test de desequilibri de transmissió (TDT) centrat en l'estudi de trios formats per un fill afectat i els seus dos progenitors. El TDT considera els progenitors heterozigots i avalua la freqüència de transmissió observada d'un al·lel al fill afectat respecte a la freqüència de transmissió esperada per atzar. L'avantatge d'aquest test és la combinació d'associació i lligament, però en canvi l'accessibilitat a trios i la necessitat que els progenitors siguin heterozigots fa que sigui difícil d'implementar (Cardon i Bell 2001).

En tots aquests estudis és essencial tenir molta cura en la definició del fenotip dels pacients, en la selecció dels controls adequats, la mida de la mostra, la tria de les variants genètiques a estudiar així com la metodologia estadística utilitzada i les correccions corresponents (Cardon i Bell 2001; Balding 2006; Zondervan i Cardon 2007).

La selecció de marcadors genètics a estudiar es basa en la hipòtesi que el marcador és funcionalment rellevant (associació directa) o que està en desequilibri de lligament (LD) amb la variant funcionalment rellevant (associació indirecta) (Zondervan i Cardon 2004; Zondervan i Cardon 2007). Es poden estudiar molts tipus diferents de variants genètiques, com ara repeticions en tàndem o insercions-deleccions (indels), però actualment els més utilitzats són els polimorfismes d'un únic nucleòtid o SNPs, l'abundància dels quals en el genoma humà s'estima en 10 milions. A més a més, el coneixement que tenim actualment dels patrons de LD del genoma en diferents poblacions permeten seleccionar col·leccions de SNPs que capturin la major part de la variabilitat genètica comuna a la població, evitant redundàncies i identificant aquelles variacions que 'arrosseguen' SNPs relacionats (Balding 2006). El LD es quantifica, entre d'altres mètodes, amb els paràmetres D' i r^2 , que prenen valors entre 0 i 1. Valors de 0 impliquen independència (o equilibri) de les variacions que es comparen, mentre que valors de 1 impliquen l'existència d'una relació màxima de desequilibri. Per un marcador bial·lèlic, que $D'=1$ o $r^2=1$ implica que totes les còpies d'un dels dos al·lèls es donen exclusivament amb un dels dos possibles al·lèls de l'altre marcador, mentre que per r^2 a més els dos marcadors considerats tenen idèntiques freqüències al·lèliques. En aquest últim cas, el genotip d'un marcador es prediu perfectament a partir del genotip de l'altre, en els dos sentits, i per tant la redundància genètica seria total (Zondervan i Cardon 2004).

El projecte internacional HapMap (www.hapmap.org) ha posat a disposició pública informació detallada dels genotips de 3,1 milions de SNPs per a 270 individus de 4 poblacions diferents en la seva fase II (Frazer et al. 2007), i des de fa pocs mesos es pot accedir a les primeres dades de la fase III en què s'han genotipat més marcadors i noves poblacions. Aquesta informació permet la selecció més acurada de marcadors no redundants que identifiquen grups de SNPs.

Els estudis d'associació es poden centrar en l'anàlisi de gens candidats seleccionats per la seva potencial (o coneguda) relació amb la fisiopatologia o la farmacologia de la malaltia, o bé analitzar tot el genoma (*Genome-Wide Association Studies* o GWAS) utilitzant sèries molt àmplies de marcadors distribuïts per cobrir la major part de la variabilitat genètica humana (Eberle et al. 2007).

2.3.3.1 Estudis d'associació en migranya

Els estudis d'associació genètica que s'han dut a terme fins ara suggereixen la participació de diversos gens a la susceptibilitat a migranya, tot i que no sempre s'han replicat els resultats en diferents poblacions. S'han publicat més d'un centenar d'estudis d'associació genètica en migranya en què s'ha estudiat la participació d'uns 200 gens candidats. Els estudis d'associació publicats fins ara se centren en gens candidats concrets, ja que encara no s'ha publicat cap article de tipus GWAS per a la migranya o algun dels subgrups fenotípics.

Els gens estudiats es poden agrupar en quatre categories principals: gens implicats en la neurotransmissió, gens que participen en la funció vascular, gens relacionats amb hormones i aquells que no pertanyen a cap d'aquests grups (Colson et al. 2007). A la taula 6 es presenta un resum de la majoria dels treballs publicats, excepte d'aquells que se centren en gens del sistema serotoninèrgic, dopaminèrgic, o aquells que estan relacionats amb hormones, que, pel fet de ser objecte d'estudi d'aquesta Tesi, es detallen més endavant. Es pot observar que amb els anys el nombre de pacients estudiats ha anat augmentant per tal d'assolir majors quotes de poder estadístic i afrontar així amb més garanties la identificació de factors de susceptibilitat d'efecte menor.

A partir de la hipòtesi que les formes comunes de migranya podrien ser, com les formes mendelianes caracteritzades fins ara, canalopaties (com a mínim en part), recentment s'ha publicat un treball molt exhaustiu en què els autors cobreixen genèticament 155 gens que codifiquen proteïnes que formen part de canals iònics (Nyholt et al. 2008). Tot i identificar una associació inicial per a alguns marcadors en la població de MA, aquests resultats no van poder ser replicats en una segona mostra de més de 2800 pacients.

Introducció

També s'ha publicat un estudi amb un nombre elevat de pacients del gen *ADRB2*, que codifica el receptor adrenèrgic $\beta 2$, però no s'han obtingut evidències significatives d'associació (Schurks et al. 2008).

Els gens més estudiats de la funció vascular són el *MTHFR*, que codifica la reductasa de metilè tetrahidrofolat, sobre la qual s'han publicat un mínim de 11 estudis amb resultats contradictoris i una meta-anàlisi, i el gen *ACE*, que codifica l'enzim convertidor d'angiotensina que, excepte en un treball, sempre s'ha trobat associat a MO o MA. En concret, s'ha treballat en una indel intrònica que té influència sobre els nivells circulants de l'enzim (Kara et al. 2007; veure taula 6 per referències).

Un altre gen de susceptibilitat a migranya estudiat a fons és *INSR*, que codifica el receptor d'insulina i està situat al cromosoma 19, prop del gen *CACNA1A*. L'associació detectada inicialment s'ha replicat únicament en considerar els nous pacients analitzats en conjunt amb els de l'estudi inicial, indicant que es requereixen més estudis per aclarir la situació (McCarthy et al. 2001; Netzer et al. 2008a).

Amb el pas dels anys el nombre de pacients inclosos en els estudis ha anat augmentant considerablement, i malauradament els resultats obtinguts en la majoria d'estudis no es repliquen de forma consistent (taula 6).

2.3.3.2 Meta-anàlisis de polimorfismes implicats en migranya

Tan sols s'han publicat dos treballs en què es realitzen meta-anàlisis d'estudis d'associació genètica en migranya.

Un d'ells se centra en la variant funcional c.677C>T (p.Ala222Val segons la variant proteica RefSeq NP_005948, rs1801133) del gen *MTHFR*, tot recollint les dades de vuit estudis anteriors i agrupant-los per fer les comparacions entre freqüències genotípiques i al·lèliques. Aquesta variant comuna a la població produeix una modificació de l'estructura quaternària de l'enzim reduint la capacitat enzimàtica en un 50% i produint hiperhomocisteïnèmia moderada. En comparar els grups de migranya total *versus* controls o MO *versus* controls no es van obtenir diferències significatives. En canvi, es va observar un excés d'individus T/T en el grup de MA comparat amb el grup control que conferia un risc modest de desenvolupar MA (efecte fixat OR=1,32; 95% IC=1,10-1,59). Les bases neurobiològiques que explicarien aquesta associació encara són desconegudes (Rubino et al. 2007).

El segon treball se centra en l'estudi del SNP c.68G>C (p.Cys23Ser, RefSeq NP_000859, rs6318) del gen *HTR2C* que codifica un receptor de serotonina. En aquest cas es van estudiar un total de cinc grups poblacionals, quatre d'ells publicats anteriorment i a més l'estudi realitzat pels autors, i no van observar que els portadors

de la variant Ser presentessin un increment de risc significatiu de patir MA (Oterino et al. 2007a).

Taula 6. Estudis d'associació realitzats en migranya (exceptuant els relacionats amb gens que codifiquen per proteïnes del sistema serotoninèrgic, dopaminèrgic i receptors hormonals, recopilats a les taules 8, 9 i 7 respectivament).

Referència	Gen/s analitzats	marcadors analitzats	N casos; controls	Resultats
(Nyholt et al. 2008)	155 gens de transport iònic, inclou: <i>CACNA1A</i> <i>ATP1A2</i>	5257 SNPs	1) 841MA; 884 2) 2335; 2740	No associació Interacció entre <i>KCNB2</i> i <i>CACNB2</i>
(Netzer et al. 2006)	<i>ATP1A2</i>	6 SNP	98MA; 189	No associació
(Fernandez et al. 2007)	<i>KCNJ10</i> <i>KCNJ9</i> <i>ATP1A4</i> <i>CACNA1E</i> <i>CASQ1</i> <i>FASLG</i>	1 SNP 1 SNP 1 SNP 1 SNP 1 SNP (CA)n	243; 243	No associació
(Mossner et al. 2005)	<i>KCNN3</i>	(CAG)n	97MO, 93MA; 232	Associació al-lel 15 P=0,025
(Curtain et al. 2005a)	<i>KCNN3</i>	(CAG)n	91MO, 111MA; 221	No associació
(Oswell et al. 2008)	<i>GABRB3</i> <i>GABRA5</i> <i>GABRG3</i>	19 SNPs 6 SNPs 5 SNPs	898MA; 900	No associació
(Netzer et al. 2008b)	<i>GABRB3</i> <i>GABRA5</i> <i>GABRG3</i>	17 SNPs 4 SNPs 35 SNPs	1) 270MA; 273 2) 379MA, 379	No associació
(Fernandez et al. 2008)	<i>GABRE</i> <i>GABRQ</i>	3 SNPs 1 SNP	275;275	No associació
(Schurks et al. 2008)	<i>ADRB2</i>	3 SNPs	4339 ♀; 19414 ♀	No associació
(Lisi et al. 2006)	<i>EDNRA</i>	1 SNP	Pediàtrics 80MO, 3MA; 67	No associació
(Tzourio et al. 2001)	<i>EDN1</i> <i>EDNRA</i> <i>EDNRB</i>	2 SNP 2 SNP 1 SNP	140; 1048	Associació P<0,001
(Hohoff et al. 2007)	<i>ADORA2</i>	6 SNPs	143MO, 122MA; 154	Associació haplotip-MA P<0,01
(Schwaag et al. 2006)	<i>NOTCH3</i>	2 SNPs	70MO, 27MA; 97	Associació P=0,005
(Borroni et al. 2006a)	<i>NOTCH3</i>	1 SNP	103MO, 53MA; 128	No associació
(McCarthy et al. 2001)	<i>INSR</i> <i>GTF2F1</i> <i>DRD2</i> <i>HTR1D</i> <i>CACNA1A</i>	24 SNPs 1 SNP 1 SNP 1 SNP	286MO, 210MA; 299 162MO, 167MA; 466 150;150 145MO, 110MA;237	Associació MA, 5 SNPs
(Netzer et al. 2008a)	<i>INSR</i>	35 SNPs	1) 270MA;280 2) 679MA;368	Associació anàlisi conjunt P=0.005
(Johnson et al. 2005)	<i>NOS1</i>	(GT)nA(TG)m (TG)n	1) 105MO, 170MA; 275 2) 47MO, 258MA; 305	Associació MA P=0,029 Associació no replicada
(Lea et al. 2001b)	<i>NOS2</i>	Tetranucleòtid	105MO, 156MA; 252	No associació
(Griffiths et al. 1997)	<i>NOS3</i>	(CA)n	91;85	No associació
(Borroni et al. 2006b)	<i>NOS3</i>	1 SNP	103MO, 53MA; 125	Associació MA
(Toriello et al. 2008)	<i>NOS3</i>	2 SNP	149MO, 188MA; 341	No associació
(Paterna et al. 1997)	<i>ACE</i>	Indel	191MO; 201	Associació MO P<0,05
(Paterna et al. 2000)	<i>ACE</i>	Indel	302MO; 201	Associació MO P<0,05 Associació ↑ freqüència atacs
(Kowa et al. 2005)	<i>ACE</i>	Indel	54MO, 122 MA; 248	Associació MA P<0,01
(Kara et al. 2007)	<i>ACE</i> <i>MMP3</i>	Indel Indel	109MO, 59MA, 10BM	Associació, efecte combinat
(Tronvik et al. 2008)	<i>ACE</i>	Indel	187MO, 155MA; 403	No associació
(Joshi et al. 2009)	<i>ACE</i> <i>MTHFR</i>	Indel 1 SNP	83MO, 67MA; 150	Associació MA P=0,04
(Schurks et al. 2009)	<i>AGTR1</i> <i>AGT</i>	1 SNP 1 SNP	4577 ♀; 20423 ♀	No associació
(Oterino et al. 2007b)	<i>GNAS1</i>	1 SNP	171MO, 194MA; 347; 117 fam	Associació P=0,003

Introducció

(Marziniak et al. 2008)	<i>BDNF</i>	1 SNP	143MO, 122MA;153	No associació
(Takeshima et al. 2001)	<i>ND4</i> mtDNA	1 SNP	123MO, 43MA; 483	No associació
(Kowa et al. 2000)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	54MO, 22MA; 251	Associació MA P<0,01
(Kara et al. 2003)	<i>MTHFR</i>	2 SNPs	23MO, 70MA; 136	Associació MA P=0,0001
(Lea et al. 2004)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	100MO, 170MA; 270 92 famílies	Associació MA P=0,017 Tendència P=0.039
(Oterino et al. 2004)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	152MO, 78MA; 204	Associació MA vs MO P=0,006
(Oterino et al. 2005)	<i>MTHFR</i> <i>TS</i> <i>MS</i> <i>MTHFD1</i>	1 SNP 1 repetició 1 SNP 1 SNP	191MO, 138MA; 237	Associació MA vs MO P=0,02 Interacció entre <i>MTHFR</i> i <i>TS</i> i <i>MTHFD1</i>
(Kaunisto et al. 2006)	<i>MTHFR</i>	6 SNPs	898MA; 900	No associació
(Scher et al. 2006)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	226MO, 187MA; 1212	Associació MA P<0,007
(Scher et al. 2006)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	226MO, 187MA; 1212	Associació P<0,006
(Ferro et al. 2008)	<i>MTHFR</i>	1 SNP		No associació
(Todt et al. 2006b)	<i>MTHFR</i>	1 SNP	656MA; 625 155 trios	No associació
(Mattsson et al. 2000)	<i>CYP2D6</i> <i>GST</i>	2 variants	100 ♀; 245 ♀	No associació
(Kusumi et al. 2003)	<i>GST</i>	2 variants 1 SNPs	38MO, 95MA; 372	Associació MO P<0,01
(Rainero et al. 2002a)	<i>APOE</i>	1 SNP	135MO, 18MA, 88MO+TH;587	Associació P<0,001
(Mochi et al. 2003a)	<i>LDLR</i>	(TA)n 1 SNP	220MO, 140MA; 200	Associació MO P=0,010
(Curtain et al. 2004)	<i>LDLR</i>	(TA)n	95MO, 147MA; 242	No associació
(Pardo et al. 1995)	Estudi -serològic -genètic	ABO, Rh, ESD, ACP, PGM1, ADA, HP, TF, PI, GC D1S80	62MO, 50MA; 109-1086	Associació GC P=0,001 Associació ESD P=0,0002
(Martelletti et al. 1999)	<i>HLA class II</i>	2 variants	31MO, 14MA; 53	Protecció MA P=0,039
(Rainero et al. 2006)	<i>HLA class II</i>	1 variants	214MO, 41MA; 325	Associació MO P=0,02
(Trabace et al. 2002)	<i>LTα</i> <i>TNFβ</i>	1 SNP 1 SNP	47MO, 32MA; 101	Associació MO P=0,004
(Rainero et al. 2004)	<i>TNFα</i>	1 SNP	261MO, 38MA; 306	Associació MO P<0,001
(Mazaheri et al. 2006)	<i>TNFα</i>	1 SNP	221MO; 183	Associació P<0,0001
(Lee et al. 2007b)	<i>LTA-TNFα</i>	15 SNPs	327MO, 65MA; 382	Associació P=0,0003
(Rainero et al. 2002b)	<i>IL1A</i>	1 SNP	269	Associació ↓ edat d'inici P>0,01
(Rainero et al. 2003)	<i>IL6</i>	1 SNP	268; 305	No associació
(Schurks et al. 2007)	<i>HCRTR2</i>	1 SNP	96MO, 23MA, 27MOMA; 279	No associació
(Garcia-Martin et al. 2008)	<i>HNMT</i>	1SNP	99MO, 98MA; 245	No associació
(Corral et al. 1998)	<i>FVL</i> <i>FII</i> <i>HPA-1i 2</i>	2 SNP 1 SNP 2 SNP	57MO, 49MA; 106	No associació
(Iniesta et al. 2001)	<i>FXIII</i>	1 SNP	46MO, 43MA; 467	No associació
(Rainero et al. 2007)	<i>HFE</i>	2 SNPs	225MO, 31 MA; 237	No associació

CACNA1A: Ca²⁺ channel, voltage-dependent, P/Q type, alpha 1A, *ATP1A2*: ATPase, Na⁺/K⁺ transporting, alpha 2 (+) polypeptide, *KCNB2*: K⁺ voltage-gated channel, Shab-related subfamily 2, *CACNB2*: Ca²⁺ channel, voltage-dependent, beta 2, *KCNJ10*: K⁺ inwardly-rectifying channel, subfamily J 10, *KCNJ9*: K⁺ inwardly-rectifying channel, subfamily J9, *ATP1A4*: ATPase, Na⁺/K⁺ transporting, alpha 4 polypeptide, *CACNA1E*: calcium channel, voltage-dependent, R type, alpha 1E, *CASQ1*:calsequestrin 1, *FASLG*: Fas ligand, *KCNK3*: potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N 3, *GABR*: gamma-aminobutyric acid A receptor, *EDNRA*: endothelin receptor type A, *EDN1*: endothelin 1, *EDNRB*: endothelin receptor type B, *ADORA2*: adenosine A2 receptor, *NOTCH3*: Notch homolog 3, *INSR*: Insuline receptor, *GTF2F1*: general transcription factor IIF 1, *DRD*: dopamine receptor , *HTR*: serotonin receptor , *NOS*: Nitric Oxide Synthase , *ACE*: Angiotensin converting enzyme, *MMP3*: matrix metalloproteinase 3, *MTHFR*: 5'-10'-methylene tetrahydrofolate reductase, *AGTR1*: angiotensin II receptor 1, *AGT*: angiotensinogen, *TS*: thymidylate syntase, *MS*: methionine synthase, *MTHFD1*: methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase formyltetrahydrofolate syntase, *CYP2D6* cytochrome 2D6, *APOE*: apolipoprotein E, *LDLR*: low density lipoprotein receptor , *TNF*: tumor necrosis factor, *LT*: lymphotoxin, *IL*: interleukin, *HCRTR2*: hypocretin receptor 2, *HNMT*: histamine-N-methyl transferase, *HFE*: hemochromatosis, *FVL*: factor V Leiden, coagulation factor V, *FII*: coagulation factor II, *FXIII*:coagulation factor XIII, *GNAS1*: GNAS complex locus, *BDNF*: brain-derived neurotrophic factor, *ND4*: NADH dehydrogenase, *ESD*: Esterase D, *ACP*: Acid phosphatase I, *PGM1*: Phophoglucomutase I, *ADA*: Adenosine deaminase, *HP*: heptoglobin, *TF*: transferrin, *PI*: alpha-1-antitrypsin, *GC*: Grup-specific component.

2.4 Models animals de migranya

S'han identificat soques de ratolins amb mutacions esporàdiques al gen ortòleg al *CACNA1A* humà que presenten un fenotip atàxic, una disminució de les corrents de tipus P/Q en cèl·lules de Purkinje i en ocasions convulsions (Pietrobon 2007). El ratolí *knock-out* per aquest gen presenta símptomes d'atàxia cerebel·losa greu, distonia i degeneració cerebel·lar progressiva. Els heterozigots +/- tenen una reducció en la resposta inflamatòria i el dolor neuropàtic (Pietrobon 2007). També s'han creat ratolins *knock-in* homozigots per les mutacions humanes FHM p.Arg192Gln o p.Ser218Leu (RefSeq NM_023035) que presenten un augment de la neurotransmissió a la sinapsi neural i un augment de susceptibilitat a la CSD (van den Maagdenberg et al. 2004).

Per a l'estudi de la migranya en animals també s'ha treballat amb models induïts. Es pot provocar una CSD a animals mitjançant l'aplicació d'estímuls químics o físics (Pietrobon 2007).

També s'ha utilitzat *C.elegans* com a model per estudiar la possible interacció entre l'ortòleg UNC-2 del gen *CACNA1A* i la senyalització serotoninèrgica, tot demostrant de forma directa que el gen *CACNA1A* pot alterar els nivells de serotonina (Estevez 2006).

3 Gens candidats a participar en la susceptibilitat a migranya estudiats en aquest treball

En aquest treball s'ha estudiat la contribució al fenotip migranyós de gens relacionats amb hormones ovàriques, amb els sistemes de neurotransmissió serotoninèrgic i dopaminèrgic i amb la regulació de la neurosecreció.

3.1 Gens relacionats amb hormones ovàriques i migranya

3.1.1 Participació de mecanismes hormonals a la migranya

Hi ha diverses evidències que recolzen la participació de sistemes d'hormones en el fenotip migranyós. Com ja hem vist, els estudis epidemiològics suggereixen una connexió entre hormones sexuals i migranya. S'ha observat que la prevalença de la migranya abans de la pubertat és similar entre nenes i nens, però després de la menarquia, i augmentant amb l'edat, la incidència en dones és molt més elevada, assolint una diferència màxima de 3 a 1 al voltant dels 35-40 anys (Figura 3; Lipton et al. 2001b; Stovner et al. 2006).

S'ha calculat que fins a un 60% de les dones pateixen atacs de migranya durant el període entre els dos dies anteriors i els tres primers dies de la menstruació, sobretot episodis de MO (MacGregor 2004; Brandes 2006; Martin i Behbehani 2006a; Gupta et al. 2007). Per aquesta raó la classificació ICHD-II, revisada l'any 2004, proposa a l'apèndix una divisió de la migranya sense aura en tres categories. Primer, la MO menstrual pura (A1.1.1), que es defineix com una MO que té lloc exclusivament 1+/-2 dies després de la menstruació en un mínim de 2 cicles menstruals de 3 i sense migranya en altres etapes del cicle. Alguns estudis avaluen que pot afectar entre el 7 i el 19% de les dones amb migranya (Martin i Behbehani 2006a). Es classifica en segon lloc la migranya relacionada amb la menstruació (A.1.1.2), que presenta migranya menstrual i episodis addicionals de MO o MA entre els cicles. I per últim, la migranya no relacionada amb la menstruació (IHS 2004). Aquestes entitats encara no estan suficientment validades a nivell científic per ser formalment acceptades. Estudis clínics de migranya menstrual reconeixen que la classificació d'aquesta nova entitat

Introducció

disminueix l'heterogeneïtat clínica i en millora el diagnòstic i tractament (MacGregor 2008).

Diversos estudis clínics han avaluat la influència de les fluctuacions hormonals en el curs de les cefalees migranyoses en dones, tot detectant que canvis dels nivells hormonals poden alterar-ne la freqüència i/o severitat. Els resultats d'aquests assaigs centrats en diferents moments de la vida (menarquia, cicle menstrual, embaràs, lactància i menopausa) o en períodes en que s'ha realitzat una aportació externa d'hormones (administració de contraceptius orals o teràpia de substitució hormonal) suggereixen que una mateixa hormona pot prevenir la migranya en algunes situacions, o desencadenar-la en d'altres (Brandes 2006; Martin i Behbehani 2006a). El mecanisme generalment acceptat pel qual es creu que es produeix l'episodi migranyós fou proposat per Somerville (Somerville 1972), i implica una retirada abrupta d'estrògens després d'un període sostingut d'exposició en la MO i una elevada concentració d'estrogen en atacs de MA (MacGregor 2004; Martin i Behbehani 2006b; Gupta et al. 2007).

Estrogens i progesterona tenen efectes destacats a nivell molecular i neurofisiològic, ja sigui mitjançant mecanismes amb efectes genòmics (els receptors units a lligand actuen com a factors de transcripció o activen cascades de senyalització que acaben regulant la transcripció de gens) o no genòmics (modulant l'acoblament d'un receptor al seu sistema de primer missatger). El resultat final són una sèrie d'efectes complexes sobre els sistemes de neurotransmissió i les xarxes de processament del dolor, ambdós rellevants en la fisiopatologia de la migranya (figura 7; Martin i Behbehani 2006b; Gupta et al. 2007; Herzog 2007). Les interaccions extremadament complexes que els estrògens presenten en el cervell incrementen, en general, l'excitabilitat neuronal potenciant els efectes del glutamat, la producció d'energia, i la conductivitat serotoninèrgica i opiàcia, i disminueixen l'activitat neuro-inhibitòria del sistema GABAèrgic (Eikermann-Haerter et al. 2007; Herzog 2007). La retirada d'estrògens podria estar associada a una forta davallada de la producció energètica en un període d'hiperexcitabilitat neuronal augmentada que podria facilitar la CSD (Welch et al. 2006; Eikermann-Haerter et al. 2007). D'altra banda, també presenten altres efectes com l'alliberament anòmal de pèptids a nivell del trigemin (augment de CGRP que inicia la dilatació vascular), inflamació del sistema nerviós central i sensibilització, tots ells associats a la fase de cefalea de la migranya (Welch et al. 2006).

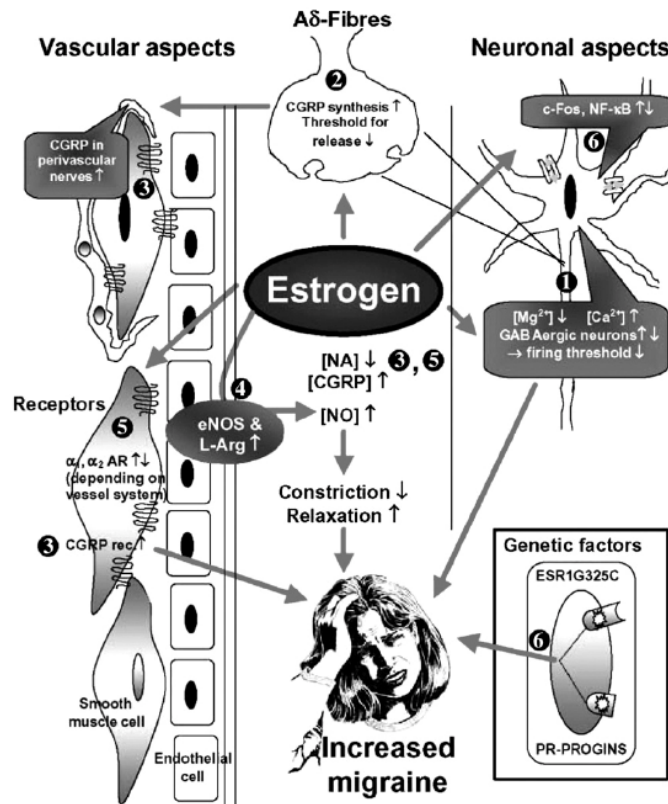


Figura 7. Representació esquemàtica dels principals mecanismes pels quals els estrògens poden afavorir l'aparició de migranya. (1) Els estrògens afavoreixen l'excitabilitat neuronal per la disminució dels nivells de Mg^{2+} i l'increment de la concentració de Ca^{2+} . (2) Els estrògens augmenten la síntesi de CGRP i el seu alliberament. (3) A nivell vascular, el CGRP alliberat afavoreix la vasodilatació, que actua en sincronia amb l'increment d'expressió de receptors de CGRP i una inhibició del sistema nerviós parasimpàtic. (4) Els estrògens afavoreixen la producció de NO via la sintasa d'òxid nítric endotelial. (5) Els sistemes GABAèrgic i noradrenèrgic (α_1 α_2 -AR -adrenoceptors-, així com la concentració plasmàtica de NA -noradrenalina-) poden presentar efectes afavoridors o atenuants en resposta a estrògens. (6) A més, els estrògens modulen els marcadors moleculars c-fos i NF- κ B, i marcadors d'ambdós receptors d'estrògens (ESR1G325C) i progesterona (PR-PROGNIS) augmenten el risc de migranya. Figura de (Gupta et al. 2007).

3.1.2 Estudis d'associació de gens relacionats amb hormones

Per totes aquestes raons es va hipotetitzar que variacions genètiques en gens que codifiquen per receptors hormonals podrien tenir un impacte en el nivells d'expressió o en la funció d'aquests receptors influenciant així la susceptibilitat a migranya. Aquests darrers anys, diverses publicacions s'han centrat en l'estudi de la possible participació de gens que codifiquen els receptors d'estrògen (*ESR1* i *ESR2*), progesterona (*PGR*) i andrògens (*AR*) i el receptor d'hormona estimulante fol·licular (*FSHR*) en la susceptibilitat a migranya, i estan recollides a la taula 7 (Colson et al. 2004; Colson et al. 2005; Colson et al. 2006; Kaunisto et al. 2006; Oterino et al. 2006; Lee et al. 2007a; Oterino et al. 2008). Inicialment es va identificar una associació entre el fenotip migranyós, especialment en MA i en dones, i el SNP sinònim rs2228480, localitzat a l'exó 8 del gen *ESR1*, en dues poblacions independents d' Austràlia (Colson et al.

Introducció

2004), però aquest resultat no es van replicar en estudis posteriors realitzats en població espanyola i finlandesa (Kaunisto et al. 2006; Oterino et al. 2006). En canvi, en estudiar una indel *Alu* en el gen *PGR* a les mateixes poblacions australianes van observar que els portadors de la inserció presentaven un risc de patir migranya augmentat 1,8 vegades respecte als no portadors. Encara més interessant va ser l'anàlisi de fenòmens epistàtics entre aquest polimorfisme i el prèviament identificat a *ESR1*, que va revelar que el risc per al portadors de les dues variants de risc augmentava fins a 3,2 vegades, tot indicant la interacció entre aquestes dues variants. Aquest mateix treball no va poder determinar l'existència de cap relació entre un microsatèl·lit del gen *AR* i la migranya (Colson et al. 2005). D'altra banda, en població espanyola es va detectar una variant de risc en el SNP rs1801132 de l'exó 4 del gen *ESR1* en el grup de dones migranyoses (Oterino et al. 2006). L'estudi d'aquest SNP en australians no va identificar diferències en les distribucions genotípiques o al·lèliques de casos i controls (Colson et al. 2006). En canvi, en un estudi molt exhaustiu realitzat en finlandesos es va detectar associació nominal entre aquest SNP i el fenotip migranyós, i en tres SNPs més quan es va considerar la població amb MA que complia estrictament els criteris ICHD-II (Kaunisto et al. 2006). Malauradament, aquests valors no romanien significatius després d'aplicar correccions per múltiples comparacions. Aquest darrer estudi, en què es van analitzar 26 SNPs que cobreixen tot el gen i les regions 5' i 3' flanquejants en gairebé 900 casos amb MA i el mateix nombre de controls, és el més exhaustiu per a gens relacionats amb hormones. Un nou estudi en població espanyola en què es duen a terme estudis de tipus cas-control poblacionals i familiars recolzen la participació d'aquesta variació de l'exó 4 principalment en la MA. D'altra banda, es va identificar la presència d'interaccions entre variants dels gens *ESR1*, *ESR2* i *FSH* (Oterino et al. 2008). Finalment, en un estudi de migranya amb vertigen associat es va observar associació amb una variant del gen *PGR* en desequilibri de lligament amb la ins/del *Alu* (Lee et al. 2007a).

Les bases precises de l'associació entre cefalea i hormones encara no han estat ben establertes i es manté com a objectiu de futures investigacions. Variacions en els gens del receptor d'estrogen 1 (*ESR1*) o el receptor de progesterona (*PGR*) podrien implicar canvis en la seva expressió o en la funció proteica que podrien modular mecanismes per augmentar o disminuir la freqüència, severitat o durada dels episodis de migranya. L'estudi d'aquestes variacions també podrien ajudar a entendre les diferències entre sexes que es produeixen en diferents facetes d'aquest trastorn. Això, juntament amb el fet que diferents grups de recerca han obtingut resultats sovint divergents, converteixen aquests gens en bons candidats a ser estudiats.

Taula 7. Estudis d'associació a migranya realitzats en gens relacionats amb hormones classificats per gens i polimorfismes estudiats (criteris IHCD).

Gen	Polimorfismes	Disseny estudi	N casos; N controls	Origen	Fenotip associat	Genotip o al·lel associat	Valor P	Referència	
ESR1	rs2881766, rs2077647, rs746432, rs3853248, rs827421, rs7774230, rs1514348, rs1709183, rs2347867, rs3020314, rs1884051, rs985694, rs3020407, rs722208, rs6905370, rs3020371, rs750686, rs3798577	CC	784 MA; 900	Finlàndia	-	-	-	NS	(Kaunisto et al. 2006)
	rs2234693 intró 1	CC	240; 240	Austràlia	-	-	NS	(Colson et al. 2006)	
	rs6557170 intró 3	CC	784 MA; 900	Finlàndia	MA	A/A	0,003 ^a	(Kaunisto et al. 2006)	
	rs6557171 intró 3 ^c	CC	784 MA; 900	Finlàndia	MA	T/T	0,044 ^a	(Kaunisto et al. 2006)	
	rs4870062 intró 3 ^c	CC	784 MA; 900	Finlàndia	MA	G/G	0,047 ^a	(Kaunisto et al. 2006)	
	rs1801132 exó 4	CC	367; 232	Espanya	dones	al·lel C	0,008	(Oterino et al. 2006)	
		CC	240; 240	Austràlia	-	-	NS	(Colson et al. 2006)	
		CC	784 MA; 900	Finlàndia	MA	G/G	0,016 ^a	(Kaunisto et al. 2006)	
		CC	150 MV; 145	Estats Units	-	-	NS	(Lee et al. 2007a)	
		CC	158 MO, 198MA; 374 168 trossos MA	Espanya	dones	al·lel C	0,020 0,009	(Oterino et al. 2008)	
ESR2	rs2228480 exó 8	CC	Pob1 → 224; 224 Pob2 → 260; 260	Austràlia	MO MA, homes, dones	al·lel A	0,003 ^b	(Colson et al. 2004)	
		CC	367; 232	Espanya	-	-	NS	(Oterino et al. 2006)	
		CC	784 MA; 900	Finlàndia	-	-	NS	(Kaunisto et al. 2006)	
		CC	150 MV; 145	Estats Units	-	-	NS	(Lee et al. 2007a)	
		CC	158 MO, 198MA; 374 168 trossos MA	Espanya	MA	al·lel G	0,014 0,05	(Oterino et al. 2008)	
	PGR	inserció/delecció <i>Alu</i> ^c	CC	Pob1 → 232; 216 Pob2 → 277; 263	Austràlia	MO, dones	inserció <i>Alu</i>	0,017 ^b	(Colson et al. 2005)
		rs1042838 ^c	CC	150 MV; 145	Estats Units	MV	al·lel T	0,0007	(Lee et al. 2007a)
		repetició CAG exó 1	CC	198; 163	Austràlia	-	-	NS	(Colson et al. 2005)
		rs6166	CC	158 MO, 198MA; 374 168 trossos MA	Espanya	dones MA	al·lel G	0,004 0,044	(Oterino et al. 2008)
	CYP19A1	rs10046	CC	158 MO, 198MA; 374 168 trossos MA	Espanya	-	-	NS	(Oterino et al. 2008)
rs2229741		CC	158 MO, 198MA; 374 168 trossos MA	Espanya	-	-	NS	(Oterino et al. 2008)	

CC: cas-controls, BF: basat en famílies, NS: no significatiu, MO: migranya sense aura, MA: migranya amb aura; MV:migranya-verrigen associat; pob: població; ESR: receptor d'estrogens, PGR: receptor de progesterona, AR: receptor d'andrògens, FSHR: receptor de la hormona estimulant fol·licular, CYP19A1: citocrom P450 família 19 subfamília A peptid 1(estrogen sintasa), NRIP: proteïna de interacció amb factors nuclear (factor de transcripció RIP140 modulad per estrògen).^a Resultats no significatius després d'aplicar correccions per múltiples comparacions, ^b Comparació de tots els casos vs tots els controls, ^c presència de desequilibri de lligament

3.2 El sistema serotoninèrgic i la migranya

3.2.1 El sistema serotoninèrgic

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5HT) és un neurotransmissor monoaminèrgic que està present en una gran varietat de tipus cel·lulars. El coscos cel·lulars de les neurones serotoninèrgiques es localitzen, en el sistema nerviós central (SNC), principalment als nuclis del rafe del tronc de l'encèfal i es projecten pràcticament a totes les àrees del SNC (figura 8). El sistema serotoninèrgic està implicat en moltes funcions fisiològiques rellevants, com per exemple el control de la pressió sanguínia, la termoregulació, l'alliberament d'hormones, la percepció del dolor, i la conducta (Fink i Gothert 2007).

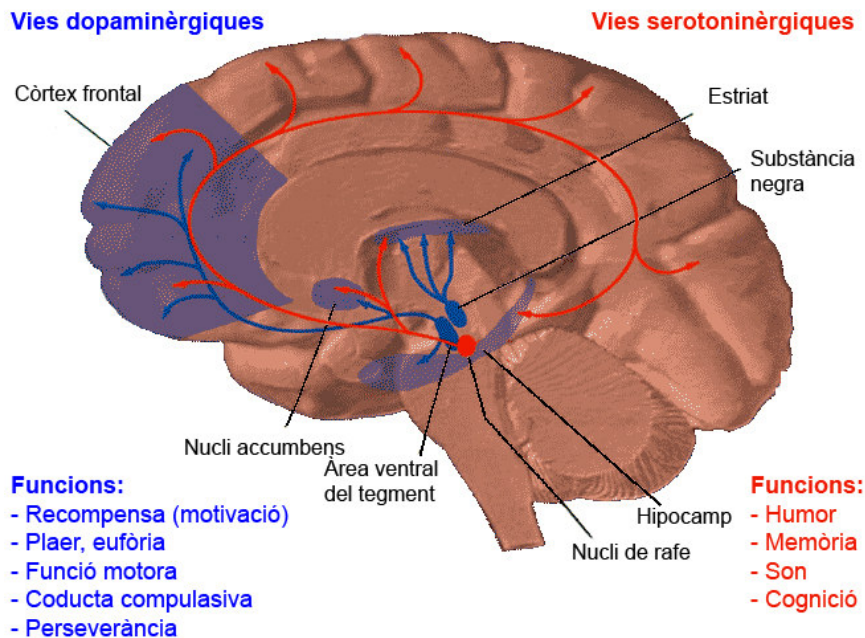


Figura 8. Esquema de les projeccions serotoninèrgiques i dopaminèrgiques en el cervell humà.

La concentració de 5HT en els teixits depèn del balanç metabòlic de síntesi i degradació (Tyce 1990). La 5HT se sintetitza a partir de l'aminoàcid essencial triptòfan mitjançant l'acció successiva de l'enzim triptòfan hidroxilasa (TPH), enzim limitant de la reacció, i la descarboxilasa d'aminoàcids aromàtics (AADC o DDC). En la degradació hi participen els enzims monoamina oxidasa (MAO), l'aldehid deshidrogenasa i l'alcohol deshidrogenasa, tot produint-se l'àcid 5-hidroxiindolacètic (5HIAA) com a producte final (Tyce 1990).

En el SNC, un cop sintetitzada la 5HT a les neurones, aquesta s'emmagatzema en vesícules presinàptiques protegida de la degradació, i s'allibera a l'espai sinàptic mitjançant exocitosi regulada (Hoyer i Martin 1997). La 5HT actua sobre 7 famílies

diferents de receptors (5HTR1 a 5HTR7), alguns d'ells amb diferents subtipus. Aquests receptors poden estar localitzats tant a cèl·lules diferents de la que allibera el neurotransmissor a la sinapsi neuronal (parlem llavors d'heteroreceptors), com a la membrana presinàptica (autoreceptors) (Kroeze i Roth 1998; Martin i Behbehani 2006b; Fink i Gothert 2007). El transportador de serotonina (SERT) es localitza a les membranes presinàptiques de les terminacions nervioses serotoninèrgiques i és responsable del control de les concentracions extracel·lulars de 5HT mitjançant la seva recaptació de l'espai sinàptic. Aquest mecanisme de control determina la durada de la senyalització (Torres et al. 2003). Fora del SNC, la serotonina se situa en cèl·lules de la mucosa gastrointestinal i a les plaquetes, que tot i tenir poca capacitat de síntesi de 5HT, la recapten del plasma circulant (Hardisty i Stacey 1955).

3.2.2 Participació del sistema serotoninèrgic en la migranya

La participació del sistema serotoninèrgic en la patogènesi de la cefalea migranyosa es va proposar fa 50 anys i des de llavors s'han anat acumulant evidències que recolzen aquesta hipòtesi (Akerman i Goadsby 2007).

Diversos estudis mostren que pacients amb migranya presenten alteracions en els nivells de 5HT o els seus metabòlits en plasma, orina o líquid cefalorraquidi, tot i que els resultats han estat contradictoris en algunes ocasions. Es va detectar que pacients amb migranya en període asimptomàtic presentaven, en plasma, nivells inferiors de 5HT i superiors de 5HIAA als de controls; en canvi, durant l'atac migranyós, es produïa un augment molt significatiu dels nivells de 5HT mentre que els nivells de 5HIAA disminuïen (Ferrari et al. 1989; Nagata et al. 2006; Izzati-Zade 2008). Per altra banda es va observar un increment de la concentració de 5HIAA en orina durant atacs migranyosos. Es pensa que aquestes alteracions dels nivells de 5HT en plasma i orina reflecteixen una disfunció no només a nivell de plaquetes, sinó també a nivell cerebral. Estudis de neuroimatge amb PET van demostrar un augment de la capacitat de síntesi de 5HT a totes les regions del cervell en pacients migranyosos en comparació als controls (Chugani et al. 1999). També s'ha descrit un augment de la concentració de 5HIAA en líquid cefalorraquidi (Kovacs et al. 1989). Totes aquestes dades van portar a formular la hipòtesi que nivells baixos de serotonina podrien estar a la base bioquímica de l'etiologia de la migranya, i que un sobtat alliberament de 5HT formaria part dels esdeveniments desencadenants que culminen en l'atac migranyós (Ferrari i Saxena 1993).

Un estudi en rates ha mostrat que la depleció de 5HT augmenta l'excitabilitat del còrtex cerebral i la sensibilitat del nucli caudat trigeminal. Així, nivells baixos de 5HT

predisponeu a la CSD en rates, però aquestes troballes encara no han estat confirmades en humans (Supornsilpchai et al. 2006).

Estudis recents realitzats en pacients en període interictal han permès identificar un augment de disponibilitat del SERT al tronc de l'encèfal, la qual cosa suggereix una desregulació del sistema serotoninèrgic a aquest nivell (Schuh-Hofer et al. 2007).

Diverses dades farmacològiques també recolzen la implicació de la 5HT en la migranya. En primer lloc, s'ha observat que fàrmacs que promouen l'alliberació de 5HT de neurones o plaquetes i alguns inhibidors de la recaptació de 5HT són capaços de provocar episodis migranyosos tant en pacients com en controls sense migranya però, de forma interessant, no es desenvolupen altres tipus de cefalees (Ferrari i Saxena 1993; Panconesi i Sicuteri 1997; Leone et al. 2000). Per altra banda, els triptans, els fàrmacs antimigranyosos més eficaços, són agonistes dels receptors 5HT_{1B/1D/1F} i actuen inhibint la transmissió nociceptiva, però també s'ha demostrat que exerceixen una retroalimentació negativa sobre la síntesi augmentada de 5HT al cervell (1991; Hargreaves 2007; Sakai et al. 2008).

Altres arguments a favor de la hipòtesi de la baixa disposició de 5HT són el resultat dels estudis fisiològics de potencials evocats (Hamel 2007). Es va identificar un augment de la dependència de la intensitat de l'amplitud dels potencials evocats auditius i visuals en pacients migranyosos entre episodis, una característica indicativa d'una baixa transmissió serotoninèrgica i d'un processament anòmal de la informació cortical (Hegerl i Juckel 1993). Aquest fenomen s'atribueix a un dèficit d'habitució cortical (Coppola et al. 2005). També es va observar que durant els atacs de migranya aquest dèficit d'habitució als potencials corticals evocats es normalitzava, tot suggerint un augment de l'excitabilitat cortical fins a nivells normals (Judith et al. 2000) (Hamel 2007).

3.2.3 Estudis d'associació de gens del sistema serotoninèrgic en la migranya

S'han dut a terme diversos estudis genètics centrats en gens que codifiquen proteïnes relacionades amb el sistema de transmissió serotoninèrgic per tal d'identificar factors de susceptibilitat a migranya en diferents poblacions. A la taula 8 es mostra un resum dels polimorfismes estudiats en aquestes publicacions. L'estudi dels gens *HTR1A*, *HTR1D*, *HTR2A*, *HTR2C*, *TPH*, *MAOA*, *MAOB* i *DDC* han donat majoritàriament resultats negatius tot i que en algun cas s'han identificat associacions, val a dir que en grups molt reduïts de pacients (referències a taula 8). En canvi, el gen *SLC6A4*, que codifica el SERT, presenta evidències més convincentes d'associació, encara que aquesta contribució no sempre es confirma (referències a taula 8).

L'estudi d'un SNP de l'intró 7 del gen *TPH* va detectar que la variant AA estava sotsrepresentada en un grup de migranyosos de Turquia, tot i que es pensa que la variant funcionalment rellevant està en LD amb aquesta (Erdal et al. 2007).

També es va identificar una tendència a l'associació entre la variació curta, menys eficient a nivell transcripcional, d'un VNTR de la regió promotora del gen *MAOA*, i el grup d'homes amb MO (Filic et al. 2005). No obstant, altres dos estudis també en població caucàsica d'aquesta mateixa variant van obtenir resultats negatius (Marziniak et al. 2004; Johnson i Griffiths 2005).

En població japonesa es va detectar que el risc de patir MA s'incrementava 6 vegades entre els individus homozigots Ser/Ser per una variació no sinònima situada al codó 23 del gen *HTR2A* (Kusumi et al. 2004). Aquest resultat discrepa respecte als obtinguts en quatre poblacions d'origen caucàsic, però es va suggerir que aquestes diferències podrien explicar-se per variacions ètniques (Burnet et al. 1997; Johnson et al. 2003b; Racchi et al. 2004; Oterino et al. 2007a). La meta-anàlisi de tots aquests resultats va concloure que els portadors de la variant Ser no presentaven un augment de risc de patir MA (mostres agrupades OR=1,1; 99% IC=0,8-1,5; P=0.499) (Oterino et al. 2007a).

S'ha investigat reiteradament la participació de diferents polimorfismes del gen *SLC6A4* en el fenotip migranyós. Diversos estudis han associat la migranya amb la variant curta del polimorfisme 5HTTLPR que consisteix en una inserció (al·lel L) o deleció (al·lel S) de 44 pb a la regió promotora amb capacitat de modular l'expressió del gen, amb l'al·lel S associat a una reducció de l'eficiència de transcripció (Heils et al. 1996; Juhasz et al. 2003a; Borroni et al. 2005; Marziniak et al. 2005; Gonda et al. 2007). L'estudi més significatiu es va realitzar en població alemanya i va identificar una major freqüència de l'al·lel S en MA, però no en MO en comparació amb la població control (Marziniak et al. 2005). En canvi, hi ha d'altres estudis de tipus cas-control i familiars realitzats en diverses poblacions que no repliquen aquests resultats (taula 8). En estudis centrats en la variant 5HTTVNTR, una repetició en tàndem d'un element de 17 parells de bases (pb) en què la variant de 12 repeticions es va associar a una major transcripció (Lesch et al. 1994), s'ha descrit associació entre migranya, MA o MO i l'al·lel de 12 repeticions. En canvi en altres estudis no s'han obtingut resultats significatius, excepte en un treball amb pocs pacients en què la migranya estava associada al portadors de l'al·lel de 10 repeticions (taula 8). Finalment, un estudi de més de 450 pacients amb MA en què es van analitzar tres SNPs per permetien capturar la majoria de la variabilitat haplotípica del gen *SLC6A4* no va mostrar evidències d'associació amb aquest fenotip (Todt et al. 2006a).

Taula 8. Estudis d'associació a migranya realitzats en gens relacionats amb el sistema serotoninèrgic classificats per gens i polimorfismes estudiats (criteris IHCD).

Gen	Polimorfismes	Disseny estudi	N casos; N controls	Origen	Fenotip associat	Genotip o al·lel associat	Valor P	Referència	
SLC6A4	5-HTTLPR	CC	52 (29 MO, 23 MA); 80	Turquia	-	-	NS	(Yilmaz et al. 2001)	
		CC	151; 190	Japó	-	-	NS	(Kotani et al. 2002)	
		CC	126 (116 MO, 10 MA) dones; 101	Hungria	Migranya	s	0,049	(Juhász et al. 2003b)	
		CC	144 (92 MO, 52 MA); 105	Itàlia	MA	s/s	<0,05	(Borroni et al. 2005)	
		CC	52; 170	Korea	-	-	NS	(Kim et al. 2005)	
		CC	87 (49 MO, 38 MA) pediàtrics; 464	Hungria	-	-	NS	(Szilagyí et al. 2006)	
		CC	197 (101 MO, 96 MA); 115	Alemanya	MA	s/s, s	0,006, <0,005	(Marziniak et al. 2005)	
		CC	97 MO, dones; 100	Korea	-	-	NS	(Park et al. 2006)	
		CC	472 MA; 506	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2006a)	
		CC	45 MO; 54	Hungria	MO	portadors	0,035	(Gonda et al. 2007)	
		BF	212 famílies (153 MO; 59 MA)	Àustria	-	-	NS	(Karwautz et al. 2007)	
		CC	266 (173 MO, 94 MA, 18 MO+MA); 133	Dinamarca	MO, MA	112/12, ↓ portadors	10	0,031, 0,017	(Ogilvie et al. 1998)
		BF, CC	82 famílies, 177 (79 MO, 98 MA); 182	Austràlia	-	-	NS	(Lea et al. 2000)	
		CC	52 (29 MO, 23 MA); 80	Turquia	Migranya	portadors	10	0,01	(Yilmaz et al. 2001)
		CC	44 MA; 48	Itàlia	MA	portadors	12	0,03	(Racchi et al. 2004)
CC	87 (49 MO, 38 MA) pediàtrics; 464	Hungria	MA	12/12	0,0396	(Szilagyí et al. 2006)			
CC	97 MO, dones; 100	Korea	MO	12/12, 12	0,017, 0,013	(Park et al. 2006)			
BF	212 famílies (153 MO; 59 MA)	Àustria	-	-	NS	(Karwautz et al. 2007)			
rs1042173	CC	269 MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2006a)		
rs140700	CC	269 MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2006a)		
rs2020942	CC	269 MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2006a)		
HTR1A	promotor -1019 C>G	CC	102; 93	Xina	-	-	NS	(Yang et al. 2006)	
HTR1B	rs6296, c.861G>C	CC	44 MA; 48	Itàlia	-	-	NS	(Racchi et al. 2004)	
	c.-261T>G	CC	44 MA; 48	Itàlia	-	-	NS	(Racchi et al. 2004)	
HTR1D	rs6300 (Snp94)	CC	Pop1 → 496 (286 MO, 210 MA); 299 Pop2 → 592 (425 MO, 167 MA); 466	Estats Units	MA	-	0,003	(McCarthy et al. 2001)	
		CC		Estats Units	-	-	NS		

HTR2A	Mspl pol, D13S126	BF, CC	3 famílies (36 afectats); 96; 91	Englaterra	-	exclusió del loci, -	NS	(Nyholt et al. 1996)
	rs6313, c.102C>T	CC	61 (24 MO, 57 MA); 44	Turquia	MA, MO	C/C, portadors de T	0,02, <0,006	(Erdal et al. 2001)
		CC	126 (116 MO, 10 MA) dones; 101	Hungria	-	-	NS	(Juhasz et al. 2003a)
HTR2C	rs6318, c.68G>C p.C23S	CC	242 (151 MO, 73 MA, 18 MO+MA); 129	Dinamarca	-	-	NS	(Burnet et al. 1997)
		CC	2 famílies, 275; 275	Austràlia	-	-	NS	(Johnson et al. 2003b)
		CC	116 (81 MO, 35 MA); 279	Japó	MA	Ser/Ser	0,03	(Kusumi et al. 2004)
		CC	44 MA; 48	Itàlia	-	-	NS	(Racchi et al. 2004)
		CC	335 (151 MO, 184 MA); 335	Espanya	-	-	NS	(Oterino et al. 2007a)
MAOA	3'UTR	BF, CC	2 famílies, 275; 275	Austràlia	-	-	NS	(Johnson et al. 2003b)
	VNTR regió promotora	CC	119 (57 MO, 62 MA); 119	Alemanya	-	-	NS	(Marziniak et al. 2004)
		CC	275 (121 MO, 78 MA); 275	Austràlia	-	-	NS	(Johnson i Griffiths 2005)
MAOB	1460 T>C	CC	110 (80 MO; 30 MA); 150	Croàcia	MO homes	3	0,042	(Filic et al. 2005)
	rs1799836	CC	101 MO; 117; 103 CDHDA	Itàlia	-	-	NS	(Cevoli et al. 2006)
		CC	110 (80 MO; 30 MA); 150	Croàcia	-	-	NS	(Filic et al. 2005)
DDC	rs3837091, 4 bp indel	CC	275 (121 MO, 78 MA); 275	Austràlia	-	-	NS	(Johnson i Griffiths 2005)
	rs4947535, rs730092	CC	Pop 1 → 270MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2009)
	rs1451371, rs11575404,	CC	Pop 2 → 380MA; 380	Alemanya	-	-	NS	
	rs4948225, rs1470750,	CC	Pop 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	/Regne Unit	-	-	NS	
	rs2167363, rs998850,	CC	rs2329371, 2329341		-	-	NS	
TPH	-7065 C>T promotor	CC	275 (121 MO, 78 MA); 275	Austràlia	-	-	NS	(Johnson i Griffiths 2005)
	intró 7 A218C	CC	59 (40 MO; 19 MA); 62	Turquia	Migranya	absència de A/A	0,01	(Erdal et al. 2007)

CC: cas-controls, BF: basat en famílies, NS: no significatiu, MO: migranya sense aura, MA: migranya amb aura, pop: població SLC6A4; transportador de serotonina (solute carrier family 6 member 4), HTR: receptor de serotonina, MAO: monoamino oxidasa, DDC: dopa decarboxilasa, TPH: triptòfan hidroxilasa.

Un estudi recent molt exhaustiu centrat en gens relacionats amb el sistema dopaminèrgic estudia la participació del gen *DDC* en la susceptibilitat a MA analitzant 10 SNPs distribuïts al llarg del gen, sense detectar evidències d'associació entre aquests SNPs i la MA (Todt et al. 2009).

Totes aquestes dades suggereixen que és necessari un estudi simultani i més exhaustiu de tots aquests gens per tal de d'aclarir la seva participació en el fenotip migranyós.

3.3 El sistema dopaminèrgic i la migranya

3.3.1 El sistema dopaminèrgic

La dopamina (DA) és un neurotransmissor que forma part del grup de les catecolamines, que també inclou la noradrenalina i l'adrenalina. La DA actua com a neuromodulador tot alterant la resposta a altres neurotransmissors de les neurones diana, i també pot regular l'activitat de canals iònics dependents de voltatge (Girault i Greengard 2004). Els cossos neuronals de les neurones dopaminèrgiques que innerven els nuclis caudats i putamen estan localitzats a la substància negra, mentre que les neurones que innerven l'estriat i el còrtex prefrontal estan a l'àrea ventral del tegment (figura 8; Girault i Greengard 2004; Iversen i Iversen 2007). La DA té un paper fonamental en molts aspectes del comportament, des del control motor a la regulació d'emocions, cognició, conducta, motivació i recompensa entre d'altres (Bjorklund i Dunnett 2007).

La síntesi de DA s'inicia amb la conversió de fenilalanina a tirosina mitjançant la fenilalanina hidroxilasa (PAH). A continuació, la tirosina hidroxilasa (TH) oxida la tirosina convertint-la en L-dihidrofenilalanina (L-DOPA) en el pas limitant de la producció de DA, noradrenalina i adrenalina al cervell. La L-DOPA és convertida a DA via la descarboxilasa d'aminoàcids aromàtics (AADC o DDC) que al seu torn és convertida en noradrenalina per la dopamina β hidroxilasa (DBH). Hi ha 5 tipus de receptors de DA amb diferents propietats estructurals i farmacològiques. S'agrupen en dues categories: els similars al receptor D1, que activen l'adenilat ciclase (receptors D1 i D5) i els similars a receptor D2, que inhibeixen la formació d'AMPc (receptors D2, D3 i D4) (Girault i Greengard 2004). El transportador de dopamina (DAT) s'encarrega de la recaptació de la DA, que pot ser degradada alternativament pels enzims catecol-O-metil transfera (COMT) o monoamina oxidasa (MAO).

Alguns trastorns neurològics o psiquiàtrics s'han associat a anomalies en la via de senyalització dopaminèrgica com la malaltia de Parkinson, l'addicció a drogues, el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat o l'esquizofrènia, entre d'altres. La

manifestació clínica és diferent en funció del tipus d'alteració (dèficit o guany de DA) i de la localització anatòmica de la disfunció.

3.3.2 Participació del sistema dopaminèrgic en la migranya

La teoria dopaminèrgica en la fisiopatologia de la migranya fou plantejada l'any 1977 per Sicuteri (Sicuteri 1977). Aquesta proposava que la cefalea i els símptomes acompanyants de la migranya com les nàusees, vòmits i canvis de pressió sanguínia podrien estar causats per una hipersensibilitat de receptors monoaminèrgics en certes regions del cervell. No obstant, les evidències que s'han anat obtenint al llarg dels anys a favor d'aquesta hipòtesi no són prou concloents.

L'observació que l'administració d'apomorfina, un agonista de la dopamina, feia augmentar els badalls, nàusees i vòmits, així com l'aparició de cefalees, en pacients amb migranya respecte a controls, recolzava en principi una hipersensibilitat a dopamina fins i tot entre episodis (Peroutka 1997). Aquests resultats s'han de considerar amb precaució a causa del disseny dels experiments, el nombre reduït de pacients i seva realització anterior a l'establiment dels criteris ICHD (Mascia et al. 1998). Les dades bioquímiques sobre el contingut de DA en fluids corporals de migranyosos són escasses i contradictòries (Mascia et al. 1998).

Estudis recents en ratolí i rata mostren la presència de receptors de DA del tipus D1 i D2 en el gangli trigemin. També mostren que la DA pot tenir un potent efecte inhibitor, reversible, de la taxa de descàrrega neuronal de neurones activades a la dura, modulant així l'activitat trigeminovascular (Akerman i Goadsby 2007). Aquestes dades quadren bé amb una disfunció de la modulació dopaminèrgica en la fase premonitòria de la migranya, que seria responsable d'alguns dels símptomes com per exemple el malestar. Les neurones centrals que contenen DA podrien jugar un paper en la modulació de la nocicepció trigeminovascular (Bergerot et al. 2007).

La DA i els agonistes dels receptors de DA tenen un efecte vasoactiu en els vasos sanguinis *in vitro* i *in vivo*, tot induint vasoconstricció o vasodilatació en funció de l'espècie, el vas sanguini i la dosi. Però hi ha dades experimentals que indicarien que aquests canvis estan causats principalment per l'activació dels receptors α_2 -adrenèrgics i en menor grau pels receptors de dopamina D1 (Akerman i Goadsby 2005).

També a nivell farmacològic s'ha vist que antagonistes dels receptors de DA poden prevenir les nàusees que acompanyen els atacs migranyosos i corregir la possible hipersensibilitat del cervell a la DA, tot provocant una reducció de la severitat i

l'ocurrència d'episodis. Però a causa de la baixa selectivitat d'aquestes substàncies no es pot descartar la seva acció sobre altres receptors (Akerman i Goadsby 2005).

3.3.3 Estudis d'associació realitzats en gens del sistema dopaminèrgic

El primer estudi que relaciona gens del sistema dopaminèrgic amb la fisiopatologia de la migranya va detectar que la freqüència del genotip C/C del polimorfisme *NcoI* (rs6275) del gen *DRD2*, que codifica el receptor D2 de DA, estava augmentada en pacients amb MA (0,84) comparat amb pacients amb MO (0,71) o controls (0,70) (Peroutka et al. 1997). L'estudi d'aquest mateix marcador en una altra població va mostrar també una tendència en el grup de MA quan es van analitzar conjuntament les dues poblacions estudiades (McCarthy et al. 2001). Tres treballs independents posteriors en què s'analitza aquest marcador i dos polimorfismes més no van detectar associació amb el fenotip migranyós (referències a taula 9). Un estudi d'especial interès de tipus TDT va detectar associació entre un microsatèl·lit de d'intró 1 del gen *DRD2* i un grup de pacients amb 'síntomes dopaminèrgics', caracteritzats per la presència de nàusees i badalls durant l'atac (Del Zompo et al. 1998).

En població australiana es va detectar que una variant del gen *DBH* que implica una reducció de l'activitat enzimàtica, incrementava 1,7 vegades el risc de desenvolupar migranya, i 2 vegades el de MA (Fernandez et al. 2006). En un treball anterior no s'havia detectat ni per estudis cas-control poblacionals ni familiars. No obstant, havien detectat associació a una altra variant en LD (Lea et al. 2000).

En avaluar la possible participació del gen *DRD4* en la migranya es van identificar diferències en la distribució al·lèlica d'una variació de tipus VNTR amb una unitat de repetició de 48 pb en el grup de MO i els controls (Mochi et al. 2003b). L'anàlisi d'aquest mateix marcador en 190 trios va donar resultats similars, amb l'al·lel 7 del VNTR menys transmès de pares a fills del que s'esperaria (de Sousa et al. 2007).

Recentment s'ha publicat un treball molt exhaustiu en relació al nombre de polimorfismes seleccionats i de pacients, centrat en 10 gens del sistema dopaminèrgic. En aquest cas s'identifiquen SNPs de susceptibilitat a MA en els gens *DBH* i *SLC6A3* de forma robusta, i s'obtenen resultats suggerents pel gen *DRD2* (Todt et al. 2009).

Diversos treballs centrats en variants dels gens *DRD1*, *DRD3*, *DRD5*, *TH* o *COMT* no han permès identificar variants de susceptibilitat a migranya (referències a taula 9).

Taula 9. Estudis d'associació a migranya realitzats en gens relacionats amb el sistema dopaminèrgic classificats per gens i polimorfismes estudiats (criteris ICHD).

Gen	Polimorfismes	Disseny estudi	N casos; N controls	Origen	Fenotip associat	Genotip o al·lel associat	Valor P	Referència
DRD1	12861 (<i>Bsp</i> , 3'UTR)	CC	275 (116 MO, 159 MA); 275	Austràlia	-	-	NS	(Shepherd et al. 2002)
	rs4532 (<i>Ddel</i> , -48A>G)	BF	100 MO trios (17 MO+pànic)	Sardenya	-	-	NS	(Stochino et al. 2003)
	rs686	CC	Pob 1 → 270MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2009)
	rs5326		Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya / Regne Unit	-	-	NS	
DRD2	rs6275 (<i>NcoI</i> , exó 6)	CC	129 (77 MO, 52 MA); 121	Estats Units	MA	C/C al·lel C	<0,007 <0,005	(Peroutka et al. 1997)
		BF, CC	82 families; 177 (79 MO, 98 MA), 182	Austràlia	-	-	NS	(Lea et al. 2000)
		CC	Pop1 → 496 (286 MO, 210 MA); 299 Pop2 → 592 (425 MO, 167 MA); 466 Pop 1+2	Estats Units	-	-	NS	(McCarthy et al. 2001)
		BF	100 MO trios (17 MO+pànic)	Sardenya	-	-	NS	(Stochino et al. 2003)
		CC	63 MO; 48 MA	Itàlia	MO vs MA	-	NS	(Rebaudengo et al. 2004)
	(TG)n (intró 1)	BF	50 MO trios (23 'dopaminèrgics')	Sardenya	'dopaminèrgics'	al·lel 1	0,02	(Del Zompo et al. 1998)
		BF	100 MO trios (17 MO+pànic)	Sardenya	-	-	NS	(Stochino et al. 2003)
	Ins/del (-141 promotor)	CC	200 (50 MO, 150 MA); 464 cont	Regne Unit	-	-	NS	(Maude et al. 2001)
	rs6279, rs2587548,	CC	Pob 1 → 270MA; 272	Alemanya	rs7131056 MA	al·lel A	0,0023	(Todd et al. 2009)#
	rs7125415, rs4581480,		Pob 2 → 380MA; 380	Alemanya	-	-	NS	
	rs7131056		Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	/Regne Unit	-	-	0,0018, ns	
	DRD3	<i>Ball</i> (exó 1)	BF	50 MO trios (23 'dopaminèrgics')	Sadinita	-	-	NS
		CC	275 (116 MO, 159 MA); 275 cont	Austràlia	-	-	NS	(Shepherd et al. 2002)
		BF	100 MO trios (17 MO+pànic)	Sardenya	-	-	NS	(Stochino et al. 2003)
rs963468		CC	Pob 1 → 270MA; 272	Alemanya	-	-	NS	(Todd et al. 2009)
rs167770		Pob 2 → 380MA; 380	Alemanya	-	-	NS		
rs10934256		Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	/Regne Unit	-	-	NS		

DRD4	48 bp VNTR (exon III)	BF	50 MO trios (23 'dopaminèrgics')	Sardenya	-	NS	(Del Zompo et al. 1998)	
		CC	194 (101 MO, 93 MA); 117	Itàlia	al·lel 4	0,0002	(Mochi et al. 2003b)	
		CC	101 MO; 117 controls; 103 CDHDA	Itàlia	MO vs Cont MO vs CDHDA al·lel 4	0,0002 0,0030	(Cevoli et al. 2006)	
	rs3758653	BF	190 families (145 MO, 45 MA)	Àustria	deficit al·lel 7	0,01	(de Sousa et al. 2007)	
		CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	NS	(Todd et al. 2009)	
		CC	275 (116 MO, 159 MA); 275	Austràlia	-	NS	(Shepherd et al. 2002)	
DRD5	Microsatèl·lit	BF	100 MO trios (17 MO+patric)	Sardenya	-	NS	(Stochino et al. 2003)	
		CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	NS	(Todd et al. 2009)	
		CC	62 (29 MO, 33MA) ;64	Turquia	Migranya	Portadors al·lel G	0,013	(Emin Erdal et al. 2001)
COMT	p.Val158Met (G>A)	CC	101 MO; 117 contr; 103 CDHDA	Itàlia	-	NS	(Cevoli et al. 2006)	
		CC	982; 1469	Noruega	-	NS	(Hagen et al. 2006)	
		CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	NS	(Todd et al. 2009)	
DBH	(AC)n %	BF, CC	82 families; 177 (79 MO, 98 MA); 182	Austràlia	Migranya Migranya	Deficit al·lel 3 Overall distribution	0,035 0,019	(Lea et al. 2000)
		CC	194 (101 MO, 93 MA); 117	Itàlia	-	NS	(Mochi et al. 2003b)	
		CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	NS	(Todd et al. 2009)	
	In/del 19 bp %&	BF, CC	82 families; 177 (79 MO, 98 MA); 182	Austràlia	-	NS	(Lea et al. 2000)	
		CC	275 (103 MO, 166 MA); 275	Austràlia	MA	Del/del	0,003	(Fernandez et al. 2006) [#]
		CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	NS	(Todd et al. 2009) [#]	

DBH	rs1611115 (-1021C>T) [§]	CC	Pob 1 → 200;200 Pob 2 → 300;300	Austràlia	Migranya	Al·lel C Al·lel C	0,004 0,013	(Fernandez et al. 2009)	
	rs1108580 (A>G, exon2)	CC	275 (103 MO, 166 MA); 275	Austràlia	-	-	NS	(Fernandez et al. 2006) [#]	
	rs6271	CC	Pob 1 → 200;200 Pob 2 → 300;300	Austràlia	-	-	-	(Fernandez et al. 2009)	
	rs1076153, rs2797849, rs3025388, rs2007153, rs1108581, rs2873804, rs1541332, rs2797853, rs2097629, rs1611131, rs129882,	CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	rs2097629 MA	al·lel G	0,0009 NS 0,0012/5,6e-8	(Todd et al. 2009)	
	SLC6A3	40 pb VNTR (3'UTR)	CC	194 (101 MO, 93 MA); 117	Itàlia	-	-	NS	(Mochi et al. 2003b)
			CC	101 MO; 117 controls; 103 CDHDA	Itàlia	MO vs CDHDA	10/10 al·lel 10	0,008 0,002	(Cevoli et al. 2006)
		VNTR (intró 8)	BF	209 trios (149 MO, 56 MA)	Àustria	-	-	NS	(Karwautz et al. 2008)
			CC	550 (149 MO, 401 MA); 550	Austràlia	-	-	NS	(McCallum et al. 2007)
		BF	209 trios (149 MO, 56 MA)	Àustria	-	-	NS	(Karwautz et al. 2008)	
	VNTR (intró 14)	BF	209 trios (149 MO, 56 MA)	Àustria	-	-	NS	(Karwautz et al. 2008)	
	rs40184, rs27048, rs37022, rs37020, rs463379, rs403636, rs3756450, rs2078247	CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	rs40184 MA	al·lel A	NS 0,0018 0,0082/6,3e-7	(Todd et al. 2009) [#]	
	TH	CC	Pob 1 → 270MA; 272 Pob 2 → 380MA; 380 Pob 1+2 → 650 MA; 650 i 2937cont	Alemanya Alemanya /Regne Unit	-	-	NS	(Todd et al. 2009)	

CC: cas-controls, BF: basat en famílies, NS: no significatiu, MO: migranya sense aura, MA: migranya amb aura, CDHDA: cefalea crònica diària per abús de fàrmacs, CC: cas-control, BF: basat en família, pob: població; DRD: receptor de dopamina, COMT: catecol-O-metiltransferasa, DBH: dopamina beta-hidroxiilasa, SLC6A3: transportador de dopamina (solute carrier family 6 member 3), TH: tirosina hidroxiilasa, # anàlisi d'haplòtíps, %[§] presència de cert desequilibri de lligament

3.4 Control de la neurosecreció: participació en la migranya?

3.4.1 Generalitats

L'exocitosi sinàptica és un tipus de fusió de membranes molt finament regulada i d'alta complexitat que requereix una sincronització temporal i espacial molt precises (Rizo i Rosenmund 2008). Les vesícules sinàptiques estan fixades a la membrana en prevenció d'una fusió prematura en absència de calci. En arribar un potencial d'acció a la zona presinàptica, es produeix una entrada de calci a través dels canals dependents de voltatge i s'alliberen neurotransmissors de forma extremadament ràpida. (Carr i Munson 2007). Anys d'investigació han permès identificar diversos components implicats en l'alliberament de neurotransmissors entre els quals hi ha proteïnes que participen en mecanismes generals de transport, connexió i fixació a membrana (per exemple Munc18-1, Munc13, RIM, sinaptofisina, Rab3), de fusió (sinaptobrevina, syntaxina, SNAP25) i reciclatge (NSF, α SNAP), així com altres proteïnes especialitzades amb funcions de control de l'exocitosi (sinaptotagmina, complexina) (Carr i Munson 2007; Rizo i Rosenmund 2008; figura 9).

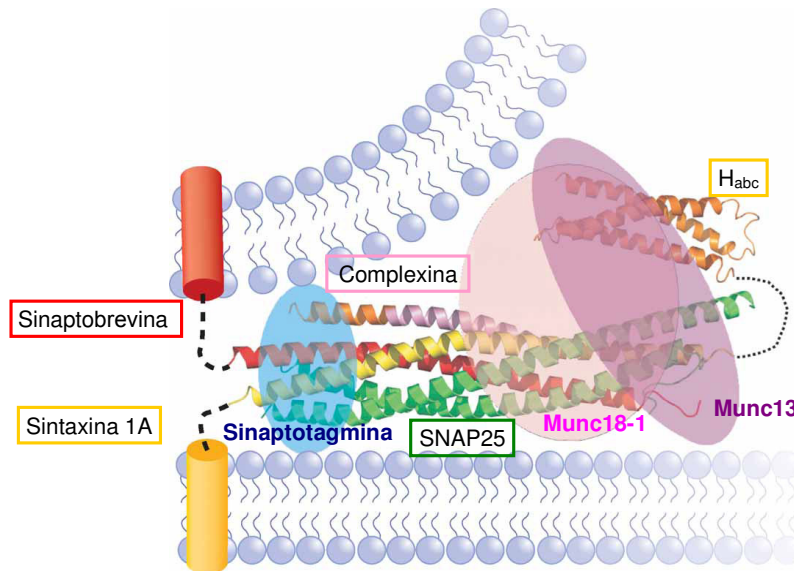


Figura 9. Esquema de les proteïnes que participen en l'exocitosi sinàptica. Les hèlix representen les estructures del complex complexina I - complex SNARE, les úniques interaccions per les quals s'ha determinat l'estructura atòmica, els noms d'aquests components estan enquadrats. Els punt d'unió de les altres proteïnes representades per formes ovalades no es coneixen amb exactitud, els noms d'aquests components en negreta. Totes aquestes interaccions podrien ser compatibles, mutualment excloents, o parcialment competitives. Figura adaptada de (Rizo i Rosenmund 2008).

Els efectors en la fusió de membranes són les proteïnes del complex SNARE. Aquestes proteïnes es caracteritzen per la presència d'una seqüència de 60-70 aminoàcids de llargada, anomenada motiu SNARE (*Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor Attachment protein REceptor*), que presenta un patró heptamèric de

residus hidrofòbics que formen una hèlix α amfipàtica en què els residus se situen al mateix costat per formar el nucli del complex SNARE. Els motius SNARE tenen tendència a agrupar-se per formar un nucli de quatre hèlixs paral·leles amb els residus hidrofòbics orientats a l'interior (figura 9). La formació d'aquesta estructura és progressiva i comporta canvis conformacionals. S'inicia a la regió N-terminal i va prosseguint en direcció proximal a la membrana aproximant vesícula sinàptica i membrana, tot fent de pont entre elles. S'anomena transSNARE quan les proteïnes del complex estan ancorades a membranes aposades i cisSNARE quan estan unides a la mateixa membrana (Sollner 2003; Ungar i Hughson 2003; Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008; Yoon i Shin 2008).

El plegament de les proteïnes durant la formació de diversos complexos SNARE (entre 3 i 17) disposats formant un anell al voltant del punt de fusió, aporta energia que excedeix la requerida per a la fusió de membranes. Tot i això, es necessiten elements reguladors molt precisos per estabilitzar estadis intermediaris i assistir el complex SNARE perquè completi la reacció de fusió en el moment i lloc precís (Carr i Munson 2007; Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008; Yoon i Shin 2008). Els complexos SNARE en estat post-fusió estan completament plegats i presenten tots els motius SNARE localitzats a la mateixa membrana (cis-SNARE), són extremadament estables i s'han de disgregar per poder tornar-se a reutilitzar (Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008).

3.4.2 Principals mecanismes efectors i reguladors de la fusió de vesícules sinàptiques

La hipòtesi d'esdeveniments cronològics proposada a partir dels coneixements experimentals actuals s'esquematitza a la figura 10 i compta amb la participació de múltiples elements reguladors (Malsam et al. 2008).

La distribució de vesícules de fusió a diferents subdominis de la membrana està regulada per proteïnes d'unió (*tethers*) que contribueixen a l'especificitat de la fusió (Malsam et al. 2008). Aquestes proteïnes estableixen el lligam físic entre el transport de vesícules i la membrana diana específica (Sollner 2003).

La regió N-terminal de la syntaxina 1 conté un domini de regulació (domini Habc, figura 9 tres hèlix color taronja) que en plegar-se sobre el seu propi domini SNARE, adoptant una conformació 'tancada', impedeix la formació de complexos (figura 10-A). Una de les funcions de Munc18-1 pròpia d'exocitosi consisteix en estabilitzar aquesta conformació de la syntaxina 1, bloquejant la unió de SNAP25. Després d'un canvi de conformació tant de Munc18-1 com possiblement de syntaxina 1, Munc18-1 esdevé facilitador de l'agrupament del complex SNARE i també estabilitzador, tot impeding-ne

Introducció

la disgregació (Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008). Finalment, s'ha suggerit que Munc18-1 podria intervenir de forma directa específicament en la fusió de SNAREs neuronals (Rizo i Rosenmund 2008; Yoon i Shin 2008).

La preparació de vesícules (*priming*) controla la disponibilitat de vesícules per a la immediata fusió, tot preparant i situant les vesícules en zones presinàptiques actives properes a zones denses de terminals postsinàptics aposades (figura 10-B; Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008).

En l'exocitosi sinàptica, la disponibilitat de complexos SNARE en formació és indispensable pel ràpid alliberament de neurotransmissors i sembla que la formació dels transSNARE es pot aturar a diferents nivells. L'agrupament dels motius SNARE requereix en primer lloc la formació d'un heterodímer de t-SNARE (de l'anglès *target*) sintaxina 1-SNAP25. A continuació es va unint progressivament sinaptobrevina/VAMP associat a la vesícula (v-SNARE), per formar el grup de 4 hèlixs α , on SNAP25 n'aporta dues, que forma el nucli del complex (figura 9, 10-C). Els complexos transSNARE estan ancorats a les dues membranes aposades: vesícula mitjançant sinaptobrevina/VAMP, i membrana sinàptica a través de sintaxina 1 (Ungar i Hughson 2003). Sincronitzar la iniciació de formació de múltiples complexos SNARE, i mantenir-los tots ells en fase és un requeriment estricte per a la formació eficient de la maquinària de fusió (Yoon i Shin 2008).

La fusió de les membranes de les vesícules sinàptiques ancorades a la zona activa està finament regulada per evitar l'alliberament de neurotransmissors en absència de senyals desencadenants, sobretot de l'augment de la concentració de Ca^{2+} intracel·lular causat per l'obertura dels canals de Ca^{2+} de la membrana plasmàtica (Malsam et al. 2008). Participen en aquest procés la sinaptotagmina, el sensor de Ca^{2+} i la complexina. Les complexines, també anomenades sinafines, presenten una funció dual d'inhibició i estimulació de la fusió. Formen una hèlix α que interacciona antiparal·lelament amb els motius SNARE de sinaptobrevina i sintaxina 1, estabilitzant transSNARE intermediaris, impeding la fusió i ancorant els complexos preformats a la membrana (figura 9 hèlix taronja-lila, figura 10-D; Carr i Munson 2007; Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008). Alternativament, estudis recents especulen que aquesta disposició és essencial per la funció estimuladora de la complexina, mentre que la funció inhibidòria consistiria en interaccions dèbils amb els t-SNAREs competint amb els v-SNARE (Yoon i Shin 2008). En qualsevol cas, un cop la sinaptotagmina s'ha unit a Ca^{2+} , la complexina potencia la seva acció sobre el complex SNARE, ja que l'entrada de calci és insuficient per desencadenar la fusió en absència de complexina (Carr i Munson 2007; Rizo i Rosenmund 2008). La sinaptotagmina 1 (o 2) localitzada a

les vesícules sinàptiques s'uneix als complexos v-t-SNARE en formació i actua com a sensor de calci. Quan ions de Ca^{2+} s'uneixen a sinaptotagmina, s'activa la interacció amb les membranes lipídiques i es produeixen reordenaments proteics que desencadenen finalment l'obertura del porus i la fusió de membranes (figura 10-E; Sollner 2003; Malsam et al. 2008; Wickner i Schekman 2008; Rizo i Rosenmund 2008; Yoon i Shin 2008).

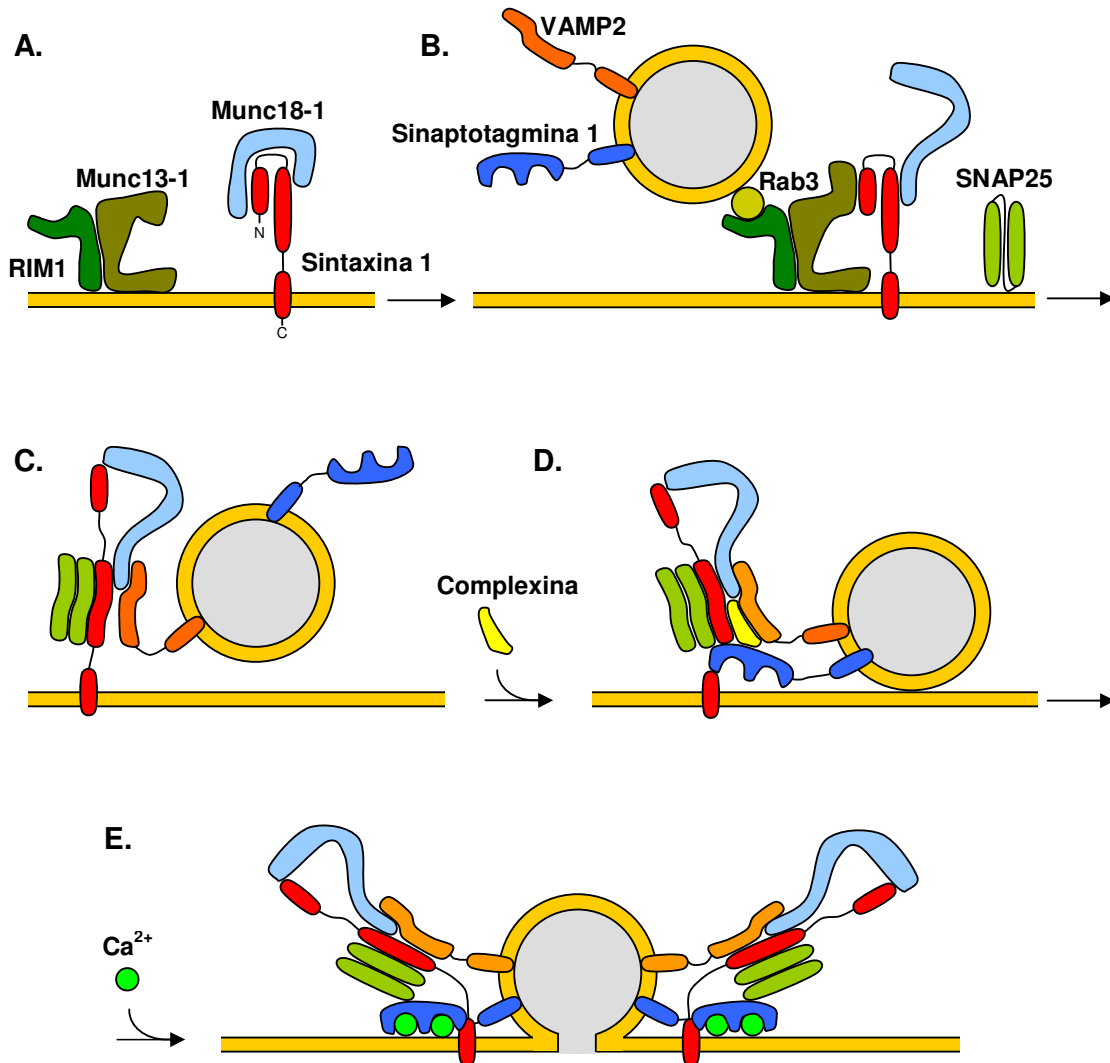


Figura 10. Model de preparació de vesícules i fusió desencadenada per calci en sinapsis neuronals amb els principals elements reguladors. (A) Munc18-1 unit a la conformació 'tancada' de la syntaxina 1. (B) L'ancoratge d'una vesícula sinàptica provoca la formació d'un complex format per Rab3, RIM1 i Munc13 que podria catalitzar la conversió de la syntaxina 1 a la conformació 'oberta'. (C) SNAP25 s'uneix a syntaxina 1 per formar el complex t-SNARE que esdevé objectiu per a VAMP2, localitzat a les vesícules sinàptiques, amb el resultat de la formació del SNAREpin (o trans-SNARE). (D) La complexina s'uneix als SNAREpin implicant el tancament del complex SNARE, i actuant així com a fixador. (E) En presència de calci, la sinaptotagmina allibera el clamp de la complexina tot desencadenant l'obertura del porus de fusió. Adaptada de (Malsam et al. 2008).

Introducció

Finalment, per poder ser reciclats/reutilitzats en una altra ronda de fusió, els complexos cisSNARE necessiten ser reactivats mitjançant la disgregació d'aquests complexos altament estables per NSF, que requereix adaptadors α SNAP per la unió als complexos SNARE, i la hidròlisi d'ATP per dissociar-los (Barszczewski et al. 2008; Malsam et al. 2008; Rizo i Rosenmund 2008). NSF i α SNAP tenen la funció de prevenir l'acumulació de complexos 'utilitzats', per assegurar una concentració suficient de proteïnes SNARE lliures per mantenir el trànsit de membranes (Barszczewski et al. 2008). Alguns estudis suggereixen que α SNAP pot tenir de forma aïllada una funció potencialment inhibidora de la fusió mitjançant la unió, independent de NSF, a sintaxines lliures (Barszczewski et al. 2008). També s'han proposat altres funcions per NSF: funció de xaperona estructural i modulació del trànsit de diferents tipus de receptors entre la membrana plasmàtica i l'endosoma. També s'ha suggerit que nivells baixos de NSF poden estar associats a epilèpsia (Zhao et al. 2007).

Els gens que codifiquen totes aquestes proteïnes són candidats potencials a participar en el fenotip migranyós en base a la hipòtesi de la hiperexcitabilitat cortical com a element iniciador de la CSD, així com al fet de que els gens responsables de FMH1, 2 i 3 (formes monogèniques de migranya) codifiquen canals implicats en la neurotransmissió sinàptica.

OBJECTIUS



OBJECTIUS

Aquest treball té per objectiu aprofundir en el coneixement dels factors genètics implicats en l'etiologia de les dues formes més comunes de migranya: migranya sense aura i migranya amb aura.

Objectius específics:

Creació d'un banc de mostres d'ADN de pacients migranyosos caracteritzats clínicament en base als criteris de la *International Headache Society* i de controls sense història personal ni familiar de cefalea.

Realització d'estudis d'associació genètica de tipus cas-control poblacionals entre la migranya i diversos sistemes de gens que codifiquen candidats funcionals a participar en la fisiopatologia d'aquest trastorn, seguint en general criteris de màxima cobertura genètica basada en patrons de desequilibri de lligament:

1. Receptors hormonals: Variants genètiques exòniques sinònimes del gen que codifica el receptor d'estrògens (*ESR1*) i una inserció *Alu* del gen del receptor de progesterona (*PGR*).
2. Neurotransmissió serotoninèrgica: Polimorfismes de tipus SNP de 19 gens que codifiquen enzims implicats en el metabolisme de la serotonina, el seu transportador i els seus receptors pre- i postsinàptics específics. La implicació d'aquesta via en la fisiopatologia de la migranya és àmpliament reconeguda.
3. Neurotransmissió dopaminèrgica: Polimorfismes de tipus SNP de 9 gens que codifiquen enzims implicats en el metabolisme de la dopamina, el seu transportador i els seus receptors pre- i postsinàptics específics. Hi ha evidències prèvies contradictòries sobre la participació d'aquesta via en la migranya.
4. Regulació de la neurosecreció sinàptica: Polimorfismes de tipus SNP de 15 gens que codifiquen proteïnes implicades en els mecanismes de regulació de la secreció de neurotransmissors a la sinapsi neuronal. Aquesta via no ha estat mai investigada en relació al fenotip migranyós.

