



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.
2016; 30 (1): 09 - 13
http://www.fusabil.org

Bilge KARA¹
Ebru MARZİOĞLU ÖZDEMİR²
Murat KARA³
Gökhan ÖZDEMİR⁴
Ayşe SÖZEN⁵
Kürşat KARGÜN⁶

¹Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Ruh Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Muğla, TÜRKİYE

²Erzurum Bölge Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Genetik,
Erzurum, TÜRKİYE

³Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Muğla, TÜRKİYE

⁴Atatürk Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Nöroloji Anabilim
Dalı, Erzurum, TÜRKİYE

⁵Muğla Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Nöroloji Bölümü,
Muğla, TÜRKİYE

⁶Fırat Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Hemşirelik Bölümü,
Elazığ, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 10.01.2016
Kabul Tarihi : 22.06.2016

Yazışma Adresi
Correspondence

Kürşat KARGÜN
Fırat Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Hemşirelik Bölümü,
Elazığ-TÜRKİYE

kargun_@hotmail.com.tr

Reelin Gen rs7341475 Polimorfizmi Auralı Migrenle İlişkilidir*

Amaç: Bu çalışmada auralı migren hastalarında Reelin gen polimorfizmleri incelenerek, Reelin gen ile migren hastalığı arasındaki ilişki araştırıldı. Migren vasküler baş ağrıları içinde en sık görülen, genetik ve çevresel komponentlerin etkili olduğu ve işgücü kaybına yol açan bir hastalıktır. İnsanlarda 7. kromozomda lokalize olan Reelin geni, santral sinir sisteminin gelişiminde önemli bir rol oynayan ekstraselüler bir matriks proteinini sentezler. Reelin genindeki herhangi bir mutasyon ya da ekspresyon değişikliklerinin nöropsikiyatrik hastalıklara zemin hazırladığı bilinmektedir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya migren tanısı almış 91 hasta ve 85 sağlıklı kontrol grubu alındı. Kişilerden alınan kanlardan DNA elde edildi ve rs7341475, rs362691, rs12705169 polimorfizmleri TaqMan problemleri kullanılarak RT-PCR ile çalışıldı.

Bulgular: Migren hastalarında tespit edilen rs7341475 polimorfizmi ve A alleli kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0.05$). Hastalarda görülen bulantı ile rs12705169 arasında ($P<0.05$), baş ağrısının ani ve yavaş başlaması ile de rs362691 arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi ($P<0.05$). Cinsiyet ve alışkanlıklar (sigara gibi) açısından üç SNP polimorfizminin genotip dağılımında fark gözlenmedi ($P>0.05$).

Sonuç: Çalışmamız Reelin genin rs7341475 polimorfizmi ve A alleli ile migren arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Migren, auralı migren, Reelin gen, polimorfizm

Reelin Gene RS7341475 Polymorphism is Associated with Migraine with Aura

Introduction: In this study, the association between Reelin gene polymorphism in patients with migraine with aura. Migraine is the most common vascular headache in which genetic and environmental components are acting and which leads to loss of labor force. Reelin gene localized on chromosome 7 synthesizes an extracellular matrix protein which plays a role in central nervous system development. Any mutations or altered expressions in reelin gene are known to precipitate neuropsychiatric diseases.

Methods: Ninety-one patients diagnosed with migraine and 85 healthy controls were included in the study. DNA was obtained in blood samples and rs7341475, rs362691, rs12705169 polymorphisms were studied with RT-PCR using TaqMan probes.

Results: rs7341475 polymorphism and A allele detected in migraine patients were statistically significant when compared with control group. There was a significant correlation between nausea and rs12705169 ($P<0.05$). It was found a significant association between sudden and slow onset of headache and rs362691 ($P<0.05$). A difference was not detected in genotype distribution of three SNP polymorphisms with regard to gender and habits (like smoking) ($P>0.05$).

Conclusion: Our study showed that there is a significant association between migraine and Reelin gene rs7341475 polymorphism and A allele.

Key Words: Migraine, migraine with aura, Reelin gene, polymorphism

Giriş

Migren, çoğunlukla başın bir tarafında zonklama tarzında ağrı yapan, ataklar halinde gelen, hastaların bir kısmında aura belirtileri bulunan primer bir baş ağrısı tipi olup, baş ağrısına nörolojik, gastrointestinal ve otonomik semptomların çeşitli kombinasyonlarının eşlik ettiği bir hastalıktır. Özellikle genç erişkinlerde görülen bu hastalık toplumsal hayata dair ciddi sosyal ve ekonomik sıkıntılara neden olur. Bu ağrılar sırasında kişinin bulantı ve kusması olabilmekte, hastaların bazılarında ağrı atağı öncesinde aura adı verilen fokal nörolojik semptomlar ortaya çıkmaktadır (1-3). Kompleks çok genli (poligenik) bir hastalık olarak kabul edilmekte ve özellikle auralı migrende genetik faktörlerin aurasız migrene göre daha fazla rolü olduğu konusunda

* 11. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 24-27 Eylül 2014, İstanbul TÜRKİYE.

çeşitli bulgular bulunmaktadır. Ancak sorumlu lokuslar ve yatkınlık genlerinin ne olduğu ve sayısı hakkında henüz kesin bilgiler bulunmamaktadır (4).

Reelin geni insanda 7. kromozomda lokalizedir (7q22) ve moleküler ağırlığı 388 kDa olan bir protein üretir. Reelin proteini embriyogenezis sırasında beyin tabakalarının gelişiminde rol alan bir ekstraselüler matriks glukoproteindir (5). Reelin geninin sinyal aktivasyonunun uzun dönem potansiyalizasyon regülasyonu, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu ve dentritik omurga morfogenezi gibi çeşitli etkileri vardır. Bunun yanında Reelinin erişkin nörogenezis sürecini olumlu yönde modüle ettiği gösterilmiştir. Erişkin süreçte hücre haberleşmesi ve nöroplastisiteden (omurga oluşumu ve sinaptogenezis) sorumludur (6, 7).

Nöron gelişiminde Reelinin rolü anlaşıldıktan sonra bipolar affektif bozukluk ve şizofreni gibi psikiyatrik hastalarda çalışılmalar başlamış ve diğer hastalıklarlada ilişkileri ortaya konmuştur (8-10). Özellikle otizm, majör depresyon, lizensefali, Alzheimer hastalığı ve epilepsi gibi çeşitli nöropsikiyatrik hastalıkların zemininde de reelin mutasyonlarının bulunduğunu gösteren kanıtlar ileri sürülmüştür (11).

Bu çalışmamızda toplumlar arası farklılıklar nedeniyle, her toplumun kendi genetik araştırmalarını yapması ve migren ile ilişkili olabilecek genlerin aydınlatılmasının spesifik tanı ve tedavi açısından önem taşıdığını düşünerek Reelin ve migren arasında ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma nöroloji ve psikiyatri polikliniğine başvuran klinik olarak auralı migren tanısı alan hastalarda Reelin gen polimorfizmi ile ilişkisini inceleyen bir araştırmadır. Muğla Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Çalışmaya Uluslararası Baş Ağrısı Derneđi (International Headache Society, IHS) tarafından belirlenmiş kriterlere göre auralı migren tanısı konulan 91 hasta ve baş ağrısı şikayeti olmayan, yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuna benzer 85 sağlıklı kontrol grubu alındı.

Genotipleme: Hasta ve kontrol grubundan 2 cc EDTA (Etilenediaminetetraasetik asit)'lı tüplere kan alındı. Kanlar DNA saflaştırması yapıncaya kadar -20°C'de saklandı. Daha sonra DNA izolasyon protokolleri kullanılarak (PureLink® Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen, Carlsbad, CA 92008 USA) DNA'lar izole edildi ve hedef SNP'ler rs7341475, rs362691, rs12705169, TaqMan problemleri kullanılarak ABI Prism StepOnePlus Real Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı.

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel analizler için Statistical Package for Social Science (SPSS) 20.0 programı kullanıldı. Analize dahil edilen değişkenlere ait verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov Smirnov Testi'yle analiz edilmiştir. Genetik dağılım Hardy Weinberg Denkliđi testi ile analiz edildi. Hastalar ve kontroller arasındaki genotipik ve allel dağılımlarının farklılıkları ki kare ve Fisher's exact testi ile, dağılımı normal olan numerik değerler ile genotipik ve allel gen dağılımlarının farklılıkları ise one-way anova ve proportion test kullanılarak değerlendirildi. Tüm istatistik testlerde P değerinin <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan 91 auralı migren hastanın %17.6'sı erkek, %82.4'i kadın idi. Olguların yaş ortalaması 20 (12-52) olarak hesaplandı. Kontrol grubunun ise %17.8'i erkek, 82.2%'i kadın idi. Olguların demografik verileri tablo 1'de özetlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında Reelin rs362691, rs734147 ve rs12705169 gen polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları Tablo 2' de, Haplotip analizi ise tablo 3'de verilmiştir. Bu polimorfizmlerden sadece rs734147 polimorfizm (P=0.037) istatistiksel olarak anlamlıydı. Ayrıca hasta ve kontrol gruplarındaki rs734147 polimorfizmin allel frekansları karşılaştırıldığında G allel'ine sahip olanlarda bir fark gözlenmez iken (proportion test, P=0.6778), A allel'ine sahip olanlarda anlamlı bir fark gözlemlendi (proportion test, P=0.000015). Cinsiyet ve alışkanlıklar (sigara, alkol gibi) açısından üç SNP polimorfizminin genotip dağılımında fark gözlenmedi (P>0.05). Bulantı ile rs12705169 arasında anlamlı fark vardı (P<0.05). Başlama hız parametresinde başlangıcın ani ve yavaş olması ile rs362691 arasında anlamlı fark vardı (P<0.05).

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri

Demografik özellikler		Hasta n (%)	Kontrol n (%)
Cinsiyet	Erkek	16 (17.6)	15 (17.8)
	Kadın	75 (82.4)	69 (82.2)
Yaş		18-83	19-59
		34±1.21	(35±9.49)
Medeni durumu	Evli	60 (65.9)	
	Bekar	26 (28.5)	
	Boşanmış	5 (5.6)	
Eğitim durumu	İlkokul	40 (44)	
	Ortaokul	14(15.4)	
	Kolej	25 (27.4)	
	Eğitimsiz	4 (4.4)	
	Mezun	8 (8.8)	
Alışkanlıklar	Sigara içen	20 (22)	
	NA	71 (78)	
Baş ağrısı	Tek taraflı	68 (74.7)	
	İki taraflı	23 (25.3)	
Atak zamanı	Sabah	23 (25.3)	
	Akşam	15 (16.4)	
	Gece	14 (15.4)	
	Uyurken	4 (4.4)	
	Değişken	35 (38.5)	
Bulantı	(+)	69 (75.8)	
	(-)	22 (24.2)	
Başlangıç hızı	Ani	30 (32.9)	
	Yavaş yavaş	61 (67.1)	

Tablo 2. Reelin rs362691, rs734147 ve rs12705169 gen polimorfizmleri Genotip ve allel dağılımları

	Genotip Allel	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	X ²	P
rs362691	GG	68 (0.747)	68 (0.810)	2.399	0.301
	GC	21 (0.231)	16 (0.190)		
	CC	2 (0.022)	0 (0.000)		
	G	157 (0.863)	152 (0.905)	1.498	0.220
	C	25 (0.137)	16 (0.095)		
rs7341475	GG	54 (0.587)	59 (0.694)	6.575	0.037
	GA	32 (0.348)	26 (0.306)		
	AA	6 (0.065)	0 (0.000)		
	G	140 (0.761)	144 (0.847)	4.137	0.041
	A	44 (0.239)	26 (0.153)		
rs12705169	TT	63 (0.700)	54 (0.635)	0.846	0.654
	TG	25 (0.278)	29 (0.341)		
	GG	2 (0.022)	2 (0.024)		
	T	151 (0.839)	137 (0.806)	0.653	0.418
	G	29 (0.161)	33 (0.194)		

P; Fisher'in p değeri

Tablo 3. Hasta ve kontrol grupları arasında Haplotip analizi

	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	X ²	P
C A T	11.59 (0.065)	4.06 (0.024)	3.285	0.069
G A G	6.36 (0.036)	3.45 (0.021)	0.695	0.404
G A T	26.01 (0.146)	18.48 (0.110)	0.937	0.332
G G G	22.60 (0.127)	27.88 (0.166)	1.134	0.286
G G T	98.03 (0.551)	102.18 (0.608)	1.420	0.233
C G T	13.36 (0.075)	10.27 (0.061)	0.239	0.624

Tartışma

Migren, periyodik, genellikle başın bir tarafına lokalize, nöbetlerde sıklıkla anoreksi, bulantı, kusma ve fotofobinin eşlik ettiği, şiddeti, sıklığı, lokalizasyonu ve devam etme süresi çok değişken olan, kronik bir baş ağrısı tipidir. Migren, kişilerin yaşam kalitesini olumsuz etkilediğinden, ekonomik ve sosyal boyutları olan önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Migren ataklarının patojenezinde vasküler, nörojenik, biyokimyasal ve trombositik nedenler ileri sürülsede patogeneze tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışmada Reelin gen ile auralı migren arasındaki ilişkiyi araştırdık ve auralı migreni olan hastalarla kontrol grubunu kıyasladığımızda rs 7341475 polimorfizmi ve A allellerinin auralı migrenli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olduğunu bulduk. Literatürlere bakıldığında migren ile reelin ilişkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamasından dolayı bu çalışma migren ile reelin arasındaki ilişkiyi değerlendiren ilk çalışma olması açısından büyük önem taşımaktadır. Nöronal gelişim sürecinde önemli bir role sahip olan reelin genindeki herhangi bir mutasyon ya da ekspresyon değişiklikleri nöropsikiyatrik hastalıklara zemin hazırladığı bilinmektedir (12).

Yapılan birçok çalışma (13-16) migrenin güçlü bir genetik komponente sahip olduğunu desteklemiştir. Linkage çalışmaları sonucu özellikle 15q11-q13 ve Xq28 gibi bazı kromozomal bölgeleri üzerinde durulmuştur. Migrenin genetik kökenini araştıran çalışmalar nörotransmitter, vasküler ve hormonal fonksiyon bozukluklarına odaklanmıştır. Nörotransmitter fonksiyon bozukluğu dopaminerjik ve serotonerjik sistemlerde araştırılmış ve D2 ve D4 dopamin reseptör gen polimorfizmlerinin aurasız migrenle ilişkili olduğu saptanmıştır (17, 18). Görsel auralı migrenin ailesel

kalıtımını gösteren, birden fazla kuşağı içeren Finli 50 ailenin geniş ölçekli genom taramasına dayanan bir çalışma, auralı migren fenotipiyle kromozom 4q24' de lokalize belirteç D4S1647 arasında kuvvetli bir bağlantı ortaya koymuştur (19).

Aşırı uyarılabilirliğe neden olan çeşitli mekanizmalar migren patofizyolojisi araştırmalarının ilgi odağı olmuştur. GABA reseptörlerinin migrenle ilişkisi hakkında yapılan bir araştırmada migrenli bireylerin gen ekspresyonları ile sağlıklı bireylerin gen ekspresyonlarına kantitatif PCR ile bakarak GABA reseptörlerinin migrende rol oynadığı ve migrenli bireylerde kontrollere göre GABRA3 ve GABBR2 ekspresyonlarının önemli bir düzeyde baskılanmış olduğu bulunmuştur (20).

Reelin beyin fonksiyonlarında ve gelişiminde önemli bir role sahiptir. Bu nedenle birçok çalışmada Reelin gen ekspresyonundaki varyasyonlar ve nöropsikiyatrik hastalıklarla olası bağlantıları çalışılmış ve çoğu çalışmalar sonucunda da önemli bulgular elde edilmiştir. Reelin gen rs7341475 ve rs 362719 polimorfizminin, özelliklede bayan cinsiyete sahip şizofreni hastalarında (21, 22), rs 12705169 polimorfizminin erkek cinsiyete sahip şizofreni hastalarında (23), rs362719 polimorfizmi bipolar bozuklukta (24) risk faktörü olabileceği tespit edilmiştir. Lizensefali, major depresif bozukluk, alzheimer hastalığı, otizm, epilepsi hastalıkları ile Reelin arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar mevcuttur (25, 26).

Sonuç olarak Reelin gen polimorfizmlerin tanımlanması ve genetik farklılığın tespit edilmesi, migren patofizyolojisini anlama ve kişiye özel tedavi oluşturma adına önemli katkılar sağlayabilir. Bu çalışmanın da migrenin patojenezine ve tedavisine ışık tutabileceği düşüncesindeyiz. Çalışmamız Reelin gen rs7341475 polimorfizmi ve A alleli ile migren arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Kaynaklar

1. Barbas NR, Schuyler EA. Heredity, genes, and headache. *Semin Neurol* 2006; 26: 507-514.
2. Ferrari MD. Migraine. *Lancet* 1998; 351: 1043-1051.
3. Lipton RB, Silberstein SD, Saper JR, Bigal ME, Goadsby PJ. Why headache treatment fails. *Neurology* 2003; 60: 1064-1070.
4. Ducros A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. The genetics of migraine. *Lancet Neurol* 2002; 1: 285-293.
5. DeSilva U, D'Arcangelo G, Braden VV, et al. The human reelin gene: isolation, sequencing, and mapping on chromosome 7. *Genome Res* 1997; 7: 157-164.
6. Kim HM, Qu T, Kriho V, et al. Reelin function in neural stem cell biology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 4020-4025.
7. Pujadas L, Gruart A, Bosch C, et al. Reelin regulates postnatal neurogenesis and enhances spine hypertrophy and long-term potentiation. *J Neurosci* 2010; 30: 4636-4649.

8. Fatemi SH, Earle JA, McMenomy T. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 654-663.
9. Torrey EF, Barci BM, Webster MJ, et al. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 252-260.
10. Folsom TD, Fatemi SH. The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology* 2013; 68: 122-135.
11. Seripa D, Matera MG, Franceschi M, et al. The RELN locus in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2008; 14: 335-344.
12. Fatemi SH1, Earle JA, McMenomy T. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 654-663.
13. Ozdemir G, Aygul R, Demir R, et al. Migraine prevalence, disability, and sociodemographic properties in the eastern region of Turkey: A population-based door-to-door survey. *Turk J Med Sci* 2014;44:624-9.
14. Wessman M, Kallela M, Kaunisto MA, et al. A susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 4q24. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 652-662.
15. Russell MB, Rasmussen BK, Fenger K, Olesen J. Migraine without aura and migraine with aura are distinct clinical entities: A study of four hundred and eighty-four male and female migraineurs from the general population. *Cephalalgia* 1996; 16: 239-245.
16. Stewart WF, Staffa J, Lipton RB, Ottman R. Familial risk of migraine: A population-based study. *Ann Neurol* 1997; 41: 166-172.
17. Russo L, Mariotti P, Sangiorgi E, et al. A new susceptibility locus for migraine with aura in the 15q11-q13 genomic region containing three GABA-A receptor genes. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 327-333.
18. Ghosh J, Pradhan S, Mittal B. Identification of a novel ANKK1 and other dopaminergic (DRD2 and DBH) gene variants in migraine susceptibility. *Neuromolecular Med* 2013; 15: 61-73.
19. Ghosh J, Pradhan S, Mittal B. Role of dopaminergic gene polymorphisms (DBH 19 bp indel and DRD2 Nco I) in genetic susceptibility to migraine in North Indian population. *Pain Med* 2011; 12: 1109-1111.
20. Plummer PN, Colson NJ, Lewohl JM, et al. Significant differences in gene expression of GABA receptors in peripheral blood leukocytes of migraineurs. *Gene* 2011; 490: 32-36.
21. Liu Y, Chen PL, McGrath J, et al. Replication of an association of a common variant in the Reelin gene (RELN) with schizophrenia in Ashkenazi Jewish women. *Psychiatr Genet* 2010; 20: 184-186.
22. Kuang WJ, Sun RF, Zhu YS, Li SB. A new single-nucleotide mutation (rs362719) of the reelin (RELN) gene associated with schizophrenia in female Chinese Han. *Genet Mol Res* 2011; 10: 1650-1658.
23. Li W, Song X, Zhang H, et al. Association study of RELN polymorphisms with schizophrenia in Han Chinese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011; 35: 1505-1511.
24. Goes FS, Willour VL, Zandi PP, et al. Sex-specific association of the Reelin gene with bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010; 153: 549-553.
25. Jonsson L, Zettergren A, Pettersson E, et al. Association study between autistic-like traits and polymorphisms in the autism candidate regions RELN, CNTNAP2, SHANK3, and CDH9/10. *Mol Autism* 2014; 5: 55.
26. Antoniadou D, Katopodi T, Pappa S, et al. The role of reelin gene polymorphisms in the pathogenesis of Alzheimer's disease in a Greek population. *J Biol Regul Homeost Agents* 2011; 25: 351-358.