

УДК 575.162:616.8

СВЯЗЬ АЛЛЕЛЯ Т ЗАМЕНЫ XR_928434.1:N.1748 + 4013T > C С МИГРЕНЬЮ, ПУЧКОВОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ГОЛОВНЫМИ БОЛЯМИ

¹Наумова Е.А., ²Азимова Ю.Э., ¹Кондратьева Н.С., ¹Анучина А.А., ^{2,3}Сергеев А.В.,
²Скоробогатых К.В., ¹Кокаева З.Г., ¹Рудько О.И., ^{2,3}Табеева Г.Р., ^{1,4}Климов Е.А.

¹Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва;

²Университетская клиника головной боли, Москва;

³Отдел неврологии НИЦ Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва;

⁴Университетская диагностическая лаборатория, Москва, e-mail: klimov_eugeney@mail.ru

В результате первого полногеномного ассоциативного исследования (GWAS) обычной мигрени обнаружена замена в регуляторной области гена MTDH (rs1835740, XR_928434.1:n.1748 + 4013T > C). Однако подтвердить данные GWAS на независимых выборках не удалось. Так же нет однозначного ответа о роли данной замены в формировании клинической картины различных форм мигрени. В нашем исследовании была оценена роль замены rs1835740 на клиническую картину различных форм мигрени (эпизодическая, хроническая), а также выявить специфичность данного маркера для мигрени по сравнению с другими формами головной боли (пучковая головная боль, хроническая головная боль напряжения). Нами не обнаружено влияния аллеля Т (rs1835740) на формирование клинической картины мигрени с аурой и мигрени без ауры. Также нами показано, что полиморфизм rs1835740 не оказывает влияния на хронификацию мигрени. Между тем, носительство аллеля Т является специфичным для пациентов с мигренью и пучковой головной болью, и не характерно для пациентов с хронической головной болью напряжения.

Ключевые слова: XR_928434.1:n.1748 + 4013T > C, MTDH, rs1835740, мигрень, аура, хроническая мигрень, пучковая головная боль, хроническая головная боль напряжения

THE CONNECTION OF THE T ALLELE OF SNV XR_928434.1:N.1748 + 4013T > C WITH MIGRAINE, CLUSTER AND CHRONIC HEADACHES

¹Naumova E.A., ²Azimova J.E., ¹Kondratieva N.S., ¹Anuchina A.A., ^{2,3}Sergeev A.V.,
²Skorobogatykh K.V., ¹Kokaeva Z.G., ¹Rudko O.I., ^{2,3}Tabeeva G.R., ^{1,4}Klimov E.A.

¹Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow;

²University headache clinic, Moscow;

³Research Center of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Neurology, Moscow;

⁴University Diagnostic Laboratory, Moscow, e-mail: klimov_eugeney@mail.ru

The first genome-wide association study (GWAS) of common migraine discovered substitution in the regulatory region of the MTDH gene (rs1835740, XR_928434.1:n.1748 + 4013T > C). However, confirmation of GWAS results in independent samples failed. Also, there is no clear answer about the role of this substitution in the formation of clinical picture of different forms of migraine. In our study, the role of replacement rs1835740 on the clinical picture of various forms of migraine (episodic, chronic) was evaluated. Also identification of the specificity of this marker for migraine in comparison with other forms of headache (cluster headache, chronic tension-type headache) was evaluated too. We have not found the influence of allele T (rs1835740) on the formation of the clinical picture of migraine with aura and migraine without aura. We have also shown that the rs1835740 polymorphism has no effect on chronification of migraine. Meanwhile, the carriage of the T allele is specific for patients with migraine and cluster headache, and is not typical for patients with chronic tension-type headache.

Keywords: XR_928434.1:n.1748 + 4013T > C, MTDH, rs1835740, migraine, aura, chronic migraine, cluster headache, chronic tension headache

Наследственная предрасположенность к развитию мигрени хорошо известна и доказана эпидемиологическими генетическими исследованиями [6]. Изучение генома в семьях пациентов с гемиплегической мигренью позволило выявить пять типов мигрени с моногенным наследованием (семейная гемиплегическая мигрень I, II, III, IV, V). Однако эти формы встречаются исключительно редко, и в развитии обычной

мигрени с аурой или без ауры участия не принимают [10]. Первое полногеномное исследование (GWAS) обычной мигрени было опубликовано в 2010 году [2]. В это исследование вошли почти 6 тысяч пациентов с мигренью с аурой или без ауры из различных стран Европы (Голландия, Дания, Финляндия, Германия, Исландия) и более 40 тысяч здоровых лиц. Исследование позволило выявить, что наличие минорного

аллеля Т замены rs1835740 (XR_928434.1: p.1748 + 4013T > C) в локусе 8q22.1 повышает риск развития мигрени, в особенности мигрени с аурой. Однако, в исследовании «случай-контроль», проведенном в испанской популяции, включившем 1521 пациента с мигренью и 1379 здоровых, достоверных различий частот аллелей rs1835740 не было получено [9].

Замена rs1835740 находится между генами *MTDH* (metadherin) и *PGCP*, которые вовлечены в обмен глутамата. При количественном анализе транскрипционной активности гена *MTDH* в линии лимфобластоидных клеток было обнаружено, что уровень экспрессии имеет значительную корреляцию с данной заменой – минорный вариант Т ассоциирован с высоким уровнем транскрипционной активности гена [2]. В более ранних исследованиях было показано, что *MTDH* негативно регулирует уровень экспрессии гена *SLC1A2* (известный также как *EEAT1*), кодирующего основной белок-переносчик глутамата [1]. Наличие аллеля Т rs1835740 ведет к накоплению внеклеточного глутамата, активирующего участвующие в центральной сенсibilизации НМДА-рецепторы, что снижает порог нейрональной возбудимости [8]. Кроме того, эта замена находится недалеко от гена *PGCP*, кодирующего глутамат-карбоксипептидазу – активатора активности астроцитов и, следовательно, происходит снижение порога возникновения распространяющейся корковой депрессии, основного патофизиологического коррелята ауры мигрени [2].

Можно предположить, что полиморфизм rs1835740 обуславливает более тяжелое течение мигрени. В исследовании Esserlind с соавторами [5], в которое вошли 691 пациент с мигренью с аурой, изучались детали клинических проявлений мигрени в зависимости от генотипа (42% оказались носителями Т-аллеля). Носители Т-аллеля имели тенденцию к большей представленности симптомов во время ауры, а также к меньшей выраженности головной боли и представленности сопутствующих симптомов. У гомозигот ТТ эти клинические особенности не были более выражены. Авторами был сделан вывод, что Т-аллель замены rs1835740 увеличивает риск развития мигрени, но не влияет на симптомообразование мигрени с аурой.

В исследовании Christensen с соавторами [4] проводился фенотипический анализ носителей Т-аллеля rs1835740 среди пациентов с мигренью без ауры. Было включено 339 пациентов, 40% были носителями Т-аллеля. Не было получено достоверных различий по представленности

характеристик и симптомов приступов мигрени, по наличию коморбидных расстройств, по представленности триггеров мигренозного приступа, по влиянию изменений гормонального фона (беременность, прием КОК, постменопауза) на частоту приступов мигрени, а также по эффективности триптанов и превентивной терапии.

Эти исследования не дают однозначный ответ о роли полиморфизма rs1835740 на клиническую картину различных форм мигрени. Целью нашего исследования было выяснить влияние однонуклеотидного полиморфизма rs1835740 на клиническую картину различных форм мигрени (эпизодическая и хроническая), а также выявить специфичность данного биомаркера для мигрени по сравнению с другими формами головной боли (пучковая головная боль, хроническая головная боль напряжения).

Материалы и методы исследования

Пациенты. В исследование вошли 143 пациента с мигренью, средний возраст составил 41.6 ± 12.5 лет (67.8% – с эпизодической мигренью, 32.2% – хронической мигренью, 18.5% – с мигренью с аурой, 31.9% злоупотребляли обезболивающими средствами). Группы сравнения составили 9 пациентов с пучковой головной болью и 20 пациентов с хронической головной болью напряжения. Группу контроля составили 362 здоровых испытуемых. Пациенты основной группы, групп сравнения и контроля были сопоставимы по возрасту. Диагноз формы головной боли устанавливался на основании критериев Международной классификации головных болей III (2013). Пациентам проводилось клиничко-неврологическое обследование и забор крови для генотипирования. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, все испытуемые давали информированное согласие на участие в исследовании.

Молекулярно-генетическое исследование и анализ данных. Выделение ДНК проводили согласно протоколу к коммерческому набору ДНК MagnaTM DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория ИзоГен», Москва). Оценку аллельных состояний изучаемых замен проводили методом ПЦР в реальном времени. Праймеры, флуоресцентные зонды к rs1835740, а также условия проведения ПЦР подобраны в ООО «ДНК-Синтез», Москва: F: CTGACGAATATACTTATATTCCTTTTACAT, R: CTTGCATATTTGAGCAGACTTTG, rs1835740-C: FAM-C C A AT C T G C G T AT G T A G A - B H Q 2, rs1835740-T: VIC-CAATCTGTGTATGTAG-BH Q 2. Для проведения ПЦР в реальном времени использовали коммерческий набор qPCR mix (ЗАО «Евроген», Москва). ПЦР проводили на приборе CFX96 («BioRad», США), используя allelic discrimination test. Условия ПЦР: 95 °С – 3', 40 циклов 95 °С – 30'', 57 °С – 60'', 72 °С – 30''.

Статистическую обработку проводили с использованием параметрических и непараметрических методов исследования в пакете программы IBM SPSS Statistics 22. Соответствие равновесию Харди-Вайнберга и ассоциацию с заболеванием в целом рассчитывали с использованием критерия согласия Пирсона (Хи-квадрат).

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов проанализированных генов, соответствие равновесию Харди-Вайнберга ($df = 1$)

	Частоты генотипов			Частоты аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Пациенты	0,788	0,178	0,034	0,877	0,123
HWE	0,769	0,216	0,015		
$\chi^2 = 4,53; p = 0,03$					
Контроль	0,833	0,108	0,058	0,888	0,113
HWE	0,788	0,200	0,013		
$\chi^2 = 75,35; p = 0$					

Таблица 2

Генотипы rs1835740 у пациентов с мигренью, пучковой головной болью и хронической головной болью напряжения

Генотип	СС	СТ	ТТ
Мигрень, n/%	112/78.3**	4/44.4	100/20
Пучковая головная боль, n/%	29/20.3	2/22.2	0/0
Хроническая головная боль напряжения, n/%	2/1.4*	3/33.3	0/0

Пр и м е ч а н и е. * – мигрень vs пучковая головная боль, $p = 0.001$, ** – мигрень vs хроническая головная боль напряжения, $p = 0.0001$.

Таблица 3

Генотипы rs1835740 у пациентов с различными формами мигрени

Генотип	СС	СТ	ТТ
Эпизодическая мигрень (ЭМ), %	78.5	20.3	1.3
Хроническая мигрень (ХМ), %	79.6	20.5	0
ЭМ vs ХМ, p	0.8	0.9	0.4
Мигрень с аурой (МА), %	68.1	31.8	0
Мигрень без ауры (МБА), %	82.1	16.8	1.2
МА vs МБА, p	0.2	0.1	0.3

Результаты исследования и их обсуждение

Представленность частот генотипов и аллелей замены rs1835740 у пациентов с мигренью и контрольной выборкой представлена в таблице 1. Частоты генотипов не соответствуют равновесию Харди-Вайнберга. Поэтому для оценки связи с заболеванием мы использовали мультипликативную (частоты аллелей). Достоверных различий между пациентами с мигренью и здоровыми не получено ($\chi^2 = 0.24$, $p = 0.63$). В целом, распределение генотипов соответствует полученным другими авторами [2, 4].

При сравнении представленности генотипов rs1835740 среди пациентов с мигренью, пучковой (кластерной) головной болью и хронической головной болью напряжения (табл. 2) выявлено, что носительство Т-аллеля не характерно для пациентов с хронической головной болью напряжения,

а представленность ТТ-генотипа наибольшая среди пациентов с кластерной головной болью.

Анализ генотипов rs1835740 среди различных форм мигрени (мигрень с аурой, мигрень без ауры, хроническая мигрень) различий не выявил (табл. 3).

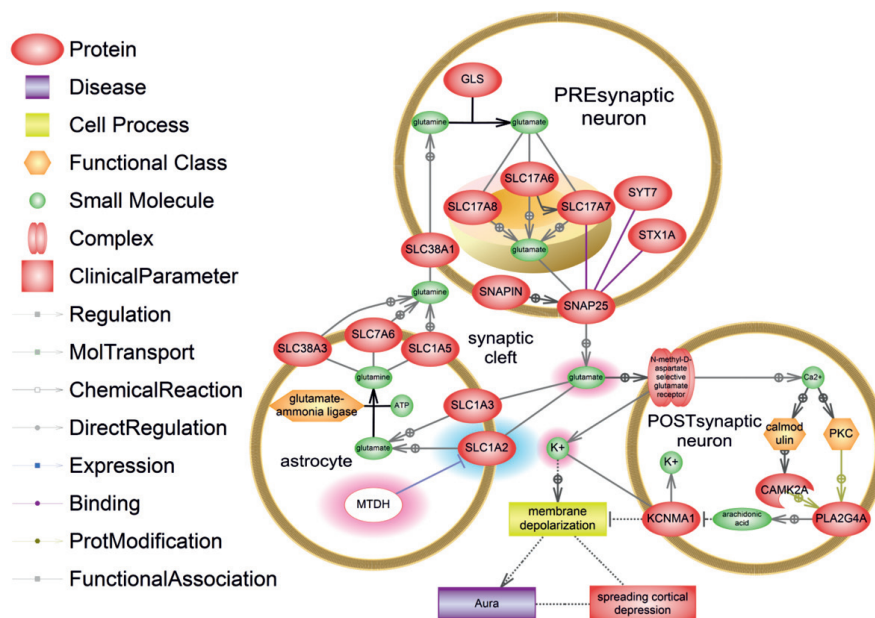
При исследовании характеристик и симптомов мигрени у носителей и неносителей Т-аллеля rs1835740 не было выявлено статистически значимых различий по их представленности (табл. 4).

Как и в проводимых ранее исследованиях Christensen с соавторами [4] и Esserlind с соавторами [5] нами не получено статистически значимого влияния носительства минорного аллеля Т замены rs1835740 на формирование клинической картины мигрени с аурой и мигрени без ауры. Также нами показано, что полиморфизм rs1835740 не оказывает значимого влияния на развитие хронической мигрени.

Таблица 4

Представленность симптомов и клинических характеристик мигрени среди пациентов у носителей и носителей Т-аллеля rs1835740

Симптом/клиническая характеристика	Носители С-аллеля, %	Носители Т-аллеля	Значение р
Наличие мигрени у родственников, %	69.8%	66.7%	0.8
Возраст дебюта мигрени, лет	17.2 ± 8.5	20.2 ± 10.2	0.2
Продолжительность заболевания, лет	23.9 ± 12.6	20.9 ± 11.8	0.3
Частота приступов мигрени в месяц	9.0 ± 10.6	8.2 ± 8.3	0.7
Наличие ауры, %	16.1%	29.2%	0.1
Продолжительность приступов, часы	34.6 ± 25.2	36.5 ± 34.1	0.8
Интенсивность боли, баллы ВАШ	8.3 ± 1.5	8.5 ± 1.2	0.4
Время, за которое боль достигает высокой интенсивности, минуты	88.9 ± 71.8	115.9 ± 92.5	0.2
Пульсирующий характер боли	78.9%	79.2%	0.9
Кожная аллодиния, %	51.2%	34.8%	0.1
Возвраты головной боли, %	42.3%	29.4%	0.3
Тошнота, %	90.0%	87.5%	0.7
Рвота, %	45.5%	50.0%	0.7
Фотофобия, %	86.7%	87.5%	0.9
Фонофобия, %	85.6%	83.3%	0.8
Осмофобия, %	51.7%	60.9%	0.4
Наличие продромального периода, %	31.7%	50.0%	0.1
Наличие постдромального периода, %	29.5%	31.6%	0.8
Резистентность к стандартной терапии, %	17.7%	4.0%	0.09
Наличие лекарственного абзуса	36.7%	26.9%	0.3
Степень лекарственного абзуса (1 балл – легкая, до 30 разовых доз анальгетиков в месяц, 4 балла – тяжёлая – более 90 разовых доз анальгетиков в месяц)	2.3 балла	2.1 балла	0.7



Роль Т-аллеля rs1835740 на «передозировку» глутамата в синаптической щели и возникновение РКД. Красным подсвечено патологическое увеличение количества молекул, синим – уменьшение. Выбелен белок MTDH. Подробное описание в тексте.
Подготовлено в программе Pathway Studio 10.0 (Elsevier)

Проведённое нами исследование позволяет предположить, что носительство Т-аллеля rs1835740 является специфичным для пациентов с мигренью и пучковой головной болью, и не характерно для пациентов с хронической головной болью напряжения. Возможно, нарушение гомеостаза глутамата является общим звеном патогенеза для мигрени и кластерной головной боли, обеспечивающим формирование корковой нейрональной гипервозбудимости [3]. Влияние аллеля Т на сигнальные пути, приводящие к изменению в гомеостазе глутамата и, как следствие, к распространяющейся корковой депрессии (РКД) и ауре продемонстрировано на рисунке.

Белок МТДН является блокаторм экспрессии одного из основных переносчиков глутамата из синаптического пространства в астроцит – SLC1A2. В астроците глутамат преобразуется в глутамин и передаётся в пресинаптический нейрон, где он снова конвертируется в глутамат. Аллель Т замены rs1835740 приводит к усиленной транскрипции гена *MTDH*, что приводит к снижению экспрессии SLC1A2. В результате глутамат накапливается синаптической щели и постоянно активизирует NMDA рецепторы на постсинаптических нейронах, что приводит к выбросу калия на поверхность клетки из внутриклеточного пространства и входу кальция в клетку. Внеклеточный калий вызывает деполяризации мембраны. Гипердеполяризация является основой для возникновения РКД – распространяющейся деполяризации клеток мозга. Аура, предшествующая мигренозному приступу, является следствием РКД. Эффект деполяризации усиливается активацией фосфолипазы А (PLA2G4A) через кальций зависимые пути в постсинаптическом нейроне. Фосфолипаза синтезирует арахидоновую кислоту, которая блокирует калиевый канал и калий остаётся на поверхности мембраны.

Наличие распространяющейся корковой депрессии, и её клинического коррелята ауры, как правило, обсуждается в контексте нейрональной гипервозбудимости при мигрени. Однако до 23% пациентов с пучковой головной болью могут отмечать типичную мигренозную ауру перед приступом

головной боли [7], тогда как в основе развития хронической головной боли напряжения лежит в большей степени дефицит центральных противоболевых систем. Следовательно, аллель Т rs1835740, обуславливающий повышение уровня межклеточного глутамата, обеспечивает запуск РКД и начало приступа. Это предположение подтверждается данными геномного исследования Anttila с соавторами, где было показано большее влияние полиморфизма rs1835740 на развитие мигрени с аурой [2].

Выводы

Таким образом, полиморфизм rs1835740 является несомненным фактором риска развития мигрени, однако для возникновения заболевания и формирования клинической картины необходимы и другие внешние и внутренние, в том числе и другие генетические факторы, требующие дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Russell M.B., Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine // *BMJ*. 1995. – V. 311. – P. 541–544.
2. van den Maagdenberg A.M., et al. Genetics of headaches // *Handb Clin Neurol*. – 2010. – V. 97. – P. 85–97.
3. Anttila V., et al. Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. // *Nat Genet*. – 2010. – V. 42. – P. 869–873.
4. Sintas C., et al. A replication study of a GWAS finding in migraine does not identify association in a Spanish case-control sample // *Cephalalgia*. – 2012. – V. 32. – P. 1076–1080.
5. Andreou A.P., Goadsby P.J. Therapeutic potential of novel glutamate receptor antagonists in migraine // *Expert Opin Investig Drugs*. – 2009. – V. 18. – P. 789–803.
6. Silva E., et al. Extracellular glutamate, aspartate and arginine increase in the ventral posterolateral thalamic nucleus during nociceptive stimulation // *Brain Res*. – 2001. – V. 923. – P. 45–49.
7. Esserlind A.-L., et al. A genotype–phenotype analysis of the 8q22.1 variant in migraine with aura // *Eur J Neurol*. – 2012. – V. 19. – P. 603–609.
8. Christensen A.F., et al. Genotype-phenotype correlation in migraine without aura focusing on the rs1835740 variant on 8q22.1 // *J Headache Pain*. – 2012. – V. 13. – № 1. – P. 21–27.
9. Aurora S.K., Wilkinson F. The brain is hyperexcitable in migraine // *Cephalalgia*. – 2007. – V. 27. – P. 1442–1453.
10. Schurks M., et al. Cluster headache: clinical presentation, lifestyle features, and medical treatment // *Headache*. – 2006. – V. 46. – P. 1246–1254.