



Araştırma Yazısı

Migren Hastalarında Isı Şok Proteini 27

Pınar ÇOBAN¹, Pınar ÇE¹, Ömür ERKIZAN², Muhteşem GEDİZLİOĞLU¹

¹İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji, İzmir, Türkiye ²İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biokimya, İzmir, Türkiye

Özet

Amaç: Migrenin patofizyolojik mekanizması hala bilinmemektedir. Isı şok proteinleri (Hsp) hücreleri apoptoz ve stresten korumak üzere ortaya çıkan stres proteinleridir. Migren atağı bir stres durumu yarattığı için migren atağı sırasında Hsp düzeylerinde değişiklik olup olmadığını öğrenmeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: Polikliniğimizden yaşları 20-60 arasında 25 migren hastası rasgele olarak seçildi. Benzer yaş grubunda 25 sağlıklı gönüllü kontrol grubunu oluşturdu. Malignite, otoimmün hastalık, enfeksiyon veya ateşi olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kan örnekleri hasta grubunda, migren atağı sırasında ve remisyonda (en az 7 gün ataksız dönemde) toplandı. Serum Hsp27 düzeyleri Calbiochem® Oncogene kiti kullanılarak ELİSA yöntemi ile çalışıldı.

Sonuçlar: Hsp27 düzeyleri atak sırasında 2,63pg/ml, remisyonda 2,48pg/ml ve kontrol grubunda 2,66 ±5,33pg/ml idi. Atak sırasında ölçülen Hsp27 düzeyleri yüksekti, ancak fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (p=0,80). Bununla birlikte Hsp27 düzeyleri artışı Baş ağrısı Ciddiyet Skorları (BCS) ile anlamlı oranda ilişkiliydi (p= 0,02).

Tartışma: Çalışmamızda baş ağrısı sırasında hastalarda, BCS ile anlamlı pozitif ilişki olması her migren atağının zayıf da olsa bir stres oluşturduğuna işaret etmektedir. Atak sırasında ve remisyonda ölçülen düzeyler arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığa ulaşmaması hasta grubumuzun küçük olması ile ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Isı şok proteini 27, migren, stres proteinleri

Heat Shock Protein 27 in Migraine Patients

Abstract

Aim: The pathophysiological mechanism of migraine is still obscure. Heat shock proteins (Hsp) are stress induced proteins in order to protect cells from stress and apoptosis. As migraine attack may constitute a stressful condition we aimed to look for whether an alteration of Hsp levels of migraine patients during the attacks occur.

Material and methods: Twenty-five migraine patients between 20-60 years of age were selected randomly from our outpatient clinic. Twenty five healthy subjects with similar ages consisted the control group. Any of the subjects with malignancy, autoimmune disease, infection or fever were excluded from the study. Blood samples were collected during migraine attack and remission (at least 7 days of attack free period) in the patient group. Serum Hsp27 levels were examined with Calbiochem® Oncogene kit by using ELISA method.

Results: The mean Hsp27 levels were during the attacks 2,63pg/ml, 2,48pg/ml during the remission period and 2,66 ±5,33pg/ml in the control group. Hsp27 levels during attack period was high, but the difference was not statistically meaningful (p=0,80). However the increase

of Hsp27 level increase were meaningfully correlated with the Headache Severity Scores (HSS) (p= 0,02).

Discussion: In our study, the positive relationship of HSS during headache points that each migraine attack constitute a stress. The reason of nonmeaningful difference of the levels during attack and remission may be related to the smallness of our group.

Keywords: Heat shock protein 27, migraine, stress proteins

GİRİŞ

Migren nörolojik ve sistemik bulguların eşlik edebildiği, orta veya ağır şiddette tekrarlayan baş ağrısı atakları ile karakterize olan kronik bir hastalıktır⁽¹¹⁾. Isı şok proteinleri (Hsp=heat shock protein), stres uyarılarına cevap olarak organizmaların hücreleri tarafından üretilen bir grup proteindir^(1,10). Sentezlenmiş ya da stres ile denatüre olmuş proteinlerin katlanması, katlarının açılması ve birleşmesini yönetmek; subsellüler kompartmanlar arasındaki translokasyonları etkilemek suretiyle hücrelerin kurtarılmasına yardımcı etkileri gösterilmiştir^(2,14). Stres durumlarında hücre içinde yanlış katlanmış proteinler ortaya çıkar, yine stresle birlikte hücre içinde Hsp oranı da hızla artar⁽³⁾. Hasarlanmış ve yanlış katlanmış polipeptidler Hsp'lere hızla bağlanır; böylece bu polipeptidlerin tekrar katlanması sağlanır veya yıkımı önlenir^(4,15). Bu şekilde Hsp'ler potansiyel olarak hücreyi koruyucu fonksiyon görürler^(5,18).

Bugüne dek migren patofizyolojisini açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır^(9,16). Bu çalışmalar migrenle ilgili pek çok bilginin kazanılmasını sağlamış; ancak sonuçlar migren patogenezi tam olarak açıklamaya yetmemiştir^(8,17). Biz bu çalışmamızda birçok nörolojik hastalıkta önemli rolleri olduğu kanıtlanmış bu stres proteinlerinin migren atağı sırasında stres yanıtı olarak vücudu koruyucu amaçla yükselebileceği hipotezine yönelik olarak migren tipi baş ağrısındaki yerini araştırmayı hedefledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma yerel etik kurulundan onay alındıktan sonra Sağlık Bakanlığı İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği'nde yürütülmüştür.

Çalışmaya S.B.İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniği ve Acil servisi'ne başvurarak “2004 Uluslararası baş ağrısı sınıflaması” kriterlerine göre “migren başağrısı” tanısı alan 20-60 yaşları arasında yirmi beş hasta alındı. Bu hastalar migren dışında herhangi bir hastalığı bulunmayan, ilaç kullanımı olmayan (oral kontraseptif, vitamin gibi ilaçlar dahil), 1 hafta öncesine kadar ateşli hastalık geçirmemiş olan ve profilaktik migren tedavisi almayan gönüllülerdi.

Çalışmaya migren tanısı alan 25 hasta ile kontrol grubunu oluşturan 25 sağlıklı birey olmak üzere toplam 50 kişi alındı. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından çalışma grubu ile benzer herhangi bir nörolojik, metabolik, neoplastik, otoimmün, enfeksiyöz hastalığı olmayan 20-60 yaş arası 25 sağlıklı gönüllüden oluşuyordu.

Çalışma devam ederken hastada ateşli bir enfeksiyon gelişmesi, nörolojik, otoimmün, metabolik, neoplastik özellikte herhangi bir hastalığın saptanması, deneğin çalışmadan ayrılmak istemesi, gebelik oluşması koşullarında hastaların çalışmadan ayrılması planlandı.

Çalışma öncesi tüm hastalara çalışmanın amacı, koşulları anlatıldı. Bilgilendirme sonrasında yazılı onamları alındı. Çalışmaya alınan tüm hastaların detaylı baş ağrısı öyküsü sorgulandı, ayrıntılı fizik ve nörolojik muayeneleri yapıldı. IHS tanı kriterlerine göre auralı ve aurasız migren

tanısı konan hastaların şikayetleri, yaşları, öz ve soygeçmişleri, varsa aura özellikleri, ağrıya eşlik eden bulguları, ağrı tetikleyicileri, ilaç kullanım özellikleri soruldu. Hastaların bilgileri önceden hazırlanmış bir forma kaydedildi.

Çalışma için migrenli hastalardan baş ağrısı atağı sırasında o gün içerisinde herhangi bir ilaç almadan ve en az 1 haftadır baş ağrısız olduğu bir dönemde olmak üzere iki kez, kontrol grubundan bir kez kubital venden 8 ml kan alındı. Alınan venöz kanlar 2000 devirde santrifüj edildikten sonra, serum örnekleri S.B. İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında -80°C derecede çalışma gününe kadar saklandı. Çalışmada ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay) yöntemi ile ölçümler yapıldı. Calbiochem® Oncogene, ABD üretilmiş QIA119 katolog no'lu kit kullanılarak ölçülen değerler pikogram/mililitre cinsinden kaydedildi.

Hastaların baş ağrısı şiddetleri sayısal değerlendirme skalasına göre (0-10 arası puanlama yapıldı) belirlendi.

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 12.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplarda elde edilen veriler \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi. Temel istatistik yöntemi olarak Man-Whitney-U, Wilcoxon ve Pearson korelasyon analizi kullanıldı. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

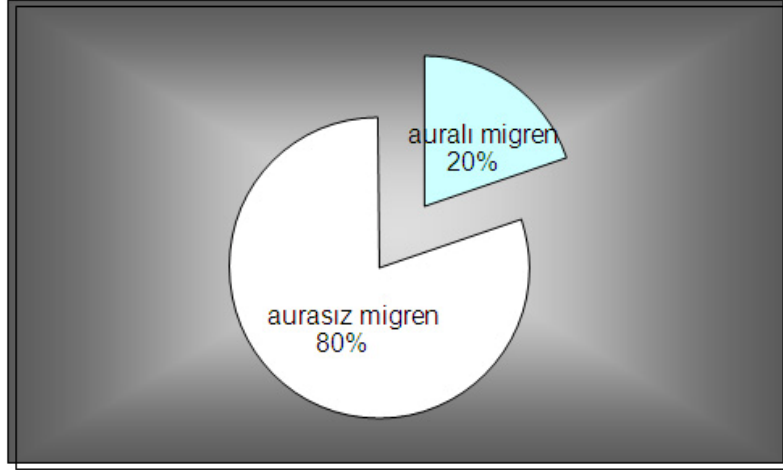
BULGULAR

Migren hastalarının 22'si kadın, 3'ü erkekti. Hasta grubunun yaş ortalaması $33,68 \pm 8,73$ idi. Kontrol grubunda yaş ortalaması $36,2 \pm 9,08$ idi. 15 kadın hasta, 10 erkek

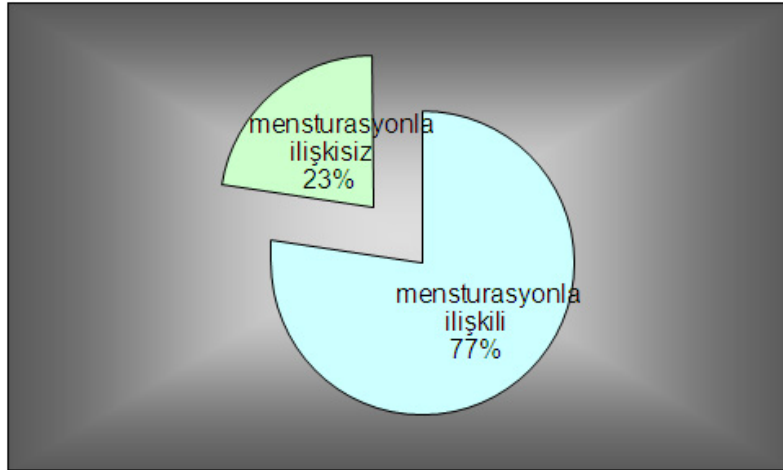
hastadan oluşmaktaydı. Yaş açısından iki grup arasında fark yoktu ($p=0,55$). Hastaların 20'sinde (%80) aurasız, 5'inde (%20) auralı migren bulunmaktaydı (Şekil 1). 22 hastada (%88) ağrı tek taraflı, 3 hastada (%12) bilateral idi. 23 hastada (%92) bulantı, 16 hastada (%64) kusma atağa eşlik ediyordu. 24 vakada (%96) fotofobi, 24'ünde (%96) fonofobi vardı. 22 kadın hastanın 17'sinde (%77,3) menstrüel dönemde migren atak sıklığında artış vardı (Şekil 2). Ağrı skoru ortalaması $8,60 \pm 1,19$ (minimum 5, maksimum 10) bulundu. Atak sıklığı ortalaması $25,2 \pm 15,10$ gün (minimum 4, maksimum 60 gün) bulundu. Atak süresi ortalama $11,13 \pm 16,80$ saati (minimum 0,5 maksimum 48 saat). Tetikleyen faktörler en fazla emosyonel stres, açlık, uykusuzluk ve gürültü idi.

Kontrol grubunun serum Hsp27 düzeyi $2,66 \pm 5,33$ pg/ml saptandı. Hastaların ağrılı dönemlerinde ortalama serum Hsp27 düzeyleri $2,63 \pm 2,44$ pg/ml; remisyon dönemlerinde ortalama Hsp27 düzeyleri $2,48 \pm 2,58$ pg/ml bulundu (Şekil 3). Atak ile remisyon dönemi Hsp27 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamasıyla birlikte ($p=0,80$), atak sırasındaki Hsp27 düzeyleri remisyon dönemine göre daha yüksekti. Atak sırasındaki Hsp27 düzeyi ile atak sıklığı, atak süresi açısından anlamlı ilişki yoktu (sırasıyla $p=0,60$ - $p=0,26$).

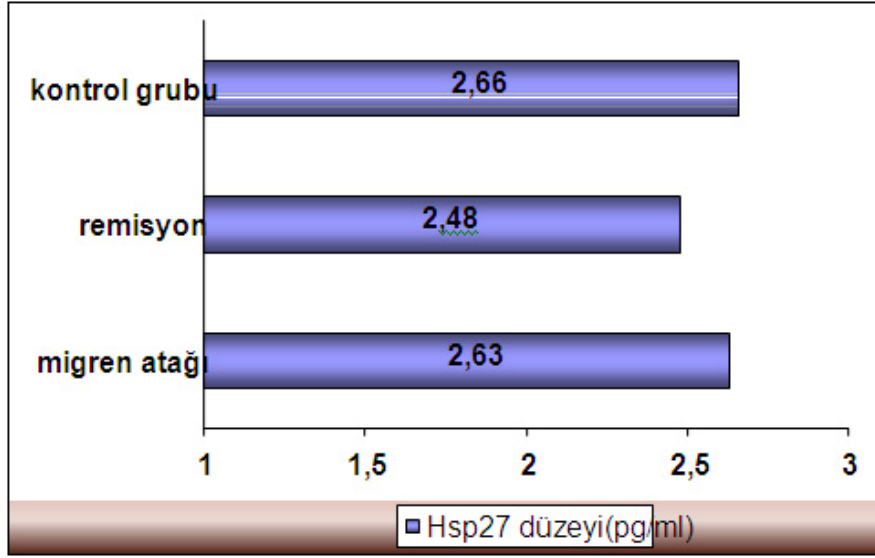
Yaşla atak sırasındaki Hsp27 düzeyi ve ağrı skoru arasında ilişki yoktu (sırasıyla $p=0,34$, $p=0,76$); ancak ağrı skoru yükseldikçe atak sırasındaki Hsp27 düzeyinde anlamlı artış vardı ($p=0,02$) (Şekil 4).



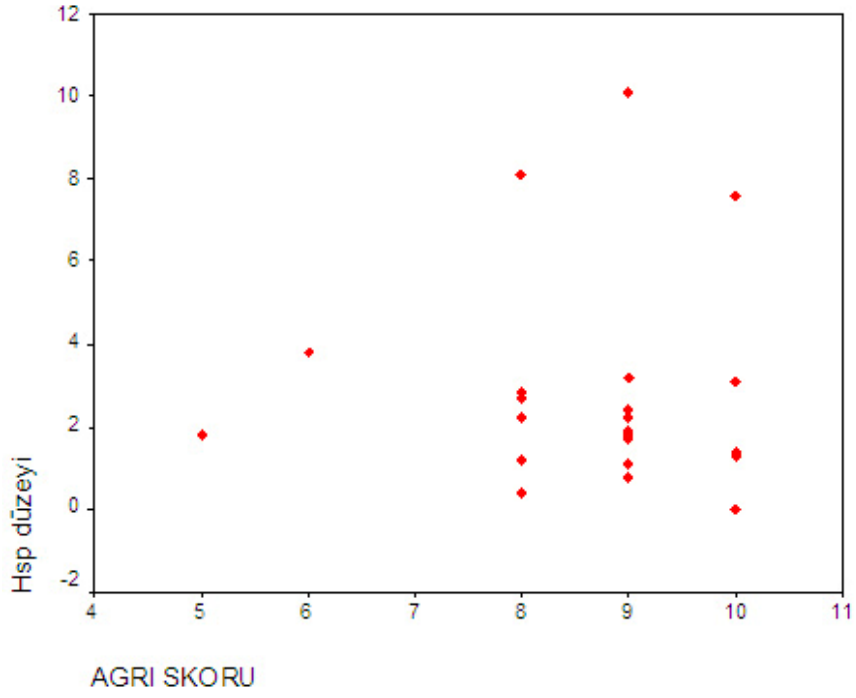
Şekil 1: Hastaların migren tipleri



Şekil 2: Kadın hastaların migren ataklarıyla menstrüasyon dönemleri arasındaki ilişki



Şekil 3: Hastaların migren atağı ve remisyon dönemlerindeki serum Hsp27 düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması



Şekil 4: Hastalarda atak sırasındaki Hsp27 düzeylerinin ağrı skoru ile ilişkisi

TARTIŞMA

Stres durumlarında Hsp miktarlarının artmasını göz önüne alarak oluşturduğumuz ve bu çalışmayı başlatma nedenimiz olan hipotez; bir migren atağında var olduğu düşünülen stres faktörlerinin serum Hsp düzeylerini arttırmış olabileceği idi. Birçok enfeksiyöz patojenin insanda hücre içi ısı şok proteinlerini arttırması, migrende de birçok çalışmada enfeksiyöz nedenlerin suçlanması; yine migren patogenezinde immunolojik faktörlerin rol oynayabileceği yolundaki önceki yayınlar bu hipotezimizi destekler nitelikteydi⁽⁶⁾. Çalışmamızda kullanılmak üzere Hsp ailesinin küçük molekül ağırlıklı üyesi Hsp27, bu ajanın nöroprotektif özelliklerinin de olduğunun bilinmesi nedeni seçildi^(7,12,13). Migrenli hastaların atak ve ataklar arası dönemdeki venöz kanlarında Hsp27 düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar birbirleri ile ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Çalışmamıza alınan hasta grubundaki kadın cinsiyet dominansı, erişkin yaştaki migren hastalığının kadınlarda sık görülmesi ile doğru orantılı olarak değerlendirilebilir. Hasta yaşı ortalamamızın $33,68 \pm 8,73$ olması da toplumdaki migren prevalansının 40'lı yaşlara kadar artıp sonrasında azalmasını yansıtır niteliktedir.

Migrenli hasta grubumuzda baş ağrılı dönemler ile baş ağrısı olmayan dönemlerde bakılan Hsp27 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak atak dönemlerinde bakılan Hsp27 düzeylerinde anlamlı olmayan bir yükseklik göze çarpmaktaydı. Farkın anlamlı olmaması hasta grubumuzun küçük olması ile ilişkili olabileceği gibi, migren atağının oldukça kısa süreli bir stres ortamı oluşturması nedeniyle Hsp27 düzeyindeki artışın çok belirgin olmaması ile de açıklanabilir.

Migrenli hastalarımızın yaşları, baş ağrısı süreleri ve atak sıklıkları ile Hsp27 düzeyleri arasında ilişki gösterilemedi. Ancak hastalar arasında atak dönemlerinde ağrı şiddetleri (skorları) yüksek olanların benzer şekilde Hsp27 düzeylerinin de yüksek olduğu bulundu. Bahsedilen ağrı skorları ile Hsp27 yükseklikleri arasındaki ilişki anlamlı düzeydeydi. Bu bulgumuzun değeri ise ancak ileri çalışmalar ile kanıtlanabilecektir.

Bugüne kadarki literatürde migren patogenezinin açıklamaya yönelik yapılmış birçok çalışma bulunmakla birlikte, biz migrende ısı şok proteinlerinin rolünü araştıran bir yayına rastlamadık. Bizim yürüttüğümüz çalışma bu konuda yapılmış ilk projedir. Çalışmamızda migren hastalarımızda saptadığımız atak sırasında ve ataklar arası dönemlerdeki serum Hsp27 düzeylerini ve bu konudaki anlamlı ya da anlamlı olmayan sonuçlarımızı karşılaştıracak bir başka çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda migren hastalığında ısı şok proteinlerinin rolünü ve bu yolla enfeksiyöz, immunolojik patogenezleri değerlendirmek, yorumlamak açısından elde ettiğimiz sonuçların; daha sonraki çalışmalar için bir başlangıç olabileceği ve migren patogenezi ve tedavisi ile ilgili ileri hipotezlerin geliştirilmesinde yardımcı olabileceği düşüncesindeyiz.

İletişim:

Pınar Çe

E-mail: kurceren2@yahoo.com

Gönderilme Tarihi: 07 Ekim 2009

Revizyon Tarihi: 14 Mayıs 2010

Kabul Tarihi: 28 Aralık 2010

The Online Journal of Neurological Sciences (Turkish) 1984-2011

This e-journal is run by Ege University
Faculty of Medicine,
Dept. of Neurological Surgery, Bornova,
Izmir-35100TR
as part of the Ege Neurological Surgery
World Wide Web service.
Comments and feedback:
E-mail: editor@jns.dergisi.org
URL: <http://www.jns.dergisi.org>
Journal of Neurological Sciences (Turkish)
Abbr: J. Neurol. Sci.[Turk]
ISSNe 1302-1664

KAYNAKLAR

1. Baykal Y, Gök F, Kocabalkan F. Isı şok proteinleri ve hastalıklardaki rolü. *T.Klin Tıp Bilimleri* 2000; 20: 187-95
2. Birnbaum G, Kotilinek L. Immunity to heat shock proteins and neurological disorders of women. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1999; 7(1-2): 39-48
3. Birnbaum G, Kotilinek L. Heat shock or stress proteins and their role as autoantigens in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1997 Dec 19; 835: 157-67.
4. Chiba S, Yokota SI, Yonekuva K, Tanaka S, Furuyama H, Kubota H, Fujii N, Matsumoto H. Autoantibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 241(1-2): 2006; 39-43
5. Concannon CG, Gorman AM, Samali A. On the role of Hsp 27 in regulating apoptosis. *Apoptosis* 2003; 8: 61-70
6. Covelli V, Maffione AB, Munno I, Jirillo E. Alterations of nonspecific immunity in patients with common migraine. *J. Clin. Lab. Anal.* 1990; 4: 9-15.
7. Cwielinska H, Luvsannorov O, Walkowiak B, Brosnan CF, Raine CS, Selmaj KW, Mycko MP. Heat shock protein 70 associations with myelin basic protein and proteolipid protein in multiple sclerosis brains. *International Immunology* 15(2): 2003; 241-49
8. Çe P, Yalın Ş, Köse Ş, Gedizlioğlu M. Migren tipi baş ağrısı olan hastalarda interlökin-2 düzeyi. *Türk Nöroloji Dergisi* 2000; 7(2): 65-69.
9. rkeç C. Migren ve immun sistem. *Türkiye Klinikleri, Nöroloji*, 2003; 1, 2: 124-25.
10. Kato K, Katoh-Semba R, Takeuchi IK, Ito H, Kamei K. Responses of heat shock proteins hsp27, alphaB-crystallin, and hsp70 in rat brain after kainic acid-induced seizure activity. *J Neurochem.* 1999 Jul; 73(1): 229-36.
11. Kemper RHA, Meijler WJ, Korf J, Ter Horst GJ. Migraine and function of the immune system: a meta-analysis of clinical literature published between 1966 and 1999. *Cephalalgia* 2001; 21, 5: 549-57.
12. Latchman DS. Hsp 27 and cell survival in neurones. *Int J Hyperthermia.* 2005 Aug; 21(5): 393-402.
13. Martelletti P, Morrone S. The role of adhesion molecules in migraine. *Cephalalgia* 2000; 20(2): 136
14. Minohara M. Heat shock protein 105 in multiple sclerosis. *Nippon Rinsho.* 2003 Aug; 61(8): 1317-22.
15. Ranshoff RM, Rudick RA. Heat shock proteins and autoimmunity: Implications for multiple sclerosis. *Annals Neurol* vol 34(1): 1993; 5-7.
16. Razniecki JJ, Durko A, Prusinska A, Selmaj K. Serum levels of ICAM-1 and VCAM-1 in migraine and cluster headache patients. *J. Neuroscience* 2001; 187: 74.
17. Schmetterer L, Wolzt M, Graselli U, Findl O, Strenn K, Simak S, Kastner J, Eichler HG, Singer EA. Nitric oxide synthase inhibition in the histamine headache model. *Cephalalgia* 1997; 17: 175-82.
18. Vleminckx V, Van Damme P, Goffin K, Delye H, Van Den Bosch L, Robberecht W. Upregulation of HSP27 in a transgenic model of ALS. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002 Nov; 61