

Migrenli Hastalarda Serum Nitrik Oksit düzeylerinin Ağrı ile İlişkisi

Uz. Dr. Emine Altunkaynak
Taksim Devlet Hastanesi Biokimya ve Klinik Biokimya Bölümü

Uz. Dr. Yavuz Altunkaynak
Bakırköy Ruh ve Sinir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Nöroloji Kliniği

Uz. Dr. Musa Öztürk
Bakırköy Ruh ve Sinir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Nöroloji Kliniği

İ. Uz. Dr. Ferruh İşmen
Taksim Devlet Hastanesi Biokimya ve Klinik Biokimya Bölümü

Doç. Dr. Sevim Baybaş
Bakırköy Ruh ve Sinir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Nöroloji Kliniği

İletişim:
Dr. Yavuz Altunkaynak
İncirli cad. Van Kulu Sok. Yalınay apt.
No:15/2 Bakırköy İSTANBUL

Tel: 0.212. 542 72 94

Bu Çalışma 36. Ulusal Nöroloji Kongresinde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

Migrenli Hastalarda Serum Nitrik Oksit düzeylerinin Ağrı ile İlişkisi

ÖZET Nitrik oksitin (NO) migren fizyopatolojisindeki muhtemel rolü üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ağrının oluşumunda nitrik oksit yüksekliğinin de önemli olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda migrenli hastalarda serum nitrik oksit düzeylerinin ağrı özellikleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla 1988 Uluslararası Baş ağrısı Birliği Sınıflamasına göre Migren tanısı konulan 39 migrenli hasta ve kontrol grubu olarak ise 30 ağrı yakınması olmayan kişi çalışmaya alındı. Serum NO düzeyleri RA-50 spektrofotometresi ile ölçüldü. Migrenli hastaların

inisyal ve atak serum nitrik oksit seviyeleri atak döneminde daha belirgin olmak üzere kontrol grubundan daha yüksekti. İnisyal düzeylerle ağrı özellikleri arasında ilişki gözlenmezken atak düzeyleri özellikle atağı sık, ağrısı şiddetli ve atak başvuru saati daha geç olan migrenlilerde daha yüksekti. Bu sonuçlar göz önüne alındığında migren tedavisinde nitrik oksit sentaz inhibitörlerinin de tedavi seçeneklerinden biri olabileceği ve günümüz migren tedavisinde kullanılan ilaçların nitrik oksit düzeyleri üzerine olan etkisinin araştırılması için bu yönde çift kör placebo kontrollü çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, baş ağrısı, migren, patofizyoloji

The relationship between pain and serum nitric oxide levels in patient with migraine

ABSTRACT This study is designed to compare the serum levels of nitric oxide (NO), a chemical substance that has effects on migraine pain, during and between attacks in patients with migraine and healthy control group and to evaluate the relationship between NO serum levels and characteristics of pain. The study group consisted of 26 female (mean age 32±8.57) and 13 male (mean age 32.28±10.15) migrainous patients diagnosed according to IHS criteria and equal number of healthy subjects with the same gender distribution and mean age. The serum samples were evaluated with RL spectrophotometer (546nm wavelength). Parametric student-t, Wilcoxon matched tests and Spearman correlation were used for statistical analysis. The mean period of disease

was 11±5.07 years, attack frequency was 5±1.37 times a month, mean duration of pain was 31 12.34 hours and severity of pain according to visual analog scale was 8.5±1.32. The initial and attack serum levels of NO in migrainous patients were 62.35±25.75 and 95.27±42.67 μ M respectively. The levels in control group were 34.01±13.28 μ M. The serum levels of NO during ictal and interictal periods in the patients with migraine were significantly higher than control group ($p < 0.001$). The ictal levels of NO in the patients were significantly higher ($p < 0.001$). The correlation analysis showed higher ictal NO levels in patients with frequent attacks, severe pain, and late inquire time ($r > 0.25$). Conclusively, NO levels were significantly higher in the patients with migraine, especially during attack and high levels of NO had an important effect on characteristics of pain.

Key Words: Nitric Oxide, migraine, headache, pathophysiology.

GİRİŞ

Bireysel, toplumsal, ekonomik bir çok problemi beraberinde getirmesi nedeniyle migrenin atak ve profilaktik tedavisi oldukça önemlidir. İyi bir tedavi ancak patofizyolojinin bilinmesi ile mümkündür. Migrenli hastalarda serum değerlerinin yüksek bulunması nedeniyle son yıllarda nitrik oksitin ağrı fizyopatolojisindeki

rolü tartışılmaktadır. Deneysel olarak nitrik oksitin migren patofizyolojisinde önemli rol oynayan nörojenik vazodilatasyon, nörotransmisyon, platelet agregasyonu, non spesifik immun yanıt, inflamatuvar cevap ve nörotoksisite üzerinde etkileri mevcuttur. 1980 yılında Furchgatt ve Zawadzki (3), endoteliumdan salgılanan ve

vazodilatasyona neden olan bir madde bulmuşlar ve bu maddenin NO olduğu daha sonraki birçok çalışmada ortaya çıkartılmıştır.^(9,10,23) 1993'de Thomsen⁽²²⁾ ve 1994'te D'Andrea'nın⁽¹⁾ benzer tanımlamalarından sonra aynı yıl içerisinde Olesen⁽¹⁵⁾ NO'nun migren ve diğer tip vasküler baş ağrılarında anahtar bir molekül olduğunu ifade etmiştir. 1995 yılında Lassen ve arkadaşları H1 reseptörleri tarafından indüklenen migrende NO hipotezini ortaya atmış⁽¹¹⁾ aynı yıl Fabricius migrende arginin ve NO yolu ile yaygın kortikal depresyonda serebrovasküler regülasyonu açıklamıştır. Benzer çalışmalar Gallai, Stepien ve Shoimomura tarafından bildirilmiştir.^(4, 24,22) 1996 yılında Nattero⁽¹⁴⁾ migrenlilerde NO ve endotelin -1'in TCD ile ilişkisini göstermiş, 1997 yılında Griffiths NO-migren ilişkisi üzerine genetik bağlantıları ortaya koymuştur.⁽⁵⁾ NO yalnız migren değil başta gerilim ve supraorbital baş ağrıları olmak üzere birçok baş ağrısı fizyopatolojisinde de rol oynar.⁽¹⁶⁾ 1999 yılında Sarchielli günlük süregelen baş ağrısında nitrik oksitin önemini belirtmiştir⁽²¹⁾.

MATERYAL METOD

Çalışmaya Şubat 1999 - Haziran 1999 tarihleri arasında Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi Baş ağrısı polikliniğine başvuran ve 1988 Uluslararası Baş ağrısı Birliği sınıflamasına göre migren tanısı konulan, her iki cinsten görülme oranına uyacak şekilde 17-65 yaşları arasında 22'si bayan (Ortalama yaş 32.9109±9.0796), 14'ü erkek (ortalama yaş 32.2379±9.2101) toplam 36 migrenli hasta (ortalama yaş 32.6287±9.0213) alındı. Bu hastaların daha önceden profilaktik migren tedavisi almamış olmalarına dikkat edildi. 22-45 yaşları arasındaki kontrol grubu ise 15 erkek (ortalama yaş 32.6023±7.7998), 15 bayan (ortalama yaş 33.86809.1668) toplam 30 kişiden (ortalama yaş 33.2285±8.3664) oluşturuldu. Grupların yaş ve cins yönünden benzer özellikte olmasına dikkat edildi Migrenli hastalar çalışmaya alınırken alt grup ayrımı yapılmadı. Ağrı şiddetini değerlendirmek için verbal ve visuel analog skala uygulandı. Serum nitrik oksit düzeyi(nitrattan indirgeme ile oluşturulan nitrit ve indirgenme öncesindeki mevcut nitrit) uygun çözeltiler varlığında RA-50 spektrofotometresiyle ölçüldü. İstatiksel analizde t-testi, Spearman korelasyonu

ve Mann Whitney U testi kullanıldı.

SONUÇLAR

Hastalarımızın ağrı yaşı 1-25 yıl arasında değişmekle birlikte ortalama 9±4.25 yıldır. Atak sıklığı ayda 6±2.27 olarak tesbit edilirken ağrı süresi 36±12.4 saat, şiddeti ise visuel analog skalaya göre 8.5±2.15 idi.

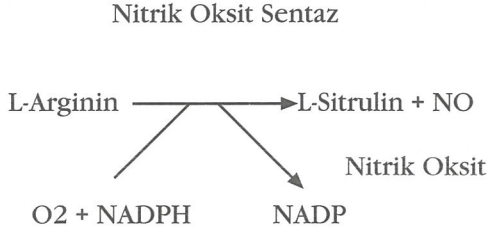
Vakalarımızın inisyel serum nitrik oksit düzeyleri kadınlarda, erkeklerde ve global olarak ayrı ayrı sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak yüksekti (p0.001). Migrenli hastalarda atak nitrik oksit düzeylerinin inisyallere göre de istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı şekilde arttığı görüldü. (p0.001). Migrenlilerde, cinsler arasında inisyel ve atak dönemlerinde ölçülen serum nitrik oksit düzeyleri arasında istatistiksel farklılık saptanmadı (p0.05). Kontrol grubunda da her iki cins arasında fark yoktu.

Migrenli hastaların inisyel serum nitrik oksit düzeyleri ile hastalık yaşı atak sıklığı ve atak süresi arasında istatistiksel bağ kurulamadı. Atak NO düzeyleri ile hastalık yaşı (r:0.01) ve atak süresi (r:0.06) arasında bağlantı kurulamazken atak sıklığı (r:0,34), atak şiddeti (r:0.289 ve atak saati (r:0.20) arasında aynı yönde, geçerli, anlamlı bağlantı varlığı dikkat çekti.

TARTIŞMA

1980'de Furchgatt ve Zawadzki⁽³⁾, endotel hücrelerinde asetil kolin uyarısı ile sentezlenen ve damar düz kaslarını gevşeten bir maddenin varlığını gösterdiler. Bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verildi. 1987'de iki grup araştırmacı damar endotel hücrelerinden nitrik oksit (NO)'in salındığını, nitrik oksit ile EDRF'in etkilerinin farklı olmadığını bildirdiler. Günümüzde, nitrik oksitin endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olduğu kabul edilmektedir.^(9,10,23)

Nitrik oksit organizmada geniş dağılımı olan, nitrik oksit sentaz EC 1.14.13.39 (NOS) katalizörlüğünde L-arginin, L-sitrülin dönüşümü esnasında oluşturulur. Arginin, O₂ ve NADPH; nitrik oksit sentazın substratlarıdır. FMN, FAD, hem ve tetrahidrobiopterin bu enzimin koenzimleridir. Nitrik oksit ve sitrulin ise bu



Şekil : Nitrik oksit molekülünün, nitrik oksit sentaz katalizörülüğünde L-Arginin, L-Sitrulin dönüşümü esnasında oluşumu.

reaksiyonun ürünleridir (17).

Nitrik oksitin fonksiyonları

- 1-Düz kas relaksasyonu
- 2-Trombosit agregasyonunu önleme
- 3-Beyinde nörotransmitter fonksiyonu
- 4-İnflamasyon ve savunma mekanizmalarında aracılık (17)

Nitrik Oksit Sentaz EC 1.14.39 İzoenzimleri

Nitrik oksit sentaz EC 1.14.13.39 (NOS) enziminin üç izoformu bilinmektedir.(6)

1- Endotel hücrelerinde bulunan 135 kD olan kalsiyum bağımlı enzim (constitutive NOS=eNOS)

2- Nöron ve iskelet kasında bulunan 168 kD olan NOS (neuronal NOS=nNOS)

3- Bakteriyal endotoksin ve iltahabi sitokinlerin etkisi ile oluşan 130 kD olan kalsiyuma bağımlı olmayan NOS (inducible NOS=iNOS) nNOS nöronal dokularda bulunur, ekspresyonu sürekli olarak yapılır ve kalsiyuma bağımlıdır. eNOS ise ilk olarak vasküler endotelial hücrelerde tespit edilmiş ve sürekli olarak sentezi yapılan bu izoformun da kalsiyuma bağımlı olarak çalıştığı bulunmuştur. Bu enzim endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) nin sentezinden sorumludur. iNOS ise endotoksin ve sitokinler ile indüklenebilen, makrofajlar ve karaciğer hücrelerinde bulunan izoformdur. iNOS diğerlerinden farklı olarak kalsiyum konsantrasyonuna bağlı değildir, çünkü kalmodülün bu enzime kendiliğinden, bir düzene bağlı olmadan bağlanır. Her üç tip izoformun da indüklenebilir olduğu çeşitli hücre tiplerinde ve dokularda olduğu bilinmektedir. Örneğin, iNOS

bakteriyal ürünlerle ve sitokinler ile indüksiyon sonucu, eNOS şer stres ve östrojen sonucu, nNOS ise östrojen ve testosteron etkisiyle meydana gelebilir (6).

Nitrik oksit vasküler düz kasın kontrolünde önemli bir medyatördür. L-arginin guanido grubundaki azotun moleküler oksijen ile reaksiyonu sonucu bu serbest radikal gaz oluşmaktadır. L-sitrülin; nitrik oksit oluşumundan önceki ara metabolittir. Nitrik oksit endotelde oluşuktan sonra damar düz kasına difüze olur ve burada çözünür guanilat siklazın hem demirine bağlanarak aktive eder. cGMP oluşumunu artırır. Nitrik oksitin diğer bir etkisi de tiyol grupları ile reaksiyona girerek S-nitrozilasyona neden olup proteinlerle reseptörlerin fonksiyonlarını değiştirmesidir (13,20).

Vasküler sistemden kaynaklanan düzenlemeler ile kan basıncı artırılır veya azaltılır. Sempatik sinir sistemi ve renin-angiotensin sistemi kan basıncını artırır, kan basıncını düşürme ise endotel kökenli olan nitrik oksit ile gerçekleştirilir. Nitrik oksitin oluşturulması için substrat, kofaktörler ve nitrik oksit sentazın optimum miktarlarda bulunması gerekir. Kalsiyum; gerek endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), gerekse nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) aktivasyonu için gereklidir. Nöral ve endotelial hücreler eğer ortamda 10^{-7} mol/ L'den fazla iyonize kalsiyum varsa, nitrik oksit üretimi yaparlar. Kalsiyum konsantrasyonundaki bu artış endotelial hücrelerin yüzeyindeki reseptörleri aktive eder.(3,19)

Asetilkolin, bradikinin, endotelin, serotonin gibi bir çok fizyolojik agonist bu reseptörleri aktive ederek nitrik oksit salınımını sitümüle ederler.

Kan akışı sırasındaki bir shear stres endotelial yüzeyde nitrik oksit sentaz aktivasyonunu artırır. Kan akışındaki artış aynı zamanda shear stresi de artırır. Bu da nitrik oksit salınımını artırarak bir vazodilatasyona neden olur.

Bradikinin veya asetilkolin ile vasküler endotelde oluşan shear stres veya reseptör aktivasyonu sonucu kalsiyum düzeyi artar. İntrasellüler iyonize kalsiyum artışı konstitütif nitrik oksit sentazı stimüle eder ve bu enzim de L-argininden L-sitrülin dönüşümünü gerçekleştirir. Bunun sonucu nitrik oksit meydana gelir ve hemen yakınındaki düz kas hücresine difüze olur

ve yukarıda belirtildiği gibi çözünür guanilat siklazı aktive ederek guanozin trifosfat (GTP)'den siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu arttırır. Bu da düz kas hücrelerinde bir relaksasyona neden olur. Bir çok nitrovazodilatatörün etkisi ile de nitrik oksit salıverilmesi oluşur. Oluşan vazodilatör tonusta nitrogiliserin ve sodyum nitroprussid gibi endojen nitrovazodilatatörlerin de etkisi vardır. Bu komponentler de nitrik oksite dönüşerek çözünür guanilat siklazı aktive ederek guanozin trifosfattan, siklik guanozin monofosfat oluşumunu sağlayarak yine düz kas hücrelerinde bir relaksasyona neden olur (12,18,25).

Migren-NO ilişkisi ise ilk kez 1993 yılında Thomsen ve 1994 yılında Olesen ve D'Andrea tarafından ortaya çıkartılmıştır (22,15,1). Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda NO-migren ilişkisini belli başlı dört başlık üzerinde toplamak mümkündür.

1- NO kendisine bağlı perivasküler sinirler aracılığıyla (noradrenerjik, norkolinerjik) serebral regülasyon için önemli olan nörojenik vazodilatasyon üzerine etkilidir. NO intrakranyal perivasküler duyuşal sinirlerdeki vazodilatör paptidleri serbestleştirici etkiye sahiptir

2- NO SSS'de ağrı oluşumunda(hiperaleji) rolü olan nörotransmisyonu aracı olur(4).

3- NO trombosit agregasyonunu inhibe eder ve sitoplazmik siklik guanozin monofosfat üzerine etki eden bir endotel kaynaklı gevşetici faktördür. Trombositler kollagen tarafından uyarıldıklarında NO üretirler ve substrat olarak L-Arginin kullanırlar. NO seviyesindeki bu artış bir feed back mekanizmasıyla trombosit adhezyonunu, agregasyonunu ve vazokonstriktör substratların ataklar arası dönemde salınımını etkiler. Bu durum migren atağının başlangıç fazındaki vazokonstiksiyona sebep olur.

4- NO'nun migren patofizyolojisinde önemli rol oynayan nonspesifik immun yanıt, inflamatuvar cevap ve nörotoksisite üzerine de etkisi vardır.(2,7)

Yukarıda sayılan etkileri nedeniyle NO'in migren fizyopatolojisinde anahtar bir molekül olduğu düşünülmektedir.

Bizim sonuçlarımız hem erkek hem de bayan migrenli hastalarda inisyal ve atak döneminde ölçülen serum NO düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunduğunu göstermekteydi. Migrenlilerde NO

düzeylerindeki artış atak döneminde daha belirgindi.

Son yıllarda NOS inhibitörlerinin migren atak tedavisinde kullanılabileceğini ifade eden araştırmalar bulunmaktadır.1988'de Lassen ve Ashina bir NOS inhibitörü olan LNG metilargininhidrokloridi 6mg/kg dozunda atak tedavisi olarak uygulamış ve sonucun olumlu olduğunu belirtmişlerdir (11). Migren atak ve profliktik tedavisinde kullanılan kortikosteroidler, PAF antagonistleri, NSAİD ilaçlar ve sumatriptanın NO üzerine olan etkisi birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır (8). Çalışmamızda atak şiddeti ve sıklığı fazla olan migrenlilerde serum NO düzeyinin daha yüksek olarak saptanması özellikle bu tip hastalarda NOS inhibitörlerinin kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Özetle bu çalışmanın sonuçları migrenli hastalarda serum NO. seviyelerinin yüksek olduğunu ve bunun ağrı karakterlerini etkilediğini göstermektedir. Migrenin profliksi ve atak tedavisinde kullanılan ilaçların NO düzeyleri üzerine olan etkisinin saptanması ve özellikle atakta NOS inhibitörlerinin aktif olarak kullanılabilmesi için geniş çaplı, placebo kontrollü, çift kör çalışmaların yapılması gerekmektedir. Tedavi sonrası kan düzeylerinin karşılaştırılması ve ağrı üzerine etkisinin belirlenmesi ile NOS inhibitörlerinin tedavide yeni seçeneklerden biri olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- D'Andrea G, et al. Decreased collagen-induced platelet aggregation and increased platelet arginine levels in migraine: a possible link with the NO pathway. *Cephalalgia*. 1994; 14 (5): 352-356.
- 2- Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992; 32: 297-311.
- 3- Furchgott R. F. Studies on Endothelium-dependent Vasodilation and the Endothelium-Derived Relaxing Factor. *Acta Physiol. Scand*. 1990; 139: 257-270.
- 4- Gallai V. L-arginine/nitric oxide pathway activation in platelets of migraine patients with and without aura. *Acta Neurol Scand*. 1996; 94: 151-160.
- 5- Griffiths LR. Migraine association and linkage studies of an endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphism. *Neurology*. 1997; 49: 614-617.
- 6- Harald H.H.W. Purification and characterization of a human NO synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1991;181: 1372-1377.
- 7- Houston DS, Shepherd JT, Vanhoutte PM. Adenosine nucleotides, serotonin and endothelium-dependent relaxations to platelets. *Am J Physiol*. 1985; 248: H389-395
- 8- Iversen HK. Headache induced by a nitric oxide donor (nitroglycerin) responds to sumatriptan. A human model for development of migraine drugs. *Cephalalgia*. 1996; 16: 412-418.
- 9- Kilbourn R.G., Jubran A., Gross S.S., Griffith O.W., Lewi R., Adams J. And Lonato R.F. Reversal of endotoxin-mediated shock by N-Methyl-L-Arginine an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1990; 172: 1132-1138.
- 10- Kostra P., Jang E., Watson E.D., Stewart J.L. and Daniel E.E. Nitric oxide synthase in the autonomic nervous system of canine ileum. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1993 264: 234-239.
- 11- Lassen LH. Nitric oxide synthase inhibition: a new principle in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia* 1998; 18: 27-32.
- 12- Meller ST, Gebhart GF. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain* 1993; 52: 127-136.
- 13- Moncada S., Higgs E.A. The L-arginine-Nitric oxide Pathway. *New Engl. Med*. 1993; 329: 2002-2012.
- 14- Nattero G. Nitric oxide, endothelin-1 and transcranial Doppler in migraine. Findings in interictal conditions and during migraine attack. *Headache* 1996; 36: 307-311.
- 15- Olesen J. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci*. 1994; 15 (5): 149-153.
- 16- Olesen J. The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches. *Cephalalgia* 1995; 15: 94-100.
- 17- Pamela C.C., Harvey R.A. Basic Concepts of Metabolism. Lippincott's Illustrated Reviews. Biochemistry Second Edition J.B. Lippincott Company, Philadelphia. 1994; pp: 85.
- 18- Richard G. Knowles. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc. Natl. Acad. USA*. 1989; 86: 5159-5162.
- 19- Richard M.J. Palmer. L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1988; 153: 1251-1256.
- 20- Richard M.J. Palmer, D.S. Ashton. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988; 333: 664-666.
- 21- Sarchielli P. Variations in the platelets arginine/nitric oxide pathway during the ovarian cycle in females affected by menstrual migraine. *Cephalalgia* 1996; 16: 468-475.
- 22- Shimomura T. Platelet nitric oxide metabolites in migraine. *Cephalalgia* 1999; 19: 218-222.
- 23- Stark M.E., Szurszewski J.H. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*. 1992; 103: 1928-1949.
- 24- Stepien A. Level of nitric oxide-dependent cGMP in patients with migraine. *Cephalalgia* 1998; 18: 631-634.
- 25- Steven S. Gross. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu. Rev. Physiol*.1995; 57: 737-769.

