

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. J. Deckert

Migräne und das serotonerge System

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von

Anna Laura Herzog
aus Ebelsbach
Würzburg, Januar 2008

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. R. Mössner

Koreferentin: Prof. Dr. med. C. Wanner

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Oktober 2008

Die Promovendin ist Ärztin

1.	Einleitung	5
2.	Theoretische Grundlagen	6
2.1.	Migräne	6
2.1.1.	Geschichtlicher Überblick	6
2.1.2.	Epidemiologie	7
2.1.3.	Klassifikation, klinische Manifestation und Diagnostik	8
2.1.4.	Pathophysiologische Entstehungsmodelle	9
2.1.5.	Populationsgenetik	12
2.1.6.	Molekulargenetik	12
2.2.	Das serotonerge System	14
2.2.1.	Geschichtlicher Überblick	14
2.2.2.	Neuroanatomie	15
2.2.3.	Die Tryptophanhydroxylasen	18
2.2.4.	Signalbeendigung	19
2.2.4.1.	Serotonintransporter	19
2.2.4.2.	Katabolismus	20
2.2.5.	Serotoninrezeptoren	20
2.2.5.1.	Gruppe der 5HT₁-Rezeptoren	21
2.2.5.1.1.	5-HT _{1A} -Rezeptor	21
2.2.5.1.2.	5-HT _{1B} -Rezeptor	22
2.2.5.1.3.	5-HT _{1D} -Rezeptor	23
2.2.5.1.4.	5-HT _{1E} -Rezeptor	23
2.2.5.1.5.	5-HT _{1F} -Rezeptor	24
2.2.5.2.	Gruppe der 5-HT₂-Rezeptoren	24
2.2.5.2.1.	5-HT _{2A} -Rezeptor	24
2.2.5.2.2.	5-HT _{2B} -Rezeptor	25
2.2.5.2.3.	5-HT _{2C} -Rezeptor	25
2.2.5.3.	Die 5-HT ₃ -Rezeptoren	26
2.2.5.4.	Der 5-HT ₄ -Rezeptor	27
2.2.5.5.	Die 5-HT ₅ -Rezeptoren	27
2.2.5.6.	Der 5-HT ₆ -Rezeptor	28
2.2.5.7.	Der 5-HT ₇ -Rezeptor	28
2.2.6.	BDNF (brain-derived-neurotrophic-factor) und das serotonerge System	29
3.	Zielsetzung	31
4.	Probandenkollektiv, Material und Methoden	32
4.1.	Patienten- und Kontrollgruppen	32
4.2.	Geräte und Materialien	33
4.2.1.	Oligonukleotide	33
4.2.2.	Enzyme	33
4.2.3.	Chemikalien	34
4.2.4.	Puffer und Lösungen	35
4.2.5.	Geräte	37
4.2.6.	Software	38
4.2.7.	SnaPshot® Multiplexkit	38
4.2.8.	Verbrauchsmaterialien	39

4.3.	Experimentelle Methoden	39
4.3.1.	Extraktion genomischer DNA	39
4.3.2.	Die Standard-Polymerase-Kettenreaktion	39
4.3.3.	Enzymatische Aufspaltung amplifizierter DNA-Sequenzen	41
4.3.4.	Agarosegelelektrophorese und Nachweis durch Ethidiumbromid-färbung	41
4.3.5.	SNaPshot®-Methode	42
4.4.	Statistische Methoden	43
5.	Ergebnisse	44
5.1.	Ergebnisse der Untersuchung des 5HT _{2A} -Rezeptors	44
5.2.	Ergebnisse der Untersuchung des 5HT _{3A} -Rezeptors	46
5.3.	Ergebnisse der Untersuchung der Tryptophanhydroxylase TPH1	48
5.4.	Ergebnisse der Untersuchung des brain derived neurotrophic factor BDNF	50
6.	Diskussion	53
7.	Zusammenfassung	63
8.	Anhang	64
8.1.	Abkürzungsverzeichnis	64
8.2.	Literaturverzeichnis	66

1. Einleitung

Migräne ist eine multifaktorielle neurologische Kopfschmerzkrankung, der allem Anschein nach eine komplexe Vererbung zugrunde liegt. Mit einer Prävalenz von bis zu 20% bei Frauen und bis zu 12% bei Männern der westlichen Industrienationen belastet sie die deutsche Volkswirtschaft jährlich schätzungsweise mit 2,5 Milliarden Euro durch Verdienstaufschläge und Folgeschäden (DMKG, Pressemitteilung 1999, Petersen-Braun et al., 1994).

Im Laufe der letzten Jahre wurde eine Vielzahl möglicher Kandidatengene im Hinblick auf ihren Beitrag zur Migränepathophysiologie untersucht. Allerdings lieferten die meisten Studien bisher keine positiven Ergebnisse oder widersprachen sich. Lediglich für die familiäre hemiplegische Migräne FHM, eine autosomal dominant vererbte Sonderform der Hemikranie, konnten mehrere ursächliche Genloci identifiziert werden.

Das genaue Zusammenspiel genetischer und pathophysiologischer Komponenten ist indes noch nicht eindeutig geklärt. Die Tatsache dass der Plasmaserotoninspiegel im akuten Anfall einen deutlichen Abfall verzeichnet und die Konzentration des 5-HT-Metaboliten 5-Hydroxyindolessigsäure ansteigt (Ferrari et al., 1989) lenkte die Aufmerksamkeit der Migräneforschung zunehmend auf das serotonerge System. Bereits seit Jahren werden 5HT_{1B} und 5HT_{1D}-Rezeptor-Agonisten erfolgreich zur Behandlung von Migräneattacken eingesetzt, ihre genaue biochemische Wirkungsweise ist allerdings noch unklar.

Mit insgesamt 15 verschiedenen Rezeptorsubtypen bietet das serotonerge System ein breites Spektrum möglicher Ansatzpunkte für weitere Forschung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Gene der 5HT-Rezeptoren 5HT_{2A} und 5HT_{3A} sowie der serotoninproduzierenden Tryptophanhydroxylase 1 und des brain derived neurotropic factor (BDNF) im Hinblick auf Assoziation mit Entstehung einer Migräne untersucht. Betrachtet wurden hierfür jeweils bereits bekannte funktionale Promotorpolymorphismen, grundlegende Techniken waren Polymerasekettenreaktion und die SNaPshot™-Methode.

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Migräne

Bei Migräne handelt es sich um anfallsartige, oft pulsierende mittelstarke bis starke Kopfschmerzen die meist einseitig auftreten. Zusätzlich kommt es häufig zu vegetativen, visuellen oder neurologischen Begleitsymptomen. (Refsum, 1968; Raskin 1988; Miller, 1991)

2.1.1. Geschichtlicher Überblick

Die Geschichte der Migräne lässt sich bis in die Antike, bei wohlwollener Betrachtung sogar noch weiter zurückverfolgen. Durch zahlreiche prominente Betroffene wie Julius Caesar, Thomas Jefferson, Alfred Nobel oder Otto von Bismarck (Wenzel et al 1995) fand sie vielfältigen Eingang in Literatur und Kunst. Ihre vielen Gesichter und ihr großer Einfluss auf das Leben der Betroffenen erweckten und erwecken heute noch großes Interesse an der bisher immer noch nicht vollständig geklärten Ätiologie sowie Klinik und Therapie dieses ubiquitären Leidens.

Nach derzeitiger Meinung befinden sich die ältesten Aufzeichnungen über typische Migränekopfschmerzen auf einer mittelbabylonischen Keilschrifttafel aus der Bibliothek Tiglatpilesers I (1115-1077 v. Chr) (Köcher 1963). Ebenso wird in dem undatierten assyrischen Lehrgedicht „Sin-lumã“ ein Patient beschrieben der an Kopfschmerzen litt und dazu eine Blendung seiner Augen angab und am hellen Tag schwarze Sternchen wahrnahm. Dies scheint der erste eindeutige Hinweis aus der Vorantike auf eine Migräne mit Flimmerskotom zu sein. Während in den Schriften des Hippokrates (460-375 v. Chr) nur wenige Anhaltspunkte für eine eindeutige Schilderung von Migränesymptomen enthalten sind lieferte der griechische Eklektiker Aretaios von Kappadokien (81-138?) die erste klare Bestandsaufnahme des Krankheitsbildes, das er als „Heterokranie“ bezeichnete. Wenig später lieferte Galen (129-199) die ersten pathophysiologischen Vorstellungen zur Ätiologie der Erkrankung der er fortan den Namen „Hemikranie“ gab. Als klassischer Vertreter der Humoralpathologie vertrat er die Ansicht die typischen Kopfschmerzen entstünden durch das Aufsteigen schlechter Säfte von den Eingeweiden zum Gehirn (Consensus-Theorie) wodurch sich die Blutgefäße dort verengten. Hiermit wurde er zum Erstbeschreiber des vaskulären Entstehungsmodells der Migräne welches noch bis heute von Bedeutung ist. Mitte des 19ten Jahrhunderts entstand eine weitere Theorie: Der Berliner Physiologe Emil de Bois-Reymond (1818-1896) glaubte als Ursache der Hemikrania eine Reizung des Nervus Sympathikus mit anschließendem Gefäßkrampf. Wie später Edward Leveining (1832-1919), der die Migräne als zerebralen „nerve-storm“ betrachtete, sah er ihre Entstehung eher neurogener Natur.

Die Entdeckung des Enteramins welches im Darm die Motilität fördert (Erspamer et al., 1940), anschließend des Serotonins das im Serum zur Gefäßkonstriktion führt (Rapport et al., 1948) und dem kurz darauffolgendem Nachweis dass es sich bei beiden um dieselbe Substanz handelt (Espamer et al., 1952) schien erstmals eine plausible Verbindung beider Erklärungsansätze zu liefern. Auch die Wirksamkeit der Triptane, der Stoffklasse der Serotonin-Rezeptoragonisten mit hoher Ansprechrate während des akuten Anfalls, untermauert sowohl eine vaskuläre als auch neurogene Ursache der Migräne. Bis heute liefert die Erforschung ihrer Pathophysiologie eine Vielzahl an Hypothesen (siehe 2.1.4.). Gegenwärtig gilt die Migräne als eine komplexe Erkrankung an deren Entstehung eine große Anzahl verschiedener Einflussfaktoren beteiligt sind

2.1.2. Epidemiologie

Die Einjahresprävalenz der Migräne wird bei Frauen mit durchschnittlich 12-14% und bei Männern mit 5-7% angegeben. (Poeck und Hacke 2001). Diese Angaben sind sowohl alters- als auch geschlechtsabhängig und differieren in verschiedenen kulturellen, sozialen und ethnischen Kreisen. Das Alter der Erstmanifestation liegt zunächst bei Knaben mit 10-12 Jahren geringfügig unter dem der Mädchen mit 14-16 Jahren (Breslau und Rasmussen, 2001). Bis zur Pubertät liegt die Prävalenz bei beiden Geschlechtern etwa gleich, danach steigt sie bei Frauen stärker an als bei Männern und fällt nach dem 45ten Lebensjahr bei beiden Geschlechtern gleichermaßen wieder ab (Lipton und Stewart, 1992). Dieses Phänomen impliziert auch ein Mitwirken hormoneller Regelkreise in der Pathophysiologie der Migräne.

Oben genannte Zahlen beziehen sich auf die westlichen Industrieländer in welchen die Ausbreitung der Migränekrankheit überall ungefähr gleich ist. Asiatische und afrikanische Länder zeigen hingegen wesentlich niedrigere Prävalenzraten (3% Äthiopien, 8% in Japan und 1,5% in Hongkong) (Breslau und Rasmussen, 2001). Innerhalb eines multikulturell gemischten Landes wie zum Beispiel den USA lassen sich die Unterschiede zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen deutlich darstellen. In einer Studie von Stewart, Lipton und Libermann von 1996 war die Prävalenz bei Kaukasiern mit 20,4% unter den weiblichen Probanden (8,6% der männlichen) signifikant höher als unter afrikanischen (w 16,2%, m 7,2%) oder asiatischen Amerikanern (w 9,2%, m 4,2%). Eine 2003 von Steiner et al. veröffentlichte Studie aus Großbritannien konnte dieses Ergebnis reproduzieren, auch hier lag die Prävalenz bei Nicht-Kaukasiern nur halb so hoch wie bei Kaukasiern (18,3% w, 7,6% m).

Auch zeigt sich eine gewisse Abhängigkeit vom Sozial- und Einkommensstatus: Bei einem Jahreseinkommen unter 10000\$ liegt die Anzahl der Migräniker mit 20,8% w und 7% m deutlich über der Gruppe >45000\$/a mit 16,3% w und 5,3% m (Stewart et al., 1992). Allerdings erklärt die Studie nicht vollständig ob diese Zahlen wirklich aus Unterschieden in ärztlicher Versorgung, Ernährung und

Lebensumständen resultieren oder die Erkrankung selbst die Ausbildung des Patienten behindert und ihn so in eine geringere Einkommensstufe platziert.

2.1.3. Klassifikation, klinische Manifestation und Diagnostik

Die heute aktuelle Einteilung der Migräne sowie aller anderer Kopfschmerzschmerzarten erfolgt nach den Kriterien der International Headache Society IHS von 2003. Sie ist unterteilt in 6 Hauptgruppen sowie weitere 17 Untergruppen. Die beiden größten Gruppen stellen dabei mit etwa 70% der Betroffenen die Migräne ohne Aura (MO), und die klassische Migräne mit Aura (MA) mit ungefähr 30% der Patienten. Die Gruppenzugehörigkeit ergibt sich anhand von Diagnosekriterien wie Mindestanzahl und Dauer der Attacken, Schmerzintensität und Lokalisation sowie dem Vorhandensein von Begleiterscheinungen.

Den Attacken beider Formen können wenige Stunden bis 2 Tage vorher unspezifische Vorboten vorhergehen. Dazu zählen verschiedene Kombinationen der Symptome Müdigkeit, Konzentrationsstörungen, Übelkeit, Sehstörungen, Gähnen oder erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Licht und Geräuschen. Sprachstörungen und Schwierigkeiten beim Lesen oder Schreiben haben dabei den höchsten prädiktiven Wert eine Migräneattacke korrekt vorherzusagen (Giffin et al., 2003). Die Zuverlässigkeit steigt je kürzer der Abstand zwischen Vorboten-Syndrom und tatsächlichem Migräneereignis. Diese Erscheinungen sind nicht zu verwechseln mit der unten beschriebenen klassischen Aura, weswegen die IHS ausdrücklich von Bezeichnungen wie „Prodromi“ oder „Warnsignale“ abrät.

Bei 90% aller Migränepatienten sind gewisse Trigger in der Lage einen Migräneanfall auszulösen. Tyraminhaltige Nahrungsmittel wie Nüsse oder Bananen, ebenso Alkohol, ein veränderter Schlaf-Wachrhythmus oder hormonelle Schwankungen werden am häufigsten verantwortlich gemacht.

Die MO zeigt sich als wiederkehrende idiopathische Schmerzerkrankung deren Attacken 4-72 Stunden andauern und bei körperlicher Aktivität bei fast 90 % der Patienten zunehmen (Lance et al., 1966; Winner et al., 2003). Zu ihren typischen Kriterien zählen die einseitige Lokalisation, der pulsierende Charakter und die mittlere bis starke Intensität des Schmerzes. Zusätzlich treten Begleitphänomene wie Übelkeit, Erbrechen, Licht- und Lärmscheue auf.

Bei der MA gehen den typischen Kopfschmerzen eine Reihe fokalneurologischer Phänomene voraus die meist auf die Retina oder die Großhirnhemisphäre zu beziehen sind. Diese sogenannte Aura entwickelt sich innerhalb von 5-20 Minuten und ist größtenteils (92%, Kelman et al., 2004) visueller Art wie

Augenflimmern, wandernde Skotome oder seltener homonyme Hemianopsie. Es kann aber auch zu Parästhesien beziehungsweise Hyperästhesien, aphasischen Sprachstörungen sowie Halbseitenlähmungen kommen. Diese Symptome dauern maximal eine Stunde an und sind vollkommen reversibel. Danach folgt ein zeitlich variables freies Intervall mit anschließendem Beginn der oben beschriebenen Symptomatik. Weitere Unterformen der MA sind Aurasymptome ohne, beziehungsweise mit anderen Kopfschmerzen, die familiäre und sporadische hemiplegische Migräne sowie die Basilarismigräne.

Die Diagnose der Migräne wird hauptsächlich klinisch anhand der oben genannten IHS Leitlinien gestellt (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 1988). Für die MO gilt dabei, dass mindestens fünf dieser Attacken stattgefunden haben müssen, bei der MA wenigstens zwei, wobei eine andere Ursache der Kopfschmerzen sicher ausgeschlossen sein muss. Eine positive Familienanamnese und Erstmanifestation in der Pubertät gelten ebenso als wichtige Hinweise.

2.1.4. Pathophysiologie Entstehungsmodelle

Derzeit existiert kein vollständig verifizierter Nachweis eines einzelnen Mechanismus zur Pathophysiologie der Migräne. Über Jahre wurden immer neue Theorien angedacht aber keine lieferte bis zum heutigen Zeitpunkt eine befriedigende Erklärung. Wahrscheinlicher ist ein Zusammenspiel vieler Einzelkomponenten welches für Entstehung und Ablauf dieser komplexen Schmerzerkrankung verantwortlich ist.

Wolff et al. sahen bereits in den 40ern und 50ern des letzten Jahrhunderts eine vaskuläre Spastik als Ursache der Migräne. Diese Theorie war bis weit in die 90er allgemein gültig. So machten Moskowitz et al. 1996 die Vasokonstriktion für die Entstehung der Aura und die nachfolgende Vasodilatation als Ursache des Schmerzes verantwortlich. Die MA ging dabei in der Phase der Aurasymptome mit einer reduzierten regionalen Hirndurchblutung einher welche bei der MO nicht nachgewiesen werden konnte. Russel et al. wiesen 2002 bei beiden Formen während der Kopfschmerzphase eine Weitstellung der Arteria cerebri media nach. Diskutiert wird derzeit noch ob die verminderte Hirndurchblutung ausreicht Aurasymptome auszulösen und wie es zur ebenfalls beobachteten lokalen Hirnschwellung kommt. Auch ist nicht ganz klar ob die vaskulären Veränderungen als Ursache für die neuronale Aktivität anzusehen sind oder lediglich als deren Begleiterscheinungen (Olesen et al.1990).

Die auf Grund neuer molekulargenetischer und bildgebender Verfahren wie PET, MRT und transkranielle Dopplersonographie entstandenen Theorien zur Pathophysiologie gehen größtenteils von neuronalen Fehlfunktionen als Ursache der Migräne aus.

Das Phänomen der „cortical spreading depression“ (CSD) bezeichnet eine relativ kurze Depolarisationswelle die sich von okzipital nach frontal mit einer Geschwindigkeit von 2-5 Millimetern pro Minute über den Cortex ausbreitet (Lauritzen et al. 1987). Diese unilateral verlaufende Exzitation führt zu einer vorübergehenden Unterdrückung der normalen neuronalen Aktivität sowie zur Reduktion der regionalen Hirndurchblutung. Die Nervenzellen bleiben anschließend für etwa eine Minute unerregbar, was zu Störungen im Ionenmetabolismus der einzelnen Zellen führt (Baloh et al., 2000). Obwohl die CSD bisher nur im Tierversuch nachgewiesen wurde wird sie von der Beobachtung gestützt, dass bei MA während der Auraphase die Durchblutungsminderung nachweislich mit der gleichen Geschwindigkeit wie die neuronale Depolarisation wandert. Möglicherweise stellt die CSD ein Korrelat der Migräneaura dar, sie scheint jedoch nicht in kausalem Zusammenhang mit der Schmerzsymptomatik zu stehen (Ferrari 1998b).

Da das Gehirn selbst nicht schmerzempfindlich ist gehen Kopfschmerzen meist von sensiblen Fasern des Trigeminiernervs aus. Diese innervieren die Blutgefäße der Meningen, der extrakraniellen Arterien und die des Circulus Arteriosus Willisii und enthalten Nozizeptoren die in der Lage sind Schmerzimpulse zu generieren. Seit längerem wird als Kopfschmerzursache die „sterile neurogene Entzündung“ des Gehirns diskutiert. Diese neurovaskuläre Theorie geht davon aus, dass sowohl Migränetrigger als auch die CSD in der Lage sind Axone des oben genannten trigeminovaskulären Systems zu aktivieren, was zu einer Ausschüttung verschiedener vasoaktiver Neuropeptide und anderer Schmerzmediatoren wie Substanz P, Neurokinin A oder CGRP führt (Goadsby et al., 1993). Diese wirken als potente Vasodilatoren und begünstigen die Extravasation von Plasmaproteinen und Flüssigkeit aus den umliegenden Gefäßen. Lassen et al. zeigten 2002, dass intravenöse CGRP-Infusion innerhalb der nächsten 11 Stunden zu Kopfschmerzen führte. Für CGRP konnten allerdings keine erhöhten Plasmaspiegel während der akuten Attacke nachgewiesen werden (Tvedskov et al., 2005). Aktiviert übermittelt der Nervus trigeminus über afferente C-Fasern Impulse an höhere kortikale Schmerzareale wobei es zu einer zentralen Sensibilisierung kommen kann. Auch zeigt sich während der Attacke eine Aktivierung mesenzephaler Zentren die auch nach medikamentöser Unterbrechung des Schmerzes bestehen bleibt (Weiller et al. 1995). Ursächlich für die Hemikranie scheint also nicht allein die Vasodilatation selbst, sondern die Begleitphänomene im umliegenden Gewebe zu sein. Immer noch unklar bleibt dabei wie es zur Initiierung der neurogenen Entzündungsreaktion kommt (Ebersberger 2002). Angedachte Theorien wie ionische und metabolische Störungen ähnlich der CSD als auch abnormale Aktivitäten in sensorischen Kernen des Hirnstamms wurden jedoch nie endgültig bewiesen.

Gezeigt werden konnte jedoch anhand von PET-Studien, dass anti-nozizeptive Strukturen wie periaquäduktales Grau, Locus coeruleus und die Raphekerne im Hirnstamm eine Schlüsselrolle bei der Generierung von Migräneanfällen spielen (Weiller et al., 1995; Diener 1997; Geraud et al., 2005).

Deszendierende Bahnen dieser Kerne sind in der Lage das trigeminale nozizeptive System zu modulieren. Während der Migräneattacke kommt es nun zu einer Sensibilisierung der ipsilateralen trigeminalen Nozizeption, worauf sich die Hypothese stützt, dass eine Dysfunktion der oben genannten Hirnstammkerne durch Enthemmung der trigeminalen Schmerz Wahrnehmung zum Anfall führt (Katsavara et al., 2003).

Stickstoffmonoxid (NO) wird ebenfalls als möglicher pathophysiologischer Erklärungsansatz diskutiert. So zeigten Olesen et al. 1995 die Ausbildung migräneartiger Kopfschmerzen mit gleichzeitiger Dilatation der intrakraniellen Blutgefäße im Anschluss an die Infusion von NO-Donoren. Auch sind NO-Donoren nachweislich im Tierexperiment in der Lage die Ausschüttung von CGRP (Strecker et al., 2003) und anderen Entzündungsparametern (Reuter et al., 2002) zu stimulieren. Borroni et al. konnten 2006 den Nachweis erbringen, dass ein Polymorphismus der NO-Synthase einen Risikofaktor für Migräne mit Aura darstellt.

Obwohl die exakte Pathophysiologie der einzelnen Komponenten eines Migräneanfalls größtenteils ungeklärt ist gibt es deutliche Beweise für eine Schlüsselrolle des Serotonins (5-HT). Während der Attacke wird vermehrt 5-HT freigesetzt, zwischen den Migräneattacken herrschen dagegen niedrige Serotoninplasmaspiegel bei Migränepatienten (Ferrari et al., 1993) und erhöhte thrombozytäre Serotoninspiegel (D'Andrea et al., 1995). Auch steigt die Ausscheidung von Serotonin und 5-Hydroxyindolessigsäure, dem Hauptmetaboliten von Serotonin während des Anfalls akut an was auf eine erhöhte Freisetzung mit erhöhtem Umsatz schließen lässt (Ferrari et al., 1989). Eine Hauptrolle spielen dabei die Serotoninrezeptorsubtypen 5-HT_{1B} und 5-HT_{1D}. 5-HT_{1B}-Rezeptoren werden auf der glatten Muskulatur intrakranieller extrazerebraler Gefäße exprimiert und führen bei Stimulation zu deren Kontraktion. Erregung präsynaptischer 5-HT_{1D}-Rezeptoren bewirkt durch die verminderte Freisetzung von CGRP an trigeminalen A δ -Fasern eine Hemmung der perivaskulären Entzündungsreaktion (Ferrari 1998b). Auch wirken heutige hochpotente Medikamente die im akuten Anfall zum Einsatz kommen bevorzugt an diesen Rezeptoren. Mutterkornalkaloide vom Ergotamintyp und die heute gängigeren, besser verträglichen Triptane funktionieren dort als Agonisten. Sie führen dementsprechend zur Konstriktion der im akuten Anfall dilatierten Gefäße, hemmen die Freisetzung verschiedener Schmerzmediatoren und besitzen möglicherweise eine zentrale Wirkkomponente durch Unterbrechung der trigeminalen nozizeptiven Transmission zum Nucleus caudatus (Moskowitz et al., 1993). Welche Rolle die einzelnen Serotoninrezeptoren letztendlich im Migräneanfall spielen konnte allerdings bis jetzt noch nicht nachgewiesen werden.

2.1.5. Populationsgenetik

Schon seit den Zwanziger Jahren ist bekannt, dass Migräne einer familiären Häufung unterliegt wobei bis heute der genaue Vererbungsmodus nicht geklärt ist (Allen, 1928; Goodell et al., 1954; Dalsgaard-Nielsen, 1965). Bei einer Prävalenzrate von 20% in der Gesamtbevölkerung können jedoch auch mehrere Mitglieder einer Familie betroffen sein ohne dass Vererbung eine Rolle spielt. Zudem ist das Auftreten von Migräne ebenso an verschiedene Umwelt-, Sozial- und Einkommensfaktoren gekoppelt (siehe 2.1.2.) was ebenfalls eine eindeutige Aussage über Erblichkeit innerhalb einer Familie erschwert.

Russel et al. konnten 1996 zeigen dass, Verwandte ersten Grades eines Patienten mit MO ein 1,9-fach erhöhtes Risiko haben ebenfalls an MO zu erkranken. Das Risiko für die Entwicklung einer MA war 1,4-fach erhöht. Da für Ehepartner ebenfalls ein 1,5-faches Risiko besteht an MO zu erkranken zeigt dies deutlich den Einfluss von sozialen und Umweltfaktoren in der Pathogenese der MO. Anders verhält es sich hingegen bei der MA: Leidet der Indexpatient an MA besteht für Verwandte ersten Grades ein 4fach erhöhtes Risiko ebenfalls eine MA zu entwickeln, jedoch kein erhöhtes Risiko für eine MO. Das Risiko des Ehepartners eines MA-Patienten bleibt hingegen für beide Migräneformen konstant gegenüber der Allgemeinbevölkerung. Daraus folgt einerseits, dass bei der MA genetische Faktoren eine bedeutende Rolle spielen, andererseits lässt sich aus den unterschiedlichen Risiken für Lebenspartner auch ableiten, dass beide Formen unterschiedliche Ätiologien bezüglich Vererbung und Erwerbung haben müssen.

Alle Zwillingsstudien zeigten hingegen, dass die Konkordanzraten bei monozygoten Zwillingen gegenüber dizygoten hochsignifikant bei MA und signifikant bei MO erhöht waren. Im Schnitt betragen diese für eineiige Zwillinge 50% und etwa 14% für zweieiige Paare (Haan et al., 1997). Allerdings lässt sich relativ ungenau abschätzen in wie weit gemeinsame Exposition gegenüber Umweltfaktoren innerhalb einer Familie zur Erkrankungshäufung führen (Baloh 2000).

Segregationsanalysen der 1990er Jahre suggerierten sowohl ein autosomal rezessives Vererbungsmuster (Mochi et al., 1993) als auch ein x-chromosomales Modell begründet mit der Häufung bei Frauen und Verwandten ersten Grades betroffener Männer. Heute geht man am ehesten davon aus bei Migräne handele es sich um eine multifaktorielle Erkrankung mit gleichermaßen umweltbedingten und genetischen Faktoren (Montagna 2000; Russel et al., 1995a). Letztere scheinen bei der MA allerdings relevanter zu sein als bei der MO (Gervil et al., 1999a; Sandor et al., 2002).

2.1.6. Molekulargenetik

Eine Unterform der Migräne nach IHS-Klassifikation ist die familiäre hemiplegische Migräne (FHM). Bei der FHM handelt es um einen seltenen autosomal-dominant vererbten Subtyp der MA. Während der Auraphase kommt es bei den Betroffenen, zusätzlich zu den üblichen visuellen und sensorischen Phänomenen, zu einer reversiblen Hemiplegie. Zerebelläre Symptome wie Ataxie und Vertigo sowie Bewusstseinsverlust wurden ebenfalls beobachtet. Die endgültige Diagnosestellung erfordert zusätzlich das Auftreten der Erkrankung bei mindestens einem Verwandten ersten Grades. Bis zu 75% der Familien mit FHM haben eine Mutation im CACNA1A-Gen (47 Exons, 300kb) auf Chromosom 19p13 das die α -1A-Untereinheit neuronaler P/Q-Kalziumkanäle kodiert (FHM1) (Joutel et al., 1993). Dieser wird bevorzugt an präsynaptischen Nervenendigungen in Hirnstamm, Kleinhirn und der neuromuskulären Endplatte exprimiert und wirkt bei der Kontrolle zentraler und peripherer Neurotransmitter mit (Ophoff et al., 1996). Im Tierexperiment an Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass Veränderungen des CACNA1A-Genes zu Zunahme spontaner Acetylcholinfreisetzung führen. Weitere Mutationen desselben Genes können zudem auch zur spinocerebellären Ataxie Typ 6 und zur episodischen Ataxie Typ 2 führen welche teilweise ebenfalls mit migräneartiger Symptomatik einhergehen (Montagna 2000). Bei 20% der FHM-Familien liegt außerdem eine Missensemutation des ATP1A2-Gens auf Chromosom 1q23-21 vor (Jurkat-Rott et al., 2004), das für die α 2-Untereinheit der Natrium-Kaliumpumpe kodiert welche hauptsächlich im Bereich von Astrozyten vorkommt. Man geht heute davon aus, dass der protrahierten Aurasymptomatik der FHM eine verlängerte cortical spreading depression zugrunde liegt. Moskowitz et al. erklärten dieses Phänomen 2004 folgendermaßen: Bei Depolarisation wird Glutamat in den synaptischen Spalt entleert. Die anschließende aktive Wiederaufnahme in die umliegenden Astrozyten geschieht über die bei FHM2 funktionsgestörte Natrium-Kalium-Pumpe, wodurch Glutamat im synaptischen Spalt kumuliert. Präsynaptisch befinden sich die P/Q-gesteuerten Calciumkanäle deren Dysfunktion zusätzlich zu vermehrter Freisetzung führt. Beide Veränderungen sorgen so für eine verstärkte und verlängerte CSD (Moskowitz et al., 2004). Beide Formen unterscheiden sich nicht nur genetisch, klinisch stehen bei FHM 1 die zerebelläre Symptomatik mit postepisodischem Koma im Vordergrund, wohingegen die FHM 2 vermehrt mit Epilepsie einhergeht (Montagna et al., 2000). Für die Pathophysiologie der Migräne ist vor allem die Mutation auf Chromosom 19p13 relevant, in Geschwisterstudien konnte gezeigt werden, dass diese auch an der Entstehung der MA beteiligt sein könnte (May et al., 1995). Die klinische Ähnlichkeit der Symptomatik und vor allem der Aura sowie das gleichzeitige Auftreten von FHM und MA innerhalb einer Familie sprechen ebenfalls dafür, dass es sich um Krankheitsbilder der gleichen Gruppe handelt.

Eine weitere mit Migräne assoziierte Erkrankung ist die autosomal dominante CADASIL, eine Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie die mit ausgeprägten Migräneattacken vor Allem im Frühstadium einhergeht. Tournier-Lasserre et al. kartierten die

CADASIL 1993 erstmals auf Chromosom 19q12, Baloh et al. wiesen 2000 eine Mutation im Notch3-Gen auf 19p13 nach.

Auch das klinisch divergente MELAS-Syndrom (mitochondriale Encephalomyopathie, Laktat-Azidose und „stroke like Episodes“) tritt bei 70% der Betroffenen sowie vielen ihrer oligosymptomatischen Angehörigen zusammen mit Migräne auf. Die Tatsache dass Migräne häufiger von der Mutter als vom Vater übertragen wird spricht für eine mögliche Mitbeteiligung mitochondrialer DNA. Klopstock et al. konnten in einer Studie mit 23 MA-Patienten allerdings keine spezifische Mutation nachweisen (Klopstock et al., 1996).

Cader et al. fanden jedoch 2003 einen Genlocus auf Chromosom 11q24 innerhalb 43 kanadischen Familien mit autosomal dominanter Transmission der MA welcher für eine Reihe Kandidatengene inklusive einiger Ionenkanäle kodiert. In Zukunft erscheint dies als ein interessantes Gebiet für weitere Forschung.

2.2. Das serotonerge System

Serotonin, ein Indolalkylamin (3-(2-Aminoethyl)indol-5-ol = 5-Hydroxytryptamin), ist ein biogenes Amin das als Mediator und Neurotransmitter in verschiedenen Teilen des Körpers wirkt. Peripher fördert 5-HT die Arterioldilatation der Skelettmuskulatur, an Niere und Lunge hingegen kommt es serotoninvermittelt zur Arteriolenkonstriktion. Am Herzen hat es einen positiv inotropen und chronotropen Effekt, die glatte Muskulatur von Magen-Darm-Trakt, Bronchien und gering auch des Uterus kann es sowohl tonisieren als auch detonisieren. Im ZNS nimmt Serotonin durch komplexe Projektionen Einfluss auf Schlaf- und Wachrhythmus, Körpertemperatur, Schmerzwahrnehmung und Nahrungsaufnahme. Ebenso wird ein Ungleichgewicht im Serotoninstoffwechsel als pathogenetischer Faktor für verschiedene Erkrankungen des ZNS wie Depression oder Migräne diskutiert.

2.2.1. Geschichtlicher Überblick

Vor und nach dem zweiten Weltkrieg eröffneten neu entwickelte technische Methoden der Histochemie, Isotopenmarkierung oder das Aufkommen von Computern ungeahnte neue Möglichkeiten auf dem Gebiet der Endokrinologie. Dale et al. benannten 1933 erstmals das Acetylcholin, Blaschko et al. entdeckten und synthetisierten 1942 das Noradrenalin und Erspamer et al. suchten eine Substanz welche die Kontraktion glatter Muskeln hervorrufen konnte. Es gelang ihnen diese 1937 aus enterochromaffinen Zellen der Kaninchendarmmukosa zu isolieren, sie bezeichneten sie nach ihrem Entdeckungsort als „Enteramin“. 1948 fanden Rapport et al. eine vasokonstriktorische Substanz im Rinderserum welcher sie den Namen „Serotonin“ gaben.

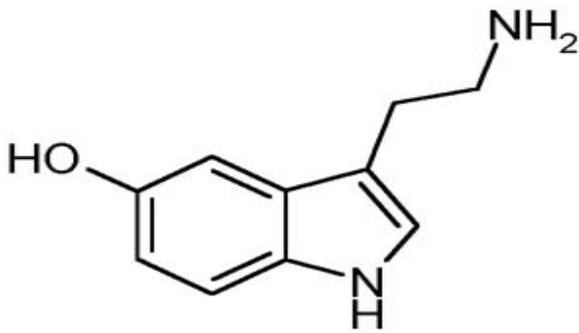


Abb. 1: Chemische Struktur des Serotonins

Es dauerte weitere vier Jahre bis Erspamer et al. Zeigten, dass es sich bei beiden Substanzen um Identische handelte, nämlich 5-Hydroxytryptamin oder 5-HT. Amin et al. konnten 1954 verschiedene Konzentrationen des Serotonins in unterschiedlichen Regionen des Gehirns nachweisen. Bei physiologischen pH-Werten um 7,4 kann 5-HT auf Grund seiner Hydrophilie die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren, weshalb man zu der Annahme kam, dass Serotonin ein Neurotransmitter ist der auch zerebral synthetisiert werden muss.

Zwei Jahre später wiesen Dahlstrom et al. erstmals Neurone und Axone im Rattenhirn nach, die 5-HT enthielten. In den folgenden Jahren wurde 5-Hydroxytryptamin ebenso außerhalb des ZNS, der Thrombozyten und der enterochromaffinen Zellen des Magen-Darmtraktes, nämlich in Monozyten, Makrophagen, Mastzellen und den APUD-Zellen der Lunge gefunden (Marsden, 1996).

Heute wird hauptsächlich vermutet, dass das serotonerge System maßgeblich an der Entstehung von endogenen Psychosen beteiligt ist. Wooley veröffentlichte 1962 als erster seine Hypothese der zufolge Störungen im Serotoninsystem Ursache mentaler Erkrankungen seien. Seitdem folgten hierzu zahlreiche weitere Theorien, die den Rahmen dieser Arbeit sprengen würden. Durch seinen Einfluss auf Emotionen, Schmerzverarbeitung, den zirkadianen Rhythmus oder auch das Schlafverhalten werden vor allem Schizophrenie und Depressionen, aber auch Zwangserkrankungen in Verbindung mit 5-HT diskutiert.

2.2.2. Neuroanatomie

Bereits Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts fielen Ramon y Cajal bei seinen Studien großzellige Neurone entlang der Mittellinie des Hirnstammes auf, deren Projektionsgebiete er nicht genau bestimmen konnte (Ramon y Cajal, 1911). Erst in den 60er Jahren wurde es mittels der neuen Fluoreszenzmethoden möglich die exakte anatomische Struktur serotonerger Hirnstammneurone zu untersuchen (Dahlstrom und Fuxe, 1964). Der Großteil dieser Zellen ist hierbei im Gebiet der Raphekerne gelegen, während wiederum über zwei Drittel der Raphe-kortikalen Axone serotonerg sind

(Kosovsky et al., 1987). Die Efferenzen dieser Neurone projizieren von dort aus in nahezu alle Regionen des Gehirns wodurch das weitläufigste und komplexeste neuronale System des menschlichen Zentralnervensystems entsteht. Dahlstrom und Fuxe beschrieben neun Gruppen serotonerger Perikaria die sie von B1 bis B9 durchnummerierten. B7 ist hierbei die größte Gruppe und geht nach kaudal in die Gruppe B6 über. Auch B8 ist ein größeres Areal mit kontinuierlichem Übergang in B9 nach lateral (Frazer und Hensler, 1999).

Gruppe	Anatomische Struktur
B1	Nc. raphe pallidus; caudale, ventrolaterale Medulla dorsal der Pyramidenbahn
B2	Nc. raphe obscurus
B3	Nc. raphe magnus; rostrale, ventrolaterale Medulla lateraler N. paragigantocellularis reticularis
B4	Nc. raphe obscurus; dorsolateraler Anteil, dorsal des Nc. praepositus hypoglossi auf Höhe des medialen Vestibulariskerns
B5	Nc. raphe medialis; caudaler Anteil, Höhe des motorischen Trigemuskerns
B6	Nc. raphe dorsalis; caudaler Anteil
B7	Nc. principal dorsalis raphe ; rostraler Anteil
B8	Nc. raphe medialis; rostraler Hauptanteil Nc. pontis oralis
B9	Nc. pontis oralis; supralemniscale Region

Tab. 1: Klassifikation der 5-HT-Zellkörpergruppen und ihre korrespondierende anatomische Struktur nach Dahlstrom und Fuxe

Im Hirnstamm finden sich zwei von einander abgrenzbare Zellgruppen. Die superiore Gruppe, welche die beiden eigentlichen Raphekerne bildet und aufsteigende Projektionen ausbildet besteht aus zwei Anteilen. Der rostrale Teil B6 und B7 entwickelt sich zum Hauptteil des dorsalen Raphekerns. Aus dem kaudalen Anteil B5 und B8 werden später der mediale Raphekern und der interfaszikuläre Teil des dorsalen Kernes (Lidov und Molliver, 1982).

Der dorsale Raphekern ist beim Menschen größer als der mediale und besteht aus ungefähr 235 000 serotonergen Neuronen (Baker et al., 1990). Die inferiore Gruppe bestehend aus B1 bis B4 mit absteigenden Projektionen zieht sich von der kaudalen Ponsregion bis zum zervikalen Spinalmark. B9 wird als Teil des venterolateralen Tegmentums ebenfalls nicht zu den mittelständigen Raphekernen gerechnet.

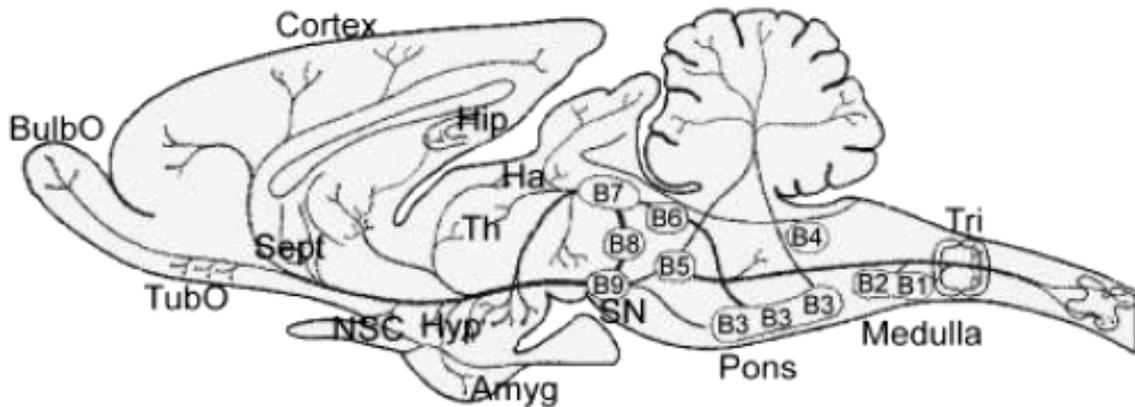


Abb. 2: Schemazeichnung der Lage der serotonergen Zellen und ihrer Hauptprojektionen in einem mediosagittalen Hypothalamus, Schnitt durch ein Rattenhirn. Abbildung modifiziert nach Frazer und Hensler, 1999. **BulbO** = Bulbus olfactorius, **TubO** = Tuberculum olfactorium, **Sept** = Septum, **NSC** = Nucleus suprachiasmaticus, **Hyp** = Hypothalamus, **Hip** = Hippocampus, **Th** = Thalamus, **Amyg** = Amygdala, **Ha** = Habenulae, **SN** = Substantia nigra, **Medulla** = Medulla oblongata, **Tri** = Trigemuskern

Beide Raphekerne des superioren Systems projizieren hierbei zum Vorderhirn. Beim Menschen scheint der durch die Capsula interna ziehende kortikale Trakt des dorsalen Raphekerns zur Innervation des Cortexes am stärksten ausgeprägt zu sein (Azmitia et al., 1995). Dieser innerviert auch das Striatum serotonerg. Der mediale Raphekerne projiziert ebenfalls zum Neocortex, entsendet aber hauptsächlich Fasern zu Hippocampus, Hypothalamus und Septum. Serotonerge Zellen finden sich in den limbischen Regionen, der Substantia nigra, dem Nucleus suprachiasmaticus sowie in den Ventrikeln. Das limbische System und die primär sensorischen wie assoziativen Areale enthalten die höchste Anzahl dieser Fasern, die motorischen Regionen des Frontallappens weisen eine niedrigere Dichte auf (Frazer und Hensler, 1999).

Die Raphekerne der inferioren Gruppe befinden sich im mittleren Pons bis zur kaudalen Medulla und enthalten geringere Mengen serotonerger Neurone mit Projektion in Hirnstamm und Rückenmark. Deszendierende Bahnen laufen von Nucleus raphe magnus (B3) zum Hinterhorn, von Nucleus raphe obscurus (B2) zum Vorderhorn und von der ventrolateralen Medulla (B1/B3) zu intermediolateralen Zellgruppen des Spinalmarks, wodurch sowohl motorische als auch sensorische Kerngebiete des autonomen Nervensystems innerviert werden. Insgesamt ist die serotonerge Projektion der Raphekerne derart ausgeprägt, dass nahezu jedes Neuron des Gehirns in direkter Nachbarschaft zu einer Faser des serotonergen Systems liegt.

2.2.3. Die Tryptophanhydroxylasen

Serotonin ist bedingt durch die Hydroxylgruppe an Position fünf des Indolgerüsts und durch die bei physiologischen pH-Werten als Protonenakzeptor fungierende Aminogruppe hydrophil. Klinisch bedeutet dies, dass 5-HT die Blut-Hirnschranke nicht passieren kann und folglich im ZNS synthetisiert werden muss. Ausgangssubstanz hierfür ist die essentielle Aminosäure Tryptophan, die mit hoher Affinität von serotonergen Neuronen über einen Carrier aufgenommen wird. Durch enzymatische Ringhydroxylierung entsteht 5-Hydroxytryptophan, als Kofaktoren werden Fe^{++} und Tetrahydrobiopterin benötigt. Das verantwortliche und geschwindigkeitslimitierende Enzym hierfür ist die Tryptophanhydroxylase, die ausschließlich von enterochromaffinen Zellen, Pinealozyten und den serotonergen Neuronen exprimiert wird. Zum Ort der Serotoninsynthese gelangt sie durch aktiven Transport entlang des Axons. Da sie in vivo nicht substratgesättigt ist, kann die 5-HT-Synthese durch vermehrte Substrat-, also Tryptophanzufuhr gesteigert werden (Marsden, 1996). Ebenso führt die pharmakologische Hemmung des Enzyms zur verminderten Synthese und somit zur 5-HT-Entleerung (Joh, 1999). Ihre Syntheserate ist abhängig von der Potentialfrequenz serotonerger Neurone, ihre Aktivierung geschieht durch die Ca^{2+} -abhängige Phosphorylierung des Enzyms (Boadle-Biber et al., 1986). Walther und Bader entdeckten 2003, dass zwei verschiedene Isoenzyme existieren, die Tryptophanhydroxylase 1 (kurz TPH 1 auf 11p15.3-p14; Craig et al., 1991) die hauptsächlich peripher wirkt und die zentral modulierende TPH 2 (12q21.1). Erstere ist hierbei vor allem für Hämostase, Melatoninsynthese und Vasokonstriktion verantwortlich, Zweitere reguliert die zentrale Serotoninsynthese (Zhang et al., 2004) und spielt so wahrscheinlich eine Rolle in der Pathogenese diverser psychiatrischer Erkrankungen. So stellte sich bereits vor einigen Jahren heraus, dass einige Promotorpolymorphismen in Exon 7, speziell A218C und A779C, die zu dieser Zeit einzig bekanntem TPH-Genes bei finnischen und schwedischen Alkoholabhängigen gehäuft vorkamen (Nielsen et al., 1994; Jonsson et al., 1997) und außerdem mit suizidalem Verhalten korrelierten. (Nielsen et al., 1997). Später zeigte sich, dass es sich hierbei um das 11 Exons umfassende TPH1-Gen handelte, welches ebenfalls mit bipolaren Störungen in Verbindung gebracht wurde (Lai et al., 2005). Walther et al. gingen 2003 davon aus, dass die Effekte beider TPH-Gene bei der Pathogenese der Migräne ineinander übergreifen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit der A218C-Promotorpolymorphismus mit der Entstehung von MA oder MO korreliert.

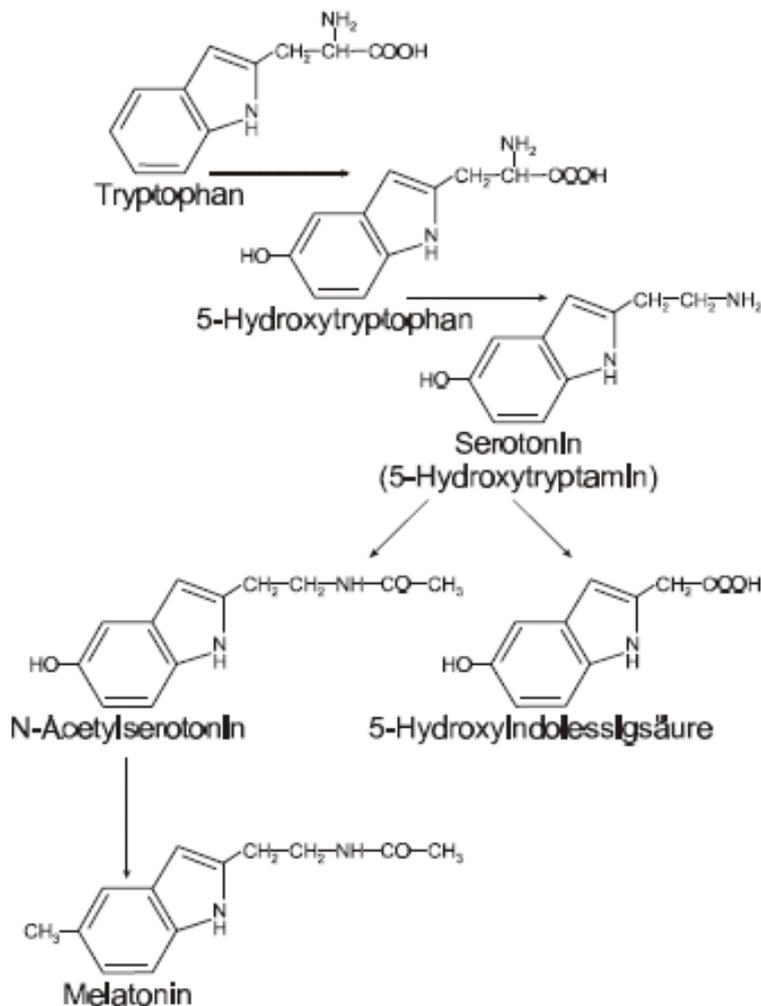


Abb. 3: Biochemie der Serotoninsynthese: Ausgangsstoff ist die essentielle Aminosäure Tryptophan (oben). Über den Zwischenschritt 5-Hydroxytryptophan entsteht Serotonin. Zur Nervenendigung gelangt es durch aktiven Transport wo es wie viele andere Neurotransmitter in Vesikeln gespeichert wird. Der Hauptabbauweg erfolgt in 5-Hydroxyindolelessigsäure (rechts unten). In der Glandula Pinealis ist Serotonin die Ausgangssubstanz für die Synthese von Melatonin über N-Acetylserotonin.

2.2.4 Signalbeendigung

2.2.4.1 Serotonintransporter

Serotonin wird in Vesikeln präsynaptischer Neurone gespeichert (Peter et al., 1999) und bei Stimulation Ca^{2+} - und Na^{+} -abhängig in den synaptischen Spalt entleert. Ausschüttung und Synthese werden zum Einen von präsynaptischen 5-HT_{1D} -Rezeptoren in den Terminalgebieten serotonerger Projektionen reguliert (Riad et al., 2000). Aktivierung somatodendritische 5-HT_{1A} -Rezeptoren am proximalen Dendriten serotonerger Neurone andererseits führen zu Negativierung des Membranpotentials (Hamon 1999) und somit zu verringerter Entladungsfrequenz (Sprouse et Aghjarian, 1987).

Der hauptsächliche Anteil des im synaptischen Spalt befindlichen 5-HT wird über aktiven Transport aus dem Extrazellularraum eliminiert. Dies geschieht über den Na^{+} -abhängigen Serotonintransporter SERT oder auch 5-HTT (Snyder 1970). Bei diesem aktiven Transport werden ein 5-HT, ein Natrium- und ein

Chloridmolekül entlang des elektrochemischen Na^+ - K^+ -Gradienten in den Intrazellularraum transportiert. Durch den Austausch eines Kaliummoleküles von intrazellulär nach extrazellulär kommt die ursprüngliche Konformation des 5-HTT wieder hergestellt. Die ATP-abhängige Na^+ - K^+ -Pumpe sorgt anschließend für die Wiederherstellung der Ausgangskonfiguration (Marcusson et Ross, 1990). Exprimiert wird das SERT-Molekül auf Chromosom 17q11.1-17q12, es besteht aus 12 transmembranen Domänen.

Marziniak et al. konnten 2005 die Funktion eines Promotorpolymorphismus des 5-HTT als Modulator des zerebralen Serotoninstoffwechsels bei Migränepatienten mit Aura nachweisen.

2.2.4.2 Katabolismus

Ein Hauptabbauweg für überschüssiges oder wiederaufgenommenes Serotonin ist die Monoaminoxidase, kurz MAO. Dieses an die äußere Mitochondrienmembran gebundene Enzym existiert in zwei Isoformen, MAO-A und MAO-B. Erstere hat zwar eine höhere Affinität zu Serotonin, serotonerge Neurone und Thrombozyten enthalten jedoch hauptsächlich die B-Form. 5-HT wird intrazellulär zu 5-Hydroxyindolacetaldehyd desaminiert, das Aldehyd wird anschließend mit NAD^+ als Kofaktor mittels Aldehyd-Dehydrogenase zu 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) oxidiert. Bei reichem Angebot an NADH, wie es zum Beispiel bei starkem Alkoholkonsum anfällt kann es alternativ auch zu 5-Hydroxytryptophol reduziert werden.

Das durch Oxidation entstandene 5-HIAA diffundiert als physiologisch inaktives Molekül aus der Zelle in die Liquorflüssigkeit und wird nach Aufnahme in Thrombozyten an der Blut-Liquor-Schranke über den Urin ausgeschieden. Bei Erkrankungen die beispielsweise mit erhöhter Serotoninproduktion einhergehen wie zum Beispiel endokrin aktive Bronchialkarzinome oder Karzinoide des Darmtraktes können erhöhte Urinkonzentrationen dieses Metaboliten nachgewiesen werden.

2.2.5 Serotoninrezeptoren

Mittlerweile sind 14 verschiedene prä- und postsynaptische Serotoninrezeptorsubtypen identifiziert und kloniert worden. Anhand bestimmter funktioneller und struktureller Gemeinsamkeiten erfolgte ihre Einteilung in sieben unterschiedliche Gruppen. Statt der ursprünglich rein pharmakologischen Klassifikationskriterien wie Agonismus, Antagonismus und Dissoziationskonstanten für bestimmte Liganden spielen heute zusätzlich sowohl molekulare Strukturmerkmale wie Aminosäuresequenz und Homologien in der Primärsequenz als auch die Art des intrazellulären Transduktionsmechanismus eine Rolle.

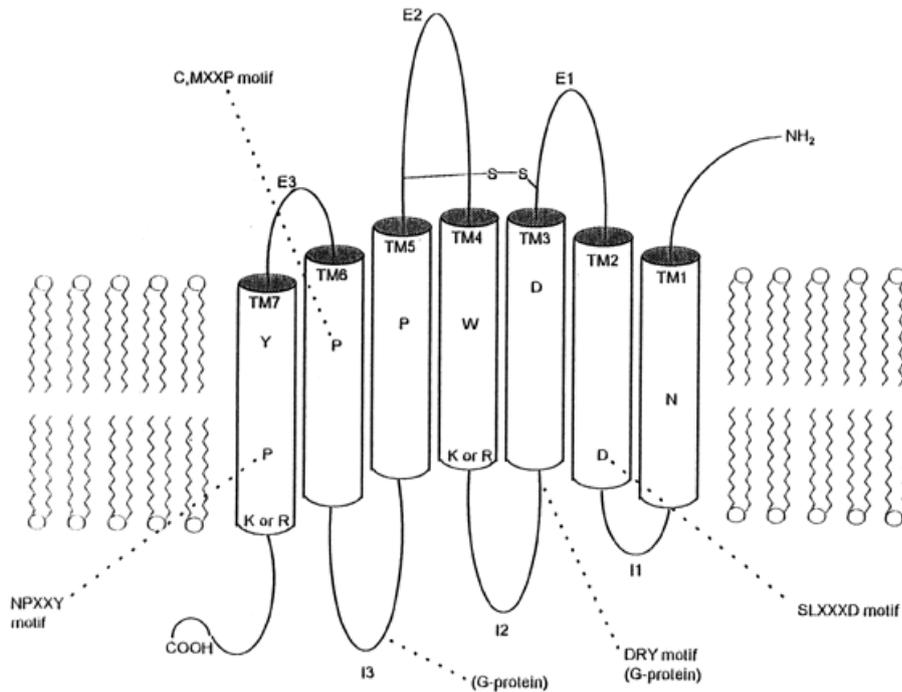


Abb. 4: Der Serotoninrezeptor (Gruppe der 5-HT₁-Rezeptoren)

2.2.5.1 Die Gruppe der 5-HT₁-Rezeptoren

Die Familie der 5HT₁-Rezeptoren enthält zurzeit sieben unterschiedliche Subtypen. Ihre Primärsequenzen enthalten jeweils sieben transmembrane Domänen und sind über ein inhibitorisches G_i-Protein an die Adenylatcyclase gekoppelt. Zudem werden sie charakteristischerweise neben 5-HT auch von 5-CT (5-Carboxamidotryptamin) aktiviert.

2.2.5.1.1 5-HT_{1A}-Rezeptor

Der 5-HT_{1A}-Rezeptor wird vor allem vom Hippocampus, den lateralen Septumanteilen, der Amygdala, den kortikalen Arealen des limbischen Systems und von serotonergen Neuronen der Raphekerne exprimiert. Er ist auf Chromosom 5q11.2-q13 lokalisiert, besteht aus 385 Aminosäuren und enthält sieben transmembrane Domänen (Burnet et al., 1995). Er unterscheidet sich von anderen 5-HT-Rezeptoren durch seine substantielle Ähnlichkeit mit adrenergen Rezeptoren, was erklärt warum er neben der hohen Affinität zu seinem „klassischem“ Radioliganden 8-OH DPAT (8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)tetralin) auch adrenerge Substanzen wie Propranolol oder Pindolol bindet (Shih et al., 1995). Seine Aktivierung führt, an ein inhibitorisches G_i-Protein gekoppelt, zum einen über das Adenylatcyclasesystem zur Abnahme von cAMP in den Gliazellen, wodurch sich bei Stimulation dieses postsynaptischen Rezeptors die Sekretion des Wachstumsfaktors S100β erhöht, welcher als

biochemischer Marker für Migräneanfälle der Kindheit diskutiert wird (Papandreou et al. 2005) und ebenso die Ausschüttung von β -Endorphin oder Acetylcholin erhöht. Zum anderen bewirkt er als präsynaptischer somatodendritischer Autorezeptor der Raphekerne durch Öffnung von K^+ -Kanälen die Hyperpolarisation von Nervenzellen, was zu einer Verringerung der Entladungsfrequenz dieser serotonergen Neurone führt (Aghajanian et al., 1995). Die höchste Dichte des 5-HT_{1A}-Rezeptors findet sich in Hippocampus und Amygdala. Durch seine Wirkung auf den zirkadianen Rhythmus, die neurosekretorische Aktivität, Nahrungsaufnahme, Nozizeption und Emotionen wird ihm klinisch eine besondere Rolle bei Depressionen und Angsterkrankungen zugeschrieben (Lesch et al., 2003; Strobel et al., 2003).

2.2.5.1.2 5-HT_{1B}-Rezeptor

Die 5-HT_{1B}-Rezeptoren sind ebenfalls inhibitorisch an die Adenylatcyclase gebunden und sind auf Chromosom 6q13 lokalisiert. Im ZNS werden sie präsynaptisch als Autorezeptoren der Raphekerne exprimiert (Zifa et al., 1992), wo sie bei Aktivierung die Freisetzung von Serotonin und CGRP verringern. Ebenso findet man sie als Heterorezeptoren an cholinergen, glutamatergen und dopaminergen Axonterminalen. Lokalisiert sind sie hauptsächlich im Striatum, den Basalganglien und im frontalen Cortex (Bruinvels et al., 1993). Longmore et al. konnten 1998 mittels neuer Radioliganden trotz der oben erwähnten pharmakologischen und strukturellen Unterschiede die unterschiedliche Verteilung von 5-HT_{1B/1D}-Rezeptoren nachweisen. Lediglich 5-HT_{1B}-Rezeptoren fanden sich dabei direkt in duralen Gefäßen wohingegen 5-HT_{1D}-Rezeptoren in trigeminovaskulären Neuronen und der Medulla aufgefunden wurden. Klinisch geht man derzeit davon aus, dass 5-HT_{1B}-Rezeptoren eine Rolle bei der Regulation von Schlaf, Senso- und Lokomotorik (Monti et al., 1995; Sipe et al., 1996) aber auch Aggressionsverhalten spielen (Grimes et al., 2005). Interessanterweise führt die dauerhafte Applikation anabolisch-adrenerger Steroide (AAS) zur Verminderung ihrer Expression, wodurch sie auch mit Verhaltensänderungen bei AAS-Missbrauch in Verbindung gebracht werden (Kindlundh et al., 2003). Klinisch werden heute ihre Agonisten wie Rizatriptan vor allem zur Behandlung von Migräne eingesetzt. Stepien et al. wiesen 2003 nach, dass diese Substanzen in der Lage sind während der Migräneattacke den CGRP-Plasmaspiegel zu vermindern wodurch die pathophysiologisch relevante perivaskuläre Entzündungsreaktion des Gehirns unterdrückt wird (siehe 2.1.4).

2.2.5.1.3 5-HT_{1D}-Rezeptor

5-HT_{1D}-Rezeptoren wurden zuerst im Rinderhirn isoliert. Ihre Verteilung entspricht weitestgehend den oben erwähnten 5-HT_{1B}-Rezeptoren und wie alle anderen 5-HT₁-Rezeptoren sind sie ebenfalls über ein inhibitorisches G-Protein an die Adenylatcyclase gekoppelt (Herrick-Davis et al., 1989). Hartig et al. klonierten 1992 einen 5-HT_{1D}-Rezeptor des Hundes und einen weiteren im menschlichen Gehirn. Da beide ungefähr 90% Homologien in ihrer Aminosäuresequenz aufwiesen ging man davon aus, dass es sich bei beiden um Speziesvarianten handelte und bezeichnete den humanen Rezeptor ursprünglich als 5-HT_{1D α} , sein kodierendes Gen befindet sich auf Chromosom 1 (1p34.3-36-3) (Demchyshyn et al., 1992). Auf Chromosom 6 (6q13) wurde ein zweiter 5-HT_{1D}-Rezeptor entdeckt der als 5-HT_{1D β} -Rezeptor bezeichnet wurde (Jin et al., 1992). Da dieser über 90% Sequenzhomologien mit dem 5-HT_{1B}-Rezeptor der Maus innehat (siehe 2.2.6.1.2) wird er heute als 5-HT_{1B}-Rezeptor bezeichnet weswegen der 5-HT_{1D α} -Rezeptor wohl als der eigentliche 5-HT_{1D}-Rezeptor gelten kann. Allerdings brachten Radioligandenbindungsstudien bis dato keine genaue Unterscheidung zwischen beiden, es konnte lediglich der „5-HT_{1D}-artige“ Charakter beider dargestellt werden. Die klinische Signifikanz des 5-HT_{1D}-Rezeptors ist bis heute weitgehend unbekannt. Möglicherweise ist er mitbeteiligt an der Entstehung von Depressionen und anderen neuropsychiatrischen Störungen, die Verteilung von 5-HT_{1D}-Rezeptoren im menschlichen Gehirn legt aber auch die Vermutung nahe an der Entstehung von Chorea Huntington mitbeteiligt zu sein (Pasqualetti et al., 1996). Da 5-HT_{1D α} -Rezeptoren unmittelbar in neurogenen Entzündungsreaktionen und trigeminovaskulärer Schmerzwahrnehmung involviert sind werden sie ebenso als mitwirkender Faktor für die Entstehung von Migräne verantwortlich gemacht. Die gute Wirksamkeit ihres Agonisten Sumatriptans im akuten Anfall untermauert diese Theorie (Weinshank et al., 1992). Da Sumatriptan jedoch auch mit gleicher Affinität 5-HT_{1F}-Rezeptoren bindet und bis heute nicht einmal bewiesen ist wie 5-HT-Rezeptoren an der Pathophysiologie dieser Erkrankung mitwirken wird dies jedoch kontrovers diskutiert.

2.2.5.1.4 5-HT_{1E}-Rezeptor

In Putamen, Amygdala, Globus pallidus, parietalem Cortex und Tuberculum olfactorius konnte Lucas et al. 1995 der 5-HT_{1E}-Rezeptor auf Chromosom 6 (6q14-q15) nachweisen. Da sie eine geringe Affinität zu 5-CT und Ergotamin aufweisen erlaubte dies trotz 64% Sequenzhomologien die Differenzierung zum 5-HT_{1D}-Rezeptor (Zgombick et al., 1992). Wahrscheinlich ist er über ein inhibitorisches G-Protein negativ an die Adenylatcyclase gekoppelt. Es wird jedoch vermutet, dass er bei hoher Rezeptordichte ebenso über ein G_s-Protein wirkt, dies jedoch mit geringerer Effektivität. Mangels ausreichend selektiver Radioliganden ist über ihre klinische Bedeutung allerdings noch wenig bekannt.

2.2.5.1.5 5-HT_{1F}-Rezeptor

Der jüngste Rezeptor der Familie ist der 5-HT_{1F}-Rezeptor auf Chromosom 3 (3q11). Er hat die höchste Dichte in Cortex, Hippocampus, Gyrus dentatus, Ganglion trigeminale und Rückenmark sowie ebenfalls in Mesenterium und Uterus (Adham et al., 1993). Die klinische Funktion ist ebenso wie die der 5-HT_{1E}-Rezeptoren bis zu diesem Zeitpunkt noch unbekannt. Ihre hohe Affinität zu diversen Ergotaminpräparaten sowie dem 5-HT_{1D}-Rezeptorantagonisten Sumatriptan legt ihr Mitwirken bei der Entstehung von Migräne nahe. Unterstützt wird diese Vermutung durch den Nachweis ihrer mRNA in Ganglien des Nervus trigeminus dessen Stimulation zur oben erwähnten neurogenen Entzündungsreaktion der Dura führt (siehe 2.1.4).

2.2.5.2 Die 5-HT₂-Rezeptorfamilie

Diese Rezeptorfamilie besteht aus drei Subtypen, nämlich 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} und 5-HT_{2C}. Sie bestehen aus 458-471 Aminosäuren und weisen in ihrer Sequenz 70-80% Homologien in den sieben transmembranen Domänen auf. Alle sind über die α -Untereinheit des Gq GTP-bindenden Proteins an das zelluläre Phosphoinositol-Hydrolase-Signaltransduktionssystem gebunden. Über die Mobilisation von intrazellulärem Ca²⁺ kommt es zu einer Depolarisation.

2.2.5.2.1 5-HT_{2A}-Rezeptor

5-HT_{2A}-Rezeptoren, früher als 5-HT₂-Rezeptoren bezeichnet gehörten mit zu den ersten Serotoninrezeptoren die identifiziert wurden. Lokalisiert ist das 20kb große Gen auf Chromosom 13q14-q21 und besteht aus 3 Exons und 2 interponierten Introns (Chen et al., 1992; Sparkes et al., 1991). Kato et al. zeigten 1996, dass diese Rezeptoren genomisches Imprinting aufweisen und nur vom maternalen Allel exprimiert werden. Ihre höchste zerebrale Dichte findet man in Neokortex, Claustrum und den Basalganglien. Sie sind aber in nahezu allen Organen anzutreffen. Diese Rezeptoren weisen zu 78% Homologien mit den transmembranen Anteilen des 5-HT_{2C}-Rezeptor auf (Glennon et al., 1995), was auch erklären könnte, warum beide ähnlich hohe Affinitäten zu den selben Liganden - wie zum Beispiel Mianserin und Ketanserin - haben und bisher trotz intensiver Forschung kein rein 5-HT_{2A}-selektiver Agonist gefunden werden konnte (Herndon et al., 1993). Aktivierung von zerebralen 5-HT_{2A}-Rezeptoren hemmt die Sekretion von Acetylcholin und Glutamat in Hippocampus und Cortex, führt jedoch im Striatum zu einer vermehrten Acetylcholinfreisetzung. Zusätzlich aktiviert sie die Ausschüttung von ACTH, Prolaktin, CRF und β -Endorphin. Die Stimulation des Rezeptors führt außerdem zur Aktivierung biochemischer Kaskaden die eine erhöhte Expression verschiedener Gene wie unter anderem das des

brain derived neurotrophic factor (BDNF, siehe 2.2.7) hervorrufen. Klinisch spielen Polymorphismen dieses Gens eine Rolle bei Anorexia nervosa (Hinney et al., 1997), Alkoholsucht (Nakamura et al., 1999), Zwangsstörungen (OCD, Walitza et al., 2002) und anderen psychiatrischen Erkrankungen. Einige Studien zeigten ebenfalls eine erhöhte Dichte und damit Rezeptorbindungskapazität im Gehirn von depressiven Patienten und Suizidopfern (Turecki et al., 1999; Pandey et al., 2002). Im Rahmen dieser Arbeit wird untersucht inwieweit der T102C Polymorphismus des 5-HT_{2A}-Rezeptorgens, der bis dato auch mit Schizophrenie assoziiert wird (Spurlock et al., 1998) eine Rolle in der Pathogenese der Migräne spielt.

2.2.5.2.2 5-HT_{2B}-Rezeptor

5-HT_{2B}-Rezeptoren werden besonders stark in peripheren Organen wie Plazenta, Lunge, Leber, Niere, Herz und Gastrointestinaltrakt exprimiert. Das Gen befindet sich auf 2q36.3-2q37.1. 5-HT_{2B}-Rezeptoren weisen zu 70% Homologien mit dem 5-HT_{2A}-Rezeptor auf (Choi et al., 1996) und sind funktional mit der Phosphoinositolhydrolyse verknüpft. Im ZNS wurden sie in geringer Dichte in Amygdala, Septum, Hypothalamus und im Kleinhirn gefunden. Klinisch wird ihnen eine Rolle in der Steuerung mitogener Effekte während der Neuronalentwicklung zugesprochen, ihre genaue Funktion im Gehirn ist jedoch noch unklar.

2.2.5.2.3 5-HT_{2C}-Rezeptor

5-HT_{2C}-Rezeptoren (früher auch 5-HT_{1C}-, oder weniger bekannt auch als 5-HT_{2β}-Rezeptoren betitelt) wurde erstmals im Plexus choroideus von Schweinen isoliert, später auch in verschiedene anderen Spezies, unter anderem dem Menschen. Der humane 5-HT_{2C}-Rezeptor ist auf dem X-Chromosom (Xq24) lokalisiert und weist große Homologien mit dem 5-HT_{2A}-Rezeptor auf (Saltzman et al., 1991). Verschiedene Rezeptorliganden wie, zum Beispiel atypische Antipsychotika, binden mit gleich hoher Affinität an beide Subtypen und derzeit gibt es keinen 5-HT_{2C}-spezifischen Radioliganden. Ebenso wie der 5-HT_{2A}-Rezeptor ist er an die Phosphoinositolhydrolyse gekoppelt, es gibt aber auch Anhaltspunkte für seine Verbindung zur cGMP Stimulation. Durch seine besonders hohe Dichte in Epithelzellen des Plexus choroideus geht man davon aus, dass er an der Regulation von Produktion und Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis beteiligt ist. Ebenso reguliert er diverse endokrine Prozesse wie Produktion und Sekretion des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) (King et al., 1989), Oxytocin (Bagdy et al., 1992) und Prolaktin (Aulakh et al., 1992). Exprimiert wird er zusätzlich in den Basalganglien, dem limbischen System und im Cortexbereich. Klinisch wird der 5-HT_{2C}-Rezeptor mit einer Reihe neuropsychiatrischer Erkrankungen in Verbindung gebracht wie zum Beispiel Alkoholismus (Benkelfast

et al., 1991), saisonale affektive Störungen (Joseph-Vanderpool et al., 1993) oder Zwangsstörungen (Hollander et al., 1988). Der Nutzen seiner Antagonisten wie Ergotamin, Amitryptilin oder Methysergid im akuten Migräneanfall ist unumstritten, seine Agonisten wie m-Chlorophenilpiperazin sind zudem in der Lage eine Attacke auszulösen.

2.2.5.3 Die 5-HT₃-Rezeptoren

5-HT₃-Rezeptoren sind einzigartig unter den Serotoninrezeptoren, da sie zu den nicht-selektiven ligandengesteuerten pentameren Kationenkanälen gehören und durch Änderungen der Permeabilität für Na⁺ und K⁺ aber auch Ca²⁺ und Mg⁺ zur raschen Depolarisation und dadurch zur leichteren Erregbarkeit der Zelle führen (Hargraves et al., 1994; Ortells et Lundt, 1995; Barnes et Sharp, 1999). Sie sind sowohl peripher als auch im zentralen Nervensystem zu finden, dort vor allem in der Area postrema, welche des Emesiszentrum beinhaltet, dem Nucleus tractus solitarius und der Substantia gelatinosa. Die Subtypen 5-HT_{3A} und 5-HT_{3B}, werden auf Chromosom 11q23.1/23.2 kodiert und als Heterorezeptoren von dopaminergen, noradrenergen und cholinergen Axonterminalen oder als postsynaptische Rezeptoren von GABA-ergen und viszeroafferenten Neuronen exprimiert (Miyake et al., 1995; Davies et al., 1999). So modulieren sie die Freisetzung verschiedener Neurotransmitter, unter anderem auch des Serotonins, und haben eine strukturelle Ähnlichkeit mit nikotinergen Acetylcholinrezeptoren, die ebenfalls zur Familie der Ionenkanalrezeptoren gehören (Verbitsky et al., 2003). Sie werden hauptsächlich in Amygdala, Hippocampus und cingulärem Cortex exprimiert (Tecott et al., 1993; Morales et al., 1998). MDL72222, eine Modifikation des Esteralkaloides Kokain, funktionierte als erster selektiver 5-HT₃-Antagonist (Todorovic et Anderson, 1990), Neuere wie Ondansetron, Dolasetron oder Granisetron werden heute als potente Antiemetika adjuvant zur Chemo- und Radiotherapie eingesetzt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass 5-HT₃-Antagonisten eine anxiolytische, antidepressive und schmerzmodulatorische Wirkung besitzen, weshalb sie ein hoffnungsvoller Ansatz für die Therapie der Migräne sein könnten. Klinisch konnte dieser Rezeptor in vorherigen Studien bereits mit Alkoholismus (Johnson et al., 2000), Ess- und Panikstörung (Faris et al., 2000; Olivier et al., 2000) sowie bipolaren affektiven Störungen (Niesler et al., 2001) in Verbindung gebracht werden. Melke et al. zeigten 2003, dass der von Niesler et al. 2001 beschriebene C178T-Polymorphismus im 5-HTR_{3A}-Gen bei Frauen das Verhalten beeinflusst. Diese Arbeit hat untersucht ob dieser SNP ebenfalls eine Rolle für die Pathophysiologie der Migräne spielt (siehe 5.).

2.2.5.4 Der 5-HT₄-Rezeptor

5-HT₄-Rezeptoren sind auf Chromosom 5 (5q31-q33) lokalisiert (Claeyssen et al., 1997) und gehören zu den jüngsten bisher klonierten. Sie sind positiv an die Adenylatcyclase gekoppelt und vermitteln wahrscheinlich langsame exzitatorische 5-HT-Signale. Zentrale hippocampale und mesolimbische 5-HT₄-Rezeptoren stimulieren die Adenylatcyclase und die Mechanismen durch welche diese Rezeptoren neuronale Kaliumkanäle inhibieren führt zu vermehrter cAMP-Produktion und nachfolgender Aktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase A. Sie fördern die 5-HT-Freisetzung und es gibt Hinweise, dass sie striatal auch die Freisetzung von Dopamin und in der Substantia nigra die Ausschüttung von GABA modulieren (Benloucif et al., 1993; Zetterström et al., 1996). Peripher steigern sie die Freisetzung von Acetylcholin und sind durch ihre Lokalisation im Darm vermutlich an der Peristaltik beteiligt (Eglen et al., 1997). Bisher konnten 4 Splicevarianten identifiziert werden (5-HT_{4A-D}) wovon außer dem enteralen 5-HT_{4D}-Rezeptor alle zentral vorliegen (Gerald et al., 1995). Obwohl sie nur geringe Sequenzhomologien (<50%) mit anderen 5-HT-Rezeptoren aufweisen zeigen diverse, bis dato als 5-HT₃-selektiv geltende Liganden, auch Aktivität an 5-HT₄-Rezeptoren (Eglen et al., 1995). Dieser Mangel an selektiven Radioliganden erschwert die genaue Erforschung ihrer klinischen Signifikanz. Man geht heute davon aus dass sie unter anderem an Erinnerung- und Lernfunktionen beteiligt sind, was auch durch ihre verminderte Dichte im Hippocampus von Alzheimerpatienten untermauert wird (Reynolds et al., 1995).

2.2.5.5 Die 5-HT₅-Rezeptoren

Diese Familie besteht aus zwei Subtypen (Erlander et al., 1993): Der 5-HT_{5A}-Rezeptor, der auf Chromosom 7q36 lokalisiert ist und der 5-HT_{5B}-Rezeptor auf Chromosom 2q11-13. Beide enthalten 2 kodierende Exons und ein großes interponiertes Intron (Rees et al., 1994). Untereinander weisen sie 77% Aminosäuren-Sequenzhomologien auf, jedoch haben sie weniger als 50% Ähnlichkeit mit anderen der bekannten Serotoninrezeptoren (Forbes et al., 1995). 5-HT_{5A}-Rezeptoren kommen vor allem im frontalen Cortex, in Kleinhirn, Rückenmark und Hippocampus vor, 5-HT_{5B}-Rezeptoren findet man in geringen Konzentrationen im enterorhinalen und piriformen Cortex sowie im Hippocampus, Nucleus supraopticus und Nucleus raphe dorsalis (Erlander et al., 1993). In gewissem Rahmen scheinen beide Verwandtschaftsmerkmale der 5-HT₁, speziell der 5-HT_{1D}-Rezeptoren aufzuweisen (beispielsweise die hohe Affinität zu 5-HT und 5-CT) (Plassat et al., 1992). Es gibt geringe Hinweise, dass Zellen mit hoher 5-HT₅-Rezeptordichte die forskolinvermittelte Stimulation der Adenylatcyclase hemmen können (Francken et al., 1998), die genaue biochemische Reaktionskaskade ist allerdings bis jetzt unbekannt.

Ebenso unklar ist ihre klinische Funktion, möglicherweise wirken sie unter anderem an neuronal gesteuerten Regulationsmechanismen der Astrozytenphysiologie mit wofür auch die Tatsache spricht, dass man sie immunologisch mit GFAP, einem selektiven Gliazellmarker darstellen kann (Carson et al., 1996). Auf Grund ihrer Verteilung geht man davon aus dass sie in Motorik, Ess- und Lernverhalten sowie Gehirnentwicklung involviert sind (Rees et al., 1994; Wisden et al., 1993)

2.2.5.6 Der 5-HT₆-Rezeptor

Der rein postsynaptisch vorkommende 5-HT₆-Rezeptor ist ebenfalls positiv an die Adenylatcyclase gekoppelt und befindet sich auf Chromosom 1p35-36 (Kohen et al., 1996). Die höchsten mRNA-Konzentrationen sind im Nucleus caudatus, Tuberculum olfactorius und im Hippocampus zu finden, er konnte jedoch auch in adrenergen Drüsen nachgewiesen werden. Eine Reihe typischer und atypischer Neuroleptika sowie Antidepressiva interagieren mit hoher nanomolarer Affinität mit dem 5-HT₆-Rezeptor (Roth et al., 1994). Dies suggeriert eine mögliche Verbindung dieser Rezeptoren mit diversen psychiatrischen Erkrankungen obwohl ihre genaue klinische Funktion unklar ist. Wiederholte intrazerebrale Applikation von Antisenseoligonukleotiden zur Expressionsminderung von 5-HT₆-Rezeptoren im Rattenhirn führten zu Verhaltensauffälligkeiten mit zusätzlichem Anstieg cholinergischer Funktionen. Dies führte zu der Annahme, dass diese Rezeptoren an der acetylcholinvermittelten Neurotransmission mitwirken und neue selektive Antagonisten möglicherweise nützlich für die Therapie von kognitiven Defiziten sein könnten (Bourson et al., 1995).

2.2.5.7 Der 5-HT₇-Rezeptor

Der hauptsächlich im ZNS lokalisierte 5-HT₇-Rezeptor befindet sich auf Chromosom 10 (10q21-q24) (Gelernter et al., 1995). Peripher wird er nur in geringem Grad exprimiert. Wie die meisten anderen 5-HT-Rezeptoren ist er positiv an die Adenylatcyclase gekoppelt, jedoch weist er unter 50% Sequenzhomologien zu diesen auf. In der Ratte existieren zwei Splicevarianten, eine kurze Form mit 435 Aminosäuren und eine lange Form mit 438 Aminosäuren, welche beide zwei Introns enthalten (Lucas et al., 1995). Der menschliche Rezeptor liegt mit 445 AS dazwischen und wird im Hypothalamus in Neuronen um den Nucleus suprachiasmaticus nachgewiesen. Klinisch wird er im Zusammenhang mit Depressionen diskutiert. Dies stützt sich unter anderem auf die Tatsache, dass die Expression von 5-HT₇-Rezeptoren bei Langzeitanwendung von Fluoxetin vermindert wird (Sleight et al., 1995). Ein exakter Nachweis wie dieses Phänomen zustande kommt konnte bisher allerdings noch nicht erbracht werden. Aller Wahrscheinlichkeit ist er an der Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus beteiligt, 5-HT₇-Rezeptor

selektive Substanzen könnten daher effektiv in der Behandlung von Schlafstörungen zirkadianer Genese sein (Lovenberg et al., 1993).

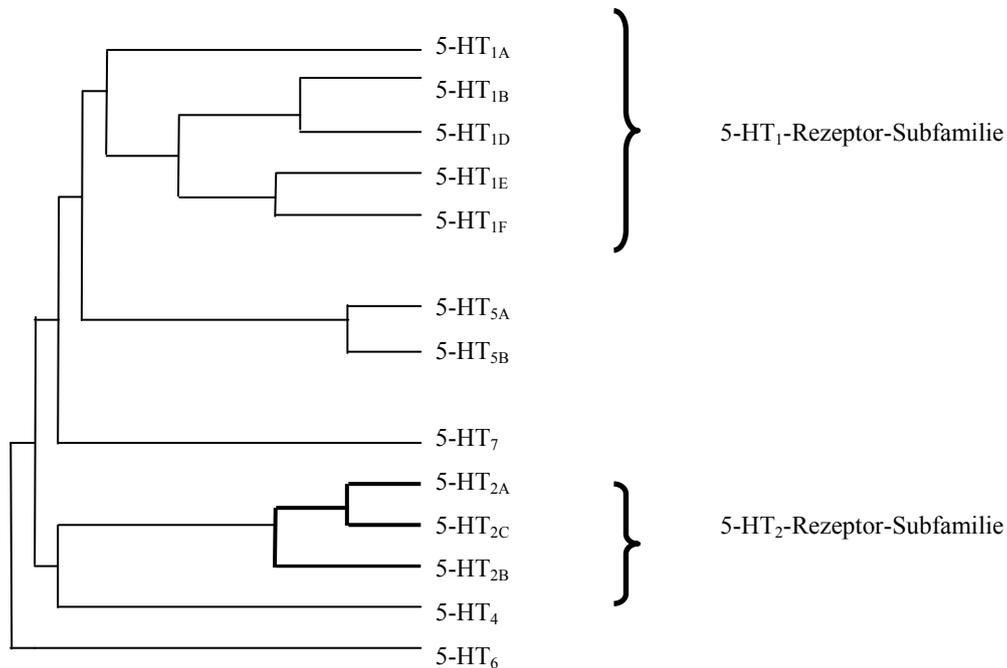


Abb. 5: Nach strukturellen Gesichtspunkten lassen sich die verschiedenen 5-HT-Rezeptor-Subtypen aufgrund bestimmter Sequenzhomologien in ein sogenanntes Dendrogramm der 5-HT-Rezeptorfamilie einordnen. Abbildung modifiziert nach Hüther, „Das serotonerge System“

2.2.6 BDNF (brain derived neurotrophic factor) und das serotonerge System

BDNF ist ein neurotropher Faktor kortikaler Neurone, der für das Überleben striataler und serotonerger Nervenzellen notwendig ist. Er gehört zu Superfamilie der Neurotrophine, wird beim Erwachsenen in Tyrosinkinase-A-positiven sensorischen Neuronen, meistens nozizeptiven C-Fasern, exprimiert (Apfel et al., 1996) und beeinflusst die neuronale Proliferation ebenso wie das Wachstum der Synapsen und deren Vernetzung (Hariri et al., 2003; Mamounas et al., 1995). Während der normalen Entwicklung des Zentralnervensystems sterben bis zu 80% der Neurone ab. Dieser Mechanismus sorgt dafür, dass nur eine adäquate Anzahl an Nervenzellen die Effektororgane oder andere neuronale Populationen innerviert. Diese Zielorgane sind selbst unmittelbar in diesen Vorgang involviert: sie produzieren eine begrenzte Menge an neurotrophischen Faktoren (neben BDNF unter anderem auch NGF = nerve growth factor) welche durch Konkurrenz der Neurone untereinander bestimmen welche Zellen überleben (Jones und Reichhardt, 1990). Es konnte in vivo nachgewiesen werden, dass BDNF die Zellapoptoserate senkt. Deutlich wird dies unter anderem in der Pathogenese der erblichen neurodegenerativen Erkrankung Chorea Huntington, die durch progredienten Nervenzellverlust zu Symptomen wie Dyskinesien, Wesensveränderungen und Demenz führt. Dieser wird verursacht durch Polyglutamin-Repeats im

Huntingtin-Gen (4p16.3) Hierdurch wird unter anderem der axonale Transport von BDNF zum Effektorort beeinflusst (Gauthier et al., 2004). Es resultieren eine verminderte BDNF-Konzentration und somit eine insuffiziente Versorgung striataler Neurone wodurch deren Apoptoserate deutlich ansteigt (Zuccato et al., 2001).

BDNF spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in Schmerzwahrnehmung- und -verarbeitung. Er wird, wie bereits erwähnt, in sensiblen Neuronen exprimiert und anterograd zu den zentralen Nervenendungen dieser Afferenzen im Rückenmarkshinterhorn transportiert (Yan et al., 1997). Hier erfolgt die Speicherung in Vesikeln, bei Freisetzung ist das Neurotrophin sowohl an basaler als auch zentraler Schmerzempfindung beteiligt. Die geschieht für Erstere über glutamatvermitteltes Umschalten der Primärafferenz auf das zweite Neuron zur Weiterleitung von Dauer und Intensität der Schmerzwahrnehmung, für Zweitere über die Rekrutierung anderer, benachbarter Mechanorezeptoren um die Erregbarkeit in den Hinterhornneuronen zu erhöhen (Woolf, 1983; Torebjork et al., 1992). Ihm wird ebenfalls eine Rolle bei der Generierung entzündlicher Schmerzen und der damit verbundenen Hypersensibilisierung zugeschrieben, unter anderem da diese durch starke C-Faser-Stimulation ausgelöst werden kann (Woolf et al., 1986) und postentzündlich BDNF-mRNA-Spiegel in dorsalen Hinterhornganglien erhöht sind (Cho et al., 1997). Dies macht BDNF zum interessanten Migränekandidatengen.

Die Enge Verbindung des Neurotrophins zum serotonergen System wird in diversen Studien deutlich: Lyons et al. konnten 1999 an BDNF-knockout-Mäusen zeigen, dass verminderte BDNF-Spiegel im Gehirn während der neuronalen Entwicklung im frühen Erwachsenenalter zu verminderter Expression postsynaptischer 5-HT-Rezeptoren wie 5-HT_{1A} führten. Dies äußerte sich hier hauptsächlich in unkontrolliertem Aggressions- und Nahrungsaufnahmeverhalten. Die Ergebnisse der Forschungsgruppe aus Baltimore suggerierten eine starke Abhängigkeit serotonerger Neurone vom Neurotrophin BDNF. Mössner et al. wiesen 2000 nach, dass BDNF die zelluläre Serotoninaufnahme über Modulation des Serotonintransporters (5-HTT) unmittelbar beeinflusst.

Klinisch wird vor allem der val66-met- Polymorphismus des Gens auch mit der Zwangsstörung (OCD) (Hall et al., 2003; Mössner et al., 2005), Essstörungen (Ribases et al., 2004) und Schizophrenie (Neves-Pereira et al., 2005) in Verbindung gebracht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde unter anderem untersucht in wieweit dieser Polymorphismus mit der Entstehung der Migräne in Zusammenhang steht.

3. Zielsetzung

Die Wirksamkeit von 5HT-Agonisten im akuten Anfall sowie Veränderungen des Serotoninspiegels und dessen Metaboliten im Plasma während und nach der akuten Attacke weisen auf eine Schlüsselrolle des serotonergen Systems in der Migränepathophysiologie hin. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Serotoninrezeptorgene 5HT_{3A} und 5HT_{2A} sowie die Gene der TPH1 und des BDNF untersucht.

Ziel war es in einer Fall-Kontroll-Studie mit insgesamt 419 Probanden funktionelle Polymorphismen des jeweiligen Gens auf eine Assoziation mit Migräne mit oder ohne Aura zu testen. Im 5HT_{2A}-Rezeptorgen wurde hierzu die T/C Variation an Nukleotid 102 untersucht. Im Gen des 5HTR_{3A} wurde der C178T Polymorphismus zunächst mit Standard-PCR betrachtet. Da die Ergebnisse dieser Testreihe teilweise ungenau und für eine Auswertung ungeeignet waren wurde ein Protokoll nach der SNaPshot™-Methode etabliert. Dieser SNP zeigte in früheren Studien bereits eine Assoziation mit Essstörungen (Faris et al., 2000) und Alkoholismus (Mc Bride et al., 1998; Johnson et al., 2000)

Beim Brain derived neurotrophic factor BDNF war Ziel der Testreihe ein G/A Polymorphismus, welcher zu einer Valin66Methionin-Substitution innerhalb des Propeptids führt (Cargill et al., 1999). Patienten mit der heterozygoten Methioninvariante zeigen deutlich verminderte Hippocampusaktivität (Hariri et al., 2003) gegenüber für Valin homozygoten Individuen und haben ein erhöhtes Risiko für Zwangsstörung (Hall et al., 2003)

Im Gen der TPH1 wurde der A218C Polymorphismus in Intron 7 untersucht. Dieser zeigte in vorherigen Studien unter anderem eine Assoziation mit Alkoholismus, Suizidalität (Nielsen et al., 1998) sowie gesteigert aggressivem Verhalten (Manuck et al., 1999)

Alle Polymorphismen wurden im Hinblick auf eine signifikante Korrelation mit dem Auftreten von Migräne mit oder ohne Aura untersucht. Hierbei wurden die verschiedenen Allele sowohl in der heterozygoten als auch homozygoten Variante betrachtet. Anschließend erfolgte eine weitere Untersuchung, ob diese genetischen Varianten einen Zusammenhang zu gehäufterem Auftreten einer Reihe von Migränesymptomen aufweisen. Hiermit sollte die Bedeutung dieser funktionalen Varianten des serotonergen Systems für die Pathogenese der Migräne aufgeklärt werden.

4. Probandenkollektiv, Material und Methoden

4.1. Patienten- und Kontrollgruppen

Migränepatienten aus den Universitätskliniken Würzburg und Homburg/Saar wurden mittels standardisierter Kopfschmerzfragebögen befragt und neurologisch untersucht. Der Diagnosestellung lagen die Kriterien der zweiten Fassung der International Headache Society zugrunde (siehe 2.1.3). 143 Probanden litten an Migräne ohne Aura (MO), hiervon waren 126 weiblich und 17 männlich. Migräne mit Aura (MA) wiesen 96 weibliche Patienten und 26 Männliche auf, insgesamt umfasste diese Gruppe 122 Personen. Teilnehmer, die neben klassischer Migräne mit Aura gelegentlich Attacken ohne Aura aufwiesen wurden der MA-Gruppe zugeteilt. Das Durchschnittsalter aller Migränepatienten betrug 43,72 Jahre.

Die Gruppe Migränepatienten mit und ohne Aura unterschied sich nicht wesentlich in Geschlecht, Lebensalter, durchschnittlichem Alter bei Erstmanifestation, Anzahl der betroffenen Verwandten ersten Grades sowie Dauer, Klinik und Häufigkeit der Attacken.

Die Kontrollgruppe bestand aus 155 Probanden, davon 111 weibliche und 43 männliche Personen, das Durchschnittsalter betrug hier 65,15 Jahre. Auswahlkriterium war hier der Ausschluss einer Migräne sowie einer daraufhin positiven Familienanamnese anhand standardisierter Befragung, das Mindestalter der Teilnehmer betrug 49 Jahre.

Gleichzeitiges Vorliegen anderer psychiatrischer Erkrankungen wurde mittels Befragung und beck'schen Depressions-Index unter 10 Punkten in allen Gruppen ausgeschlossen.

4.2. Geräte und Materialien

4.2.1. Oligonukleotide

Bezeichnung	Primersequenz (5'→3')	Erstbeschreiber	T _m (°C)	GC-Anteil (%)	Verwendung
5HT2A-Ma7	CAA GGT GAA TGG TGA GCA GAA A	Khait et al. 2005	58,4°C	45,5%	5HT _{2A}
5HT2A-Ma8	TGG CAA GTG ACA TCA GGA AAT AGT	Khait et al. 2005	59,3°C	41,7%	5HT _{2A}
5HTR3a SBE rv	GAG TGC CTC CGA GTG CTC AGG		65,7°C	66,7%	SNaPshot™, HPLC gereinigt
5HTR3A-F	AGC TCC CAC AGC ATG ACA TCA GC		64,2°C	56,5 %	PCR vor SNaPshot™
5HTR3A-R	CCC TCG GAG GAC TGA AGC AT		61,4°C	60%	PCR vor SNaPshot™
TPH1F-Niehl97	TTC CAT CCG TCC TGT GGC TGG TTA	Nielsen et al. 1996	64,6°C	54,2%	TPH1
TPH1R-Niehl97	TTT GAA CAG CCT CCT CTG AAG CGC	Nielsen et al. 1996	64,4°C	54,2%	TPH1
BDNF-f	AAA GAA GCA AAC ATC CGA GGA CAA G	Moessner et al., 2005			BDNF
BDNF-r	ATT CCT CCA GCA GAA AGA GAA GAG G	Moessner et al., 2005			BDNF

Tab. 2: Alle in dieser Arbeit verwendeten synthetischen Oligonukleotide wurden von MWG- Biotech (Eberstadt) hergestellt.

4.2.2 Enzyme

Enzym	Hersteller	Verwendung
CIAP (Calf intestine alkaline phosphatase)	Fermentas	Aufreinigung der DNA vor SNaPshot™-Reaktion
Exo SAP-IT	USB Corporation (Cleveland)	Aufreinigung der DNA vor SNaPshot™-Reaktion
Hin 1 II	Fermentas (St. Leon-Rot)	BDNF (brain derived neurotrophic factor) Digest
Hinf I	New England Biolabs (Schwabach)	SNP 23 Digest (5HT _{2C})
MSP I	New England Biolabs	5HT _{2A} -Digest

	(Schwabach)	
Nhe I	New England Biolabs (Schwabach)	TPH1-Digest
Pronase E	Applichem (Darmstadt)	DNA-Extraktion
Taq DNA Polymerase	PeQlab (Erlangen)	PCR-Reaktionslösung

Tab. 3

4.2.3 Chemikalien

<i>Chemikalie</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Verwendung</i>
(NH ₄) ₂ SO ₄	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
0,5 M EDTA (pH 8,0)	AppliChem (Darmstadt)	TAE-Puffer
100-Basenpaarleiter (DNA-Längenstandards XIV)	Roche Molecular Biochemicals (Mannheim)	Agarosegelelektrophorese
10x EDTA-Puffer	Applied Biosystems (Warrington)	Puffer für Genfragmentanalyse
2-Propanol	Merck (Darmstadt)	DNA-Extraktion
BSA (bovines Serumalbumin)	New England Biolabs (Schwabach)	Digest-Puffer
dNTP-Mix (je 2,5mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Promega (Mannheim)	PCR-Reaktionslösung
Eisessig, 100%	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
Ethidiumbromidlösung (10mg/ml)	SIGMA-Aldrich (St. Louis)	Anfärben der Agarosegele
Glycerol	Pharmacia Biotech (Freiburg)	Puffer- und Stammlösungen
H ₂ O (Aqua dest.)	Merck (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen, molekularbiologische Reaktionsansätze
Hi Di-Formamide	Applied Biosystems (Warrington)	Denaturierung der DNA
KCL	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
MgCl ₂	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
Na ₂ EDTA	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
NaCl	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
POP-6 (Performance	Applied Biosystems	Genfragmentanalyse nach

Optimized Polymer)	(Warrington)	SNaPshot™-Reaktion
SDS (sodium deodecyl sulfate)	Sigma (Steinheim)	Puffer- und Stammlösungen
SeaKem LE Agarose	Cambrex Bioscience (Rockland)	Herstellung der Agarosegele
Tris-Base	AppliChem (Darmstadt)	TAE-Puffer
Tris-EDTA	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
Tris-HCL	AppliChem (Darmstadt)	Puffer- und Stammlösungen
Tween 20	Sigma (Steinheim)	PCR-Puffer

Tab. 4

4.2.4 Puffer- und Stammlösungen

25x TAE-Stocklösung (1L)

Tris-Base 121g
 Eisessig 28,5 ml
 EDTA (0,5M, pH 8)
 H₂O 921,5 ml

1x TAE Arbeitslösung (1L)

40 ml TAE Stocklösung
 960 ml Millipor H₂O

7,5mM MgCl₂

500 mM KCL
 100 mM Tris- HCL (pH 8,3)
 0,25 % (V/V) Tween 20
 0,25 mg/ml BSA
 7,5 mM MgCl₂

10 mM MgCl₂

500 mM KCl
 100 mM Tris- HCL (pH 8,3)
 0,25 % (V/V) Tween 20
 0,25 mg/ml BSA
 10 mM MgCl₂

15 mM MgCl₂	500 mM KCL 100 mM Tris-HCL (pH 8,3) 0,25 % (V/V) Tween 20 0,25 mg/ml BSA 15 mM MgCl ₂
25 mM MgCl₂	500 mM KCL 100 mM Tris- HCL (pH 8,3) 0,25 % (V/V) Tween 20 0,25 mg/ml BSA 25 mM MgCl ₂
Goldstar	750 mM Tri- HCL (pH 9) 200 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1% Tween 20
denaturierender Stopppuffer	1,5 ml Glycerol 25 mg Bromphenolblau-Xylenecyanol 10 ml H ₂ O
Lysispuffer	115 mM NH ₄ Cl 10 mM KHCO ₃ 0,1 mM Na ₂ EDTA
Kernlysispuffer	10 mM Tris- HCL (pH 8) 400 mM NaCl 2 mM Na ₂ EDTA

4.2.5 Geräte

<i>Gerät</i>	<i>Fabrikat</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Verwendung</i>
Elektrophoresekammern	Model B2 Easy Cast	OWL Separation System (Portsmouth)	Agarosegelelektrophorese
	Model B3	OWL Separation System (Portsmouth)	Agarosegelelektrophorese
	Model B1A	OWL Separation System (Portsmouth)	Agarosegelelektrophorese
Photometer	Biophotometer	Eppendorf AG (Hamburg)	DNA-Konzentrationsmessung
Sequenzer	310 Genetic Analyzer	ABi-Prism (Weiterstadt)	Genfragmentanalyse
Spannungsgeräte	Gene Power Supply	Pharmacia (Freiburg)	Agarosegelelektrophorese
	Consort E 844	PeQlab (Erlangen)	Agarosegelelektrophorese
	El. Phor.- Powerpack P24	Biometra (Göttingen)	Agarosegelelektrophorese
Thermocycler	Whatman T1 Thermocycler	Biometra (Göttingen)	Standard-PCR und SNaPshot™-Reaktion
	Whatman TGradient	Biometra (Göttingen)	Standard-PCR und SNaPshot™-Reaktion
	UNO-Thermoblock	Biometra (Göttingen)	Standard-PCR und SNaPshot™-Reaktion
UV-Transilluminator	Fluo_Link (TFL- 20M, 312nm)	MWG Biotech (Eberstadt)	Betrachten der gefärbten Gele
	ChemiDoc	Bio-RAD (München)	Betrachten und Photographieren der gefärbten Gele
Zentrifugen	RC5C	Sorvall instruments (Langenselbold)	DNA-Extraktion

Wasserbad	Typ 1007	Gesellschaft für Labortechnik GFL (Burgwedel)	Enzymatische Aufspaltung amplifizierter DNA
-----------	----------	---	--

Tab. 5

4.2.6 Software

Experimenteller Teil

Quantity One Version 4.3.1

Chemie-Doc (Bio Rad, München)

ABI Prism Genetic Analyzing 310 Data Collection Version 2.1
(Darmstadt)

Statistische Auswertung

SPSS Version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)

4.2.7 SNaPshot™ Multiplexkit

Der hier verwendete SNaPshot™-Multiplexkit dient dem Nachweis von bis zu 10 verschiedenen single nucleotid polymorphismen (SNP) an bekannten Stellen einer vorher amplifizierten DNA-Probe. Alle enthaltenen Reagenzien wurden von Applied Biosystems (Warrington, UK) entwickelt und hergestellt.

<i>Kitkomponente</i>	<i>Inhaltsstoffe</i>
SNaPshot™ Multiplex Ready Reaction Mix	AmpliTaq® DNA Polymerase, FS fluoreszenzmarkierte ddNTPs Reaktionspuffer
SNaPshot™ Multiplex Control Primer Mix (30µl total)	20A Primer (0,05 pm/µl) 28G/A Primer (0,10 pm/µl) 36G Primer (0,05 pm/µl) 44T Primer (0,30 pm/µl) 52C/T Primer (0,30 pm/µl) 60C Primer (0,30 pm/µl)
SnaPshot™ Multiplex Control Template	Amplifiziert aus CEPH DNA
Protokoll	P/N 4323357

Tab. 6

4.2.8 Verbrauchsmaterialien

<i>Material</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Verwendung</i>
Plastikmaterialien	Sarstedt (Nürmbrecht)	Cups und Pipettenspitzen für Standard-PCR
	Eppendorf (Hamburg)	Cups und Pipettenspitzen für Standard-PCR
	Kisker biotech (Steinfurt)	Cups und Deckel für Genfragmentanalyse
Laborfilmpapier	Pechiney Plastic Packing	Parafilm für Gelelektrophorese

Tab. 7

4.3 Experimentelle Methoden

4.3.1 Extraktion genomischer DNA

Es existieren verschiedene Möglichkeiten, genomische DNA aus Vollblut zu isolieren. Die Proben die dieser Arbeit zugrunde liegen wurden mittels des Blood XL-Kits der Firma NucleoSpin® extrahiert. So wurden hierfür 10 ml Vollblut mit 500 µl Proteinase K in Anwesenheit von 10 ml BQ 1-Puffer lysiert und nach 15 Minuten Inkubationszeit bei 56° Grad Celsius durch 10 ml 96%iges Ethanol die DNA-Bindungsbedingungen optimiert. 15 ml des Lysats wurden anschließend für 3 Minuten bei 4000rpm durch ein filterbestücktes Röhrchen zentrifugiert und danach mit 7,5 ml BQ 2-Puffer durch eine Silikonmembran, einmal für 2 Minuten und ein weiteres Mal für 10 Minuten gewaschen, wiederum bei 4000rpm. Die zweite Phase in der Zentrifuge trocknet die mit der DNA versetzte Silikonmembran, durch weitere 2 Minuten Zentrifugieren wird diese in Reinform in 1000 µl zugegebenen BE-Puffer gelöst und kann nun analysiert werden (Protokoll nach Macherey-Nagel, 2004).

4.3.2 Die Standard-Polymerase-Kettenreaktion

1984 veröffentlichte Kary Mullis eine einfache Methode um in vitro eine bestimmte DNA-Sequenz zu vervielfältigen. Diese muss zunächst bei 95°C denaturiert werden um die komplementären Stränge zu trennen. Zwei spezifische Oligonukleotid-Primer (*forward* und *reverse*) binden dann bei einer primerabhängigen Annealingtemperatur entweder am 5' oder 3'-Ende des zu amplifizierenden DNA-Abschnittes. Durch eine thermostabile DNA-Polymerase werden nun die Primer bei 72°C mit Hilfe eines zugegebenen Gemisches aus vier Desoxynukleotidtriphosphaten und eines Magnesiumchloridpuffers bis zum Beginn eines erneuten Temperaturzyklus verlängert. Durch eine n-fache Wiederholung der Schritte Denaturierung, Annealing und Synthese lassen sich so theoretisch 2^n

Kopien des zwischen den Primern liegenden DNA-Abschnittes für weitere Analysen herstellen (Dingermann 1999). Beendet wird die Reaktion durch eine Abkühlung auf 10°C.

Folgende Tabelle zeigt die Reagenzien der für diese Arbeit verwendeten Standard-Polymerasekettenreaktionen. Die Ansätze für 5HT2A, TPH1 und BDNF sind dabei Erstvervielfältigungen für die enzymatische Aufspaltung in einem weiteren Schritt, 5HTR3A ist die Grundreaktion zur weiteren Analyse in der unten erläuterten SNaPshot™-Reaktion. Die Gesamtmengen der einzelnen Reaktionsansätze betragen dabei jeweils 25µl.

<i>Reagenzien</i>	<i>Menge</i>			
	<i>5HT2A</i>	<i>TPH1</i>	<i>BDNF</i>	<i>5HTR3A</i>
10mM MgCl ₂ -Puffer	2,5µl	-	-	-
15mM MgCl ₂ -Puffer	-	-	2,5µl	2,5µl
25mM MgCl ₂ -Puffer	-	1,0µl	-	-
Goldstar-Puffer	-	2,5µl	-	-
dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) 2,5mM	1µl	1µl	1µl	1µl
Primer forward (10pmol/µl)	0,7µl	1µl	2µl	0,8µl
Primer reverse: (10pmol/µl)	0,7µl	1µl	2µl	0,8µl
DNA 1:10 verdünnt	1µl	2µl	1µl	1µl
Taq-Polymerase (0,5U)	0,2µl	1µl	0,9µl	0,3µl
H ₂ O	18,9µl	15,5µl	15,6µl	18,6µl

Tab. 8

In einem Thermocycler wurde die Reaktionsansätze folgenden Temperaturprofilen ausgesetzt:

	<i>5HT2A</i>	<i>TPH1</i>	<i>BDNF</i>	<i>5HTR3A</i>	
<i>Schritte</i>	<i>Temp./ Zeit</i>	<i>Temp./ Zeit</i>	<i>Temp./ Zeit</i>	<i>Temp./ Zeit</i>	<i>Vorgang</i>
1.	95°C 3 Min.	95°C 3 Min.	95°C 3 Min.	95°C 3 Min.	Initiale Denaturierung
2.	95°C 45 Sek.	95°C 30 Sek.	95°C 45 Sek.	95°C 45 Sek.	Denaturierung des DNA-Abschnittes
3.	59,8°C 45 Sek.	58°C 60 Sek.	62°C 45 Sek.	62,6°C 45 Sek.	Anlagerung der Primer (Annealing)

4.	72°C 45 Sek.	72°C 30 Sek.	72°C 45 Sek.	72°C 45 Sek.	DNA-Synthese
5.	72° 3 Min.	72°C 5 Min.	72°C 3 Min.	72°C 3 Min.	Letzte DNA-Synthese

Tab. 9

Die Schritte 2.-4. wurden 35 Mal wiederholt.

4.3.3 Enzymatische Aufspaltung amplifizierter DNA-Sequenzen

Um spezifische Polymorphismen oder SNPs in einem zuvor mit der PCR-Methode amplifizierten DNA-Abschnitt (siehe 4.3.2) in der Agarosegelelektrophorese (siehe 4.3.4) darzustellen ist es nötig das PCR-Produkt vorher an der gewünschten Stelle zu spalten. Dies geschieht mittels bakteriell gewonnener Restriktionsendonukleasen. Die Erkennungssequenzen für diese Enzyme bestehen aus mindestens 4 Basen und enthalten eine palindromische Sequenz, das heißt die Basensequenz beider Einzelstränge ist vom 5'-Ende aus gelesen identisch. In Anwesenheit eines optimalen Puffers schneiden diese Enzyme bei in der Regel 37° Celsius im Wasserbad innerhalb 2 bis 24 Stunden die PCR-behandelte DNA in elektrophoretisch analysierbare Stücke. Die in dieser Arbeit verwendeten Enzyme sind unter 4.2.3 zusammengefasst.

4.3.4 Agarosegelelektrophorese und Nachweis durch Ethidiumbromidfärbung

Alle Nukleinsäuren tragen eine bestimmte Ladung die direkt mit der Moleküllänge korreliert. Dementsprechend können sie in der Gelelektrophorese je nach Größe aufgetrennt werden. Bei linearer Doppelstrang-DNA ist die Wanderungsgeschwindigkeit indirekt proportional zum Logarithmus der Anzahl ihrer Nukleotidpaare. Die Wanderung erfolgt in einer Gelmatrix die häufig aus Polyacrylamid oder Agarose unterschiedlicher Konzentrationen besteht, ausschließlich letztere wurden in dieser Arbeit verwendet. Mit Agarosegelen lassen sich je nach Konzentration DNA-Fragmente im Bereich von 100 bp bis 15000 bp auftrennen (Dingermann 1999). Hierfür wird die gewünschte Agarosekonzentration in 100ml 1xTAE-Puffer durch Aufkochen gelöst und nach Abkühlung auf etwa 60° mit 3µl Ethidiumbromid versetzt. Bei Raumtemperatur erstarrt diese Masse in einer mit einem Kamm bestückten Gelkammer innerhalb von 1-2h zu einer festen Matrix mit ausgesparten Geltaschen. Diese Taschen werden in einer mit 1xTAE-Puffer gefüllten Elektrophoresekammer mit dem Gemisch aus DNA und Stopppuffer im Verhältnis 2:7 beladen. Bei Gleichspannung von 90-120 Volt wandern die negativ geladenen DNA-Fragmente entsprechend ihrer Größe unterschiedlich schnell zur Anode und werden dadurch aufgetrennt. Anschließend kann man durch orangefarbenes Fluoreszieren des interkalierenden

Farbstoffes Ethidiumbromid unter 254 nm UV-Licht die DNA-Banden sichtbar machen, fotografieren und mit Hilfe eines ebenfalls auf dem Gel mitgewanderten Längenstandard (einer sogenannten DNA-Leiter) vergleichen (Sambrook et Russel, 2001).

4.3.5 Die SNaPshotTM-Methode

Die SNaPshotTM-Methode der Firma ABI PRISM® dient dazu bis zu zehn SNPs (single nucleotide polymorphisms) bekannter Lokalisation in einer bis maximal zehn verschiedenen DNA-Proben nachzuweisen. Hierfür existiert ein fertiger Reaktionsansatz aus einer speziellen Polymerase, fluoreszenzmarkierten Nukleotiden, Reaktionspuffer und einer als Markierung dienenden Kontroll-DNA (siehe 4.2.8). In dieser Arbeit wurde die SNaPshotTM-Reaktion für die Analyse des 5HTR_{3A}-Rezeptors durchgeführt. Als Grundlage der SNaPshotTM-Reaktion wird zuerst eine Standard-Polymerasekettenreaktion ausgeführt um den SNP-tragenden DNA-Abschnitt zu amplifizieren (siehe 4.3.2). Anschließend werden 5µl des PCR-Produktes mit 1µl des Enzyms ExoSAP bei 37°C im Thermocycler für 30 Minuten aufgereinigt, das heißt von Primer-, Nukleotid- und Pufferresten befreit, weitere 15 Minuten bei 83°C sind anschließend nötig um das Enzym nach der Reinigung zu inaktivieren. Nun kann die eigentliche SNaPshotTM-Reaktion vollzogen werden: hierfür werden 1µl des gereinigten PCR-Produktes mit jeweils 1µl SNaPshotTM multiplex ready reaction mix und spezifischem, je nach Design forward oder reverse Primer (siehe 4.2.2) versetzt und mit 7µl H₂O auf 10µl Gesamtmenge expandiert. Im Thermocycler erfolgen dann 25 Zyklen aus jeweils 10 Sekunden DNA-Denaturierung bei 96°C, 5 Sekunden Anlagerung des Primers (Annealing) bei 50°C und 30 Sekunden Extension des Primers bei 60°C. Durch Abkühlung auf 4°C wird die Reaktion beendet. Nun folgt eine erneute Aufreinigung des gesamten Produktes mit 1µl CIAP (calf intestine alkaline phosphatase) für 30 Minuten bei 37°C mit nachfolgender Inaktivierung des Enzyms bei 83°C für 15 Minuten. Um das fertige SNaPshotTM-Produkt nun im ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer zu analysieren wird zuerst die Denaturierung von 0,5µl Produktmenge mit 12µl HI-DI-Formamid für 5 Minuten bei 95°C durchgeführt und anschließend das komplette Flüssigkeitsvolumen zur Genfragmentanalyse in die Trägercups des Geräteschlittens eingebracht. Dort läuft das Endprodukt in 20 Minuten pro Probe innerhalb der Kapillare des Gerätes über das Pop-6-Polymer von der Kathode zur Anode, wird dort von einer Photoelektrode analysiert und kongruent zur Länge des Primers und der Art des SNPs farblich im Elektropherogramm abgebildet. Anhand der mitgelieferten Positivprobe kann man nun das extendierte Nukleotid ablesen wobei homozygote Allele einen farblichen Peak ergeben, heterozygote zwei, nach Base farblich unterschiedliche peaks.

4.4 Statistische Methoden

Sämtliche Analysen wurden mit SPSS Version 12.0 der SPSS Corporation, Chicago, USA durchgeführt. Die Daten wurden auf Korrelation einer MA oder MO für alle Genotypen und Allele verglichen, unter Verwendung des Chi-Quadrat-tests. Zur Berechnung der Korrelation mit der klinischen Symptomatik wurde der t-test verwendet.

5. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 419 Patienten auf verschiedene single nucleotide polymorphisms (SNPs) in den Genen des 5HT_{2A}-Rezeptors, des 5HT_{3A}-Rezeptors, der Tryptophanhydroxylase 1 (TPH1) und des brain derived neurotrophic factor (BDNF) untersucht. Retrospektiv wurde ermittelt inwieweit diese SNPs mit Ausprägung einer Migräne mit Aura (122 betroffene Patienten), ohne Aura (143 Patienten) und verschiedenen Einzelsymptomen einhergeht. Einzelne Symptome wurden mittels standardisierter Fragebögen in der gesamten Gruppe der MA- und MO-Patienten erfasst, insgesamt konnten diese Daten bei 239 der 275 Migräniker erhoben werden. Verwendet wurde hierfür der χ^2 -test nach Pearson, rechnerisch wurde die Gruppe der MA und der MO-Patienten zusammengefasst.

5.1. Ergebnisse der Untersuchung des 5HT_{2A}-Rezeptors

Im Exon des 5HT_{2A}-Rezeptors wurde ein T/C SNP an Nukleotid 102 betrachtet. In einigen vorhergehenden Studien konnte gezeigt werden, dass dieser Polymorphismus eine Assoziation mit Schizophrenie aufwies (Williams et al., 1996; Erdmann et al., 1996). Der homozygote T-Alleltyp geht mit einer erhöhten maximalen 5-HT_{2A}-Rezeptorbindungskapazität einher (Spurlock et al., 1998). Dieser Effekt zeigte sich lediglich in der Kontrollgruppe jedoch nicht bei den Patienten mit affektiven Störungen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der T102C-SNP mittels Standard-PCR und anschließender enzymatischer MspI-Spaltung analysiert. Nach 24stündigem Verdau des 425bp großem PCR-Produktes wurde das homozygote T/T-Allel überhaupt nicht geschnitten, das homozygote C/C-Allel bei 176/249bp und das heterozygote T/C-Allel bei 425/249/176bp gespalten.



Abb. 6: PCR-Produkt nach 24stündiger MspI-Restriktion, Darstellung unter UV-Lumineszenz nach Ethidiumbromidfärbung und Wanderung im 3% Agarosegel

T/T	425 bp		
C/T	425bp	249bp	176bp
C/C		249bp	176bp

Von 143 MO-Patienten trugen 52 das homozygote C-Allel, 66 waren heterozygot für T/C, 26 homozygot für das seltene T-Allel. Von 122 MA-Patienten waren 38 homozygot für C/C, lediglich 11 für T/T und 73 heterozygot. Unter den Kontrollpersonen betrug die Zahl der Heterozygoten 76 Personen, 43 waren homozygot für das C-Allel und 26 homozygot für T. Der jeweilige Prozentanteil der Teilnehmer wird in Tabelle 10 zusammengefasst.

	Genotyp			Allel	
	C/C	T/C	T/T	C	T
MO (n=143)	52 (36,3%)	66 (46,1%)	25 (17,4%)	59,4%	40,6%
MA (n=122)	38 (31,1%)	73 (59,8%)	11 (9,0%)	61,0%	39,0%
Kontrollen (n=155)	53 (34,1%)	76 (49,0%)	26 (16,7%)	58,7%	41,3%

Tab. 10: prozentuale Allelverteilung des 5-HT_{2A}-Rezeptors bei Migränepatienten und Kontrollen

Die Auswertung der Genotypfrequenzen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Migränepatienten und Kontrollen ($\chi^2=7,029$; $df=4$; $p=0,134$). Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem seltenen T/T-Allel und einer oder beider Migräneformen nachgewiesen werden.

Zusätzlich zur Erkrankungswahrscheinlichkeit wurde das Auftreten verschiedener einzelner Migräne- und migräneähnlicher Symptome untersucht. Analysiert wurden jeweils Übelkeit, Erbrechen, Aktivitätsminderung, Photo- und Phonophobie sowie einseitige und pulsierende Kopfschmerzen. Auch hier konnte für keines der untersuchten Symptome ein signifikanter Zusammenhang mit dem T102C-Polymorphismus nachgewiesen werden:

Symptom	Allel des 5-HT _{2A} -Rezeptors			χ^2 nach Pearson, Freiheitsgrad df, Signifikanz p
	C/C	C/T	T/T	
Übelkeit	83,9%	85,0%	77,4%	$\chi^2= 1,066$; $df= 2$; $p= 0,587$
Erbrechen	54,3%	56,6%	51,6%	$\chi^2= 0,301$; $df= 2$; $p= 0,860$
Aktivitätsminderung	83,9%	79,5%	87,0%	$\chi^2= 1,281$; $df= 2$; $p= 0,527$
Photophobie	82,7%	83,5%	83,9%	$\chi^2= 0,029$; $df= 2$; $p= 0,985$
Phonophobie	62,9%	62,9%	54,9%	$\chi^2= 0,759$; $df= 2$; $p= 0,684$
Einseitiger Kopfschmerz	79,0%	74,8%	83,9%	$\chi^2= 1,352$; $df= 2$; $p= 0,509$
Pulsierender Kopfschmerz	70,4%	80,3%	77,4%	$\chi^2= 2,741$; $df= 2$; $p= 0,254$

Tab. 11: Symptomhäufigkeit bei Patienten des jeweiligen Genotyps

5.2. Ergebnisse der Untersuchung des 5HT_{3A}-Rezeptors

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der funktionale C178T-Polymorphismus der 5'-Region des 5HT_{3A}-Rezeptorgenens untersucht. In vorherigen Studien konnte dieser Rezeptor bereits mit Alkoholismus (Johnson et al., 2000), Ess- und Panikstörung (Faris et al., 2000; Olivier et al., 2000) sowie bipolarer affektiver Störung (Niesler et al., 2001) in Verbindung gebracht werden und beeinflusst überdies die Aktivität mehrerer anderer Neurotransmittersysteme wie GABA (Turner et al., 2004), ACTH (Bhatnagar et al., 2004) oder Dopamin, aber auch Adrenalin und Noradrenalin (Hüther und Rüter, 2000).

Zur Genotypisierung aller Probanden wurde zunächst das Standard-PCR-Protokoll von Niesler und Mitarbeitern von 2001 mit Acl-Schnitt für das häufige C-Allel verwendet. Nach Restriktion und Darstellung im Ethidiumbromid-Agarosegel konnte leider bei den meisten Proben keine eindeutige Aussage zum Genotyp getroffen werden, deshalb wurde in einem zweiten Versuchslauf die SNaPshotTM-Methode angewandt (siehe 4.3.5.). Abbildung 14 zeigt die DNA-Referenzleiter, Abbildung 15 zeigt die Analyse eines für T homozygoten Probanden. Hier bildet sich ein einzelner, einfarbiger grüner Peak ab, die Farbe ergibt sich aus der Fluoreszenzmarkierung der anfangs zugefügten Nukleotide.

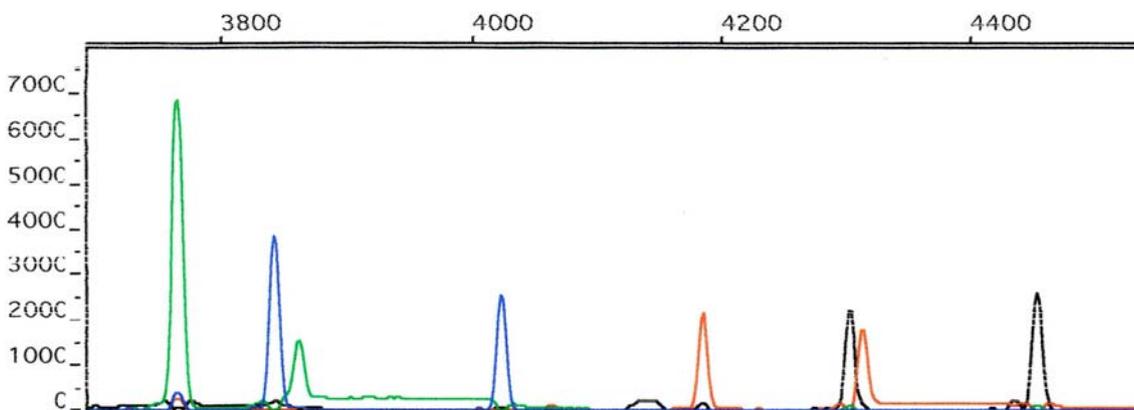


Abb. 7: DNA-Referenzleiter des SNaPshotTM-Multiplexkit. Die Art des Allels wird hierbei durch die Farbe dargestellt, die Stelle im PCR-Produkt ergibt sich auf der x-Achse. Die Höhe der jeweiligen peaks ergibt sich aus der Stärke des Signals, peaks unter 100C könnten eventuell auf Verunreinigungen zurückzuführen sein.

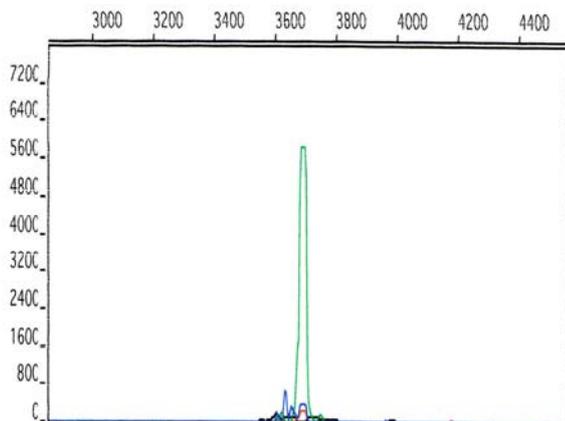


Abb. 8: farblich dargestelltes homozygote T/T -Allele nach Genfragmentanalyse

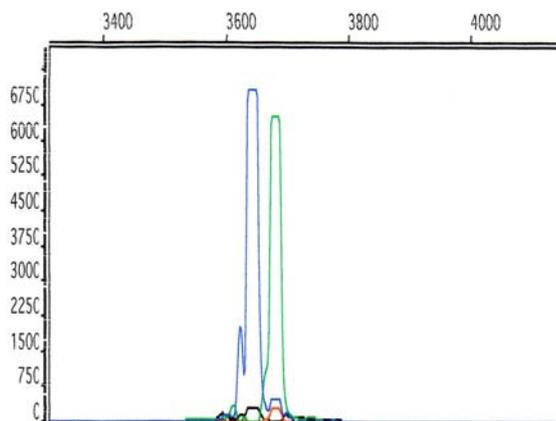


Abb. 9: farblich dargestelltes heterozygote C/T-Allele nach Genfragmentanalyse

Analog dazu wurden heterozygote C/C-Allele als einzelner blauer Peak dargestellt. Abbildung 16 zeigt die Analyse eines heterozygoten Probanden, hier wird für jedes einzelne Allel ein entsprechend farbiges Signal auf den Bildschirm übertragen. Die SNaPshot™-Methode lieferte in diesem Fall wesentlich genauere Ergebnisse, die jeweiligen Prozentzahlen der Genotyp und Allelverteilung sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

	Genotyp			Allel	
	C/C	C/T	T/T	C	T
MO (n=143)	91 (63,9%)	46 (32,2%)	6 (4,2%)	79,7%	20,3%
MA (n=122)	67 (54,9%)	50 (40,9%)	5 (4,1%)	75,4%	24,6%
Kontrolle (n=155)	104 (67,7%)	40 (25,8%)	9 (5,8%)	81,0%	19,0%

Tab. 12: prozentuale Allelverteilung des 5HT_{3A}-Rezeptors bei Migränepatienten und Kontrollen

Die statistische Auswertung mittels Chi-Quadrat-Test und Hardy-Weinberg-Gleichung ergab keinen Zusammenhang zwischen Migränepatienten und einem bestimmten Genotyp. χ^2 nach Pearson war hier 7,090, es ergab sich daraus ein p-Wert von 0,131, also keine signifikante Assoziation des C178T-Polymorphismus mit Migräne. ($\chi^2= 7,090$; df= 4; p= 0,131)

Symptom	Allel des 5-HT _{3A} -Rezeptors			χ^2 nach Pearson, Freiheitsgrad df, Signifikanz p
	C/C	C/T	T/T	
Übelkeit	84,1%	80,9%	100%	$\chi^2= 2,430$; df= 2; p= 0,297
Erbrechen	53,1%	55,9%	80,0%	$\chi^2= 2,764$; df= 2; p= 0,251
Aktivitätsminderung	82,7%	80,9%	80,0%	$\chi^2= 0,146$; df= 2; p= 0,930

Photophobie	80,7%	86,9%	90,0%	$\chi^2= 1,814$; df= 2; p= 0,404
Phonophobie	62,1%	58,3%	90,0%	$\chi^2= 3,804$; df= 2; p= 0,149
Einseitiger Kopfschmerz	77,9%	77,4%	70,0%	$\chi^2= 0,337$; df= 2; p= 0,845
Pulsierender Kopfschmerz	76,5%	75,0%	90,0%	$\chi^2= 1,121$; df= 2; p= 0,571

Tab. 13: Symptomhäufigkeit bei Patienten des jeweiligen Genotyps

Ebenso verhielt es sich mit der statistischen Auswertung der klinischen Erscheinungen. Für diesen Polymorphismus konnte für keines der einzelnen Symptome ein p-Wert unter 0,05 ermittelt werden, somit besteht auch hier kein signifikanter Zusammenhang. Es fällt jedoch auf, dass alle TT-Patienten Übelkeit berichteten, auch wenn dies nicht statistisch signifikant war. Die einzelnen Signifikanzwerte sind unter Tabelle 13 zusammengefasst.

5.3. Ergebnisse der Untersuchung der Tryptophanhydroxylase TPH1

Nielsen et al. fanden 1997 zwei polymorphe Stellen in Intron 7 des TPH1-Genes, A218C und A779C. Da die Tryptophanhydroxylase (TPH) den geschwindigkeits- und mengenbegrenzenden Schritt der Serotoninsynthese darstellt ging man davon aus dass Variationen dieses Gens Veränderungen im 5-HT-Stoffwechsel mit sich brachten. Die finnische Arbeitsgruppe konnte im Zusammenhang mit Suizidversuchen eine Korrelation zwischen Polymorphismus und erniedrigten 5-Hydroxyindolessigsäurespiegel, einem Serotoninmetaboliten, nachweisen.

Mittels Standard-PCR und enzymatischer Spaltung nach dem Protokoll von Nielsen et al. (siehe 4.2.2 und 4.2.3) von 1997 untersuchten wir retrospektiv ob ein Zusammenhang zwischen dem A218C-Polymorphismus und dem Auftreten von Migräne vorliegt. Hierzu wurde das 1027bp große PCR-Produkt für 24 Stunden bei 37° Celsius im Wasserbad inkubiert und mit Restriktionsenzym NheI verdaut. Dabei entstanden drei Banden von jeweils 1027bp, 680bp und 340bp für das heterozygote A/C-Allel, zwei 680bp und 340bp für das homozygote C/C-Allel, das seltene A/A-Allel wurde überhaupt nicht geschnitten. Abbildung 17 zeigt die elektrophoretische Darstellung im ethidiumbromidgefärbten Gel unter UV-Lumineszenz anhand einiger Stichproben.



Abb. 10: PCR-Produkt nach 24stündigem NheI-Verdau, Darstellung unter UV-Lumineszenz im 3%igem ethidiumbromidgefärbten Agarosegel

A/A 1027bp
 A/C 1027bp 680bp 340bp
 C/C 680bp 340bp

Die Verteilungen der jeweiligen Genotypen sind in Tabelle 14 aufgelistet.

	Genotyp			Allel	
	C/C	C/A	A/A	A	C
MO (n=143)	28 (19,5%)	71 (49,6%)	44 (30,7%)	44,4%	55,6%
MA (n=122)	11 (9,0%)	61 (50,0%)	50 (40,9%)	34,0%	66,0%
Kontrolle (n=155)	24 (15,4%)	79 (50,9%)	51 (32,9%)	41,2%	58,8%

Tab. 14: Genotyp- und Allelverteilung des TPH1-Genes bei Migränepatienten und Kontrollen

Im Chi-Quadrat-Test nach Pearson errechnete sich für den A218C-Polymorphismus bei Migränepatienten ein Wert von 7,120, umgerechnet also ein p-Wert von 0,130 womit kein signifikanter Zusammenhang mit diesem SNP gezeigt werden konnte. ($\chi^2 = 7,120$; $df = 4$; $p = 0,130$)

Symptom	Allel der TPH1			χ^2 nach Pearson, Freiheitsgrad df, Signifikanz p
	A/A	C/A	C/C	
Übelkeit	86,1%	86,3%	79,0%	$\chi^2 = 2,094$; $df = 2$; $p = 0,351$
Erbrechen	63,8%	54,7%	52,3%	$\chi^2 = 1,389$; $df = 2$; $p = 0,497$
Aktivitätsminderung	83,3%	80,3%	83,7%	$\chi^2 = 0,434$; $df = 2$; $p = 0,805$
Photophobie	88,8%	83,7%	80,2%	$\chi^2 = 1,405$; $df = 2$; $p = 0,495$
Phonophobie	58,3%	62,3%	62,7%	$\chi^2 = 0,235$; $df = 2$; $p = 0,889$
Einseitiger Kopfschmerz	83,3%	70,1%	84,9%	$\chi^2 = 7,058$; $df = 2$; $p = 0,029$
Pulsierender Kopfschmerz	80,5%	72,6%	80,2%	$\chi^2 = 1,964$; $df = 2$; $p = 0,375$

Tab. 15: Symptomhäufigkeit bei Patienten des jeweiligen Genotyps

Anders verhält es sich mit der klinischen Symptomatik. Während für Übelkeit, Erbrechen, Aktivitätsminderung, pulsierende Kopfschmerzen sowie Photo- und Phonophobie kein p-Wert unter 0,05 im Chi-Quadrat-Test nach Pearson ermittelt werden konnte zeigte sich eine statistische Signifikanz von 0,029 bei Auftreten von einseitigen Kopfschmerzen ($p= 0,029$; $\chi^2=7,058$; $df= 2$; $OR= 0,82$; Signifikanzniveau $\alpha= 5\%$ bzw. 0,05). Hierbei klagten aber die Patienten mit dem heterozygoten Genotyp C/A deutlich seltener über einseitige Kopfschmerzen als die Patienten, die homozygot für des A-Allel oder das C-Allel waren.

5.4. Ergebnisse der Untersuchung des brain derived neurotrophic factor BDNF

Der brain derived neurotrophic factor BDNF ist für das Überleben von Neuronen verschiedener Hirnareale während der Embryonalphase verantwortlich und sichert den Verbleib einer adäquaten Anzahl funktionstüchtiger Nervenzellen nach Abschluss der Hirnentwicklung (Jones und Reichardt, 1990; Hariri et al, 2003). Cargill et al. identifizierten 1999 erstmals einen G196A-Polymorphismus im BDNF-Gen, der zu einem Valin-Methionin-Austausch an der 66-Position des Vorläuferproteins (pro-BDNF) führt. Obwohl dieser Aminosäureaustausch in der Prodomäne liegt und im fertigen Protein bereits herausgeschnitten ist, wurde bereits eine positive Assoziation dieses SNPs für OCD (Hall et al., 2003), Schizophrenie (Neves-Pereira et al., 2005) und Essstörungen (Ribases et al., 2004; Rios et al., 2001) nachgewiesen. Da BDNF ebenfalls ein spezifischer Faktor für Wachstum und Differenzierung serotonerger Neurone ist (Mamounas et al., 1995) sowie die Exprimierung des Serotonintransporters 5-HTT modifiziert (Mössner et al., 2000) untersuchten wir ob der val66met-Polymorphismus zusätzlich an der Migränepathophysiologie beteiligt ist. Nach Standard-PCR erfolgte ein 24stündiger Hin1II-Verdau im 37° Celsius warmen Wasserbad, dabei erfolgte die enzymatische Spaltung des 274bp großen Genabschnittes in zwei (57bp und 217bp), drei (57bp, 77bp und 140bp) oder vier (57bp, 77bp, 140bp und 217bp) Stücke für die homozygoten G beziehungsweise A-Allele und das heterozygote G-Allel. Abbildung 18 zeigt die elektrophoretische Auftragung des geschnittenen Produktes.



Abb. 11: geschnittenes PCR-Produkt nach 24 stündigen HinI II-Verdau, Darstellung unter UV-Lumineszenz nach Wanderung im 3%igem ethidiumbromidgefärbten Agarosegel.

G/A	217bp	140bp	77bp	57bp
G/G	217bp			57bp
A/A		140bp	77bp	57bp

Die prozentuale Allelverteilung ist in Tabelle 16 zusammengefasst.

	Genotyp			Allel	
	G/G (val/val)	G/A (val/met)	A/A (met/met)	G (val)	A (met)
MO (n=143)	80 (55,9%)	57 (39,9%)	6 (4,2%)	75,9%	24,1%
MA (n=122)	67 (54,9%)	48 (39,3%)	7 (5,7%)	74,6%	25,4%
Kontrolle (n=155)	87 (56,1%)	59 (38,1%)	8 (5,1%)	75,6%	24,4%

Tab. 16: Genotyp- und Allelverteilung des BDNF-Genes bei Migränepatienten und Kontrollen

Auch hier ergab sich nach statistischer Auswertung mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson kein signifikanter Zusammenhang zwischen G196A-Polymorphismus beziehungsweise Valin-Methionin-Aminosäureaustausch und einem erhöhtem Migräneerkrankungsrisiko. ($\chi^2 = 0,406$; $df = 4$; $p = 0,982$; $OR = 1,02$)

Symptom	Allel des BDNF			χ^2 nach Pearson, Freiheitsgrad df, Signifikanz p
	G/G	G/A	A/A	
Übelkeit	87,4%	79,3%	75%	$\chi^2 = 3,300$; $df = 2$; $p = 0,192$
Erbrechen	57,7%	52,2%	50,0%	$\chi^2 = 0,835$; $df = 2$; $p = 0,659$
Aktivitätsminderung	82,2%	81,5%	83,3%	$\chi^2 = 0,033$; $df = 2$; $p = 0,984$
Photophobie	80,7%	85,9%	91,6%	$\chi^2 = 1,673$; $df = 2$; $p = 0,433$
Phonophobie	57,1%	67,4%	75,0%	$\chi^2 = 3,404$; $df = 2$; $p = 0,182$
Einseitiger Kopfschmerz	77,0%	77,2%	83,3%	$\chi^2 = 0,254$; $df = 2$; $p = 0,881$
Pulsierender Kopfschmerz	80,0%	69,5%	91,6%	$\chi^2 = 4,926$; $df = 2$; $p = 0,085$

Tab. 17: Symptomhäufigkeit bei Patienten des jeweiligen Genotyps

Ebenso wenig konnte ein deutlicher Zusammenhang mit einem oder mehreren der untersuchten Einzelsymptome nachgewiesen werden, allerdings zeigte sich mit einem p-Wert von 0,085 ein Trend zu pulsierenden Kopfschmerzen für homozygote Träger des A-Allels, beziehungsweise der Methionin-Variante.

6. Diskussion

Trotz jahrelanger Forschungsbemühungen und Identifikation einer ganzen Reihe vielversprechender Kandidatengene konnte bisher die genaue Pathophysiologie der Migräne nicht geklärt werden. Einige Studien lieferten teils widersprüchliche Ergebnisse oder konnten keinen genauen Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen und einem erhöhtem Erkrankungsrisiko nachweisen. Mittlerweile geht man davon aus, dass es sich bei Migräne um eine multifaktorielle und wahrscheinlich auch „multigenetische“ Erkrankung mit Schwellenwertcharakter handelt, das heißt es werden allem Anschein nach eher bestimmte oder zufällige Kombinationen von Genomveränderungen mit einer erhöhten Erkrankungswahrscheinlichkeit einhergehen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Assoziationsstudie mit vier bereits bekannten Polymorphismen in zwei Rezeptoren, einem Enzym und einem Wachstumsfaktor des serotonergen Systems durchgeführt. Dabei wurde im Fall-Kontroll-Verfahren nach einer Korrelation zwischen SNP und Migräne sowie einer Reihe häufiger Einzelsymptome gesucht. Es ergab sich weder für die Gruppe der MA-Patienten noch für die der MO-Patienten ein signifikanter Zusammenhang mit Migräne für die untersuchten Allele. Bei den einzelnen Symptomen konnte ebenfalls für die meisten Untersuchungen kein erhöhtes Erkrankungsrisiko ermittelt werden. Im nachfolgenden Teil werde ich Design und Durchführung der Studie diskutieren, die Auswahl der Kandidatengene kritisch beleuchten und letztendlich die Ergebnisse in Kontext mit dem aktuellen Forschungsstand der Migränepathophysiologie setzen.

Im Gegensatz zu rein Mendelschen Erbkrankheiten, die durch einen einzigen Defekt auf einem bestimmten chromosomalen Locus verursacht werden, handelt es sich bei der Migräne um eine komplex vererbte Erkrankung. Ihre Ursache liegt im gleichzeitigen Vorhandensein mehrerer Genloci, sie ist also ein polygenes Krankheitsbild. Dies bedeutet, dass ein spezifisches Allel oder in diesem Fall ein bestimmter SNP weder ausreicht noch notwendig ist die Erkrankung alleine zu verursachen, woraus eine geringe Penetranz des einzelnen Polymorphismus resultiert. Da Migräne zusätzlich von einer ganzen Reihe verschiedener Umweltfaktoren abhängt erfordert das Auffinden statistisch mit ihr assoziierter Allele die Genotypisierung einer großen Anzahl von Proben. Bei multifaktoriell vererbten Erkrankungen erwartet man eine Reihe potentieller Suszeptibilitätsgene die in Verbindung mit verschiedenen Umweltfaktoren die Erkrankungswahrscheinlichkeit erhöhen. Um diese zu identifizieren erfolgt zunächst eine Kopplungsanalyse betroffener Geschwister oder anderer Verwandter ersten Grades. Ein großes Problem stellt hier die genetische Heterogenität mancher Erkrankungen dar, die dazu führt, dass ein Phänotyp auch bei Geschwistern nicht unbedingt auf einen einzigen Genotyp zurückgeführt werden kann (Feingold 2005). Da wir im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich auf bekannte polymorphe Genorte

zurückgriffen wurde zur Analyse signifikanter Korrelationen eine Assoziationsstudie durchgeführt. Da der erwartete Effekt der jeweiligen einzelnen Kandidatengene relativ gering ist und Migräne mit einer Prävalenz von bis zu 14% eine häufige Erkrankung darstellt, führten wir eine retrospektive Assoziationsanalyse im Fall-Kontroll-Design durch.

Gen des 5-HT_{2A}-Rezeptors:

5-HT_{2A}-Rezeptoren sind an der Kontraktilität der Gefäße beteiligt. Serotonin sowie dessen Rezeptoragonisten sind bereits in geringen Konzentrationen in der Lage einen vasokonstriktorisches Effekt auszulösen und so die Autoregulation der zerebralen Perfusion zu steuern (Jansen et al., 1993). Im Hinblick auf die vasospastische Theorie der Migräneentstehung (siehe 2.1.4) schien dies ein plausibler Ansatz für eine genetische Studie zu sein. Nakajima et al. konnten 1997 erhöhte spastische Aktivität im Ileum von Meerschweinchen nach Stimulation gastrointestinaler 5-HT_{2A}-Rezeptoren nachweisen. Da bis zu 80% der Patienten über Übelkeit und 40% über Erbrechen im akuten Anfall klagen unterstützte dies die Auswahl des 5-HT_{2A}-Rezeptorgenes als Kandidatengen zusätzlich. Allerdings konnten einige vorhergehende Studien keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Migräne und Veränderungen im 5-HT_{2A}-Rezeptor oder anderen Serotoninrezeptoren nachweisen. Monari et al. veröffentlichten 1997 eine Studie an 14 italienischen Familien in der sie mit 29 verschiedenen DNA-Markern Chromosomenregionen um mehrere Kandidatengene, einschließlich dem 5-HT_{2A}-Rezeptor, untersuchten. Für keine der untersuchten Genregionen zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit den Migränepatienten, weshalb diese Arbeitsgruppe zu dem Schluss kam, diese Regionen seien möglicherweise als Träger von Kandidatengenen, zumindest innerhalb der italienischen Population, auszuschließen. Allerdings wurden hier lediglich große Genabschnitte mit verschiedenen DNA-Markern betrachtet, spezielle Polymorphismen wurden nicht gesondert untersucht. Auch die kalifornische Arbeitsgruppe um Anne Buchwalder kam bereits 1996 zu ähnlichen Ergebnissen. Hier wurden überlappende DNA-Regionen des Serotonin 2A und 2C-Rezeptors auf Anomalien und deren mögliche Korrelation mit Migräneentstehung betrachtet. Auch hier konnte kein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden. Beide Studien beschränkten sich jedoch auf das Scannen ganzer Genregionen und eventueller Kopplungsungleichgewichte; seltene Polymorphismen, genetische Heterogenität oder Stratifizierungseffekte konnten hier leicht zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Auch war die Anzahl an Studienteilnehmern zumindest in der italienischen Arbeit mit 14 Familien relativ begrenzt, was deren Validität im Allgemeinen herabsetzt. Dies, sowie mögliche Fehlinterpretationen auf Grund von Stratifizierungseffekten wurden auch von den Autoren eingeräumt. Zu gleichen Ergebnissen gelangten Nyholt et al. ebenfalls 1996. Im Gegensatz zu den anderen beiden Studien wurde hier eine polymorphe MspI Schnittstelle und ein eng daran gekoppelter Mikrosatellitenmarker D13S126 im Gen des 5HT_{2A}-Rezeptors betrachtet. Auch hier konnte keinerlei

signifikanter Zusammenhang zwischen polymorpher Stelle und Migränehäufigkeit nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse wurden im Rahmen unserer Assoziationsstudie reproduziert. Der T102C-Polymorphismus zeigte keinen signifikanten Zusammenhang oder Trend in Richtung Migränehäufigkeit. Insgesamt besaßen 36 der 265 Migränepatienten das homozygote T-Allel, dies entspricht einem Prozentsatz von 13,58%; in der Kontrollgruppe waren 16,77% Träger des T/T-Allels. Verglichen mit anderen Studien scheint in unserer Kontrollgruppe das T/T-Allel deutlich seltener als in Kontrollgruppen anderer Arbeitsgruppen vorzuliegen (Spurlock et al., 1998; Kaith et al., 2005), allerdings wurde im Rahmen unserer Assoziationsstudie mit 155 Personen eine teilweise bis zu 5fach höhere Anzahl an Gesunden analysiert, wodurch das Risiko für Stratifizierungseffekte deutlich verringert wurde.

Speziell für den T102C-Polymorphismus kamen Erdal et al. 2001 zu gleichen Ergebnissen. Die türkische Arbeitsgruppe untersuchte in einer PCR-basierten Studie mit 61 Migränepatienten und 44 Kontrollen in wieweit der T102C-SNP mit einer erhöhten Erkrankungsrate einhergeht und fand keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Genotypvariante und Migräne. Allerdings wurden hier anschließend die einzelnen Patientenkohorten getrennt berechnet. Dort zeigte sich zwar kein Unterschied nach Geschlecht, obwohl über 80% der Studienteilnehmer weiblich waren, es konnte jedoch eine deutliche Überrepräsentation des C/C-Allels bei Patienten mit MA nachgewiesen werden ($p=0,02$). Das C/T- und T/T-Allel trat hingegen überproportional häufig bei Patienten ohne Aura auf ($p<0,006$). Obwohl letztendlich nicht nachgewiesen ist ob es sich beim T102C-Polymorphismus um einen funktionalen Polymorphismus handelt suggeriert seine Assoziation mit dem Phänomen der Aura, dass möglicherweise der funktionale Status des 5-HT_{2A}-Rezeptors abhängig vom Genotyp sei und bei der Ausprägung einzelner Symptome eine Rolle spiele. Bei unserer Studie zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der gesamten Migränegruppe und dem Polymorphismus. Zusätzlich war die Studie von Erdal mit einer Zahl von 61 Migränepatienten (37 MA/ 24 MO) und 44 Kontrollen generell sehr klein angelegt; im Gegensatz zu dieser Untersuchung waren in unserem Patientenpool von insgesamt 420 Probanden an der prozentualen Allelverteilung in allen der Kohorten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Genotypen zu erkennen.

Der hier untersuchte T102C-Polymorphismus des 5-HT_{2A}-Rezeptors wurde in einigen Studien bereits mit einem erhöhten Schizophrenierisiko in Verbindung gebracht (Spurlock et al., 1998; Baritaki et al., 2004; Vaquero et al., 2006). Allerdings gibt es nahezu ebenso viele Studien, die dieses Ergebnis aus verschiedenen Gründen, sei es genetische Heterogenität oder Stratifizierungseffekte, nicht nachvollziehen konnten (Hawi et al., 1997; Chen et al., 2001; Etugrul et al., 2004). Da sich in vorherigen Studien bereits eine Korrelation des SNPs mit sowohl visuellen als auch akustischen Halluzinationen

zeigte (Williams et al., 1997; Holmes et al., 1998) kamen Erdal et al. zu dem Schluss, dass dieser Polymorphismus wahrscheinlich eine Rolle bei Ausprägung der Begleitsymptome spielt. Im Rahmen unserer Assoziationsstudie konnte jedoch weder für Entstehung der Migräne noch einiger Kardinalsymptome, wie Erbrechen, Übelkeit, Aktivitätsminderung, Photo- und Phonophobie sowie einseitige und pulsierende Kopfschmerzen ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden. Allerdings zeigten Spurlock et al. bereits 1998 in ihrer Assoziationsstudie zur Schizophrenie, dass der T102C-Polymorphismus zu keiner Änderung der Aminosäuresequenz des Proteins führt. Da diese Arbeitsgruppe einen weiteren A/G-SNP an -1438-Stelle des 5-HT_{2A}-Genes in komplettem Kopplungsungleichgewicht mit T102C identifizierte könnte man davon ausgehen, dass wahrscheinlich nicht der T102C-Polymorphismus direkt, sondern an ihn gekoppelte weitere, vielleicht auch noch unbekannte SNPs für die Pathogenese verschiedener Erkrankungen verantwortlich seien. Einige der durchgeführten Assoziationsstudien über den A/G-1438-SNP konnten einen signifikanten Zusammenhang mit Erkrankungen nachweisen, die bereits vorher dem T102C-Polymorphismus zugeschrieben wurden wie Essstörungen, saisonalen depressiven Störungen, sexueller Dysfunktion oder Zwangsstörungen (Prado-Lima et al., 2006; Lee et al., 2006; Bishop et al., 2006; Walitza et al., 2002). Allerdings gab es auch hier einige Studien, die diese Ergebnisse nicht reproduzieren konnten oder zu gegenteiligen Aussagen kamen (Zoroglu et al., 2003; Fuentes et al., 2004; Santos et al., 2005). Spurlock et al. konnten zwar keine Differenzen in der basalen Rezeptoraktivität zwischen dem A und G-Allel nachweisen, allerdings bestehen hier durchaus noch Möglichkeiten für weitere Forschung. Zusammenfassend lässt sich zur Rolle des T102C-Polymorphismus in der Pathophysiologie der Migräne sagen, dass einige frühere Studien sowie die Ergebnisse im Rahmen dieser Arbeit zeigen, dass es keinen Zusammenhang zwischen Genotyp und Migräne gibt. Im Rahmen unserer Studie konnte auch keines der untersuchten Symptome mit einem bestimmten Genotyp korreliert werden.

5-HT_{3A}-Rezeptor:

Alle bekannten Serotoninrezeptoren sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Die einzige Ausnahme bildet der 5-HT₃-Rezeptor, dieser ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal. 5-HT_{3A}-Rezeptoren spielen eine Rolle bei der Steuerung des Gefäßtonus sowie bei der Regulation von Übelkeit und Schmerzempfindung (Ye et al., 2001), ihre selektiven Antagonisten wirken stark antiemetisch und besitzen zudem schmerzmodulatorische und anxiolytische Wirkung. Obwohl die Pathogenese der Migräne noch nicht geklärt ist zeigt sie doch einige Parallelen zu generellen Aspekten von Ionenkanalerkrankungen. Sie tritt in jüngerem Alter auf, ist paroxysmal, hat ähnliche Triggerfaktoren und reagiert auf ähnliche Medikamente wie andere Ionenkanalerkrankungen (Ashcroft, 2000). Mutationen in Ionenkanälen verändern möglicherweise den Aktivierungsgrad neuronaler Datenübertragung oder die Erregbarkeit des Cortex an sich und könnten so Phänomene wie die Cortical spreading depression ermöglichen (siehe 2.1.4; James et al., 2001).

Im Rahmen dieser Arbeit untersuchten wir den C178T-Polymorphismus, der sich in der 5'-nichttranslatierten Region des HTR3A-Gens befindet. Niesler et al. wiesen 2001 nach, dass das weniger häufige T-Allel über Änderungen der Translationsrate die Expression des 5-HT_{3A}-Rezeptor steigert. Da während des akuten Anfalls, sowohl der MO als auch der MA, der zerebrale Blutfluss vermindert ist (De Benedettis et al., 1999; Kmiec et al., 2005) und 5-HT_{3A}-Rezeptoren über vasomotorische Effekte diesen mit regulieren, bietet sich hier ein möglicher Ansatz für die Migränepathophysiologie. Des weiteren zeigte die japanische Arbeitsgruppe um Tetsuya Iidaka 2005 in einer funktionalen magnetresonanztomographie-basierten Untersuchung eine deutliche Signalverstärkung im limbischen System (vor allem der Amygdala), des dorsolateralen und mediofrontalen Cortex auf emotionsbesetzte Bilder bei Trägern des homozygoten C-Allels. Bereits in früheren PET-Studien waren limbische Kerngebiete in Frontalhirn und Cortex als „Schrittmacherzentren“ für Migräneanfälle in Verdacht geraten (siehe 2.1.4; Weiller et al., 1995; Geraud et al., 2005), funktionelle Veränderungen durch den C178T-Polymorphismus in diesen Gebieten und in dorthin projizierenden Arealen könnten dementsprechend eine wichtige Rolle bei Entstehung von Migräneattacken spielen.

Als Stimulus wurde in der japanischen Arbeit menschliche Gesichter verwendet; C-Allel homozygote Probanden zeigten, zusätzlich zur verstärkten Gehirnaktivität, ein schnelleres Auftreten des MRT-Signals nach der gestellten Aufgabe als die Träger der heterozygoten C/T-Allele. Als Signal diente hier die tomographisch gemessene Blutoxygenierung. Die Aktivität im medialen präfrontalen Cortex war ebenfalls bei C/C-Allelträgern erhöht, dieses Areal spielt eine Rolle in Zielausrichtung des Handelns (Rogers et al., 2004) und kontrolliert, zumindest im Tierversuch, das emotionale und kognitive Verhalten (Vertes, 2004). Melke et al. wiesen bereits 2003 in einer Studie mit 350 schwedischen Frauen nach, dass der C178T-Polymorphismus unmittelbaren Einfluss auf den Charakter, die Extrovertiertheit und das Vermeidungsverhalten nimmt. Hier erwiesen sich Trägerinnen des homozygoten T-Allels als weniger introvertiert und selbstbewusster, zeigten weniger Angst vor Versagen und waren stressresistenter als Trägerinnen des C-Allels. Unter Berücksichtigung dieser und ihrer eigenen MRT-Daten zog die japanische Arbeitsgruppe um Tetsuya Iidaka unter anderem den Schluss, dass mit dem C178T-SNP ein genetisches Pendant für individuelle Persönlichkeitsstrukturen gefunden werden konnte. Betrachtet man die Tatsache, dass zahlreiche Studien seit den 60er Jahren Migränepatienten bestimmte Persönlichkeitsattribute zuteilen (Gianotti et Cianchetti, 1967; Ziegler et Paolo, 1995; Abbate-Daga et al., 2007) bietet sich hier eine weitere potentielle Rolle für den 5-HT_{3A}-Rezeptorpolymorphismus als Kandidatengenen.

Gesunde Träger des homozygoten C-Allels zeigten verminderte Liquorkonzentrationen von 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA), dem Hauptmetaboliten von Serotonin (Jönsson et al., 2004). Unklar

bleibt wie dieses Phänomen zustande kommt, sei es durch verminderten Umsatz von Serotonin oder von vornherein verminderte 5-HT-Produktion. Einige Studien fanden erhöhte Konzentrationen von 5-HIAA im Liquor von Migränepatienten (Kovacs et al., 1989; Rothrock et al., 1995), während die Plasmakonzentrationen, sowohl des Metaboliten als auch von Serotonin bei verschiedenen Autoren vermindert waren (D'Andrea et al., 1995; Milovanivic et al., 1999; Nagata et al., 2006). Lässt man zunächst außer Acht, dass die genauen Zusammenhänge nicht bekannt, und das Verhalten von Serotoninbeziehungsweise 5-HIAA-Plasmaspiegel nicht generell auf die Verhältnisse im Liquor übertragbar sind ergibt sich hier dennoch eine mögliche Bedeutung des C178T-Polymorphismus in der Migränepathophysiologie.

All diese bereits publizierten Studien und Erkenntnisse machen den 5-HT_{3A}-Rezeptor zum interessanten Kandidatengen für die Migränerforschung. Im Rahmen unserer Assoziationsstudie konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen C178T-Genotyp und Migräne bewiesen werden. Die Allelfrequenzen unserer Studie deckten sich weitgehend mit den Ergebnissen anderer Arbeiten (Niesler et al., 2001; Gutierrez et al., 2002; Mössner et al., 2007). Der C178T-Polymorphismus wurde in vorhergehenden Studien bereits mit Zwangsstörungen, affektiven Störungen (Baysal et al., 2002), Schizophrenie (Craddock et Lendon, 1999) und Alkoholismus (Johnson et al., 2000) in Verbindung gebracht. Aus unserer Sicht ist dieser Polymorphismus als kausale Variante für Migräne jedoch auszuschließen.

Die bisherigen Ergebnisse über die Auswirkungen des Rezeptorpolymorphismus legen trotz fehlender Korrelation mit der Migräneentstehung die Vermutung nahe, dass der Genotyp die Ausprägung einzelner Migränesymptome beeinflusst. Vielversprechend schienen hier vor allem Übelkeit und Erbrechen, da 5-HT_{3A}-Antagonisten bekanntermaßen Goldstandard bei zytostatikainduziertem, serotoninvermitteltem Erbrechen sind. Allerdings konnte auch hier keine signifikante Korrelation zwischen Genotyp und Symptom ermittelt werden. Auffällig war hier jedoch, dass alle homozygoten T-Allelträger im akuten Anfall über Übelkeit klagten, allerdings umfasste diese Gruppe gerade einmal 10 Probanden von 239 befragten Migränepatienten, eine weitergehende Aussage war mit dieser kleinen Anzahl nicht zu treffen. Sinnvoll wäre eine weitere Untersuchung dieses Symptoms mit einer größeren Gruppe von T-homozygoten Patienten.

Für Erbrechen sowie die anderen Migränesymptome (Aktivitätsminderung; Photo- und Phonophobie, einseitige und pulsierende Kopfschmerzen) konnte ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang oder Trend mit einem bestimmten Genotyp ermittelt werden.

Serotoninrezeptorantagonisten wie Ondansetron oder Cisaprid mindern nachweislich auch die gastrointestinalen Nebenwirkungen von selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmern (Bergeron et al., 1994; Minami et al., 2003). Ihr Effekt basiert dabei auf Bindung an den 5-HT_{3A}/5-HT_{3B}-Rezeptorkomplex, allerdings kamen einige vorhergehende Studien zu dem Schluss, dass hauptsächlich die 5-

HT_{3B}-Untereinheit für die Wirkung verantwortlich ist (Tremblay et al., 2003; Kaiser et al., 2004). Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass im Gen des 5-HT_{3B}-Rezeptors ein Tyr129Ser-Polymorphismus (Sugai et al., 2005) und bei einigen wenigen Patienten eine -100_102-AAG-Deletion (Tremblay et al., 2003) vermehrt zu medikamenteninduzierter Übelkeit beziehungsweise Erbrechen durch Chemotherapie führten. Zusammen mit unseren Ergebnissen scheint speziell für diese Symptomatik, sowohl in Verbindung mit Medikamenteneinnahme als auch als Begleitsymptom des Migräneanfalls, der 5-HT_{3B}-Rezeptor mit seinen Polymorphismen als geeigneteres Kandidatengen für die Zukunft.

Tryptophanhydroxylase TPH1:

Nielsen et al. entdeckten 1996 im Intron 7 des TPH1-Gens, welches für die Biosynthese von Serotonin aus Tryptophan zuständig ist, zwei polymorphe Stellen, einen A/C-SNP an 218-Stelle und einen A/C-SNP an 779-Stelle des Gens. Der A218C-Polymorphismus konnte in einigen Studien bereits mit verschiedenen neuropsychiatrischen Erkrankungen assoziiert werden, wie beispielsweise suizidalem Verhalten bei psychiatrisch vorbelasteten Patienten (Paik et al., 2000; Liu et al., 2006), Depressionen (Jokela et al., 2006) oder Alkoholismus (Chung et al., 2005). Allerdings führt dieser SNP zu keiner Änderung der Aminosäuresequenz im fertigen Enzym, potentiell könnte er jedoch splicing oder Translation der mRNA verändern. Optional wäre ebenfalls eine Kopplung an einen anderen, funktionellen Polymorphismus des TPH-Genes denkbar, die Arbeitsgruppe um David Nielsen konnte bereits ein starkes Kopplungsungleichgewicht mit dem A779C-Polymorphismus nachweisen.

Im Rahmen dieser Arbeit untersuchten wir den A218C-Polymorphismus zunächst auf eine Korrelation mit Migräne. Da die Tryptophanhydroxylase das geschwindigkeitslimitierende Enzym der Serotoninsynthese ist, schien dieser SNP trotz seiner bisher nicht genau erforschten Funktion als vielversprechendes Kandidatengen. Die türkische Arbeitsgruppe um Nurten Erdal publizierte nach Abschluss unserer experimentellen Arbeiten eine Studie über den A218C-Polymorphismus und Migräne, hier zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Genotyp und Erkrankungswahrscheinlichkeit, in der Gruppe der Migräniker war jedoch das homozygote A-Allel unterrepräsentiert. Letzteres Ergebnis konnte von uns nicht reproduziert werden, die jeweiligen Genotypfrequenzen brachten keinen Unterschied zwischen Migränepatienten und Kontrollen. Im Vergleich zur türkischen Studie umfassten unsere Kohorten mit 265 Migränepatienten und 155 Kontrollen allerdings fast das 5fache an Patienten und das 2,5fache an Kontrollen, eine potentielle Überlagerung durch Stratifizierungseffekte wird bei zunehmender Studiengröße unwahrscheinlicher. Unsere Heterozygotenfrequenzzahlen decken sich weitgehend mit den Prozentsätzen in Referenzgruppen anderer Assoziationsstudien (Turecki et al., 2001; Lai et al., 2005; Viana et al., 2006). Erdal et al. machten zudem keine genauen Angaben über den ethnischen Hintergrund ihrer Patienten und Kontrollen, betrachtet man die teilweise gravierenden Unterschiede in der Migräneprävalenz bei

verschiedenen Bevölkerungsgruppen und in verschiedenen Ländern innerhalb Europas (Stewart et al., 1996; Steiner et al., 2003; siehe 2.1.2) könnten sich damit die im Vergleich zu anderen Arbeiten doch recht divergierenden Allelfrequenzen erklären lassen.

Jonsson et al. konnten 1997 verminderte 5-Hydroxyindolessigsäurespiegel, dem Hauptmetaboliten von Serotonin, im Liquor männlicher Träger des A-Allels nachweisen. Es ergibt sich daraus eine potentielle Rolle dieses SNPs bei der Entstehung verschiedener Serotonin vermittelter Migränesymptome. Im Rahmen unserer Arbeit wurden 239 Migränepatienten mit und ohne Aura zusätzlich im Hinblick auf verschiedene Migränesymptome wie Übelkeit, Erbrechen, Aktivitätsminderung, Photo- und Phonophobie sowie einseitige und pulsierende Kopfschmerzen untersucht. Dabei zeigte sich mit einem p-Wert von 0,029 eine signifikante Korrelation des C-Allels mit dem Auftreten einseitiger Kopfschmerzen im akuten Anfall. Der Mechanismus, über den dieses Phänomen zustande kommt ist noch nicht bekannt; die Arbeitsgruppe um David Nielsen untersuchte 1997 konsekutive Veränderungen im Splicing bei A218C-polymorphen Probanden. Dabei zeigte sich kein Effekt eines bestimmten Genotyps, allerdings war hier unklar ob sich der SNP tatsächlich nicht auf das Genprodukt auswirkte oder ob die untersuchte mRNA zu instabil für einen Nachweis war. Dieselbe Gruppe konnte jedoch ein deutliches Kopplungsungleichgewicht des A218C-Polymorphismus mit dem A779C-Polymorphismus, der ebenfalls in Intron 7 liegt, nachweisen. In wieweit dieser Polymorphismus oder das Zusammenspiel beider für die Ausprägung der Symptomatik verantwortlich ist bleibt bisher unklar, weitere Studien in diese Richtung sind zu empfehlen.

Brain derived neurotropic factor (BDNF):

Im Gen des BDNF wurde 1999 von Cargill et al. eine Valin-Methionin Substitution an Stelle 66 beschrieben. Dieser Aminosäurenaustausch liegt in der Prodomäne des Peptids, da diese während der Bildung von BDNF aus pro-BDNF abgespalten wird (Mowla et al., 1999). Es scheint sich aber aus diesem Polymorphismus keine Veränderung im fertigen Protein zu ergeben. Egan et al. konnten jedoch 2003 in vitro nachweisen, dass Val66Met Einfluss auf intrazelluläre Vorgänge von pro-BDNF nimmt und damit auch auf Art und Menge der Sekretion von BDNF. Blandini et al. konnten 2006 in einer Untersuchung mit 60 Migränepatienten und 14 Patienten mit Clusterkopfschmerzen deutlich erniedrigte Spiegel von peripherem, speziell thrombozytärem BDNF ermitteln (Migräne vs. Kontrollen $p < 0,001$, Clusterkopfschmerz vs. Kontrollen $p < 0,01$). Die Gründe hierfür waren allerdings spekulativ, sei es verminderte Produktion in vaskulären Endothelzellen oder Hypothalamus (Nakahashi et al., 2000; Sortino et al., 1997) oder reduzierte Freisetzung aus thrombozytären α -Granula (D'Andrea et al., 1994). Die italienische Arbeitsgruppe um Blandini kam ebenfalls zu dem Schluss, dass optional auch der Val66Met-Polymorphismus des BDNF-Gens für die verminderten Spiegel verantwortlich sein könnte. Thrombozytäre Spiegel von Serotonin und seines Metaboliten 5-HIAA hingegen sind während der

anfallsfreien Intervalle bei Migränepatienten erhöht (D'Andrea et al., 1995), während Plasmaserotoninspiegel, zumindest bei MA-Patienten, erniedrigt sind (Nagata et al., 2006). Bekanntermaßen ist die Produktion beider Substanzen, zumindest im ZNS, eng miteinander verknüpft (siehe 2.2.6), dies unterstreicht unsere Auswahl des BDNF und seines Polymorphismus als Kandidatengen deutlich.

Chen et al. untersuchten 2004 anhand neuronaler und nicht-neuronaler, BDNF-produzierender Zellen in wieweit der Val66Met-Polymorphismus BDNF-Synthese und -Expression verändert. Hierbei stellte sich heraus, dass bereits der heterozygote Methionin-Einbau zu einer Sekretionsverminderung von BDNF führt. Träger der Methionin-Variante zeigten in einer bildgebenden Untersuchung eine geringere hippocampale Aktivität während Informationsverarbeitung und -wiederherstellung (Hariri et al., 2003). Außerdem waren Träger von Val66 in einer Studie mit einem erhöhten Risiko behaftet an Zwangsstörungen zu erkranken (Hall et al., 2003), allerdings konnte dies von anderen Studien wie beispielsweise Mössner et al. 2005 nicht reproduziert werden. Chen et al. demonstrierten bei heterozygoten Val66Met- Probanden zusätzlich eine BDNF_{Val} x BDNF_{Met} Heterodimerbildung mit über 70% des verfügbaren Methionin-BDNF. Durch diese wird der neuronale Fluss des Neurotrophins weniger effizient, konsekutiv vermindert sich die Sekretion wodurch nicht nur Verhaltensdefizite sondern auch die oben erwähnten Interaktionen mit dem serotonergen System bei heterozygoten Patienten zu erklären wären.

Funktionell unterstützt BDNF nicht nur die Entwicklung serotonerger Neurone, er modifiziert ebenfalls die Expression des Serotonintransporters (Mössner et al., 2000), wodurch die Serotoninaufnahme in die Zelle vermindert wird, was bei daraus resultierender Ineffizienz des Systems möglicherweise die interiktal erhöhten Serotoninspiegel erklären könnte. Einige Studien waren außerdem in der Lage funktionale Varianten im Serotonintransporter mit Migräne, oder zumindest einer ihrer Unterformen, zu korrelieren (Ogilvie et al., 1998; Racchi et al., 2004; Marziniak et al., 2005). Zudem spielt BDNF eine wichtige Rolle in der Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung (siehe 2.2.6). So sensibilisiert er nozizeptive Afferenzen und löst damit Hyperalgesie aus (Shu et Mendell, 1999) und führt zentral über die Expression sensibler Neurone zur Hypersensibilisierung gegenüber Entzündungsschmerzen (Mannion et al., 1999). Dies und seine enge Verknüpfung zum serotonergen System machen ihn zum interessanten Kandidatengen für die Entstehung der Migräne.

Im Rahmen unserer Studie konnte allerdings kein Zusammenhang zwischen Trägern von Methionin- oder Valinvariante im Hinblick auf Migräne ermittelt werden. Somit spricht dies gegen eine Rolle des Val66Met-Polymorphismus bei der Migräne. Auch in den Subskalen wie Übelkeit, Erbrechen,

Aktivitätsminderung, Photo- und Phonophobie sowie einseitige und pulsierende Kopfschmerzen fand sich keine signifikante Assoziation mit dem Polymorphismus.

BDNF erhöht ebenfalls die Expression des Dopaminrezeptors D3 striataler Neurone (Guillin et al., 2001) und spielt eine Rolle bei der Freisetzung von Dopamin (Paredes et al., 2007). Verschiedene Studien konnten erhöhte Dopaminspiegel und eine erhöhte Anzahl an Dopaminrezeptoren bei Migränepatienten nachweisen (Barbanti et al., 2000; D'Andrea et al., 2006). Viele Migränepatienten leiden im akuten Anfall unter Erbrechen und Übelkeit, diese Symptome werden mit Dopaminantagonisten wie zum Beispiel Metoclopramid, welches auch am 5-HT₃-Rezeptor wirkt, therapiert. Hier könnte sich ein weiterer Ansatz für eine Rolle des Val66Met-Polymorphismus im Hinblick auf verschiedene Migräneinzelsymptome ergeben, allerdings konnten wir weder für Erbrechen noch für Übelkeit einen signifikanten Zusammenhang ermitteln. Lediglich für die Entwicklung pulsierender Kopfschmerzen zeichnete sich im Rahmen unserer Berechnung ein Trend bei Migränepatienten ab, allerdings ist dieser mit einem p-Wert von 0,085 gering. Nach allen Berechnungen im Rahmen dieser Assoziationsstudie lässt sich der Val66Met-Polymorphismus des brain derived neurotrophic factors als Kandidatengen für Migräne ausschließen.

7. Zusammenfassung

Migräne wird derzeit als eine multifaktorielle, komplex vererbte Erkrankung aufgefasst; mit einer Prävalenz von bis zu 14% und bis zu 10 Millionen Betroffenen zählt sie zu den häufigsten Volkskrankheiten der Bundesrepublik. Auf Grund von Beobachtungen über veränderte Serotoninpiegel im Plasma und in den Thrombozyten wiesen bereits frühere Studien auf das Mitwirken des serotonergen Systems an der Migränepathophysiologie hin. In dieser Arbeit wurde daher in einer Assoziationsstudie mit 265 Migränepatienten und 155 Kontrollen untersucht, in wie weit vier Polymorphismen der Kandidatengene des 5-HT_{2A}- und des 5-HT_{3A}-Rezeptors sowie der Tryptophanhydroxylase 1 (TPH1) und des brain derived neurotrophic factors (BDNF) zur Entstehung von Migräne und sieben ihrer Kardinalsymptome wie Übelkeit, Erbrechen, Aktivitätsminderung, Photo-, Phonophobie, einseitige und pulsierende Kopfschmerzen beitragen. Betrachtet wurden der T102C-SNP des 5-HT_{2A}-Rezeptors, der C178T-SNP des 5-HT_{3A}-Rezeptors, der A218C-Polymorphismus des TPH1-Gens und der Valin-66-Methionin-Austausch des BDNF-Gens. Methodisch wurde für den 5-HT_{2A}-Rezeptor, TPH1 und BDNF die Polymerasekettenreaktion mit anschließender Agarosegelelektrophorese angewandt, für den Polymorphismus des 5-HT_{3A}-Rezeptors wurde zur besseren Darstellung die SNaPshot™-Methode etabliert. Hierbei ergab sich mit keinem der untersuchten Polymorphismen eine signifikante Korrelation mit Migräne. Lediglich der T102C-Polymorphismus des 5-HT_{2A}-Rezeptors konnte in einer früheren Studie mit MA korreliert werden (Erdal et al., 2001), dies konnte allerdings im Rahmen unserer Arbeit nicht reproduziert werden

Allerdings ergab sich bei Berechnung der Einzelsymptome eine Korrelation zwischen Vorhandensein eines C-Allels im TPH1-Gen und dem Auftreten einseitiger Kopfschmerzen im akuten Anfall. Da die TPH1 das Schrittmacherenzym der peripheren 5-HT-Synthese darstellt, könnte ein Mechanismus hierfür ein Einfluss des Serotoninspiegels auf den meningealen Gefäßtonus sein. Für die Methionin-Variante des brain derived neurotrophic factors BDNF zeigte sich ein Trend zur Ausprägung von pulsierenden Kopfschmerzen. Für die beiden Polymorphismen des 5-HT_{2A}- und 5-HT_{3A}-Rezeptors hingegen ergab sich kein Zusammenhang mit den untersuchten Symptomen.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass keiner der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen eine wesentliche Rolle in der Entstehung der Migräne spielt.

8. Anhang

8.1. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
\$/a	US-Dollar pro Jahr
µl	Mikroliter
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HTR	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor
5-HTT	Serotonintransporter
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	brain derived neurotrophic factor
bp	Basenpaare
BSA	Bovine Serum Albumine
C	Cytosin
Ca ²⁺	Calcium
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CADASIL	zerebrale autosomal dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukoenzephalopathie
Cl ⁻	Chlorid
CGRP	calcitonin-gene-related peptide
CIAP	calf intestine alkaline phosphatase
CSD	cortical spreading depression
ddNTP	Didesoxynukleotidtriphosphat
df	Freiheitsgrad
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
dsDNA	Doppelstrang-DNA
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Essigsäure
FHM	Familiäre hemiplegische Migräne
G	Guanin
GdH	Grad deutscher Härte
H	Wasserstoff
IHS	Intrnational headache society
K ⁺	Kalium
kb	Kilobasen (1000bp)
KS	Kopfschmerz
m	Männlich
M	Mol
MA	Migräne mit Aura
mA	Milliampere
MELAS	mitochondriale Enzephalopathie, Laktatazidose und Schlaganfall
Min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MO	Migräne ohne Aura
MRT	Magnetresonanztomographie
Na ⁺	Natrium
NGF	nerve-growth factor
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Nitroxid
OCD	Zwangsstörung (obsessive compulsive disorder)
OR	odds ratio
p	Signifikanz
PCR	Polymerasekettenreaktion

PET	Positronenemissionstomographie
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
RR	relatives Risiko
SAP	shrimp-alkaline phosphatase
Sek.	Sekunde
SNP	single nucleotide polymorphism
ssDNA	Einzelstrang-DNA
T	Thymin
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Elektrophoresepuffer
Taq	Thermophilus aquaticus
Temp	Temperatur
TPH	Tryptophanhydroxylase
tRNA	Transfer-RNA
V	Volt
w	Weiblich
W	Watt
X ²	Chi-Quadrat-test, nach Pearson
ZNS	Zentrales Nervensystem

8.2. Quellenangaben

- Abbate-Daga G, Fassino S, Lo Giudice R, Rainero I, Gramaglia C, Marech L, Amianto F, Gentile S, Pines' L. Anger, depression and personality dimensions in patients with migraine without aura. *Psychother Psychosom.* 2007;76(2):122-8
- Amin AH, Crawford BB, Gaddum JH. Distribution of 5-Hydroxytryptamin and Substance P in central nervous system. *J. Physiol. Lond.* 1954; 126:596-618
- Apfel SC, Wright DE, Wiideman AM, Dormia C, Snider WD, Kessler JA. Nerve growth factor regulates the expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the peripheral nervous system. *Mol Cell Neurosci.* 1996 Feb;7(2):134-42
- Ashcroft FM. *Ion Channels and Disease.* Academic Press, San Diego, CA; 2000
- Aulakh CS, Hill JL, Murphy D. Effects of various serotonin receptor subtypes selective antagonists alone and on m-chlorophenylpiperazine-induced neuroendocrine changes in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;263:588-595
- Bagdy G, Kalogeras KT, Szemerédi K. Effects of 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptor stimulation on excessive grooming, penile erection and plasma oxytocin concentrations. *Eur. J. Pharmacol.* 1992;229:9-14
- Baritaki S, Rizos E, Zafiropoulos A, Soufla g, Katsafouros K, Gourvas V, Spandidos DA. Association between schizophrenia and DRD3 or HTR2 receptor gene variants. *Eur J Hum Genet.* 2004 Jul;12(7):535-41
- Baloh RW, The genetics of migraine. In: Pulst S-M, editor. *Neurogenetics.* New York Oxford Oxford University Press, 2000: 389-401.
- Barbanti P, Fabbrini G, Ricci A, Paola Pascali M, Bronzetti E, Amenta F, Lenzi GI, Cerbo R. Migraine patients show an increased density of dopamine D₃ and D₄ receptors on lymphocytes. *Cephalalgia.* 2000; 20 (1), 15-19
- Barnes NM, Sharp I. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol.* 1999; 38: 1083-1152
- Baron M. The search for complex disease genes : fault by linkage or fault by association ? *Mol Psychiatry* 2001;6: 143-9
- Baysal BE, Willet-Brozick JE, Badner JA, Corona W, Ferrel RE, Nimgaonkar VL, Detera-Wadleigh SD. A mannosyltransferase gene at 11q23 is disrupted by a translocation breakpoint that co-segregates with bipolar affective disorder in a small family. *Neurogenetics.* 2002; 4:43-53
- Benkelfast C, Murphy DL, Hill JL, George DT, Nutt D, Linnoila M. Ethanol-like properties of the serotonergic agonist m-chlorophenylpiperazine in chronic alcoholic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 1991;48:383
- Benloucif S, Keegan MJ, Galloway MP. Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993 Apr;265(1);373:7
- Bergeron R, Blier P. Cisapride for the treatment of nausea produced by selective serotonin reuptake inhibitors. *Am J Psychiatry* 1994;151:1084-1086
- Bhatnagar S, Sun LM, Raber J, Maren S, Julius D, Dallmann MF. Changes in anxiety-related behaviors and hypothalamic-pituitary-adrenal activity in mice lacking the 5-HT-3A receptor. *Physiol Behav.* 2004; 81:545-555
- Bishop JR, Moline J, Ellingrod VL, Schultz SK, Clayton AH. Serotonin 2A -1438 G/A and G-protein Beta3 subunit C825T polymorphisms in patients with depression and SSRI-associated side-effects. *Neuropsychopharmacol.* 2006 Oct;31(10):2281-8. Epub 2006 May 10
- Blandini F, Rinaldi L, Tassorelli C, Sances G, Motta M, Samuele A, Fancellu R, Nappi G, Leon A. Peripheral levels of BDNF and NGF in primary headaches. *Cephalalgia* 2006; 26:136-142
- Blondel O, Gastineau M, Dahmoune Y, Langlois M, Fischmeister R. Cloning, expression, and pharmacology of four human 5-hydroxytryptamine 4-receptor isoforms produced by alternative splicing in the carboxyl terminus. *J Neurochem.* 1998 Jun;70(6):2252-61.

- Boadle-Biber MC, Johanessen JN, Narasimhachari N, Phan TH. Tryptophan hydroxylase: increase in activity by electrical stimulation of serotonergic neurons. *Neurochem. Int.* 1986; 88:3-92
- Borroni B, Rao R, Liberini p, Venturelli E, Cossandi M, Archetti S, Caimi L, Padovani A, Endothelial Nitric Oxide Synthase (Glu298Asp) Polymorphism is an Independent Risk Factor for Migraine with Aura, *Headache*, 2006 Nov; 46(10):1575-9
- Bourson A, Borroni E, Austin RH, Monsma FJ, Sleight AJ. Determination of the role of 5-HT₆ receptors in the rat brain: a study using antisense oligonucleotides. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274:173-180
- Breslau N, Rasmussen BK. The impact of migraine-epidemiology, risk factors and comorbidities. *Neurology* 2001a; 56: 4-12
- Breslau N, Lipton RB, Stewart WF, Schultz LR, Welch KMA. Comorbidity of migraine and depression. Investigating potential etiology and prognosis. *Neurology* 2003; 60: 1308-1312
- Buchwalder A, Welch SK, Peroutka SJ. Exclusion of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor genes as candidate genes for migraine. *Headache*. 1996 Apr; 36(4):254-8
- Cader Z, Noble-Topham S, Dymont DA, Cherny S, Brown JD, Rice GP, Ebers G. Significant linkage to migraine with aura on chromosome 11q24. *Hum Mol Genet* 2003; 12:2511-2517
- Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N, Shaw N, Lane CR, Lim EP, Kalyanaraman N, Nemesh J, Ziaugra L, Friedland L, Rolfe A, Warrington J, Lipshutz R, Daley GQ, Lander ES (1999). Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genetics* 22,231-238
- Carson MJ, Thomas EA, Danielson PE, Sutcliffe JG. The 5HT_{2A} serotonin receptor is expressed predominantly by astrocytes in which it inhibits cAMP stimulation: a mechanism for neuronal suppression of reactive astrocytes. *Glia*. 1996 Aug; 17(4): 317-26
- Chen K, Yang W, Grimsby J, Shih JC. The human 5-HT₂ receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res.* 1992; 14:20-26
- Chen RY, Sham P, Chen EY, Li T, Cheung EF, Hui TC, Kwok CL, Lieh-Mak F, Zhao JH, Collier D, Murray R. No association between T102C polymorphism of serotonin-2A receptor gene and clinical phenotypes of Chinese schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 2001 Dec 31; 105(3):175-85
- Cho HJ, Kim SY, Park MJ, Kim DS, Kim JK, Chu MY. Expression of mRNA for brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion following peripheral inflammation. *Brain Res.* 1997 Feb 28; 749(2):358-62
- Choi DS, Loric S, Colas JF. The mouse 5-HT_{2B}-receptor: homologous subtype or species variant? *Behav Brain Res* 1996; 73: 253-257
- Choi DS, Ward SJ, Messadeq N, Launay JM, Maroteaux L. 5-HT_{2A} receptor-mediated Serotonin morphogenetic functions in mouse cranial neural crest and myocardial cells. *Development.* 1997 May; 124(9):1745-55
- Chung IW, Kim H, Sribney W, Hong JB, Lee CH, Lee KY, Nan HM, Kim YS, Manowitz P. Tryptophan hydroxylase polymorphism is associated with age of onset of alcoholism related behaviors. *Alcohol.* 2005 May; 36(1):1-3
- Claeyssen S, Faye P, Sebben M, Lemaire S, Bockeart J, Dumuis A. Cloning and expression of human 5-HT_{4S}-receptors. Effect of receptor density on their coupling to adenylyl cyclase. *Neuroreport.* 1997 Oct 20; 8(15):3189-96
- Colombo B, Annovazzi PO, Comi G. Therapy of primary headaches: the role of antidepressants. *Neurol Sci.* 2004 Oct; 25 Suppl 3:S171-5
- Craddock N, Lendon C. Chromosome workshop: chromosomes 11, 14, and 15. *Am J Med Genet.* 1999; 88:244-254
- Craig SP, Boularand S, Darmon MC, Mallet J, Craig IW: Localization of human tryptophan Hydroxylase (TPH) to chromosome 11p15.3--p14

- Dahlstrom A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell body of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand.* 62 Suppl. 1964; 232:1-55
- Dalsgaard-Nielsen T. Migraine and heredity. *Acta Neurol. Scand.* 41: 287-300, 1995
- D'Andrea G, Welch KM, Grunfeld S, Joseph R, Nagel-Leiby S. Platelet norepinephrine and serotonin balance in migraine. *Headache* 1989 Nov;29 (10):657-9
- D'Andrea G, Hasselmark L, Alecci M, Cananzi A, Perini F, Welch KM. Platelet secretion from dense and alpha-granules *in vitro* in migraine with or without aura. *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry* 1994; 57:557-61
- D'Andrea G, Canazi AR, Perini F, Hasselmark L. Platelet models and their possible usefulness in the study of migraine pathogenesis. *Cephalalgia* 1995; 15:265-71
- D'Andrea G, Granella F, Perini F, Farrugio A, Leone M, Bussone G. Platelet Levels of Dopamine Are Increased in Migraine and Cluster Headache. *Headache: The Journal of Head and Face Pain.* 2006;46:4, 585-591
- Davies PA, Pistis M, Hanna MC, Peters JA, Lambert JL, Hales TG, Kirkness EF. The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin receptor function. *Nature.* 1999; 397:359-363
- De Benedettis G, Ferrari Da Passano C, Granata G, Lorenzetti A. CBF changes during headache-free periods and spontaneous/induced attacks in migraine with and without aura: a TCD and SPECT comparison study. *J Neurosurg Sci.* 1999 Jun;43(2):141-6; discussion 146-7
- Demchyshyn L, Sunahara RK, Miller K, et al.. A human serotonin 1D receptor variant (5-HT_{1DB}) encoded by an intronless gene on chromosome 6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:5522-5526
- Diener HC. Positron emission tomography studies in headache. *Headache.* 1997 Nov-Dec;37 (10):622-5
- Dingermann T. *Gentechnik Biotechnik- Lehrbuch und Kompendium für Studium und Praxis.* Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1999
- DMKG, Pressemitteilung der DMKG, Kopfschmerz-News. 4/99
- Du Bois-Reymond E. Zur Kenntniss der Hemikrania. In: *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*, Jg. 1860, 461-468
- Dvilansky A, Rishpon S, Nathan I, Zolotow Z, Korczyn AD. Release of platelet 5-hydroxytryptamine by plasma taken from patients during an between migraine attacks. *Pain.* 1976 Sep;2(3):315-8
- Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR: The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF an human memory and hippocampal function. *Cell* 112:257-269;2003
- Eglen RM, Wong EHF, Dumuis A, Bockaert J. Central 5-HT₄ receptors. *Transds Pharmacol Sci* 1995;16:391-398
- Erdal ME, Herken H, Yilmaz M, Bayazit YA. Association of the T102C polymorphism of 5-HT_{2A} receptor gene with aura in migraine. *J Neurol Sci.* 2001 Jul 15;188(1-2): 99-101
- Erdal N, Herken H, Yilmaz M, Erdal E, Bayazit YA. The A218C polymorphism of tryptophan hydroxylase gene and migraine. *J Clin Neurosci.* 2007 Mar;14(3):249-51. Epub 2006 Dec 27
- Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Rietschel M, Albus M, Maier W, Korner I et al. Systematic screening for mutations of the human serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. *Hum Genet* 1996; 97: 614-619
- Erlander MG, Lovenberg TW, Baron BM, de Lecea L, Danielson PE, Racke M, Slone AL, Siegel BW, Foye BE, Cannon K, et al. Two members of a distinct subfamily of 5-Hydroxytryptamine receptors differentially expressed in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Apr 15;90(8):3452-6
- Erspamer V. Pharmacology of enteramine. I. Action of acetone extract of rabbit stomach

- mucosa on blood pressure and on surviving isolated organs. *Naun. Schmied. Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 1940; 196, 343-365
- Erspamer V, Asero B. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffine cell system, as 5-Hydroxytryptamine. *Nature* 1952; 169 800-801
- Etrugul A, Kennedy JL, Masellis M, Basile VS, Jayathilake K, Meltzer HY. *Schizophr Res.* 2004 Aug 1;69(2-3):301-5
- Faris PL, Kim SW, Meller WH, Goodale RL, Oakman SA, Hofbauer RD, Marshall RM, Daughters RS, Banarjee-Stevens D, Eckert ED, Hartmann BK. Effect of decreasing afferent vagal activity with ondansetron on symptoms of bulimia nervosa: a randomised, double-blind trial. *Lancet.* 2000;355:792-797
- Featherstone HJ. Migraine and muscle contraction headache: a continuum. *Headache* 25: 194-198. 1985
- Feingold J. Multifactorial diseases: a nightmare for the genetics. *Med Sci (Paris)* 2005 Nov; 21(11):927-33
- Ferrari MD, Odink J, Tapparelli C, van Kempen GM, Pennings EJ, Bruyn GW, Serotonin metabolism in migraine. *Neurology* 1989; 39:1239-1242
- Ferrari MD. Migraine. *The Lancet* 1998b; 351: 1043-51
- Ferrari MD, Saxena PR. On serotonin and migraine: a clinical and pharmacological review. *Cephalalgia* 1993;13:151-65
- Forbes IT, Ham P, Booth DH, et al. 5-Methyl-1-(3-pyridylcarbonyl)-1,2,3,5-tetrahydropyrrolol[2,3-f]indole: A novel 5-HT_{2C}/5-HT_{2B} receptor antagonists with improved affinity, selectivity, and oral activity. *J Med Chem* 1995;38:2524-2530
- Fozard JR, Gray JA. 5-HT_{1C} receptor activation: a key step in the initiation of migraine? *Trends Pharmacol Sci* 1989;10:307-9
- Francken B.J.B., Jurzak M., Luyten, W.H.M.L., et al., 1998. H5-HT_{5A} receptor in stably transfected HEK293 cells couples to G-proteins and receptor activation inhibits adenylat cyclase. Fourth IUPHAR satellite meeting on Serotonin, Rotterdam, pp. 66
- Fuentes JA, Lauzurica N, Hurtado A, Escarti A, Barrios V, Morande G, Soriano J, Jaurequi I, Gonzales Valdemoro MI, Garcia-Camba E. Analysis of the -1438 G/A polymorphism of the serotonin receptor gene in bulimia nervosa patients with or without a history of anorexia nervosa. *Psychiatr Genet.* 2004 Jun;14(2):107-9.
- Gauthier LR, Charrin BC, Borrell-Pages M, Dompierre JP, Rangone H, Cordelieres FP, DeMey J, MacDonald ME, Lebmann V, Humbert S, Saudou F. Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell* 2004;118:127-138
- Gelernter J, Pauls DL, Hamblin MW, Sibley DR, Kidd KK. Assignment of the 5HT₇ receptor gene (HTR7) to chromosome 10q and exclusion of genetic linkage with Tourette syndrome. *Genomics.* 1995 Mar20;26(2):207-9
- Gerald C, Adham N, Kao HT, Olsen MA, Laz TM, Schechter LE, Bard JA, Vaysse PJ, Hartig PR, Branchek TA, et al. The 5-HT₄ receptor : molecular cloning and pharmacological characterization of two splice variants. *EMBO J.* 1995 Jun 15;14(12):2806-2815
- Geraud G, Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F. Positron emission tomographic studies of migraine. *Rev Neurol (Paris)* 2005 Jul ; 161(6-7) :666-70
- Gervil M, Ulrich V, Kaprio J, Olesen J, Russell MB. The relative role of genetic and Environmental factors in migraine without aura. *Neurology* 1999a; 53: 995-9
- Gianotti G, Cianchetti C. Personality structure and psychodynamic mechanisms in headache. *Riv Neurobiol.* 1967 Oct.Dec;13(4):956-63. Italian.
- Giffin NJ, Ruggiero L, Lipton RB, Silberstein SD, Tvedskov JF, Oleson J, Altmann J, Goadsby PJ, Macrae A. Premonitory symptoms in migraine- An electronic diary study. *Neurology.* 2003; 60:935-940
- Giovannini MG, Ceccarelli I, Molinari B, Cecchi M, Goldfarb J, Blandina P. Serotonergic modulation of acetylcholine release from cortex of freely moving rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285:1219-1225

- Goadsby PJ, Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol* 1993; 33:48-56
- Goodell H, Lewontin R, Wolff HG. The familial occurrence of migraine headache: a study of heredity. *Arch. Neurol. Psychiat.* 72: 325-334, 1954
- Greenshaw AJ. Behavioural pharmacology of 5-HT₃ receptor antagonists: A critical update on therapeutic potential. *Trends Pharmacol Sci* 1993;14:265-270
- Guillem E, Pelissolo A, Lepine JP. Mental disorders and migraine: epidemiologic studies. *Encephale*. 1999 Sep-Oct; 25(5): 436-42
- Guillin O, Diaz J, Carroll P, Griffon M, Schwartz JC, Sokoloff P : BDNF controls dopamine D₃ receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature* 411:86-89, 2001
- Gupta S, Mehrota S, Villalon CM, Perusquia M, Saxena PR, Maassenvandenbrink A. Potential role of female sex hormones in the pathophysiology of migraine. *Pharmacol Ther.* 2006 Oct 24; (Epub)
- Gutierrez B, Arranz MJ, Huez-Diaz P, Dempster D, Mattheiasson P, Travis M, Munro J, Osborne S, Kerwin RW. Novel mutations in 5-HT_{3A} and 5-HT_{3B} receptor genes not associated with clozapine response. *Schizophr Res.* 2002 Nov 1; 58(1):93-7
- Haan J, Terwindt GM, Ferrari MD. Genetics of Migraine. *Neurologic Clinics* 1997; 15:43-60
- Hall D, Dhillia A, Charalambous A, gogos JA, Karayiorgou M. Sequence variants of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene are strongly associated with obsessive-compulsive disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 2003;73: 370-376,
- Hanson IM, Seawright A, van Heyningen V. The human BDNF gene maps between FSHB and HVBS1 at the boundary of 11p13-p14. *Genomics* 13: 1331-1333, 1992
- Hargreaves AC, Lummis SC, Taylor CW. Ca²⁺ permeability of cloned and native 5-hydroxytryptamine type 3 receptors. *Mol Pharmacol.* 1994; 46:1120-1128
- Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *Journal of Neuroscience* 2003;23:6690-6694
- Hartig PR, Branchek TA, Weinshank RL. A subfamily of 5-HT_{1D} receptor genes. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:152-159
- Hawi Z, Myakishev MV, Straub RE, O'Neill A, Kendler KS, Walsh D, Gill M. No association or linkage between the 5-HT_{2a}/T102C polymorphism and schizophrenia in Irish families. *Am J Med Genet.* 1997 Jul 25;74(4):370-3
- Headache Classification Committee of the International Headache Society: Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia* 8: 19-28, 1988
- Herndon JL, Glennon RA. Serotonin receptors, agents, and actions. In: Kozikowsky A, ed. *Drug design, molecular modeling, and the neurosciences.* New York: Raven Press, 1993; 167-212
- Hinney A, Ziegler A, Nothen MM, Remschmidt H, Hebebrand J. 5-HT_{2A} receptor gene polymorphisms, anorexia nervosa, and obesity. *Lancet* 1997;350:412
- Hollander E, Fay M, Cohen B, Campeas R, Gorman JM, Liebowitz MR. Serotonergic and noradrenergic sensitivity in obsessive-compulsive disorder: Behavioral findings. *Am. J. Psychiatry* 1988;145:1015-1018
- Holmes C, Arranz MJ, Powell JF, Collier DA, Lovestone S. 5-HT-2A and 5-HT-2C receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet.* 7 (1998), 1507-1509
- Hoyer D, Middlemiss DN. Species differences in the pharmacology of terminal 5-HT Receptors in mammalian brain. *Trends Pharmacol. Sci.* 1989 Apr; 10(4):130-2
- Hüther Prof. Dr. G, Rüther Prof. Dr. E, *Das serotonerge System*, Bremen, UNI-MED Verlag AG 2000
- Iidaka T, Ozaki N, Matsumoto A, Nogawa J, Kinoshita Y, Suzuki T, Iwata N, Yamamoto Y, Okada T, Sadato N. A variant C178T in the regulatory region of the serotonin receptor

- gene HTR3A modulates neural activation in the human amygdala. *J Neurosci.* 2005 Jul 6;25(27):6460-6
- James MF, Smith JM, Boniface SJ, Huang CL, Leslie RA. Cortical spreading depression and migraine: new insights from imaging? *Trends Neurosci.*, 2001; 24:266-271
- Jansen I, Olesen J, Edvinsson L (1993) 5-Hydroxytryptamine receptor characterization of human cerebral, middle meningeal and temporal arteries: regional differences. *Acta Physiol. Scand.* 147:141-150
- Jin H, Oksenberg D, Ashkenazi A, Peroutka SJ, Duncan AM, Rozmahel R, Yang Y, Mengod G, Palacios JM, Odowd BF. Characterization of the human 5-Hydroxytryptamine 1B Receptor. *J Biol Chem.* 1992 Mar25;267(9):5835-5838
- Jönsson EG, Bah J, Melke J, Jamra RA, Schumacher J, Westberg L, Ivo R, Cichon S, Propping P, Nöthen MM, Eriksson E, Sedvall GC. Monoamine related functional gene variants and relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. *BMC Psychiatry.* 2004;4:4
- Joh TH. Tryptophan hydroxylase: molecular biology and CNS regulation. In: *Serotonergic Neurons and 5-HT- Receptors in the CNS* (Baumgartner HG, Göthert H,) Berlin: Springer, pp 117-130
- Johnson BA, Roache JD, Javors MA, DiClemente CC, Cloninger CR, Prihoda TJ, Bordnick PS, Ait. Daoud N, Hensler J. Ondansetron for reduction of drinking among biologically predisposed alcoholic patients: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000;284:963-971
- Jokela M, Raikkonen K, Lethimäki T, Rontu R, Keltikangas-Jarvinen L. Tryptophan hydroxylase 1 gene (TPH1) moderates the influence of social support on depressive symptoms in adults. *J Affect Disord.* 2006 Nov 27; (Epub ahead of print)
- Jones KR, Reichardt LF. Molecular cloning of human gene that is a member of the nerve growth factor family. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 87: 8060-8064, 1990
- Jönsson EG, Bah J, Melke J, Jamra RA, Schumacher J, Westberg L, Ivo R, Cichon S, Propping P, Nöthen MM, Eriksson E, Sedvall GC. Monoamine related functional gene variants and relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. *BMC Psychiatry.* 2004. 4:4
- Jonsson EG, Goldman D, Spurlock G, Gustavsson JP, Nielsen DA, Linnoila M, Owen MJ, Sedvall GC. Tryptophan hydroxylase and catechol-O-methyltransferase gene polymorphisms: relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1997; 247(6):297-302
- Joseph-Vanderpool JR, Jacobsen FM, Murphy DL, Hill JL, Rosenthal NE. Seasonal variation in behavioral responses to m-CPP in patients with seasonal affective disorder and controls. *Biol. Psychiatry* 1993;88:496-504
- Joutel A, Bousser MG, Biouesse V, Labauge P, Chiabriet H, Nibbio A, Maciazek J, Meyer B, Bach MA, Weissenbach J. A gene for familial hemiplegic migraine maps to chromosome 19. *Nature Genetics* 1993; 4:40-45
- Jurkat-Rott K, Freilinger T, Dreier JP, Herzog J, Göbel H, Petzold GC, Montagna P, Gasser T, Lehmann-Horn F, Dichgans M. Variability of familial hemiplegic migraine with novel A1A2 Na⁺/K⁺-ATPase variants. *Neurology* 2004; 62:1857-1861
- Kadsavara Z, Egelhof T, Kaube H, Diener HC, Limmroth V. Symptomatic migraine and sensitization of trigeminal nociception associated with contralateral pontine cavernoma. *Pain* 2003; 105:381-384
- Kaiser R, Tremblay PB, Sezer O, Possinger K, Roots I, Brockmüller J. Investigation of an association between 5-HT_{3A} receptor gene polymorphisms and efficiency of antiemetic treatment with 5-HT₃ receptor antagonists. *Pharmacogenetics.* 2004; 14:271-278
- Kato MV, Shimizu T, Nagayoshi M, Kaneko A, Sasaki MS, Ikawa Y. Genomic imprinting of the human serotonin-receptor (HTR2) gene involved in development of retinoblastoma. *Am. J. Hum. Genet.* 1996;59:1084-1090
- Kelman L. The premonitory symptoms (prodrome): a tertiary care study of 893 migraineurs. *Headache* 2004; 44:865-872

- Kelman L. The aura: a tertiary care study of 952 migraine patients. *Cephalalgia* 2004; 24:278-734
- Khait VD, Yung-yu H, Zalsman G, Oquendo MA, Brent DA, Harkavy-Friedman JM, Mann JJ. Association of Serotonin 5-HT_{2A} Receptor Bindin and the T102C Polymorphism in Depressed and Healthy Caucasion Subjects. *Neuropsychopharmacol* (2005) 30,166-172
- Kindlundh AM, Lindblom J, Bergstrom L, Nyberg F. The anabolic steroid nandrolone induces alterations in the density of serotonergic 5HT1b and 5HT2 receptors in the male rat brain. *Neuroscience* 2003;119(1):113-20
- King BH, Brazell C, Dourish CT, Middlemiss DN. MK212 increases rat plasma ACTH concentration by activation of 5-HT_{1C} receptor subtype. *Neurosci. Lett.* 1989;105:174-176
- Klopstock T, May A, Seibel P, Papagiannuli E, Diener HC, Reichmann H. Mitochondrial DNA in migraine with aura. *Neurology* 1996; 47:1735.1738
- Kmiec T, Kaminska A, Jozwiak S, Kuczynski D. Usefulness of cerebral SPECT in the children with migraine. *Neurol Neurochir Pol.* 2005 ;39(4 Suppl 1) :S36-41
- Köcher F: Die babylonisch-assyrische Medizin in Texten und Untersuchungen. Band I: Keilschrifttexte aus Assur I. Berlin 1963
- Kohen R, Metcalf MA, Khan N, Druck T, Huebner K, Lachowicz JE, Meltzer HY, Sibley DR, Roth BL, Hamblin MW, Cloning, charaktrization, and chromosomal localization of a human 5-HT₆ serotonin receptor. *J Neurochem.* 1996 Jan;66(1):47-56
- Kosofsky BE, Molliver ME. The serotonergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse.* 1987; 1(2):153-68
- Kovacs K, Bors L, Tothfalusi L, Jelencsik I, Bozsik G, Kerényi L, Komoly S. Cerebrospinal fluid (CSF) investigations in migraine. *Cephalalgia.* 1989 Mar;9(1):53-7
- Ku M, Silverman B, Prifti N, Ying W, Persaud Y, Schneider A. Prevalence of migraine headaches in patients with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006 Aug; 97(2):226-30
- Kusumi M, Araki H, Ijiri T, Kowa H, Adachi Y, Takeshima T, Sakai F, Nakashima K. Serotonin 2C receptor gene Cys23Ser polymorphism: a candidate genetic risk factor of migraine with aura in Japanese population. *Acta Neurol Scand* 2004;109:407-409
- Lai TJ, Wu CY, Tsai HW, Lin YM, Sun HS. Polymorphism screening and haplotype analysis of the tryptophan hydroxylase gene (TPH1) and association with bipolar affective disorder in Taiwan. *BMC Med Genet.* 2005 Mar 31;6:14
- Lance JW, Anthony M, Some clinical aspects of migraine. *Arch. Neurol.* 1966; 15:356-61
- Lappalainen J, Zhang L, Dean M, Oz M, Ozaki N, Yu DH, Virkkunen M, Weight F, Linnoila M, Goldman D. Identification, expression, and pharmacology of a Cys23-Ser23 substitution in the human 5-HT_{2C} receptor gene (HTR_{2C}). *Genomics.* 1995 May 20; 27(2):274-9
- Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalalgia* 22: 54-61, 2002
- Lauritzen M. Cerebral blood flow in migraine and cortical spreading depression. *Acta Neurol Scand Suppl.* 1987; 76:1-40
- Lee HJ, Sung SM, Lim SW, Paik JW, Leen Kim. Seasonality associated with the serotonin 2A receptor -1438 A/G polymorphism. *J Affect Disord.* 2006 Oct;95(1-3): 145-8
Epub 2006 Jun 9
- Lesch KP, Zeng Y, Reif A, Gutknecht L. Anxiety-related traits in mice with modified genes of the serotonergic pathway. *Eur J Pharmacol* 2003;7:480(1-3):185-204
- Leveining E : On Megrim, Sick.Headache, and some allied Disorders. London 1873
- Liu X, Li H, Qin W, He G, Li D, Shen Y, Shen J, Gu N, Feng G, He L. Association of TPH1 with suicidal behaviour and psychiatric disorders in the Chinese population. *J Med Genet.* 2006 Feb;43(2):e4

- Longmore J, Shaw D, Smith D, Hopkins R, McAllister G, Pickard JD, Sirinathsinghji DJ, Butler AJ, Hill RG. Differential distribution of 5HT1D- and 5HT1B-immunoreactivity within the trigemino-cerebrovascular system: implications for the discovery of new antimigraine drugs. *Cephalalgia* 1998 Jan;18(1) :5
- Lovenberg TW, Baron BM, de Lecea L, et al. A novel adenylyl cyclase-activating serotonin receptor (5-HT₇) implicated in the regulation of mammalian circadian rhythms. *Neuron* 1993;11:449-458
- Lucas JJ, HenR. New players in the 5-HT receptor field : genes and knockouts. *Trend Pharmacol Sci.* 1995 Jul;16(7):246-52
- Lundbäck B: Epidemiology of rhinitis and asthma. *Clip Exp Allergy* 1998; 28: 3-10
- Lyons WE, Mamounas LA, Ricaurte GA, Coppola V, Reid SW, Bora SH, Wihler C, Koliatsos VE, Tessarollo L. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96: 15239-15244, 1999
- Maisonpierre PC, Le Beau MM, Espinosa R III, Ip NY, Belluscio L, de la Monte SM, Squinto S, Furth ME, Yancopoulos GD. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions and chromosomal localizations. *Genomics.* 10: 558-568, 1991
- Mamounas LA, Blue ME, Siuciak JA, Altar CA. Brain-derived neurotrophic factor promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in rat brain. *Journal of Neuroscience* 1995;15:7929-7939
- Mannion RJ, Costigan M, Decosterd I, Amaya F, Ma QP, Holstege JC, Ji RR, Acheson A, Lindsay RM, Wilkinson GA, Woolf CJ. Neurotrophins: Peripherally and centrally acting modulators of tactile stimulus-induced inflammatory pain hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci.* Aug 1999;96:9385-9390
- Manuck SB, Flory JD, Ferrel RE, Dent KM, Mann JJ, Muldoon MF: Aggression and anger-related traits associated with a polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene. *Biol Psychiatry* 1999, 45:603-614
- Marconi R, De Fusco M, Aridon P, Plewina K, Rossi M, Carapelli S, Ballabio A, Morgante L, Musolino R, Epifanio A, Micieli G, De Michele G, Casari G. Familial hemiplegic migraine type 2 is linked to 9.9Mb region on chromosome 1q23. *Ann Neurol* 2003; 53: 376-381
- Marsden CA. The neuropharmacology of serotonin in the central nervous system, 1996. In: Feighner JP, Boyer WF: *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*. Wilky and sons, Chichester, New York, Brisbane
- Marziniak M, Mössner R, Schmitt A, Lesch KP, Sommer C. A functional serotonin transporter gene polymorphism is associated with migraine with aura. *Neurology* 2005, 64:157-159
- May A, Ophoff RA, Terwindt GM, et al. Familial hemiplegic migraine locus on 19q13 is involved in the common forms of migraine with and without aura. *Human Genetics* 1995; 96:604-608
- McBride WJ, Li TK. Animal models of alcoholism: neurobiology of high alcohol-drinking behaviour in rodents. *Crit Rev Neurobiol.* 1998;12:339.369
- Melke J, Westberg L, Nilsson S, Landen M, Soderstrom H, Baghaei F, Rosmond R, Holm G, Björntop P, Nilsson LG, Adolfson R, Eriksson E. A Polymorphism in the Serotonin Receptor 3A (HTR3A) Gene and Its Association With Harm Avoidance in Women. *Arch. Gen. Psychiatr.* 2003 Oct;60:1017-1023
- Milovanovic DD, Majkic-Sing N, Mirkovic D, Pavlovic J. Plasma and urinary serotonin and 5-hydroxyindol-3-acetic acid in adults with migraine and tension-type headache. *Adv Exp Med Biol.* 1999;467:191-7
- Miller NR. Migraine. In: Walsh FB, Hoyt WF: *Clinical Neuro-ophthalmology*. Baltimore: Williams and Wilkins (pub.) 4 1991

- Minami M, Taguchi S, Kikuchi T, Endo T, Mamaue N, Hiroshige T, Liu Y, Yue W, Hirafuji M. Effects of fluvoxamine, a selective serotonin re-uptake inhibitor, on serotonin release from the mouse isolated ileum. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2003 ; 113-114 :115-31
- Miyake A, Mochizuki S, Takemoto Y, Akuzawa S. Molecular cloning of human 5-hydroxytryptamine₃ receptor: heterogeneity in distribution and function among species. *Mol Pharmacol*. 1995;48:407-416
- Mössner R, Daniel S, Albert D, Heils A, Okladnova O, Schmitt A, Lesch KP. Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochemistry International* 36, 2000;197-202
- Mössner R, Walitza S, Lesch KP, Geller F, Barth N, Remschmidt H, Hahn F, Herpertz-Dahlmann B, Fleischhaker C, Schulz E, Warnke A, Hinney A, Wewetzer C. Brain-derived neurotrophic factor V66M polymorphism in childhood-onset obsessive-compulsive disorder. *Int. J. Neuropsychopharmacology* 2005;8:1-4
- Mössner R, Döring N, Scherag A, Schäfer H, Herpertz-Dahlmann B, Remscheidt H, Schulz E, Renner T, Wewetzer C, Warnke A, Lesch KP, Walitza S. Transmission disequilibrium analysis of the functional 5-HT_{3A} receptor variant C178T in early-onset obsessive compulsive disorder. *J Psychopharmacol*. 2007 Jan 26 (Epub ahead of print)
- Moja PL, Cusi C, Sterzi RR, Canepari C. Selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) for preventing migraine and tension-type headaches. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Jul 20;(3):CD002919.
- Monari L, Mochi M, Valentino ML, Arnaldi C, Cortelli P, Monte A De, Pierangeli G, Prologo G, Scapoli C, Soriani S, Montagna P. Searching for migraine genes: exclusion of 290 cM out of the whole human genome. *The Italian Journal of Neurological Science*, Oct 1997 18(5);277.282
- Mongini F, Rota E, Deregibus A, Ferrero L, Migliaretti G, Cavallo F, Mongini T, Novello A. Accompanying symptoms and psychiatric comorbidity in migraine and tension-type headache patients. *J Psychosom Res*. 2006 Oct;61(4): 447-51
- Montagna P. Molecular genetics of migraine headaches: a review. *Cephalalgia* 2000; 20: 3-14
- Morales M, Battenberg E, Bloom FE. Distribution of neurons expressing immunoreactivity for the 5-HT_{3A} receptor subtype in the rat brain and spinal cord. *J comp Neurol*. 1998 ; 402 :385-401
- Moskowitz MA, Nozaki K, Kraig RP. Neocortical spreading depression provokes the expression of c-fos protein-like immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis via trigeminovascular mechanisms. *J Neurosci*. 1993; 13: 1167-1177
- Moskowitz MA, Bolay H, Dalkara T. Deciphering migraine mechanisms: clues from familial hemiplegic migraine genotypes. *Ann Neurol* 2004; 55:276-280
- Mowla S, Pareek S, Farhadi H, Petrecca K, Fawcett J, Seidah N, Morris S, Sossin W, Murphy R. Differential sorting of nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. *J Neurosci*. 1999;19:2069-2080
- Nagata E, Shibata M, Hamada J, Shimizu T, Katoh Y, Gotoh K, Suzuki N. Plasma 5-hydroxytryptamine (5-HT) in migraine during attack-free period. *Headache*. 2006 Apr;46(4): 592-6
- Nakamura T, Matsushita S, Nishiguchi N, Kimura M, Yoshino A, Higuchi S. Association of a polymorphism of the 5HT_{2A} receptor gene promoter region with alcohol dependence. *Molec. Psychiatr*. 1999;4:85-88
- Nielsen DA, Goldman D, Virkkunen M, Tokola R, Rawlings R, Linnoila M. Suicidality and 5-hydroxyindoleacetic acid concentration associated with a tryptophan hydroxylase polymorphism. *Arch. Gen Psychiatry*, 51 (1994) 34-38
- Nielsen DA, Jenkins GL, Stefanisko K, Jefferson KK, Goldman D. Sequence, splice site and population frequency distribution analyses of the polymorphic human tryptophan hydroxylase intron 7. *Molecular Brain Research* 45 (1997) 145-148

- Niesler B, Flohr T, Nothen MM, Fischer C, Rietschel M, et al. Association between the 5' UTR variant C178T of the serotoninreceptor gene HTR3A and bipolar affective disorder. *Pharmacogenetics*. 2001;11:471-475
- Neves-Pereira M, Mundo E, Muglia P, King N, Macciardi F, Kennedy J. The brain-derived neurotrophic factor gene confers susceptibility to bipolar disorder: evidence from a family based association study. *Am J Hum Gen* 2002;71:651-655
- Neves-Pereira M, Cheung JK, Pasdar A, Zhang F, Breen G, Yates P, Sinclair M, Crombie C, Walker N, St Clair DM, BDNF gene is a risk factor for schizophrenia in a Scottish population. *10: 208-212*, 2005
- Nyen J, Schellevis FG, Satariano WA, Spreeuwenberg PM, Birkner MD, van de Bos GA, Groenewegen PP. Comorbidity was associated with neurologic and psychiatric diseases: a general practice-based controlled study. *J Clin Epidemiol*. 2006 Dec ; 59 (12) : 1274-84
- Nyholt DR, Curtain RP, Gaffney PT, Brimage P, Goadsby PJ, Griffiths LR. Migraine association and linkage analyses of the human 5-hydroxytryptamine (5HT_{2A}) receptor gene. *Cephalalgia*. 1996 Nov;16(7): 463-7
- Ogilvie AD, Russel MB, Dhall P, Battersby S, Ulrich V, Smith CA, Goodwin GM, Harmar AJ, Olesen J. Altered allelic distribution of the serotonin transporter gene in migraine without aura and migraine with aura. *Cephalalgia*. 1998 Jan;18(1):23-6
- Olivier B, van Wijngaarden I, Soudijn W. 5-HT(3) receptor antagonists and anxiety: a preclinical and clinical review. *Eur. Neuropsychopharmacol*. 2000;10:77-95
- Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffmann SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD, Frants RR. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996; 87: 543-52
- Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, Frants RR, Ferrari MD. Involvement of a Ca²⁺ channel gene in familial hemiplegic migraine with and without aura. *Dutch Migraine Genetics Research Group. Headache* 1997 Sep; 37(8):479-85
- Ortells MO, Lunt GG. Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trend Neurosci*. 1995; 18:121-127
- Ozcelik T, Rosenthal A, Francke U. Chromosomal mapping of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 genes in man and mouse. *Genomics* 10: 569-575, 1991
- Paik I, Toh K, Kim J, Lee C. TPH gene may be associated with suicidal behavior, but not with schizophrenia in the Korean population. *Hum Hered*. 2000 Nov-Dez;50(6):365-9
- Panconesi A, Sicuteri R. Headache induced by serotonergic agonists-a key to the interpretation of migraine pathogenesis? *Cephalalgia* 1996;17:3-14
- Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Pandey SC, Pesold C, et al. (2002): Higher expression of serotonin 5-HT(2A) receptors in postmortem brains of teenage suicide victims. *Am J Psychiatry* 159:419-429
- Papandreou O, Soldatou A, Tsitsika A, Kariyannis C, Papandreou T, Zachariadi A, Papassotiriou IP, Chrousos G. Serum s100beta in children with acute recurrent Headache: a potentially useful marker for migraine. *Headache* 2005; 45: 1313-1316
- Paredes D, Granholm AC, Bickford PC. Effects of NGF and BDNF on baseline glutamate and dopamine release in the hippocampal formation of the adult rat. *Brain Res*. 2007 Jan 12; Epub
- Pasqualetti M, Nardi I, Ladinsky H, Marazziti D, Cassano GB. Comparative anatomical distribution of serotonin 1°, 1Dα, and 2A receptor mRNAs in human brain postmortem. *Mol Brain Res* 1996;39:223-233
- Petersen-Braun M, Göbel H, Degree of disability, affliction, less of time and working hours of patients with migraine and tension-type headaches in Germany., in *Headache classification and epidemiology*, J Oleson, editor. 1994: New York. p. 351-354
- Plassat JL, Borschert U, Amlaiky N, Hen R. The mouse 5-HT5 receptor reveals remarkable heterogeneity within the 5HT1D receptor family. *EMBO J*. 1992 Dec;11(13):4779-86

- Poeck K, Hacke W, Neurologie, 11. Auflage, Berlin, Springer Verlag 2001, Seite 423-426
- Prado-Lima PS, Cruz IB, Schwanke CH, Netto CA, Licinio J. Human food preferences are associated with a 5-HT_{2A} serotonergic receptor polymorphism. *Mol Psychiatry*. 2006 Oct;11(10):889-91
- Racchi M, Leone M, Porrello E, Rigamonti A, Govoni S, Sironi M, Montomoli C, Bussone G. Familial migraine with aura: association study with 5-HT_{1B/1D}, 5-HT_{2C}, and hSERT polymorphisms. *Headache*. 2004 Apr;44(4):311-7
- Rapport MM, Green AA, Page IH. Serum vasoconstrictor (Serotonin). IV. Isolation and Characterization. *J. Biol. Chem.* 1948; 176: 1243-1251
- Raskin NH. *Headache*. New York: Churchill Livingstone (pub.) 1988
- Rees S, den Daas I, Foord s, et al. Cloning and characterization of human 5-HT_{5A} serotonin Receptor. *FEBS Lett* 1994;335:242-246
- Refsum S. Genetic aspects of migraine. In: Vinken PJ, Bruyn GW: *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: North Holland (pub.) 5 1968. Pp. 258-269
- Reuter U, Chiarugi A, Bolay H, Moskowitz MA. Nuclear factor-kappa-B as a molecular target for migraine therapy. *Ann. Neurol.* 51: 507-516, 2002
- Reynolds GP, Mason SL, Meldrum A, De Keczer S, Parnes H, Eglen RM. 5-Hydroxytryptamine (5HT)₄ receptors in post mortem human brain tissue: distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *Br J Pharmacol.* 1995 Mar; 114(5):993-8.
- Ribases M, gratacos M, Fernandez-Aranda F, Bellodi L, Boni C, Anderluh M, Cavallini MC, Cellini E, DiBella D, Erzegovesi S, Foulon C, Gabrovsek M, et al. Association of BDNF with anorexia, bulimia and age of onset of weight loss in six European populations. *Hum. Molec. Genet.* 13: 1205-1212, 2004
- Rios M, Fan G, Fekete C, Kelly J, Bates B, Kuehn R, Lechan RM, Jaenisch R: Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. *Molec Endocr.* 15: 1748-1757,2001
- Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millenium. *Nature* 2000; 405: 847-856
- Rogers RD, Ramnani N, Mackay C, Wilson JL, Jezzard P, Carter CS, Smith SM. Distinct portions of anterior cingulate cortex and medial prefrontal cortex are activated by reward processing in separable phase of decision-making cognition. *Biol Psychiatry*. 2004; 55:594-602.
- Roth BL, Craigo SC, Choudhary MS, et al. Binding of typical and atypical antipsychotic agents to 5-hydroxytryptamine-6 and 5-hydroxytryptamine-7 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1404-1410
- Rothrock JF, Mar KR, Yaksh TL, Golbeck A, Moore AC. Cerebrospinal fluid analysis in migraine patients and controls. *Cephalalgia*. 1995 Dec;15(6):489-93
- Russel MB, Iselius L, Olesen J. Inheritance of migraine investigated by complex segregation Analysis. *Hum Genet* 1995a; 96: 726-30.
- Russel MB, Iselius L, Olesen J. Migraine without aura and migraine with aura are inherited disorders. *Cephalalgia* 1996; 16:305-309
- Saltzman AG, Morse B, Whitman MM, Ivanshchenko Y, Jaye M, Felder S. Cloning of human Serotonin 5-HT₂ and 5-HT_{1C} receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181:1469-1478
- Sambrook J, Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
- Sandor PS, Ambrosini A, agnosti RM, Schoenen J. Genetics of migraine: possible links to Neurophysiological abnormalities. *Headache* 2002; 42: 365-77
- Santos JL, Ochoa MC, Pantino A, Azcona C, Martinez JA, Marti A. No evidence of association between the serotonin 2° receptor -1438G/A promoter polymorphism and childhood obesity in a Spanish population: A case-parent study and a matched case-control study. *Nutr Neurosci.* 2005 Aug;8(4):207-11.

- Sen S, Nesse R, Stoltenberg S, Li S, Gleiberman L, Chakravarti A, Weder A, Burmeister M. A BDNF coding variant is associated with the NEO personality inventory domain neuroticism, a risk factor for depression. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:397-401
- Shih JC, Chen KJ-S, Gallaher TK. Molecular biology of serotonin receptors. In: Bloom FE, Kupfer DJ, eds. *Psychopharmacology: The fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995;407-414
- Shu XQ, Mendell LM. Neurotrophins and hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci*. July 1999; 96: 7693-7696
- Silberstein SD, Merriam GR. Sex hormones and headache. *J Pain Symptom Manage*. 1993 Feb; 8(2):98-114
- Silberstein SD. Review: serotonin 5HT and migraine. *Headache* 1994;43:408-17
- Silberstein SD, Merriam GR. Sex hormones and headache 1999 (menstrual migraine). *Neurology*. 1999; 53(4 Suppl 1):3-13
- Sipes TE, Geyer MA. Functional behavioral homology between rat 5-HT_{1B} and guinea pig 5-HT_{1D} receptors in the modulation of prepulse inhibition startle. *Psychopharmacology* 1996;122:231-237
- Sleight AJ, Carolo C, Petit N, Zwingelstein C, Bourson A. Identification of 5-hydroxytryptamine₇ receptor binding sites in rat hypothalamus: sensitivity to chronic antidepressant treatment. *Mol Pharmacol* 1995;47:99-103
- Sparkes RS, Lan N, Klisak I, Mohandas T, Diep A, Kojis T et al (1991). Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics* 9:461-465
- Spurlock G, Heils A, Holmans P, Williams J, D'Souza UM, Cardno A, Murphy KC, Jones L, Buckland PR, McGuffin P, Lesch KP, Owen MJ. A family based association study of T102C polymorphism in 5HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promotor. *Molecular Psychiatry* 1998;3:42-49
- Stefulj J, Kubat M, Balija M, Skavic J, Jernej B. Variability of the tryptophan hydroxylase gene: study in victims of violent suicide. *Psychiatry Res*. 2005 Mar 30;134(1):67-73
- Steiner T, Scher AI, Stewart WF, Kolodner K, Liberman J, Lipton RB. The prevalence and disability burden of adult migraine in England and their relationship to age, gender and ethnicity. *Cephalalgia* 2003; 23: 519-527
- Stepien A, Jagustyn P, Trafny EA, Widerkiewicz K. Suppressing effect of serotonin 5HT_{1B}/D receptor agonist rizatriptan on calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentration in migraine attacks. *Neurol Neurochir Pol*. 2003 Sep-Oct;37(5):1013-23
- Stewart WF, Lipton RB, Celentano D, Reed M. Prevalence of migraine headache in the United States. *J. A. M. A*. 267: 64-69, 1992
- Stewart WF, Lipton RB, Liberman J. Variation in migraine by race. *Neurology* 47: 52-59, 1996
- Strecher T, Messlinger K. Neuropeptidfreisetzung in den Hirnhäuten durch Stickstoffmonoxid. *Schmerz* 2003; 17:179-184
- Strobel A, Gutknecht L, Rothe C, Reif A, Moessner R, Zeng Y, Brocke B, Lesch KP. Allelic variation in 5-HT_{1A} receptor expression with anxiety- and depression-related personality traits. *Neural Transm*. 2003 Dec;110(12):1445-53
- Sun HS, Fann CS, Lane HY, Chang YT, Chang CJ, Liu YL, Cheng AT. A functional polymorphism in the promotor region of the tryptophan hydroxylase gene is associated with alcohol dependence in one aboriginal group in Taiwan. *Alcohol Clin Exp Res*. 2005 Jan;29(1):1-7
- Sugai T, Suzuki Y, Sawamura K, Fukui N, inoue Y, Someya T. The effect of 5-hydroxytryptamine 3A and 3B receptor genes on nausea induced by paroxetine. *Pharmacogenomics J*. 2006;1-6
- Tecott LH, Maricq AV, Julius D. Nervous system distribution of the serotonin 5-HT₃ receptor mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90:1430-1434
- Todorovic SM, Anderson EG. Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine₂ and 5-hydroxytryptamine₃ receptors in rat dorsal root ganglion cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990 Jul;254(1):109-15

- Torebjork HE, Lundberg LER, LaMotte RH. Central changes in processing of mechano-receptive input in capsaicin-induced secondary hyperalgesia in humans. *J Physiol.* 1992 Mar;448:765-80
- Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nature Genetics* 1992; 3:256-259
- Tremblay PB, Kaiser R, Sezer O, Rosler N, Schelenz C, Possinger K. Variations in the 5-hydroxytryptamine type 3B receptor gene as predictors of the efficacy of antiemetic treatment in cancer patients. *J Clin Oncol.* 2003; 21:2147-2155
- Tricklebank MD. The functional importance of the 5-HT₃ receptors in the interactions between serotonergic and dopaminergic systems in the CNS. In: Hamen M, ed. *Central and Peripheral 5-HT₃ Receptors.* London, England: Academic Press; 1992: 182-205
- Turecki G, Briere R, Dewar K, Antonetti T, Lesage AD, Seguin M, et al. (1999): Prediction of level serotonin 2A receptor binding by serotonin receptor 2A genetic variation in postmortem brain samples from subjects who did or did not commit suicide. *Am J Psychiatry* 156:1456-1458
- Turecki G, Zhu Z, Tzenova J, Lesage A, Seguin M, Tousignant M, Chawky N, Vanier C, Lipp O, Alda M, Joober R, Benkelfat C, Rouleau GA. TPH and suicidal behavior: a study in suicide completers. *Mol Psychiatry.* 2001 Jan;6(1):98-102
- Turner TJ, Mokler DJ, Luebke JI. Calcium influx through presynaptic 5-HT₃ receptor facilitates GABA release in the hippocampus: in vitro slice and synaptosome studies. *Neuroscience.* 2004; 129:703-718
- Tvedskov JF, Lipka K, Ashina M, Iversen HK, Schifter S, Olesen J. No increase of calcitonin gene-related peptide in jugular blood during migraine. *Ann Neurol* 2005; 58:561-568
- Vaquero LC; Baca-Garcia E, Diaz-Hernandes M, Botillo-Martin C, Perez-Rodriguez MM, Fernandez-Ramos C, Saiz-Gonzales MD, Quintero-Gutierrez FJ, Saiz-Ruiz J, Fernandez J, Gonzales de Riviera JL, de Leon J. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006 Aug 30;30(6):1136-8 Epub 2006 Jun 8
- Verbitsky M, Plazas PV, Elgoyhen AB. Functional expression and properties of a nicotinic alpha9/5-HT_{3A} chimeric receptor. *Neuroreport.* 2003 Oct 27;14(15):1931-4
- Vertes RP. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse.* 2004; 51:32-58
- Viana MM, De Marco LA, Boson WL, Romano Silva MA, Correa H. Investigation of A218C tryptophan hydroxylase polymorphism: association with familial suicide behavior and probands suicide attempt characteristics. *Genes Brain Behav.* 2006 Jun;5(4):340-5
- Walitza S, Wewetzer C, Warnke A, Gerlach M, Geller F, Gerber G, Gorg T, Herpetz-Dahlmann B, Schulz E, Remscheidt H, Hebebrand J, Hinney A. 5-HT(2A) promotor polymorphism -1438G/A in children and adolescents with obsessive compulsive disorders. *Molec. Psychiat.* 2002;7:1054-1057
- Walther DJ, Bader M. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem Pharmacol* 2003 Nov 1;66(9):1673-80
- Weeks DE, Lathrop GM. Polygenic disease: methods for mapping complex disease traits. *Trends Genet.* 1995 Dec; 11(12):513-9
- Wenzel M. *Migräne, die kleine Hölle.* Insel Verlag, Frankfurt am Main und Leipzig. Erste Auflage 1995
- Weiller C, May A, Limmroth V, Juptner M, Kaube H, Schayck RV, Coenen HH, Diener HC, Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med* 1995; 1:658-60
- Williams J, Spurlock G, McGuffin P, Mallet J, Nothen MM, Gill M et al.,. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. *The Lancet* 1996; 347: 1294-1296
- Williams J, McGuffin P, Nothen M, EMAS Collaborative Group and Owen MJ. Meta-

- analysis of association between the 5-HT (2A) receptor T102C polymorphism and schizophrenia. *Lancet* 349 (1997); 1221 (Letter)
- Winner P, Rothner AD, Putnam DG, Asgharnajed M. Demographic and migraine characteristics of adolescents with Migraine: GlaxoWellcome clinical trials database. *Headache*, 2003; 43:451-457
- Wisden W, Parker EM, Mahle CD, et al. Cloning and characterization of the rat 5-HT_{5B} Receptor. *FEBS Lett* 1993;333:25-31
- Woolf CJ. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature*. Dec 1983 15-21;360(5944):686-8
- Woolf CJ, Wall PD. Morphine-sensitive and morphine-insensitive actions of C-fibre input on the rat spinal cord. *Neurosci Lett*. 1986 Feb 28;64(2):221-5
- Yan Q, Rosenfeld RD, Matheson CR, Lopez OT, Bennet L, Welcher AA. Expression of brain derived neurotrophic factor protein in adult rat central nervous system. *Neuroscience*. May 1997;78(2):431-48
- Ye JH, Ponnudurai R, Schaefer R. Odansetron: a selective 5-HT(3) receptor antagonist and its applications in CNS-related disorders. *CNS Drug Rev*. 2001 Summer;7(2):199-213
- Yuan X, Yamada K, Ishiyama-Shigemoto S, Koyama W, Nonaka K. Identification of polymorphic loci in the promoter region of the serotonin 5-HT_{2C} receptor gene and their association with obesity and type II diabetes. *Diabetologia*. 2000 Mar;43(3):373-6
- Zetterström, T.S.C., Husum, H., Smith, S., et al., 1996 Local application of 5-HT₄ antagonists inhibits potassium-stimulated GABA efflux from rat substantia nigra in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 119, 347P
- Ziegler DK, Paolo AM. Headache symptoms and psychological profile of headache-prone individuals. A comparison of clinic patients and controls. *Arch Neurol*. 1995 Jun; 52(6):602-6
- Zifa E, Fillion G. 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacol Rev* 1992;44:401-458
- Zoroglu SS, Erdal ME, Erdal N, Ozen S, Alasehirli B, Sivasli E. No evidence for an association between the T102C and 1438 G/A polymorphisms of the serotonin 2A receptor gene in attention deficit/hyperactivity disorder in a Turkish population. *Neuropsychobiol*. 2003; 47(1):17-20
- Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L, McDonald ME, Friedlander RM, Silani V, Hayden MR, Timmusk T, Sipione S, Cattaneo E. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 293: 493-498, 2001

Danksagung:

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Rainald Mössner für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung der Durchführung des experimentellen Teiles der Arbeit in den Laboratorien der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg. Ebenso danken möchte ich für die jederzeit mögliche klärende Diskussion, die vielfältigen Anregungen und konstruktive Kritik während aller Schritte des theoretischen und praktischen Teiles dieser Arbeit.

Bedanken möchte ich mich zudem bei Frau Nicole Döring und dem Laborteam der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg für die vielfältige Unterstützung während des experimentellen Teiles dieser Arbeit.

Ebenfalls herzlich danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Cristoph Wanner, Medizinische Klinik und Poliklinik I, für die Übernahme des Korreferats.

Nicht zuletzt möchte ich mich besonders bei meinen Eltern bedanken, die mir die nötige Zeit zur Durchführung dieser Arbeit ließen und mich stets unterstützten.

Lebenslauf:**Personalien:**

Name: Anna Laura Herzog
Geburtsdatum/-ort: 29.03.1978/ Haßfurt

Schulbildung:

1984-1988 Grundschole Ebelsbach
1988-1997 Regiomontanus-Gymnasium Haßfurt
Juni 1997 Abiturprüfung

Medizinstudium:

2/1999-9/1999 Studium der Tiermedizin an der University of Veterinary Science, Budapest, Ungarn
9/1999 1. Abschnitt der tierärztlichen Vorprüfung
10/1999-2/2002 Vorklinischer Studienabschnitt an der Universität Würzburg
4/2002 Ärztliche Vorprüfung
5/2002-11/2006 Klinischer Studienabschnitt an der Universität Würzburg
3/2003 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
3/2005 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
4/2005-9/2005 experimenteller Teil der Dissertation „Migräne und das serotonerge System“ in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg
10/2005-9/2006 Praktisches Jahr
11/2006 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Derzeitige Tätigkeit:

Seit 4/2007 Assistenzärztin der Medizinischen Klinik und Poliklinik I, Abteilung Nephrologie der Julius Maximilians Universität Würzburg