



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
—ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837—

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ:**

**ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΕΩΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ  
ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ»**

**«Μελέτη συσχέτισης πολυμορφισμών στα γονίδια  
HCRT2, GNB3 και ADH4 με την προδιάθεση για  
εμφάνιση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Μαρία Παπασάββα**  
**ΑΘΗΝΑ 2018**  
5/10/2018

## ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- ❖ **Νικόλαος Δρακούλης**, Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Φαρμακολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ (επιβλέπων)
  
- ❖ **Παπαπετρόπουλος Ανδρέας**, Καθηγητής Φαρμακολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ
  
- ❖ **Ανδρεάδου Ιωάννα**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, που έγινε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος ειδίκευσης Σχεδιασμός και Ανάπτυξη Νέων Φαρμακευτικών Ενώσεων – Κατεύθυνση «Φαρμακολογία», θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσοι συνέβαλαν στην υλοποίησή της.

Κατ'αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τον επίκουρο καθηγητή κο. Νικόλαο Δρακούλη, επιβλέποντα καθηγητή και επιστημονικό υπεύθυνο της παρούσας εργασίας, για την επιστημονική υποστήριξη, τη συνεχή βοήθεια, τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγηση καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησής της.

Ευχαριστώ θερμά τη μεταδιδακτορική ερευνήτρια του τμήματος Φαρμακευτικής, Βιοχημικό-Βιοτεχνολόγο κα. Μάρθα-Σπυριδούλα Κατσαρού για τη συνεχή υποστήριξη και καθοδήγηση.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Αναπληρωτή Καθηγητή Νευρολογίας, κο. Δήμο-Δημήτριο Μητσικώστα, ο οποίος συνέβαλε στην υλοποίηση της παρούσας εργασίας, όπως επίσης και στη Νευρολόγο κα. Έφη Μητροπούλου για την άψογη συνεργασία.

Επιπλέον, ευχαριστώ τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον κο. Ανδρέα Παπαπετρόπουλο, Καθηγητή Φαρμακολογίας του τομέα Φαρμακευτικής Χημείας και την κα. Ιωάννα Ανδρεάδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας του τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, για την αξιολόγηση της παρούσας εργασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην οικογένειά μου για τη στήριξη και την ανιδιοτελή συμπαράστασή της σε κάθε ακαδημαϊκό και επιστημονικό μου βήμα.

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

- AC:** Αδενυλική Κυκλάση (Adenylyl cyclase)
- ADH:** Αλκοολική Αφυδρογονάση (Alcohol dehydrogenase)
- ALDH:** Αφυδρογονάση της Αλδεΐδης (Aldehyde dehydrogenase)
- C825T:** Σημειακός Νουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός rs5443 στο γονίδιο *GNB3*
- CCH:** Χρόνια Αθροιστική Κεφαλαλγία (Chronic cluster headache)
- CGRP:** Πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (Calcitonin gene-related peptide)
- CH:** Αθροιστική Κεφαλαλγία (Cluster headache)
- ECH:** Επεισοδιακή Αθροιστική Κεφαλαλγία (Episodic cluster headache)
- G1246A:** Σημειακός Νουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός rs2653349 στο γονίδιο *HCRTR2*
- GAPs:** Πρωτεΐνες Επιτάχυνσης GTPάσης (GTPase-activating proteins)
- GDP:** Διφωσφορική γουανοσίνη (Guanosine Diphosphate)
- GIRK:** G Protein-Coupled Inwardly-Rectifying Potassium Channel
- GON:** Μείζων Ινιακό νεύρο (Greater occipital nerve)
- GPCR:** Υποδοχέας Συζευγμένος με G πρωτεΐνη (G-protein-coupled receptors)
- GTP:** Τριφωσφορική γουανοσίνη (Guanosine Triphosphate)
- HCRTR<sub>x</sub>/OX<sub>x</sub>R:** Υποδοχέας Υποκρετίνης/Ορεξινεργικός Υποδοχέας (Hypocretin Receptor/Orexin Receptor)
- IC<sub>50</sub>:** Half Maximal Inhibitory Concentration
- ICHD-3:** Διεθνής ταξινόμηση κεφαλαλγικών διαταραχών, 3<sup>η</sup> έκδοση (The International Classification of Headache Disorders 3rd edition)

**NAD:** Δινουκλεοτίδιο Νικοτιναμιδικής Αδενίνης (Nicotinamide Adenine Dinucleotide)

**NMDA:** Ν-Μέθυλο-D-Ασπαρτικό (N-methyl-D-aspartate)

**NO:** Μονοξείδιο του Αζώτου (Nitric oxide)

**NOS:** Συνθάσες μονοξειδίου του Αζώτου (Nitric Oxide Synthase)

**NTG:** Νιτρογλυκερίνη (Nitroglycerin)

**PET:** Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography)

**PH:** Παροξυσμική Ημικρανία (Paroxysmal Hemicrania)

**PI3K:** Κινάση της Φωσφατιδυλινωσιτόλης 3 (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase)

**RGS:** Πρωτεϊνικές Δομικές Περιοχές Που Ενεργοποιούν Γτράσες Για Τις Για Υπομονάδες (Regulators of G protein signalling)

**SNP:** Σημειακός Νουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός (Single Nucleotide Polymorphism)

**SPA:** Αυθόρμητη Σωματική Δραστηριότητα

**SPECT/MRI:** Μονοφωτονιακή Τομογραφία Εκπομπής/Μαγνητική Τομογραφία (Single-Photon Emission Computed Tomography/Magnetic Resonance Imaging)

**SSN:** Άνω σιαλικός πυρήνας (superior salivatory nucleus)

**SUNA:** Βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας με κρανιακά συμπτώματα του αυτόνομου (Short-Lasting Unilateral Neuralgiform Headache Attacks with Cranial Autonomic Symptoms)

**SUNCT:** Βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας με ένεση επιπεφυκότα και δακρύρροια (Short-Lasting Unilateral Neuralgiform Headache Attacks with Conjunctival Injection and Tearing)

**TACs:** Τριδυμικές κεφαλαλγίες του αυτόνομου (Trigeminal Autonomic Cephalalgias)

**TCC:** Τριδυμο-αυχενικός πυρήνας (trigeminocervical complex)

**TRPC:** Transient Receptor Potential-Canonical channels

**VIP:** Vasoactive intestinal peptide

**ΑΕ:** Ανεπιθύμητες Ενέργειες

**ΑΕΦ:** Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός

**ΑΝΣ:** Αυτόνομο Νευρικό Σύστημα

**ΗΚΓ:** Ηλεκτροκαρδιογράφημα

**ΚΝΣ:** Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

**ΝΑ:** Νοραδρεναλίνη

## ΠΙΝΑΚΕΣ

|   | <u>Σελίδα</u> |
|---|---------------|
| Πίνακας 1.1 Χαρακτηριστικά των τριδυμικών κεφαλαλγιών του ANΣ.....  | 14            |
| Πίνακας 1.2 Σύνοψη συμπτωματικής και προφυλακτικής θεραπευτικής αγωγής για την αθροιστική κεφαλαλγία .....  | 33            |
| Πίνακας 2.1 Γενικό πρωτόκολλο για παρασκευή μίγματος αντίδρασης.....  | 76            |
| Πίνακας 2.2 Προγραμματισμός LightCycler® 480.....   | 76            |
| Πίνακας 3.1 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....                     | 78            |
| Πίνακας 3.2 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία                        | 78            |
| Πίνακας 3.3 Σύγκριση γονοτύπων (G:G vs G:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία..... | 78            |
| Πίνακας 3.4 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs G:A και G:G) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία..... | 79            |
| Πίνακας 3.5 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....                          | 80            |
| Πίνακας 3.6 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....                       | 81            |
| Πίνακας 3.7 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:T και T:T) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....     | 81            |



|  |    |
|--|----|
| Πίνακας 3.8 Σύγκριση γονοτύπων (T:T vs C:T και C:C) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....                            | 81 |
| Πίνακας 3.9 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....  | 83 |
| Πίνακας 3.10 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....   | 83 |
| Πίνακας 3.11 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                         | 83 |
| Πίνακας 3.12 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs C:A και C:C) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                         | 83 |
| Πίνακας 4.1 Σύγκριση κατανομής των φύλων μεταξύ μαρτύρων-ασθενών Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης.....  | 86 |
| Πίνακας 4.2 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                       | 87 |
| Πίνακας 4.3 Σύγκριση γονοτύπων (G:G vs G:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. .... | 88 |
| Πίνακας 4.4 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs G:A και G:G) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία ..... | 88 |
| Πίνακας 4.5 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....                   | 88 |

|   |    |
|---|----|
| Πίνακας 4.6 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                           | 90 |
| Πίνακας 4.7 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:T και T:T) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. . . . .  | 90 |
| Πίνακας 4.8 Σύγκριση γονοτύπων (T:T vs C:T και C:C) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. . . . .  | 91 |
| Πίνακας 4.9 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                        | 91 |
| Πίνακας 4.10 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.....                       | 92 |
| Πίνακας 4.11 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. .... | 92 |
| Πίνακας 4.12 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs C:A και C:C) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. .... | 92 |
| Πίνακας 4.13 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ....                   | 93 |
| Πίνακας 4.14 Κατανομή γονοτύπων G:G+C:T+C:C για τους πολυμορφισμούς rs2653349, rs5443 και rs1800759 αντίστοιχα στους μάρτυρες και τους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ....                      | 94 |

## ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

### Σελίδα

|   |    |
|---|----|
| Διάγραμμα 2.1 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία βάσει φύλου .....                                       | 61 |
| Διάγραμμα 2.2 Κατανομή εθελοντών ασθενών με βάση τον τύπο της Αθροιστικής Κεφαλαλγίας .....                               | 62 |
| Διάγραμμα 2.3 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση την χρήση τριπτανών ως φαρμακευτική αγωγή ..... | 62 |
| Διάγραμμα 2.4 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση το κάπνισμα .....                               | 63 |
| Διάγραμμα 2.5 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση την κατηγορία κατανάλωσης αλκοόλ .....          | 63 |
| Διάγραμμα 2.6 Κατανομή εθελοντών μαρτύρων με βάση το φύλο .....   | 64 |

## ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

### Σελίδα

|   |    |
|---|----|
| Γράφημα 3.1 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα μαρτύρων .....                             | 79 |
| Γράφημα 3.2 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα μαρτύρων .....                          | 79 |
| Γράφημα 3.3 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....  | 80 |
| Γράφημα 3.4 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....     | 80 |
| Γράφημα 3.5 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα μαρτύρων .....                                | 81 |
| Γράφημα 3.6 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα μαρτύρων .....                             | 81 |
| Γράφημα 3.7 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....     | 82 |
| Γράφημα 3.8 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....        | 82 |
| Γράφημα 3.9 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα μαρτύρων .....                          | 84 |
| Γράφημα 3.10 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα μαρτύρων .....                            | 84 |
| Γράφημα 3.11 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία ..... | 84 |
| Γράφημα 3.12 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία .....    | 84 |

## EΙΚΟΝΕΣ

### Σελίδα

|  |    |
|--|----|
| Εικόνα 1.1 Αλληλεπικάλυψη μεταξύ της διάρκειας των κρίσεων στις TACs.....  | 11 |
| Εικόνα 1.2 Τριγεμνοαγγειακό αντανακλαστικό .....   | 21 |
| Εικόνα 1.3 Αποκλεισμός μείζονος ινιακού νεύρου (GON).....  | 31 |
| Εικόνα 1.4 Σχηματική αναπαράσταση ορεξινεργικού συστήματος.....  | 36 |
| Εικόνα 1.5 Νευρωνικό δίκτυο μεταξύ ορεξινεργικών και κατεχολαμινεργικών νευρώνων .....                           | 38 |
| Εικόνα 1.6 Επίδραση αδενοσίνης στους νευρώνες υποκρετίνης/ορεξίνης ( .....                                       | 39 |
| Εικόνα 1.7 Κυτταρική απόκριση σε διέγερση του υποκρετινεργικού συστήματος (A) .....                              | 42 |
| Εικόνα 1.8 Κυτταρική απόκριση σε διέγερση του υποκρετινεργικού συστήματος (B) .....                              | 43 |
| Εικόνα 1.9 Θέση <i>HCRTR2</i> γονιδίου στο χρωμόσωμα 6.....  | 44 |
| Εικόνα 1.10 Σχηματική αναπαράσταση του <i>HCRTR2</i> στην μεμβράνη του πλάσματος .....                           | 45 |
| Εικόνα 1.11 Ο κύκλος της G πρωτεΐνης .....   | 48 |
| Εικόνα 1.12 (A) Δομή Gβγ διμερούς (κίτρινο: Gβ, κόκκινο: Gγ) (B) Δομή ετεροτριμερούς G πρωτεΐνης .....           | 50 |
| Εικόνα 1.13 Θέση <i>GNB3</i> γονιδίου στο χρωμόσωμα 12 .....   | 50 |
| Εικόνα 1.14 Σχηματικό διάγραμμα της δομής του γονιδιώματος και των πρωτεϊνικών περιοχών της ανθρώπινης Gβ3. .... | 51 |
| Εικόνα 1.15 Οξείδωση της αιθανόλης .....   | 55 |

|   |    |
|---|----|
| Εικόνα 1.16 Σχετικά μεγέθη και θέσεις των 7 <i>ADH</i> γονιδίων στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 4 ..... | 57 |
| Εικόνα 1.17 Θέση <i>ADH4</i> γονιδίου στο χρωμόσωμα 4 .....   | 57 |
| Εικόνα 2.1 Απομόνωση DNA με τη χρήση spin column .....  | 67 |
| Εικόνα 2.2 Αποστειρωμένοι Βαμβακοφόροι Στυλεοί.....   | 67 |
| Εικόνα 2.3 Ανακινούμενη Πλάκα Τυρ VX 2E, IKA-Labortechnik, Γερμανία.....                                    | 68 |
| Εικόνα 2.4 Μικροφυγόκεντρος (Sorvall/Mc 12V, DU PONT) .....   | 68 |
| Εικόνα 2.5 Συσκευή Vortex (Vibrofix VF1 Electronic και IKA-VIBRAX-VXR, IKA-Labortechnik, Γερμανία).....     | 69 |
| Εικόνα 2.6 Επωαστήρας σωληναρίων(Techne DRI-BLOCK DB.3, UK) .....   | 70 |

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αθροιστική κεφαλαλγία (CH) ανήκει στις πρωτοπαθείς κεφαλαλγικές διαταραχές, εμφανίζει επιπολασμό 0,1% και χαρακτηρίζεται από επώδυνες, μονόπλευρες, επαναλαμβανόμενες και βραχείας διάρκειας κρίσεις κεφαλαλγίας, οι οποίες συνοδεύονται με συμπτώματα από το Αυτόνομο Νευρικό Σύστημα, πάντα ομόπλευρα με τον πόνο. Η παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας δεν έχει γίνει ακόμη πλήρως κατανοητή, παρά τη σαφή κλινική εικόνα της.

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, μελετήθηκε ο τρόπος με τον οποίο κατανέμονται σε δείγμα μαρτύρων και ασθενών Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης 3 σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) των γονιδίων *HCRTR2* (rs2653349) και *ADH4* (rs1800759) που συσχετίστηκαν με την αθροιστική κεφαλαλγία βάσει βιβλιογραφίας και του *GNB3* (rs5443) που συσχετίστηκε με την ανταπόκριση σε θεραπευτική αγωγή με τριπτάνες. DNA από επιθηλιακά κύτταρα της στοματικής κοιλότητας 619 εθελοντών μαρτύρων και 30 ασθενών με διαγεγνωσμένη αθροιστική κεφαλαλγία απομονώθηκε και αναλύθηκε με τη χρήση real time PCR.

Για τον rs2653349, 490 μάρτυρες (79,2%) και 25 ασθενείς (86,2%) έφεραν τον γονότυπο G:G, 119 μάρτυρες (19,2%) και 3 ασθενείς (10,3%) έφεραν τον G:A και 10 μάρτυρες (1,6%) και 1 ασθενής (3,4%) έφεραν τον γονότυπο A:A. Το φυσικό G αλληλόμορφο εμφανίστηκε σε ποσοστό 88,8% στους μάρτυρες και σε ποσοστό 91,4% στους ασθενείς. Αναφορικά με τον rs5443, 273 μάρτυρες (44,1%) και 12 ασθενείς (44,4%) έφεραν τον γονότυπο C:C, 264 μάρτυρες (42,6%) και 14 ασθενείς (51,9%) έφεραν τον C:T και 82 μάρτυρες (13,2%) και 1 ασθενής (3,7%) έφεραν τον γονότυπο T:T. Το φυσικό C αλληλόμορφο εμφανίστηκε σε ποσοστό 65,4% στους μάρτυρες και σε ποσοστό 70,4% στους ασθενείς. Για τον rs1800759, 208 μάρτυρες (33,6%) και 14 ασθενείς (56,0%) έφεραν τον γονότυπο C:C, 312 μάρτυρες (50,4%) και 5 ασθενείς (20,0%) έφεραν τον C:A και 99 μάρτυρες (16,0%) και 6 ασθενείς (24,0%) έφεραν τον γονότυπο A:A. Το φυσικό C αλληλόμορφο εμφανίστηκε σε ποσοστό 58,8% στους μάρτυρες και σε ποσοστό 66,0% στους ασθενείς.

Το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A του πολυμορφισμού rs2653349 στο γονίδιο του υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2 (*HCRTR2*) και T του πολυμορφισμού rs5443 στο γονίδιο της β3 υπομονάδας της G πρωτεΐνης (*GNB3*) εμφανίζονται συχνότερα στους Νοτιοανατολικούς Ευρωπαίους Καυκάσιους μάρτυρες σε σχέση με τους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, χωρίς ωστόσο τα αποτελέσματα αυτά να είναι στατιστικά σημαντικά. Αντίθετα, ομοζυγωτία για το φυσικό C αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs1800759 στο γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης 4 (*ADH4*) φαίνεται να συμβάλλει στην προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας.

Οι μελετούμενοι πολυμορφισμοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την προδιάθεση ενός ατόμου να εμφανίσει την ασθένεια. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμεύσουν ως εργαλείο στη βασική έρευνα, ούτως ώστε να εντοπιστούν μοριακές δομές οι οποίες συντελούν στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας



## ABSTRACT

Cluster headache (CH) is a primary neurovascular headache with an increased hereditary risk and is characterized by unilateral pain associated with ipsilateral cranial autonomic features. CH prevalence is approximately 0.1% of the population. The pathophysiology of CH has not yet been fully understood despite its clear clinical picture.

A comparison of the frequency distribution of two cluster headache associated polymorphisms, the rs2653349 polymorphism in the *HCRTR2* gene and the rs1800759 in the *ADH4* gene, and a triptan-treatment response associated polymorphism, the rs5443 in the *GNB3* gene, was performed in a Southeastern European Caucasian case-control population. DNA from buccal swabs of 619 non related controls and 30 patients with diagnosed CH was collected and analysed using real-time PCR.

For rs2653349, 490 controls (79.2%) and 25 patients (86.2%) were homozygous for the wild type G allele, 119 controls (19.2%) and 3 patients (10.3%) were heterozygous and 10 controls (1.6%) and 1 patient (3.4%) were homozygous for the rare A allele. The frequency of wild-type G allele was 88.8% in controls and 91.4% in patients. For rs5443, 273 controls (44.1%) and 12 patients (44.4%) were homozygous for the wild type C allele, 264 controls (42.6%) and 14 patients (51.9%) were heterozygous and 82 controls (13.2%) and 1 patient (3.7%) were homozygous for the rare T allele. The frequency of wild-type C allele was 65.4% in controls and 70.4% in patients. For rs1800759, 208 controls (33.6%) and 14 patients (56.0%) were homozygous for the wild type C allele, 312 controls (50.4%) and 5 patients (20.0%) were heterozygous and 99 controls (16.0%) and 6 patients (24.0%) were homozygous for the rare A allele. The frequency of wild-type C allele was 58.8% in controls and 66.0% in patients.

The mutant A allele of the rs2653349 polymorphism in *HCRTR2* gene and T allele of the rs5443 polymorphism in the *GNB3* gene appear more often in Southeastern European Caucasian controls than in patients with CH, although not statistically

significant. In contrast, homozygous for the wild type C allele of the rs1800759 polymorphism in the *ADH4* gene appears to statistically significant ( $p=0.021$ ) contribute to the predisposition for CH.

CH associated polymorphisms can be used as biomarkers to predict the predisposition of a person to develop CH. In addition, they can be useful tools for basic research to identify molecular structures that contribute to the pathophysiology of the disease.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

|   |    |
|---|----|
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....   | 9  |
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....   | 10 |
| 1.1 Τριδυμικές Κεφαλαλγίες Του Αυτόνομου (TACs).....                            | 10 |
| 1.1.1 Αθροιστική Κεφαλαλγία (CH).....   | 11 |
| 1.1.2 Παροξυσμική Ημικρανία (Paroxysmal Hemicrania).....                        | 12 |
| 1.1.3 Βραχείας Διάρκειας Ετερόπλευρες Κρίσεις Νευραλγικόμορφης Κεφαλαλγίας..... | 12 |
| 1.1.4 Συνεχής Ημικρανία (Hemicrania Continua) .....                             | 13 |
| 1.1.5 Πιθανή Τριδυμική Κεφαλαλγία Του Αυτόνομου .....                           | 13 |
| 1.2 Αθροιστική Κεφαλαλγία (CH) .....  | 15 |
| 1.2.1 Μορφές Αθροιστικής Κεφαλαλγίας.....                                       | 16 |
| 1.2.1.1 Επεισοδιακή Αθροιστική Κεφαλαλγία (ECH) .....                           | 16 |
| 1.2.1.2 Χρόνια Αθροιστική Κεφαλαλγία (CCH) .....                                | 16 |
| 1.2.2 Επιπολασμός Αθροιστικής Κεφαλαλγίας.....                                  | 16 |
| 1.2.3 Παθοφυσιολογία Αθροιστικής Κεφαλαλγίας.....                               | 17 |
| 1.2.3.1 Περιφερική Παθοφυσιολογία .....   | 17 |
| 1.2.3.2 Κεντρική Παθοφυσιολογία.....  | 19 |
| 1.2.3.2.1 Αυτόνομο αντανακλαστικό του Τριδύμου .....                            | 19 |
| 1.2.3.2.2 Υποθάλαμος .....  | 21 |
| 1.2.4 Διάγνωση.....   | 24 |
| 1.2.5 Θεραπευτική Αντιμετώπιση .....  | 25 |
| 1.2.5.1 Συμπτωματική Αγωγή – Θεραπευτική Αντιμετώπιση Οξείας Κρίσης ..          | 25 |
| 1.2.5.1.1 Τριπτάνες .....   | 26 |
| 1.2.5.1.2 Οξυγόνο .....   | 27 |
| 1.2.5.1.3 Εργοταμίνη και Διυδροεργοταμίνη.....                                  | 28 |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| 1.2.5.1.4 | Λιδοκαΐνη .....   | 28 |
| 1.2.5.1.5 | Σωματοστατίνη και Οκτρεοσίδη.....   | 28 |
| 1.2.5.2   | Προφυλακτική Αγωγή .....  | 29 |
| 1.2.5.2.1 | Βεραπαμλη.....  | 29 |
| 1.2.5.2.2 | Λίθιο.....  | 30 |
| 1.2.5.2.3 | Άλλα Φάρμακα.....   | 30 |
| 1.2.5.3   | Μεταβατική Αγωγή .....  | 30 |
| 1.2.5.3.1 | Κορτικοστεροειδή.....   | 31 |
| 1.2.5.3.2 | Διυδροεργοταμίνη.....   | 32 |
| 1.2.5.4   | Εναλλακτικές Θεραπείες .....  | 33 |
| 1.3       | Αθροιστική Κεφαλαλγία και Γενετική .....  | 34 |
| 1.3.1     | Το γονίδιο του υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2 ( <i>HCRTR2</i> ) .....                         | 35 |
| 1.3.1.1   | Υποκρετίνη / Ορεξίνη .....  | 35 |
| 1.3.1.2   | Υποκρετινερικοί/ Ορεξινεργικοί νευρώνες.....  | 37 |
| 1.3.1.3   | Υποκρετινερικοί/ Ορεξινεργικοί υποδοχείς ( <i>HCRTR<sub>x</sub>/OX<sub>x</sub>R</i> ) ..... | 40 |
| 1.3.1.4   | Πολυμορφισμός rs2653349 .....   | 44 |
| 1.3.1.5   | rs2653349 και Αθροιστική κεφαλαλγία.....  | 45 |
| 1.3.2     | Το γονίδιο της β3 υπομονάδας της G πρωτεΐνης ( <i>GNB3</i> ).....                           | 47 |
| 1.3.2.1   | Ετεροτριμερείς G Πρωτεΐνες .....  | 47 |
| 1.3.2.1.1 | Γα Υπομονάδα .....  | 48 |
| 1.3.2.1.2 | G <sub>βγ</sub> Ετεροδιμερές .....  | 49 |
| 1.3.2.2   | Πολυμορφισμός rs5443 .....  | 50 |
| 1.3.2.3   | rs5443 και Ανταπόκριση στις Τριπτάνες.....  | 52 |
| 1.3.3     | Το γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης 4 ( <i>ADH4</i> ).....                              | 53 |
| 1.3.3.1   | Αλκοόλ και Αθροιστική Κεφαλαλγία .....  | 53 |
| 1.3.3.2   | Μεταβολισμός Αλκοόλης .....   | 54 |

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| 1.3.3.2.1         | Αλκοολική Αφυδρογονάση (ADH).....   | 55 |
| 1.3.3.3           | Πολυμορφισμός rs1800759 .....   | 57 |
| 1.3.3.3.1         | rs1800759 και Αθροιστική Κεφαλαλγία .....   | 57 |
| ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... |   | 59 |
| 1.4               | Σκοπός .....  | 60 |
| 2.                | Υλικά και Μέθοδοι.....  | 61 |
| 2.1               | Πληθυσμός Μελέτης.....  | 61 |
| 2.1.1             | Δείγμα Ασθενών .....  | 61 |
| 2.1.2             | Δείγμα Μαρτύρων.....  | 64 |
| 2.2               | Δεοντολογία.....  | 64 |
| 2.3               | Αντιδραστήρια/ Υλικά/ Εξοπλισμός.....   | 65 |
| 2.4               | Απομόνωση Γενωμικού Υλικού .....  | 66 |
| 2.4.1             | Διαδικασία Απομόνωσης Γενωμικού Υλικού Απο Βαμβακοφόρο Στυλεό<br>Με Τη Χρήση Invitrogen Kit .....               | 67 |
| 2.5               | Φωτομέτρηση Δειγμάτων .....   | 71 |
| 2.5.1             | Διαδικασία Φασματοφωτομέτρησης δειγμάτων .....  | 72 |
| 2.6               | Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time PCR)<br>73  |    |
| 2.6.1             | Lightsnip .....   | 74 |
| 2.6.2             | Αναλυτική Διαδικασία Real Time PCR.....   | 74 |
| 2.7               | Στατιστική Ανάλυση .....  | 77 |
| 3.                | Αποτελέσματα .....  | 78 |
| 3.1               | Συχνότητα εμφάνισης πολυμορφισμού rs2653349 του γονιδίου <i>HCRTR2</i> σε<br>δείγμα μαρτύρων και ασθενών .....  | 78 |
| 3.2               | Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> σε<br>δείγμα μαρτύρων και ασθενών .....   | 80 |
| 3.3               | Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i><br>σε δείγμα μαρτύρων και ασθενών..... | 82 |

|  |    |
|--|----|
| 4. Συζήτηση .....  | 85 |
| 4.1 Διαφορές στην κατανομή των φύλων μεταξύ ασθενών-μαρτύρων .....   | 85 |
| 4.2 Πολυμορφισμός rs2653349 του γονιδίου <i>HCRT2</i> .....  | 86 |
| 4.3 Πολυμορφισμός rs5443 του γονιδίου <i>GNB3</i> .....  | 89 |
| 4.4 Πολυμορφισμός rs1800759 του γονιδίου <i>ADH4</i> .....   | 91 |
| 4.5 Συχνότητα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών στα <i>HCRT2</i> , <i>GNB3</i> και <i>ADH4</i> γονίδια σε ασθενείς και μάρτυρες ..... | 93 |
| 5. Συμπεράσματα .....  | 95 |
| 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....  | 96 |

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Τριδυμικές Κεφαλαλγίες Του Αυτόνομου (TACs)

Οι τριδυμικές κεφαλαλγίες του αυτόνομου (TACs) αποτελούν μία ομάδα πρωτοπαθών κεφαλαλγιών, δηλαδή κεφαλαλγιών που δεν προκλήθηκαν από κάποια άλλη διαταραχή. Χαρακτηρίζονται από μονόπλευρο άλγος της κεφαλής, το οποίο συνοδεύεται με ομόπλευρα συμπτώματα από το παρασυμπαθητικό σκέλος του αυτόνομου νευρικού συστήματος (ΑΝΣ) στην περιοχή του προσώπου όπου κατανέμεται το τριδυμο νεύρο, λόγω ενεργοποίησης ενός τριδυμο-παρασυμπαθητικού αντανακλαστικού.<sup>1,2</sup>

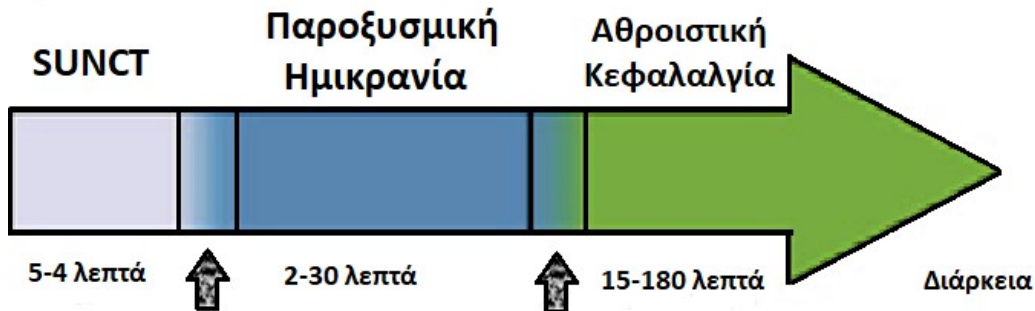
Στην ομάδα των TACs περιλαμβάνονται τα εξής σύνδρομα, με βάση την διεθνή ταξινόμηση κεφαλαλγικών διαταραχών (ICHD-III)<sup>2</sup>:

1. Αθροιστική κεφαλαλγία (CH) - επεισοδιακή και χρόνια
2. Παροξυσμική ημικρανία (PH) – επεισοδιακή και χρόνια
3. Βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας :
  - 3.1 με ένεση επιπεφυκότα και δακρύρροια (SUNCT) - επεισοδιακή και χρόνια
  - 3.2 με κраниακά συμπτώματα του αυτόνομου (SUNA) - επεισοδιακή και χρόνια
4. Συνεχής ημικρανία (Hemicrania continua) – διακοπτόμενος ή συνεχής υπότυπος
5. Πιθανή τριδυμική κεφαλαλγία του αυτόνομου :
  - 5.1 Πιθανή αθροιστική κεφαλαλγία
  - 5.2 Πιθανή παροξυσμική κεφαλαλγία
  - 5.3 Πιθανή βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας
  - 5.4 Πιθανή συνεχής ημικρανία

Το κύριο χαρακτηριστικό που διακρίνει τις διάφορες μορφές TACs είναι η διάρκεια των κρίσεων.(Εικόνα 1.1) Η ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή και άλλα



χαρακτηριστικά μπορούν επίσης να συμβάλουν στη διαφοροποίηση των ΤΑC.<sup>1,2</sup>  
(Πίνακας 1.1)



Εικόνα 1.1 Αλληλεπικάλυψη μεταξύ της διάρκειας των κρίσεων στις ΤΑCs (Leone M, Bussone G. Pathophysiology of trigeminal autonomic cephalalgias. Lancet Neurol. 2009;8(8):755-764. doi:10.1016/S1474-4422(09)70133-4)

#### 1.1.1 Αθροιστική Κεφαλαλγία (CH)

Η αθροιστική κεφαλαλγία συνίσταται από κρίσεις πόνου οι οποίες τείνουν να αθροίζονται σε περιόδους (αθροιστικές περιόδους) που διαρκούν αρκετές εβδομάδες ή μήνες, διακοπώμενες από περιόδους ύφεσης που διαρκούν μήνες ή έτη. Οι κρίσεις συνοδεύονται από συμπτώματα του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ) τα οποία είναι πάντοτε ομόπλευρα με τον πόνο: δακρύρροια, ρινόρροια ή/και ρινική συμφόρηση, ένεση επιπεφυκότος, εφίδρωση μετώπου και προσώπου, μύση ή/και πτώση βλεφάρου, οίδημα βλεφάρου. Η αθροιστική κεφαλαλγία εμφανίζεται 3 φορές συχνότερα στους άντρες σε σχέση με τις γυναίκες, για άγνωστους λόγους μέχρι τώρα.<sup>2,3</sup>

Η αθροιστική κεφαλαλγία μπορεί να είναι χρόνια (περίπου το 10-15% των ασθενών) ή επεισοδιακή. Στην επεισοδιακή αθροιστική κεφαλαλγία, οι αθροιστικές περιόδους εμφανίζονται συγκεκριμένες περιόδους του έτους, συχνά με μια εποχιακή προτίμηση και διαχωρίζονται από περιόδους ύφεσης οι οποίες διαρκούν τουλάχιστον 3 μήνες. Στη χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία οι κρίσεις είναι συνεχείς, χωρίς περιόδους ύφεσης. Περίοδος ύφεσης (Cluster remission period) θεωρείται η χρονική περίοδος κατά την οποία οι κρίσεις σταματούν να εμφανίζονται αυτόματα

και δεν μπορούν να πυροδοτηθούν όταν ο ασθενής έρθει σε επαφή με διάφορους εκλυτικούς παράγοντες όπως το οινόπνευμα ή η νιτρογλυκερίνη. Αυτή η ελεύθερη κρίσεων περίοδος θεωρείται περίοδος ύφεσης εάν η διάρκειά της υπερβαίνει τους 3 μήνες.<sup>2,3</sup>

#### 1.1.2 Παροξυσμική Ημικρανία (Paroxysmal Hemicrania)

Η παροξυσμική ημικρανία χαρακτηρίζεται από κρίσεις παρόμοιες σε πόνο και συνοδά συμπτώματα με την αθροιστική κεφαλαλγία (εφίδρωση προσώπου και μετώπου, πτώση βλεφάρου, οίδημα βλεφάρου, μύση, δακρύρροια, ρινόρροια, ρινική συμφόρηση, ένεση επιπεφυκότος), που διαρκούν όμως λιγότερο (2-30 λεπτά) και εμφανίζονται συχνά ή αρκετά συχνά την ημέρα. Οι ασθενείς με παροξυσμική ημικρανία ανταποκρίνονται πλήρως σε θεραπευτική αγωγή με ινδομεθακίνη. Αυτός ο τύπος Τριδυμικής Κεφαλαλγίας του Αυτόνομου ξεκινά κατά την ενήλικη ζωή συνήθως, αν και αναφέρθηκαν περιπτώσεις όπου ξεκίνησε κατά την παιδική ηλικία και δεν απαντάται συχνότερα στους άντρες.<sup>2</sup>

#### 1.1.3 Βραχείας Διάρκειας Ετερόπλευρες Κρίσεις Νευραλγικόμορφης Κεφαλαλγίας

Αυτός ο τύπος ΤΑC χαρακτηρίζεται από κρίσεις με μέτριο ή σοβαρό, αυστηρά μονόπλευρο άλγος στο κεφάλι, που διαρκεί δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά. Οι κρίσεις μπορεί να συμβούν τουλάχιστον μία φορά την ημέρα και συνοδεύονται συνήθως από έντονη δακρύρροια και ερυθρότητα του ομόπλευρου οφθαλμού.<sup>2</sup>

Υπάρχουν 2 υπότυποι βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας, σύμφωνα με την διεθνή ταξινόμηση κεφαλαλγικών διαταραχών (ICHD-3):

1. βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας με ένεση επιπεφυκότος και δακρύρροια (SUNCT) και
2. βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας με κρανιακά συμπτώματα του αυτόνομου (SUNA).

Το SUNCT ίσως συνιστά υπομορφή του SUNA, αν και αυτό απαιτεί περαιτέρω μελέτη. Προς το παρόν, ο καθένας χαρακτηρίζεται ως ξεχωριστός υπότυπος.<sup>2</sup>

---

#### 1.1.4 Συνεχής Ημικρανία (Hemicrania Continua)

Αποτελεί μία επίμονη, αυστηρά μονόπλευρη μορφή κεφαλαλγίας, με ομόπλευρα συνοδά συμπτώματα παρόμοια με αυτά της αθροιστικής κεφαλαλγίας, δηλαδή εφίδρωση προσώπου και μετώπου, πτώση βλεφάρου, μύση, δακρύρροια, ρινόρροια, ρινική συμφόρηση, ένεση επιπεφυκότα και/ή οίδημα βλεφάρου και/ ή με ανησυχία ή διέγερση. Η κεφαλαλγία είναι απόλυτα ευαίσθητη στην ινδομεθακίνη.<sup>2</sup>

Συμπτώματα που παρατηρούνται στην ημικρανία, όπως η φωτοφοβία και η φωνοφοβία εμφανίζονται συχνά στην Hemicrania continua.<sup>2</sup>

---

#### 1.1.5 Πιθανή Τριδυμική Κεφαλαλγία Του Αυτόνομου

Σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται οι κρίσεις κεφαλαλγίας οι οποίες αξιολογούνται ως τύπος Τριδυμικής Κεφαλαλγίας του ANΣ, για τις οποίες όμως απουσιάζει ένα από τα κριτήρια που πρέπει να πληρούνται για να ενταχθούν στους υποτύπους που αναφέρονται παραπάνω και δεν πληρούν όλα τα κριτήρια για μια άλλη διαταραχή κεφαλαλγίας.<sup>2</sup>

Οι ασθενείς μπορούν να χαρακτηρισθούν ως έχοντες:

- A) πιθανή αθροιστική κεφαλαλγία
- B) πιθανή παροξυσμική ημικρανία
- Γ) πιθανή βραχείας διάρκειας ετερόπλευρες κρίσεις νευραλγικόμορφης κεφαλαλγίας ή
- Δ) πιθανή συνεχή ημικρανία.

Αυτοί οι ασθενείς είτε δεν είχαν επαρκή αριθμό τυπικών κρίσεων, είτε είχαν, αλλά δεν πληρούσαν κάποιο από τα άλλα κριτήρια που απαιτούνται.<sup>2</sup>

Πίνακας 1.1 Χαρακτηριστικά των τριδυμικών κεφαλαλγιών του ΑΝΣ(May A. Cluster headache: pathogenesis, diagnosis, and management. Lancet. 2005;366(9488):843-855. doi:10.1016/S0140-6736(05)67217-0.)

| Χαρακτηριστικά                            | ΑΚ                  | Παροξυσμική Ημικρανία | SUNCT       | Συνεχής Ημικρανία           |
|---|---------------------|-----------------------|-------------|-----------------------------|
| Φύλο (Α:Θ)                                | 2.5:1               | 1:1                   | 2:1         | 1:2.8                       |
| Κρίσεις/ημέρα                             | 1-8                 | 1-40                  | 3-200       | Συνεχής                     |
| Διάρκεια κρίσεων                          | 15-180 min          | 2-30 min              | 1-600 sec   | Ώρες εως μέρες              |
| Ένταση πόνου                              | Πολύ σοβαρός        | Πολύ σοβαρός          | Σοβαρός     | Ποικίλει                    |
| Επιπολασμός                               | 0.1%                | 0.02-0.05%            | 0.05%       | Σπάνια                      |
| Ηλικία εκδήλωσης                          | 20-40               | 20-70                 | 35-65       | 35-50                       |
| Ανησυχία ή διέγερση                       | 90%                 | 80%                   | 65%         | Κατα τη διάρκεια παρόξυνσης |
| <b>Ανταπόκριση στη συμπτωματική αγωγή</b> |                     |                       |             |                             |
| Οξυγόνο                                   | 70%                 | 0%                    | 0%          | 0%                          |
| Σουματριπτάνη                             | 90%                 | 20%                   | 0%          | Περιστασιακά                |
| Προφυλακτική αγωγή                        | Βεραπαμίλη<br>Λίθιο | Ινδομεθακίνη          | Λαμοτριγίνη | Ινδομεθακίνη                |
| Ανταπόκριση στην ινδομεθακίνη             | ±                   | +                     | -           | +                           |
| Ρυθμικό μοτίβο κρίσης                     | +                   | ±                     | -           | -                           |
| Ασθενείς με αυθόρμητη ύφεση (%)           | 80                  | 20                    | Πλειονότητα | 15                          |

## 1.2 Αθροιστική Κεφαλαλγία (CH)

Η αθροιστική κεφαλαλγία αποτελεί την πιο κοινή μορφή TAC και θεωρείται μία από τις πιο σοβαρές και εξουθενωτικές παθήσεις άλγους στο ανθρώπινο είδος.<sup>1,4</sup> Μέχρι σήμερα, η παθοφυσιολογία της έχει γίνει μόνο μερικώς κατανοητή.<sup>5,6</sup> Με την πάροδο των χρόνων, χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι όροι για να τη χαρακτηρίσουν, όπως για παράδειγμα ερυθρομελαλγία της κεφαλής, ερυθροπροσωπαλγία κατά Bing, αγγειοπαραλυτική ημικρανία, νευραλγικόμορφη χρόνια ημικρανία, ισταμινική κεφαλαλγία, κεφαλαλγία Horton, Νόσος Harris-Horton, νευραλγία λιθοειδούς κατά Garden, νευραλγία Sluder.<sup>2</sup>

Τα συμπτώματα της αθροιστικής κεφαλαλγίας περιλαμβάνουν κρίσεις αποκλειστικά ετερόπλευρου, σοβαρού πόνου, που συνοδεύεται με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω συμπτώματα, τα οποία είναι πάντοτε ομόπλευρα με τον πόνο: εφίδρωση προσώπου και μετώπου, πτώση βλεφάρου, οίδημα βλεφάρου, μύση, δακρύρροια, ρινόρροια, ρινική συμφόρηση και ένεση επιπεφυκότος. Οι ασθενείς κατά τη διάρκεια των κρίσεων νιώθουν ανησυχία ή ευερεθιστότητα. Η εντόπιση του πόνου μπορεί να είναι κροταφική, κογχική, υπερκογχική ή σε οποιοδήποτε συνδυασμό των πιο πάνω περιοχών. Κατά τη διάρκεια των σοβαρότερων κρίσεων οι ασθενείς δε δύναται να παραμείνουν ξαπλωμένοι και συνήθως βαδίζουν εντός του δωματίου.<sup>2</sup>

Η διάρκεια των κρίσεων κυμαίνεται από 15 λεπτά μέχρι 3 ώρες, μια φορά μέρα παρά μέρα, έως 8 φορές τη μέρα. Οι αθροιστικές περιόδους, δηλαδή οι περιόδους κατά τη διάρκεια των οποίων συμβαίνουν οι κρίσεις, διαρκούν εβδομάδες ή μήνες και διακόπτονται από περιόδους ύφεσης, που μπορεί να διαρκέσουν μήνες ή έτη.<sup>2</sup> Ο όρος αθροιστική κεφαλαλγία προέρχεται από την τάση των κρίσεων να συναθροίζονται σε περιόδους που διαρκούν αρκετές εβδομάδες.<sup>3</sup>

Οι περισσότερες κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας είναι αυθόρμητες, μπορεί όμως να εκλυθούν με τη λήψη αλκοόλ, ειδικά κατά τη διάρκεια των αθροιστικών περιόδων. Πτητικές ουσίες όπως διαλύτες και βαφές με βάση το πετρέλαιο, νιτρογλυκερίνη (NTG), που δρουν ως δότες μονοξειδίου του αζώτου (NO) και η ισταμίνη μπορούν επίσης να προκαλέσουν κρίσεις. Έχει παρατηρηθεί μεγαλύτερη

συχνότητα κρίσεων κατά τη διάρκεια του ύπνου, ιδιαίτερα του πρώτου ύπνου REM.<sup>4</sup>

### 1.2.1 Μορφές Αθροιστικής Κεφαλαλγίας

#### 1.2.1.1 Επεισοδιακή Αθροιστική Κεφαλαλγία (ECH)

Οι αθροιστικές περιόδους στην επεισοδιακή αθροιστική κεφαλαλγία έχουν διάρκεια από 7 ημέρες μέχρι 1 χρόνο και διαχωρίζονται από διαστήματα ύφεσης με διάρκεια τουλάχιστον 3 μήνες. Συνήθως οι περιόδους εμφάνισης των κρίσεων κεφαλαλγίας (αθροιστικοί περίοδοι) διαρκούν από 2 εβδομάδες μέχρι 3 μήνες.<sup>2</sup>

#### 1.2.1.2 Χρόνια Αθροιστική Κεφαλαλγία (CCH)

Οι αθροιστικές περιόδους στην χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία έχουν διάρκεια μεγαλύτερη από 1 χρόνο χωρίς ύφεση ή με περιόδους ύφεσης με διάρκεια μικρότερη από 3 μήνες. Μερικοί ασθενείς μπορεί από την χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία να υποστούν μετάπτωση στην επεισοδιακή. Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν οι όροι πρωτοπαθής χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία ή δευτεροπαθής χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία για να χαρακτηρίσουν τις περιπτώσεις όπου η χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία αρχίζει de novo (εξ' αρχής) ή εξελίσσεται από την επεισοδιακή υποκατηγορία, αντίστοιχα.<sup>2</sup>

### 1.2.2 Επιπολασμός Αθροιστικής Κεφαλαλγίας

Νεώτερες επιδημιολογικές μελέτες καταδεικνύουν ότι η αθροιστική κεφαλαλγία είναι πιο κοινή από ότι είχε προηγουμένως θεωρηθεί.<sup>7</sup> Σύμφωνα με μία μετα-ανάλυση που έγινε με βάση 15 δημοσιευμένες πληθυσμιακές μελέτες μέχρι το 2007, η αθροιστική κεφαλαλγία εμφανίζει επιπολασμό κατά τη διάρκεια της ζωής (δηλαδή ο αριθμός των ατόμων σε καθορισμένο χρονικό διάστημα που εμφάνισαν την ασθένεια σε κάποια φάση της ζωής τους) 124 ανά 100 000 (0,12%), για ενήλικες όλων των ηλικιών και για τα δύο φύλα. Ο επιπολασμός ενός έτους εμφανίστηκε χαμηλότερος, με 53 ανά 100 000.<sup>8</sup>

Επίσης, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η αθροιστική κεφαλαλγία εμφανίζεται πιο συχνά στους άντρες σε σύγκριση με τις γυναίκες.<sup>8,9</sup> Η αναλογία άντρα προς γυναίκα βρέθηκε 4,3:1. Η αναλογία επεισοδιακής έναντι χρόνιας αθροιστικής κεφαλαλγίας, με υψηλότερη ανδρική υπεροχή όσον αφορά την επεισοδιακή σε σύγκριση με την χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία, βρέθηκε 6:1.<sup>8</sup>

### 1.2.3 Παθοφυσιολογία Αθροιστικής Κεφαλαλγίας

Η παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή.<sup>10</sup> Όλες οι θεωρίες που ερμηνεύουν την παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας πρέπει να δικαιολογούν τα τρία κύρια χαρακτηριστικά της, δηλαδή την κατανομή του πόνου στο τρίδυμο, τα ομόπλευρα κρανιακά συμπτώματα και το κίρκαδιακό - επεισοδιακό μοτίβο των κρίσεων.<sup>5,6</sup>

Αρχικά, κατά το μέσο του τελευταίου αιώνα, το κύριο αίτιο της αθροιστικής κεφαλαλγίας αποδιδόταν σε περιφερικούς ή αγγειακούς μηχανισμούς. Αυτοί οι μηχανισμοί όμως δεν μπορούσαν να δικαιολογήσουν επαρκώς τον πόνο, τα συμπτώματα από το ΑΝΣ και κυρίως την περιοδικότητα που χαρακτηρίζει τις κρίσεις, οδηγώντας στην υπόθεση της εμπλοκής του υποθαλάμου, θεωρία η οποία αργότερα υποστηρίχθηκε από τα αποτελέσματα αρκετών νευροενδοκρινολογικών μελετών.<sup>1,11</sup>

#### 1.2.3.1 Περιφερική Παθοφυσιολογία

Είχε συζητηθεί για αρκετά χρόνια κατα πόσον η πηγή του πόνου στην αθροιστική κεφαλαλγία ήταν περιφερικής ή κεντρικής προελεύσεως.<sup>7</sup> Το 1952, διάφορα κλινικά ευρήματα, όπως τα αυξημένα επίπεδα ισταμίνης στο αίμα αλλά και στα ούρα κατά τη διάρκεια των κρίσεων αθροιστικής κεφαλαλγίας και ο αυξημένος αριθμός ιστοκυττάρων στο δέρμα της κεφαλής των ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία κατά τη διάρκεια, ενδιάμεσα των αθροιστικών περιόδων αλλά και κατά τη διάρκεια της περιόδου ύφεσης, οδήγησαν τον Horton στο να προτείνει την ονομασία «ισταμινική κεφαλαλγία» για να χαρακτηρίσει την αθροιστική κεφαλαλγία, επειδή

σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, αλλεργικοί μηχανισμοί προκαλούσαν την πάθηση.<sup>1,12,13,14</sup>

Τη δεκαετία του '50 μέχρι και το 1988, η αθροιστική κεφαλαλγία ταξινομήθηκε μαζί με την ημικρανία στην κατηγορία των «αγγειακών κεφαλαλγιών».<sup>15</sup> Για την κατηγοριοποίηση αυτή, ο Horton επικαλέστηκε αλλαγές στα εξω- και ενδοκρανιακά αιμοφόρα αγγεία, γι' αυτό και αγγειοσυσταλτικά παράγωγα της ερυσιβώδους όλυρας χρησιμοποιήθηκαν για την θεραπευτική αντιμετώπιση των κεφαλαλγιών αυτών. Η εργοταμίνη ασκεί την αγγειοσυσταλτική της δράση μέσω δέσμησης των άλφα αδρενεργικών υποδοχέων του λείου μυός των εξωκρανιακών αιμοφόρων αγγείων. Τα αλκαλοειδή της ερυσιβώδους όλυρας εμποδίζουν επίσης την νευρογενετικά προκαλούμενη εξαγγείωση του πλάσματος, στο επίπεδο της σκληράς μήνιγγας.<sup>1</sup>

Στα τέλη της δεκαετίας του '80, μελέτες κατέδειξαν ότι στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο φλεγμονώδεις μηχανισμοί. Τα στεροειδή συνήθως είναι αποτελεσματικά, αν και μόνο για τη διακοπή της ενεργής φάσης της νόσου.<sup>4</sup> Ωστόσο, μία πιο πρόσφατη απεικόνιση SPECT / MRI δεν βρήκε καμία ένδειξη για εξαγγείωση της πρωτεΐνης του πλάσματος στο σηραγγώδη κόλπο ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία. Τα δεδομένα αυτά είναι σύμφωνα με την αντίληψη ότι ο πόνος στην ημικρανία και στην αθροιστική κεφαλαλγία είναι αυτός που προκαλεί αλλαγές στο μέγεθος των αγγείων και δεν ισχύει το αντίστροφο.<sup>1,4</sup>

Χειρουργική αλλοίωση του τρίδυμου νεύρου δεν σταματά πάντα τον πόνο στην αθροιστική κεφαλαλγία. Ο πόνος μπορεί να προκληθεί χωρίς να έχει προηγηθεί περιφερειακή ενεργοποίηση του τριδύμου, επομένως η περιφερειακή ενεργοποίηση του τριδύμου δεν είναι απαραίτητη για να προκληθεί ο πόνος. Επιπρόσθετα δεδομένα, υποδεικνύουν ότι ο πόνος στις τριδυμικές κεφαλαλγίες του αυτόνομου μπορεί να εμφανιστεί σε μη τριδυμικές περιοχές. Αυτά τα στοιχεία οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο ρόλος του τρίδυμου νεύρου στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας μπορεί να είναι δευτερεύων.<sup>1</sup>



---

### 1.2.3.2 Κεντρική Παθοφυσιολογία

Η ύπαρξη μιας κεντρικής συνιστώσας που έπαιζε σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας ισχυροποιήθηκε με την ανακάλυψη της ενεργοποίησης του υποθαλάμου κατά τη διάρκεια των κρίσεων. Η συμμετοχή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) στην παθοφυσιολογία της ασθένειας επιβεβαιώνεται από την κίρκαδιακότητα και την περιοδικότητα των κρίσεων, τις νευροενδοκρινικές διαταραχές καθώς και από τη στενή συσχέτιση του ύπνου με την έναρξη κρίσεων αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>16,17</sup>

Η υποθαλαμική εμπλοκή, οι αλλαγές στον ύπνο και στο ΑΝΣ και το αυτόνομο αντανακλαστικό του τριδύμου αποτελούν τρία βασικά στοιχεία για την παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>16</sup>

---

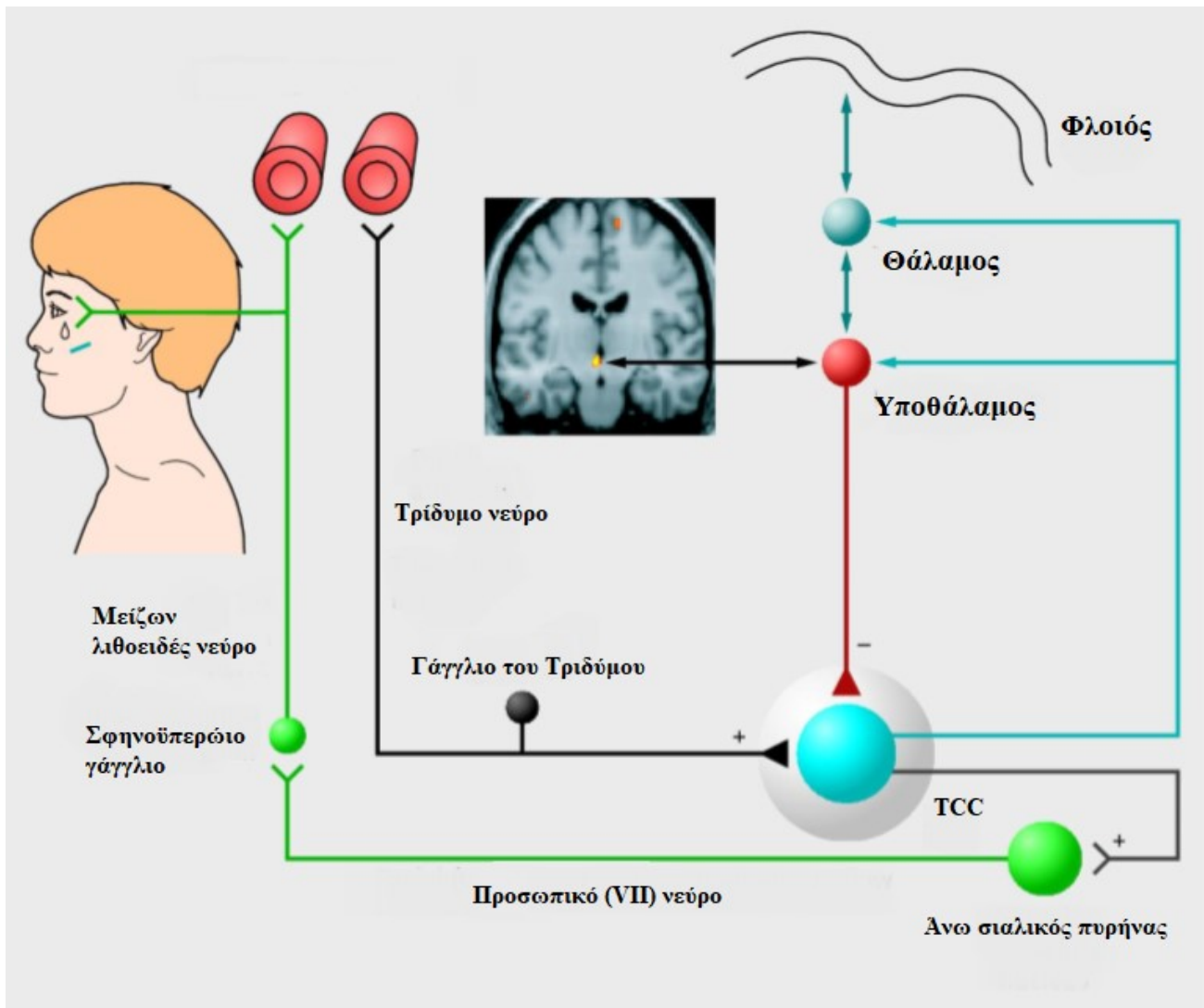
#### 1.2.3.2.1 Αυτόνομο αντανακλαστικό του Τριδύμου

Το πρόσωπο και ο θόλος του κρανίου εννευρώνονται από νευρικές απολήξεις που περιέχουν υποδοχείς του πόνου. Οι πληροφορίες αυτές μεταφέρονται μέσω του γάγγλιου του τριδύμου στο στέλεχος του εγκεφάλου, όπου οι νευρώνες του τριδύμου συνάπτονται στον τριδυμο-αυχενικό πυρήνα (trigemino-cervical complex-TCC) και από εκεί μεταφέρονται στον υποθάλαμο, το θάλαμο και το φλοιό, μέσω των οδών μεταγωγής του πόνου. Ταυτόχρονα ενεργοποιείται το κρανιακό παρασυμπαθητικό σύστημα μέσω του άνω σιαλικού πυρήνα (superior salivatory nucleus-SSN), από τα προσαγωγά σήματα του τριδύμου που φθάνουν στο TCC. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της πυροδότησης των παρασυμπαθητικών ινών από το προσωπικό νεύρο, όπου μέσω του σφηνοϋπερώιου γαγγλίου καταλήγουν στο μείζων λιθοειδές νεύρο και από εκεί στο πρόσωπο. Έτσι εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά συμπτώματα των κρίσεων αθροιστικής κεφαλαλγίας από το παρασυμπαθητικό, όπως η δακρύρροια και η ρινόρροια.<sup>3,18</sup> Η τριγεμνοαγγειακή και κρανιακή παρασυμπαθητική ενεργοποίηση υποστηρίζονται από ευρήματα αυξημένων συγκεντρώσεων ενός δείκτη ενεργοποίησης του τριδύμου, του πεπτιδίου που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (Calcitonin gene-related peptide-CGRP) και ενός δείκτη ενεργοποίησης του παρασυμπαθητικού, του

πεπτιδίου VIP (Vasoactive Intestinal Peptide) στο αίμα της σφαγίτιδας φλέβας στην πλευρά που εμφανίζεται η κρίση αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>16,19</sup> Απελευθέρωση του VIP από αυτά τα τερματικά του παρασυμπαθητικού προκαλεί περαιτέρω απελευθέρωση CGRP από το τρίδυμο νεύρο, ενισχύοντας έτσι το τριγεμινοαγγειακό αντανακλαστικό το οποίο είναι υπεύθυνο για τον πόνο και τα συμπτώματα από το παρασυμπαθητικό που παρατηρούνται στις κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>3</sup> (Εικόνα 1.2)

Η μύση και η πτώση του βλεφάρου που παρατηρούνται στις κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας δεν οφείλονται σε ενεργοποίηση του παρασυμπαθητικού, αλλά μάλλον προκύπτουν από μείωση της συμπαθητικής δραστηριότητας.<sup>16,19</sup>

Μία μειοψηφία ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία μπορεί να παρουσιάσει κρίσεις πόνου χωρίς να συνοδεύονται με συμπτώματα από το ANΣ ή συμπτώματα από το ANΣ χωρίς τη συνοδεία πόνου. Αυτό καταδεικνύει ότι δεν είναι απαραίτητο να εμφανίζονται ταυτόχρονα ο πόνος και το κρανιακά αυτόνομα συμπτώματα και ότι μπορεί να μην προκαλούνται αντανακλαστικά.<sup>16</sup>



Εικόνα 1.2 Τριγεμινοαγγειακό αντανακλαστικό (TCC: τριδυμο-αυχενικός πυρήνας) (Nesbitt AD, Goadsby PJ. Cluster headache. *Bmj*. 2012;344(apr11 1):e2407-e2407. doi:10.1136/bmj.e2407)

#### 1.2.3.2.2 Υποθάλαμος

Ολική ή μερική ενεργοποίηση της οπίσθιας υποθαλαμικής περιοχής στην αθροιστική κεφαλαλγία φαίνεται βέβαιη. Η λειτουργική νευροαπεικόνιση με τη χρήση τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων (PET) κατέδειξε την ενεργοποίηση του υποθαλάμου στην αθροιστική κεφαλαλγία. Ευρήματα αυξημένης κυτταρικής πυκνότητας στην ίδια περιοχή και υποθαλαμικής νευρωνικής δυσλειτουργίας, όπως

μετρήθηκαν με φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού, επιβεβαίωσαν την υποθαλαμική συμμετοχή. Επίσης, παρατηρήθηκε μειωμένη διαθεσιμότητα των υποδοχέων οπιοειδών στον υποθάλαμο και στον πρόσθιο κοιλικό φλοιό σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, ανάλογη με τη διάρκεια της νόσου.<sup>16</sup>

Η επικοινωνία μεταξύ του οπίσθιου υποθαλάμου και των πυρήνων του εγκεφαλικού στελέχους επιτυγχάνεται μέσω απευθείας αμφίδρομων συνδέσεων που αναφέρονται ως τριγεμινοϋποθαλαμική οδός. Οι φθίνουσες συνδέσεις, μερικές από τις οποίες είναι υποκρετινεργικές/ορεξινεργικές, θεωρείται ότι ρυθμίζουν την μεταγωγή του πόνου στον εγκέφαλο. Η υποκρετίνη Α, η οποία θεωρείται ότι μειώνει την ενεργοποίηση του τριδύμου, εν αντιθέσει με την υποκρετίνη Β η οποία έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την αυθόρμητη ενεργοποίηση στο τρίδυμο αυξάνοντας την ανταπόκριση σε επιβλαβή ερεθίσματα, έχει βρεθεί σε μειωμένα επίπεδα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία. Το σύστημα μεταγωγής σήματος μέσω των υποκρετινών, πιθανώς, αποτελεί σύνδεσμο μεταξύ της ενεργοποίησης του υποθαλάμου και της φθίνουσας μεταγωγής της αλγαισθησίας, των διαταραχών του ύπνου και των χρονοβιολογικών χαρακτηριστικών που παρατηρούνται στην αθροιστική κεφαλαλγία.<sup>16,19</sup>

Την εμπλοκή του υποθαλάμου στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας ενισχύουν νευροενδοκρινολογικές ανωμαλίες που παρατηρούνται σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία. Πιο συγκεκριμένα, έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στα επίπεδα κορτιζόλης, αυξητικής ορμόνης, θυρεοτροπίνης, προλακτίνης, μελατονίνης και γοναδοτροπινών. Από τις πιο αξιοσημείωτες ενδοκρινολογικές αλλαγές που εντοπίστηκαν σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία αποτελεί η μείωση των επιπέδων μελατονίνης και η άμβλυνση της νυκτερινής αύξησής τους. Η μελατονίνη χρησιμοποιείται ως προφυλακτική θεραπεία, ειδικά στην επεισοδιακή αθροιστική κεφαλαλγία. Μερικές από αυτές τις νευροενδοκρινικές αλλαγές παρατηρούνται μόνο κατά την αθροιστική περίοδο ενώ άλλες και κατά τη διάρκεια της ύφεσης. Αλλαγές παρατηρήθηκαν και στα επίπεδα της τεστοστερόνης, τα οποία εμφανίζονταν μειωμένα. Αυτό το εύρημα, όπως και τα χαμηλότερα επίπεδα

υποδοχένων οπιοειδών μπορεί να συμβάλλει στην ελάττωση της κατωφλικής ουδού του πόνου.<sup>12,16,19</sup>

Η κίρκαδιακότητα και η εποχικότητα που χαρακτηρίζει τις κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας σε συνδυασμό με την εναλλαγή υποτροπής-ύφεσης υποδεικνύουν το ρόλο ενός είδους βιολογικού ρολογιού. Οι κρίσεις συνήθως εμφανίζονται τη νύχτα, 1-3 ώρες μετά τον ύπνο. Αυτό παρατηρείται πιο έντονα σε ασθενείς με επεισοδιακή και όχι τόσο στην χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία. Ωστόσο, στην χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία η συσχέτιση με τον ύπνο χάνεται και η εμφάνιση των κρίσεων καθίσταται πιο απρόβλεπτη.<sup>16</sup>

Ενώ παλαιότερες παρατηρήσεις σε ασθενείς με επεισοδιακή αθροιστική κεφαλαλγία κατέδειξαν ότι οι κρίσεις συνέβαιναν κατά τη διάρκεια του ύπνου REM, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε σε ασθενείς με χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία, αυτό το πρότυπο δεν έχει επιβεβαιωθεί σε πιο πρόσφατες και μεγαλύτερες μελέτες. Γενικά, ο ύπνος των ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία είναι κατακερματισμένος και παρατηρείται αρκετά συχνά άπνοια.<sup>16</sup>

Όσον αφορά την εμφάνιση κρίσεων κατά τη διάρκεια του έτους, μερικές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι περισσότερες κρίσεις εμφανίζονται την άνοιξη και το φθινόπωρο, ενώ εμφανίζονται μειωμένες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού.<sup>16,20,21</sup>

Ενδείξεις για αυξημένη συστηματική ενεργοποίηση του παρασυμπαθητικού, όπως αλλαγές στο ΗΚΓ και βραδυκαρδία κατά τη διάρκεια αυθόρμητων και προκληθέντων κρίσεων έχουν βρεθεί από αρκετές μελέτες. Αυτή η διαταραχή στο παρασυμπαθητικό σύστημα διαφέρει από τα κρανιακά συμπτώματα του αυτόνομου που χαρακτηρίζουν τις κρίσεις ΑΚ.<sup>16,22,23,24,25</sup>

Αλλοίωση του οπίσθιου υποθάλαμου μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση της συστηματικής συμπαθητικής δραστηριότητας, ενώ η διέγερσή του σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία προκαλεί ενίσχυση του συμπαθητικού και βελτίωση της δομής και ποιότητας του ύπνου. Δεδομένης της εμπλοκής του υποκρετινεργικού συστήματος στον έλεγχο του αυτόνομου νευρικού συστήματος και των μειωμένων επιπέδων της υποκρετίνης στην αθροιστική κεφαλαλγία, περαιτέρω μελέτη αυτού

του συστήματος και της εμπλοκής του στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας καθίσταται εξέχουσας σημασίας.<sup>16</sup>

#### 1.2.4 Διάγνωση

Η αθροιστική κεφαλαλγία μπορεί να διαγνωσθεί κλινικά, σύμφωνα με την ICHD-3, εάν τουλάχιστον 5 κρίσεις πληρούν τα παρακάτω κριτήρια και οι κρίσεις δεν αποδίδονται καλύτερα σε άλλη διαταραχή:<sup>2</sup>

- A. Σοβαρό ή πολύ σοβαρό, ετερόπλευρο, κογχικό, υπερκογχικό και/ή κροταφικό άλγος, διάρκειας 15-180 λεπτών (όταν παραμείνουν χωρίς θεραπεία).
- B. Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω:
- (α) Τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα σημεία ή συμπτώματα, ομόπλευρα με την κεφαλαλγία:
- Ένεση επιπεφυκότα και/ ή δακρύρροια
  - Ρινική συμφόρηση και/ ή ρινόρροια
  - Οίδημα βλεφάρου
  - Εφίδρωση μετώπου και προσώπου
  - Μύση και/ ή πτώση βλεφάρου
- (β) Αίσθημα ανησυχίας ή ευερεθιστότητας.
- Γ. Οι κρίσεις έχουν συχνότητα από 1 φορά κάθε δεύτερη ημέρα ως 8 φορές την ημέρα.

Η διάγνωση της επεισοδιακής αθροιστικής κεφαλαλγίας γίνεται εάν τουλάχιστον 2 αθροιστικές περιόδους διαρκούν 7-365 ημέρες (όταν παραμείνουν χωρίς θεραπεία) και χωρίζονται μεταξύ τους από περιόδους χωρίς κρίσεις που διαρκούν τουλάχιστον 3 μήνες.<sup>2</sup>

Η διάγνωση της χρόνιας αθροιστικής κεφαλαλγίας γίνεται εάν οι κρίσεις διαρκούν περισσότερο από 1 έτος χωρίς ύφεση ή με περιόδους ύφεσης που διαρκούν λιγότερο από 3 μήνες.<sup>2</sup>

#### 1.2.5 Θεραπευτική Αντιμετώπιση

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της αθροιστικής κεφαλαλγίας αποσκοπεί στην άμεση συμπτωματική θεραπεία της οξείας κρίσης και στην προφυλακτική αγωγή με σκοπό την ελάττωση της συχνότητας και της σοβαρότητας των κρίσεων και βασίζεται σε εμπειρικά δεδομένα, επειδή η παθοφυσιολογία της ασθένειας δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή.<sup>26,27</sup> Εκπαίδευση των ασθενών σχετικά με τη φύση της διαταραχής και συμβουλές σχετικά με αλλαγές που θα μπορούσαν να κάνουν στον τρόπο ζωής, όπως για παράδειγμα να αποφεύγουν τη λήψη αλκοόλ κατά τη διάρκεια μιας ενεργής αθροιστικής περιόδου, είναι επίσης πρακτικές που βοηθούν στη βελτίωση των συμπτωμάτων του ασθενούς.<sup>26</sup> (Πίνακας 1.2)

Παρόλο που οι περισσότεροι ασθενείς ανταποκρίνονται στη φαρμακευτική αγωγή, ορισμένοι δεν ανταποκρίνονται στις προτεινόμενες θεραπείες. Στους ανθεκτικούς στη φαρμακευτική αγωγή ασθενείς με χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία, προτείνεται χειρουργική θεραπεία, τα αποτελέσματα της οποίας όμως είναι διφορούμενα.<sup>28</sup> Επίσης, η νευροδιέγερση θα μπορούσε να αποτελέσει θεραπευτική επιλογή σε επιλεγμένους, ανθεκτικούς στη φαρμακοθεραπεία, ασθενείς.<sup>26</sup>

##### 1.2.5.1 Συμπτωματική Αγωγή – Θεραπευτική Αντιμετώπιση Οξείας Κρίσης

Η συμπτωματική αγωγή στοχεύει στην άμεση ανακούφιση από τον πόνο. Δεδομένης της σοβαρότητας του πόνου στην αθροιστική κεφαλαλγία, η θεραπεία έχει ως πρωταρχικό σκοπό την αντιμετώπιση των μεμονωμένων κρίσεων.<sup>29</sup>

Λόγω της συχνά ταχείας επιδείνωσης του πόνου, οι φαρμακευτικές ουσίες πρέπει να χορηγηθούν παρεντερικώς για πιο άμεση, αποτελεσματική και ταχεία ρύθμιση του πόνου. Γι' αυτό το λόγο, η από του στόματος (per os) θεραπεία δεν είναι τόσο αποτελεσματική όσο είναι για τη θεραπεία της ημικρανίας.<sup>26,28</sup>

Η υποδόρια χορήγηση σουματριπτάνης και/ή χορήγηση 100% οξυγόνου αποτελούν θεραπεία πρώτης γραμμής για αντιμετώπιση οξέων κρίσεων αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>27</sup>

---

#### 1.2.5.1.1 Τριπτάνες

Οι τριπτάνες αποτελούν τη βάση για την αντιμετώπιση της αθροιστικής κεφαλαλγίας. Χορήγηση σουματριπτάνης υπο μορφή υποδόριας ένεσης είναι το φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία της αθροιστικής κεφαλαλγίας. Εάν η υποδόρια ένεση είναι ακατάλληλη, εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί ρινικό εκνέφωμα σουματριπτάνης ή ρινικό εκνέφωμα ζολμιτριπτάνης.<sup>26,30</sup>

Οι τριπτάνες εμποδίζουν την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, δρώντας προσυναπτικά ως άμεσοι αγωνιστές στους 5-HT<sub>1D</sub> υποδοχείς στις νευρικές απολήξεις του τριδύμου. Επιπλέον, προκαλούν αγγειοσυστολή στις μικρού και μεσαίου μεγέθους αρτηρίες, όπως αυτές που τροφοδοτούν τον εγκεφαλικό φλοιό, αλλά και σε άλλες περιοχές συμπεριλαμβανομένης της στεφανιαίας αρτηρίας, δρώντας μετασυναπτικά στους 5-HT<sub>1B</sub> υποδοχείς στα αιμοφόρα αγγεία.<sup>4,10,31</sup>

Η σουματριπτάνη χορηγούμενη υποδοριώς έχει ταχεία έναρξη δράσης και είναι αποτελεσματική και καλά ανεκτή για την πλειονότητα των ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία, επιτυγχάνοντας είτε μερική ανακούφιση από τον πόνο είτε πλήρη ύφεση της κεφαλαλγίας εντός 15 λεπτών από την ένεση. Η συνιστώμενη δόση για ενήλικες είναι 6 mg. Ενδοφλέβια ένεση σουματριπτάνης αντενδείκνυται καθώς μπορεί να προκαλέσει στεφανιαίο αγγειόσπασμο και στηθάγχη. Χορηγούμενη ενδορρινικώς, η σουματριπτάνη είναι λιγότερο αποτελεσματική και έχει βραδύτερη έναρξη δράσης. Η συνιστώμενη δόση για ενήλικες 18-65 ετών είναι 10-20 mg σε ένα ρουθούνι. Σημαντική αντένδειξη της σουματριπτάνης είναι η συνύπαρξη στεφανιαίας ή εγκεφαλοαγγειακής νόσου.<sup>4,26</sup> Λόγω της υδρόφιλης φύσης της τριπτάνης, θεωρείται ότι δεν μπορεί να διαπεράσει εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (ΑΕΦ). Η επιστημονική κοινότητα έχει απασχοληθεί αρκετά για το κατά πόσον είναι απαραίτητο για μια τριπτάνη να περάσει τον ΑΕΦ ώστε να είναι αποτελεσματική. Μία πιθανή θεωρία αποτελεί το ότι κατά τη διάρκεια των



κρίσεων πιθανόν ο ΑΕΦ να διαρρηγνύεται, χωρίς να υπάρχει μέχρι στιγμής κάποια σαφής ένδειξη γι' αυτό.<sup>30,32</sup>

Η ζολμιτριπτάνη χορηγούμενη ενδορρινικώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπτωματική θεραπεία, παρουσιάζοντας συγκρίσιμη αποτελεσματικότητα με αυτή της ενδορρινικής σουματριπτάνης, σε αντίθεση με την per os ζολμιτριπτάνη η οποία εμφανίζει περιορισμένη αποτελεσματικότητα για το σκοπό αυτό. Συνιστώμενη δόση για ενήλικες είναι 5 mg στο ένα ρουθούνι. Αντενδείκνυται σε ασθενείς με ιστορικό καρδιαγγειακών ή εγκεφαλικών συνοσηροτήτων.<sup>4,26,30</sup>

---

#### 1.2.5.1.2 Οξυγόνο

100% οξυγόνο, με ρυθμό 10-15 λίτρων/λεπτό για 10-20 λεπτά, συνιστά μία αποτελεσματική συμπτωματική θεραπεία στην πλειοψηφία των ασθενών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια στα άτομα που παρουσιάζουν υψηλό αγγειακό κίνδυνο, για τους οποίους η χρήση τριπτανών αντενδείκνυται λόγω συνοδών νόσων.<sup>30</sup> Ωστόσο, εξαιτίας του κινδύνου αναπνευστικής καταστολής θα πρέπει να χορηγείται με προσοχή και να αποφεύγεται σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Ο βέλτιστος ρυθμός ροής του οξυγόνου θα πρέπει να εξατομικεύεται για κάθε ασθενή. Η δυσκολία χρήσης της οξυγονοθεραπείας, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις όπου ο ασθενής είναι εκτός σπιτιού, αποτελεί το κύριο μειονέκτημα αυτής της θεραπείας.<sup>4,26</sup>

Ο μηχανισμός δράσης του οξυγόνου αρχικά αποδόθηκε στις αγγειοσυσταλτικές του ιδιότητες. Αργότερα, πειράματα σε αρουραίους έδειξαν ότι η υπεροξία ανέστειλε την εξαγγείωση της πρωτεΐνης του πλάσματος που προκλήθηκε από ηλεκτρική διέγερση του γαγγλίου του τριδύμου. Πιο πρόσφατα επικράτησε η θεωρία ότι η δράση του οξυγόνου οφείλεται στην ικανότητά του να μειώνει την ενεργοποίηση του αυτόνομου κρανιακού μονοπατιού, αποτέλεσμα του οποίου είναι η εμφάνιση των συμπτωμάτων από το παρασυμπαθητικό, η οποία ερχόταν σε αντιδιαστολή με την κακή θεραπευτική αποτελεσματικότητά του σε άλλα ΤΑC. Η θεραπευτική δράση του οξυγόνου στην αθροιστική κεφαλαλγία οφείλεται μάλλον στο συνδυασμό της μείωσης της παρασυμπαθητικής εκροής και στον έλεγχο της νευρογενούς

φλεγμονής που προκαλείται από την ενεργοποίηση του τριγεμνοαγγειακού αντανακλαστικού.<sup>4,26</sup>

---

#### 1.2.5.1.3 Εργοταμίνη και Διυδροεργοταμίνη

Η δράση των εργοταμινών στην αθροιστική κεφαλαλγία οφείλεται στην ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με τους 5-HT υποδοχείς, όπως και οι τριπτάνες. Λόγω των πιθανών σοβαρών ΑΕ που οφείλονται στην αλληλεπίδρασή τους και με άλλους υποδοχείς και κυρίως λόγω της α-αδρενεργικής αγγειοσυσταλτικής τους δράσης, η χρήση τους έχει περιοριστεί. Οι εργοταμίνες αντενδείκνυνται επίσης σε ασθενείς με στεφανιαία, εγκεφαλική ή περιφερική αγγειακή νόσο.<sup>4</sup>

---

#### 1.2.5.1.4 Λιδοκαΐνη

Η θεραπευτική αποτελεσματικότητα της τοπικής λιδοκαΐνης στην αντιμετώπιση οξέων κρίσεων αθροιστικής κεφαλαλγίας αξιολογήθηκε από μια σειρά μελετών. Λιδοκαΐνη 4-10% χορηγούμενη ενδορρινικώς, στο ρουθούνι που είναι ομόπλευρο με τον πόνο, εμφανίζει μέτρια αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση οξείας κρίσης αθροιστικής κεφαλαλγίας, γι' αυτό το λόγο η χρήση της ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την ένδειξη αυτή δεν ενδείκνυται.<sup>4,26,28</sup> Ο μηχανισμός θεραπευτικής δράσης τη λιδοκαΐνης είναι μέσω αποκλεισμού της αγωγιμότητας στην περιοχή του σφηνούπερώιου γαγγλίου.<sup>4</sup>

Κατά την εφαρμογή της, ο ασθενής πρέπει να βρίσκεται σε ύπτια θέση, με το κεφάλι σε κλίση κατά 45° και σε στροφή κατά 30-40° προς την πλευρά του πόνου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματική θεραπεία σε ασθενείς οι οποίοι δεν ανταποκρίνονται πλήρως σε άλλες, πιο αποτελεσματικές θεραπείες.<sup>4,26,28</sup>

---

#### 1.2.5.1.5 Σωματοστατίνη και Οκτρεοτίδη

Η σωματοστατίνη και η οκτρεοτίδη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συμπτωματική αγωγή σε ασθενείς με υψηλό αγγειακό κίνδυνο, ως εναλλακτική θεραπευτική επιλογή δεδομένης της έλλειψης αγγειοσυσπαστικών δράσεων αυτών των φαρμάκων. Η δράση τους είναι ικανοποιητική αν και όχι εξίσου αποτελεσματική

όσο η υποδόρια σουματριπτάνη. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η υπεργλυκαιμία, η ναυτία, ο κοιλιακός πόνος, η διάρροια και ο μετεωρισμός.<sup>4</sup>

---

#### 1.2.5.2 Προφυλακτική Αγωγή

Σκοπός της προφυλακτικής αγωγής είναι η ταχεία αντιμετώπιση των κρίσεων και η λύση των ενεργών αθροιστικών περιόδων όπως επίσης η μείωση της συχνότητας, της έντασης και της διάρκειας των κρίσεων. Μειονέκτημά της αποτελεί η συχνά καθυστερημένη έναρξη δράσης και η σταδιακή τιτλοδότηση μέχρι να επιτυχθεί η αποτελεσματικότερη δοσολογία. Μέχρι η προφυλακτική αγωγή να καταστεί αποτελεσματική, χορηγείται η μεταβατική αγωγή η οποία αποσκοπεί στη διακοπή των κρίσεων πόνου και στη διατήρηση της ανακούφισης.<sup>4</sup>

---

#### 1.2.5.2.1 Βεραπαμίλη

Ο αναστολέας διαύλων ασβεστίου βεραπαμίλη αποτελεί φάρμακο πρώτης γραμμής για την προφυλακτική θεραπεία αθροιστικής κεφαλαλγίας λόγω της αποτελεσματικότητάς, της σχετικής ασφάλειας του και της ικανότητας συγχορήγησης του με άλλες συμπτωματικές και προφυλακτικές θεραπείες χωρίς την εμφάνιση αλληλεπιδράσεων, σε σύγκριση με άλλα φάρμακα προφυλακτικής αγωγής.<sup>26</sup> Μέσω εμπειρικών και κλινικών μελετών, χρησιμοποιείται off-label για την προφυλακτική θεραπεία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>27</sup> Το δοσολογικό σχήμα χορήγησης της βεραπαμίλης για την αθροιστική κεφαλαλγία κυμαίνεται από 240 mg έως 960 mg ημερησίως σε διαιρεμένες δόσεις.<sup>33</sup> Παρακολούθηση του ΗΚΓ είναι απαραίτητη κατά τη διάρκεια της θεραπείας με βεραπαμίλη, εξαιτίας του κινδύνου βραδυκαρδίας και καρδιακής ανακοπής.<sup>26</sup>

Η βεραπαμίλη επιδρά ελάχιστα στα αγγεία και προκαλεί μικρότερες μεταβολές στην ροή του αίματος στον εγκέφαλο σε σύγκριση με άλλους ανταγωνιστές ασβεστίου. Η αποτελεσματικότητα της βεραπαμίλης στη θεραπεία της αθροιστικής κεφαλαλγίας δεν οφείλεται στη δράση της επί των αγγείων, αλλά σε άλλους μηχανισμούς, όπως η ρύθμιση της δραστηριότητας κεντρικών νευρώνων και εμπλοκή στο μονοπάτι μεταγωγής του πόνου.<sup>4</sup>

---

#### 1.2.5.2.2 Λίθιο

Το ανθρακικό λίθιο αποτελεί φάρμακο δεύτερης γραμμής για την μακροπρόθεσμη προφυλακτική θεραπείας της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>26</sup> Λόγω του μικρού θεραπευτικού εύρους και των συχνών ανεπιθύμητων ενεργειών, η χορήγηση του λιθίου απαιτεί πολύ στενή παρακολούθηση. Έλεγχος της νεφρικής και θυροειδικής λειτουργίας πριν την έναρξη και σε τακτική βάση κατά τη διάρκεια της θεραπείας με λίθιο είναι απαραίτητος.<sup>27</sup> Τα επίπεδα λιθίου πρέπει επίσης να παρακολουθούνται για την αποφυγή τοξικότητας.<sup>29</sup> Όπως και στη διπολική διαταραχή, ο μηχανισμός δράσης του λιθίου στην αθροιστική κεφαλαλγία δεν έχει αποσαφηνιστεί.<sup>4</sup>

---

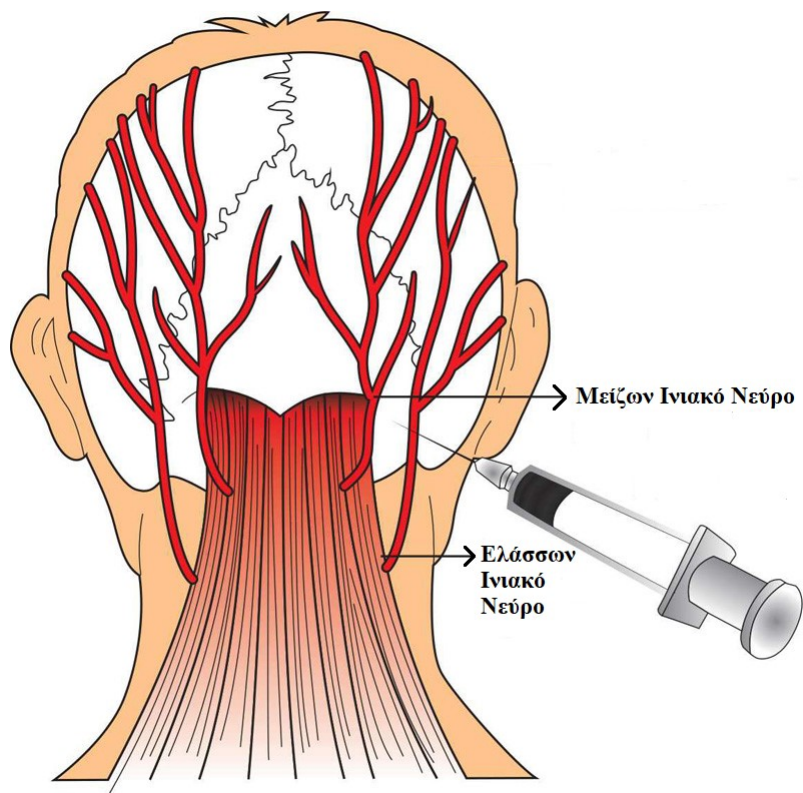
#### 1.2.5.2.3 Άλλα Φάρμακα

Στους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στις συνήθεις θεραπείες ή που αντενδείκνυται η συνήθης φαρμακοθεραπεία λόγω αλληλεπιδράσεων με συγχορηγούμενα για άλλες ασθένειες φάρμακα, μπορούν να χορηγηθούν ως προφυλακτική αγωγή μεθυλσεργίδιο, τοπιραμάτη, βαλπροϊκό οξύ, τρυγική εργοταμίνη, μελατονίνη, μπακλοφέν, γκαπαπεντίνη, κλονιδίνη, καψαϊκίνη και βοτουλινική τοξίνη, χωρίς όμως να υπάρχουν επαρκή στοιχεία για τη δραστηριότητα ή την αποτελεσματικότητά τους.<sup>15,28</sup>

---

#### 1.2.5.3 Μεταβατική Αγωγή

Οι διαθέσιμες επί του παρόντος συμπτωματικές θεραπείες δεν μπορούν να λαμβάνονται συνεχώς και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι προφυλακτικές θεραπείες απαιτούν διάστημα τουλάχιστον 2 εβδομάδων για να δράσουν, στην κλινική πράξη χρησιμοποιούνται κάποια φάρμακα ως συμπληρωματική θεραπεία για βραχυπρόθεσμη ανακούφιση από τον πόνο, όπως τα κορτικοστεροειδή ή αποκλεισμός του μείζονος ινιακού νεύρου (GON).<sup>27</sup> (Εικόνα 1.3) Τα περισσότερα από αυτά δε δύναται να χρησιμοποιηθούν μακροπρόθεσμα χωρίς κάποιο κίνδυνο σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών.<sup>29</sup>



Εικόνα 1.3 Αποκλεισμός μείζονος ινιακού νεύρου (GON) (<https://aneskey.com/occipital-nerve-block/>)

#### 1.2.5.3.1 Κορτικοστεροειδή

Τα κορτικοστεροειδή βελτιώνουν τα επίπεδα μελατονίνης, τα οποία εμφανίζονται μειωμένα σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, και μειώνουν τα επίπεδα των CGRP στο πλάσμα κατά τη διάρκεια μιας αθροιστικής περιόδου. Τα κορτικοστεροειδή φαίνεται δηλαδή να επιδρούν στην υποθαλαμική δυσλειτουργία και στην ενεργοποίηση του τριδύμου, αντίστοιχα.<sup>34</sup>

Ο μηχανισμός δράσης των κορτικοστεροειδών για την αντιμετώπιση του πόνου στην αθροιστική κεφαλαλγία ίσως οφείλεται στις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους και στην ικανότητά τους να καταστέλλουν τις κρίσεις, υποδεικνύοντας την εμπλοκή φλεγμονής και ανοσολογικών διεργασιών σε κάποιο στάδιο στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>35</sup> Έχει προταθεί ότι ο πόνος στην αθροιστική κεφαλαλγία ίσως οφείλεται σε φλεγμονή στο σηραγγώδη κόλπο.<sup>34</sup>

Το NO θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας δεδομένου ότι μπορεί να προκαλέσει κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας και τα επίπεδά του εμφανίζονται αυξημένα κατά την έναρξη κρίσης. Το NO ασκεί ήπια διασταλτική δράση στα εγκεφαλικά αρτηρίδια που ρυθμίζουν τη ροή του αίματος και την αρτηριακή πίεση. Επίσης, το NO φαίνεται να διεγείρει τις οδούς του πόνου στον νωτιαίο μυελό, κυρίως μέσω της ενεργοποίησης της nNOS, και ασκεί ρυθμιστική δράση στον νωτιαίο πυρήνα του τριδύμου.<sup>36,37</sup> Τα κορτικοστεροειδή δρουν μέσω αναστολής της δραστηριότητας της nNOS και κατ' επέκταση, ελαττώνοντας την παραγωγή του αγγειοδιασταλτικού παράγοντα NO.<sup>38</sup>

Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητός, αποκλεισμός του μείζονος ινιακού νεύρου με τη χρήση κορτικοστεροειδών όπως τριαμκινολόνη και βηταμεθαζόνη σε συνδυασμό με τοπικά αναισθητικά όπως λιδοκαΐνη ή με χρήση μόνο κορτικοστεροειδών όπως κορτιβαζόλη και μεθυλπρεδνιζολόνη έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία.<sup>4</sup> Προτείνεται η ταυτόχρονη χορήγηση και κάποιου άλλου προφυλακτικού παράγοντα καθώς όταν η δόση του κορτικοστεροειδούς μειώνεται, επανεμφανίζονται οι κρίσεις.<sup>29</sup> Μακροπρόθεσμη θεραπεία της αθροιστικής κεφαλαλγίας με χρήση κορτικοστεροειδών δεν ενδείκνυται λόγω του υψηλού κινδύνου εξάρτησης και ανεπιθύμητων ενεργειών.<sup>27</sup>

---

#### 1.2.5.3.2 Διυδροεργοταμίνη

Η διυδροεργοταμίνη, εκτός από συμπτωματική αγωγή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως μεταβατική αγωγή. Χορήγησή της πριν τον ύπνο μπορεί να αποτρέψει τις κρίσεις που εμφανίζονται κατά τη διάρκειά του. Λόγω της αγγειοσυσπαστικής της δράσης, είναι πιθανή η αλληλεπίδραση με άλλα φάρμακα.<sup>26,29</sup>

Πίνακας 1.2 Σύνοψη συμπτωματικής και προφυλακτικής θεραπευτικής αγωγής για την αθροιστική κεφαλαλγία (Tfelt-Hansen PC, Jensen RH. *Management of Cluster Headache. CNS Drugs. 2012;26(7):571-580. doi:10.2165/11632850-000000000-00000.*)

| <b>ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ</b>                 |  |
|---|--|
| <b>100% Οξυγόνο (15 L/min)</b>            | Αποτελεσματικό                         |
| <b>Υποδόρια σουματριπτάνη (6 mg)</b>      | Αποτελεσματικό                         |
| <b>Ενδορινική σουματριπτάνη (20 mg)</b>   | Αποτελεσματικό                         |
| <b>Ενδορινική ζολμιτριπτάνη (5-10 mg)</b> | Αποτελεσματικό- Πιθανώς αποτελεσματικό |
| <b>Ενδορινική λιδοκαΐνη (1ml 4-10%)</b>   | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>Υποδόρια οκτρεοτίδη (100mg)</b>        | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ</b>                 |  |
| <b>Βεραπαμίλη (200-900 mg per os)</b>     | Αποτελεσματικό                         |
| <b>Κορτικοστεροΐδή</b>                    | Αποτελεσματικό                         |
| <b>Λίθιο (600-900 mg per os)</b>          | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>Μεθυλσεργίδιο</b>                      | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>Τοπιραμάτη(50-200 mg per os)</b>       | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>Εργοταμίνη</b>                         | Πιθανώς αποτελεσματικό                 |
| <b>Βαλπροϊκό οξύ (500-2000 mg per os)</b> | Ενδεχομένως αποτελεσματικό             |
| <b>Μελατονίνη (10mg per os)</b>           | Ενδεχομένως αποτελεσματικό             |
| <b>Μπακλοφέν(15-30 mg per os)</b>         | Ενδεχομένως αποτελεσματικό             |

#### 1.2.5.4 Εναλλακτικές Θεραπείες

Περίπου το 1-2% τον ασθενών με χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία δεν ανταποκρίνονται σε καμία φαρμακευτική αγωγή. Σε αυτούς τους ασθενείς μπορούν να εφαρμοστούν εναλλακτικές στρατηγικές θεραπείας όπως νευροτροποποίηση με εφαρμογή κλασσικής ραδιοσυχνότητας στο σφηνοϋπερώιο γάγγλιο ή διέγερση του ινιακού νεύρου με υποδόρια ηλεκτρόδια στην ινιακή χώρα και υποδορίως εμφυτευμένα γεννήτρια.<sup>27,39</sup>

### 1.3 Αθροιστική Κεφαλαλγία και Γενετική

Η αθροιστική κεφαλαλγία, εμφανίζεται ως μια αυτοσωμική επικρατής κληρονομική διαταραχή σε ορισμένες οικογένειες, ενώ άλλα δεδομένα υποδεικνύουν ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο ή πολυπαραγοντικό πρότυπο κληρονομικότητας<sup>7</sup>

Σύμφωνα με τους Waldenlind et al, οι συγγενείς πρώτου βαθμού, συγκρινόμενοι με τον γενικό πληθυσμό, έχουν 5-18 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν την ασθένεια, ενώ για τους συγγενείς δευτέρου βαθμού ο κίνδυνος εμφάνισης της ασθένειας μειώνεται στις 1-3 φορές.<sup>12</sup>

Ο κληρονομικός χαρακτήρας της αθροιστικής κεφαλαλγίας επιβεβαιώθηκε από ευρήματα σε μονοζυγωτικά δίδυμα και από τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της πάθησης σε συγγενείς πρώτου και δεύτερου βαθμού συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό.<sup>10</sup>

Αρκετά γονίδια μελετήθηκαν για το ρόλο που μπορεί να διαδραματίζουν στην εμφάνιση της ασθένειας. Δεδομένης της εξαιρετικά παροξυσμικής φύσης της αθροιστικής κεφαλαλγίας, το γονίδιο που κωδικοποιεί το κανάλι ιόντων ασβεστίου CACNA1A, το οποίο αναφέρεται ότι εμπλέκεται σε παροξυσμικές διαταραχές, αποτέλεσε υποψήφιο γονίδιο μελέτης σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, χωρίς ωστόσο κάποιο αποτέλεσμα. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις συνθάσες του οξειδίου του αζώτου (NOS) μελετήθηκαν επίσης σε άτομα με αθροιστική κεφαλαλγία, λόγω της εμπλοκής του NO στην παθοφυσιολογία των νευραγγειακών πονοκεφάλων, επίσης χωρίς κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Επιπλέον, λόγω του κερκαδιακού ρυθμικού μοτίβου των κρίσεων στην αθροιστική κεφαλαλγία, ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων που εμπλέκονται στον κερκαδιακό ρυθμό έχουν μελετηθεί αλλά και πάλι δεν εντοπίστηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων.<sup>10,7,12</sup>

Ένα αρκετά υποσχόμενο γονίδιο, το *HCRTR2*, το οποίο κωδικοποιεί τον υποδοχέα υποκρετίνης/ορεξίνης τύπου 2 έχει αποδειχθεί, σύμφωνα με αρκετές μελέτες, ότι πιθανώς συμβάλλει στην προδιάθεση εμφάνισης αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>10,7,12</sup>



### 1.3.1 Το γονίδιο του υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2 (HCRTR2)

#### 1.3.1.1 Υποκρετίνη / Ορεξίνη

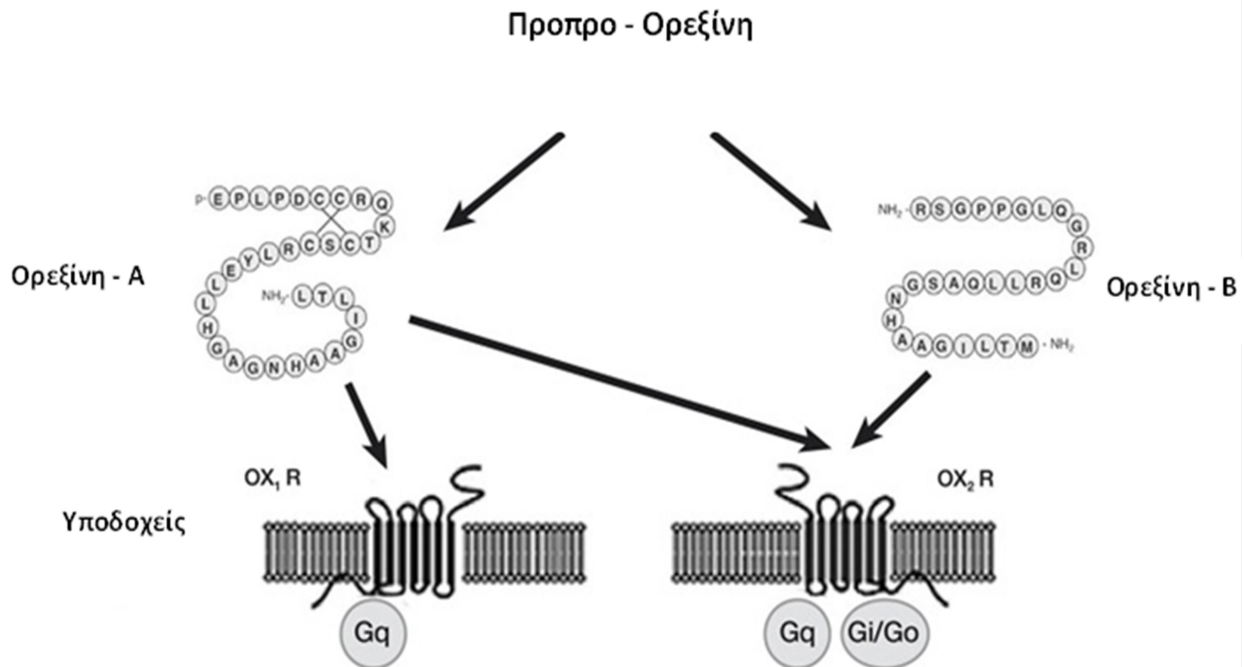
Η υποκρετίνη 1 και 2, γνωστές και ως ορεξίνη A και ορεξίνη B αντίστοιχα, ανακαλύφθηκαν το 1998 από δύο διαφορετικά εργαστήρια, αυτό του De Lecea και αυτό του Sakurai.<sup>40</sup>

Είναι υποθαλαμικά διεγερτικά νευροπεπτίδια που παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού, όπως τον κύκλο ύπνου/αφύπνισης, τη διατροφική συμπεριφορά, τη ρύθμιση του μεταβολισμού, τη θερμορύθμιση, την αυθόρμητη σωματική δραστηριότητα (SPA) και τις καρδιαγγειακές αποκρίσεις. Επίσης, σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες, πιστεύεται ότι οι υποκρετίνες εμπλέκονται στην αναλγησία, στην αντίδραση στο στρες, στο μηχανισμό επιβράβευσης, στον εθισμό, στη ρύθμιση της διάθεσης και της συναισθηματικής κατάστασης, στη διατήρηση της ενεργειακής ομοιόστασης, χωρίς όμως να είναι πλήρως κατανοητός ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο δρουν σε αυτά τα μονοπάτια.<sup>41,42</sup>

Ο όρος «υποκρετίνη» προήλθε από την υποθαλαμική εντόπιση αυτών των νευροπεπτιδίων και την δομική τους ομοιότητα με την οικογένεια πεπτιδίων «ινκρετίνες». Λόγω της πρώτης δράσης που αποδόθηκε στα πεπτίδια αυτά, δηλαδή τη ρύθμιση της όρεξης, χαρακτηρίστηκαν επίσης ως ορεξίνες.<sup>40,43</sup>

Οι δύο υποκρετίνες προέρχονται από την πρωτεολυτική διάσπαση ενός κοινού πρόδρομου πεπτιδίου 130 αμινοξέων, την προπρο-ορεξίνη (PPO), το οποίο κωδικοποιείται από ένα γονίδιο, που στον άνθρωπο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 (17q21). Και τα δύο πεπτίδια υποκρετίνης υφίστανται μετάμεταφραστική τροποποίηση μετά την πρωτεολυτική διάσπαση, με την προσθήκη N-τελικής πυρογλουταμιλικής κυκλοποίησης και C-τελικής αμιδίωσης για την υποκρετίνη A ενώ η υποκρετίνη B υφίσταται μόνο C-τελική αμιδίωση. Το ώριμο νευροπεπτίδιο υποκρετίνης A αποτελείται από 33 κατάλοιπα ενώ η ώριμη υποκρετίνη B από 28 κατάλοιπα με 2 α-έλικες συνδεδεμένες με ένα εύκαμπτο βρόγχο. Απαραίτητα στοιχεία για τη λειτουργική δραστηριότητα της υποκρετίνης A είναι οι 2

δισουλφιδικές γέφυρες, Cys6-Cys12 και Cys7-Cys13 καθώς και τα 19 C-τελικά κατάλοιπα. (Εικόνα 1.4) Τα δύο νευροπεπτίδια είναι 46% ομόλογα και ενώ η αλληλουχία της υποκρετίνης A διατηρείται πλήρως στα ποντίκια, στους χοίρους, στις αγελάδες και στους ανθρώπους, η υποκρετίνη B παρουσιάζει μία μικρή παραλλαγή μεταξύ των ειδών.<sup>44</sup>

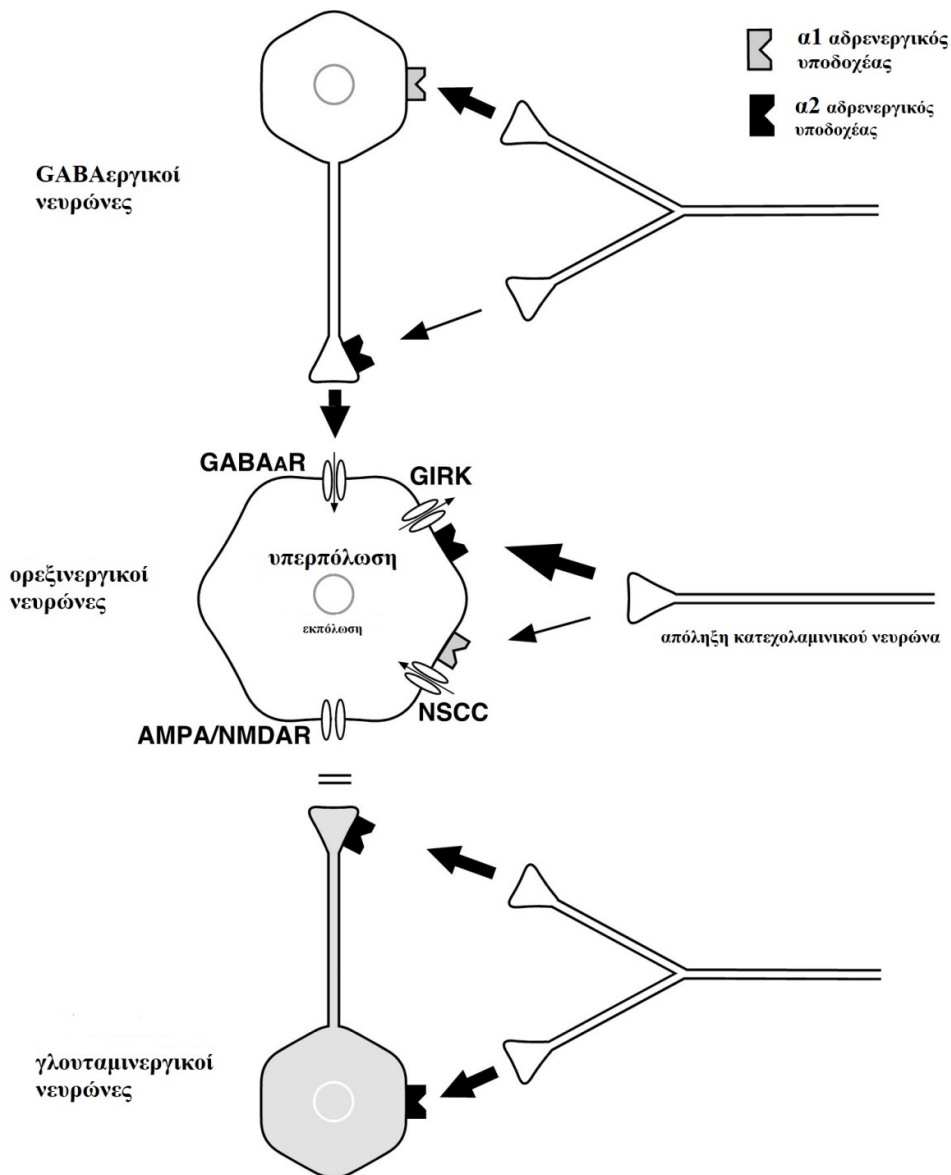


Εικόνα 1.4 Σχηματική αναπαράσταση ορεξινεργικού συστήματος (OX<sub>1</sub>R: ορεξινεργικός υποδοχέας τύπου 1, OX<sub>2</sub>R: ορεξινεργικός υποδοχέας τύπου 2)(Holland P, Goadsby PJ. The hypothalamic orexinergic system: pain and primary headaches. *Headache*. 2007;47(6):951-962. doi:10.1111/j.1526-4610.2007.00842.x.)

### 1.3.1.2 Υποκρετινερικοί/ Ορεξινεργικοί νευρώνες

Η ρύθμιση της δράσης των υποκρετινεργικών νευρώνων επιτελείται μέσω αρκετών νευροδιαβιαστών και νευρορυθμιστών. Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) που αποτελεί τον κύριο ανασταλτικό νευροδιαβιαστή στο ΚΝΣ και η σεροτονίνη φαίνεται να αναστέλλουν τη δραστηριότητα των νευρώνων της υποκρετινής σε αντίθεση με το γλουταμινικό οξύ, τον κύριο διεγερτικό νευροδιαβιαστή του ΚΝΣ, το οποίο διεγείρει τη δράση των υποκρετινεργικών νευρώνων. Επίσης, η ακετυλοχολίνη έχει βρεθεί ότι προκαλεί εκπόλωση στους υποκρετινεργικούς νευρώνες. Η χολοκυστοκινίνη, η νευροτενσίνη, η ωκυτοκίνη και η βαζοπρεσίνη ενισχύουν τη δραστηριότητα των νευρώνων ρυθμίζοντας τις συγκεντρώσεις της αδενοσίνης και του CO<sub>2</sub>.<sup>45,46,47</sup>

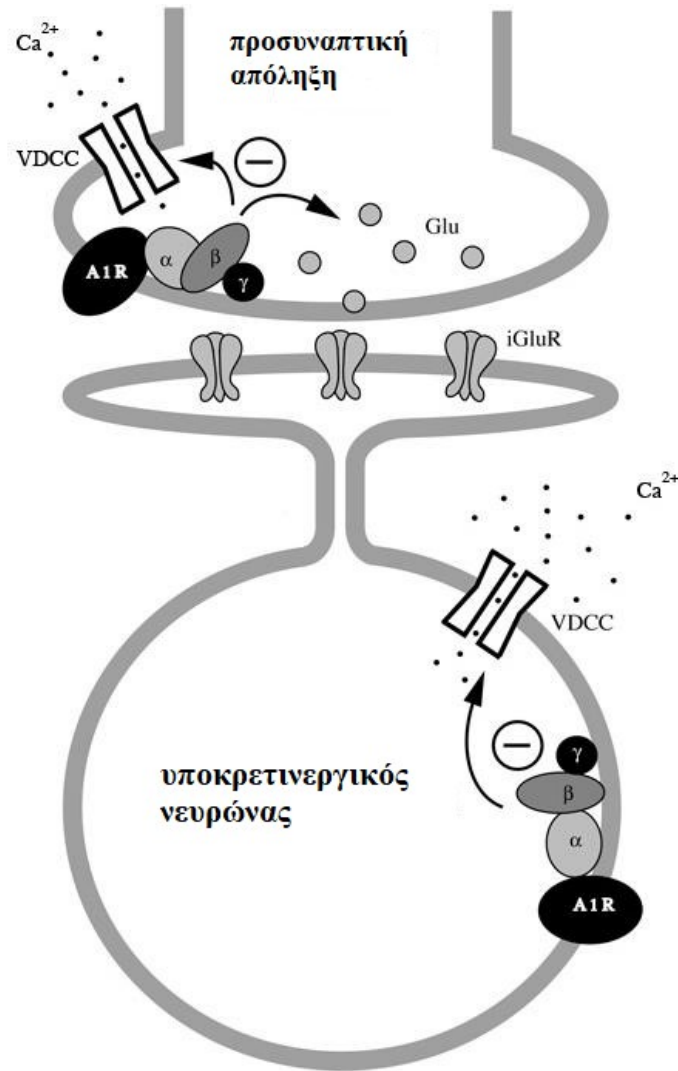
Ανασταλτική δράση επί των νευρώνων των υποκρετινών εμφανίζει και η νοραδρεναλίνη (NA), με άμεσους και έμμεσους μηχανισμούς. Στους νευρώνες της υποκρετινής ενεργοποιεί μη-εκλεκτικούς διαύλους κατιόντων (NSCCs) και διαύλους GIRK μέσω των α1 και α2 αδρενεργικών υποδοχέων, αντίστοιχα. Μέσω των α1 αδρενεργικών υποδοχέων προκαλεί εκπόλωση του υποκρετινεργικού νευρώνα ενώ μέσω του α2 προκαλεί υπερπόλωση. Η τελική άμεση επίδραση της NA στον νευρώνα ισορροπεί μεταξύ των 2 αυτών καταστάσεων. Επιπρόσθετα, η NA αναστέλλει έμμεσα τους υποκρετινεργικούς νευρώνες αφενός αυξάνοντας την απελευθέρωση GABA μέσω των α1 αδρενεργικών υποδοχέων στους GABAεργικούς νευρώνες και αφετέρου μειώνοντας την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος μέσω των α2 αδρενεργικών υποδοχέων τους γλουταμινεργικούς νευρώνες. Ταυτόχρονα, η NA αναστέλλει τα μικρού μεγέθους διεγερτικά μετασυναπτικά δυναμικά (EPSPs) στην προσυναπτική μεμβράνη αυτών των γλουταμινεργικών νευρώνων και τα μικρού μεγέθους ανασταλτικά μετασυναπτικά δυναμικά (IPSP) των GABAεργικών νευρώνων μέσω του α2 αδρενεργικού υποδοχέα. Τελικό αποτέλεσμα είναι η αναστολή της εκπόλωσης και άρα της διέγερσης του υποκρετινεργικού νευρώνα από την NA.<sup>45</sup> (Εικόνα 1.5)



Εικόνα 1.5 Νευρωνικό δίκτυο μεταξύ ορεξινεργικών και κατεχολαμινεργικών νευρώνων (Yamanaka A, Muraki Y, Ichiki K, et al. Orexin Neurons Are Directly and Indirectly Regulated by Catecholamines in a Complex Manner. *J Neurophysiol.* 2006;96(1):284-298. doi:10.1152/jn.01361.2005.)

Η αδενosίνη, μόριο το οποίο προάγει τον ύπνο, φαίνεται να ασκεί ανασταλτική δράση στους νευρώνες της υποκρετίνης. Πιο συγκεκριμένα, υποδοχείς α1 της αδενosίνης υπάρχουν προσυναπτικά στις απολήξεις νευρώνων που επικοινωνούν με τους υποκρετινεργικούς νευρώνες αλλά και στα κυτταρικά σώματα των υποκρετινεργικών νευρώνων. Προσυναπτικά η αδενosίνη μειώνει την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος επιδρώντας είτε στους διαύλους ασβεστίου

είτε αναστέλλοντας απευθείας την απελευθέρωση του γλουταμινικού από τα κυστίδια. Στους υποκρετινεργικούς υποδοχείς, η αδενοσίνη αναστέλλει τους τάσεοελεγχόμενους διαύλους ασβεστίου, αλλά δεν επηρεάζει τους GIRK.<sup>48</sup> (Εικόνα 1.6)



Εικόνα 1.6 Επίδραση αδενοσίνης στους νευρώνες υποκρετίνης/ορεξίνης (A1R: A1 υποδοχέας αδενοσίνης, VDCC: voltage-dependent calcium channel; iGluR: ιοντοτροπικός γλουταμινικός υποδοχέας) (Liu Z-W, Gao X-B. Adenosine Inhibits Activity of Hypocretin/Orexin Neurons by the A1 Receptor in the Lateral Hypothalamus: A Possible Sleep-Promoting Effect. *J Neurophysiol.* 2007;97(1):837-848. doi:10.1152/jn.00873.2006.)

### 1.3.1.3 Υποκρετινεργικοί/ Ορεξινεργικοί υποδοχείς (HCRTR<sub>x</sub>/OX<sub>x</sub>R)

Η υποκρετίνες εμπεριέχονται σε κυτταρικά σώματα στον υποθάλαμο, οι ίνες των οποίων εκτείνονται ευρέως σε ολόκληρο τον νευροάξονα του κεντρικού νευρικού συστήματος. Επιπρόσθετα, υποδοχείς υποκρετίνης κατανέμονται ευρέως στο νωτιαίο μυελό και τον εγκέφαλο.<sup>49</sup>

Έχουν ταυτοποιηθεί 2 υποδοχείς συζευγμένοι με G πρωτεΐνη (GPCRs) που ανήκουν στην οικογένεια ροδοψίνης, μέσω των οποίων τα νευροπεπτίδια υποκρετίνης δεσμεύονται επιλεκτικά και ασκούν τη δράση τους. Οι υποδοχείς αυτοί είναι οι HCRTR1 και HCRTR2 επίσης γνωστοί και ως OX1R και OX2R, αντίστοιχα. Αποτελούνται από 7 διαμεμβρανικά τμήματα και παρουσιάζουν ομοιότητες με υποδοχείς άλλων νευροπεπτιδίων.<sup>43</sup>

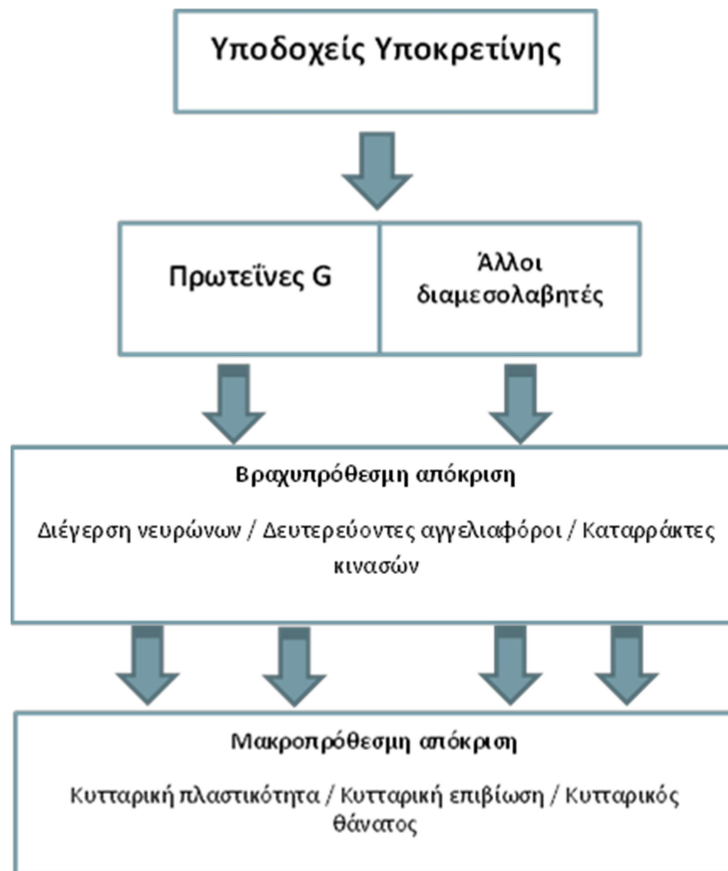
Ο υποδοχέας HCRTR1 (OX<sub>1</sub>R) εμφανίζει υψηλότερη ικανότητα πρόσδεσης (IC<sub>50</sub> 20 nM) για την υποκρετίνη 1 (ορεξίνη A) σε σύγκριση με την υποκρετίνη 2 (ορεξίνη B) (IC<sub>50</sub> 420 nM) και μεταδίδει το σήμα κυρίως μέσω G<sub>q</sub> πρωτεΐνης, ενεργοποιώντας έναν καταρράκτη που οδηγεί εν τέλει σε αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου. Ο υποδοχέας HCRTR2 (OX<sub>2</sub>R), ο οποίος είναι κατα 64% ομόλογος με τον HCRTR1, εμφανίζεται λιγότερο εκλεκτικός από τον πρώτο, αφού μπορεί να δεσμεύσει και τους δύο υποτύπους υποκρετίνης με παραπλήσια συγγένεια πρόσδεσης (IC<sub>50</sub> 38 nM για την υποκρετίνη 1 και 36 nM για την υποκρετίνη 2). Ο HCRTR2 πιθανώς δρα μέσω των G<sub>q</sub> ή Gi/Go πρωτεϊνών, αλλά οι μηχανισμοί σύζευξης φαίνεται να διαφέρουν από τον τύπο κυττάρων.<sup>41,43</sup> Ο μηχανισμός μεταγωγής σήματος των υποδοχέων υποκρετίνης μέσω σύζευξης με G πρωτεΐνες δεν είναι απόλυτα γνωστός, ωστόσο γνωρίζουμε ότι και οι 2 (HCRTR1 και HCRTR2) μπορούν να συζευχθούν με G πρωτεΐνες της οικογένειας Gi/o, Gs ή Gq.<sup>43,50</sup>

Οι διαφορές μεταξύ των δύο υποτύπων υποδοχέων υποδεικνύουν τους διαφορετικούς φυσιολογικούς ρόλους τους.<sup>41,43</sup> Το mRNA των HCRTR1 και HCRTR2 εκφράζεται ευρέως στον εγκέφαλο, σε ένα πρότυπο παρόμοιο με εκείνο των τερματικών νευρώνων της υποκρετίνης. Αρκετές περιοχές όπως η αμυγδαλή και ο φλοιός εκφράζουν και τους δύο υποδοχείς, ενώ μερικές περιοχές εκφράζουν mRNA

είτε του HCRTR1 όπως ο υπομέλανας τύπος, είτε του HCRTR2 όπως ο βολβοειδής πυρήνας. Επίσης, μικρές ποσότητες υποκρετινών και των υποδοχέων τους εντοπίζονται και εκτός εγκεφάλου.<sup>41,43</sup>

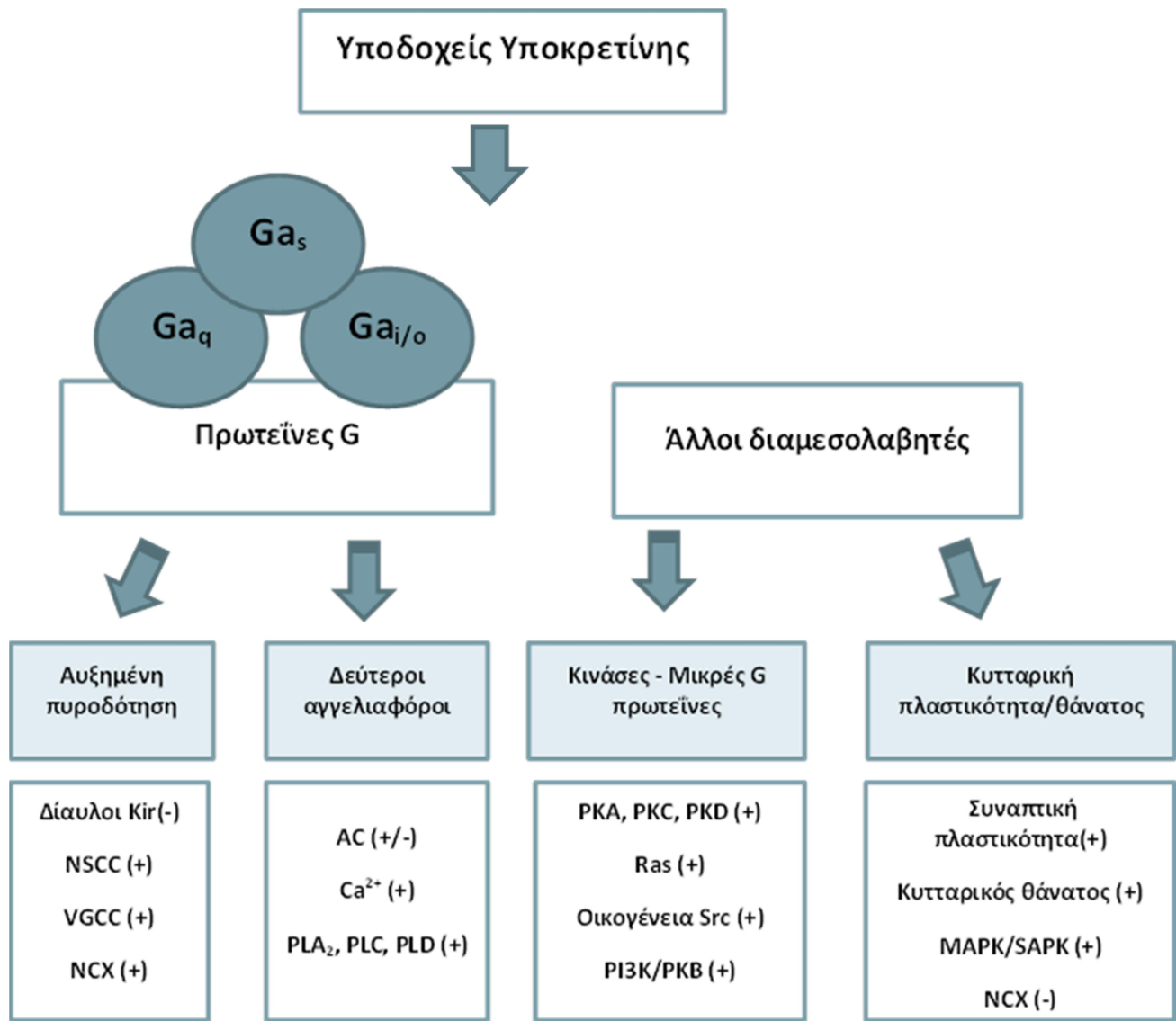
Τα νευροπεπτίδια υποκρετίνης θεωρούνται γενικά ότι είναι διεγερτικά. Οι οδοί μεταγωγής σήματος των υποκρετινών περιλαμβάνουν διάφορους ιοντικούς μηχανισμούς. Μετασυναπτικά, πρόσδεση της υποκρετίνης στον υποδοχέα της μπορεί να προκαλέσει μία ταχεία και παρατεταμένη αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου μέσω τασεοελεγχόμενων διαύλων ασβεστίου (VGCC), μέσω συναπτικών ιοντοτροπικών υποδοχέων (transient receptor potential canonical channels-TRPC) ή από τις ενδοκυττάριας αποθήκες. Ενεργοποίηση του ιοντοανταλλακτικού διαύλου νατρίου/ασβεστίου μπορεί να συμβάλει στη διέγερση των νευρώνων-στόχων όπως επίσης και η αναστολή των διαύλων καλίου, όπως οι δίαυλοι GIRK, διεγείρει μερικούς νευρώνες.<sup>43</sup> Επίσης έχει βρεθεί ότι μετασυναπτικά, οι υποδοχείς υποκρετίνης αλληλεπιδρούν με ενδοκανναβινοειδοί επηρεάζοντας έτσι εμμέσως την απελευθέρωση γλουταμικού οξέος και GABA.<sup>49,51</sup> Οι υποκρετίνες δρουν και προσυναπτικά, σε νευρικά τερματικά προκαλώντας απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών όπως το GABA ή το γλουταμικό. Μακροχρόνια αύξηση της νευρωνικής διεγερσιμότητας μπορεί να προκληθεί από την μεταγωγή σήματος μέσω υποκρετινών όπως για παράδειγμα στο κοιλιακή καλύπτρα (ventral tegmental area-VTA), όπου οι υποκρετίνες αυξάνουν τον αριθμό υποδοχέων N-μεθυλ-D-ασπαρτικού (NMDA) στην κυτταρική μεμβράνη, καθιστώντας τους νευρώνες πιο ευαίσθητους στις διεγερτικές επιδράσεις του γλουταμινικού οξέος για αρκετές ώρες.<sup>43</sup>

Οι υποδοχείς υποκρετίνης μπορούν να δράσουν μέσω τουλάχιστον τριών οικογενειών G πρωτεϊνών και πιθανώς και άλλων πρωτεϊνών, μέσω των οποίων ρυθμίζουν μη-εκλεκτικούς διαύλους κατιόντων, αδενυλκυκλάση, φωσφολιπάσες και πρωτεϊνικές και λιπιδικές κινάσες. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ενεργοποιούν μη-εκλεκτικούς διαύλους κατιόντων, ανταλλαγή  $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ , αναστέλλουν τους διαύλους  $\text{K}^+$ , προκαλούν μετασυναπτική αποπόλωση και διεγείρουν τους νευρώνες, ενώ προσυναπτικά διεγείρουν την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών και ρυθμίζουν την κυτταρική πλαστικότητα και καταστροφή των κυττάρων.<sup>40</sup> (Εικόνα 1.7 και 1.8)



Εικόνα 1.7 Κυτταρική απόκριση σε διέγερση του υποκρετινεργικού συστήματος (Α)

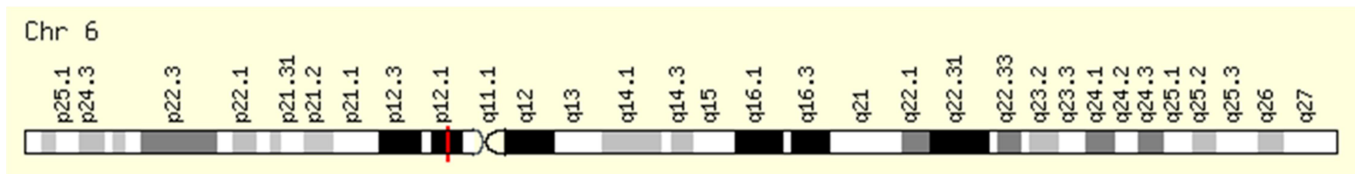




Εικόνα 1.8 Κυτταρική απόκριση σε διέγερση του υποκρετινεργικού συστήματος (B)

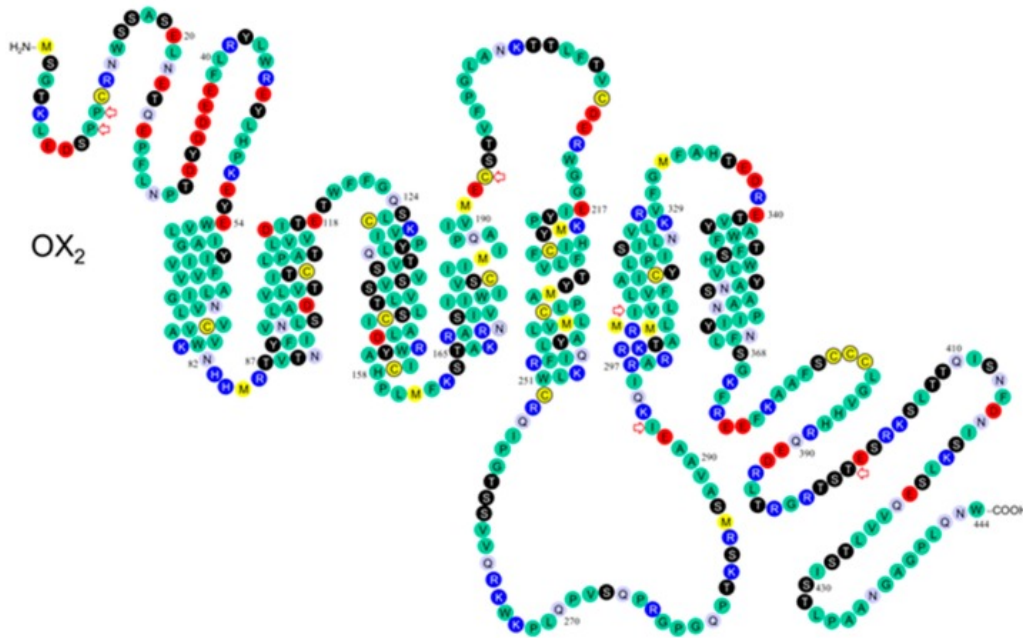
#### 1.3.1.4 Πολυμορφισμός rs2653349

Ο υποδοχέας υποκρετίνης τύπου 2 κωδικοποιείται από το γονίδιο *HCRTR2*. Το γονίδιο αυτό εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6 (6p12.1) και αποτελείται από 7 εξώνια. (Εικόνα 1.9) Ο πολυμορφισμός rs2653349 (SNP) του γονιδίου *HCRTR2*, γνωστός επίσης και ως G1246A, είναι υπεύθυνος για την υποκατάσταση μίας βαλίνης με ισολευκίνη στη θέση 308 εντός της αλληλουχίας του υποδοχέα.<sup>52</sup> Η υποκατάσταση αυτή εντοπίζεται στο 6<sup>ο</sup> διαμεμβρανικό τμήμα αυτού του GPCR υποδοχέα.<sup>53</sup> (Εικόνα 1.10)



Εικόνα 1.9 Θέση *HCRTR2* γονιδίου στο χρωμόσωμα 6 (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HCRTR2>)

Ο πολυμορφισμός rs2653349 δεν επηρεάζει τη θέση πρόσδεσης των υποκρετινών με τον υποδοχέα, αλλά φαίνεται να επιδρά στη διαδικασία διμερισμού του υποδοχέα στην επιφάνεια της μεμβράνης, τροποποιώντας έτσι τη μεταγωγή σήματος που διαμεσολαβείται από τις υποκρετίνες.<sup>49,54</sup>



Εικόνα 1.10 Σχηματική αναπαράσταση του HCRTR2 στην μεμβράνη του πλάσματος.(Thompson MD, Xhaard H, Sakurai T, Rainero I, Kukkonen JP. OX(1) and OX(2) orexin/hypocretin receptor pharmacogenetics. *Front Neurosci.* 2014;8:57. doi:10.3389/fnins.2014.00057.)

### 1.3.1.5rs2653349 και Αθροιστική κεφαλαλγία

Για την παθογένεση της αθροιστικής κεφαλαλγίας σημαντικό ρόλο παίζει η ενεργοποίηση του τριγεμνοαγγειακού συστήματος σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση του υποθαλάμου, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την κίρκαδιακή και εποχιακή εμφάνιση των κρίσεων της ασθένειας και την μεταβολή των επιπέδων των ορμονών κατά τη διάρκεια των κρίσεων. Οι υποκρετινεργικοί νευρώνες εντοπίζονται κυρίως στον υποθάλαμο και οι προεκβολές τους κατανέμονται ευρέως στις περιοχές που εμπλέκονται στη ρύθμιση του ΑΝΣ, στη μεταγωγή του πόνου και στους πυρήνες που προάγουν την αφύπνιση. Επομένως, το υποκρετινεργικό σύστημα θεωρείται ότι εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>49,55</sup>

Μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι η ορεξίνη Α χορηγούμενη ενδοφλεβίως δρα στο τριγεμνοαγγειακό σύστημα, ελαττώνοντας την απελευθέρωση CGRP, εμποδίζοντας μερικώς με τον τρόπο αυτό την προκαλούμενη αγγειοδιαστολή.<sup>49,55</sup>

Η παχυσαρκία έχει βρεθεί ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου των χρόνιων ημερήσιων πονοκεφάλων και πιστεύεται ότι ένας κοινός γενετικός παράγοντας παίζει σημαντικό ρόλο στην προδιάθεση τόσο της παχυσαρκίας όσο και της ημικρανίας. Δεδομένου ότι οι υποκρετίνες εμπλέκονται τόσο στο μεταβολισμό όσο και στην ανάπτυξη του πόνου, οποιαδήποτε δυσλειτουργία στο υποκρετινεργικό σύστημα μπορεί να αποτελέσει παράγοντα κινδύνου και για τις 2 παθολογικές καταστάσεις.

Επίσης, κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας συμβαίνουν αρκετά συχνά κατά τη διάρκεια του ύπνου REM, χρονικό διάστημα το οποίο χαρακτηρίζεται από προς τα κάτω ρύθμιση του υποκρετινεργικού συστήματος για διευκόλυνση της επέλευσης του ύπνου.<sup>49</sup>

Ο πολυμορφισμός rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας. Η ομοζυγωτία για το φυσικό αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας. Οι Rainero et al το 2004 αξιολόγησαν πιθανές διαφορές στην συχνότητα κατανομής των αλληλομόρφων και των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό G1246A σε μια ομάδα 109 ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία και 208 μαρτύρων και βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Τα άτομα που έφεραν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία ήταν 5 φορές πιθανότερο να εμφανίσουν την ασθένεια σε σύγκριση με τους υπόλοιπους γονότυπους.<sup>54</sup> Το 2006, οι Schurks et al, επιβεβαίωσαν αυτό το εύρημα μελετώντας 226 ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία και 266 μάρτυρες Γερμανικής καταγωγής. Τα άτομα που έφεραν τον G:G γονότυπο είχαν διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης της αθροιστικής κεφαλαλγίας στον Γερμανικό πληθυσμό.<sup>56</sup> Παρόλο που τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από τους Baumber et al σε άλλη μελέτη με 259 ασθενείς από την Δανία, Σουηδία και Βρετανία,<sup>57</sup> μεταανάλυση από τους Rainero et al, με 599 ασθενείς και 599 μάρτυρες επιβεβαίωσε την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ ομοζυγωτίας για το G αλληλόμορφο έναντι των υπόλοιπων γονοτύπων και κινδύνου εμφάνισης της ασθένειας.<sup>54</sup>

Οι Schurks et al κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι μεταβολές που προκαλεί ο πολυμορφισμός G1246A στο σύστημα της υποκρετίνης δεν επιδρούν τόσο στη ρύθμιση του πόνου, αλλά επηρεάζουν κυρίως τους μηχανισμούς πυροδότησης και τη ρυθμικότητα στην αθροιστική κεφαλαλγία.<sup>58</sup>

### 1.3.2 Το γονίδιο της β3 υπομονάδας της G πρωτεΐνης (*GNB3*)

#### 1.3.2.1 Ετεροτριμερείς G Πρωτεΐνες

Οι ετεροτριμερείς πρωτεΐνες G αποτελούν μόρια καθοριστικής σημασίας για την ενδοκυττάρια μεταγωγή σημάτων. Είναι συζευγμένες ενδοκυττάρια με υποδοχείς, οι οποίοι χαρακτηρίζονται ως υποδοχείς συζευγμένοι με G πρωτεΐνη (G protein-coupled receptors -GPCRs (7TM)) και αποκρινόμενες σε ενεργοποίηση των υποδοχέων από εξωκυττάρια ερεθίσματα, ενεργοποιούν ενδοκυτταρικούς καταρράκτες σηματοδότησης.<sup>59</sup>

Οι G πρωτεΐνες αποτελούνται από τρεις υπομονάδες, την Gα υπομονάδα, την Gβ και την Gγ. Οι υπομονάδες Gβ και Gγ σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές. Όταν ο υποδοχέας GPCR είναι ανενεργός, η υπομονάδα Gα είναι συνδεδεμένη με GDP και το ετεροδιμερές Gβγ. Το Gβγ ετεροδιμερές διευκολύνει τη σύζευξη της Gα υπομονάδας με τον GPCR και επιβραδύνει την ανταλλαγή του GDP με GTP στο σύμπλοκο Gα-GDP, δρώντας ως αναστολέας διάσπασης νουκλεοτιδίων γουανίνης (GDI).<sup>60,61</sup>

Ενεργοποίηση του υποδοχέα GPCR μετά από εξωκυττάρια πρόσδεση συνδέτη οδηγεί σε αλλαγή στη διαμόρφωση της Gα υπομονάδας και ανταλλαγή του GDP με GTP. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον διαχωρισμό του ετεροδιμερούς Gβγ από το Gα-GTP και την έναρξη μεταγωγής σήματος μέσω των αντίστοιχων δεύτερων αγγελιοφόρων αμφωτέρων. Ο κύκλος επιστρέφει στην αρχική/ανενεργή κατάσταση όταν η υπομονάδα Gα υδρολύει το GTP σε GDP με τη βοήθεια πρωτεϊνών επιτάχυνσης της GTPάσης (GAPs), όπως οι ρυθμιστές σηματοδότησης μέσω πρωτεΐνης G (RGS) και το ετεροδιμερές Gβγ επανασυνδέεται με την Gα.<sup>60,61</sup> (Εικόνα 1.11)



Εικόνα 1.11 Ο κύκλος της G πρωτεΐνης (Oldham WM, Hamm HE. Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(1):60-71. doi:10.1038/nrm2299.)

#### 1.3.2.1.1 Γα Υπομονάδα

στο ανθρώπινο γονιδίωμα υπάρχουν 16 Γα γονίδια που κωδικοποιούν 23 πρωτεΐνες Γα, οι οποίες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση την ομοιότητα της αλληλουχίας τους σε τέσσερις κύριες ομάδες:  $G_{S(s/olf)}$ ,  $G_{i(ai1/ai2/ai3/o/t-rod/t-cone/gust/z)}$ ,  $G_{q(a16/a14/a11/q)}$  και  $G_{12(a12/a13)}$ . Το μέγεθός τους ποικίλει, από 39 έως 45 kDa.<sup>60</sup>

Ο εντοπισμός των Γα υπομονάδων στη μεμβράνη επηρεάζεται σημαντικά από την N-τελική τροποποίησή τους, μέσω ομοιοπολικής σύνδεσης μυριστικών και/ή παλμιτικών λιπαρών οξέων. Η λιπιδική τροποποίηση, δηλαδή η μυριστοϋλίωση και/ή η παλμιτοϋλίωση, των υπομονάδων Γα παίζει καθοριστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση της υπομονάδας Γα με άλλες πρωτεΐνες όπως η αδενυλική κυκλάση, το ετεροδιμερές Gβγ και τους GPCRs.<sup>60</sup>

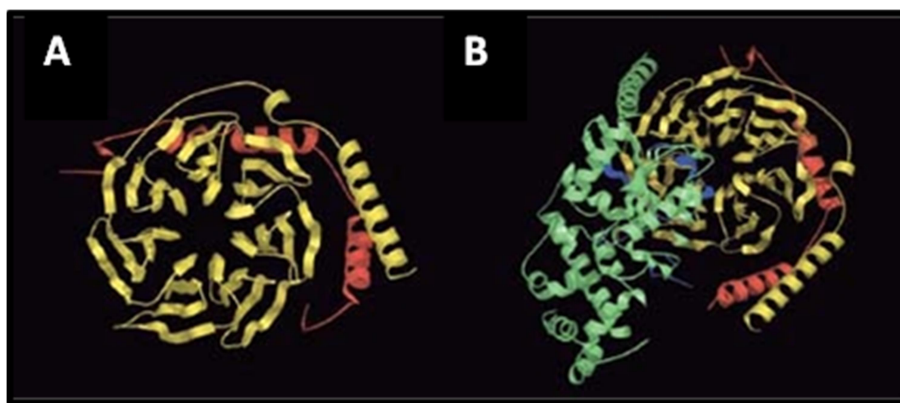
#### 1.3.2.1.2 $G_{\beta\gamma}$ Ετεροδιμερές

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές ισομορφές των υπομονάδων, συμπεριλαμβανομένων 6 ισομορφών της υπομονάδας  $G_{\beta}$  που κωδικοποιούνται από 5 γονίδια ( $G_{\beta 1}, G_{\beta 2}, G_{\beta 3}, G_{\beta 4}, G_{\beta 5}$ ), και 13 ισομορφές για την  $G_{\gamma}$  υπομονάδα που κωδικοποιούνται από 12  $G_{\gamma}$  γονίδια, προσδίδοντας ένα μεγάλο αριθμό πιθανών συνδυασμών προς σχηματισμό διμερών  $G_{\beta\gamma}$ . Οι περισσότεροι συνδυασμοί των υπομονάδων  $\beta$  και  $\gamma$  μπορούν να σχηματίσουν λειτουργικά διμερή. Οι 3 υπομονάδες,  $G_{\alpha}, G_{\beta}$  και  $G_{\gamma}$ , μπορούν να συνδυαστούν ποικιλοτρόπως προς σχηματισμό διαφορετικών ετεροτριμερών  $G$  πρωτεϊνών, καθορίζοντας έτσι την εξειδίκευση και την εκλεκτικότητα της αντίστοιχης  $G$  πρωτεΐνης για την σύζευξή της με τους GPCRs και τα αντίστοιχα μονοπάτια μεταγωγής σήματος.<sup>60,62</sup>

Στην πράξη δεν σχηματίζονται όλοι οι 60 δυνατοί συνδυασμοί των διμερών, παρόλο που η πλειονότητα των  $G_{\beta}$  υπομονάδων μπορεί να αλληλεπιδράσει με τις περισσότερες υπομονάδες  $G_{\gamma}$ . Επιπροσθέτως, αρκετά διμερή  $G_{\beta\gamma}$  μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την ίδια ισομορφή της  $G_{\alpha}$ , υποδηλώνοντας τη σημασία της διαφορικής έκφρασης (δηλαδή ποιά γονίδια και πόσο εκφράζονται) και του υποκυτταρικού εντοπισμού στη διαδικασία μεταγωγής σήματος.<sup>59</sup>

Οι υπομονάδες  $G_{\beta}$  χαρακτηρίζονται από επτά επαναλήψεις ενός μοτίβου, το οποίο χαρακτηρίζεται από ακολουθία τρυπτοφάνης(W) και ασπαρτικού οξέος(D) που επαναλαμβάνεται κάθε περίπου 40 αμινοξέα(WD-40) και σχηματίζει μικρές αντιπαράλληλες  $\beta$  αλυσίδες. Οι επτά WD-40 επαναλήψεις της υπομονάδας  $G_{\beta}$  αναδιπλώνονται σε μία επταπλή  $\beta$ -προπέλα ή δομή τύπου δακτυλίου, ενώ το N-τελικό άκρο σχηματίζει μια  $\alpha$ -έλικα. Η υπομόναδα  $G_{\gamma}$  σχηματίζει δύο  $\alpha$ -ελίκες. Η N-τελική έλικα της  $G_{\gamma}$  έρχεται σε επαφή με την  $\alpha$  έλικα της  $G_{\beta}$ , ενώ η C-τελική έλικα έχει εκτεταμένες επαφές με την 5<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> αλυσίδα της  $\beta$ -προπέλας.<sup>59,60,63</sup> (Εικόνα 1.12)





Εικόνα 1.12 (Α) Δομή Gβγ διμερούς (κίτρινο: Gβ, κόκκινο: Gγ) (Β) Δομή ετεροτριμερούς G πρωτεΐνης (μπλέ: Gα, κυανό: GDP)(McCudden CR, Hains MD, Kimple RJ, Siderovski DP, Willard FS. *G-protein signaling: back to the future. Cell Mol Life Sci.* 2005;62(5):551-577. doi:10.1007/s00018-004-4462-3.)

Η υπομονάδα Gβγ αποτελεί ένα λειτουργικό διμερές, σχηματίζοντας μια σταθερή δομική μονάδα. Η διαμόρφωση του Gβγ δεν αλλάζει όταν διαχωρίζεται από την Gα υπομονάδα με την οποία σχηματίζει την ετεροτριμερή G πρωτεΐνη, εν αντιθέσει με την υπομονάδα Gα. Επιπλέον, η σύνδεση του Gβγ με την Gα υπομονάδα παρεμποδίζει το Gβγ διμερές να ενεργοποιήσει τους τελεστές του.<sup>60</sup>

Ο ρόλος του Gβγ διμερούς παλαιότερα θεωρείτο ότι ήταν μόνο η αναστολή της υπομονάδας Gα, διευκολύνοντας τη σύζευξη των ετεροτριμερών Gαβγ με τους GPCRs. Πλέον είναι γνωστό ότι το Gβγ μπορεί να ενεργοποιήσει αρκετούς τελεστές προς μεταγωγή σήματος μετά από το διαχωρισμό του από το Gα/GTP σύμπλοκο. Μερικοί από τους τελεστές μεταγωγής σήματος με τους οποίους αλληλεπιδρά το διμερές είναι οι διάλυτοι ιόντων K<sup>+</sup> GIRK, οι νευρωνικοί διάλυτοι ασβεστίου N και P/Q τύπου, κινάσες, μικρές G πρωτεΐνες, PI3Kγ, διάφορες ισομορφές αδενυλικής κυκλάσης (AC), πρωτεϊνική λιπάση C β και ε (PLC<sub>β</sub>, PLC<sub>ε</sub>) κ.α. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο το Gβγ αλληλεπιδρά με τους τελεστές δεν είναι ξεκάθαρος.<sup>60</sup>

#### 1.3.2.2 Πολυμορφισμός rs5443

Ο νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) rs5443 ή C825T αποτελεί έναν από τους πιο μελετημένους πολυμορφισμούς του γονιδίου *GNB3*. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την β3 υπομονάδα της G πρωτεΐνης. Το *GNB3* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12 (12p13) και αποτελείται από 11 εξώνια και 10 ιντρόνια.<sup>64</sup> (Εικόνα 1.13) Ο πολυμορφισμός rs5443 είναι υπεύθυνος για την υποκατάσταση μίας βάσης κυτοσίνης με θυμιδίνη

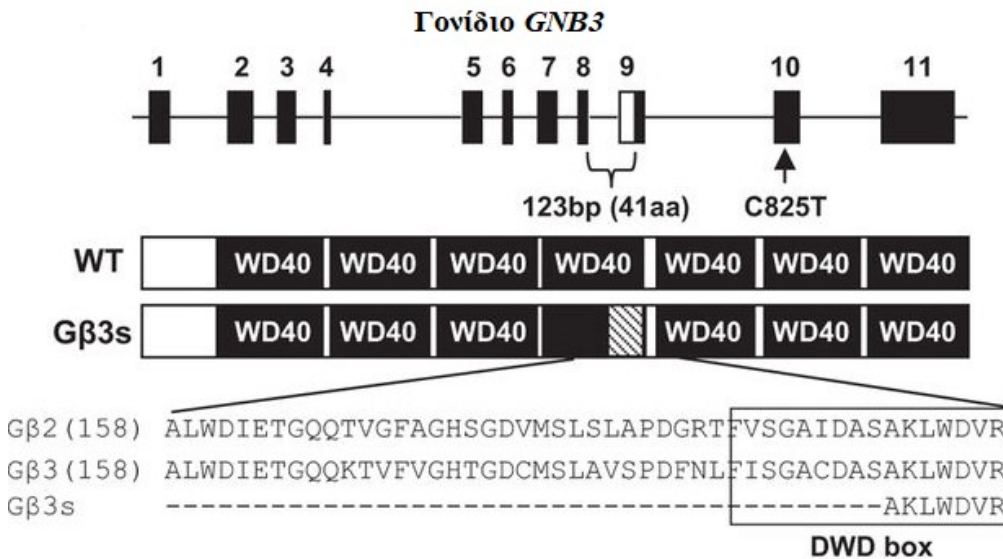


στη θέση 825 στο εξώνιο 10 του *GNB3* και δεν προκαλεί τροποποίηση στην αλληλουχία των αμινοξέων.<sup>65</sup>



Εικόνα 1.13 Θέση *GNB3* γονιδίου στο χρωμόσωμα 12 (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GNB3>)

Ο C825T έχει συσχετισθεί με εναλλακτικό μάτισμα στο εξώνιο 9 του γονιδίου *GNB3*, προκαλώντας διαγραφή 123 ζευγών βάσεων που κωδικοποιούν μια περιοχή WD40 στην Gβ3 υπομονάδα. Η προκύπτουσα υπομονάδα Gβ3, η Gβ3s, αποτελείται από 41 αμινοξέα λιγότερα από την άγριου τύπου Gβ3.<sup>62,66</sup> (Εικόνα 1.14) Η παρουσία της Gβ3s έχει συσχετισθεί με αυξημένη μεταγωγή σήματος μέσω GPCRs.<sup>65</sup>



Εικόνα 1.14 Σχηματικό διάγραμμα της δομής του γονιδιώματος και των πρωτεϊνικών περιοχών της ανθρώπινης Gβ3. Ο πολυμορφισμός C825T βρίσκεται στο εξώνιο 10 και το αλληλόμορφο T έχει συσχετισθεί με εναλλακτικό μάτισμα και σχηματισμό της Gβ3s, από την οποία διαγράφηκαν 123 bp στα εξώνια 8 και 9 και 41 υπολείμματα αμινοξέων εντός πλαισίου. (Zha Z, Han X-R, Smith MD, Lei Q-Y, Guan K-L, Xiong Y. Hypertension-associated C825T polymorphism impairs the function of Gβ3 to target GRK2 ubiquitination. *Cell Discov.* 2016;2(1):16005. doi:10.1038/celldisc.2016.5.)

Τα άτομα που φέρουν σε ομοζυγωτία το φυσικό αλληλόμορφο C του rs5443 εκφράζουν μόνο την Gβ3 (άγριου τύπου), ενώ όσοι φέρουν σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία το παραλλαγμένο αλληλόμορφο T φαινομενικά εκφράζουν αμφότερα

την άγριου τύπου Gβ3 και το mRNA της Gβ3s. Παρόλο που αρχικά δεν ήταν σαφές πώς ένας πολυμορφισμός στο εξώνιο 10 επηρεάζει τη συναρμογή του εξωνίου 9, αργότερα ανιχνεύθηκαν πρόσθετοι πολυμορφισμοί στο ιντρόνιο μεταξύ των εξωνίων 9 και 10, στην περιοχή του υποκινητή και στην 3'-αμετάφραστη περιοχή, οι οποίοι εμφάνιζαν σχεδόν πλήρη ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους, χαρακτηριζόμενοι ως «Τ-απλότυπος». Επομένως η δομή του Gβ3 προ-mRNA επηρεάζεται από δύο σύνθετους απλότυπους, οι οποίοι σχετίζονται με τα αλληλόμορφα C και T.<sup>67</sup>

Το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο του rs5443 εμφανίζεται συχνότερα στους μαύρους Αφρικανούς σε ποσοστό 79%, ακολουθούμενοι από τους Μόγγολους σε ποσοστό 46% και τους Καυκάσιους, σε ποσοστό 36%.<sup>62</sup>

Ο πολυμορφισμός C825T έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση αρκετών ασθενειών καθώς και την ανταπόκριση σε φαρμακευτικές αγωγές, δεδομένου ότι οι G πρωτεΐνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος. Πολλές μελέτες παρουσίασαν δεδομένα συσχετισμού του T αλληλομόρφου με υπέρταση, εγκεφαλικό επεισόδιο, υπερτροφία της αριστερής κοιλίας και μεταβολικές διαταραχές, χωρίς όμως αυτά τα ευρήματα να έχουν επιβεβαιωθεί σε όλες τις μελέτες.<sup>68-75</sup> Επιπλέον, ο rs5443 συσχετίσθηκε με κυτταρικές και συστηματικές αποκρίσεις σε φάρμακα, περιλαμβανομένων των αντικαταθλιπτικών, διουρητικών και των αδρενεργικών αγωνιστών.<sup>76,77,78</sup> Μερικές μελέτες έδειξαν ότι η μεταγωγή σήματος μέσω των Gβγ διμερών ενεργοποιείται ευκολότερα στους φορείς του αλληλόμορφου T.<sup>63,79,80,81</sup>

---

#### 1.3.2.3 rs5443 και Ανταπόκριση στις Τριπτάνες

Οι τριπτάνες δρουν ως αγωνιστές των υποδοχέων 5-υδροξυτρυπταμίνης (5-HT)<sub>1B</sub> και <sub>1D</sub> οι οποίοι ανήκουν στην υπεροικογένεια υποδοχέων συζευγμένων με G πρωτεΐνη (GPCR). Συνεπώς, ο πολυμορφισμός rs5443 στην β3 υπομονάδα της G πρωτεΐνης συσχετίσθηκε με την ανταπόκριση σε φαρμακευτική αγωγή με τριπτάνες και πιο συγκεκριμένα με αύξηση της ανταπόκρισης των ασθενών στις τριπτάνες.<sup>82</sup>

Σύμφωνα με τους Schurks et al, ετερόζυγοι φορείς του αλληλόμορφου T είχαν περίπου τριπλάσια πιθανότητα ανταπόκρισης σε θεραπεία με τριπτάνες σε σύγκριση με τους ομόζυγους φορείς του αλληλόμορφου C. Η συσχέτιση ήταν παρόμοια για τους γονότυπους T:T / T:C έναντι του C:C, χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά. Ο πολυμορφισμός δε φάνηκε να επηρεάζει την ανταπόκριση σε άλλες φαρμακευτικές αγωγές για την αθροιστική κεφαλαλγία, όπου ο μηχανισμός μεταγωγής σήματος δεν εμπειρεύει G πρωτεΐνες, όπως το οξυγόνο, τη βεραπαμίλη και τα κορτικοστεροειδή, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι το αλληλόμορφο T δε βελτιώνει την γενικότερη απόκριση στη θεραπεία για αθροιστική κεφαλαλγία, αλλά επηρεάζει ειδικότερα την ανταπόκριση στις τριπτάνες.<sup>82</sup>

### 1.3.3 Το γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης 4 (ADH4)

#### 1.3.3.1 Αλκοόλ και Αθροιστική Κεφαλαλγία

Πρόσφατα παρατηρήθηκε από αρκετά μεγάλο ποσοστό ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία ότι το αλκοόλ αποτελεί ισχυρό παράγοντα πυροδότησης κρίσης κεφαλαλγίας κατά τη διάρκεια μιας αθροιστικής περιόδου.<sup>83,84</sup> Μετά το πέρας της αθροιστικής περιόδου, η κανονική κατανάλωση αλκοόλ δεν επηρέαζε την εμφάνιση κρίσης κεφαλαλγίας.<sup>85</sup>

Η κατανάλωση αλκοόλ από ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία αποτέλεσε αντικείμενο για αρκετές κλινικές μελέτες, τα αποτελέσματα αρκετών από των οποίων έρχονταν σε αντίθεση.<sup>85</sup> Σύμφωνα με τους Schurks et al, η κατανάλωση αλκοόλ από τους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία εμφανίστηκε μικρότερη σε σύγκριση με το Γερμανικό γενικό πληθυσμό αναφοράς, παρατήρηση την οποία απέδωσαν στο γεγονός ότι η κατανάλωση αλκοόλ κατά τη διάρκεια μιας αθροιστικής περιόδου μπορεί να πυροδοτήσει κρίση αθροιστικής κεφαλαλγίας. Αυτό δικαιολογεί την ακόμα μικρότερη κατανάλωση από ασθενείς με χρόνια αθροιστική κεφαλαλγία σε σχέση με τους ασθενείς με επεισοδιακή. Τέλος, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αθροιστική κεφαλαλγία φαίνεται να αποτελεί παράγοντα προστασίας από την επιβλαβή κατανάλωση αλκοόλ.<sup>86</sup>

Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν στη μελέτη γονιδίων που εμπλέκονται στον μεταβολισμό της αλκοόλης, ως πιθανά γονίδια που θα σχετίζονται με την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>87</sup>

---

#### 1.3.3.2 Μεταβολισμός Αλκοόλης

Η αιθανόλη εισερχόμενη στον οργανισμό απορροφάται στο γαστρεντερικό σωλήνα και ακολούθως, μέσω της πυλαίας φλέβας, καταλήγει στο ήπαρ όπου υφίσταται εκτεταμένο μεταβολισμό.<sup>88</sup>

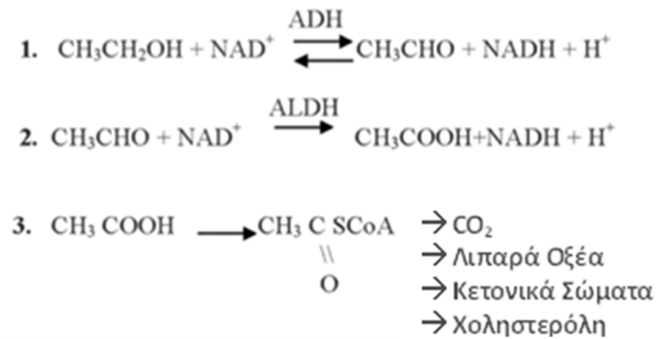
Η οξείδωση της αιθανόλης στο ήπαρ επιτελείται με τη δράση 2 οικογενειών ενζύμων, τις αλκοολικές αφυδρογονάσες (ADH), οι οποίες μετατρέπουν την αιθανόλη στην τοξική ακεταλδεΐδη και τις αφυδρογονάσες της αλδεΐδης (ALDH), οι οποίες μετατρέπουν γρήγορα την ακεταλδεΐδη σε οξικό οξύ. Ακολούθως, το οξικό οξύ μέσω του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος οξειδώνεται σε CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O. Οι μεταβολίτες της αιθανόλης και η αιθανόλη η οποία δεν υπέστη μεταβολισμό στο ήπαρ εισέρχονται στη συνέχεια στη γενική κυκλοφορία.<sup>88</sup>

Το πρώτο στάδιο οξείδωσης της αιθανόλης στο ήπαρ καταλύεται από την αλκοολική αφυδρογονάση, η οποία συνίσταται από μια οικογένεια ισομορφών και απαντάται σε μεγάλο βαθμό στο ήπαρ. Το δινουκλεοτίδιο νικοτιναμιδικής αδενίνης (NAD<sup>+</sup>) αποτελεί συμπράγοντα απαραίτητο για την οξείδωση της αιθανόλης προς ακεταλδεΐδη, υφιστάμενο αναγωγή προς NADH + H<sup>+</sup>. Η αντίδραση αυτή είναι αναστρέψιμη.<sup>89</sup>

Ακολούθως, το δεύτερο στάδιο του μεταβολισμού της αλκοόλης καταλύεται από την αφυδρογονάση της αλδεΐδης. Η ακεταλδεΐδη οξειδώνεται προς οξικό οξύ με συμπράγοντα το NAD<sup>+</sup>, το οποίο ανάγεται προς NADH. Η αντίδραση που επιτελείται μέσω της ALDH είναι ουσιαστικά μη αναστρέψιμη. Το μεγαλύτερο μέρος της ακεταλδεΐδης που παράγεται οξειδώνεται στο ήπαρ προς οξικό οξύ, καθιστώντας τα επίπεδα κυκλοφορίας της ακεταλδεΐδης, υπό κανονικές συνθήκες, χαμηλά.<sup>89</sup>

Τέλος, το μεγαλύτερο μέρος του οξικού οξέος που παράγεται από την οξείδωση της ακεταλδεΐδης εξέρχεται από το ήπαρ και κυκλοφορεί στους περιφερειακούς ιστούς

ως ακέτυλο-CoA. Έτσι, από τα άτομα άνθρακα της αλκοόλης παράγεται CO<sup>2</sup> και άλλα προϊόντα, ανάλογα με την ενεργειακή κατάσταση και τις διατροφικές και ορμονικές συνθήκες.<sup>89</sup>(Εικόνα 1.15)



Εικόνα 1.15 Οξείδωση της αιθανόλης(Cederbaum Al. Alcohol Metabolism. Clin Liver Dis. 2012;16(4):667-685. doi:10.1016/j.cld.2012.08.002.)

#### 1.3.3.2.1 Αλκοολική Αφυδρογονάση (ADH)

Η αλκοολική αφυδρογονάση – ADH, εντοπίζεται στο κυτοσόλιο και βρίσκεται κυρίως στο ήπαρ. Ποσότητες αυτού του ενζύμου βρίσκονται επίσης στη γαστρεντερική οδό, στα νεφρά, στο ρινικό βλεννογόνο, στους όρχεις και στη μήτρα.<sup>89</sup>

Η ADH είναι ένα ένζυμο που περιέχει ψευδάργυρο. Αποτελείται από δύο υπομονάδες, οι οποίες μπορεί να είναι ίδιες, αλλά όχι απαραίτητα.<sup>88</sup> Καταλύει την οξείδωση της προερχώμενης από μικροοργανισμούς ενδογενούς αλκοόλης στο έντερο, της εξωγενούς αιθανόλης και άλλων αλκοολών που προέρχονται από τη διατροφή. Επίσης, καταλύει την οξείδωση υποστρωμάτων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό χολικών οξέων και στεροειδών. Παρουσιάζει ευρεία εξειδίκευση για το υπόστρωμα, οξειδώνοντας πολλές πρωτοταγείς ή δευτεροταγείς αλκοόλες.<sup>89</sup>

Στον άνθρωπο υπάρχουν 7 διαφορετικοί τύποι υπομονάδων ADH, οι οποίοι κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια. (Εικόνα 1.16) Το γονίδιο *ADH1A* κωδικοποιεί την «α» υπομονάδα, το *ADH1B* την «β», το *ADH1C* την «γ», το *ADH4* κωδικοποιεί την «π» υπομονάδα, το *ADH5* την «χ», το *ADH7* την «σ» υπομονάδα και τέλος το *ADH6* κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο το οποίο δεν έχει ονομαστεί με κάποιο γράμμα από το ελληνικό αλφάβητο. Το σύμπλεγμα των ανθρώπινων ADH

γονιδίων μήκους 364 128 ζευγών βάσεων (bp) εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4 (4q21-25) και περιλαμβάνει τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πέντε κατηγορίες ADH με την ακόλουθη σειρά: <sup>88,90</sup>

- **IV** (*ADH7*),
- **I-γ** (*ADH1C*),
- **I-β** (*ADH1B*),
- **I-α** (*ADH1A*),
- **V** (*ADH6*),
- **II** (*ADH4*) και
- **III** (*ADH5*).

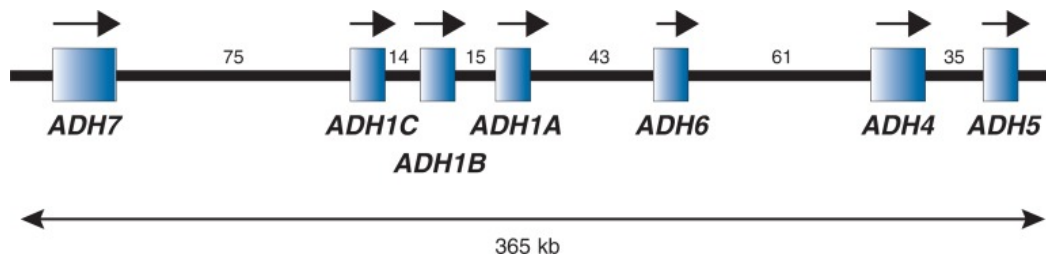
Τα γονίδια *ADH1A*, *ADH1B* και *ADH1C* της κατηγορίας I κωδικοποιούν τις α, β (β1, β2, β3) και γ (γ1, γ2) υπομονάδες, αντίστοιχα. Αυτές οι ισομορφές μπορούν να συνδυαστούν και να σχηματίσουν ομοδιμερή ή ετεροδιμερή, τα οποία εντοπίζονται κυρίως στο ήπαρ. <sup>89,90</sup>

Το *ADH4* γονίδιο της κατηγορίας II κωδικοποιεί την υπομονάδα «π», η οποία σχηματίζει ππ ομοδιμερή κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στους πνεύμονες και τους νεφρούς. Αυτή η υπομονάδα ADH συμβάλλει σημαντικά στην οξείδωση της αιθανόλης, όταν η αιθανόλη βρίσκεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. <sup>89,90</sup>

Στην κατηγορία III περιλαμβάνεται το γονίδιο *ADH5* το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα «χ» που παράγει χχ ομοδιμερή. Η χ-ADH εμφανίζει πολύ χαμηλή συγγένεια για την αιθανόλη. <sup>89,90</sup>

Το mRNA του *ADH6* εντοπίζεται στο ήπαρ και στο στομάχι, αλλά πολύ λίγα είναι γνωστά για την πρωτεΐνη του. <sup>89,90</sup>

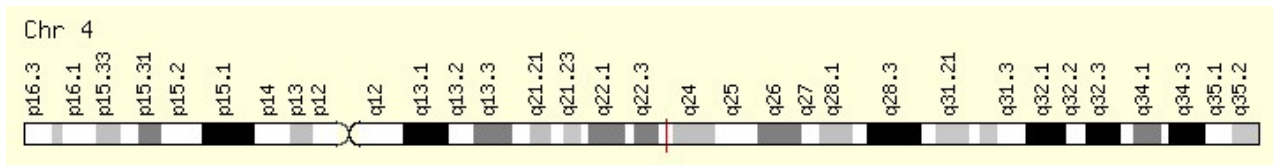
Τέλος, στην 5<sup>η</sup> κατηγορία ADH ανήκει το γονίδιο *ADH7* το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα «σ». Η υπομονάδα αυτή είναι πολύ αποτελεσματική στην οξείδωση της ρετινόλης αλλά και της αιθανόλης. <sup>89,90</sup>



Εικόνα 1.16 Σχετικά μεγέθη και θέσεις των 7 *ADH* γονιδίων στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 4 (Edenberg HJ. *The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. Alcohol Res Health. 2007;30(1):5-13. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860432/.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860432/)*)

### 1.3.3.3 Πολυμορφισμός rs1800759

Το γονίδιο *ADH4* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4 (4q22) και αποτελείται από 9 εξώνια.<sup>85</sup> (Εικόνα 1.17) Ο πολυμορφισμός rs1800759 του γονιδίου *ADH4* εντοπίζεται στον υποκινητή και το -75A μεταλλαγμένο αλληλόμορφο προκαλεί διπλάσια δραστηριότητα του υποκινητή σε σχέση με το άγριου τύπου αλληλόμορφο -75C, επηρεάζοντας κατα συνέπεια την έκφραση υπομονάδας «π».<sup>88,92</sup>



Εικόνα 1.17 Θέση *ADH4* γονιδίου στο χρωμόσωμα 4 (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ADH4>)

#### 1.3.3.3.1 rs1800759 και Αθροιστική Κεφαλαλγία

Οι Zarrilli et al, το 2015 βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού rs1800759 και της αθροιστικής κεφαλαλγίας σε δείγμα 54 ασθενών και 200 μαρτύρων. Η συχνότητα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου στο γονίδιο *ADH4* εμφανίστηκε σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p=0,03$ ).<sup>93</sup>

Παρόλο που η νευροβιολογική συσχέτιση μεταξύ του γονιδίου *ADH4* και της αθροιστικής κεφαλαλγίας είναι άγνωστη, η εμφάνιση ρυθμιστικής δράσης στη μεταγωγή σήματος μέσω των υποκρετινών από την πρόσληψη αλκοόλης θα μπορούσε να ήταν μια πιθανή ερμηνεία. Πειράματα σε αρουραίους έδειξαν ότι χορήγηση αλκοόλης αυξάνει την έκφραση υποκρετινών στον πλευρικό υποθάλαμο, ενώ ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση ενός ανταγωνιστή του υποδοχέα υποκρετινής τύπου 1, επηρεάζει τη συμπεριφορά ως προς την αναζήτηση αλκοόλ. Εναλλακτικά,

το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να οφείλεται σε ανισορροπία σύνδεσης του γονιδίου με άλλα γειτονικά γονίδια που σχετίζονται με την πάθηση.<sup>85</sup>

Οι Rainero et al, το 2010 δεν επιβεβαίωσαν τη συσχέτιση μεταξύ rs1800759 και αθροιστικής κεφαλαλγίας σε δείγμα 203 μαρτύρων και 110 ασθενών από τη Βόρεια Ιταλία.<sup>85</sup> Όμοια αποτελέσματα είχαν και οι Fourier et al το 2016 σε μία μεγάλη Σουηδική μελέτη ασθενών-μαρτύρων.<sup>83</sup> Οι Fan et al το 2018 σε μελέτη ασθενών-μαρτύρων Κινέζικης προέλευσης επίσης δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>84</sup>



# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 1.4 Σκοπός

Η Αθροιστική Κεφαλαλγία αποτελεί μία επώδυνη, δύσκολα διαγιγνώσιμη μορφή κεφαλαλγίας, η παθοφυσιολογία της οποίας παραμένει μόνο μερικώς κατανοητή. Η εύρεση γενετικών δεικτών που συσχετίζονται με την ασθένεια θα μπορούσε να βοηθήσει τόσο στην κλινική πράξη για την ευκολότερη διαφοροδιάγνωση της ασθένειας και την πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ασθενών στην φαρμακευτική αγωγή, όσο και στη βασική έρευνα για τον εντοπισμό των παθολογικών παραγόντων που την προκαλούν.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2653349 στο γονίδιο *HCRTR2*, rs5443 στο γονίδιο *GNB3* και rs1800759 στο γονίδιο *ADH4* με την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας σε δείγμα Νοτιοανατολικού Ευρωπαϊκού Καυκάσιου πληθυσμού ασθενών-μαρτύρων. Συσχετισμός αυτών των πολυμορφισμών με την αθροιστική κεφαλαλγία θα συνέβαλλε στην χρήση τους ως γενετικούς δείκτες για την προδιάθεση ενός ατόμου να εμφανίσει την ασθένεια αλλά και ως εργαλείο στη βασική έρευνα, ούτως ώστε να εντοπιστούν μοριακές δομές οι οποίες συντελούν στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Πληθυσμός Μελέτης

#### 2.1.1 Δείγμα Ασθενών

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 30 εθελοντές ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, οι οποίοι αξιολογήθηκαν από νευρολόγους στο ειδικό εξωτερικό ιατρείο κεφαλαλγίας του Αιγινήτειου Νοσοκομείου (Υπεύθυνος Ιατρός: Δήμος-Δημήτριος Μητσικώστας, Αναπληρωτής Καθηγητής) με βάση τα διαγνωστικά κριτήρια της Διεθνούς ταξινόμησης κεφαλαλγικών διαταραχών. Στην Ελλάδα, σύμφωνα με την Ελληνική Εταιρία Κεφαλαλγίας, ο αριθμός διαγεγνωσμένων περιστατικών αθροιστικής κεφαλαλγίας σύμφωνα με την ICHD είναι περίπου 300, επομένως οι ασθενείς που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη αποτελούν το 10% του συνόλου των ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία.

Από αυτούς τους ασθενείς, 26 ήταν άντρες (86,7%) και 4 γυναίκες.(13,3%) (Διάγραμμα 2.1) Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών ήταν τα 43 έτη, κυμαινόμενος από 23 εως 67 έτη. Από τη μελέτη αποκλείονταν άτομα με ηλικία κάτω των 18 ετών και άτομα με μη έγκυρη διάγνωση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας κατα ICHD-3.



Διάγραμμα 2.1 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία βάσει φύλου

Από το σύνολο των ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία, 24 διαγνώστηκαν με Επεισοδιακή Αθροιστική Κεφαλαλγία, ενώ 6 διαγνώστηκαν με Χρόνια Αθροιστική Κεφαλαλγία. (Διάγραμμα 2.2)



Διάγραμμα 2.2 Κατανομή εθελοντών ασθενών με βάση τον τύπο της Αθροιστικής Κεφαλαλγίας

Φαρμακευτική αγωγή με τριπτάνες για την συμπτωματική θεραπεία της Αθροιστικής Κεφαλαλγίας έλαβαν 23 από τους 30 ασθενείς, η πλειονότητα των οποίων ανταποκρινόταν πλήρως στη συγκεκριμένη φαρμακοθεραπεία. (Διάγραμμα 2.3)



Διάγραμμα 2.3 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση την χρήση τριπτανών ως φαρμακευτική αγωγή



Διάγραμμα 2.4 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση το κάπνισμα

Όσον αφορά το κάπνισμα, 23 από τους συνολικά 30 εθελοντές ασθενείς ήταν καπνιστές. (Διάγραμμα 2.4)

Αναφορικά με την κατανάλωση αλκοόλ, 1 εθελοντής δεν κατανάλωνε καθόλου αλκοόλ, 27 εθελοντές άνηκαν στην κατηγορία 1 κατανάλωσης αλκοόλ (0-20 gr/ημέρα για τις γυναίκες και 0-30 gr/ημέρα για τους άνδρες) και 2 εθελοντές άνηκαν στην κατηγορία 2 (20-40 gr/ημέρα για τις γυναίκες και 40-60 gr/ημέρα για τους άνδρες). (Διάγραμμα 2.5)

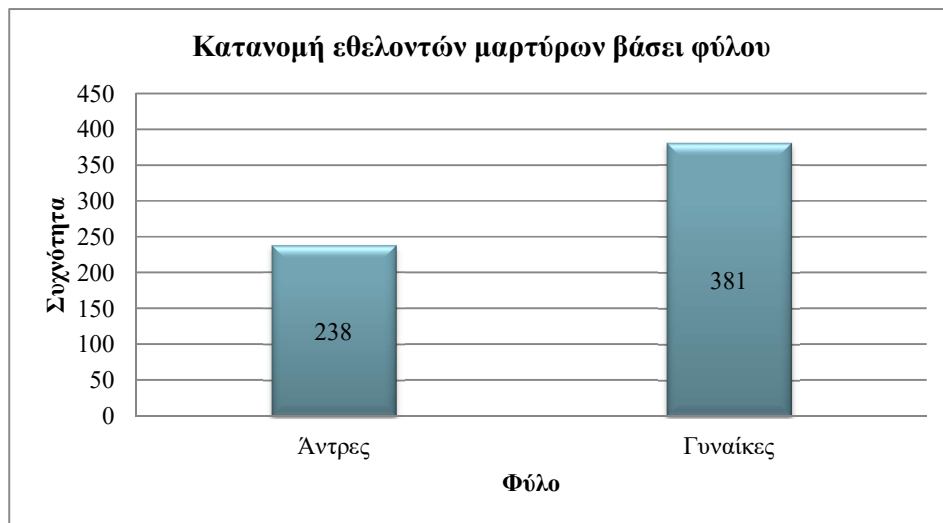


Διάγραμμα 2.5 Κατανομή εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία με βάση την κατηγορία κατανάλωσης αλκοόλ(1η:0-20 gr/ημέρα για τις γυναίκες και 0-30 gr/ημέρα για τους άνδρες, 2η:20-40 gr/ημέρα για τις γυναίκες και 40-60 gr/ημέρα για τους άνδρες, 3η: άνω των 40 gr/ημέρα για τις γυναίκες και άνω των 60 gr/ημέρα για τους άνδρες. Ενδεικτικά: ένα μπουκάλι κρασιού περιέχει 70gr αλκοόλης.)

### 2.1.2 Δείγμα Μαρτύρων

Το δείγμα μαρτύρων προερχόταν από 619, μη συγγενικά σχετιζόμενους εθελοντές Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης, εκ των οποίων 238 ήταν άντρες (38.4%) και 381 ήταν γυναίκες (61.6%)(Διάγραμμα 2.6). Η ηλικία των συμμετεχόντων κυμαινόταν από 19 έως 96 έτη, με μέσο όρο ηλικίας των συμμετεχόντων τα 48 έτη. Από τη μελέτη αποκλείονταν τα άτομα με ηλικία κάτω των 18 ετών.

Τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν μετά από τη λήψη γραπτής ενυπόγραφης συγκατάθεσης των εθελοντών για τη συμμετοχή τους, ανωνυμοποίηση και απο-ταυτοποίηση. Γνωστά στοιχεία είναι η ηλικία και το φύλο τους, ενώ δεν υπάρχουν πληροφορίες για την ύπαρξη ασθενειών. Συνεπώς, το δείγμα ανήκει στο γενικό πληθυσμό, καθώς η μόνη παράμετρος που λαμβάνεται υπόψη για τη μελέτη των πολυμορφισμών είναι ο γονότυπός τους.



Διάγραμμα 2.6 Κατανομή εθελοντών μαρτύρων με βάση το φύλο

### 2.2 Δεοντολογία

Για τη διεξαγωγή της μελέτης λήφθηκε έγκριση από την Επιτροπή Ηθικής του Αιγινήτειου Νοσοκομείου, Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν γραπτή ενυπόγραφη

συγκατάθεση για τη χρήση των δεδομένων τους και ακολούθησε συλλογή επιθηλιακών κυττάρων με τη χρήση βαμβακοφόρων στυλεών, ανωνυμοποίηση και απο-ταυτοποίηση σε όλα τα δείγματα.

### 2.3 Αντιδραστήρια/ Υλικά/ Εξοπλισμός

Για την εξαγωγή του DNA χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Thermo Fisher Scientific, USA
  - Λυτικό διάλυμα (PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer)
  - PureLink® Genomic Digestion Buffer
  - Διάλυμα έκπλυσης (Genomic Wash Buffer) 1
  - Διάλυμα έκπλυσης (Genomic Wash Buffer) 2
  - Διάλυμα έκλουσης (Genomic Elution Buffer)
  - RNάση A (20 mg/mL)
  - Πρωτεΐνάση K (20 mg/mL)
  - Spin Columns με σωλήνες περισυλλογής (Collection Tubes)
  - Σωλήνες περισυλλογής (Collection Tubes)
- Φυσιολογικός ορός (0,9 % NaCl, ΒΙΟΣΕΡ Α.Ε, Ελλάδα)
- Απόλυτη αιθανόλη EtOH ( Merck, 96-100%, Γερμανία)
- Απεσταγμένο και αποστειρωμένο H<sub>2</sub>O, ελεύθερο νουκλεασών και πυρετογόνων
- Μικροφυγόκεντρος (Sorvall/Mc 12V, DU PONT, Γαλλία)
- Επωαστήρας σωληναρίων (Techne DRI-BLOCK DB.3, Αγγλία)
- Συσκευή Vortex (Vibrofix VF1 Electronic και IKA-VIBRAX-VXR, IKA-Labortechnik, Γερμανία)
- Πιπέτες ακριβείας 0,1 – 20 μL, 50-200 μL και 50 -1000 μL (Gielson, Γαλλία)
- Αναλώσιμα στόμια μικροπιπετών 100μL, 200 μL και 1000μL (Saarstedt, Γερμανία)
- Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1,5 mL και 2,0 mL (Microtube Eppendorf, Γερμανία)
- Κυψελίδες

- Φωτόμετρο Biospec-Nano (Shimadzu, Japan)

Για τη διαδικασία της PCR:

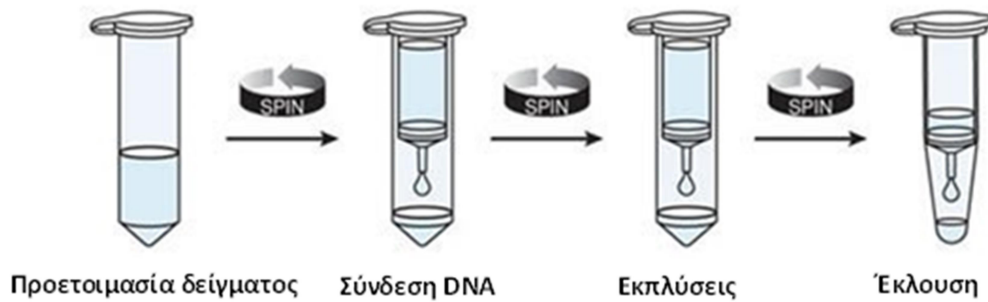
- Real Time PCR Light Cyclor 480 Roche, Γερμανία
- Light Snip, TibMolBiol, Γερμανία
- MgCl<sub>2</sub>
- 96X0,2ml plate (Kisker GbR, Germany)
- PCR clear Seal 135x80 (Nippon Genetics, Europe)
- Fast Start DNA Master Probe

#### 2.4 Απομόνωση Γενωμικού Υλικού

Κατά τη διαδικασία απομόνωσης γενωμικού υλικού (DNA), δείγμα επιθηλιακών κυττάρων συλλέχθηκε από τις παρειές της στοματικής κοιλότητας με ειδικό σπειρέο (Εικόνα 2.2) από τους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. Το γενωμικό DNA κατόπιν φυλάχθηκε στους -20°C. Για την απομόνωση του γενωμικού υλικού χρησιμοποιήθηκαν ειδικές στήλες απομόνωσης νουκλειικών οξέων (Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Thermo Fisher Scientific, USA). Με αυτό το kit γίνεται δυνατή η ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων και η απομόνωση ικανής ποσότητας DNA, έτοιμο για αντιδράσεις PCR.

Η αρχή μεθόδου απομόνωσης βασίζεται στην ειδική σύσταση των μεμβρανών (silica membrane technology). Με την χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων για έκπλυση και ρύθμιση του pH, κατάλληλων συγκεντρώσεων αλάτων και διαδοχικών φυγοκεντρήσεων, οι στήλες αυτές κατακρατούν από το κυτταρικό εκχύλισμα μόνο το DNA, το οποίο προσροφάται μέσω ενός έντονου σταδίου φυγοκέντρωσης πάνω στη μεμβράνη, ενώ οι πρωτεΐνες και οι λοιπές προσμίξεις αφήνονται να απομακρυνθούν από τη στήλη. Το DNA που λαμβάνεται εκλούεται σε ελαφρώς αλκαλικό διάλυμα (elution buffer) και είναι έτοιμο για αντιδράσεις PCR ή άλλες ενζυματικές διαδικασίες. Το DNA φυλάσσεται στους -20°C μετά την απομόνωσή του και παραμένει εκεί μέχρι τη χρήση του. (Εικόνα 2.1)





Εικόνα 2.1 Απομόνωση DNA με τη χρήση spin column

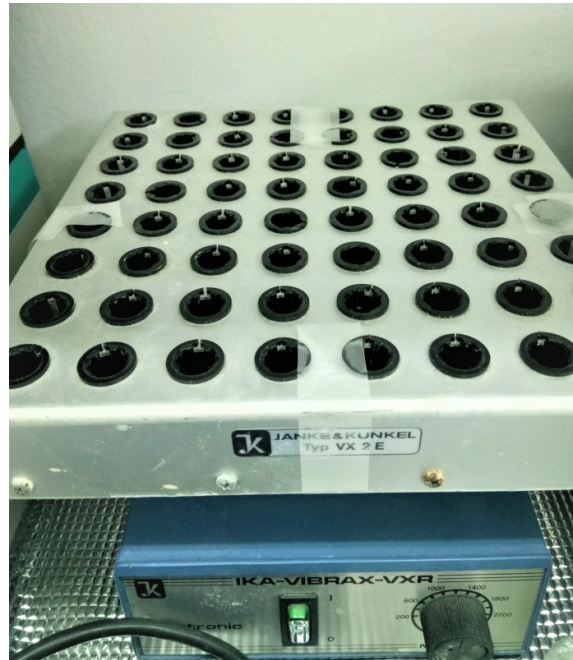
#### 2.4.1 Διαδικασία Απομόνωσης Γενωμικού Υλικού Απο Βαμβακοφόρο Στυλεό Με Τη Χρήση Invitrogen Kit

1. Κοπή των στυλεών και τοποθέτησή τους σε tube των 2,0μL.
2. Προσθήκη σε tube 400μL φυσιολογικού ορού.



Εικόνα 2.2 Αποστειρωμένοι Βαμβακοφόροι Στυλεοί

3. Τοποθέτηση δειγμάτων σε ανακινούμενη πλάκα (εικόνα 2.3) για 20 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά τη διάρκεια της παραπάνω διαδικασίας, τα δείγματα



Εικόνα 2.3 Ανακινούμενη Πλάκα Typ VX 2E, IKA-Labortechnik, Γερμανία

ανακινούνται στο μονό ανακινήτη (Vortex), ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

4. Φυγοκέντρηση για 15 λεπτά στις 12.000 στροφές ανα λεπτό στη φυγόκεντρο (Sorvall/Mc 12V, Γαλλία) (εικόνα 2.4). Ακολούθως κρατάμε το υγρό που περιέχει τα κύτταρα, ενώ απορρίπτουμε τη μπατονέτα.
5. Θέρμανση επωαστήρα σωληναρίων στους 55°C.
6. Προσθήκη 20μL διαλύματος πρωτεΐνης K (λύση των μεμβρανών).



Εικόνα 2.4 Μικροφυγόκεντρος (Sorvall/Mc 12V, DU PONT)

7. Προσθήκη 400μL λυτικού διαλύματος Lysis/Binding Buffer στο δείγμα και άμεση ανάδευση σε μονό ανακινητή (Vortex) (εικόνα 2.5) για 15 δευτερόλεπτα. (λύση των μεμβρανών).
8. Τοποθέτηση του tube στον επωαστήρα σωληναρίων Techne DRI-BLOCK DB.3 στους 55° C για τουλάχιστον 10 λεπτά και ανακίνηση στη συσκευή Vortex ανά τακτά διαστήματα. (λύση κυττάρων) (εικόνα 2.6).



Εικόνα 2.5 Συσκευή Vortex (Vibrofix VF1 Electronic και IKA-VIBRAX-VXR, IKA-Labortechnik, Γερμανία)

9. Προσθήκη 200μL απόλυτης αιθανόλης (96-100%) και ακολούθως έντονη ανάδευση στον μονό ανακινητή (Vortex). Η αιθανόλη έχει την ικανότητα κατακρήμνισης και δέσμευσης του DNA.
10. Μεταφορά όλου του περιεχομένου των σωληναρίων με πιπέτα στις ειδικές κολώνες απομόνωσης DNA.



Εικόνα 2.6 Επωαστήρας σωληναρίων(Techne DRI-BLOCK DB.3, UK)

11. Φυγοκέντρηση για 2 λεπτά στις 12000 στροφές ανα λεπτό. Με τη φυγοκέντρηση γίνεται διήθηση του μείγματος με αποτέλεσμα το επιθυμητό DNA να κατακρατείται στον ηθμό ενώ οτιδήποτε ανεπιθύμητο να αποβάλλεται στην κολώνα, απ'όπου και απορρίπτεται.
12. Προσθήκη 500μL ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 1 (Wash Buffer 1) και φυγοκέντρηση για 1 λεπτό στις 12000 στροφές ανα λεπτό. Απόρριψη του υγρού από τα φυαλίδια συλλογής.(έκπλυση)
13. Προσθήκη 500μL ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 2 (Wash Buffer 2) και φυγοκέντρηση για 3 λεπτά στις 12000 στροφές ανα λεπτό. Απόρριψη του υγρού από τα φυαλίδια συλλογής. (έκπλυση) (η έκλουση γίνεται δύο φορές για να πάρουμε μεγάλη ποσότητα υλικού).
14. Αναγραφή του αριθμού του εκάστοτε εξεταζόμενου εθελοντή στα φυαλίδια τύπου erpendorf 1,5 mL.

15. Τοποθέτηση των στηλών NucleoSpin Tissue Columns σε καθαρά φυαλίδια τύπου erpendorf 1,5 mL.
16. Προσθήκη 50μL διαλύματος έκλουσης (elution buffer) και φυγοκέντρηση του δείγματος για 1 λεπτό στις 12000 στροφές. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
17. Προσθήκη επιπλέον 50μL ρυμιστικού διαλύματος έκλουσης (elution buffer) και ακολούθως φυγοκέντρηση του δείγματος στις 12000 στροφές για 1 λεπτό.
18. Απόρριψη των στηλών (NucleoSpin Tissue Columns).

Το υγρό που συλλεγεται με την διαδικασία που έχει περιγραφεί περιέχει το DNA του εκάστου εξεταζόμενου εθελοντή και είναι έτοιμο για φωτομέτρηση και έπειτα PCR.

## 2.5 Φωτομέτρηση Δειγμάτων

Η διαδικασία φωτομέτρησης αποσκοπεί στον έλεγχο καθαρότητας και μέτρηση της ποσότητας του λαμβανόμενου DNA.

Η φασματοφωτομετρία βασίζεται στην ικανότητα των μορίων να απορροφούν εκλεκτικά μέρος της ακτινοβολίας του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλεπιδρά με την ύλη προκαλώντας διέγερση των ηλεκτρονίων των εξωτερικών στιβάδων και παροδική μετάπτωση τους σε μοριακά τροχιακά υψηλότερων ενεργειών. Κατά την αποδιέγερσή τους, τα μόρια αποδίδουν την ενέργεια που έχει απορροφηθεί είτε με τη μορφή θερμότητας είτε με τη μορφή φωσφορισμού ή φθορισμού.

Στη φασματοφωτομετρία υπεριώδους - ορατού (Ultraviolet/Visible, UV/Vis) με μήκος κύματος 200-750 nm, κάθε χημική ένωση παρουσιάζει τη μέγιστη απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε ένα χαρακτηριστικό μήκος κύματος ( $\lambda_{max}$ ). Τα νουκλεϊκά οξέα εμφανίζουν το μέγιστο της απορρόφησής τους στα 260 nm. Κατά τη φωτομέτρηση μετριέται η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο  $\lambda_{max}$  και με βάση το νόμο Lambert-Beer

υπολογίζεται η συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων με βάση την απορρόφηση αυτή.

Η μέτρηση της απορρόφησης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας πραγματοποιείται με το φασματοφωτόμετρο. Για τους πειραματικούς σκοπούς της παρούσας ερευνητικής εργασίας χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο απλής δέσμης BioPhotometer (EPPENDORF/Germany) το οποίο αποτελείται από:

- μία πηγή ακτινοβολίας
- έναν επιλογέα μήκους κύματος, που απομονώνει μονοχρωματική ακτινοβολία από το σύνολο του φάσματος που εκπέμπει η πηγή ακτινοβολίας
- μία κυψελίδα, στην οποία τοποθετείται το διάλυμα
- ένα ανιχνευτή, που μετατρέπει το εξερχόμενο από την κυψελίδα μονοχρωματικό φως σε ηλεκτρικό ρεύμα
- ένα όργανο καταγραφής, που περιλαμβάνει μια αναλογική ή ψηφιακή οθόνη στην οποία εμφανίζονται οι μετρήσεις της απορρόφησης.

---

#### 2.5.1 Διαδικασία Φασματοφωτομέτρησης δειγμάτων

- Προσθήκη 100  $\mu\text{L}$  water for injection στην κυψελίδα
- Φωτομέτρηση λευκού δείγματος.
- Προσθήκη 5  $\mu\text{L}$  DNA στην κυψελίδα και ανακίνηση.
- Φωτομέτρηση δείγματος DNA.

Για την εκτίμηση της καθαρότητας του δείγματος μετريέται η απορρόφηση σε δύο μήκη κύματος, στα 260 nm και στα 280 nm και στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος των δύο απορροφήσεων  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ :



- Λόγος  $A_{260nm}/A_{280nm}=1,8$  είναι χαρακτηριστικός διαλύματος καθαρού DNA και συνεπώς ο λόγος  $A_{260nm}/A_{280nm}$  μεταξύ 1,5 και 2 είναι αποδεκτός.

- Τιμές του λόγου  $A_{260nm}/A_{280nm}<1,7$  είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, συνήθως είτε πρωτεϊνών είτε φαινόλης που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διαδικασία της απομόνωσης.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA βασίζεται στο νόμο Lambert-Beer και αναμένεται συγκέντρωση DNA εντός του εύρους 5 έως 50 ng/μL, καθώς σε αυτές τις συγκεντρώσεις εμφανίζεται γραμμική συσχέτιση με την απορρόφηση στα 260 nm.

## 2.6 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time PCR)

Με αυτή την τεχνική, ένα ειδικό ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (probe) τοποθετείται στο 5' άκρο με ένα φθορίζον μόριο-ανταποκριτή (reporter molecule) και στο 3' άκρο με ένα μόριο-αποσβέστη (quencher molecule). Όταν κατά την PCR, οι εκκινητές συνδέονται με την αλληλουχία-στόχο, τότε το ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (probe) καταστρέφεται από τη DNA πολυμεράση, λόγω της ταυτόχρονης δράσης της ως 5-εξωνουκλεάσης και το φθορίζον μόριο-ανταποκριτής απομακρύνεται από το μόριο-αποσβέστη, με αποτέλεσμα την παρουσία σήματος φθορισμού, το οποίο και αυξάνεται ανάλογα με την αρχική ποσότητα του DNA στο δείγμα.

Η μεθοδολογία αυτή έχει πλέον καθιερωθεί και έχει αναπτυχθεί ειδική οργανολογία για το σκοπό αυτό, όπως ο θερμικός κυκλοποιητής Lightcycler® 480 της εταιρείας Roche Diagnostics, που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη. Η συσκευή Lightcycler® 480 αποτελεί έναν ταχύ θερμικό κυκλοποιητή με ικανότητα παρακολούθησης της PCR σε πραγματικό χρόνο (real time). Έτσι, επιτρέπει την ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των νουκλεϊκών οξέων-στόχων. Ο Light Cycler 480 (LC 480) παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης 96 δειγμάτων με

όγκους από 20 έως 100μL και χρησιμοποιεί 5 φίλτρα διέγερσης και 6 φίλτρα εκπομπής, τα οποία κάθε φορά συνδυάζονται κατάλληλα για την ακριβή ανίχνευση του φθορισμού. Αποτελείται από δύο κύρια συστήματα:

1. τη μονάδα του θερμικού κυκλοποιητή, που συνοδεύεται από τη θέση υποδοχής των πλακών πολλαπλών θέσεων
2. τη μονάδα ανίχνευσης, που αποτελείται από τη λάμπα Xenon, την οπτική μονάδα και τη CCD κάμερα.

Σημαντικό πλεονέκτημα του LC 480 η ταχύτητα της αντίδρασης, καθώς σε μόλις 30 λεπτά ολοκληρώνεται μία αντίδραση PCR 30 κύκλων.

Μετά την ολοκλήρωση την αντίδρασης της Real-time PCR, ακολουθεί ανάλυση καμπυλών τήξης (melting curve analysis) κατά την οποία ανιχνεύονται συγκεκριμένοι νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) και διαπιστώνεται αν δείγμα DNA ανήκει σε ετερόζυγο ή ομόζυγο για το φυσικό η μεταλλαγμένο αλληλόμορφο.

---

#### 2.6.1 Lightsnip

Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε τη μεθοδολογία LightSnip. Στην τεχνολογία αυτή χρησιμοποιείται ένας μοναδικός ανιχνευτής (SimpleProbe) που έχει τη δυνατότητα να δεσμεύεται στο πολυμορφικό και στο φυσικό αλληλόμορφο. Οποιαδήποτε ασυμβασία μεταξύ DNA και SimpleProbe μειώνει τους δεσμούς υδρογόνου και συνεπώς τη θερμοκρασία τήξης κατά την αποδιάταξη των αλυσίδων, καθιστώντας έτσι δυνατή την ανάλυση των πολυμορφισμών. Κατά την ανάλυση με LightSnip, ως σύστημα ανίχνευσης φθορισμού χρησιμοποιήθηκε το SimpleProbe®, το οποίο αποτελεί πατέντα της TIB-MOLBIOL (Γερμανία)

---

#### 2.6.2 Αναλυτική Διαδικασία Real Time PCR

Ο χώρος στον οποίο θα εκτελεστεί η διαδικασία ανάμειξης των αντιδραστηρίων (εκκινητές, πολυμεράση, νερό, μαγνήσιο) αποστειρώνεται με υπεριώδη ακτινοβολία (UV, 254nm). Ακολούθως, αποστειρώνονται με υπεριώδη ακτινοβολία οι πιπέττες, τα tips και τα υπόλοιπα σκεύη (τα οποία έχουν υποστεί υγρή



αποστείρωση) που θα χρησιμοποιηθούν κατά την διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας.

Όλα τα αντιδραστήρια είναι τοποθετημένα στην κατάψυξη. Η κατασκευάστρια εταιρεία (TibMolBiol) των εκκινητών (primers) και των ολιγονουκλεοτιδικών ανιχνευτών (probes) προτείνει συγκεκριμένο πρωτόκολλο για την επιτυχή διεξαγωγή των εκάστοτε PCR. Τα επιμέρους αντιδραστήρια και οι οδηγίες χρήσης τους περιλαμβάνονται στο kit LightSNip, το οποίο είναι διαφορετικό για κάθε πολυμορφισμό που πρόκειται να μελετηθεί. Σε κάθε kit LightSNip περιλαμβάνεται το Master mix, το οποίο περιέχει τα ολιγονουκλεοτίδια, τους ανιχνευτές και την θερμοανθεκτική πολυμεράση. Διάλυμα  $MgCl_2$  25mM (fast start) περιέχεται σε διαφορετικό φιαλίδιο. Το ύδωρ που χρησιμοποιείται είναι δις-απεσταγμένο, υπερκάθαρο, ελεύθερο ουσιών που μπορεί να αναστείλουν την PCR (PCR-Grade).

Οι αναλογίες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των πολυμορφισμών με τη διαδικασία της PCR αναγράφονται στον Πίνακα 2.1 και οι κύκλοι του LC 480 στον Πίνακα 2.2.

| Πίνακας 2.1 Γενικό πρωτόκολλο για παρασκευή μίγματος αντίδρασης |                     |
|---|---------------------|
| Αντιδραστήρια   | Θεμελιώδης ποσότητα |
| <b>Μίγμα αντίδρασης</b>   | <b>20μL</b>         |
| H <sub>2</sub> O  | 10,4 μL             |
| Reagent Mix   | 1,0 μL              |
| FastStart DNA Master  | 2,0 μL              |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM)  | 1,6 μL              |
| DNA   | 1,0-5,0 μL ( 50 ng) |
| <b>Τελική συγκέντρωση MgCl<sub>2</sub></b>                      | <b>3,0 mM</b>       |

| Πίνακας 2.2 Προγραμματισμός LightCycler® 480 |              |                |          |          |               |          |          |          |
|--|--------------|----------------|----------|----------|---------------|----------|----------|----------|
| Πρόγραμμα                                    | Denaturation | Cycling        |          |          | Melting       |          |          | Cooling  |
| Παράμετρος                                   |              |                |          |          |               |          |          |          |
| Analysis Mode                                | None         | Quantification |          |          | Melting Curve |          |          | None     |
| Cycles                                       | 1            | 45             |          |          | 1             |          |          | 1        |
| Segment                                      | 1            | 1              | 2        | 3        | 1             | 2        | 3        | 1        |
| Target [°C]                                  | 95           | 95             | 60       | 72       | 95            | 40       | 75       | 40       |
| Hold[hh:mm:ss]                               | 00:10:00     | 00:00:10       | 00:00:10 | 00:00:15 | 00:00:30      | 00:02:00 | 00:00:00 | 00:00:30 |
| <i>Ramp Rate</i> [°C/s] 384                  | 4.6          | 4.6            | 2.4      | 4.6      | 4.6           | 2.0      | -        | 2.0      |
| <i>Ramp Rate</i> [°C/s] 96                   | 4.4          | 4.4            | 2.2      | 4.4      | 4.4           | 1.5      | -        | 1.5      |
| Acquisition Mode                             | None         | None           | Single   | None     | None          | None     | Continu. | None     |
| Acquisitions [per °C]                        |              |                |          |          |               |          | 3        |          |

## 2.7 Στατιστική Ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και τη σύγκριση των συχνοτήτων των γονοτύπων και των αλληλομόρφων στους ασθενείς και τους μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές  $\chi^2$  (Pearson και Fischer exact). Για το σκοπό αυτό, σχεδιάστηκαν πίνακες συνάφειας 2x2 (1 βαθμός ελευθερίας) και 2x3 και υπολογίστηκαν οι σχετικοί λόγοι συμπληρωματικών πιθανοτήτων (Odds ratio - OR) καθώς και τα αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης (Confidence Interval-CI). Ο στατιστικός έλεγχος έγινε σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ . Για την εύρεση στατιστικής σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε η τιμή p value.

Το πακέτο SPSS (έκδοση 25.0 για Windows) χρησιμοποιήθηκε για τις στατιστικές αναλύσεις.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Συχνότητα εμφάνισης πολυμορφισμού rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* σε δείγμα μαρτύρων και ασθενών

Σε δείγμα 619 εθελοντών μαρτύρων έχει βρεθεί ότι η πλειοψηφία φέρει το φυσικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (G:G), με ποσοστό 79,2%. Ετερόζυγοι για αυτό τον πολυμορφισμό (G:A) εμφανίζονται σε ποσοστό 19,2% και ποσοστό 1,6% φέρει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία(A:A).(Πίνακας 3.1, Γράφημα 3.2 ) Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 88,8% ενώ το μεταλλαγμένο A εμφανίζεται σε ποσοστό 11,2%. (Πίνακας 3.2, Γράφημα 3.1)

Πίνακας 3.1 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | Μάρτυρες (N=619) |       |
|------------|---|-------|------------------|-------|
| <b>G:G</b> | 25                                      | 86,2% | 490              | 79,2% |
| <b>G:A</b> | 3                                       | 10,3% | 119              | 19,2% |
| <b>A:A</b> | 1                                       | 3,4%  | 10               | 1,6%  |

Πίνακας 3.2 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

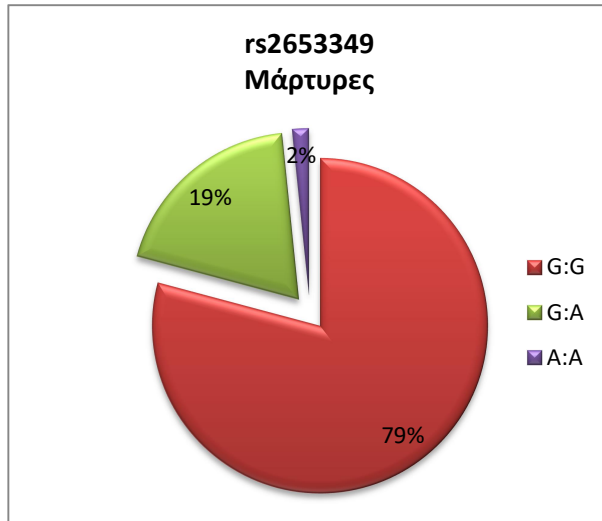
|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=58) |       | Μάρτυρες (N=1238) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|---|-------|-------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>G</b> | 53                                      | 91,4% | 1099              | 88,8% | 1,341 | 0,527-3,411 | 0,537   |
| <b>A</b> | 5                                       | 8,6%  | 139               | 11,2% |       |             |         |

Πίνακας 3.3 Σύγκριση γονοτύπων (G:G vs G:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

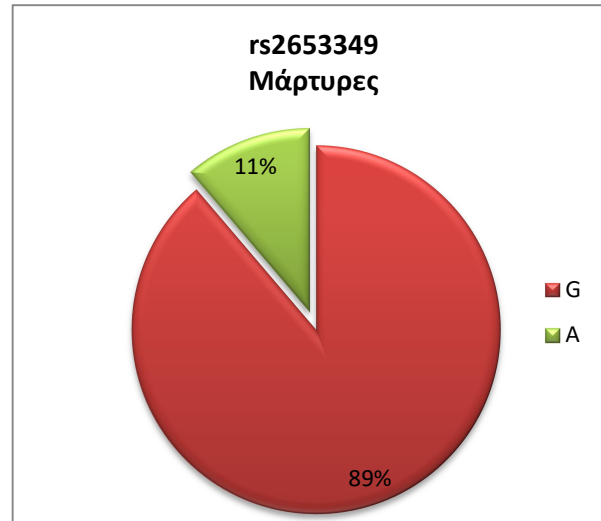
|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>G:G</b>         | 25                                      | 86,2% | 490              | 79,2% | 1,645 | 0,563-4,812 | 0,358   |
| <b>G:A και A:A</b> | 4                                       | 13,8% | 129              | 20,8% |       |             |         |

Πίνακας 3.4 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs G:A και G:G) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRT2* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)      | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------|-------|-------|--------------|---------|
| <b>A:A</b>         | 1                                       | 3,4%  | 10               | 1,6%  | 2,175 | 0,269-17,589 | 0,398   |
| <b>G:G και G:A</b> | 28                                      | 96,6% | 609              | 98,4% |       |              |         |



Γράφημα 3.1 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα μαρτύρων



Γράφημα 3.2 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα μαρτύρων

Σε δείγμα 29 εθελοντών ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία, η πλειοψηφία φέρει το φυσικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (G:G), με ποσοστό 86,2%. Ετερόζυγοι (G:A) εμφανίζονται σε ποσοστό 10,3% και ποσοστό 3,4% φέρει σε ομοζυγωτία το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο(A:A).(Πίνακας 3.1, Διάγραμμα 3.4) Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 91,4% ενώ το μεταλλαγμένο A αλληλόμορφο εμφανίζεται σε ποσοστό 8,6%. (Πίνακας 3.2, Διάγραμμα 3.3)



Γράφημα 3.3 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία



Γράφημα 3.4 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2653349 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία

### 3.2 Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs5443 του γονιδίου *GNB3* σε δείγμα μαρτύρων και ασθενών

Από τους 619 εθελοντές μάρτυρες, ποσοστό 44,1% φέρει το φυσικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (C:C), 42,6% είναι ετερόζυγοι (C:T) και 13,2% φέρει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία(T:T).(Πίνακας 3.5, Γράφημα 3.5) Το φυσικό αλληλόμορφο C εμφανίζεται σε ποσοστό 65,4% ενώ το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο εμφανίζεται σε ποσοστό 34,6%. (Πίνακας 3.6, Γράφημα 3.6)

Πίνακας 3.5 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=27) |       | Μάρτυρες (N=619) |       |
|------------|---|-------|------------------|-------|
| <b>C:C</b> | 12                                      | 44,4% | 273              | 44,1% |
| <b>C:T</b> | 14                                      | 51,9% | 264              | 42,6% |
| <b>T:T</b> | 1                                       | 3,7%  | 82               | 13,2% |

Πίνακας 3.6 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

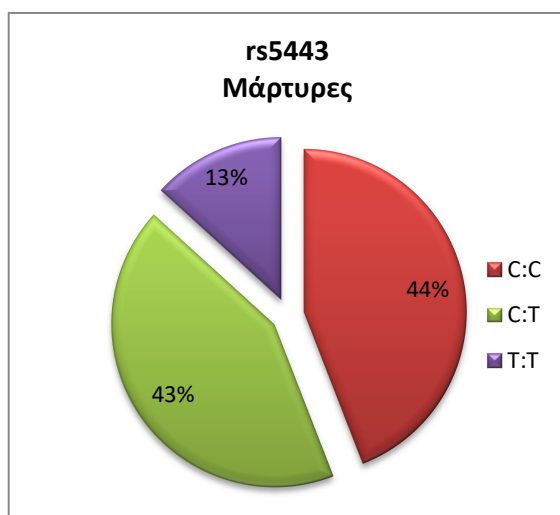
|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=54) |       | Μάρτυρες (N=1238) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|--|-------|-------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C</b> | 38                                       | 70,4% | 810               | 65,4% | 1,255 | 0,692-2,277 | 0,454   |
| <b>T</b> | 16                                       | 29,6% | 428               | 34,6% |       |             |         |

Πίνακας 3.7 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:T και T:T) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

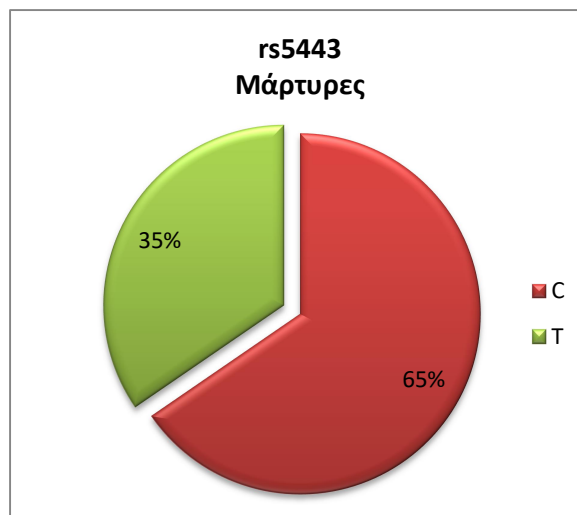
|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=27) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|--|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C:C</b>         | 12                                       | 44,4% | 273              | 44,1% | 1,014 | 0,467-2,202 | 0,972   |
| <b>C:T και T:T</b> | 15                                       | 55,6% | 346              | 55,9% |       |             |         |

Πίνακας 3.8 Σύγκριση γονοτύπων (T:T vs C:T και C:C) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=27) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|--|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>T:T</b>         | 1  | 3,7%  | 82               | 13,2% | 0,252 | 0,034-1,881 | 0,236   |
| <b>C:T και C:C</b> | 26                                       | 96,3% | 537              | 86,8% |       |             |         |

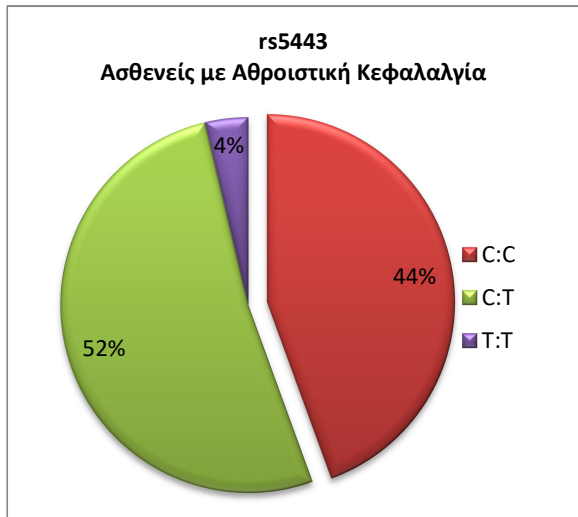


Γράφημα 3.5 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα μαρτύρων



Γράφημα 3.6 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα μαρτύρων

Από τους 29 εθελοντές ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία ποσοστό 44,4% φέρει φυσικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (C:C). Ετερόζυγοι (C:T) εμφανίζονται σε ποσοστό 51,9% και ποσοστό 3,7% εμφανίζεται ομόζυγο ως προς το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (T:T).(Πίνακας 3.3, Γράφημα 3.8) Το φυσικό αλληλόμορφο C εμφανίζεται σε ποσοστό 70,4% ενώ το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο εμφανίζεται σε ποσοστό 29,6%. (Πίνακας 3.4, Γράφημα 3.7)



Γράφημα 3.7 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία



Γράφημα 3.8 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs5443 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία

### 3.3 Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs1800759 του γονιδίου ADH4 σε δείγμα μαρτύρων και ασθενών

Από τους 619 εθελοντές μάρτυρες, ποσοστό 33,6% φέρει το φυσικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (C:C), ποσοστό 50,4% είναι ετερόζυγοι (C:A) και ποσοστό 16,0% φέρει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία(A:A). (Πίνακας 3.9, Γράφημα 3.12)Το φυσικό αλληλόμορφο C εμφανίζεται σε ποσοστό 58,8% ενώ το μεταλλαγμένο A αλληλόμορφο εμφανίζεται σε ποσοστό 41,2%. (Πίνακας 3.10, Γράφημα 3.11)



Πίνακας 3.9 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=25) |       | Μάρτυρες (N=619) |       |
|------------|---|-------|------------------|-------|
| <b>C:C</b> | 14                                      | 56,0% | 208              | 33,6% |
| <b>C:A</b> | 5                                       | 20,0% | 312              | 50,4% |
| <b>A:A</b> | 6                                       | 24,0% | 99               | 16,0% |

Πίνακας 3.10 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

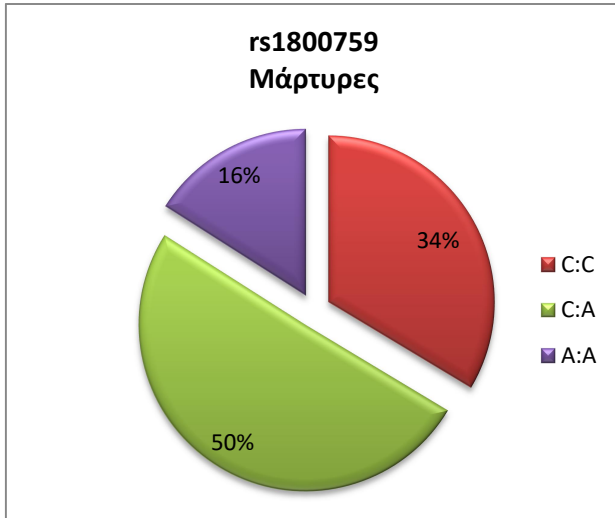
|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=50) |       | Μάρτυρες (N=1238) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|---|-------|-------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C</b> | 33                                      | 66,0% | 728               | 58,8% |       |             |         |
| <b>A</b> | 17                                      | 34,0% | 510               | 41,2% | 1,360 | 0,749-2,468 | 0,310   |

Πίνακας 3.11 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

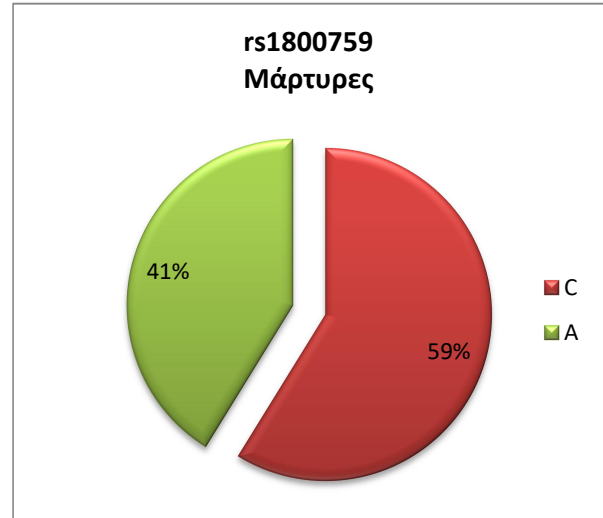
|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=25) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C:C</b>         | 14                                      | 56,0% | 208              | 33,6% |       |             |         |
| <b>C:A και A:A</b> | 11                                      | 44,0% | 411              | 66,4% | 2,515 | 1,122-5,637 | 0,021   |

Πίνακας 3.12 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs C:A και C:C) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=25) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>A:A</b>         | 6                                       | 24,0% | 99               | 16,0% |       |             |         |
| <b>C:A και C:C</b> | 19                                      | 76,0% | 520              | 84,0% | 1,659 | 0,646-4,258 | 0,274   |



Γράφημα 3.9 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία



Γράφημα 3.10 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα ασθενών με Αθροιστική Κεφαλαλγία

Από τους 29 εθελοντές ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία, ποσοστό 56,0% φέρει το φυσικό αλληλόμορφο (C:C) σε ομοζυγωτία. Ετερόζυγοι (C:A) εμφανίζονται σε ποσοστό 20,0% και 24,0% φέρει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (A:A). (Πίνακας 3.5, Γράφημα 3.9) Το φυσικό αλληλόμορφο C εμφανίζεται σε ποσοστό 66,0% ενώ το μεταλλαγμένο A αλληλόμορφο εμφανίζεται σε ποσοστό 34,0%. (Πίνακας 3.6, Γράφημα 3.10)



Γράφημα 3.12 Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα μαρτύρων



Γράφημα 3.11 Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs1800759 σε δείγμα μαρτύρων

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκαν σε δείγμα μαρτύρων-ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία, Νοτιοανατολικού Ευρωπαϊκού Καυκάσιου πληθυσμού, 2 γνωστοί σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) στα γονίδια *HCRTR2* (rs2653349) και *ADH4* (rs1800759), που συσχετίζονται με την ανάπτυξη αθροιστικής κεφαλαλγίας βάσει βιβλιογραφίας και του πολυμορφισμού rs5443 στο γονίδιο *GNB3*, που συσχετίζεται με την ανταπόκριση στην κύρια θεραπευτική αγωγή αυτής της σπάνιας (0,1% του πληθυσμού) επώδυνης νόσου, τις τριπτάνες.

Ο πολυμορφισμός rs5443 στο γονίδιο *GNB3*, παρόλο που βιβλιογραφικά έχει συσχετισθεί με την ανταπόκριση σε θεραπευτική αγωγή με τριπτάνες, στην παρούσα εργασία, δεδομένου ότι όλοι οι ασθενείς που λάμβαναν τριπτάνες ανταποκρίνονταν πλήρως, συσχετίσθηκε με την προδιάθεση για εμφάνιση της ασθένειας.

Οι μελετούμενοι πολυμορφισμοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την προδιάθεση ενός ατόμου να εμφανίσει την ασθένεια. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμεύσουν ως εργαλείο στη βασική έρευνα, ούτως ώστε να εντοπιστούν μοριακές δομές οι οποίες συντελούν στην παθοφυσιολογία της αθροιστικής κεφαλαλγίας.

### 4.1 Διαφορές στην κατανομή των φύλων μεταξύ ασθενών-μαρτύρων

Σύγκριση της κατανομής των φύλων μεταξύ ασθενών και μαρτύρων Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης έδειξε ότι ο αριθμός των αντρών διέφερε στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τον αριθμό των γυναικών μεταξύ εθελοντών ασθενών και μαρτύρων. ( $p \leq 0,001$ ). Πιο συγκεκριμένα, οι άντρες στο δείγμα των εθελοντών ασθενών ήταν 10 φορές περισσότεροι από τις γυναίκες σε σύγκριση με το δείγμα μαρτύρων. (OR:0,096, CI:0,033-0,279) (Πίνακας 4.1) Αυτό είναι αναμενόμενο, δεδομένου ότι η αθροιστική κεφαλαλγία, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, εμφανίζει αντρική υπεροχή.

Πίνακας 4.1 Σύγκριση κατανομής των φύλων μεταξύ ασθενών-μαρτύρων Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης

|                 | Μάρτυρες (N=619) |       | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|-----------------|------------------|-------|---|-------|-------|-------------|---------|
| <b>Άντρες</b>   | 238              | 38,4% | 26                                      | 86,7% | 0,096 | 0,033-0,279 | ≤0,001  |
| <b>Γυναίκες</b> | 381              | 61,6% | 4                                       | 13,3% |       |             |         |

#### 4.2 Πολυμορφισμός rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2*

Ο πολυμορφισμός rs2653349 (V308I) εντοπίζεται στο γονίδιο *HCRTR2* το οποίο κωδικοποιεί τον υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2. Πρόσφατα έχει βρεθεί ότι οι υποκρετίνες εμπλέκονται στη ρύθμιση του πόνου στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και σε νευροενδοκρινικές λειτουργίες, επομένως μπορεί να εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία των πρωτοπαθών κεφαλαλγιών.<sup>42,52</sup>

Σύμφωνα με τους Rainero et al και Schurks et al, τα άτομα που φέρουν το φυσικό G αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs2653349 σε ομοζυγωτία έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν αθροιστική κεφαλαλγία.<sup>54,56,98</sup> Τα δεδομένα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από τους Baumber et al.<sup>57</sup>

Μοριακά, έχει προταθεί ότι ο πολυμορφισμός rs2653349 δεν τροποποιεί τη θέση πρόσδεσης των υποκρετινών στον *HCRTR2*, αλλά μάλλον επιδρά στη διαδικασία διμερισμού του υποδοχέα στην επιφάνεια της μεμβράνης, επηρεάζοντας έτσι την υποκρετινεργική μεταγωγή σήματος.<sup>49,54</sup>

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και σύγκριση των συχνοτήτων κατανομής των αλληλομόρφων και γονοτύπων σε Νοτιοανατολικούς Ευρωπαίους Καυκάσιους ασθενείς-μάρτυρες, παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των ομάδων, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικές με στάθμη εμπιστοσύνης 95%. (G/A p=0,537, G:G/G:A+A:A p=0,358, A:A/A:G+G:G p=0,398). (Πίνακες 3.1, 3.3, 3.4) Το αλληλόμορφο A φαίνεται να εμφανίζεται 34% λιγότερο συχνά σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία από ότι στους μάρτυρες. (Πίνακας 3.2) Ωστόσο, το αποτέλεσμα αυτό δεν είναι στατιστικά σημαντικό (p=0,537) και έρχεται σε αντίθεση με παλαιότερες μελέτες: Οι Rainero et

al σε πληθυσμό από τη Βόρεια Ιταλία<sup>98</sup> και οι Schurks et al σε Γερμανικό πληθυσμό<sup>56</sup>, βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού στον υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2 με τον κίνδυνο για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σύμφωνα όμως με τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης των Baumber et al σε πληθυσμούς από τη Δανία, Σουηδία και Βρετανία<sup>57</sup> και των Weller et al σε πληθυσμό από την Ολλανδία<sup>99</sup>, οι οποίοι δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση των αλληλομόρφων και γονοτύπων του πολυμορφισμού αυτού με την προδιάθεση για εμφάνιση της ασθένειας.

Σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης των γονοτύπων και των αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2653349 μεταξύ ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία και μαρτύρων Ευρωπαϊκής προέλευσης τα δεδομένα των οποίων συλλέχθηκαν από την διαδικτυακή ιστοσελίδα ensemble, κατέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Πιο συγκεκριμένα, η εμφάνιση του φυσικού G αλληλομόρφου σε ομοζυγωτία ήταν τριπλάσια σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία σε σχέση με τους μάρτυρες από την Ευρώπη ( $p=0,030$ , OR:0,322, 95% CI: 0,110-0,940). (Πίνακας 4.3) Επίσης, το φυσικό αλληλομόρφο G εμφανίζεται 2,4 φορές συχνότερα στους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία σε σχέση με τους μάρτυρες. ( $p=0,059$ , OR:0,419, 95% CI: 0,165-1,062). (πίνακας 4.5)

Πίνακας 4.2 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197))

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=29) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       |
|------------|--|-------|------------------------------|-------|
| <b>G:G</b> | 25                                       | 86,2% | 336                          | 66,8% |
| <b>G:A</b> | 3  | 10,3% | 149                          | 29,6% |
| <b>A:A</b> | 1  | 3,4%  | 18                           | 3,6%  |

Πίνακας 4.3 Σύγκριση γονοτύπων (G:G vs G:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRT2* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197))

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>G:G</b>         | 25                                      | 86,2% | 336                          | 66,8% | 3,106 | 1,064-9,071 | 0,030   |
| <b>G:A και A:A</b> | 4                                       | 13,8% | 167                          | 33,2% |       |             |         |

Πίνακας 4.4 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs G:A και G:G) για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRT2* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197))

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=29) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|---|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>A:A</b>         | 1                                       | 3,4%  | 18                           | 3,6%  | 0,962 | 0,124-7,470 | 1,000   |
| <b>G:G και G:A</b> | 28                                      | 96,6% | 485                          | 96,4% |       |             |         |

Πίνακας 4.5 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2653349 του γονιδίου *HCRT2* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:55277039-5278039;v=rs2653349;vdb=variation;vf=2003197))

|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=58) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=1006) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|---|-------|-------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>G</b> | 53                                      | 91,4% | 821                           | 81,6% | 2,389 | 0,942-6,058 | 0,059   |
| <b>A</b> | 5                                       | 8,6%  | 185                           | 18,4% |       |             |         |

Παρόλο που στην Ευρώπη ο πολυμορφισμός αυτός φαίνεται να συσχετίζεται με την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας, στον πληθυσμό Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης ο πολυμορφισμός αυτός δε φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην προδιάθεση για εμφάνιση της ασθένειας οδηγώντας στην υπόθεση ότι άλλοι, ισχυρότεροι παράγοντες επιδρούν στην εμφάνιση της νόσου στον πληθυσμό αυτό.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δεν κατέδειξαν κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού rs2653349 στο γονίδιο *HCRT2*. Ωστόσο, δεδομένου του σημαντικού ρόλου των υποκρετινών σε πολλαπλές λειτουργίες που εμφανίζονται τροποποιημένες σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, όπως στη ρύθμιση του κύκλου ύπνου-αφύπνισης, στη νευροενδοκρινική ρύθμιση, στις αντιδράσεις στρες, στον πόνο και την αλγαισθησία τα πεπτίδια αυτά συνιστούν

μόρια “κλειδιά” για την παθοφυσιολογίας της ασθένειας. Μέτρηση των επιπέδων της υποκρετίνης στο πλάσμα ή το ENY ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αθροιστικής κεφαλαλγίας.

#### 4.3 Πολυμορφισμός rs5443 του γονιδίου *GNB3*

Ο πολυμορφισμός rs5443 (C825T) εντοπίζεται στο γονίδιο που κωδικοποιεί την β3 υπομονάδα(Gβ3) της G πρωτεΐνης (*GNB3*) και προκαλεί αύξηση στη μεταγωγή σήματος μέσω GPCR. Το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο του πολυμορφισμού συσχετίσθηκε με εναλλακτικό μάτισμα, αποτέλεσμα του οποίου είναι ο σχηματισμός της Gβ3-s υπομονάδας η οποία στερείται 123 νουκλεοτιδίων, οδηγώντας στο σχηματισμό πρωτεΐνης μικρότερης κατα 41 αμινοξέα. Ενώ οι ομόζυγοι φορείς του φυσικού C αλληλόμορφου εκφράζουν μόνο το άγριου τύπου γονιδιακό προϊόν, οι ετερόζυγοι και ομόζυγοι φορείς του μεταλλαγμένου T αλληλομόρφου εκφράζουν το mRNA τόσο της φυσικού τύπου Gβ3 όσο και της Gβ3-s.<sup>67</sup>

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη δραστικότητα της Gβ3-s είναι αντικρουόμενα.<sup>67</sup> Οι Sun et al υποστηρίζουν ότι Gβ3-s είναι ασταθής και λειτουργικά αδρανής πρωτεΐνη, υποδεικνύοντας ότι οι μηχανισμοί που σχετίζονται με τον πολυμορφισμό rs5443 πιθανώς οφείλονται στην μείωση της έκφρασης και της λειτουργίας της Gβ3 υπομονάδας.<sup>62</sup> Από την άλλη, οι Roszkopf et al υποστηρίζουν ότι η Gβ3-s είναι μία πλήρως λειτουργική πρωτεΐνη, ερμηνεύοντας με αυτό τον τρόπο την ενίσχυση στη μεταγωγή του σήματος μέσω GPCR υποδοχέων που προκαλείται από αυτό τον πολυμορφισμό.<sup>63</sup>

Βιβλιογραφικά, ο πολυμορφισμός rs5443 έχει συσχετισθεί με την ανταπόκριση σε θεραπευτική αγωγή με τριπτάνες. Πιο συγκεκριμένα, φορείς του παραλλαγμένου T αλληλομόρφου ανταποκρίνονται καλύτερα σε θεραπευτική αγωγή με τριπτάνες.<sup>82</sup>

Στην παρούσα μελέτη, δεδομένου ότι σχεδόν όλοι οι εθελοντές ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία ανταποκρίνονται πλήρως σε θεραπευτική αγωγή με τριπτάνες, έγινε προσπάθεια συσχέτισης του πολυμορφισμού rs5443 με την

προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας. Μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και σύγκριση των συχνοτήτων κατανομής των αλληλομόρφων και γονοτύπων σε μάρτυρες-ασθενείς εντοπίστηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικές με στάθμη εμπιστοσύνης 95% (C/T  $p=0,454$ , C:C/C:T+T:T  $p=0,972$ , T:T/T:C+C:C  $p=0,236$ ). (Πίνακες 3.5, 3.6, 3.7, 3.8) Το αλληλόμορφο T εμφανίζεται 25% λιγότερο συχνά σε ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία από ότι στους μάρτυρες ( $p=0,454$ ) (Πίνακας 3.6) και ο γονότυπος T:T εμφανίζεται σχεδόν 4 φορές περισσότερο στους μάρτυρες από ότι στους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία. ( $p=0,236$ ) (Πίνακας 3.8) Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι στατιστικά σημαντικά.

Παρομοίως, σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης των γονοτύπων και των αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs5443 μεταξύ ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία και μαρτύρων Ευρωπαϊκής προέλευσης, τα δεδομένα των οποίων συλλέχθηκαν από την διαδουκτική ιστοσελίδα ensemble, δεν κατέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. (C/T  $p=0,866$ , C:C/C:T και T:T  $p=0,695$ , T:T/T:C και C:C  $p=0,499$ ). (Πίνακες 4.6, 4.7, 4.8, 4.9)

Πίνακας 4.6 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182))

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=27) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       |
|------------|---|-------|------------------------------|-------|
| <b>C:C</b> | 12                                      | 44,4% | 243                          | 48,3% |
| <b>C:T</b> | 14                                      | 51,9% | 211                          | 41,9% |
| <b>T:T</b> | 1                                       | 3,7%  | 49                           | 9,7%  |

Πίνακας 4.7 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:T και T:T) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182))

|                   | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=27) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|-------------------|---|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C:C</b>        | 12                                      | 44,4% | 243                          | 48,3% | 0,886 | 0,407-1,929 | 0,760   |
| <b>C:Tκαι T:T</b> | 15                                      | 55,6% | 269                          | 51,7% |       |             |         |



Πίνακας 4.8 Σύγκριση γονοτύπων (T:T vs C:T και C:C) για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.

[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182)

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=27) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|--|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>T:T</b>         | 1  | 3,7%  | 49                           | 9,7%  | 0,356 | 0,047-2,683 | 0.499   |
| <b>C:T και C:C</b> | 26                                       | 96,3% | 454                          | 90,3% |       |             |         |

Πίνακας 4.9 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs5443 του γονιδίου *GNB3* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.

[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:6845211-6846211;v=rs5443;vdb=variation;vf=5182)

|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=54) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=1006) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|--|-------|-------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C</b> | 38                                       | 70,4% | 697                           | 69,3% | 1,053 | 0,578-1,917 | 0,866   |
| <b>T</b> | 16                                       | 29,6% | 309                           | 30,7% |       |             |         |

#### 4.4 Πολυμορφισμός rs1800759 του γονιδίου *ADH4*

Ο πολυμορφισμός rs1800759 εντοπίζεται στον υποκινητή του γονιδίου *ADH4*. Η δραστικότητα του υποκινητή αυξάνεται παρουσία του παραλλαγμένου -75A αλληλομόρφου, μεταβάλλοντας έτσι την έκφραση της *ADH4* π-υπομονάδας. Δεδομένου του σημαντικού ρόλου αυτού του ενζύμου στον μεταβολισμό της αιθανόλης και του ότι η λήψη αλκοόλ μπορεί να πυροδοτήσει κρίσεις αθροιστικής κεφαλαλγίας κατά τη διάρκεια μιας αθροιστικής περιόδου, το γονίδιο *ADH4* αποτελεί υποψήφιο γονίδιο μελέτης για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αθροιστικής κεφαλαλγίας.<sup>84,86,88</sup>

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας, μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και σύγκριση των συχνοτήτων κατανομής των αλληλομόρφων και γονοτύπων σε μάρτυρες-ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων για τους γονότυπους C:C έναντι των C:A και A:A ( OR=0,398, CI=0,177-0,891, p=0,021) με

στάθμη εμπιστοσύνης 95%. (Πίνακας 3.11) Στους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία παρατηρήθηκε 2,5 φορές συχνότερη εμφάνιση του γονότυπου C:C έναντι των γονοτύπων C:A και A:A, σε σχέση με τους μάρτυρες. (C/A  $p=0,310$ , A:A/A:C και C:C  $p=0,274$ ). (Πίνακες 3.9, 3.10, 3.12)

Μετά από σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης των γονοτύπων και των αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs1800759 μεταξύ ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία και μαρτύρων Ευρωπαϊκής προέλευσης, τα δεδομένα των οποίων συλλέχθηκαν από την διαδυκτική ιστοσελίδα ensemble, δεν εμφανίστηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά, γεγονός που υποδεικνύει ότι η προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό μάλλον δεν επηρεάζεται από αυτό τον πολυμορφισμό. (Πίνακες 4.10, 4.11, 4.12, 4.13)

Πίνακας 4.10 Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892))

|            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=25) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       |
|------------|--|-------|------------------------------|-------|
| <b>C:C</b> | 14                                       | 56,0% | 180                          | 35,8% |
| <b>C:A</b> | 5  | 20,0% | 248                          | 49,3% |
| <b>A:A</b> | 6  | 24,0% | 75                           | 14,9% |

Πίνακας 4.11 Σύγκριση γονοτύπων (C:C vs C:A και A:A) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892))

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=25) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|--|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C:C</b>         | 14                                       | 56,0% | 180                          | 35,8% | 2,284 | 1,016-5,136 | 0,041   |
| <b>C:A και A:A</b> | 11                                       | 44,0% | 323                          | 64,2% |       |             |         |

Πίνακας 4.12 Σύγκριση γονοτύπων (A:A vs C:A και C:C) για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892))

|                    | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=25) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=503) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|--------------------|--|-------|------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>A:A</b>         | 6  | 24,0% | 75                           | 14,9% | 1,802 | 0,697-4,660 | 0,250   |
| <b>C:A και C:C</b> | 19                                       | 76,0% | 428                          | 85,1% |       |             |         |

Πίνακας 4.13 Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs1800759 του γονιδίου *ADH4* στους μάρτυρες Ευρωπαϊκής προέλευσης και στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία. ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:99143858-99144858;v=rs1800759;vdb=variation;vf=1242892))

|          | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία (N=50) |       | Ευρωπαϊκός πληθυσμός (N=1006) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------|--|-------|-------------------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>C</b> | 33                                       | 66,0% | 608                           | 60,4% | 1,271 | 0,698-2,312 | 0,432   |
| <b>A</b> | 17                                       | 34,0% | 398                           | 39,6% |       |             |         |

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έρχονται σε αντίθεση με αυτά των Zarilli et al<sup>93</sup>, οι οποίοι βρήκαν ότι η συχνότητα του μεταλλαγμένου A αλληλομόρφου στο γονίδιο *ADH4* εμφανίστηκε σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με αθροιστική κεφαλαλγία σε σύγκριση με τους μάρτυρες (p=0,03). Επίσης έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των Fourier et al<sup>83</sup> σε Σουηδικό πληθυσμό ασθενών-μαρτύρων και των Fan et al<sup>84</sup> σε Κινέζικο πληθυσμό ασθενών-μαρτύρων οι οποίοι δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με την ασθένεια.

#### 4.5 Συχνότητα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών στα *HCRTR2*, *GNB3* και *ADH4* γονίδια σε ασθενείς και μάρτυρες

Μετά από σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης του συνδυασμού των γονοτύπων και των 3 πολυμορφισμών στα γονίδια *HCRTR2*, *GNB3* και *ADH4* στους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία και τους μάρτυρες, βρέθηκε ότι οι ασθενείς που έφεραν ταυτόχρονα ομοζυγωτία για το φυσικό G αλληλόμορφο (G:G) του rs2653349, ετεροζυγωτία για τον rs5443 (C:T) και ομοζυγωτία για το φυσικό C αλληλόμορφο (C:C) του rs1800759 ήταν 3,4 φορές (OR 3,362 CI 1,403-8,057) περισσότεροι σε σχέση με τους Νοτιοανατολικούς Ευρωπαίους Καυκάσιους μάρτυρες σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. (p=0,010) (Πίνακας 4.14) Αυτό υποδεικνύει ότι η εμφάνιση αυτού του απλοτύπου ίσως συμβάλλει στην προδιάθεση για εμφάνιση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας.

Πίνακας 4.14 Κατανομή γονοτύπων G:G+C:T+C:C για τους πολυμορφισμούς rs2653349, rs5443 και rs1800759 αντίστοιχα στους μάρτυρες και τους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία.

|                            | Ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία(N=25) |       | Μάρτυρες (N=619) |       | OR    | CI(95%)     | p-value |
|----------------------------|---|-------|------------------|-------|-------|-------------|---------|
| <b>G:G+C:T+C:C</b>         | 8                                       | 32,0% | 76               | 12,3% | 3,362 | 1,403-8,057 | 0,010   |
| <b>Υπόλοιποι απλότυποι</b> | 17                                      | 68,0% | 543              | 87,7% |       |             |         |

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας υποδεικνύουν ότι τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα των πολυμορφισμών rs2653349 στο γονίδιο του υποδοχέα υποκρετίνης τύπου 2 (*HCRTR2*) και rs5443 στο γονίδιο της β3 υπομονάδας της G πρωτεΐνης (*GNB3*) εμφανίζονται συχνότερα στους Νοτιοανατολικούς Ευρωπαίους Καυκάσιους μάρτυρες σε σχέση με τους ασθενείς με Αθροιστική Κεφαλαλγία, χωρίς ωστόσο τα αποτελέσματα αυτά να είναι στατιστικά σημαντικά.

Αντίθετα, ομοζυγωτία για το φυσικό C αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs1800759 στο γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης 4 (*ADH4*) φαίνεται να συμβάλλει στην προδιάθεση για εμφάνιση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας. Επίσης, ταυτόχρονη εμφάνιση του G:G γονότυπου για τον rs2653349, του C:T γονότυπου για τον rs5443 και του C:C για τον rs1800759 ίσως συμβάλλει στην προδιάθεση για εμφάνιση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας.

Το γεγονός ότι για τον πολυμορφισμό rs2653349 βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας γενικότερα στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό σε αντίθεση με τον πληθυσμό της παρούσας εργασίας, καταδεικνύει ότι οι 2 πληθυσμοί διαφέρουν γονιδιακά ως προς αυτό το χαρακτηριστικό.

### Περιορισμοί Μελέτης

---

Περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτελεί το μικρό δείγμα εθελοντών ασθενών με αθροιστική κεφαλαλγία. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η αθροιστική κεφαλαλγία υπάγεται στις σπάνιες παθήσεις, εμφανίζοντας πολύ μικρό επιπολασμό στον πληθυσμό. Περαιτέρω γονιδιακές μελέτες με μεγαλύτερο πλήθος εθελοντών ασθενών πρέπει να γίνουν. Επίσης, μεγαλύτερος αριθμός γονιδίων θα πρέπει να μελετηθεί ως προς την προδιάθεση για εμφάνιση αθροιστικής κεφαλαλγίας και την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Láinez MJA, Guillamón E. Cluster headache and other TACs: Pathophysiology and neurostimulation options. *Headache J Head Face Pain*. 2017;57(2):327-335. doi:10.1111/head.12874.
2. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*. 2018;38(1):1-211. doi:10.1177/0333102417738202.
3. Nesbitt AD, Goadsby PJ. Cluster headache. *Bmj*. 2012;344(apr11 1):e2407-e2407. doi:10.1136/bmj.e2407.
4. Costa A, Antonaci F, Ramusino MC, Nappi G. The Neuropharmacology of Cluster Headache and other Trigeminal Autonomic Cephalalgias. *Curr Neuropharmacol*. 2015;13(3):304-323. doi:10.2174/1570159X13666150309233556.
5. Goadsby PJ. Pathophysiology of cluster headache: a trigeminal autonomic cephalgia. *Lancet Neurol*. 2002;1(4):251-257. doi:10.1016/S1474-4422(02)00104-7.
6. May A. Cluster headache: pathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet*. 2005;366(9488):843-855. doi:10.1016/S0140-6736(05)67217-0.
7. Leone M, Bussone G. Pathophysiology of trigeminal autonomic cephalalgias. *Lancet Neurol*. 2009;8(8):755-764. doi:10.1016/S1474-4422(09)70133-4.
8. Fischera M, Marziniak M, Gralow I, Evers S. The Incidence and Prevalence of Cluster Headache: A Meta-Analysis of Population-Based Studies. *Cephalalgia*. 2008;28(6):614-618. doi:10.1111/j.1468-2982.2008.01592.x.
9. Sjaastad O, Bakketeig L. Cluster headache prevalence. Vaga study of headache epidemiology. *Cephalalgia*. 2003;23(7):528-533. doi:10.1046/j.1468-2982.2003.00585.x.

10. Leone M, Proietti Cecchini A. Advances in the understanding of cluster headache. *Expert Rev Neurother.* 2017;17(2):165-172. doi:10.1080/14737175.2016.1216796.
11. Leone M, Bussone G. A Review of Hormonal Findings in Cluster Headache. Evidence for Hypothalamic Involvement. *Cephalalgia.* 1993;13(5):309-317. doi:10.1046/j.1468-2982.1993.1305309.x.
12. Waldenlind E, Sjöstrand C. *Pathophysiology of Cluster Headache and Other Trigeminal Autonomic Cephalalgias.*; 2010. doi:10.1016/S0072-9752(10)97033-4.
13. Krabbe AA. Cluster headache: a review. *Acta Neurol Scand.* 1986;74(1):1-9. doi:10.1111/j.1600-0404.1986.tb04617.x.
14. Millan Guerrero RO, Isais Cardenas MA, Antonio Ocampo A, Pacheco MF. Histamine as a Therapeutic Alternative in Migraine Prophylaxis: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study. *Headache J Head Face Pain.* 1999;39(8):576-580. doi:10.1046/j.1526-4610.1999.3908576.x.
15. Leone M, Cecchini AP, Tullo V, Curone M, Di Fiore P, Bussone G. Cluster headache: What has changed since 1999? *Neurol Sci.* 2013;34(SUPPL. 1):1999-2001. doi:10.1007/s10072-013-1365-1.
16. Barloese MCJ. The pathophysiology of the trigeminal autonomic cephalalgias, with clinical implications. *Clin Auton Res.* 2017:1-10. doi:10.1007/s10286-017-0468-9.
17. Ashina H, Newman L, Ashina S. Calcitonin gene-related peptide antagonism and cluster headache: an emerging new treatment. *Neurol Sci.* 2017;38(12):2089-2093. doi:10.1007/s10072-017-3101-8.
18. May A, Goadsby PJ. The Trigeminovascular System in Humans: Pathophysiologic Implications for Primary Headache Syndromes of the Neural Influences on the Cerebral Circulation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19(2):115-127. doi:10.1097/00004647-199902000-00001.

19. Yang F-C, Chou K-H, Kuo C-Y, Lin Y-Y, Lin C-P, Wang S-J. The pathophysiology of episodic cluster headache: Insights from recent neuroimaging research. *Cephalalgia*. 2017;0(201):33310241771693. doi:10.1177/0333102417716932.
20. Ofte HK, Berg DH, Bekkelund SI, Alstadhaug KB. Insomnia and Periodicity of Headache in an Arctic Cluster Headache Population. *Headache J Head Face Pain*. 2013;53(10):1602-1612. doi:10.1111/head.12241.
21. Rozen TD, Fishman RS. Cluster Headache in the United States of America: Demographics, Clinical Characteristics, Triggers, Suicidality, and Personal Burden\*. *Headache J Head Face Pain*. 2012;52(1):99-113. doi:10.1111/j.1526-4610.2011.02028.x.
22. Russell D, Lippe A von der. Cluster Headache: Heart Rate and Blood Pressure Changes During Spontaneous Attacks. *Cephalalgia*. 1982;2(2):61-70. doi:10.1046/j.1468-2982.1982.0202061.x.
23. Russell D, Storstein L. Cluster Headache: A Computerized Analysis of 24 h Holter ECG Recordings and Description of ECG Rhythm Disturbances. *Cephalalgia*. 1983;3(2):83-107. doi:10.1046/j.1468-2982.1983.0302083.x.
24. A. A, A. C, M. Q, et al. Sinus Bradycardia, Junctional Rhythm and Blood Pressure Increase During Repeated Cluster Headache Attacks. *Headache J Head Face Pain*. 2005;30(8):509-510. doi:10.1111/j.1526-4610.1990.hed3008509.x.
25. Micieli G, Cavallini A, Bosone D, et al. Imbalance of heart rate regulation in cluster headache as based on continuous 24-h recordings. *Clin Auton Res*. 1993;3(5):291-298. doi:10.1007/BF01827329.
26. Ashkenazi A, Schwedt T. Cluster headache-acute and prophylactic therapy. *Headache J Head Face Pain*. 2011;51(2):272-286. doi:10.1111/j.1526-4610.2010.01830.x.
27. Tfelt-Hansen PC, Jensen RH. Management of Cluster Headache. *CNS Drugs*. 2012;26(7):571-580. doi:10.2165/11632850-000000000-00000.



28. Gooriah R, Buture A, Ahmed F. Evidence-based treatments for cluster headache. *Ther Clin Risk Manag.* 2015;11:1687-1696. doi:10.2147/TCRM.S94193.
29. Becker WJ. Cluster Headache: Conventional Pharmacological Management. *Headache J Head Face Pain.* 2013;53(7):1191-1196. doi:10.1111/head.12145.
30. British Medical Association and the Royal Pharmaceutical Society. *British National Formulary (BNF)*. 74th ed. BMJ Publishing Group and Pharmaceutical Press; 2017.
31. Classey JD, Bartsch T, Goadsby PJ. Distribution of 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> and 5-HT<sub>1F</sub> receptor expression in rat trigeminal and dorsal root ganglia neurons: Relevance to the selective anti-migraine effect of triptans. *Brain Res.* 2010;1361:76-85. doi:https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.004.
32. Schytz HW, Hargreaves R, Ashina M. Challenges in developing drugs for primary headaches. *Prog Neurobiol.* 2017;152:70-88. doi:https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.005.
33. Tfelt-Hansen P, Tfelt-Hansen J. Verapamil for Cluster Headache. Clinical Pharmacology and Possible Mode of Action. *Headache J Head Face Pain.* 2009;49(1):117-125. doi:10.1111/j.1526-4610.2008.01298.x.
34. Neeb L, Anders L, Euskirchen P, Hoffmann J, Israel H, Reuter U. Corticosteroids alter CGRP and melatonin release in cluster headache episodes. *Cephalalgia.* 2015;35(4):317-326. doi:10.1177/0333102414539057.
35. Neeb L, Anders L, Euskirchen P, Hoffmann J, Israel H, Reuter U. Corticosteroids alter CGRP and melatonin release in cluster headache episodes. *Cephalalgia.* 2015;35(4):317-326. doi:10.1177/0333102414539057.
36. Olesen J. Nitric oxide-related drug targets in headache. *Neurotherapeutics.* 2010;7(2):183-190. doi:10.1016/j.nurt.2010.03.006.
37. OLESEN J. The role of nitric oxide (NO) in migraine, tension-type headache and

- cluster headache. *Pharmacol Ther.* 2008;120(2):157-171. doi:10.1016/j.pharmthera.2008.08.003.
38. Steinberg A, Nilsson Remahl AIM. Role of Nitric Oxide in Cluster Headache. *Curr Pain Headache Rep.* 2012;16(2):185-190. doi:10.1007/s11916-012-0250-6.
  39. Tepper SJ, Stillman MJ. Cluster headache: Potential options for medically refractory patients (when all else fails). *Headache J Head Face Pain.* 2013;53(7):1183-1190. doi:10.1111/head.12148.
  40. Haghparast A, Fatahi Z, Arezoomandan R, Karimi S, Taslimi Z, Zarrabian S. Functional roles of orexin/hypocretin receptors in reward circuit. In: Calvey T, Daniels WMU, eds. *Brain Research in Addiction*. Vol 235. Progress in Brain Research. Elsevier; 2017:139-154. doi:10.1016/bs.pbr.2017.08.005.
  41. Chieffi S, Carotenuto M, Monda V, et al. Orexin System: The Key for a Healthy Life. *Front Neurol.* 2017;8:357. doi:10.3389/fphys.2017.00357.
  42. Thompson MD, Xhaard H, Sakurai T, Rainero I, Kukkonen JP. OX(1) and OX(2) orexin/hypocretin receptor pharmacogenetics. *Front Neurosci.* 2014;8:57. doi:10.3389/fnins.2014.00057.
  43. Scammell TE, Winrow CJ. Orexin Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2011;51(1):243-266. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010510-100528.
  44. Holland P, Goadsby PJ. The hypothalamic orexinergic system: pain and primary headaches. *Headache.* 2007;47(6):951-962. doi:10.1111/j.1526-4610.2007.00842.x.
  45. Yamanaka A, Muraki Y, Ichiki K, et al. Orexin Neurons Are Directly and Indirectly Regulated by Catecholamines in a Complex Manner. *J Neurophysiol.* 2006;96(1):284-298. doi:10.1152/jn.01361.2005.
  46. Yamanaka A, Muraki Y, Tsujino N, Goto K, Sakurai T. Regulation of orexin

- neurons by the monoaminergic and cholinergic systems. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;303(1):120-129. doi:[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00299-7](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00299-7).
47. Li Y, Gao X-B, Sakurai T, van den Pol AN. Hypocretin/Orexin Excites Hypocretin Neurons via a Local Glutamate Neuron—A Potential Mechanism for Orchestrating the Hypothalamic Arousal System. *Neuron.* 2002;36(6):1169-1181. doi:10.1016/S0896-6273(02)01132-7.
  48. Liu Z-W, Gao X-B. Adenosine Inhibits Activity of Hypocretin/Orexin Neurons by the A1 Receptor in the Lateral Hypothalamus: A Possible Sleep-Promoting Effect. *J Neurophysiol.* 2007;97(1):837-848. doi:10.1152/jn.00873.2006.
  49. Chiou L-C, Lee H-J, Ho Y-C, et al. Orexins/Hypocretins: Pain Regulation and Cellular Actions. *Curr Pharm Des.* 2010;16(28):3089-3100. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/138161210793292483>.
  50. Kukkonen JP. Physiology of the orexinergic/hypocretinergic system: a revisit in 2012. *Am J Physiol Physiol.* 2012;304(1):C2-C32. doi:10.1152/ajpcell.00227.2012.
  51. Flores Á, Maldonado R, Berrendero F. Cannabinoid-hypocretin cross-talk in the central nervous system: what we know so far. *Front Neurosci.* 2013;7:256. doi:10.3389/fnins.2013.00256.
  52. Rainero I, Rubino E, Valfrè W, et al. Association between the G1246A polymorphism of the hypocretin receptor 2 gene and cluster headache: a meta-analysis. *J Headache Pain.* 2007;8(3):152-156. doi:10.1007/s10194-007-0383-x.
  53. Thompson MD, Sakurai T, Rainero I, Maj MC KJ. Orexin Receptor Multimerization versus Functional Interactions: Neuropharmacological Implications for Opioid and Cannabinoid Signalling and Pharmacogenetics. *Pharmaceuticals.* 2017;10(4):79. doi:10.3390/ph10040079.
  54. Rainero I, De Martino P, Pinessi L. Hypocretins and primary headaches:

- Neurobiology and clinical implications. *Expert Rev Neurother.* 2008. doi:10.1586/14737175.8.3.409.
55. Razavi BM, Hosseinzadeh H. A review of the role of orexin system in pain modulation. *Biomed Pharmacother.* 2017. doi:10.1016/j.biopha.2017.03.053.
  56. Schürks M, Kurth T, Geissler I, Tessmann G, Diener H, Roszkopf D. Cluster headache is associated with the G1246A polymorphism in the hypocretin receptor 2 gene. *Neurology.* 2006;66:1917-1919.
  57. Baumber L, Sjöstrand C, Leone M, et al. A genome-wide scan and HCRTR2 candidate gene analysis in a European cluster headache cohort. *Neurology.* 2006;66:1888-1893.
  58. Schürks M, Kurth T, Geissler I, Tessmann G, Diener HC, Roszkopf D. The G1246A polymorphism in the hypocretin receptor 2 gene is not associated with treatment response in cluster headache. *Cephalalgia.* 2007. doi:10.1111/j.1468-2982.2007.01287.x.
  59. Oldham WM, Hamm HE. Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(1):60-71. doi:10.1038/nrm2299.
  60. McCudden CR, Hains MD, Kimple RJ, Siderovski DP, Willard FS. G-protein signaling: back to the future. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(5):551-577. doi:10.1007/s00018-004-4462-3.
  61. Lin Y, Smrcka A V. Understanding Molecular Recognition by G protein Subunits on the Path to Pharmacological Targeting. *Mol Pharmacol.* 2011;80(4):551-557. doi:10.1124/mol.111.073072.
  62. Sun Z, Runne C, Tang X, Lin F, Chen S. The G $\beta$ 3 splice variant associated with the C825T gene polymorphism is an unstable and functionally inactive protein. *Cell Signal.* 2012;24(12):2349-2359. doi:10.1016/j.cellsig.2012.08.011.
  63. Roszkopf D, Koch K, Habich C, et al. Interaction of G $\beta$ 3s, a splice variant of the

- G-protein G $\beta$ 3, with G $\gamma$ - and G $\alpha$ -proteins. *Cell Signal*. 2003;15(5):479-488. doi:10.1016/S0898-6568(02)00140-7.
64. Klenke S, Kussmann M, Siffert W. The GNB3 C825T polymorphism as a pharmacogenetic marker in the treatment of hypertension, obesity, and depression. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;21(9):594-606. doi:10.1097/FPC.0b013e3283491153.
65. Banaś A, Płońska E, Larysz B, Kurzawski M, Drożdżik M. Influence of 825 C>T polymorphism of G protein  $\beta$ 3 subunit gene (GNB3) on hemodynamic response during dobutamine stress echocardiography. *Pharmacol Rep*. 2012;64(1):123-128. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22580528>.
66. Zha Z, Han X-R, Smith MD, Lei Q-Y, Guan K-L, Xiong Y. Hypertension-associated C825T polymorphism impairs the function of G $\beta$ 3 to target GRK2 ubiquitination. *Cell Discov*. 2016;2(1):16005. doi:10.1038/celldisc.2016.5.
67. Siffert W. Effects of the G protein  $\beta$ 3-subunit gene C825T polymorphism: should hypotheses regarding the molecular mechanisms underlying enhanced G protein activation be revised? Focus on "A splice variant of the G protein  $\beta$ 3-subunit implicated in disease states does. *Physiol Genomics*. 2003;13(2):81-84. doi:10.1152/physiolgenomics.00031.2003.
68. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, et al. Association of a human G-protein  $\beta$ 3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet*. 1998;18(1):45-48. doi:10.1038/ng0198-45.
69. Guo L, Zhang L-L, Zheng B, et al. The C825T Polymorphism of the G-Protein  $\beta$ 3 Subunit Gene and Its Association with Hypertension and Stroke: An Updated Meta-Analysis. West J, ed. *PLoS One*. 2013;8(6):e65863. doi:10.1371/journal.pone.0065863.
70. Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E, Atherosclerosis Risk in Communities Study. G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke*.

2001;32(4):822-829.

<http://stroke.ahajournals.org/content/32/4/822.abstract>.

71. Nejatizadeh A, Kumar R, Stobdanand T, Pasha MQ. Association of GNB3 C825T polymorphism with plasma electrolyte balance and susceptibility to hypertension. *Genet Mol Biol*. 2011;34(4):553-556. doi:10.1590/S1415-47572011005000052.
72. Semplicini A. G protein  $\beta 3$  subunit gene 825T allele is associated with increased left ventricular mass in young subjects with mild hypertension. *Am J Hypertens*. 2001;14(12):1191-1195. doi:10.1016/S0895-7061(01)02227-0.
73. Benjafeld A, Lin R, Dalziel B, Gosby A, Caterson I, Morris B. G-protein  $\beta 3$  subunit gene splice variant in obesity and overweight. *Int J Obes*. 2001;25(6):777-780. doi:10.1038/sj.ijo.0801617.
74. Danoviz ME, Pereira AC, Mill JG, Krieger JE. HYPERTENSION, OBESITY AND GNB3 GENE VARIANTS. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33(3):248-252. doi:10.1111/j.1440-1681.2006.04353.x.
75. Larson N, Hutchinson R, Boerwinkle E. Lack of association of 3 functional gene variants with hypertension in African Americans. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2000;35(6):1297-1300. <http://hyper.ahajournals.org/content/35/6/1297.abstract>.
76. Anttila S, Kampman O, Illi A, Rontu R, Lehtimäki T, Leinonen E. Association between 5-HT2A, TPH1 and GNB3 genotypes and response to typical neuroleptics: a serotonergic approach. *BMC Psychiatry*. 2007;7(1):22. doi:10.1186/1471-244X-7-22.
77. Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2001;37(2 Pt 2):739-743. <http://hyper.ahajournals.org/content/37/2/739.abstract>.
78. Baumgart D, Naber C, Haude M, et al. G Protein  $\beta 3$  Subunit 825T Allele and

- Enhanced Coronary Vasoconstriction on  $\alpha$ 2-Adrenoceptor Activation. *Circ Res.* 1999;85(10):965 LP-969.  
<http://circres.ahajournals.org/content/85/10/965.abstract>.
79. Virchow S, Ansorge N, Roskopf D, Rübber H, Siffert W. The G protein beta3 subunit splice variant Gbeta3-s causes enhanced chemotaxis of human neutrophils in response to interleukin-8. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999;360(1):27-32.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10463330>.
80. Dobrev D, Wettwer E, Himmel HM, et al. G-Protein 3-Subunit 825T Allele Is Associated With Enhanced Human Atrial Inward Rectifier Potassium Currents. *Circulation.* 2000;102(6):692-697. doi:10.1161/01.CIR.102.6.692.
81. Virchow S, Ansorge N, Rübber H, Siffert G, Siffert W. Enhanced fMLP-stimulated chemotaxis in human neutrophils from individuals carrying the G protein  $\beta$ 3 subunit 825 T-allele. *FEBS Lett.* 1998;436(2):155-158. doi:[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01110-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01110-7).
82. Schürks M, Kurth T, Stude P, et al. G Protein  $\beta$ 3 Polymorphism and Triptan Response in Cluster Headache. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82(4):396-401. doi:10.1038/sj.clpt.6100159.
83. Fourier C, Ran C, Steinberg A, Sjöstrand C, Waldenlind E, Carmine Belin A. Screening of Two ADH4 Variations in a Swedish Cluster Headache Case-Control Material. *Headache J Head Face Pain.* 2016;56(5):835-840. doi:10.1111/head.12807.
84. Fan Z, Hou L, Wan D, Ao R, Zhao D, Yu S. Genetic association of HCRTR2, ADH4 and CLOCK genes with cluster headache: a Chinese population-based case-control study. *J Headache Pain.* 2018;19(1):1. doi:10.1186/s10194-017-0831-1.
85. Rainero I, Rubino E, Gallone S, et al. Cluster Headache is Associated With the Alcohol Dehydrogenase 4 ( ADH4 ) Gene. *Headache J Head Face Pain.*

2010;50(1):92-98. doi:10.1111/j.1526-4610.2009.01569.x.

86. Schürks M, Kurth T, Knorn P, Pageler L, Diener H-C. Predictors of Hazardous Alcohol Consumption among Patients with Cluster Headache. *Cephalalgia*. 2006;26(5):623-627. doi:10.1111/j.1468-2982.2006.01079.x.
87. Schürks M. Genetics of cluster headache. *Curr Pain Headache Rep*. 2010. doi:10.1007/s11916-010-0096-8.
88. Luo X, Kranzler HR, Zuo L, Lappalainen J, Yang B, Gelernter J. ADH4 Gene Variation is Associated with Alcohol Dependence and Drug Dependence in European Americans: Results from HWD Tests and Case–Control Association Studies. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(5):1085-1095. doi:10.1038/sj.npp.1300925.
89. Cederbaum AI. Alcohol Metabolism. *Clin Liver Dis*. 2012;16(4):667-685. doi:10.1016/j.cld.2012.08.002.
90. Edenberg HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health*. 2007;30(1):5-13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860432/>.
91. Luo X, Kranzler HR, Zuo L, Wang S, Gelernter J. Personality Traits of Agreeableness and Extraversion are Associated with ADH4 Variation. *Biol Psychiatry*. 2007;61(5):599-608. doi:10.1016/j.biopsych.2006.05.017.
92. Katsarou M, Karakostas K, Demertzis N, et al. Effect of single-nucleotide polymorphisms in ADH1B , ADH4 , ADH1C , OPRM1 , DRD2 , BDNF , and ALDH2 genes on alcohol dependence in a Caucasian population. *Pharmacol Res Perspect*. 2017;5(4):e00326. doi:10.1002/prp2.326.
93. Zarrilli F, Tomaiuolo R, Ceglia C, et al. Molecular Analysis of Cluster Headache. *Clin J Pain*. 2015;31(1):52-57. doi:10.1097/AJP.0000000000000075.
94. Sjöstrand C. Genetic aspects of cluster headache. *Expert Rev Neurother*. 2009;9(3):359-368. doi:10.1586/14737175.9.3.359.



95. Rainero I, Gallone S, Rubino E, et al. Haplotype analysis confirms the association between the HCRTR2 gene and cluster headache. *Headache*. 2008;48(7):1108-1114. doi:10.1111/j.1526-4610.2008.01080.x.
96. Pinessi L, Rainero I, Rivoiro C, Rubino E, Gallone S. Genetics of cluster headache: An update. *J Headache Pain*. 2005;6(4):234-236. doi:10.1007/s10194-005-0194-x.
97. Russell MB. Epidemiology and genetics of cluster headache. *Lancet Neurol*. 2004. doi:10.1016/S1474-4422(04)00735-5.
98. Rainero I, Gallone S, Valfre W, et al. A polymorphism of the hypocretin receptor 2 gene is associated with cluster headache. *Neurology*. 2004;63(7):1286-1288. doi:10.1212/01.WNL.0000142424.65251.DB.
99. Weller CM, Wilbrink LA, Houwing-Duistermaat JJ, et al. Cluster headache and the hypocretin receptor 2 reconsidered: A genetic association study and meta-analysis. *Cephalalgia*. 2015. doi:10.1177/0333102414557839.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## ΕΝΤΥΠΟ ΕΝΥΠΟΓΡΑΦΗΣ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ

ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ  
ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΑΙΓΙΝΗΤΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ



ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Έντυπο συγκατάθεσης για συλλογή δείγματος ολικού αίματος ή/και επιθηλιακών κυττάρων από ασθενείς, άντρες ή γυναίκες, που πάσχουν από Αθροιστικές Κεφαλαλγίες (ΑΚ), στα πλαίσια της ερευνητικής μελέτης με τίτλο:

**«Μελέτη εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2653349 του γονιδίου *HCRT2* και rs5443 του γονιδίου *GNB3* σε ασθενείς Ελληνικής καταγωγής με Αθροιστικές Κεφαλαλγίες και συσχετίσή τους με την εμφάνιση Αθροιστικών Κεφαλαλγιών και την ανταπόκριση σε θεραπευτικό σχήμα με τριπτάνες»**

### ΜΕΡΟΣ Α: Πληροφορίες για ασθενείς-εθελοντές

Στα πλαίσια της διατριβής του μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Σχεδιασμός και Ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών ενώσεων/ Κατεύθυνση: Φαρμακολογία» του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών πραγματοποιείται έρευνα από την φοιτήτρια Μαρία Παπασάββα υπο την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Νικόλαου Δρακούλη σε συνεργασία με τον Αναπληρωτή Καθηγητή Δήμο-Δημήτριο Μητσικόστα.

Αφού μελετήσετε το έντυπο συγκατάθεσης, μπορείτε να αποφασίσετε αν επιθυμείτε να συμμετέχετε σε αυτή την έρευνα. Για την συμπλήρωση του ερωτηματολογίου είναι αναγκαία η πρόσβαση στον ιατρικό σας φάκελο. Ζητείται η ενυπόγραφη άδεια σας, ώστε να ληφεί δείγμα ολικού αίματος ή/και επιθηλιακών κυττάρων από εσάς με σκοπό την ανάλυσή τους στα πλαίσια αυτής της ερευνητικής εργασίας.

Η αθροιστική κεφαλαλγία είναι μια πρωτοπαθής νευραγγειακή κεφαλαλγία. Η συχνότητα εμφάνισης της πάθησης στον πληθυσμό είναι χαμηλή, περίπου 0,5-1 /1000 άτομα. Ο πόνος της αθροιστικής κεφαλαλγίας είναι εξαιρετικά ισχυρός και αυστηρά

ετερόπλευρος. Αν και συχνότερα εστιάζεται μέσα ή γύρω από το ένα μάτι, μπορεί να απλώνεται σε μια ευρύτερη περιοχή της κεφαλής και να παραπλανεί τη διάγνωση. Παρά το γεγονός ότι η αθροιστική κεφαλαλγία έχει χαρακτηριστική συμπτωματολογία, οι περισσότεροι ασθενείς μπορεί να έχουν για πολλά χρόνια τη διάγνωση της ημικρανίας ή άλλων μορφών πονοκεφάλου. Σκοπός της έρευνας είναι να εξετασθεί η εμφάνιση του πολυμορφισμού rs2653349 του γονιδίου *HCRTR2* σε άτομα με αθροιστικές κεφαλαλγίες και η συσχέτισή του με την πιθανότητα εμφάνισης της ασθένειας και η εμφάνιση του πολυμορφισμού rs5443 του γονιδίου *GNB3* και η συσχέτισή του με την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή σε ασθενείς που εμφανίζουν ΑΚ, μέσω συλλογής ολικού αίματος ή/και επιθηλιακών κυττάρων. Η μελέτη του πολυμορφισμού του γονιδίου *HCRTR2* θα δώσει ένα κλινικό εργαλείο για την πρόβλεψη εμφάνισης ΑΚ. Επίσης, σε ασθενείς με ΑΚ, η γονοτύπηση του πολυμορφισμού rs5443 του γονιδίου *GNB3* θα μπορεί να βοηθήσει τον θεράποντα ιατρό να γνωρίζει κατά πόσον ο ασθενής θα ανταποκριθεί στην φαρμακευτική αγωγή και επομένως να επιλέξει με μεγαλύτερη ασφάλεια φαρμακευτική αγωγή που περιλαμβάνει τριπτάνες ή όχι.

Η έρευνα περιλαμβάνει τη λήψη επιθηλιακών κυττάρων από τη στοματική κοιλότητα, με τη χρήση βαμβακοφόρου στειλεού (2 για κάθε ασθενή) μια φορά.

Τα δείγματά σας θα ανωνυμοποιηθούν με ειδικά υπολογιστικά προγράμματα και τα στοιχεία που θα συνοδεύουν το δείγμα σας πριν και μετά την αποθήκευση δε θα σχετίζονται με τα στοιχεία της ταυτότητός σας. Θα περιλαμβάνουν μόνο πληροφορίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο πλαίσιο της παρούσας ερευνητικής μελέτης.

### **Εμπιστευτικότητα**

Υπάρχει πλήρης εμπιστευτικότητα των στοιχείων σας και των ιατρικών σας δεδομένων καθώς δεν μπορεί να συσχετιστεί με κανένα τρόπο η ταυτότητα σας με το δείγμα σας. Αν δώσετε τη συγκατάθεσή σας για τη λήψη δείγματος από εσάς, τα δείγματα αυτά θα κωδικοποιηθούν με κωδικό αριθμό, ο οποίος θα διασφαλίζει το απόρρητο της ταυτότητάς σας. Τα ονόματα αλλά και τα προσωπικά σας στοιχεία δεν αναφέρονται πουθενά ούτε είναι δυνατόν να αποκαλυφθούν, και αυτό προστατεύεται από την νομοθεσία σε όλο το κόσμο. Πληροφορίες και δεδομένα από αυτή τη μελέτη

θα αναφέρονται μόνο σε ειδικά ιατρικά έντυπα, επιστημονικά συνέδρια στην Ελλάδα και το εξωτερικό, συμπόσια, σεμινάρια και μαθήματα στο Πανεπιστήμιο.

### **Δικαίωμα άρνησης και Ανάλυσης**

Έχετε το δικαίωμα να μην συμμετέχετε στην παρούσα ερευνητική εργασία εάν δεν το επιθυμείτε. Η άρνηση της συμμετοχής σας δεν θα επηρεάσει τις ιατρικές παροχές που είχατε μέχρι τώρα. Η τρέχουσα ερευνητική μελέτη δεν θα επηρεάσει με οποιοδήποτε τρόπο τη θεραπεία σας και την ιατρική σας παρακολούθηση. Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε, πρέπει να γνωρίζετε ότι δεν μπορείτε να κάνετε άρση της συγκατάθεσής σας μετά την ανωνυμοποίηση των δειγμάτων, καθώς δε θα μπορεί με κανένα τρόπο να βρεθεί το δείγμα σας, εφόσον θα έχει αποκοπεί ολοκληρωτικά από τα στοιχεία σας.

### **ΜΕΡΟΣ Β: Πιστοποιητικό συναίνεσης**

- Δίνω την άδεια μου να χρησιμοποιηθεί δείγμα ολικού αίματος ή/και επιθηλιακών κυττάρων από εμένα για τους σκοπούς της παρούσας ερευνητικής εργασίας.
- Δεν δίνω την άδεια μου να χρησιμοποιηθεί δείγμα ολικού αίματος ή/και επιθηλιακών κυττάρων από εμένα για τους σκοπούς της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

**Όνομα :** .....

**Υπογραφή συμμετέχοντος:** .....

**Ημερομηνία :** .....

( ημέρα / μήνας/ έτος )

### **Αναλφάβητοι**

Έχω παρακολουθήσει την ακριβή διαδικασία ενημέρωσης του συμμετέχοντα για το έντυπο συγκατάθεσης και το άτομο είχε την ευκαιρία να υποβάλει ερωτήσεις. Βεβαιώνω ότι το άτομο έχει δώσει τη συγκατάθεσή του ελεύθερα.

**Όνομα (μάρτυρα):** ..... Δακτυλικό αποτύπωμα ασθενούς

**Υπογραφή μάρτυρα :** .....

**Ημερομηνία :** .....

( ημέρα / μήνας/ έτος )



**Συγκατάθεση του ερευνητή/προσώπου που λαμβάνει το έντυπο ενυπόγραφης  
συγκατάθεσης**

Έχω διαβάσει με ακρίβεια το φύλλο πληροφοριών για τις δυνατότητες των συμμετεχόντων, και φρόντισα με τον καλύτερο δυνατό τρόπο ώστε ο συμμετέχων να αντιληφθεί ότι θα πρέπει να γίνουν τα παραπάνω.

Επιβεβαιώνω ότι ο συμμετέχων είχε την ευκαιρία να υποβάλει ερωτήσεις σχετικά με την παρούσα ερευνητική εργασία, καθώς και ότι όλες οι ερωτήσεις που τέθηκαν από τον συμμετέχοντα έχουν απαντηθεί σωστά και με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Βεβαιώνω ότι το άτομο δεν έχει εξαναγκαστεί να δώσει τη συγκατάθεσή του και η συγκατάθεση έχει δοθεί ελεύθερα και εθελοντικά.

Αντίγραφο της παρούσας συγκατάθεσης έχει δοθεί στον συμμετέχοντα.

**Όνομα :** .....

**Υπογραφή ερευνητή:** .....

**Ημερομηνία :** .....

( ημέρα / μήνας/ έτος )