

## Migraña con aura: Una mirada molecular a un problema hereditario

### Migraine with aura: A molecular view to a hereditary disorder

Alfredo Ramírez Z.<sup>3</sup>, Violeta Díaz T.<sup>1</sup>, Cecilia V Rojas B.<sup>2</sup>,  
María Isabel Behrens P.<sup>1</sup> y Christian Kubisch<sup>3</sup>

*Migraine with aura (MA) is a common neurological disorder characterized by severe episodes of headache, generally unilateral, which are preceded by a focal reversible neurological deficit. The studies on MA reveal the existence of familiar aggregation compatible with a high degree of heritability and a complex multifactorial mode of transmission. The genetic factors of MA are unknown. An association to a locus in the long arm of chromosome 4 at the level of 4q22-q25 was recently reported in families with MA in Finland. Objective: To analyze the genomic DNA of 5 Chilean families with MA to determine if there is linkage to the locus described in Finish families. Methodology: Families with MA were selected applying the diagnostic criteria of the International Headache Society (ICD-10), in which the index case or a member of the family should have MA. The genomic DNA was extracted from peripheral lymphocytes of members of each family (n = 25). Highly polymorphic genomic markers were used for the systematic analysis of the locus on 4q22-q25. Results and Discussion: The LOD score analysis of the 5 Chilean families investigated showed absence of linkage to the marker DAS1578 (maximum 0,35; p = 0.24). Due to the complexity of MA heritability it is possible that one or more loci different from the studied region are involved in the pathophysiology of MA. The study will continue with the inclusion of more family members and isolated MA cases, with the purpose of comparing Chilean and German families in an independent sample.*

**Key words:** Migraine disorders; Headache disorders; Molecular biology; genetic diseases; Inborn.  
*Rev Chil Neuro-Psiquiat 2006; 44(2): 98-104*

Recibido: 29 de septiembre 2005

Aceptado: 3 de mayo 2005

<sup>1</sup> Departamento de Neurología y Neurocirugía, Hospital Clínico Universidad de Chile y Clínica Alemana de Santiago.

<sup>2</sup> Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos INTA.

<sup>3</sup> Instituto de Genética Humana Universidad de Colonia e Instituto de Genética Humana, Universidad de Bonn, Alemania.

Trabajo realizado con financiamiento de Oficina de Apoyo a la Investigación Médica (OAIC), Hospital Clínico Universidad de Chile.

## Introducción

La migraña es una patología neurológica extremadamente común que puede ser subdividida en diferentes formas de acuerdo a los síntomas individuales. Las dos formas más importantes son la migraña con aura (MA) y la sin aura o migraña común (MC). La prevalencia de la migraña en general varía significativamente y es aún materia de controversia. Un estudio reciente arrojó una tasa de prevalencia en el tiempo de 33% en mujeres y de 13,3% en hombres<sup>(1)</sup>, a pesar de que otros estudios presentan datos más bajos. En Chile, de todas las consultas neurológicas en la atención primaria, representa la segunda causa de consulta con una tasa de 85 por 10.000 (95% IC 70 a 102)<sup>(2)</sup>. En América Latina (Brasil, Colombia y Venezuela) las tasas varían de 12 a 17%<sup>(3)</sup>.

La MA representa el 10-20% de todos los casos de migrañas, siendo ligeramente más frecuente en mujeres (1,5:1, mujer:hombre). El diagnóstico y la clasificación correcta de los tipos de cefalea han sido difíciles de realizar, lo que ha dificultado la implementación de estudios epidemiológicos y genéticos reproducibles. La introducción de criterios diagnósticos por la Sociedad Internacional de Cefalea (IHS)<sup>(4)</sup> ha permitido una estandarización de los diagnósticos clínicos. La diferenciación clínica correcta entre MA y MC es de especial importancia pues estudios de flujo cerebral y contenido plaquetario de serotonina sugieren que ambas patologías tienen mecanismos fisiopatológicos diferentes<sup>(5,6)</sup>.

Los estudios de las bases genéticas de la MA sugieren la existencia de una agregación familiar, aunque la falta de acuciosidad y los diferentes criterios diagnósticos usados en los estudios han llevado a diferencias significativas en la estimación del componente genético de la misma. Problemas tales como cuestionarios de validez incierta o la falta de discriminación entre la MA y la MC en los estudios iniciales han determinado que la estimación real de las bases genéticas de estas dos patologías sean muy variables. Con el advenimiento de los criterios diagnósticos de la IHS y la dis-

tinción entre MA y MC los resultados obtenidos son más confiables. Estudios en gemelos mono y dicigóticos sugieren un grado de determinación genética en la MA de aproximadamente 65%, que no difiere significativamente entre sexos<sup>(7)</sup>.

Las entidades moleculares responsables de la MA de herencia compleja aún son materia de estudio. Recientemente en un rastreo genómico completo en familias finlandesas afectadas de formas comunes de MA compleja se encontró ligamiento con el locus q22-q25 en el cromosoma 4<sup>(8)</sup>. El objetivo de este trabajo es la identificación de factores genéticos en la MA en familias chilenas. Específicamente se estudió si familias chilenas con MA presentan ligamiento con el locus 4q22-q25 descrito en familias finlandesas.

## Método

Se seleccionaron 5 familias chilenas del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y de la Clínica Alemana donde al menos un paciente en la familia cumpliera los criterios de MA de la Sociedad Internacional de Cefalea (IHS)<sup>(4)</sup>. Se analizó 25 personas, correspondientes a 5 familias diferentes (no relacionadas entre ellas). Las familias 1, 2 y 3 (constituidas por 7 individuos la primera, y 6 la segunda y tercera) abarcaron 3 generaciones. Las familias 4 y 5 (3 miembros cada una) abarcaron 2 generaciones. La edad promedio fue de  $52,1 \pm 18,2$  años (promedio  $\pm$  DS) y la educación promedio fue de 15 años. A los pacientes índices y a sus familiares de primer grado afectados y no afectados que aceptaran participar se les tomó una muestra de sangre venosa para analizar el DNA. Todos los participantes en el estudio firmaron un consentimiento informado y la investigación fue aprobada por el comité de ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

## Análisis Genético

Se realizó el análisis sistemático del locus 4q22-q25. Para este estudio se seleccionaron marcadores genómicos altamente polimórficos (micro-

satélites), que corresponden a pequeñas repeticiones de entre dos y cuatro bases nucleotídicas, en las que el número de repeticiones puede variar.

Utilizando bases de datos genómicas públicas (UCSC, NCBI, Ensembl) se definió la región crítica a nivel de 4q22-q25, usando como punto central el marcador que mostró el máximo puntaje *LOD* (4,20), D4S1647. Se escogieron 7 marcadores microsatelitales regularmente espaciados unos de otros por alrededor de 2-3 Mb. Como criterio de selección de los marcadores se utilizó la heterocigidad máxima descrita para dicho marcador, utilizando como límite bajo un 70% de heterocigidad. Con este criterio los marcadores escogidos, ordenados desde centrómero a telómero fueron: D4S2460-D4S423-D4S2909-D4S1578-D4S1638-D4S1532-D4S1591. Se analizó aproximadamente una región de 12 millones de bases (Mb), que corresponde a 10cM (centi-Morgans), la cual cubre completamente la región descrita originalmente en la población finlandesa.

Para la detección de los alelos de la muestra se marcó con fluorescencia uno de los partidores de cada uno de los marcadores microsatelitales usados. Mediante reacción de polimerasa en cadena (PCR) se amplificaron todos los microsatélites de cada individuo. Los alelos se analizaron utilizando un secuenciador ABI 377 con lector láser para la detección de la fluorescencia. Con dichos resultados se generó una tabla de datos que se usó para el cálculo del puntaje *LOD* en cada familia y en conjunto.

Para el análisis de ligamiento se asumió una frecuencia para el alelo mutante de 0,001, bajo un modelo de transmisión autosómico dominante y con una frecuencia de fenocopia de 2,4%. La frecuencia alélica se calculó de los genotipos obtenidos de todos los individuos analizados en esta muestra. El análisis de ligamiento se realizó utilizando el programa GenHunter<sup>(9)</sup>.

## Resultados y Discusión

Las familias estudiadas correspondieron a genealogías extendidas y a parejas de hermanos. La Figura 1 muestra como ejemplo dos de las fami-

lias extendidas analizadas. En ellas se determinó los haplotipos materno y paterno de cada uno de sus miembros y posteriormente se observó la herencia de éstos en la familia buscando una relación entre la presencia de un haplotipo determinado y el padecimiento de MA. Como se observa en la Figura 1, la transmisión de los haplotipos es independiente del estado del individuo (afectado o sano). El cálculo del *LOD score* multipunto, utilizando el programa GenHunter, mostró ausencia de ligamiento con la región 4q22-q25 en las 5 familias analizadas. El valor máximo que se alcanzó en la muestra fue de 0,35 ( $p = 0,24$ ) en el marcador D4S1578. El cálculo del *LOD score* fue negativo para ligamiento tanto para el análisis de cada familia por separado como para el cálculo de todas ellas en conjunto.

Se ha visto que el riesgo relativo de MA entre parientes en primer grado es 3,8 veces más alto que en la población general, no así para la MC<sup>(10)</sup>. Este hecho remarca dos cosas: a) MA y MC parecieran ser entidades clínicas distintas con mecanismos fisiopatológicos diferentes; y b) existiría una mayor influencia de los factores genéticos en la MA. El patrón de herencia más aceptado actualmente corresponde a la de una enfermedad multigénica, con herencia compleja más que mendeliana<sup>(11)</sup>.

La migraña hemipléjica familiar (MHF) es una forma de MA de herencia autosómica dominante de baja frecuencia, que constituye un subtipo de MA monogénica, es decir donde se identifica un solo gen causante. La MHF se caracteriza por migraña que se acompaña de hemiparesia o hemiplejía (que podría interpretarse como una forma extrema de aura) y que en algunos casos se asocia a atrofia cerebelosa progresiva. En la MHF se han identificado 3 genes responsables. En el caso de MHF1 el gen causante codifica para un canal de calcio de expresión neuronal activado por voltaje denominado *CACNLA4*<sup>(12)</sup>. En la MHF2 el gen codifica una subunidad alfa de la bomba de sodio y potasio *ATP1A2*<sup>(13)</sup>. El tercer tipo de MHF es causado por *SCN1A*, que codifica para la sub unidad alfa de un canal de sodio también de expresión neuronal<sup>(14)</sup>.

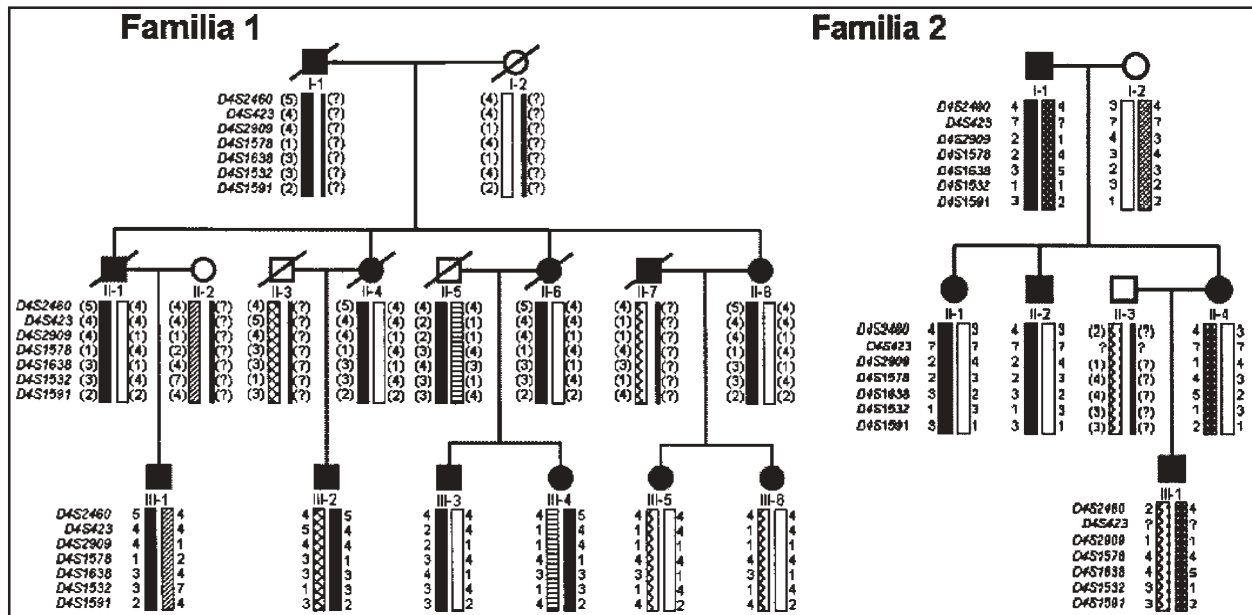


Figura 1. Análisis de ligamiento y de haplotipos en la región cromosómica 4q24. A modo de ejemplo se muestran dos de las 5 familias analizadas. El nombre de los marcadores utilizados se muestra en la columna izquierda; el orden relativo de los marcadores está basado en la base de datos pública UCSC (<http://genome.ucsc.edu>). Los haplotipos observados en ambas familias se detallan en las barras con distintos formatos de relleno localizadas debajo de cada individuo. Los alelos paterno y materno observados se anotaron a la izquierda y derecha de cada barra respectivamente. Los números entre paréntesis señalan alelos supuestos (y por consiguiente también el haplotipo) de los individuos en que no se contaba con una muestra de DNA. Los ceros entre paréntesis y las barras negras delgadas señalan los casos en que el alelo y haplotipo no se pudo deducir, respectivamente. Los cuadrados y círculos señalan hombres y mujeres respectivamente. Los símbolos negros indican individuos afectados y en gris se muestran los casos en los que no se pudo determinar si estaba o no afectado clínicamente. Los individuos fallecidos se marcan a través de una línea diagonal que cruza todo el símbolo.

Los descubrimientos obtenidos en el campo de la migraña hemipléjica familiar (MHF) sugieren que una disfunción de la homeostasis iónica, que conduce a una alteración de la regulación de la excitabilidad neuronal puede estar relacionada con la patogénesis de la MHF. El análisis electrofisiológico de las mutaciones identificadas muestra cambios importantes en las propiedades electrofisiológicas y/o bioquímicas de los canales iónicos o bomba de sodio y potasio involucrados, lo que pudiera explicar una inestabilidad neuronal que lleva a los síntomas de la MHF<sup>(15,16)</sup>. Interesantemente, diferentes mutaciones en *CACNLA4* están relacionadas con entidades clínicas distintas. Así, mutaciones que cambian aminoácidos en la proteína producen ataxia episódica (EA-2)<sup>(12)</sup>, en cambio una expansión de

poliglutaminas en el extremo 3' de la proteína pueden producir una ataxia espinocerebelosa progresiva (SCA6)<sup>(17)</sup>. Además, mutaciones del ortólogo murino de este canal son responsables de los fenotipos *tottering* and *leaner*<sup>(18)</sup>, los cuales se usan como modelos en el humano para la ataxia y la epilepsia con ausencia. Aún más, en la misma línea de investigación mutaciones en *SCN1A* producen no solo MHF, sino que también ciertos tipos de epilepsia generalizada. De esta manera mutaciones en un mismo gen conducen a un espectro de fenotipos distintos entre los cuales se encuentra la MA.

De esto se desprende que la MA, o al menos algunas de sus variantes, podrían pertenecer a las llamadas canalopatías, es decir, patologías causadas por mutaciones en canales iónicos<sup>(19-21)</sup>. Al-

teraciones en algunos canales iónicos probablemente son factores de susceptibilidad en la MA<sup>(22)</sup>. Una característica interesante de estos desórdenes es que son paroxísticos y basados en alteraciones en la excitabilidad neuronal, situaciones que también se observan en la MA. A estas evidencias se suma el hecho de que muchos de los agentes terapéuticos utilizados comúnmente en el tratamiento de la migraña, son conocidos por alterar la función de canales iónicos en el cerebro.

A diferencia de la MHF, la identificación de los factores patogénicos de la MA compleja, aquella causada por múltiples factores genéticos y que corresponde a la forma más frecuente de MA, ha sido esquiva. En un estudio reciente en familias finlandesas afectadas con MA compleja se encontró ligamiento con el locus 4q22-q25<sup>(8)</sup>, por lo que se estudió si en familias chilenas había también ligamiento en esta región. Los datos obtenidos en esta pequeña muestra de familias chilenas

con MA no muestran un ligamiento en este locus. Sin embargo, dado el carácter complejo de la MA en su patrón de herencia, la ausencia de ligamiento no excluye la posibilidad de que en la muestra analizada exista uno o varios loci involucrados en la etiopatogenia de la MA distintos a los estudiados. Por otra parte, el pequeño tamaño de la muestra no permite extrapolar los resultados a toda la población de la región. Para poder determinar esta hipótesis, se ampliará el número de individuos en las familias extendidas para realizar un rastreo completo del genoma en busca del o los loci que podrían estar involucrados en la MA en familias chilenas.

## Agradecimientos

Expresamos nuestros agradecimientos a la enfermera Edith Saavedra por su valiosa cooperación en la toma de muestras a los pacientes y a Marisol Blanco por la extracción del DNA.

## Resumen

*La migraña con aura (MA) es una patología común, caracterizada por ataques severos de cefalea generalmente unilateral, precedidos por un déficit neurológico focal reversible. Los estudios en MA revelan la existencia de agregación familiar compatible con un alto grado de herencia y un modo de transmisión multifactorial complejo. Los factores genéticos de la MA con herencia compleja son desconocidos. En familias finlandesas con MA se encontró recientemente ligamiento a un locus en el brazo largo del cromosoma 4 a nivel de 4q22-q25. **Objetivo:** Analizar el DNA genómico de 5 familias chilenas con MA para determinar si hay ligamiento al locus descrito en familias finlandesas. **Metodología:** Se seleccionaron familias con MA aplicando los criterios diagnósticos de la Sociedad Internacional de Cefalea (ICD-10), donde el caso índice o algún miembro de la familia debían tener MA. El DNA genómico se extrajo de leucocitos en sangre periférica de miembros seleccionados de cada familia (n = 25). Se usaron marcadores genómicos altamente polimórficos (microsatélites) para el análisis sistemático del locus 4q22-q25. **Resultados y Discusión:** El cálculo del LOD score mostró ausencia de ligamiento en las 5 familias analizadas (máximo de 0,35; p = 0,24) con el marcador D4S1578. Dado el carácter complejo de herencia en la MA es posible que existan uno o varios loci involucrados en su etiopatogenia, distintos al de la región estudiada. El estudio se continuará a través de la ampliación de las familias estudiadas y de la recolección de casos aislados de MA, con el objetivo de realizar futuros estudios de asociación para comparar los hallazgos en familias chilenas con los de familias alemanas en una muestra independiente.*

**Palabras clave:** Migraña; Cefalea; Enfermedades hereditarias.

## Referencias

1. Launer LJ, Terwindt GM, Ferrari MD. The prevalence and characteristics of migraine in a population-based cohort: the GEM study. *Neurology* 1999; 53: 537-42.
2. Lavados P, Gómez V, Sawada M, Chomalí M, Alvarez M. Diagnóstico neurológico en la atención primaria de salud en Santiago, Chile. *Rev Neurol* 2003; 36: 518-22.
3. Morillo LE, Alarcón F, Aranaga N, Aulet S, Chapman E, Conterno L, *et al.* Latin American Migraine Study Group. Prevalence of migraine in Latin America. *Headache* 2005; 45: 106-17.
4. Olesen J, Göbel H. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. Headache Classification Committee of the International Headache Society. *Cephalalgia* 1988; 8: 1-96.
5. Olesen J. Cerebral and extracranial circulatory disturbances in migraine: pathophysiological implications. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1991; 3: 1-28.
6. Ferrari MD, Odink J, Tapparelli C, Van Kempen GM, Pennings EJ, Bruyn GW. Serotonin metabolism in migraine. *Neurology* 1989; 39: 1239-42.
7. Ulrich V, Gervil M, Kyvik KO, Olesen J, Russell MB. Evidence of a genetic factor in migraine with aura: a population-based Danish twin study. *Ann Neurol* 1999; 45: 242-6.
8. Wessman M, Kallela M, Kaunisto MA, Marttila P, Sobel E, Hartiala J, *et al.* A susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 4q24. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 652-62.
9. Leonid Krgulyak, Mark J. Daly, Mary Pat Reeve-Daly, Eric S. Lander. Parametric and Nonparametric Linkage Analysis: A Unified Multipoint Approach. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 1347-63.
10. Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* 1995; 311: 541-4.
11. Ulrich V, Russell MB, Ostergaard S, Olesen J. Analysis of 31 families with an apparently autosomal-dominant transmission of migraine with aura in the nuclear family. *Am J Med Genet* 1997; 74: 395-7.
12. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, *et al.* Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996; 87: 543-52.
13. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, *et al.* Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 2003; 33: 192-6.
14. Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, *et al.* Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 2005; 366: 371-7.
15. Hans M, Luvisetto S, Williams ME, Spagnolo M, Urrutia A, Tottene A, *et al.* Functional consequences of mutations in the human alpha1A calcium channel subunit linked to familial hemiplegic migraine. *J Neurosci* 1999; 19: 1610-9.
16. Kraus RL, Sinnegger MJ, Glossmann H, Hering S, Striessnig J. Familial hemiplegic migraine mutations change alpha1A Ca<sup>2+</sup> channel kinetics. *J Biol Chem* 1998; 273: 5586-90.
17. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C, *et al.* Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997; 15: 62-9.
18. Fletcher CF, Lutz CM, O'Sullivan TN, Shaughnessy JD Jr, Hawkes R, Frankel WN. Absence epilepsy in tottering mutant mice is associated with calcium channel defects. *Cell* 1996; 87: 607-17.
19. Kubisch C, Schmidt-Rose T, Fontaine B, Bretag AH, Jentsch TJ. CIC-1 chloride channel mutations in myotonia congenita: variable penetrance of mutations shifting the voltage dependence. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1753-60.
20. Cooper EC, Jan LY. Ion channel genes and human

- neurological disease: recent progress, prospects, and challenges. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 4759-66.
21. Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K. Voltage-Gated Ion Channels and Hereditary Disease. *Physiol Rev* 1999; 79: 1317-72.
22. Ptacek LJ. The place of migraine as a channelopathy. *Curr Opin Neurol* 1998; 11: 217-26.

---

Correspondencia:

Violeta Díaz T.  
Departamento de Neurología y Neurocirugía  
Hospital Clínico Universidad de Chile  
Santos Dumont 999 2º piso sector E  
Santiago, Chile  
E-mail:vdiaz@med.uchile.cl