

Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi

Nursel ERDAL *, Yavuz ALTUNKAYNAK **, Emine ALTUNKAYNAK *, Musa ÖZTÜRK **, Belgin MUTLUAY **, Ayhan KÖKSAL, Sevim BAYBAŞ **

ÖZET

Amaç: Son yıllarda birçok hastalıkta olduğu gibi migrende de oksidatif stresin önemi tartışılmaktadır. Lipid peroksidasyonu oksidatif hasarın en iyi göstergesi olarak kabul edilmektedir. Biz bu çalışmayı migrende atak (ağrılı) ve atak dışı (ağrısız) dönemde oksidatif stres/antioksidan statü profilini belirlemek amacıyla gerçekleştirdik.

Yöntem: Çalışmamızda; 27 migrenli hastada hem ağrılı, hem de ağrısız dönemde olmak üzere iki, eşit yaş ve cinsteki sağlıklı kontrollerde ise, bir kere lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak tiyobarbitürik asitle reaksiyonlaşan maddeler (TBARS), antioksidan sistemin göstergesi olarak da ürik asit ve albümin düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: TBARS düzeyleri kontrol grubuna göre migrenlilerde hem atak, hem de atak dışı dönemlerde anlamlı olarak yükseldi ($p<0,001$). Migrenlilerde TBARS düzeylerindeki yükseklik ağrısız döneme göre de ağrılı dönemde daha belirgindi ($p<0,001$). Migrenlilerin ürik asit atak düzeyleri atak dışı döneme göre ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,01$). Atak dışı ve kontrol grubu ürik asit düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Albümin düzeyleri açısından gruplar arasında fark yoktu ($p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları oksidatif stresin migren patogeneğinde önemli bir rolü olabileceği yönünde değerlendirildi.

Anahtar kelimeler: Migren, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu, fizyopatoloji

Düşünen Adam; 2005, 18(3):129-135

ABSTRACT

Evaluation of Lipid Peroxidation Representing Oxidative Stress in Patients with Migraine

Objective: In recent years, the role of oxidative stress in several diseases is being disassed including migraine. Lipid peroxidation is accepted to be the best index for oxidative damage. This study was designed to see the oxidative stress/antioxidant status profile during a migraine attack and the initial phase.

Method: In 27 patients with migraine, during the attack and the initial phase, as well as 27 healthy controls, serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) as a marker for lipid peroxidation, and serum levels of uric acid and albumin, as a marker for antioxidant status, were measured.

Results: TBARS levels were found to be significantly higher in migraine attack compared to the initial level as well as to the control group ($p<0,001$). Uric acid levels during the attack were found to be significantly higher with respect to initial phase and controls ($p<0,001$ and $p<0,01$). The difference between serum uric acid levels of initial phase and control group was not statistically significant ($p>0,05$). There was no difference among groups for serum albumin levels ($p>0,05$).

Conclusions : The results of our study suggest that, oxidative stress may have an important role in migraine pathogenesis.

Key words: Migraine, free radicals, lipid peroxidation, pathophysiology

* Taksim Devlet Hastanesi Biyokimya Kliniği

** Bakırköy Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Nöroloji Kliniği

GİRİŞ

Aeroblarda yüksek oksijen toksisitesinin serbest radikal oluşumuna yol açtığını gösteren ilk çalışma 1956'da yayımlandıktan sonra serbest radikaller ve bunlar tarafından başlatılan oksidatif stres ile antioksidan sistemler, klinik ve biyolojik bilimlerde incelenmeye başlandı.

Serbest radikaller, bir veya daha fazla paylaşıl-mamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu moleküller, hem normal me-tabolizmanın yan ürünü olarak, hem de ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir.

Serbest radikallerin biyolojik sistemlerde oluş-turdukları hücrel hasar ve bu hasarı önleyici antioksidan mekanizmalar ile ilgili güncel çalış-maların sonucunda oksidan hasarın pek çok has-talığın etyopatogenezinde etkin rol oynadığına ilişkin ipuçları elde edilmiştir. Bu hastalıklar arasında ateroskleroz, kanser, diyabet, iske-mi/reperfüzyon hasarı, epilepsi, serebrovasküler olaylar, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalı-ğı, serebral iskemi gibi pek çok patolojik durum yer alır.

Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitle-rinden hidrojen atomunun uzaklaşması ile başla-yan lipid peroksidasyonu oksidatif stresin en ti-pik göstergesidir ve serbest radikaller tarafından indüklenir.

LİPİD PEROKSİDASYON

Lipid Peroksidasyonu; serbest radikaller tarafın-dan başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan böylece membran lipid yapısını değiştire-rek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimya-sal bir olaydır (1-4). Normalde, düşük düzeyde

tüm hücre ve dokularda meydana gelir (5).

Lipid peroksidasyonuna en duyarlı bileşikler, membran fosfolipidlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleri (PU-FA), özellikle araşidonik asit ve dekoheksa-enoik asittir. Bu yüzden lipid peroksidasyonu-nun yol açtığı en önemli hasar hücre membra-nında gözlenir (6,7).

Lipid peroksidasyonu otokatalitik zincir reaksi-yonu ile hasar yapar. Kuvvetli bir oksidanın et-kisiyle PUFA zincirindeki α -metilen grubundan bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla başlar ve li-pid hidroperoksitlerin doymamış yağ asidi alde-hitleri, alkanlar, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması ile etan, pentan gibi uçucu gazların oluşumu ile sonlanır. Bunlar da direkt olarak membran yapısına, indirekt ola-rak da hücre komponentlerine zarar verirler (1,2,8).

Aldehitler lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en toksik ürünlerdir. Malondialdehit (MDA) non-enzimatik oksidatif lipid peroksit dekompo-zisyonu sonucu oluşur ve peroksidasyonun son ürünüdür.

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmada devamlı olarak serbest radikaller oluşmasının yanında güçlü savunma sistemleri de vardır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı yani oksidatif denge sağ-landığı sürece organizma bu bileşiklerden etki-lenmemektedir. Antioksidan savunma sistemle-ri yeterince etkili olmadığında, organizmada serbest radikal üretimi artar ve doku hasarı mey-dana gelir. Bu duruma "oksidatif stres" adı veri-lir (9).

I. Antioksidan Enzim Sistemleri

- Süperoksit Dismutaz (SOD)

- Katalaz
- Glutasyon Peroksidaz (GPX)
- Glutasyon Redüktaz (GRD)

II. Endojen Non-Enzimatik Antioksidan

Ajanlar

- Askorbik Asit (Vitamin C)
- Vitamin E (α -Tokoferol)
- Vitamin A (β -Karoten)

Ürik Asit

Ürik asit, hemoglobini peroksit oksidasyonundan ve kırmızı hücreleri lipid peroksidasyonundan korur. Bunu OH veya singlet oksijenle reaksiyona girerek yapar. Ürat etkin bir hücre dışı radikal tutucudur ve plazmanın total antioksidan kapasitesinin % 25'inden sorumludur (6).

Albümin

Her bir molekülünde bir sülfidril grubu içeren albümin, bakır ve demiri bağlayan, LOOH ve HOCL tutucu olarak görev yapan hücre dışı bir antioksidandır (10,11).

Selenyum

Sülfhidril Bileşikleri

III. Eksojen Non-Enzimatik Ajanlar

- Barbitüratlar
- Fenotiazinler
- Ksantin Oksidaz İnhibitörleri

Son yıllarda birçok hastalıkta olduğu gibi migren patogenezinde de oksidatif stresin önemi tartışılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun trombosit fonksiyonlarında değişiklik, prostaglandin salınımı ve serebral kan akımı azalması üzerinden migren patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada; migrende atak ve ataklar arası dönemde oksidatif stres/antioksidan statü profi-

lini belirlemeyi, sağlıklı kontrol grubu ile migrenli hastalar arasındaki farklılığı saptamayı ve incelenen parametreler arasındaki korelasyonu görmeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Şubat 2000 - Haziran 2000 tarihleri arasında Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi Baş ağrısı Polikliniği'ne başvuran ve 1988 Uluslararası Baş ağrısı Derneği sınıflamasına göre migren tanısı konulan, 17-47 yaşları arasında 18 kadın, 28-42 yaşları arasında 9 erkek olmak üzere toplam 27 kişi alındı. Çalışmaya, alt grup ayrımı (auralı-aurasız) yapılmayarak tüm migrenliler dahil edildi. Bu hastaların daha önce profilaktik migren tedavisi almamış olmalarına dikkat edildi. Hastalara sistemik ve nörolojik muayene, ayrıntılı baş ağrısı sorgulaması, rutin biyokimya, hemogram, sedimentasyon, tam idrar tahlili, EKG, akciğer grafisi, kranyal görüntüleme vb. incelemeleri yapılarak olabilecek farklı patolojiler dışlandı.

Kontrol grubu olarak eşit yaş ve cinsten 18 kadın, 9 erkek toplam 27 sağlıklı kişi seçildi.

Migrenli hastalardan, ağrılı (atak) ve ağrısız (atak dışı) dönemlerde olmak üzere iki kez, kontrol grubundan ise, bir kez kan örneği alındı. Alınan kanlardan ayrılan serumlar -24 C'de saklandı. Bu serumlarda ürik asit, albümin ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak TBARS (Tiyobarbitürik Asitle Reaksiyonlaşan Maddeler) düzeyleri çalışıldı.

I. Tiyobarbitürik Asitle Reaksiyonlaşan Maddelerin (TBARS) Ölçümü

TBA (Tiyobarbitürik asit) testi MDA (malondialdehid) için spesifik değildir ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehidi tek

Tablo 1. Migren-kontrol serum düzeyleri.

	Atak n = 27 (min-max)	Atak Dışı n = 27 (min-max)	Kontrol n = 27 (min-max)
TBARS (μM)	4,75 \pm 0,64 (3,38-6,19)	3,85 \pm 0,49 (3,06-4,88)	2,96 \pm 0,51 (2,14-3,68)
Ürik asit (mg/dl)	3,89 \pm 0,89 (2,0-6,0)	4,15 \pm 0,89 (2,1-6,4)	4,78 \pm 1,28 (2,6-7,4)
Albümin (g/dl)	4,95 \pm 0,33 (4,2-5,7)	5,00 \pm 0,29 (4,1-5,7)	5,01 \pm 0,23 (4,4-5,5)

başına ölçebileceği başka bir biyokimyasal yöntemde mevcut değildir. MDA'dan başka diğer aldehit bileşikler, okside lipitler, sialik asit gibi maddeler de TBA ile birleşerek renkli kompleks oluşturur. Bu yüzden tiyobarbitürik asitle reaksiyonlaşan maddeler (TBARS) teriminin kullanılması daha doğrudur ve bu test tüm dünyada biyokimyasal olarak lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilir (4,12-14).

Tiyobarbitürik asitle reaksiyon veren maddenin (TBARS) bir molekülü ile iki molekül tiyobarbitürik asit kondansasyona uğrayarak pembe renkli bir kompleks oluştururlar. İncelemede; oluşan bu maddenin absorbansı 546 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü.

II. Ürik Asit Ölçümü

Boehringer Mannheim ürik asit plus kitiyle Hitachi 912 otoanalizörde enzimatik kolorimetrik yöntemle çalışıldı.

III. Albümin Ölçümü

Boehringer Mannheim albümin kitiyle Hitachi 912 otoanalizörde bromocresol green (BCG) yöntemiyle çalışıldı.

BULGULAR

Migrenli hastaların atak ve atak dışı dönemdeki

serum TBARS, ürik asit ve albümin düzeyleri kendi aralarında ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

İstatistiksel analizde eşli t-testi, Pearson korelasyon testi ve ANOVA testi kullanıldı.

Kadın migren ve kontrol grubunun yaş ortalaması 32,23 \pm 7.34, erkek migren ve kontrol grubunun yaş ortalaması 31.89 \pm 8.56'ydı ve cinsler arasında yaş açısından anlamlı fark yoktu (p> 0.05).

Çalışma sonucunda aşağıda anlatılan değişiklikler gözlemlendi:

1. Migrenli hasta grubunun ağrısız dönem ortalama serum TBARS düzeyleri 3,85 \pm 0,49 μM , atak serum TBARS düzeyleri 4,75 \pm 0,64 μM , kontrol grubunun serum TBARS düzeyleri ise, 2,96 \pm 0,51 μM olarak bulundu.

• Ağrısız dönem ve atak TBARS değerleri karşılaştırıldığında, atak değerleri ağrısız döneme göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek saptandı (p<0,001).

• Ağrısız dönem ve atak TBARS değerleri kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001).

2. Migrenli hasta grubunun atak dışı ortalama serum ürik asit düzeyleri 4,15 \pm 0,89 mg/dl, atak serum ürik asit düzeyleri 3,89 \pm 0,89 mg/dl, kontrol grubunun serum ürik asit düzeyleri ise, 4,78 \pm 1,28 mg/dl olarak bulundu.

• Ağrısız dönem ve atak ürik asit değerleri karşılaştırıldığında, atak değerleri ağrısız döneme göre ileri derecede anlamlı olarak düşük saptandı (p<0,001).

• Atak ürik asit değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, atak değerleri kontrole göre anlamlı olarak düşüktü (p<0,01).

• Atak dışı dönem ürik asit değerleri ile kontrol grubu arasında fark olmasına rağmen, istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmadı

($p>0,05$).

3. Migrenli hasta grubunun ağrısız dönem ortalama serum albümin düzeyleri $5,00\pm 0,29$ g/dl, atak serum albümin düzeyleri $4,95\pm 0,33$ g/dl, kontrol grubunun serum albümin düzeyleri ise, $5,01\pm 0,23$ g/dl olarak bulundu.

• Ağrısız dönem, atak ve kontrol grupları arasında serum albümin düzeyleri açısından istatistiksel bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

4. İncelenen parametrelere ait korelasyon bulguları ise şöyledir:

• Ürik asit, albümin ve TBARS düzeyleri arasında ağrılı, ağrısız ve kontrol gruplarında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

TARTIŞMA

Serbest radikal oluşumu antioksidan kapasiteyi aşarsa, ortaya oksidatif stres çıkar. Oksidatif stres kanserden AIDS'e kadar birçok hastalığın patogeneğinde yer alır. Migren de bu hastalıklardan biridir.

Oksidatif stres migren atağının etkin bir tetikleyicisidir (15). Bazı uzmanlar, özellikle aural migrenli hastalarda oksidatif strese karşı duyarlılık olduğunu ve migren atağının inisyel fazının bozulmuş beyin enerji fosfat metabolizması ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (16,17). Bu durum serbest radikal üretimi için bir stimulus olabilir ve lipid peroksidasyonu gibi non-enzimatik serbest radikal reaksiyonlarını indükleyebilir (18).

Migrende trombosit fonksiyonlarıyla ilgili yapılan birçok çalışmada değişik sonuçlar elde edilmiştir. 1985'de Steinef ve ark. migrenin bir trombosit hastalığı olmadığını iddia etti (19). Buna karşılık Hannington çeşitli çalışmalarında trombosit agregasyonu, sekresyonu ve kompozisyonunda farklılıklar olduğunu öne sürerek, migrenin bir trombosit hastalığı olduğunu bildirdi (20,21). Kruglak da 1984'deki çalışmasında

hiperagregabilite, serotonin artışı gibi anormal trombosit fonksiyonlarının atak sırasında daha belirgin olduğunu gösterdi (22). Tozzi-Ciancarella ve ark. intratrombositer kalsiyumda düşüşle birlikte trombosit cevabında azalma olduğunu, bunun da lipid peroksidasyonuna bağlı membran defektiyle ilişkili olabileceğini bildirdi (23).

Lipid peroksidasyon ürünleri serbest radikal reaksiyonunda ve/veya araşidonik asit metabolizmasında oluşur. Lipooksijenaz aktivasyonu ve prostaglandin₂ (PGI₂-prostasiklin) inhibisyonu ile kan damarlarında, trombositlerde ve lökositlerde prostasiklin/tromboksan yolunda denge-sizliğe yol açarlar. Böylece lökotrienleri stimüle ederek ağrılı inflamatuvar reaksiyonları başlatırlar (24). Prostasiklin/tromboksan dengesizliği bölgesel kan akımı azalması ve katekolamin artışıyla birlikte trombosit agregasyonu ve trombus oluşumuna yol açar. Migren atağı sırasında serebral sirkülasyonda meydana geldiği düşünülen platelet agregasyonu, migren patogeneğinde önemli bir mekanizma olan fokal serebral hipoksiye neden olabilir (25,26).

Serebral kan akımı azalması ve katekolamin artışıyla birlikte olan metabolizma değişikliği, bölgesel reperfüzyona bağlı doku hasarına neden olan serbest radikal oluşumuna yol açar (23). Lipid peroksidasyonu ile aktive edilen trombositlerin sekretuar ürünleri de serebral kan akımını azaltır (27).

Membran rijiditesinde lipid peroksidasyonu ile ortaya çıkan artış, derin lipid tabakasının çift katmanlı komponentlerinin asimetrik dağılımını değiştirerek membranda disorganizasyona neden olur (23). Bu, Shimomura ve ark. (16) ile Selmaj ve ark.'nın (28) çalışmalarıyla uyumludur ve oksidan stresle indüklenen vasküler prostasiklin/tromboksan dengesizliğinin migrende

rolü olduğunu düşündürür.

Hall ve Smith 1991'de yaptıkları çalışmada serbest radikallerin, migrenin aura ve ağrı fazında serebral hipoperfüzyonla indüklenen spreading depresyondan sorumlu olduğu hipotezini ortaya attı ve bu görüş daha sonraki birçok çalışma sonucuyla desteklendi (29,30). Hall ve Smith güçlü bir lipid peroksidasyon inhibitörü olan tirilazad mesylate verdikleri ratlarda serebral hipoperfüzyonun blokladığını gösterdi (31).

Lipid peroksidasyonu-migren ilişkisinin ortaya çıkması migrenlilerde serum dışındaki vücut sıvılarında da lipid peroksidasyon ürünleri ile serbest radikal ölçümünü akla getirmiştir. 2003 yılında Ciancarelli ve Tozzi, 1997 yılında yaptıkları serum ölçümlerine ek olarak üriner nitrik oksit metabolitlerini ve lipid peroksidasyon ürünü olarak TBARS düzeylerini ölçmüş ve kontrol grubuna kıyasla atak döneminde daha da yüksek düzeyler bildirmişlerdir (32).

Ülkemizde serum dışı vücut sıvılarında (BOS, idrar gibi) veya invivo yöntemle bu tip çalışmaların yapılmasının zorluğu açıktır.

Bu çalışmayı migrende oksidatif stresin etkilerini araştırmak amacıyla yaptık. Bunun için 27 migrenli hastanın atak ve atak dışı dönemdeki serum TBARS, ürik asit ve albümin düzeylerini kendi aralarında ve eşit yaş-cinste sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Bulgularımıza göre, atak ve atak dışı dönemdeki migrenli hastalarda TBARS değerleri kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı olarak yüksektir ($p<0,001$). Bu sonuç, Tozzi-Ciancarelli ve ark. çalışmasıyla (23) uyumlu olarak migrende lipid peroksidasyonunun arttığını ve bu artışın atak sırasında daha belirgin olduğunu ifade etmiştir. Lipid peroksidasyonunun trombosit fonk-

siyonlarında değişiklik, prostaglandin salınımı ve serebral kan akımı azalması üzerinden migren patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Ekstraselüler antioksidan olan ürik asit düzeyleri, atak sırasında ağrısız döneme göre ileri derecede anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,001$). Kontrol grubu ile atak dışı dönem karşılaştırıldığında, arada fark olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Literatürde migrende ürik asitle ilgili bir çalışmaya rastlanmadı. Ancak, hiperürisemisi olan gut hastalarında migren insidansının daha düşük olduğunu belirleyen bölgesel dermografik veriler mevcuttur. Antioksidan sistemin diğer elemanlarından süperoksit dismutaz ile ilgili yapılan çalışmalarda kontrollere göre düşük düzeyler saptanmıştır (16). Ürik asit düzeylerindeki bu azalma TBARS değerleri ile birlikte değerlendirildiğinde, oksidan dengenin migrende lipid peroksidasyonu yönünde bozulduğunu söyleyebiliriz.

Bir diğer ekstraselüler antioksidan olan albümin düzeylerinde ise atak, atak dışı ve kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Migren aura fizyopatolojisi gözönüne alındığında lipid peroksidasyonunun özellikle auralı migren gelişiminde rolü olması daha olasıdır. Bu nedenle auralı grupla aurasız grup arası lipid peroksidasyonu karşılaştırmalı çalışmaları anlamlı sonuçlar verebilir. Bu çalışmalara ek olarak yapılabilecek eş zamanlı nitrik oksit-TBARS ölçümleri de bu ilişkiyi güçlendirebilir.

Migren patofizyolojisinin bilinmesi, profilaksisi ve atak tedavisi için gereklidir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgular en belirgin göstergesi lipid peroksidasyonu olan oksidatif stresin migren patogenezinde etkili bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *British Med Bulletin* 49: 481-493, 1993.
2. Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41/12: 1819.
3. Halliwell B, Chiciro S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 57(suppl): 715-725, 1993.
4. Gutteridge JMC, Halliwell B: The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *TIBS* 15: 129-135, 1990.
5. Maestro Del RF: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 492: 153-168, 1980.
6. Basaga HS: Biochemical aspect of free radicals. *Biochem Cell Biol* 68: 989-998, 1990.
7. Slater TF: Free radical mechanism in tissue injury. *Biochem J* 222:1-5, 1984.
8. Southorn PA, Powis G: Free radicals in medicine I: Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 63: 390-408, 1988.
9. Halliwell B: Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet* 344: 721-724, 1994.
10. Halliwell B, Gutteridge JMC: The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochem. Biophys.* 280: 1-8, 1990.
11. Halliwell B: Albumin: an important extracellular antioxidant?. *Biochem Pharmacol* 37: 569-571, 1988.
12. Esterbauer H, Cheeseman KH: Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal. *Methods in Enzimology* 186: 407-421, 1990.
13. Draper HH, Hadley M: Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzimology* 186: 421-431, 1990.
14. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods in Enzimology* 105: 328-331, 1984.
15. Welch KMA: Migraine: A biobehavioral disorder. *Arch Neurol* 44: 323-327, 1987.
16. Shimomura T, Kowa H, Nakamo T, Kitano A, Marukawa H, Urakami K, Takahashi K. Platelet superoxide dismutase in migraine and tension-type headache. *Cephalalgia* 14: 215-218, 1994.
17. Welch KMA, Levine SR, D'Andrea G, Schultz LR, Helpert JA: Preliminary observation on brain energy metabolism in migraine studied by in vivo phosphorus 31 NMR spectroscopy. *Neurology* 39: 538-541, 1989.
18. Halliwell B: Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59: 1609-1623, 1992.
19. Steinef TJ, Joseph Rajiv, Clifford Rose F: Migraine is not a platelet disorder. *Headache* 25: 434-440, 1985.
20. Hanington E: The platelet and migraine. *Headache* 26: 411-415, 1986.
21. Hanington E, Jones RJ, Amess JAL, Wachowicz B. Migraine: a platelet disorder. *Lancet* 2: 720-723, 1981.
22. Kruglak L, Nathan I, Korczyn AD, Zolotov Z, Berginer V, Dvilansky A: Platelet aggregability, disaggregability and serotonin uptake in migraine. *Cephalalgia* 4(4): 221-5, 1984.
23. Tozzi-Ciancarelli MG, De Matteis G, Di Massimo C, Marini C, Ciancarelli I, Carolei A: Oxidative stress and platelet responsiveness in migraine. *Cephalalgia* 17: 580-584, 1997.
24. Parantainen J, Vapaatalo H, Hokkanen E: Clinical aspects of prostaglandins and leukotriens in migraine. *Cephalalgia* 6 Suppl 4: 95-100, 1986.
25. Appenzeller O: Pathogenesis of migraine. *Med Clin North Am* 3(75): 763-789, 1991.
26. Shukla R, Barthwal MK, Srivastava N, Nag D, Seth PK, Srimal RC, Dikshit M: Blood nitrite levels in patients with migraine during headache-free period. *Headache* 41 (5): 475-81, 2001.
27. Olesen J, Friberg L, Olsen TS, Iversen HK, Lassen NA, Andersen AR, Karle A: Timing and topography of cerebral blood flow, aura and headache during migraine attacks. *Acta Neurol* 28: 791-798, 1990.
28. Selmaj K, De Belloroche J, Clifford Rose F: Leukotriene B generation by polymorphonuclear leukocytes: possible involvement in the pathogenesis of headache. *Headache* 26: 460-464, 1988.
29. Reuter U, Bolay H, Olesen J, Chiarugi A, Sanchez M: Delayed inflammation in rat meninges; implications for migraine pathophysiology *Brain*, Vol.24; No:12, 2001 2490-2502
30. Özdemir Y, Qiu J, Matsuokau N, Bolay H, Bermophl D: Cortical Spreading Depression activates and upregulates MMP-9 *J Clin Invest* 113(10): 1447-1455, 2004.
31. Hall ED, Smith SL: The 21-aminosteroid antioxidant tirilazad mesylate, U-74006F, blocks cortical hypoperfusion following spreading depression. *Brain Res* 553(2): 243-248, 1991.
32. Ciancerelli I, Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Marini C, Carolei A: Urinary nitric oxide metabolites and lipid peroxidation by products in migraine. *Cephalalgia* 23(1): 39-42, 2003.