

## Моделирование мигрени на животных

Научно-практический психоневрологический центр им. З.П.  
Соловьева

Студенческий кружок: «Болезни Мозга: Неврология, Психиатрия,  
Трансляция»

Франкевич Степан Олегович

07.03.2021

# Несовершенство существующих моделей



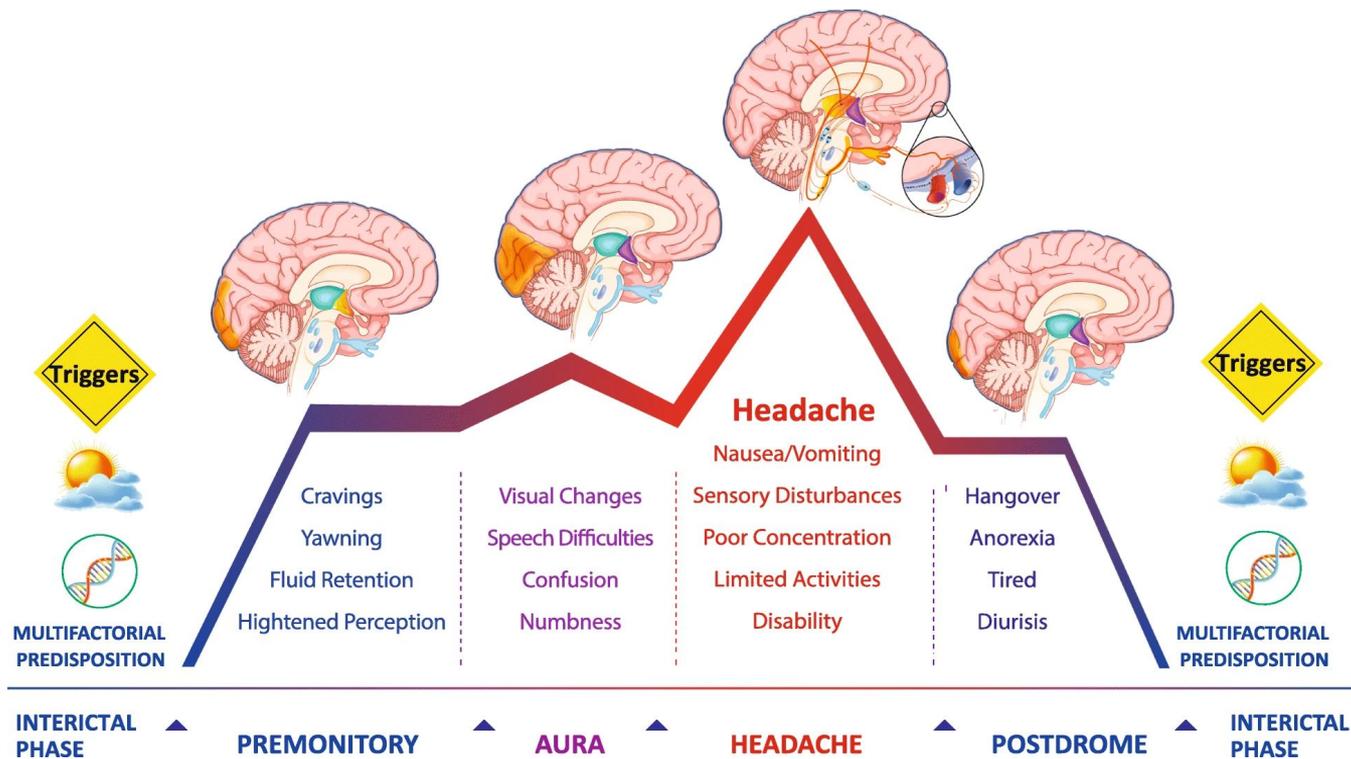
- Отсутствие исчерпывающего понимания патогенеза;
- Неспособность полностью воссоздать клиническую картину;
- Трудности в воссоздании конкретных элементов патогенеза

# Этика моделирования мигрени на животных



- ARRIVE 2.0 guidelines
- 3Rs: Reduction, Refinement, Replacement
- Невозможность полноценного моделирования без наличия живого, целостного мозга
- Большинство моделей подразумевает анестезию животных
- Инвазивность процедур не позволяет проводить исследования на людях

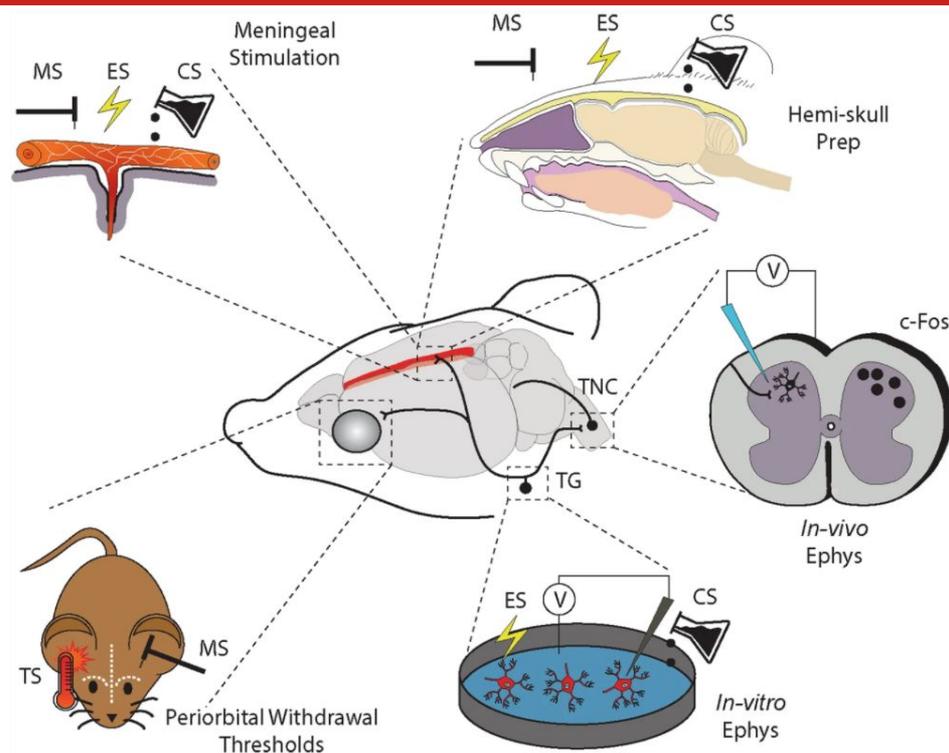
# Моделируемые элементы физиологии мигрени



1. **Модель тригеминоваскулярной активации**
2. **Распространяющаяся корковая депрессия**
3. **Генетические модели**

Anna P. Andreou, Lars Edvinsson. Mechanisms of migraine as a chronic evolutive condition

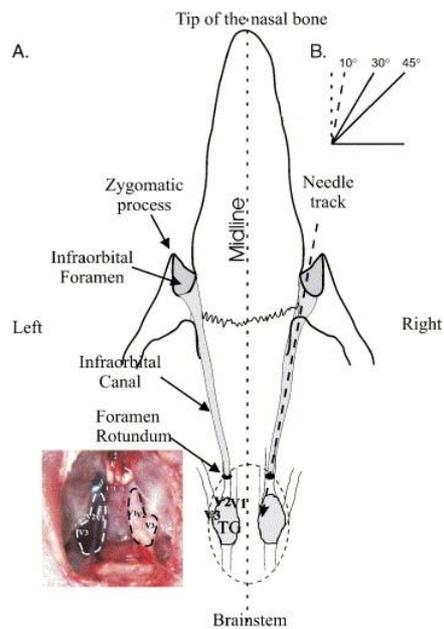
# Модель тригеминоваскулярной активации



- Химическая и электростимуляция диссоциированных менингеальных афферентов *in vitro*
- Препарат узла тройничного нерва и тригеминальной ямки. Hemi-skull preparation
- Электростимуляция и химическая стимуляция нейронов тройничного узла и хвостатого ядра тройничного нерва *in vivo*
- Аппликация механических, электрических и химических стимулов непосредственно к твердой мозговой оболочке. Поведенческие тесты.
- Преорбитальная механическая и термическая стимуляция животных в свободном поведении

Andrea M. Harriott et al. Animal models of migraine and experimental techniques used to examine trigeminal sensory processing

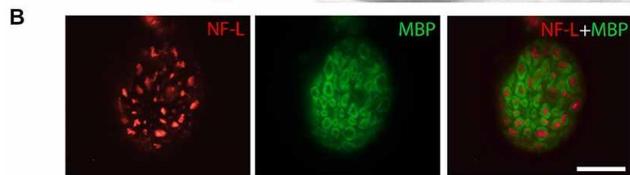
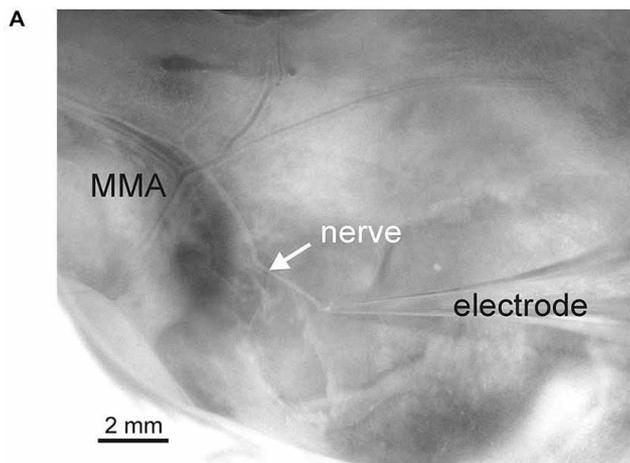
# Электрофизиология In-vitro



John K. Neubert et al. Peripheral targeting of the trigeminal ganglion via the infraorbital foramen as a therapeutic strategy

- Harriot, Gold, 2008 – описание метода выделения структур, ответственных за болевую чувствительность при мигрени.
- Ретроградный трейсинг афферентных путей от твердой мозговой оболочки и её сосудов
- Выделение этих структур тупым путём, диссекция, выделение помеченных нейрональных путей; альтернативно – гомогенизат нейронов тройничного узла
- Раздражение афферентных путей:
  - Электрическим разрядом;
  - Медиаторами воспаления.
- Описывают:
  - Изменения возбудимости афферентных путей при продолжительном воздействии стимула и в иных условиях;
  - Ответ афферентных путей на действие лекарственного препарата;
  - Активность ионных каналов.

# Hemi-skull preparation



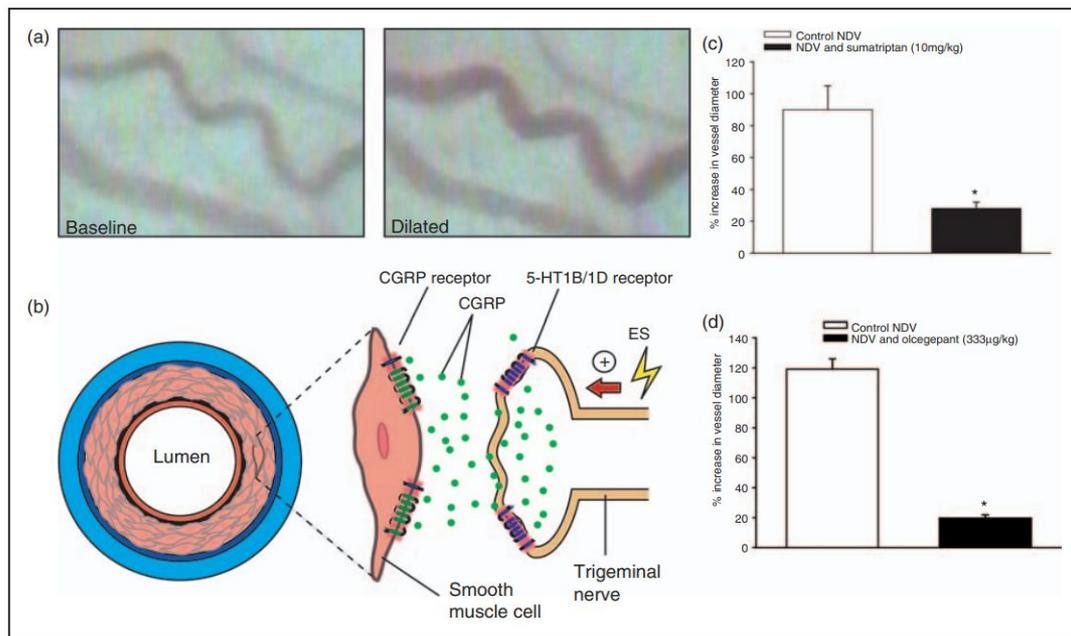
A. Zakharov, C. Vitale et al. Hunting for origins of migraine pain: cluster analysis of spontaneous and capsaicin-induced firing in meningeal trigeminal nerve fibers

- Выделение n. Spinosus (ветви тройничного нерва), части средней менингеальной артерии (ММА) и участка кости с подлежащей твердой мозговой оболочкой
- Другие варианты модели описывают выделение самого тройничного узла с участком черепа и твердой мозговой оболочки
- Стимуляция аксонов электричеством, механически или химически (например, капсицин)

С помощью микроэлектрода регистрируют электрические потенциалы в n. Spinosus, вызванные раздражителем.

- Использование этих моделей не подходит для изучения хронического действия раздражителя

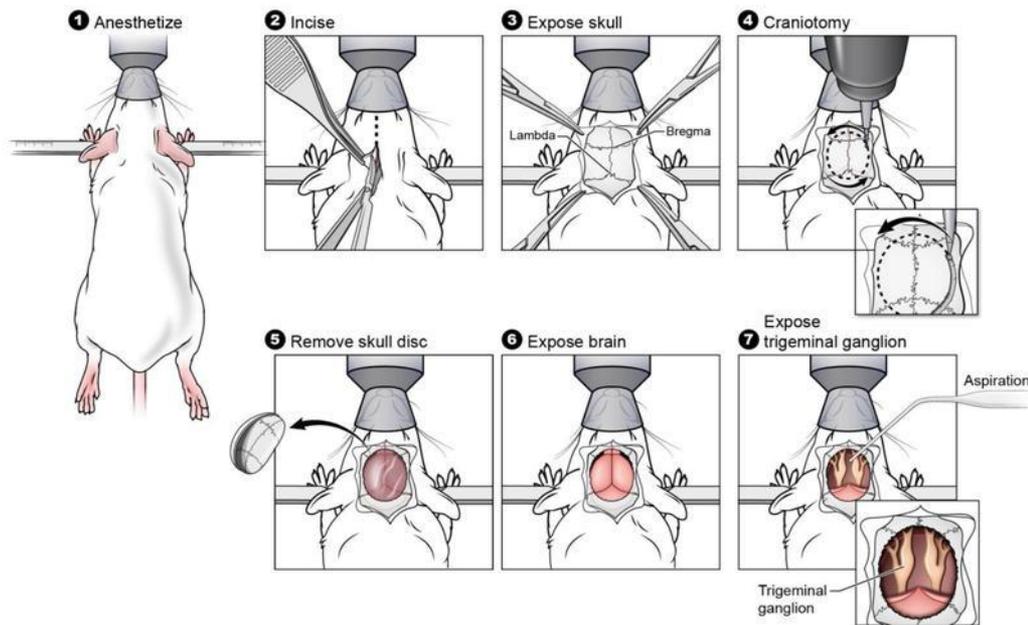
# Dural trigeminovascular nociception



Simon Akerman et al. Pearls and pitfalls in experimental in vivo models of migraine: Dural trigeminovascular nociception

- Создание тонкого закрытого краниального окна, интравитальная микроскопия, чаще всего средней менингеальной артерии
- Электростимуляция в области средней менингеальной артерии вызывает вазодилатацию, вероятно, в результате выброса CGRP. Используется для оценки эффективности вазопressорных препаратов
- Альтернативный вариант – лазерная доплер флоуметрия
- Недостаток модели: зависимость диаметра сосуда от температуры тела, артериального давления, глубины анестезии

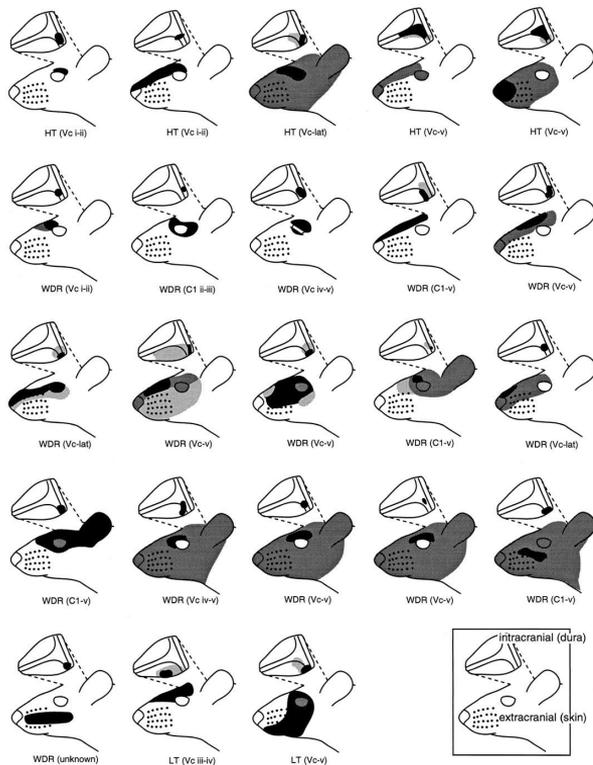
# Стимуляция нейронов тройничного нерва in vivo



Minghan Hu, Visualization of Trigeminal Ganglion Neuronal Activities in Mice (иллюстрация не отражает описываемую модель и представлена в демонстрационных целях)

- Сагиттальный разрез, вход в верхний сагиттальный синус
- Введений 2-х электродов через отверстия латерально от брегмы
- Забор крови, электростимуляция. Измерение CGRP
- В других моделях стимулируют терминали менингеальных нервов, а также твердую мозговую оболочку мозговых синусов
- Модель хорошо подходит для исследования действия медикаментов
- Погружение электродов может вызвать воспалительный ответ
- Нет возможности исследовать фенотип боли и проводить поведенческие тесты

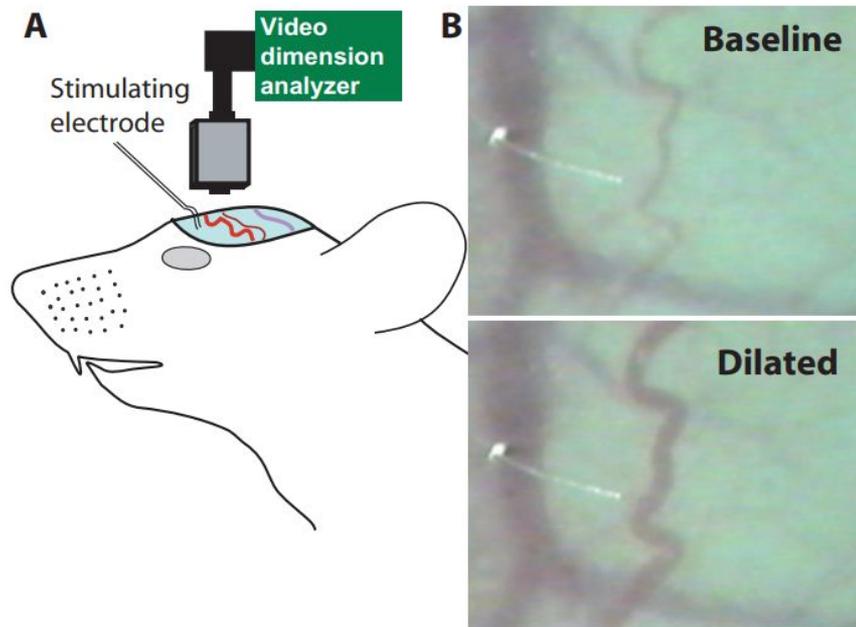
# Стимуляция твердой мозговой оболочки



Rami Burstein et al. Chemical Stimulation of the Intracranial Dura Induces Enhanced Responses to Facial Stimulation in Brain Stem Trigeminal Neurons

- Удаление участков черепной коробки над различными участками твердой мозговой оболочки
- Введение микроэлектрода в хвостатое ядро тройничного нерва. Идентификация чувствительных нейронов путем стимуляции твердой мозговой оболочки и периодического перемещения электрода
- Картирование рецептивного поля каждого нейрона
- Дальнейшее уточнение полей рецепции путем стимуляции различными раздражителями
- Улучшенные варианты модели позволяют проводить поведенческие тесты
- Одна из моделей позволяет вызывать длительную гиперчувствительность перорбитального региона – возможная модель хронической мигрени?

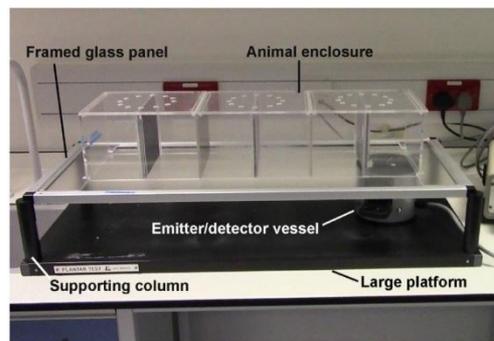
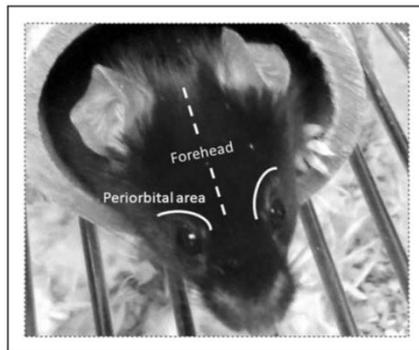
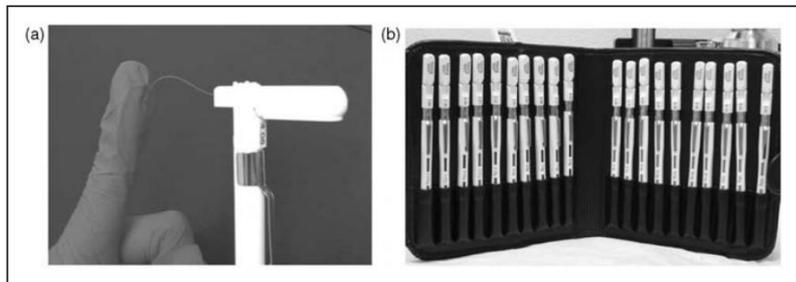
# Введения алгогенов in vivo



Simon Akerman, Peter J. Goadsby. Neuronal PAC1 receptors mediate delayed activation and sensitization of trigemino-cervical neurons: Relevance to migraine

- Перспективные трансляционные модели – введение алгогенов вызывает ряд симптомов, характерных для мигрени
- NO, нитроглицерин, PACAP, и многие другие
- Используются различные методы регистрации
- Оценка действия медикаментов, исследование патофизиологических процессов
- Моделирование мигрени на уровне животного
- Возможно побочное действие алгогенов, нарушающее чистоту эксперимента
- Необходимость точного дозирования (дозоспецифичные эффекты, особенности животных)
- Возможность моделирования хронической мигрени

# Моделирование поведения



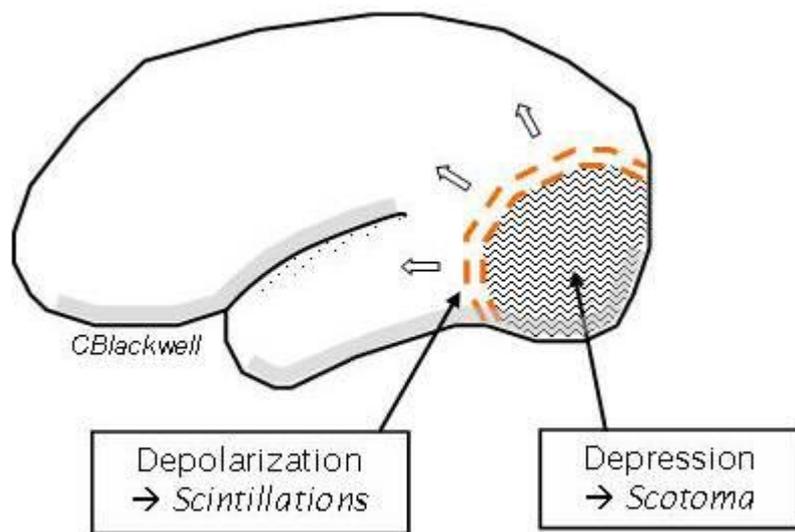
Marcela Romero-Reyes, Yi Ye. Pearls and pitfalls in experimental in vivo models of headache: Conscious behavioral research

- Моделирование механической и термической аллодинии
  - Филаменты Вон Фрея
  - Тест Харгрейва
  - Прибор оценки орофациальной боли
- Когнитивные аспекты боли



# Распространяющаяся корковая депрессия (CSD)

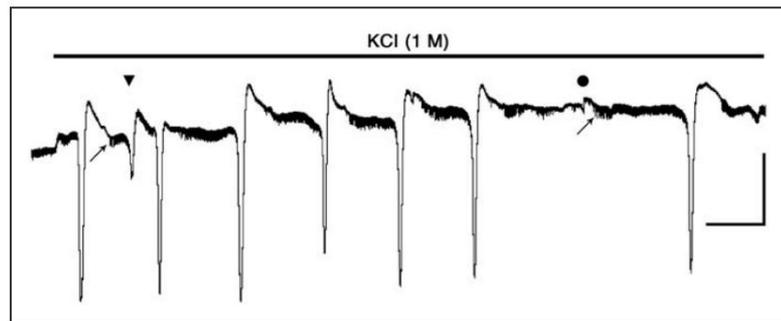
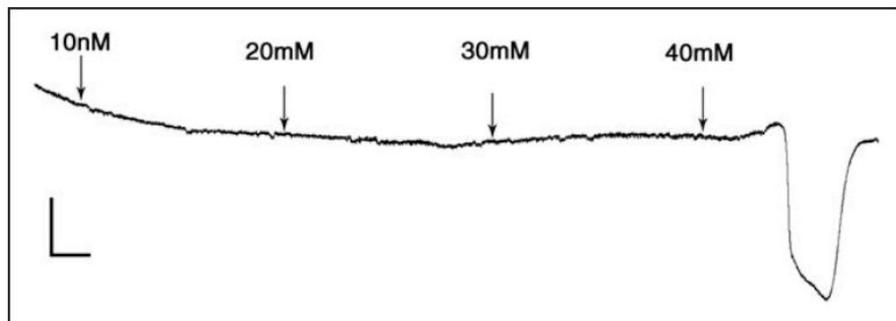
# Методы активации



<http://www.blackwellyesight.com/migraine-mechanism-in-detail/>

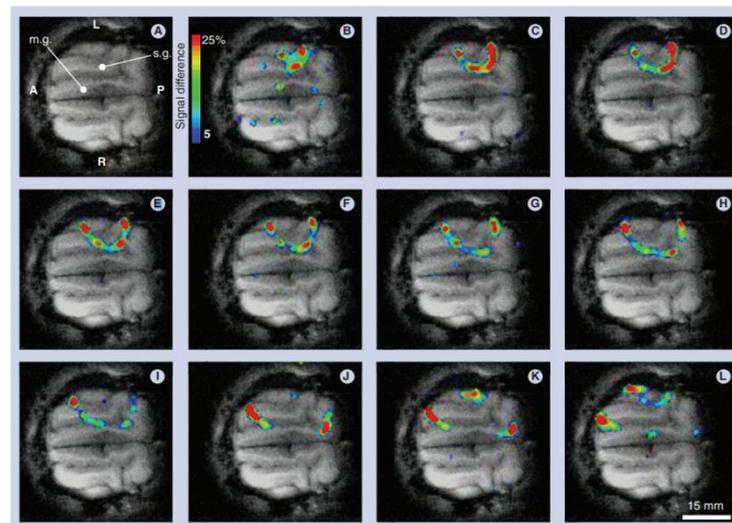
- Цель: повысить внеклеточную концентрацию  $K^+$  до определенного уровня в минимальном критическом объеме ткани (12мМ в 1мм<sup>3</sup> у грызунов)
- Square-wave электростимуляция с регулярным интервалом
- Продолжительная высокочастотная электростимуляция
  - Зависимость от состояния электрода, качества изоляции между электродами
- Внесение KCl через краниальное окно топически или интрапаренхимально
- Создание постоянной концентрации KCl для вызова повторных потенциалов действия (ПД)
  - Длительные ПД вызывают длительный период рефрактерности, искажая результаты
- Механическое раздражение коры головного мозга
  - Возможность повреждения, трудно титровать

# Методы регистрации



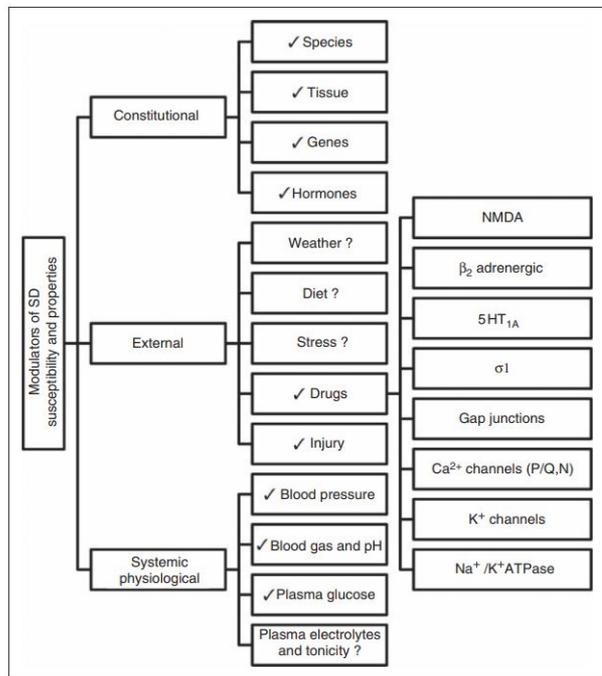
Cenk Ayata. Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression

- Электрофизиологический: регистрация медленного, отрицательного сдвига потенциала
- Диффузно-взвешенная МРТ



Justin M Smith et al. Translational imaging studies of cortical spreading depression in experimental models for migraine aura

# Регистрируемые параметры

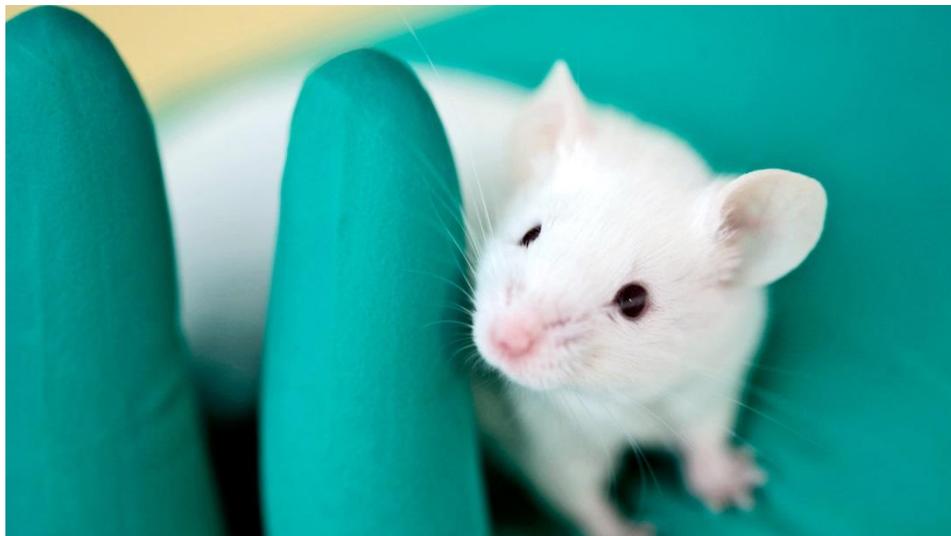


- Подверженность CSD (интенсивность разряда/объем KCl, вызывающие CSD)
- Скорость распространения, длительность, амплитуда
- Изофлуран, пропофол ингибируют CSD и замедляют её распространение
- Предпочтительнее использование уретана, барбитуратов, альфа-хлоралозы; барбитураты требуют дыхательной поддержки
- Артериальное давление (обратно пропорционально длительности рефрактерного периода), содержание глюкозы (гипергликемия снижает подверженность)

Cenk Ayata. Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression

# Генетические модели

# Виды генетических моделей



- Моделирование моногенных форм мигрени: семейная гемиплегическая мигрень (FHM), familial advanced sleep phase syndrome (FASPS) и другие
- Knock-out мыши, несущие ген человеческих форм мигрени
- CACNA1A (FHM1), ATP1A2 (FHM2)
  - Порообразующие субъединицы потенциалозависимых Ca<sup>2+</sup> и Na<sup>+</sup> каналов
- SCNA1A (FHM3)
  - $\alpha$ 2 Na/K АТФаза
- FASPS - Киназа 1 $\delta$  (CK1 $\delta$ ), многофункциональный ген, в том числе и ген циркадной регуляции
- FHM1-3 – внедрение известных у человека мутаций в ортологические гены
- CK1 $\delta$  – внедрение мутации с помощью техники искусственной бактериальной хромосомы, bacterial artificial chromosome (BAC).

# Преимущества генетических моделей



- Наиболее полное воссоздание патогенеза и клинической картины;
- Повышение подверженности животных к CSD;
- Моделирование аллодинии;
- Ответ на введение специфических для мигрени триггеров.
  
- Возможно исследование модели редкого заболевания на большом количестве животных
- Выявление элементов патогенеза, недоступных при менее полном моделировании

# Список литературы

- Andrea M. Harriott et al. Animal models of migraine and experimental techniques used to examine trigeminal sensory processing
- Cenk Ayata. Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression
- Daniela Pietrobon, K. C. Brennan. Genetic mouse models of migraine