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

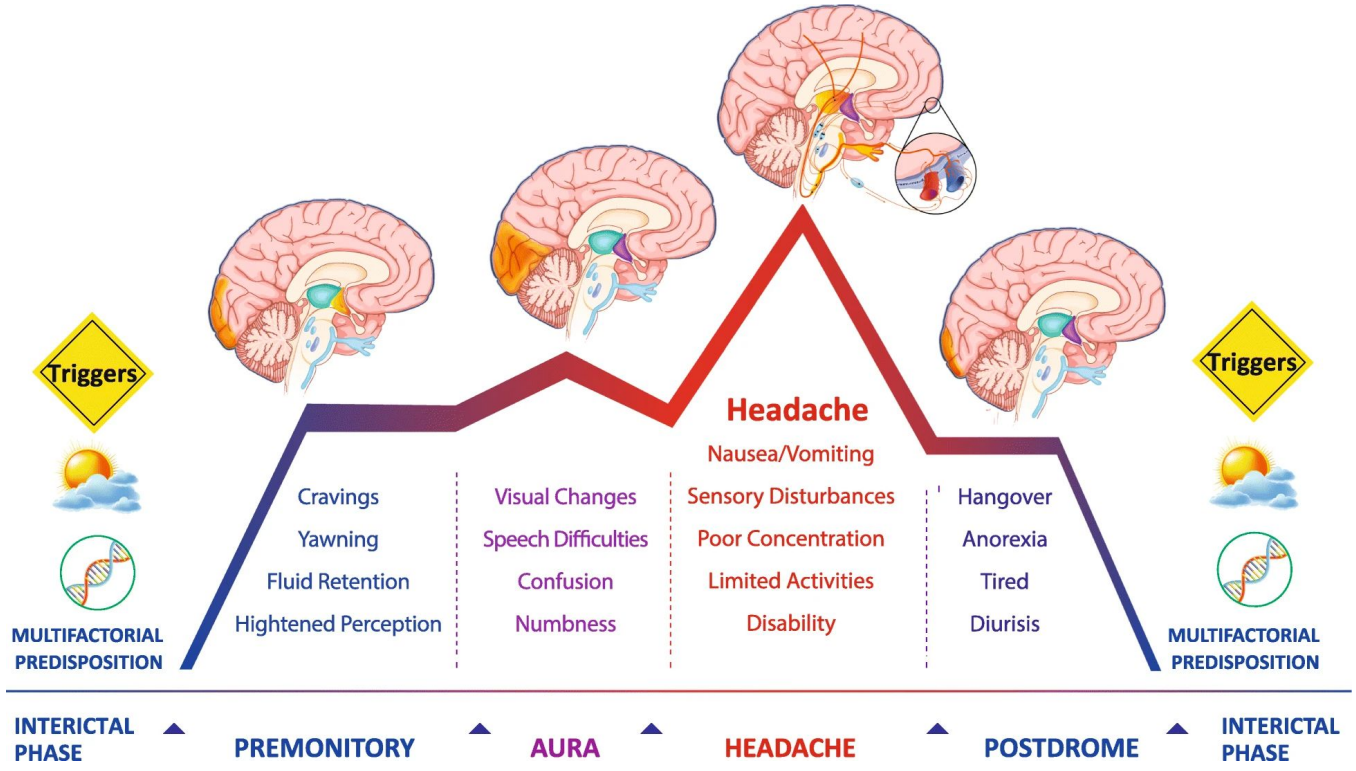
Несовершенство существующих моделей

- 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

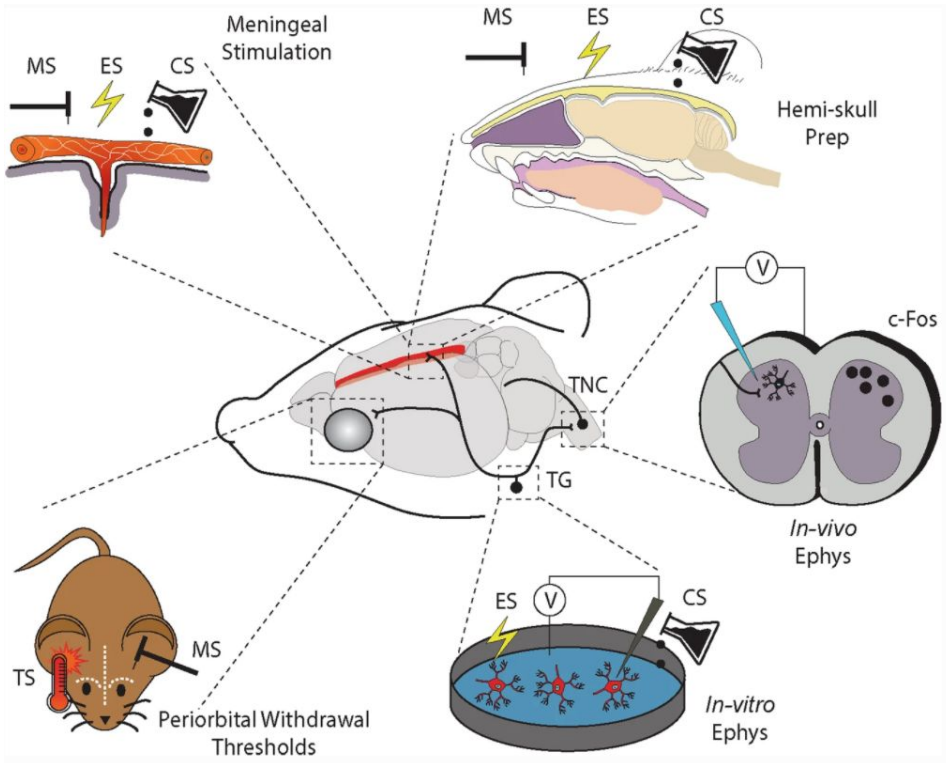
Моделируемые элементы физиологии мигрени



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

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

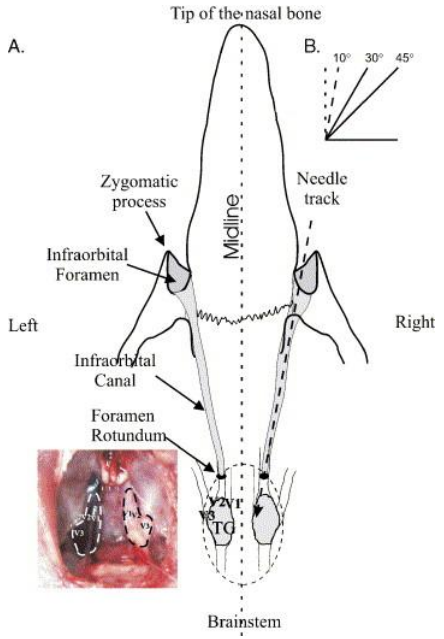
Модель тригеминоваскулярной активации



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

- Химическая и электростимуляция диссоциированных менингиальных 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

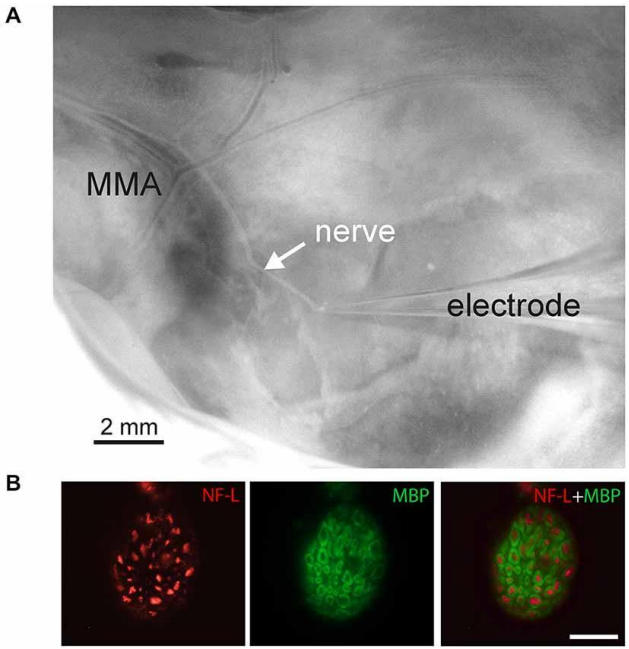
Электрофизиология In-vitro



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



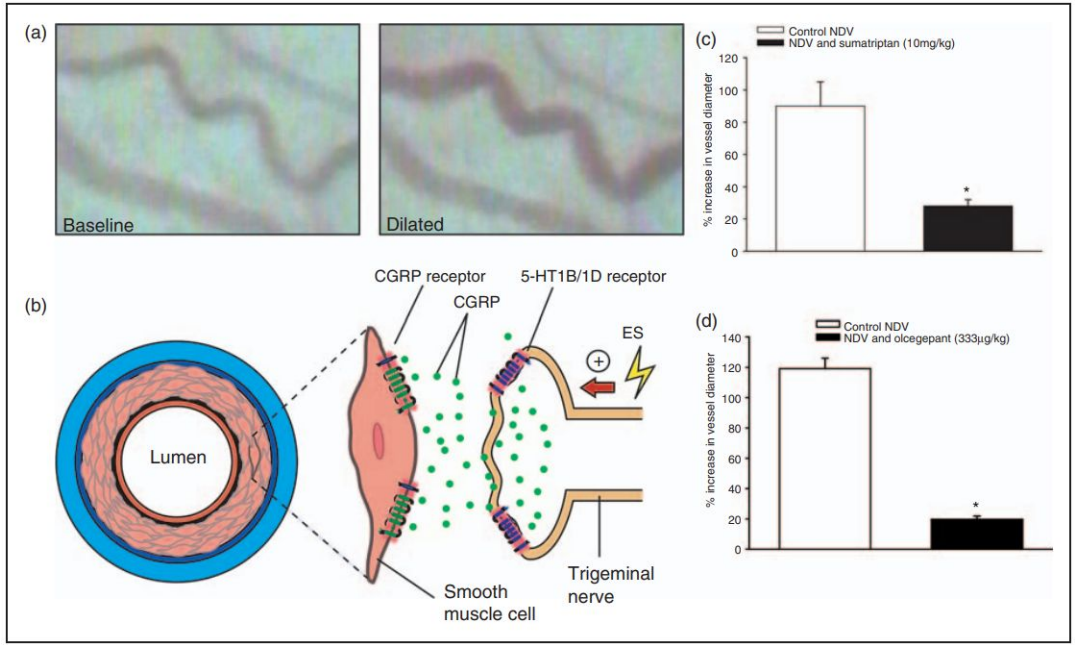
A. Zakharov, C. Vitale et al. Hunting for origins of migraine pain: cluster analysis of spontaneous and capsaicin-induced firing in meningeal trigeminal nerve fibers

- Выделение n. Spinosus (ветви тройничного нерва), части средней менингеальной артерии (MMA) 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

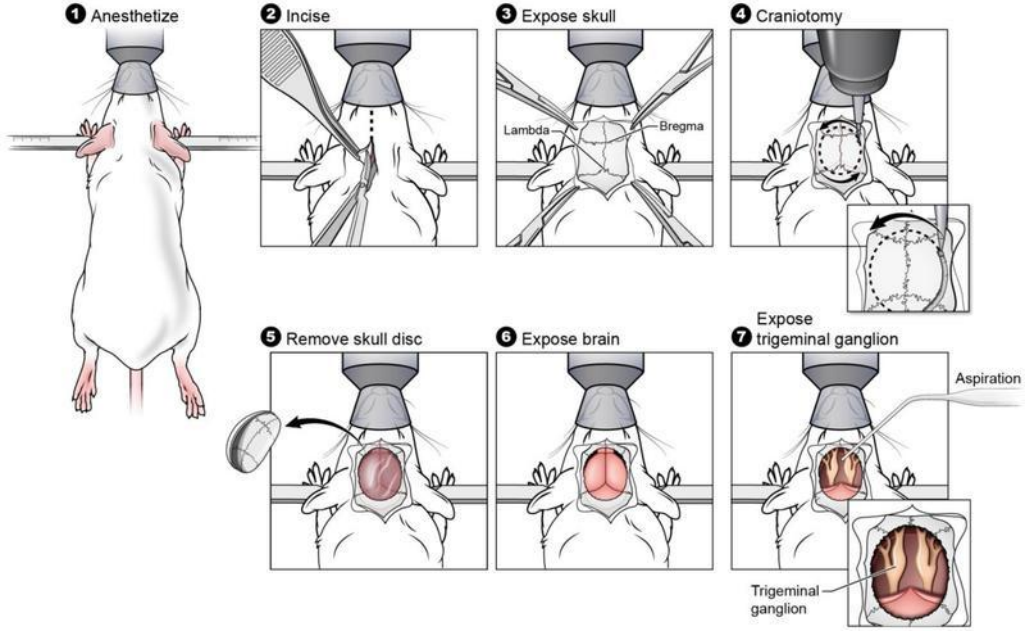
Dural trigeminovascular nociception



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 вазодилятацию, вероятно, в результате выброса CGRP. Используется для оценки эффективности вазопрессорных препаратов
- Альтернативный вариант – лазерная допплер флоуметрия
- Недостаток модели: зависимость диаметра сосуда от температуры тела, артериального давления, глубины анестезии

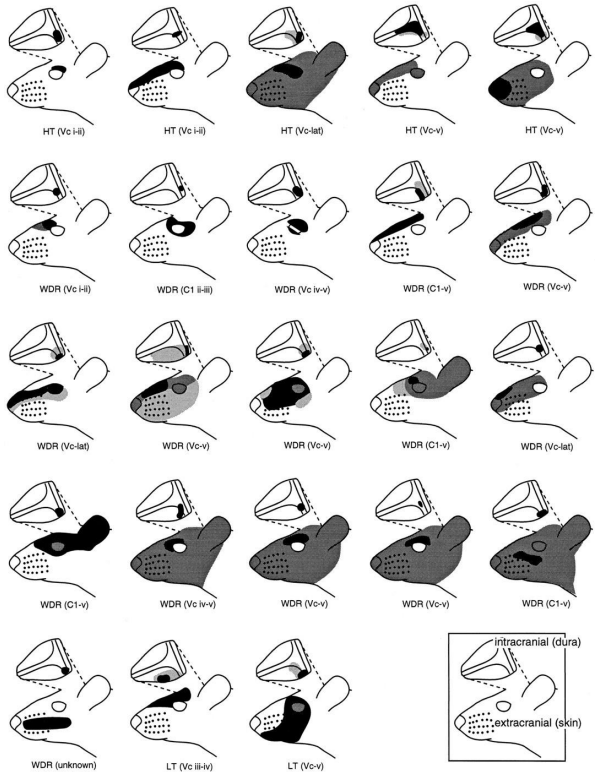
Стимуляция нейронов тройничного нерва in vivo



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

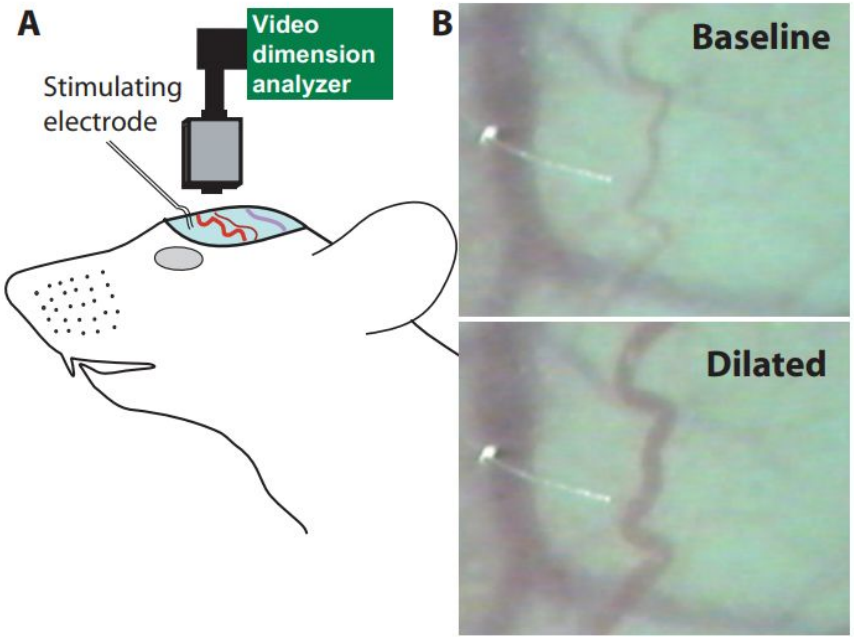
Стимуляция твердой мозговой оболочки



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

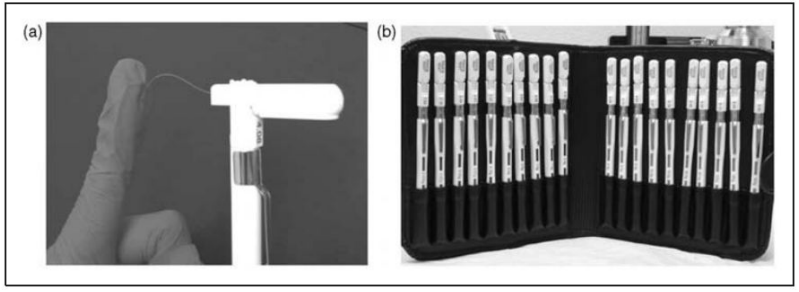


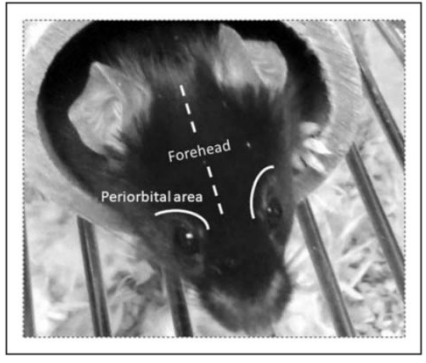
Simon Akerman, Peter J. Goadsby. Neuronal PAC1 receptors mediate delayed activation and sensitization of trigeminocervical neurons: Relevance to migraine

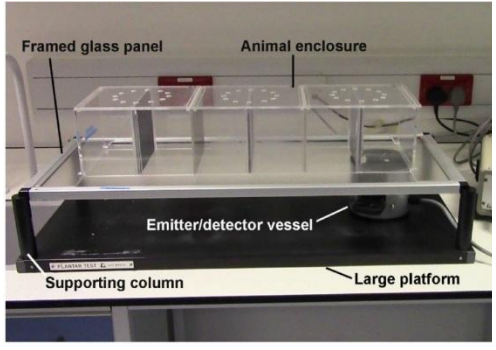
- Перспективные трансляционные модели – введение алгогенов вызывает ряд симптомов, характерных для мигрени
- NO, нитроглицерин, PACAP, и многие другие
- Используются различные методы регистрации
- Оценка действия медикаментов, исследование патофизиологических процессов

- 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





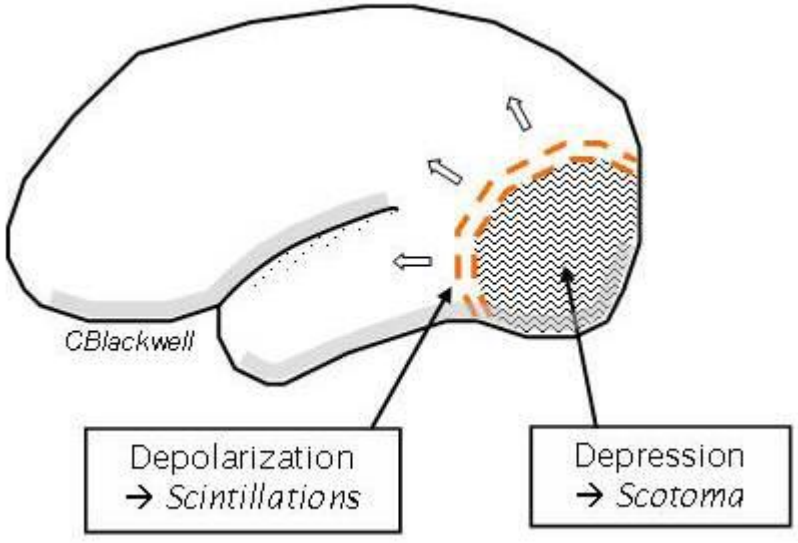


Marcela Romero-Reyes, Yi Ye. Pearls and pitfalls in experimental in vivo models of headache: Conscious behavioral research

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

Распространяющаяся корковая депрессия (CSD)

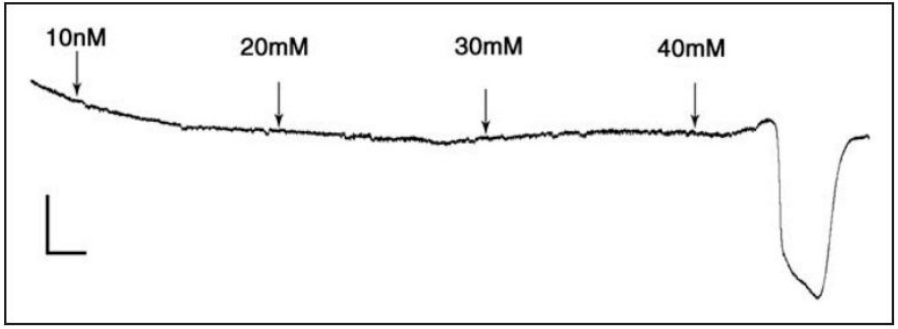
Методы активации

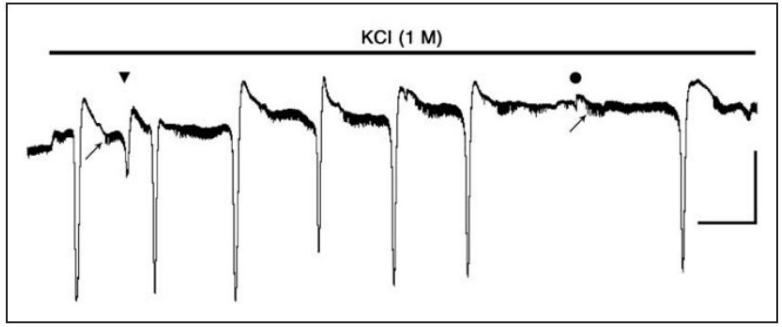


http://www.blackwelleyesight.com/migraine-mechanism-in-detail/

- Цель: повысить внеклеточную концентрацию К+ до определенного уровня в минимальном критическом объеме ткани (12мМ в 1мм3 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

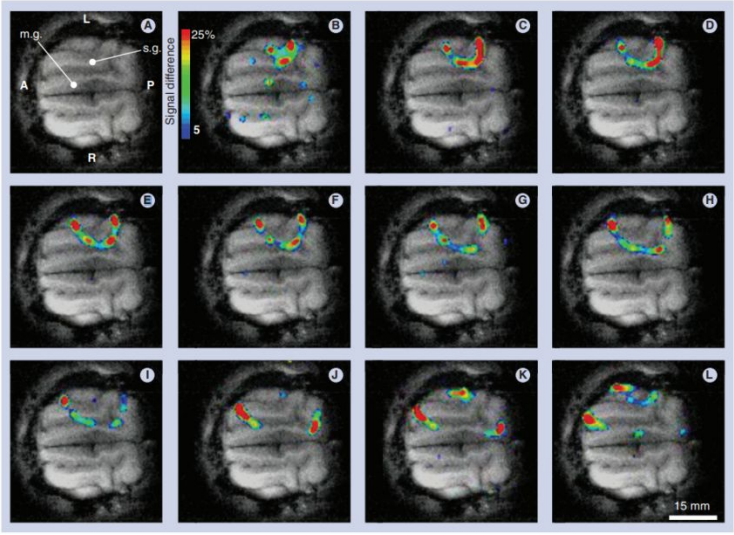
Методы регистрации





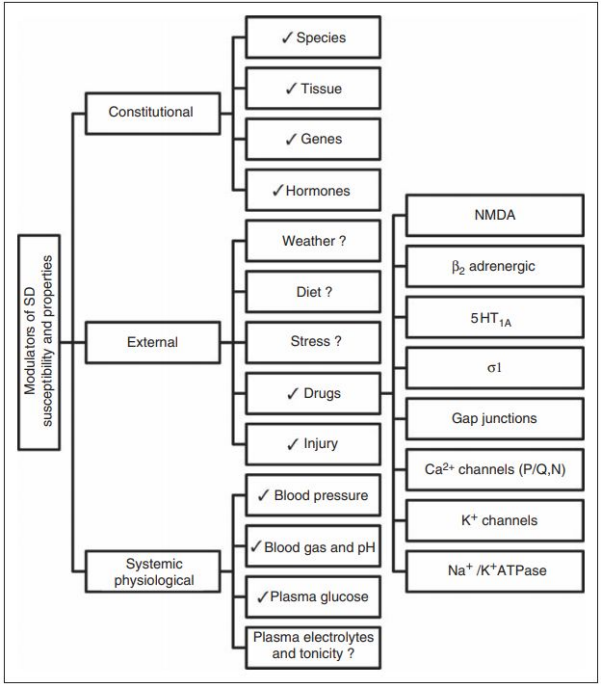
Cenk Ayata. Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression

- 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



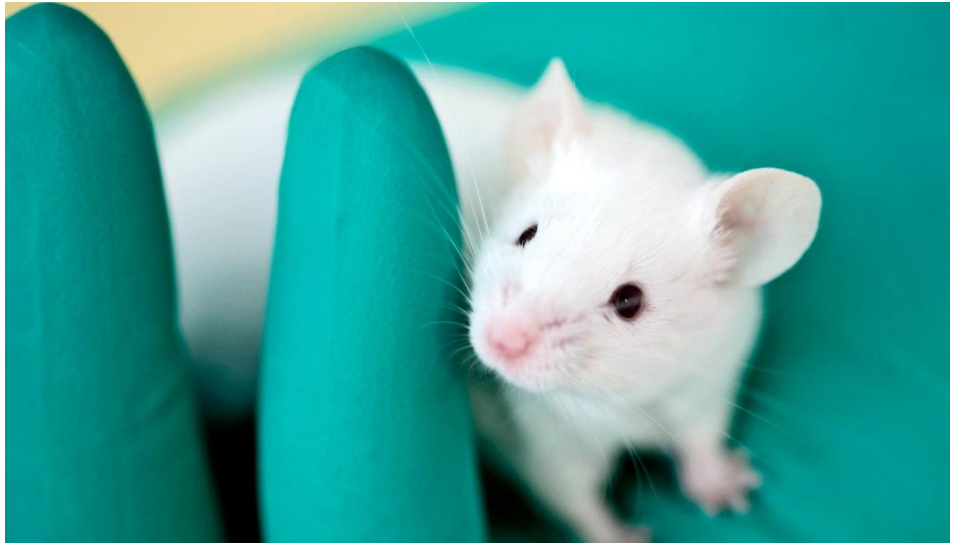
Cenk Ayata. Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression

- 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)

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 Ca2+ и Na+ каналов
- SCNA1A (FHM3)
  - α2 Na/K АТФаза
- FASPS - Киназа 1δ (CK1δ), многофункциональный ген, в том числе и ген циркадной регуляции
- FHM1-3 – внедрение известных у человека мутаций в ортологические гены
- CK1δ – 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