Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»

На правах рукописи



Кочнева Анастасия Анатольевна

РОЛЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В МОДУЛЯЦИИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ И ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ПРИ МИГРЕНИ У КРЫС-ГЕТЕРОЗИГОТ ЛИНИИ DAT-KO

1.5.24. Нейробиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
Герасимова Елена Вячеславовна

Федеральная территория «Сириус» - 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....5

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....12

1. Современные представления и диагностика мигрени.....12

2. Патофизиология мигрени.....15

3. Аура мигрени и распространяющаяся корковая депрессия.....22

4. Нейрональные пути, участвующие в мигрени.....25

4.1. Ствол мозга в регуляции мигрени.....25

4.2. Гипоталамическая регуляция головной боли при мигрени.....27

4.3 Обработка болевой стимуляции в таламусе при мигрени.....29

4.4 Гиппокамп и лимбическая система в регуляции мигрени.....31

4.5 Обработка ноцицептивной информации в коре головного мозга при мигрени.....34

5. Участие дофамина в развитии мигрени.....36

6. Нейровоспаление как фактор перехода мигрени в хроническую форму...39

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....47

2.1. Животные.....47

2.2. Моделирование хронической мигрени без ауры.....48

2.3. Поведенческие методы исследования.....49

2.3.1 Тестирование механической чувствительности нитями фон Фрея.....49

2.3.2 Тест «Открытое поле».....50

2.3.3 Тест «Темно-светлая камера».....50

2.3.4 Тест «Температурная чувствительность хвоста».....50

2.4. Электрофизиологические исследования модели с аурой.....51

2.4.1. Хирургия.....51

2.4.2 Запись распространяющейся корковой депрессии.....51

2.4.3. Анализ распространяющейся корковой депрессии.....52

2.4.4 Анализ множественных потенциалов действия.....54

2.5. Молекулярно-генетические методы исследования мигрени с аурой.....54

2.5.1 Выделение РНК для ПЦР в реальном времени.....54

2.5.2 Реакция обратной транскрипции для получения кДНК.....55

2.5.3 Постановка ПЦР в реальном времени.....56

2.6. Гистологические методы исследования.....58

2.6.1 Забор тканей для гистологического окрашивания.....58

2.6.2 Окрашивание менингеальных тучных клеток.....58

2.6.3 Иммуногистохимический анализ глиальных клеток.....59

2.6.4 Съемка и анализ срезов.....60

2.7. Статистический анализ.....61

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....63

3.1 Моделирование хронической мигрени на крысах линии Wistar.....63

3.1.1 Исследование порогов механической чувствительности в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar.....63

3.1.2 Исследование провоспалительной активации астроцитов в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar.....64

3.2 Исследование влияния дофамина на поведенческую активность у крыс DAT-HET в модели хронической мигрени без ауры.....65

3.2.1 Механическая чувствительность крыс DAT-HET в модели хронической мигрени без ауры.....65

3.1.2 Пороги температурной чувствительности у DAT-HET крыс в модели хронической мигрени.....66

3.1.3 Влияние хронического введения нитроглицерина на поведенческие реакции в тесте «Открытое поле» у крыс DAT-HET.....67

3.1.4 Исследование светобоязни и тревожности у DAT-HET крыс в модели

хронической мигрени в тесте «Темно-светлая камера».....69

3.2 Исследование влияния дофамина на активацию тучных клеток у крыс DAT-HET в модели хронической мигрени..... 71

3.3 Глиальные изменения в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET.....72

3.4 Глиальные изменения в вентральных ядрах таламуса в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET..... 78

3.5 Исследование электрической активности мозга у крыс DAT-HET в модели острой мигрени с аурой..... 79

3.6 Активация тучных клеток в модели острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET.....83

3.7 Глиальные клетки в модели мигрени с аурой в дорсальном гиппокампе у крыс DAT-HET..... 84

3.8 Глиальные клетки в вентральных ядрах таламуса в модели острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET..... 87

3.9 Анализ экспрессии транскрипционной активности маркеров активации и воспаления глии у DAT-HET в модели острой мигрени с аурой..... 88

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ..... 91

4.1 Нейровоспаление в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar93

4.2 Поведенческие изменения в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET.....94

4.3 Тучные клетки в модели мигрени с аурой и без ауры у крыс DAT-HET..96

4.4 Нейровоспаление в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET..... 98

4.5 Модель мигрени с аурой: вклад дофамина в изменение электрофизиологических показателей активности нейронов коры и нейровоспаление..... 101

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....107

ВЫВОДЫ.....110

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....111

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Мигрень является одним из наиболее распространенных и социально значимых неврологических заболеваний, которым страдает около 15 % населения мира. Согласно данным Global Burden of Disease, мигрень занимает второе место среди причин инвалидизации и первое место среди неврологических заболеваний у лиц молодого и среднего возраста [1]. Высокая распространенность заболевания, преимущественное поражение лиц трудоспособного возраста, выраженное снижение качества жизни пациентов и значительные экономические затраты, связанные с потерей трудоспособности и необходимостью длительного лечения, определяют высокую медицинскую и социальную значимость данной патологии [2].

Современная концепция патогенеза мигрени рассматривает заболевание как результат нарушения функционирования тригеминоваскулярной системы, представляющей собой совокупность чувствительных волокон тройничного нерва, иннервирующих сосуды и оболочки головного мозга, а также центральных структур, обеспечивающих проведение и обработку ноцицептивной информации [3]. Под действием различных триггеров происходит активация периферических окончаний тройничного нерва, которая сопровождается высвобождением нейропептидов, прежде всего кальцитонин-ген-связанного пептида (CGRP), пептида, активирующего аденилатциклазу гипофиза (PACAP) и субстанции Р. Эти медиаторы вызывают вазодилатацию, повышение сосудистой проницаемости, дегрануляцию менингеальных тучных клеток и развитие нейрогенного воспаления в твердой мозговой оболочке, что приводит к сенситизации периферических ноцицепторов и последующей активации центральных отделов тригеминоваскулярной системы [3,4]. Именно активация тригеминоваскулярной системы в настоящее время рассматривается как основной механизм возникновения мигренозной боли.

Одним из первых нейромедиаторов, роль которого была определена при мигрени, стал серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ). Наиболее убедительным

подтверждением участия серотонина в патогенезе мигрени стало создание селективных агонистов серотониновых рецепторов - триптанов, которые оказались эффективны в лечении мигрени [5]. Вместе с тем накопленные за последние годы данные свидетельствуют о том, что мигрень не может быть объяснена исключительно нарушением серотонинергической передачи или активацией тригеминоваскулярной системы. Несмотря на высокую эффективность триптанов, около 40 % пациентов не достигают адекватного ответа на лечение, а сами препараты оказывают преимущественно симптоматическое действие, не предотвращая развитие заболевания и его хронификацию [6]. Это указывает на существование дополнительных механизмов, регулирующих возбудимость нейрональных сетей и поддерживающих патологический процесс.

В первых клинических исследованиях было отмечено, что многие продромальные симптомы мигрени, включая тошноту, рвоту, сонливость, зевоту и артериальную гипотензию, характерны для активации дофаминовых рецепторов, а применение антагонистов D2-рецепторов способствует уменьшению выраженности приступа [7]. Экспериментальные исследования показали, что дофамин способен модулировать активность тригеминоваскулярной системы, изменять возбудимость корковых нейронов, влиять на центральную сенситизацию [8–10]. Однако, результаты многих исследований остаются противоречивыми, несмотря на эффективность антагонистов дофамина при купировании симптомов мигрени, применение дофамина или агонистов его рецепторов может подавлять активацию тригеминальных нейронов [11–13].

Степень проработанности темы исследования. Несмотря на существенный прогресс в понимании патофизиологии мигрени, механизмы ее возникновения и особенности перехода эпизодической формы в хроническую до настоящего времени остаются изученными не полностью. Современные представления рассматривают мигрень как заболевание, возникающее вследствие нарушения функционирования сложной сети взаимосвязанных нейрональных структур, включающих тригеминоваскулярную систему, ствол мозга, таламус,

гипоталамус, кору больших полушарий и лимбическую систему, что приводит к нарушению сенсорной обработки [14].

Заболеваемость мигренью также осложнена вероятностью перехода из эпизодической формы в хроническую. Существуют исследования, свидетельствующие о важной роли нейровоспаления в патогенезе мигрени, а также переходе заболевания в хроническую форму. Повторяющаяся активация тригеминоваскулярной системы сопровождается развитием локального нейрогенного воспаления в мозговых оболочках, активацией резидентных иммунных клеток центральной нервной системы (микроглии) и формированием центральной сенситизации [15]. Длительная активация глиальных клеток сопровождается изменением продукции цитокинов, хемокинов, а также пуринергической сигнализации и других молекулярных механизмов, способных поддерживать повышенную возбудимость ноцицептивных сетей и способствовать хронификации боли [16,17].

Таким образом, несмотря на значительный прогресс в изучении мигрени, механизмы взаимодействия дофаминергической системы и глиального нейровоспаления при различных формах заболевания остаются недостаточно изученными. Выяснение роли дофамина в регуляции нейроиммунных процессов представляет существенный фундаментальный интерес и может способствовать более глубокому пониманию механизмов хронификации мигрени, а также поиску новых терапевтических мишеней, направленных на предупреждение прогрессирования заболевания.

Целью исследования было охарактеризовать поведенческие, электрофизиологические и нейровоспалительные особенности у крыс-гетерозигот линии DAT-KO (DAT-HET) в моделях мигрени.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить изменения сенсорной чувствительности, поведенческих особенностей в модели хронической мигрени без ауры у крыс DAT-HET.

2. Оценить воспалительную активность периферической иммунной системы в модели хронической мигрени без ауры и острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET.

3. Исследовать гистологические изменения в дорсальном гиппокампе и таламусе крыс DAT-HET в модели хронической мигрени без ауры и острой мигрени с аурой.

4. Изучить электрофизиологические показатели активности коры головного мозга в модели острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET.

5. Оценить молекулярно-генетические биомаркеры нейровоспаления у крыс DAT-HET в модели мигрени с аурой.

Научная новизна. Впервые для изучения механизмов мигрени с аурой и без ауры применена генетическая модель крыс, гетерозиготных по нокауту гена транспортера дофамина (DAT-HET, *Slc6a3*), с эндогенно повышенным внеклеточным уровнем дофамина, что позволило исключить артефакты экзогенной фармакологической модуляции и оценить роль дофаминергической системы в развитии заболевания.

Выявлено участие дофамина в центральных и периферических механизмах возникновения и развития мигрени. Продемонстрировано его противовоспалительное действие в отношении менингеальных оболочек, тогда как развитие реактивного астроглиоза в гиппокампе протекает независимо от активности обратного захвата дофамина.

Впервые на модели мигрени с аурой установлено, что изменения кинетики распространяющейся корковой депрессии ассоциированы с модулирующим влиянием дофаминергической системы на возбудимость нейронов соматосенсорной коры.

Научно-практическая значимость. Полученные результаты показывают, что хроническое изменение дофаминергического тонуса, обусловленное снижением обратного захвата дофамина, не приводит к универсальному усилению или подавлению мигренеподобных проявлений, а избирательно изменяет отдельные компоненты патологического ответа. Важное значение имеют

результаты исследования нейровоспалительных механизмов. Показано, что вариативность иммунного и глиального ответа на фоне повышенного тонуса внеклеточного дофамина зависит от типа механизмов (центральных или периферических) вовлеченных в формировании мигренозного приступа.

Полученные результаты дополняют экспериментальные данные о механизмах взаимодействия дофаминергической передачи с тригеминальной системой, распространением корковой депрессии (РКД) и нейровоспалением и могут быть использованы при дальнейшем исследовании молекулярных механизмов мигрени, в том числе при разработке экспериментальных подходов к фармакологической модуляции дофаминергической системы.

Методология и методы исследования. Работа проводилась на крысах-гетерозиготах линии DAT-KO (DAT-HET). Были использованы поведенческие тесты для определения динамики развития болевого приступа в модели хронической нитроглицерин-индуцированной мигрени. Также применена модель мигрени с аурой, в ходе которой регистрировались электрофизиологические показатели активности коры. После моделирования хронической мигрени и острой мигрени с аурой проведен гистологический анализ воспаления оболочек мозга, подкорковых структур, а также количественный анализ экспрессии генов в мозге.

Положения, выносимые на защиту

1. При моделировании хронической мигрени активация астроцитов в полях CA1 и CA3 гиппокампа не зависит от генотипа крыс линии DAT, тогда как в зубчатой извилине и вентральных ядрах таламуса глиальный ответ носит генотип-зависимый характер, увеличение плотности микроглии в таламусе выявлено только у крыс DAT-WT. В вентральных ядрах таламуса у DAT-HET крыс микроглиальное окружение в модели хронической мигрени сохраняется на уровне контроля.

2. В модели острой мигрени с аурой снижаются скорость деполяризации, амплитуда и латентность начала распространяющейся корковой депрессии у

DAT-HET крыс, тогда как порог ее инициации и множественные потенциалы действия нейронов соматосенсорной коры не зависят от этого влияния.

3. Активация менингеальных тучных клеток при индукции мигрени зависит от характера и длительности патологического воздействия: в модели хронического введения нитроглицерина она наблюдается независимо от генотипа, тогда как при острой KCl-индуцированной мигрени только у DAT-WT крыс.

Достоверность полученных данных. Достоверность результатов основана на достаточном количестве проведенных исследований с применением адекватных методик и статистической обработке полученных данных.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликованы 2 статьи в журналах из перечня ВАК, 1 статья в зарубежном журнале из 1 квартиля. Также результаты работы представлены на конференциях: Всероссийская конференция по естественным и гуманитарным наукам с международным участием «Наука СПбГУ – 2023» (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийская с международным участием школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» (Казань, 2023); XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023); Нейрокампус 2023: Эволюция. Нейротехнологии Будущего (Москва, 2023); Международная конференция NEUROSCIENCE WEEK (Ереван, 2024); LIFT Школа молодого нейротехнолога (Москва, 2024, 2025); 28 Пущинская школа-конференция молодых ученых с международным участием "Биология - наука XXI века" (Пущино, 2025); Самойловские чтения. Современные проблемы физиологии (Казань, 2026); Современное видение вопросов боли: клинические и экспериментальные подходы (Санкт-Петербург, 2026).

Личный вклад диссертанта в исследование. Работа выполнена при личном участии диссертанта во всех этапах исследования: проведение экспериментов, обработка и анализ полученных результатов, написание тезисов и статей.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах (включенных в перечень ВАК, Scopus и Web of Science) и 12 тезисов по материалам конференций.

Конкурсная поддержка работы. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-15- 00328.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, состоящего из 330 источников. Диссертация содержит 32 рисунка, 2 таблицы.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Современные представления и диагностика мигрени

К одним из наиболее распространенных неврологических расстройств относят головные боли, которые можно разделить на первичные и вторичные. Первичные головные боли имеют идиопатическую природу, вторичные являются следствием иных патологий. К первичным головным болям относят [18]:

- головную боль напряжения,
- кластерную головную боль,
- боль от физических нагрузок,
- мигрень.

Мигрень - первичная головная боль, которая, по оценкам Global Burden of Disease, в различных регионах мира занимает 5-8 место по причине инвалидизации людей [1]. Мигрень характеризуется односторонней пульсирующей головной болью, длящейся от 4 до 72 часов, которая также может сопровождаться дополнительными симптомами. Приступ мигрени разделяют на фазы (Рисунок 1) [19]:

1) Продромальная фаза. Фаза-предвестник, начинающаяся до головной боли, включает в себя не болевые симптомы, например, тошноту, зевоту, повышенную усталость.

2) Аура. Около 25-30% пациентов перед или во время приступа мигрени страдают дополнительными симптомами, относящимися к так называемой ауре мигрени. Эти симптомы в основном затрагивают нарушение сенсорных систем, наиболее распространенным типом является зрительная аура (90%).

3) Фаза головной боли. Во время данной фазы головная боль постепенно усиливается, имеет чаще односторонний пульсирующий характер и усиливается при физической активности. Как правило, сопровождается аллодинией (боязнь прикосновений), фотофобией (светобоязнь), фонофобией (боязнь звуков) и осмофобией (боязнь запахов).

4) Постдромальная фаза. После головной боли пациенты ощущают когнитивные нарушения, сонливость и усталость.

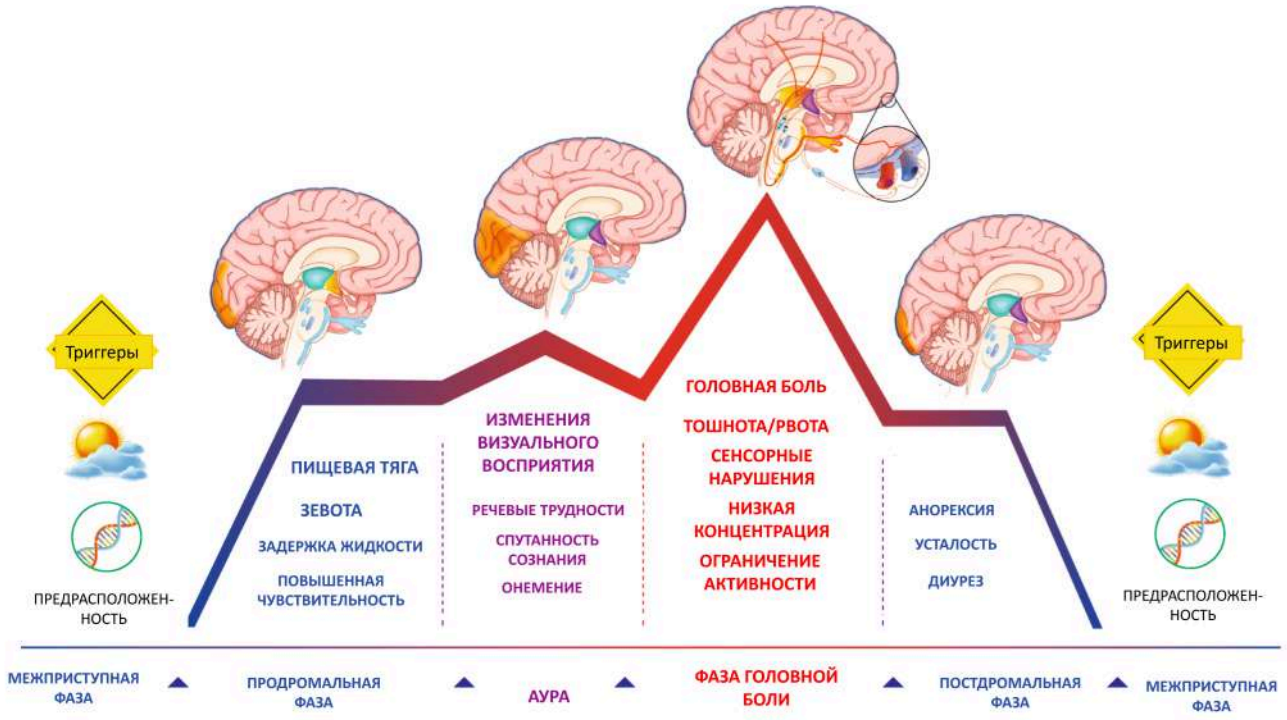


Рисунок 1 – Фазы мигренозного приступа. Различные триггеры могут спровоцировать приступ мигрени, который состоит из нескольких фаз: продромальный, аура, фаза головной боли и постдромальная фаза, которые характеризуются различными симптомами [20] (с изменениями)

Так как фаза ауры присутствует не у всех пациентов, мигрень подразделяют на мигрень с аурой и без ауры. Мигренью с аурой более чем в 2 раза чаще страдают женщины [21]. В целом, одной из наиболее характерных эпидемиологических особенностей мигрени является выраженное преобладание заболевания среди женщин. В среднем женщины страдают мигренью в 2-3 раза чаще мужчин, причем данное различие становится заметным после пубертатного периода и сохраняется вплоть до наступления менопаузы [22]. Предполагается, что основную роль в формировании половых различий играют циклические изменения уровня половых гормонов, прежде всего эстрогенов, которые способны изменять возбудимость тригеминоваскулярной системы. Косвенным

подтверждением роли гормональных факторов является существование менструальной мигрени, а также изменение частоты приступов во время беременности и после наступления менопаузы [23].

В зависимости от частоты приступов разделяют эпизодическую мигрень, если головная боль длится суммарно менее 15 дней в месяц, и хроническую, при которой более половины дней в месяц пациенты страдают от головной боли [19]. Распространенность мигрени существенно зависит от возраста. Заболевание редко встречается у детей младшего возраста, однако начинает быстро увеличиваться после наступления полового созревания, достигая максимума в возрасте 30–49 лет, после чего постепенно снижается. Такая возрастная динамика совпадает с наиболее активным трудоспособным периодом жизни человека, вследствие чего мигрень оказывает выраженное влияние на профессиональную деятельность, обучение и качество жизни пациентов (GBD 2021 Headache Collaborators, 2024). Хотя хроническая форма встречается значительно реже эпизодической и составляет около 1-2 % общей популяции, именно она ассоциирована с наиболее выраженной инвалидизацией, высокой частотой коморбидных психических расстройств и существенным снижением качества жизни [24,25]. Ежегодно приблизительно у 2-3 % пациентов с эпизодической мигренью происходит переход заболевания в хроническую форму, чему способствуют высокая частота приступов, избыточное применение анальгетиков, ожирение, нарушения сна, депрессия и тревожные расстройства [26]. Однако, при должном лечении хронизация мигрени обратима у около 26% пациентов [17].

Клиническое и социально-экономическое бремя мигрени существенно усугубляется высокой частотой сопутствующих заболеваний. Данные обширного мета-анализа свидетельствуют о статистически значимом повышении долгосрочного риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных патологий у пациентов с мигренью [27]. Кроме того, установлена эпидемиологическая и патофизиологическая связь мигрени с эпилепсией [28]. Особое внимание привлекает хроническая форма заболевания, которая тесно ассоциирована с широким спектром психиатрических расстройств (в первую очередь

депрессивного и тревожного спектра) и стойкими нарушениями сна [29,30]. В совокупности, эти коморбидные состояния не только осложняют терапию, но и значительно снижают качество жизни пациентов.

Таким образом, несмотря на значительный прогресс в разработке новых методов лечения, за последние десятилетия глобальная распространенность мигрени практически не изменилась. Это подчеркивает необходимость дальнейшего изучения патогенетических механизмов заболевания, в том числе процессов, лежащих в основе хронизации мигрени.

2. Патофизиология мигрени

Несмотря на то что описания головной боли и мигрени восходят к античным источникам, патофизиологические механизмы этого заболевания оставались предметом длительных научных дискуссий [31]. Ранние концепции условно разделялись на два направления: нейрональную теорию, постулирующую, что приступ головной боли инициируется патологическими разрядами в центральных нейронных сетях [32], и сосудистую гипотезу, согласно которой ключевую роль играют изменения церебрального тонуса [33], что косвенно подтверждалось эффективностью разработанных триптанов, агонистов серотониновых 5-HT1B-рецепторов, с выраженным вазоконстрикторным действием [34]. Ключевым моментом в понимании природы мигрени стала публикация Московица с соавторами в 1979 году, в которой была сформулирована тригеминоваскулярная теория. Авторы утверждали, что аксональные проекции тройничного нерва, иннервирующие мозговые оболочки и церебральные сосуды, содержат вазоактивные нейропептиды, высвобождение которых запускает каскад нейрогенного воспаления и периферической сенситизации [35]. С этого времени мигрень перестала рассматриваться изолированно как сосудистая или нейронная патология: заболевание стало трактоваться как системный процесс, интегрирующий активацию тригеминальной афферентации, нейрогенное воспаление и модуляцию сосудистого тонуса.

Как известно, паренхима головного мозга лишена ноцицептивной иннервации, тогда как мозговые оболочки, и в особенности их сосуды,

иннервированы с высокой плотностью чувствительными волокнами. Обнаружены немиелинизированные С-волокна малого диаметра и миелинизированных аксоны класса Аδ [36,37], которые иннервируют пиальные, арахноидальные и дуральные сосуды, в основном, артерии. Миелинизированные волокна являются проекциями афферентов тройничного нерва, немиелинизированные волокна в основном, симпатические, а также парасимпатические эфференты, берущие начало от спинномозговых и вегетативных ганглиев [38,39]. Волокна тройничного нерва отличаются внутриклеточным составом и могут быть идентифицированы по наличию субстанции Р и кальцитонин-ген-родственному пептиду (CGRP), пептиду, активирующему аденилатциклазу гипофиза (PACAP) которые высвобождаются при активации аксонов и служат основными медиаторами нейрогенного воспаления, обеспечивая функциональную связь между нервной активацией и сосудистым ответом [40,41]. Именно их активация вовлечена в возникновение головной боли [36]. С точки зрения сосудистого компонента мигрени, активация тригеминальных ноцицепторов опосредована механочувствительными ионными каналами, которые реагируют на растяжение стенок менингеальных сосудов [42].

Афференты тройничного нерва, идущие от мозговых оболочек передают сигнал через ганглий к спинномозговому чувствительному ядру тройничного нерва на уровне С1 (Рисунок 2) [43]. Нейроны второго порядка проецируются в ядра таламуса, которые далее передают сигнал к различным областям коры, что предполагает возникновение различных патологических симптомов при мигрени [44]. Помимо этого, нейроны спинномозгового ядра тройничного нерва также проецируются на структуры среднего мозга и передний гипоталамус [45].

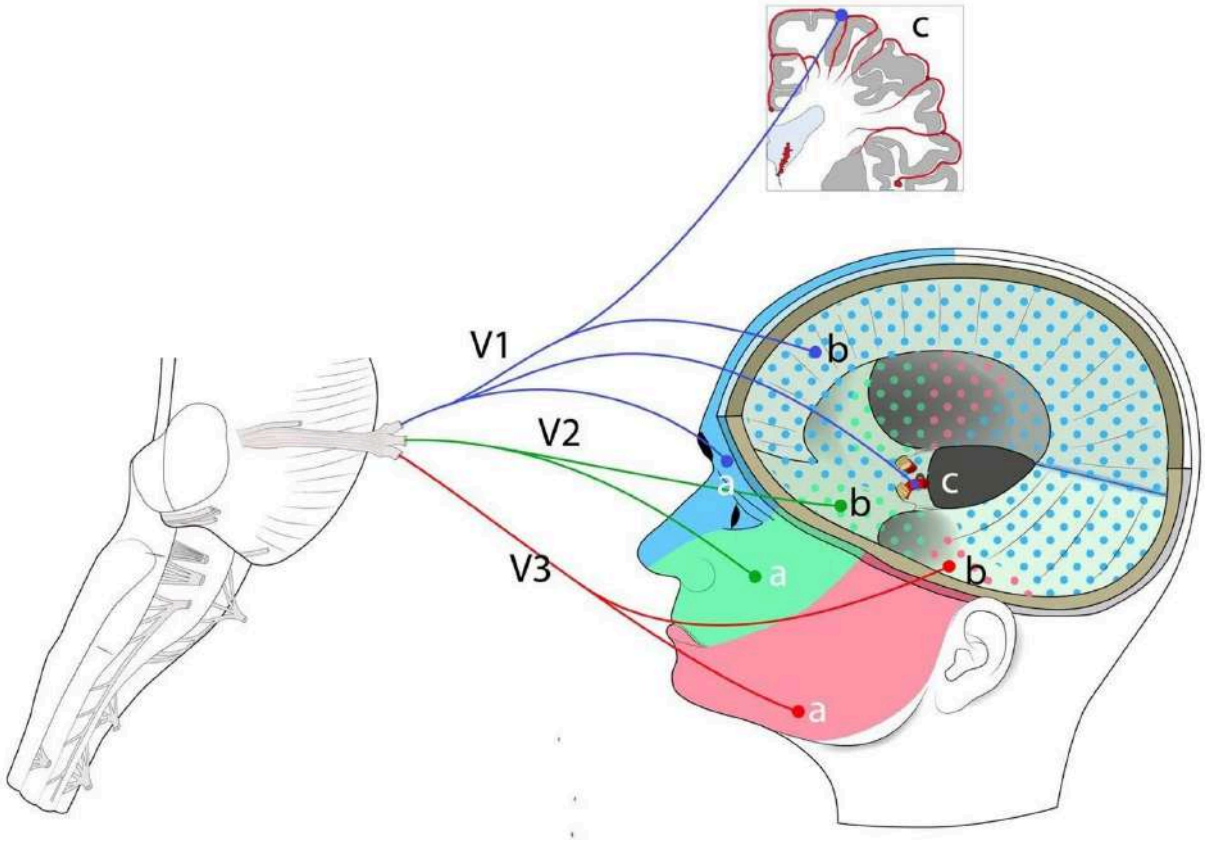


Рисунок 2 – Топографическая соматотопия тройничного нерва. Три ветви тройничного нерва (глазничный или V1, верхнечелюстной или V2 и нижнечелюстной или V3) получают афферентные волокна от слизистой оболочки и кожи (a) и твердой мозговой оболочки (b), при этом область иннервации твердой мозговой оболочки V1 является наибольшей. Афферентные волокна от крупных мозговых и пиальных артерий (c) и, вероятно, от пиальной арахноидальной оболочки (тригеминоваскулярная система) достигают V1 [46]

Активация тригеминальных афферентов сопровождается высвобождением комплекса вазоактивных нейропептидов, среди которых, по аналогии с другими болевыми нозологиями, одну из ведущих ролей играет субстанция Р. Данный нейропептид широко представлен в структурах периферической и центральной нервной системы, в иннервирующих черепные сосуды волокнах, сенсорных проекциях тройничного нерва [47]. Рецепторы, с которыми связывается субстанции Р, а именно с рецепторами нейрокинина 1 (NK1R), экспрессируются в каудальном ядре тригеминального нерва (КТН) [48,49]. В контексте патофизиологии мигрени субстанция Р приводит к вазодилатации менингеальных сосудов преимущественно через индукцию синтеза оксида азота (NO),

способствует дальнейшей активации и сенситизации тригеминальных афферентов, а также инициирует каскад локального нейрогенного воспаления [50–52]. Однако, субстанция Р содержится не во всех окончаниях тригеминальных нейронов, осуществляющих иннервацию мозговых оболочек, что вызвало предположения о существовании дополнительных медиаторов болевой чувствительности [53].

Клинические испытания антагонистов рецептора NK1R, направленные на блокирование эффектов субстанции Р, не продемонстрировали достоверной терапевтической эффективности при мигрени. В части исследований препараты данной группы не отличались по эффектам от плацебо [54–56].

В последующем было установлено, что при активации тригеминальных афферентов наряду с субстанцией Р происходит высвобождение CGRP, который не только обладает сходным сосудистым и провоспалительным действием, но и функционирует синергично с субстанцией Р [57]. CGRP признан одним из наиболее мощных эндогенных вазодилататоров внутричерепных сосудов, существенно превышающим по силе сосудорасширяющий эффект субстанции Р [58]. Кроме того, данный нейропептид играет ключевую роль в инициации и поддержании нейрогенного воспаления [59]. Биологические эффекты CGRP реализуются через специфический рецепторный комплекс, образованный кальцитонин-подобным рецептором и белком, модулирующим активность рецептора 1, которые широко представлены не только в тригеминальной системе, но и в различных структурах ЦНС [60]. Внутрибрюшинное и внутрижелудочковое введение CGRP мышам вызывало светобоязнь (фотофобию), как показатель мигренеподобного состояния [61], хотя, эффекты CGRP во многом зависят от дозы, в том числе могут оказывать обезболивающий эффект [62]. У пациентов обнаружено повышение уровня CGRP в крови во время и между приступами мигрени [63,64], хотя и не во всех исследованиях [65–67]. Инфузия CGRP способна вызвать приступы кластерной головной боли или мигрени без ауры [68,69]. В этой связи существует множество препаратов, которые направлены на

блокирование действия CGRP, в том числе антагонисты его рецепторов (гепанты) и антитела [70–72].

Еще одним нейропептидом, представляющим значительный терапевтический интерес, является PACAP. Подобно субстанции P и CGRP, PACAP высвобождается при активации тригеминальных афферентов и обладает выраженным вазодилатирующим действием [73]. Клинические исследования продемонстрировали повышение концентрации данного пептида в периферической крови пациентов во время мигренозного приступа [74]. Экспериментальное внутривенное введение PACAP способно индуцировать мигренеподобный приступ, предположительно за счет устойчивой дилатации экстракраниальных артерий [75], данный эффект может быть купирован последующим введением суматриптана - широко применяемого препарата при мигрени [76]. Поэтому PACAP рассматривается как перспективная мишень для терапии, в настоящее время ведутся исследования моноклональных антител для профилактики и купирования приступов мигрени [77,78].

Оксид азота рассматривается как один из возможных медиаторов патогенеза мигрени. NO представляет собой короткоживущий газообразный сигнальный медиатор, участвующий в регуляции сосудистого тонуса, нейрональной передачи, воспалительных процессов и межклеточной коммуникации. NO синтезируется из L-аргинина ферментами NO-синтазами: нейрональной, эндотелиальной и индуцибельной [79–81]. Экспрессия индуцибельной NO-синтазы существенно возрастает при воспалительных процессах и сопровождается длительной продукцией высоких концентраций NO, способных поддерживать нейровоспаление и тканевое повреждение [82].

Клинические исследования показали, что введение доноров NO, в частности нитроглицерина (НТГ), способно воспроизводить типичный приступ мигрени у пациентов без ауры, тогда как у здоровых добровольцев развивается лишь кратковременная головная боль [83]. NO способен непосредственно повышать возбудимость нейронов тройничного ганглия, усиливать высвобождение CGRP и активировать клетки глии, тем самым способствуя развитию периферической и

центральной сенситизации [84–86]. Кроме того, оксид азота взаимодействует с активными формами кислорода, образуя пероксинитрит, который усиливает оксидативный стресс, активацию микроглии и экспрессию провоспалительных цитокинов [87]. Таким образом, NO рассматривается не только как вазоактивный фактор, но и как один из центральных регуляторов нейровоспалительных процессов при мигрени.

Благодаря свойствам НТГ вызывать мигрень у пациентов, он стал применяться и в лабораторной практике для моделирования мигрени на животных. После системного введения НТГ быстро трансформируется с высвобождением оксида азота, который воспроизводит основные патофизиологические эффекты эндогенного NO, наблюдаемые у пациентов с мигренью [88]. Однократное введение НТГ вызывает развитие состояния, соответствующего острому мигренозному приступу, сопровождающегося активацией тригеминоваскулярной системы, повышением экспрессии c-Fos в тригеминоцервикальном комплексе, увеличением высвобождения CGRP и развитием механической и термической гиперчувствительности [89–91]. Благодаря высокой воспроизводимости и хорошему соответствию клиническим проявлениям заболевания данная модель широко применяется для изучения механизмов развития мигрени и оценки эффективности потенциальных противомигренозных препаратов.

Одним из важнейших компонентов тригеминоваскулярной системы являются тучные клетки, локализованные в твердой мозговой оболочке в непосредственной близости от кровеносных сосудов и окончаний тройничного нерва [92]. Такое анатомическое расположение делает их важным звеном взаимодействия между нервной и иммунной системами. Тучные клетки являются частью иммунной системы и отвечают активацией и последующей дегрануляцией провоспалительных гранул в ответ на ряд триггеров. Эти гранулы содержат гистамин, цитокины, субстанция P, простагландины, вазоактивный интестинальный пептид и многие другие вазоактивные и воспалительные медиаторы [93,94]. Дегрануляция тучных клеток вызывает активацию

ноцицепторов ствола мозга, которые высвобождают медиаторы, активирующие тучные клетки [93,95]. Эти медиаторы способствуют сенситизации периферических окончаний тройничного нерва, формируя локальное нейрогенное воспаление [95]. Это создает круговорот положительной обратной связи, где активация тригеминальной системы может запускать дегрануляцию тучных клеток, которая поддерживает тройничную активацию.

К описанию патофизиологических основ мигрени также стоит добавить о генетических основах мигрени. Один из последних крупных мета-анализов выявил более 100 локусов, ассоциированных с мигренью, со специфическими вариантами риска для мигрени с аурой и без ауры и общими для обоих типов мигрени [96]. Также существует моногенная форма заболевания - семейная гемиплегическая мигрень, развитие которой связано с мутациями в генах, участвующих в ионном транспорте, синаптической передаче и поддержании мембранного потенциала [97]. Однако, другие распространенные формы мигрени менее предсказуемы генетически, выявленные локусы определяют предрасположенность, но не определяют точное наличие заболевания.

Стоит отдельно остановиться на роли суматриптана в лечении мигрени. Наиболее убедительным подтверждением роли серотонина в патогенезе мигрени стало создание триптанов - селективных агонистов серотониновых рецепторов 5-HT1B/1D. Суматриптан, ставший первым препаратом данной группы, продемонстрировал высокую эффективность в купировании мигренозных приступов и существенно изменил современные представления о механизмах заболевания [98]. Суматриптан воздействует сразу на несколько аспектов развития мигрени, вызывая сужение крупных церебральных кровеносных сосудов, ингибирует высвобождение CGRP и активацию ванилоидного рецептора 1-го типа (TRPV1) тройничного ганглия [99,100].

Следует отметить, что успех суматриптана не только подтвердил участие серотонинергической системы в развитии мигрени, но и показал, что ключевым патогенетическим механизмом заболевания является активация тригеминоваскулярной системы. Вместе с тем тот факт, что триптаны

оказываются эффективными далеко не у всех пациентов и преимущественно купируют уже развившийся приступ, свидетельствует о том, что нарушение серотонинергической передачи представляет собой лишь один из компонентов сложного нейробиологического процесса.

3. Аура мигрени и распространяющаяся корковая депрессия

Аура мигрени – одна из фаз приступа, наблюдаемая у 25-30% пациентов [101]. До сих пор остается открытым вопрос: следует ли рассматривать мигрень с аурой как отдельное заболевание с собственной этиологией или как один из подтипов единого спектра мигренозных расстройств. Несмотря на относительно меньшую распространенность по сравнению с мигренью без ауры, этот феномен представляет значительный клинический и патофизиологический интерес ввиду появления дополнительных изнурительных симптомов приступа. В большинстве случаев аура проявляется зрительными нарушениями, такими как фосфены, скотомы или затуманенность зрения. Реже встречаются соматосенсорные расстройства (например, парестезии) или речевые нарушения (дисфазия) [102].

Приступы мигрени сопровождаются выраженными изменениями корковой активности, особенно при мигрени с аурой. Общепринято, что патофизиологическим субстратом ауры является распространяющаяся корковая депрессия (РКД) - волна массивной деполяризации нейронов, за которой следует длительный период подавления спонтанной электрической активности [103,104]. Распространение этой волны по затылочной коре косвенно подтверждалось функциональной магнитно-резонансной томографией (фМРТ) и совпадало с появлением и динамикой зрительных симптомов [105]. Однако, только в 2025 году была впервые получена прямая электроэнцефалограмма (ЭЭГ) пациента во время мигрени с аурой, которая распространялась односторонне от области в первичной зрительной коре со скоростью 3 мм/мин и сопровождающуюся мерцающей скотомой [106]. Деполяризация нейронов распространяется медленно по коре за счет локальных выбросов калия [107]. Примечательно, что мигрень с аурой может быть индуцирована у пациентов через активацию АТФ-чувствительных калиевых каналов [108]. Волны возбуждения нейронов также синхронизированы с

кальциевыми токами в астроцитах, которые могут распространяться по коре дальше, чем нейрональное возбуждение [109]. Поскольку избыточная нейрональная активация также характерна для эпилепсии, которая может иметь общие генетические основы с мигренью с аурой, некоторые противоэпилептические препараты оказываются эффективны для профилактики ауры мигрени [110,111]. Стимуляция блуждающего нерва, применяемая при депрессии и рефрактерной эпилепсии, также способна подавлять РКД [112]. Функциональные методы визуализации подтверждают повышенную активность мозга при мигрени с аурой [113].

Поскольку аура обычно предшествует развитию головной боли, была выдвинута гипотеза о том, что она способна запускать активацию тригеминальной ноцицептивной системы. Экспериментальные данные частично подтверждают это: индукция РКД действительно приводит к возбуждению нейронов в КТН [114,115]. В то же время предполагается, что связь между РКД и активацией тригеминальной системы может опосредоваться не только прямым нейрональным путем, но и гемодинамическими механизмами [114]. Во время РКД наблюдается характерная динамика мозгового кровотока: первоначальная кратковременная гиперемия сменяется длительной фазой олигемии (Рисунок 3) [116,117]. Это выраженное воздействие РКД на мозговой кровоток на фоне высокой метаболической потребности ткани усиливают потенциальное повреждение ткани [118]. Значительное усиление кровотока в начале РКД может способствовать периферической сенситизации менингеальных ноцицепторов. Однако, некоторые исследования полагают, что РКД может активировать тригеминальную систему напрямую, без опосредованной периферической реакции [119,120]. Этот вопрос на данный момент все еще вызывает множество споров.

Значительные изменения, обусловленные волной деполяризации, не ограничиваются корой головного мозга и могут затрагивать подкорковые структуры, прежде всего таламус и стриатум [121,122]. Это делает ауру мигрени более сложным феноменом, чем только нарушение корковой активности.

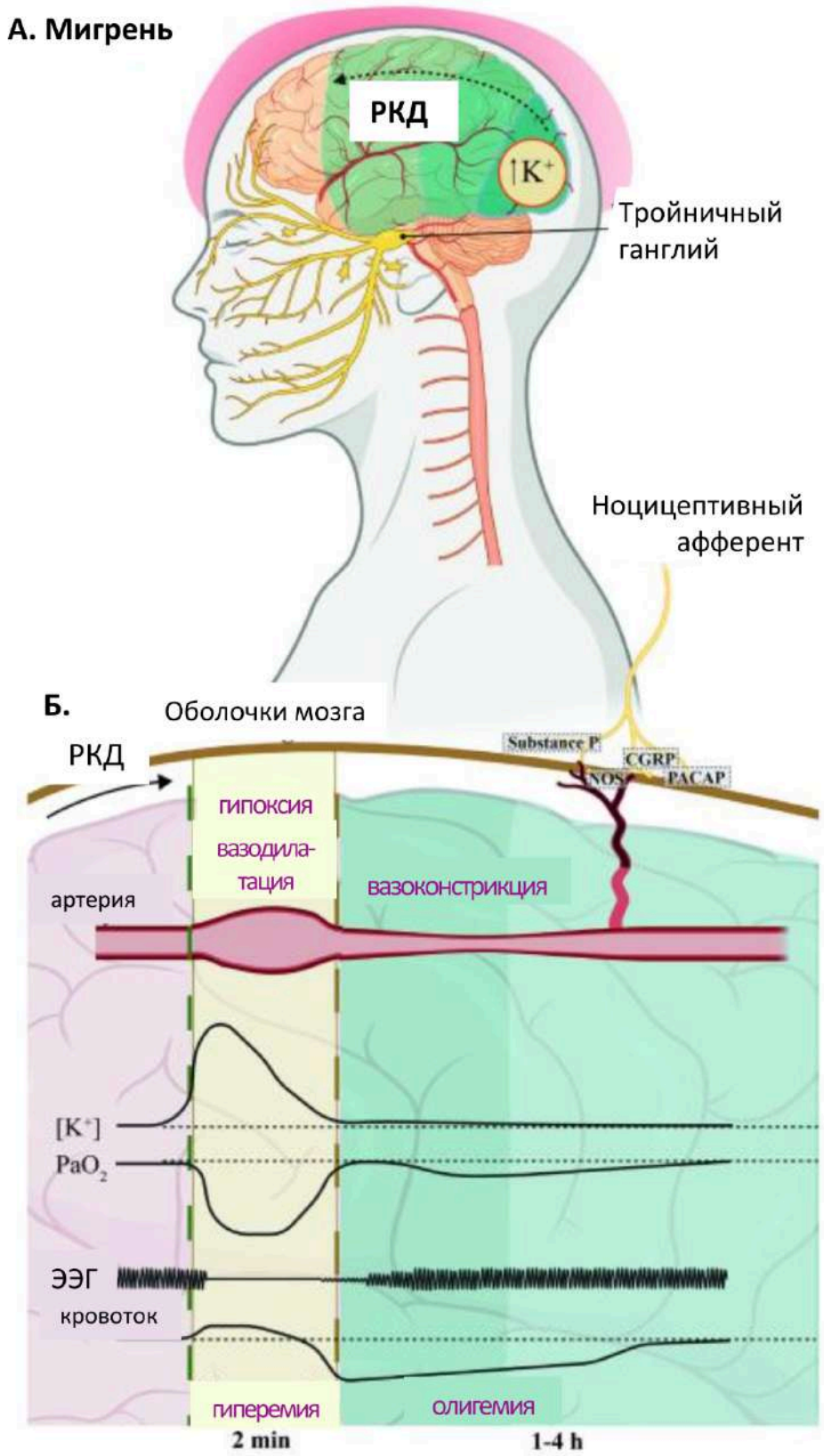


Рисунок 3 – Схема проведения распространяющейся корковой депрессии (РКД, CSD) во время мигренозной атаки. (А) распространение деполяризации от затылочной доли мозга по всей коре в сторону лобной доли. На (В) более подробно обозначены изменения физиологических показателей при прохождении волны РКД. CGRP – кальцитонин-ген-родственный пептид; PACAP - пептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза; NOS – синтаза оксида азота [123]

Этиология мигренозной ауры остается предметом активных исследований. Известно, что ряд генетических вариаций повышает предрасположенность к мигрени с аурой: в частности, мутации, влияющие на глутаматергическую передачу, могут способствовать возникновению РКД за счет изменения баланса возбуждения и торможения [124]. Кроме того, определенные аллели генов, кодирующих ионные каналы, ассоциированы с повышенным риском развития ауры [125,126]. Важную роль играет и половой диморфизм: у женщин аура встречается значительно чаще, чем у мужчин, что, вероятно, связано с модулирующим влиянием эстрогенов на нейрональную возбудимость и сосудистую реактивность [127].

4. Нейрональные пути, участвующие в мигрени

Ранее мы отмечали ключевую роль тройничного нерва в формировании мигренозной боли и кратко обозначили восходящие пути его проекций, которые будут описаны подробнее ниже.

4.1. Ствол мозга в регуляции мигрени

Активация спинного ядра тройничного нерва запускает передачу ноцицептивного сигнала по восходящим трактам в таламус и корковые болевые центры. В настоящее время хорошо документировано участие стволовых ядер в модуляции мигренозного болевого синдрома [128]. В частности, активация верхнего слюноотделительного ядра не только опосредует развитие вегетативных симптомов при первичных головных болях, но и, согласно современным данным, формирует реципрокную связь с ядром тройничного нерва, усиливая его нейрональную активность и способствуя поддержанию центральной сенситизации (Рисунок 4) [129–131].

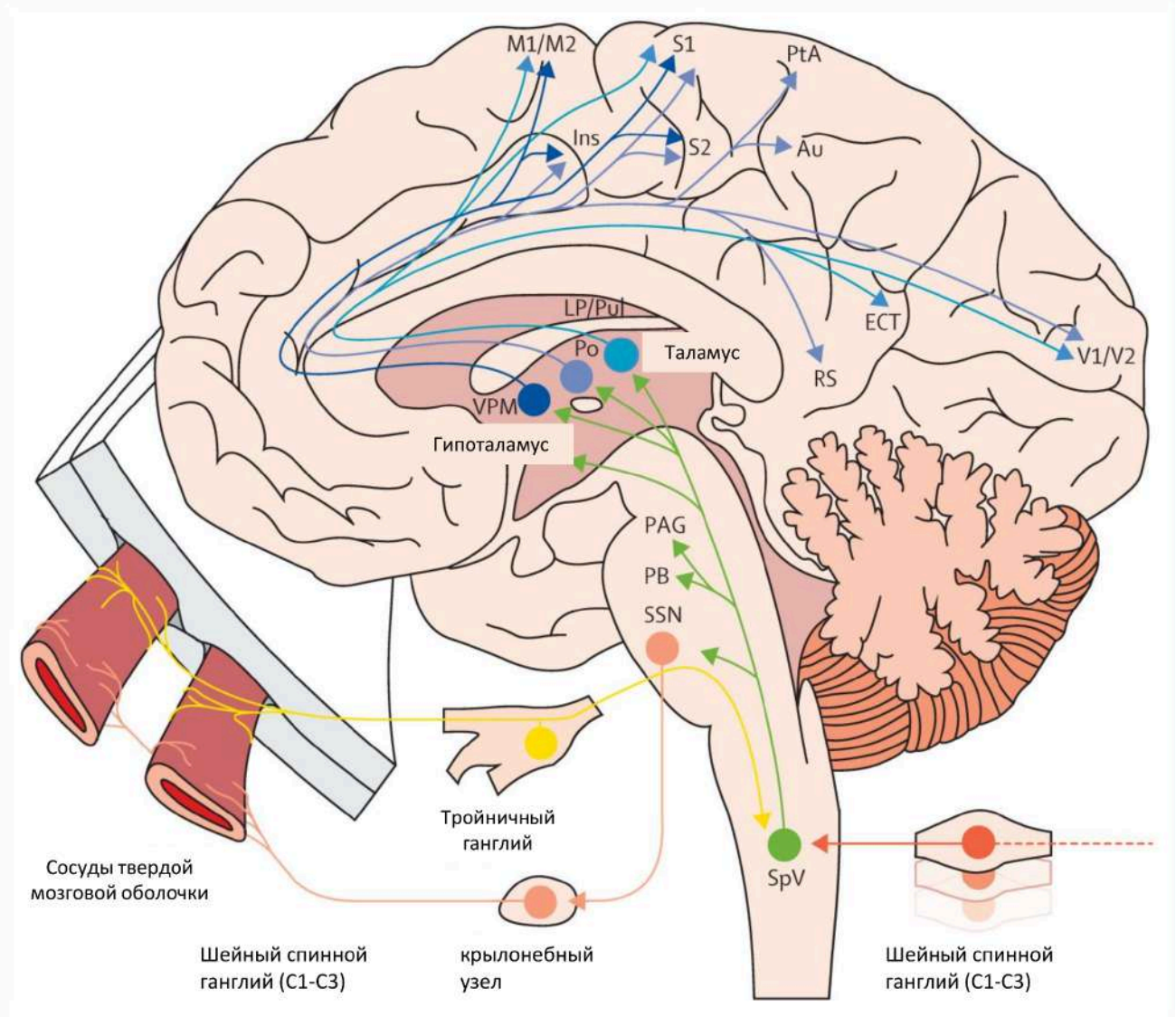


Рисунок 4 – Тригеминальная иннервация. Таламические тригеминоваскулярные нейроны проецируются в широкий спектр корковых областей. Входы в SpV поступают от менингеальных дуральных кровеносных сосудов и пиальных кровеносных сосудов (не показаны). Зеленый: проекции от SpV. Синий: таламо-кортикальные проекции. Желтый: афферентные проекции от менингеальных кровеносных сосудов. Оранжевый: афферентные проекции от шейных дорсальных корешковых ганглиев. Персиковый: эфферентные проекции к менингеальным кровеносным сосудам. Au = слуховая кора. ECT = экторинальная кора. Ins = островковая кора. LP = латеральное заднее ядро таламуса. M1 = первичная моторная кора. M2 = вторичная моторная кора. PAG = околоводопроводное серое вещество. PB = парабрахиальное ядро. Po = задний. PtA = теменная ассоциативная кора. Pul = подушка таламуса. RS = ретросплениальная кора. S1 = первичная соматосенсорная кора. S2 = вторичная соматосенсорная кора. SpV = спинномозговое ядро тройничного нерва. SSN = верхнее слюнноотделительное ядро. V1 = первичная зрительная кора. V2 = вторичная зрительная кора. VPM = вентральное заднемедиальное ядро таламуса [3] (с изменениями)

Нисходящую антиноцицептивную иннервацию осуществляет околоводопроводное серое вещество [132,133]. Нарушение его функциональной связности с другими областями, осуществляющими ноцицептивную обработку краниальной боли, может приводить к ослаблению ингибирования болевого сигнала [134,135]. Еще одной важной структурой в путях нисходящей иннервации является вентромедиальная часть продолговатого мозга [136], которая может осуществлять модуляцию, приводящую к усилению или сохранению болевого сигнала. Применение анестетика в данной зоне ослабляло мигренеподобную аллодинию у животных [137], применение агонистов каннабиноидных рецепторов наоборот, вызывает анальгетический эффект [138]. Эти разнонаправленные эффекты опосредованы взаимодействием медиаторных систем в вентромедиальной части продолговатого мозга, а также модулирующим влиянием околоводопроводного серого вещества. Предполагается, что это реализуется через ON- и OFF-клетки, которые усиливают или ингибируют передачу болевой чувствительности [45].

4.2. Гипоталамическая регуляция головной боли при мигрени

Было показано, что гипоталамус участвует в обработке болевых сигналов тройничного нерва. Во время приступов мигрени обнаружена активация задних ядер таламуса при головной боли [139]. К КТН проецируются отростки от нейронов паравентрикулярного ядра, латеральных ядер таламуса, ядра А11, в особенности в зону офтальмологической ветви, иннервирующей менингеальные оболочки [140]. От паравентрикулярного ядра осуществляется ингибирование ноцицепции: введение агониста рецепторов типа А γ-аминомасляной кислоты ($ГАМК_А$) в паравентрикулярном ядре вызывало снижение электрической фоновой активности и вызванной стимуляции менингеальных оболочек в КТН [141]. Ингибирование ноцицепции со стороны паравентрикулярного ядра осуществляется через окситоциновую передачу [142]. Интраназальное введение окситоцина крысам облегчало симптомы гипералгезии и центральной сенсибилизации при мигрени [143]. Окситоцин подвержен циклическим гормональным изменениям и понижается во время менструальной фазы, во время

которой значительно повышается частота мигренозных атак [144]. Было выдвинуто предположение, что снижение уровня окситоцина может спровоцировать мигрень у женщин, однако, небольшое клиническое исследование опровергло это предположение [145]. Поэтому окситоцин рассматривается как фактор, модулирующий мигренозную боль, но не ее причину.

Гипоталамическое дофаминергическое ядро A11 также осуществляет антиноцицептивную иннервацию: при его стимуляции в КТН происходит ослабление болевого сигнала [13]. В дугообразном ядре гипоталамуса дофамин тормозит секрецию пролактина [146]. Повышенные уровни пролактина в плазме были показаны у пациентов с мигренью, а наличие пролактином коррелирует с высокой частотой головных болей [147], хотя другое исследование показало снижение уровня пролактина во время острого приступа мигрени [148]. Лечение пациентов с головной болью, вызванной пролактиномой, при помощи агониста дофаминовых рецепторов, показало высокий терапевтический эффект, что вероятно, было также связано с уменьшением размера опухоли [149–151]. Не менее интересно взаимодействие пролактина и CGRP в тригеминальной системе: рецепторы пролактина в культивируемых нейронах тройничного ганглия экспрессируются у самок, но практически отсутствует у самцов. У самок в присутствии пролактина высвободилось больше CGRP сенсорными нейронами менингеальных оболочек, а потеря пролактиновых рецепторов ослабляло мигренеподобное поведение у мышей [152]. Эти результаты указывают на важную роль пролактина в повышенной чувствительности самок к головной боли и мигрени.

Роль орексиновой системы в патофизиологии мигрени характеризуется сложной и порой двунаправленной регуляцией. Введение в заднюю область гипоталамуса орексина А вызывало снижение реакции на болевую стимуляцию твердой мозговой оболочки в области КТН, в свою очередь, введение орексина Б имело обратный, усиливающий боль эффект [153]. На животной модели мигрени активация рецепторов орексина 1 типа уменьшала болевое поведение и уровень CGRP у крыс [154], в то же время применение антагонистов 1 и 2 типа

орексиновых рецепторов также имело выраженный ингибирующий эффект на болевую стимуляцию тройничного нерва [155]. Хотя применение препаратов на основе орексиновой системы кажется перспективным, клиническое применение антагонистов орексиновых рецепторов при мигрени не показало различий в эффективности по сравнению с плацебо [156].

Нейропептид Y в симпатической нервной системе высвобождается совместно с норадреналином, участвует в расширении сосудов и взаимодействии с орексиновой системой гипоталамуса [157]. При ювенильной мигрени у пациентов отмечались значительные повышения нейропептида Y в плазме крови во время приступа, но не у пациентов с головной болью напряжения, что предполагает участие симпатической регуляции в мигрени [158]. Исследование применения агонистов рецепторов нейропептида Y у крыс показало снижение спонтанной активности в тройничном ганглии и КТН. Данный пептид активно участвует в регуляции аппетита и изменения в данной системе могут быть причиной нарушения аппетита у больных с мигренью [159].

Соматостатин также участвует в нисходящей модуляции при мигрени. Применение соматостатина в задней области гипоталамуса не изменило спонтанную активность в КТН при стимуляции мозговых оболочек, в то время как блокада соматостатиновых рецепторов оказало антиноцицептивный эффект [160]. Введение пациентам синтетического аналога соматостатина показало достаточно высокую эффективность при кластерной головной боли, но не при остром приступе мигрени [161,162]. Это означает, что соматостатин хотя и участвует в краниальной болевой обработке, может быть вовлечен в отдельные типы головных болей.

4.3 Обработка болевой стимуляции в таламусе при мигрени

Таламус - один из центров обработки и передачи ноцицептивных сигналов в кору, в том числе от тригеминальной системы. Пути от тригеминальной системы проходят по вентральному и дорсальному тригемино-таламическим трактам к вентропостеромедиальному (VPM), дорсомедиальному,

вентропостеролатеральному (VPL) и интраламинарным ядрам таламуса, получая информацию с контралатеральной стороны тела [46,163].

Большое исследование с использованием МРТ показало, что у пациентов с мигренью были уменьшены объемы ядер таламуса, связанных с лимбической системой, по сравнению со здоровыми пациентами [164]. Более технически продвинутое МРТ-исследование сравнения пациентов с мигренью без и с аурой, показало вероятное накопление железа в таламусе у пациентов с аурой, по сравнению с пациентами без ауры, а также возможные нарушения в структуре ткани - миелинизации, пролиферации клеток [165]. Это отражается и на функционировании нейрональных сетей при мигрени: при мигрени без ауры у пациентов отмечено изменение функциональной связности между таламусом и корковыми областями, вовлеченными в болевую обработку [166].

Болевые пути, проходящие через задние ядра таламуса, соседствуют с путями соматосенсорной чувствительности. Принято считать, что именно на уровне таламуса происходит осознанное восприятие боли, а для определения качества и интенсивности стимула необходима корковая обработка [46]. Предполагается, что кожная аллодиния, распространенная при мигрени [167], может быть вызвана иррадиацией возбуждения от очагов обработки головной боли к центрам обработки кожи тела, лица и рук [168]. Распространенность аллодинии и гипералгезии при мигрени, предполагают, связана с сенсибилизацией тригеминальных нейронов разного порядка, начиная с первичных менингеальных афферентов, центральных тригеминальных нейронов и в том числе приводя к сенсибилизации в ядрах таламуса [169,170]. При повторной болевой стимуляции центральные тригеминальные нейроны оказались гиперчувствительными, пороги активации понижались. Дальнейшее применение лидокаина в твердой мозговой оболочке снижало активацию менингеальных ноцицепторов, но сохранялась повышенная активация в ответ на стимуляцию кожи, что предполагает центральную сенсибилизацию [171]. Большая часть болевой информации из КТН поступает в VPM [172], так как в данное ядро приходят болевые сигналы от области головы, в VPL приходит информация от туловища и конечностей [173].

Повышенная восприимчивость к сенсорным сигналам отмечена и на уровне VPM таламуса в модели нейропатической боли тройничного нерва, которая выражалась в повышенной нейронной активности, усилении токов кальция. Хемогенетическое ингибирование активности глутаматергических нейронов в VPM повысило пороги механической и температурной чувствительности, облегчив нейропатическую боль [174]. Эти данные подчеркивают ключевую роль таламических структур в формировании кожной аллодинии и гипералгезии, характерных для мигрени.

От ядер таламуса сигнал от тригеминальной системы далее передается к различным областям коры [46]. Исследование пациентов с мигренью при помощи вызванных ответов привело к выводу о дисфункции таламо-кортикальных сетей [175].

4.4 Гиппокамп и лимбическая система в регуляции мигрени

Современные методы фМРТ, позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и анализа структурной связности показали, что при мигрени изменяется активность гиппокампа, миндалевидного тела, поясной коры и других лимбических структур, участвующих в формировании эмоциональной и когнитивной составляющих боли [176,177].

У пациентов с хронической мигренью наблюдается усиление активности правой миндалины, опосредованной μ-опиоидными рецепторами по сравнению с контрольной группой, среди пациентов с мигренью это усиление также зависело от тяжести приступов [178]. Повторяющиеся волны РКД у крыс вызывали усиление экспрессии CGRP в миндалине на ипсилатеральной стороне [179]. Изменение обработки негативных/аверсивных стимулов при мигрени связывают с усилением активации лимбической системы, что может быть причиной коморбидных психических заболеваний [180].

Особый интерес представляет гиппокамп, который традиционно рассматривается как структура, обеспечивающая процессы обучения и памяти. Однако многочисленные исследования показали, что гиппокамп также участвует в регуляции ноцицептивной чувствительности, эмоциональной оценки боли и процессах центральной сенситизации [181]. Гиппокамп получает афферентную

информацию из таламуса, префронтальной коры, миндалевидного тела и гипоталамуса, а также тесно связан с нисходящими антиноцицептивными системами, благодаря чему способен интегрировать сенсорные и эмоционально-мотивационные компоненты болевого восприятия [181]. Активность гиппокампа может модулироваться тригеминальной системой через активацию голубого пятна [182].

При мигрени у пациентов в гиппокампе развиваются выраженные структурно-функциональные изменения. У пациентов с хронической мигренью описаны изменения объема гиппокампа, нарушения его функциональной связности с таламусом, островковой и префронтальной корой [183,184]. Предполагается, что повторяющиеся приступы мигрени сопровождаются длительной активацией гиппокампальных нейрональных сетей, что может лежать в основе нарушений памяти, внимания и эмоциональной регуляции, часто наблюдаемых у пациентов, а также может быть связано с развитием аллодинии [185,186].

Зубчатая извилина гиппокампа (dentate gyrus) является частью гиппокампа и одной из наиболее пластичных структур головного мозга. Именно здесь на протяжении всей жизни сохраняется нейрогенез, а высокая плотность глутаматергических синапсов делает данную область особенно чувствительной к изменениям возбудимости нейрональных сетей. Зубчатая извилина состоит из 3 основных субрегионов: молекулярного слоя, слоя гранулярных клеток и hilus (ворота) [187]. В hilus приходят аксоны мшистых волокон на возбуждающие и тормозные нейроны, которые имеют проекции в CA3. В молекулярном слое находятся дендриты гранулярных клеток зубчатой извилины, на которые приходят возбуждающие сигналы от энторинальной коры и мшистых волокон из hilus [188]. В гиппокампе обнаружены сенсорные входы катехоламиновых систем, в основном от области вентральной покрышки, компактного вещества черной субстанции и голубого пятна, которые регулируют когнитивные и эмоциональные функции [189]. В гиппокампе обнаружены все 5 типов дофаминовых рецепторов (D1-5), однако их плотность в различных частях гиппокампа не одинакова, что может

отражать различие в физиологических функциях и регуляции работы гиппокампа (Рисунок 5)[190].

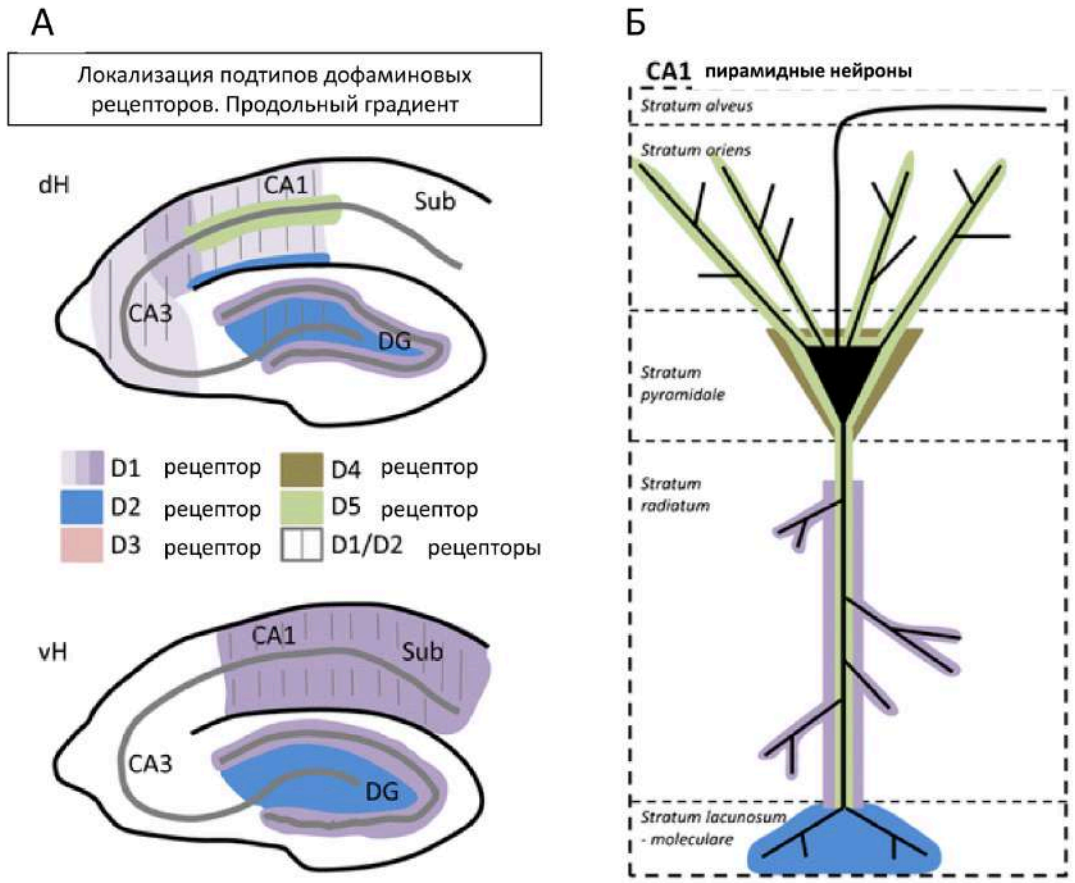


Рисунок 5 – Локализация подтипов дофаминовых рецепторов вдоль продольной оси гиппокампа. a - плотность дофаминовых рецепторов в различных субрегионах дорсального (dH) или вентрального (vH) гиппокампа. Для различных подтипов рецепторов см. цветовую кодировку. Светло-фиолетовый цвет обозначает меньшее количество дофаминовых рецепторов D1, темно-фиолетовый - большее. DG - зубчатая извилина, Subiculum - основание гиппокампа, vH — вентральный гиппокамп, dH — дорсальный гиппокамп. b - схема экспрессии различных членов семейства дофаминовых рецепторов вдоль дендритов и в соме отдельного пирамидального нейрона CA1. Значение цветовых кодов идентично (a) [190] (с изменениями)

Таким образом, благодаря многочисленным связям с таламусом, гипоталамусом, тригеминальным комплексом и префронтальной корой, лимбические структуры способны модулировать как сенсорную обработку болевых сигналов при мигрени.

4.5 Обработка ноцицептивной информации в коре головного мозга при мигрени

Кора головного мозга играет одну из ключевых ролей в патофизиологии мигрени, наиболее выраженные функциональные нарушения регистрируются при мигрени с аурой. Изменения в высших центрах корковой обработки сенсорной информации способны модулировать не только восприятие боли, но и также формирование мультимодальных симптомов: фотофобии, фонофобии, когнитивных нарушений. Дисфункция корковых сетей выступает важным патогенетическим звеном, определяющим клинический феномен мигренозного приступа.

Нейровизуализационные исследования выявляют структурные и функциональные аномалии лобных долей у пациентов с мигренью. В частности, отмечается снижение плотности серого вещества в префронтальной и теменной коре, что коррелирует с когнитивным дефицитом: нарушениями рабочей памяти, исполнительных функций и замедлением реакции при переключении задач [191]. Префронтальная кора выполняет модулирующую роль в обработке боли, вероятно, через активацию нисходящих тормозных путей через средний мозг, таламус и поясную кору и демонстрирует повышенную активность при мигрени [192]. С этим механизмом может быть связана эффективность высокочастотной повторяющейся транскраниальной магнитной стимуляции дорсолатеральной префронтальной коры, которая привела к снижению потребности в анальгетиках при острых приступах [193]. Таким образом, префронтальную кору следует рассматривать не только как перспективную мишень для активации антиноцицептивных систем, но и как ключевую структуру, обеспечивающую сохранность когнитивных функций при мигрени.

Поясная извилина – структура переднего мозга, расположенная на медиальной поверхности, около мозолистого тела. Передняя поясная кора (ППК) вовлечена в обработку боли, эмоций и когнитивный контроль [194]. ППК демонстрирует активацию как при острой, так и при хронической боли. Зарегистрированная синаптическая пластичность в ППК при хронической боли у

грызунов может являться механизмом поддержки аффективного компонента боли [195]. У пациентов с мигренью без ауры объем серого вещества дорсальной ППК уменьшается по сравнению со здоровыми пациентами, более того, есть отрицательная корреляция между объемом и длительностью заболевания мигренью [196]. Изменение объемов и функциональной связности между субрегионами ППК может коррелировать с длительностью приступа мигрени и ее эмоциональным восприятием [197].

Так как при мигрени часто наблюдаются изменения соматосенсорной обработки, особое внимание заслужили исследования соматосенсорной коры (ССК) при мигрени. МРТ исследование пациентов с мигренью показало повышенный региональный кровоток в ССК, который коррелировал с количеством приступов по сравнению с контрольными пациентами [198]. Повышенный кровоток по-видимому связан с высокой активностью нейронов в данном регионе. Анализ вызванных ответов при электрической стимуляции срединного нерва у пациентов с мигренью выявил измененные ответы популяции нейронов ССК, которая предполагает повышенную возбудимость сетей [199]. Усиленная активация при обработке болевых и тактильных стимулов отражается и на структуре ткани: у пациентов с мигренью толщина коры, в особенности поверхностного слоя нервных волокон в ССК была в среднем больше, чем в контрольной группе [200,201]. РКД в ауре мигрени, как было описано выше, запускает волну активации нейронов, что коррелирует с усилением кровотока. Исследование пациентов во время приступов ауры, вызванных зрительной стимуляцией, при помощи фМРТ показало появление соматосенсорных нарушений в соответствии с изменениями потребления кислорода, хотя изменения оксигенации были двусторонними [202]. Поэтому такие симптомы, как аллодиния и гипералгезия, могут быть связаны с нарушением соматосенсорной обработки в ССК.

В контексте РКД при мигрени с аурой и ее вкладом в кортикальные нарушения и появление специфических симптомов, стоит снова отметить, что чаще всего происходят нарушения зрительной обработки. Хотя РКД может

возникать в различных областях коры, часто возникающие фосфены и прочие аномалии зрительного восприятия связаны с распространением возбуждения в зрительной коре [203,204]. Косвенным подтверждением того, что зрительная кора может иннервироваться тригеминальными путями, свидетельствует усиление активации зрительной коры при болевой стимуляции тригеминальных афферентов [205]. Разнообразие зрительных симптомов при ауре предполагает разные участки активации зрительной коры (V1-V4) и особенности распространения [203]. Несмотря на многообразие подходов к исследованию нарушения зрительной коры при мигрени, систематический анализ подвергает сомнению ее гипервозбудимость [206].

Другие зоны коры также могут изменяться и принимать участие в симптоматике мигрени, в том числе височная кора, островок, моторная кора и другие [207–209]. Таким образом, часть симптомов, сопровождающих приступ мигрени, может быть объяснен корковой дисфункцией, однако точные механизмы вовлечения коры при мигрени с аурой и без остаются недостаточно изученными.

5. Участие дофамина в развитии мигрени

Несмотря на продолжающееся изучение участия различных нейромедиаторных систем в патогенезе мигрени, болезнь рассматривается преимущественно в контексте серотонинергической дисфункции, что обусловлено высокой клинической эффективностью агонистов серотониновых рецепторов [210–212]. Этот исторический фокус внимания неизбежно привел к тому, что механизмы участия других нейромедиаторов остаются изученными в меньшей степени. Между тем, дофаминергическая система является одной из тех, что достоверно вовлечены в патофизиологию мигрени. Дофамин относится к моноаминовым медиаторам и синтезируется в головном мозге относительно небольшими популяциями нейронов, основные из них локализованы в черной субстанции, области вентральной покрышки и ядре А11 гипоталамуса. К классическим функциям дофамина относят регуляцию моторного контроля, мотивации, эмоциональных процессов и эндокринных реакций [213]. Рецепторы

дофамина подразделяют на 2 семейства: D1- и D2-подобные, активирующих или ингибирующих аденилатциклазу [214].

Предполагается, что ряд специфических симптомов мигрени, таких как зевота, рвота и сонливость, также опосредованы дофаминергической системой [215], в частности, гипоталамическими дофаминовыми нейронами [216]. Применение антагонистов рецепторов дофамина, в частности некоторых нейролептиков, может быть эффективно в лечении сопутствующих симптомов мигрени и головной боли [217,218]. Однако, если пациентам с мигренью вводить агонист дофамина (апоморфин) в межприступный период, это вызовет учащение зевоты, сонливости, головокружения, что не наблюдалось у здоровых пациентов. Было высказано предположение о гиперчувствительности дофаминовых рецепторов у пациентов с мигренью [219–221]. На животной модели было показано, что зевота может вызываться агонистами рецепторов D2 или смешанным D1-D2, но не селективным агонистом D1, хотя зевание можно заблокировать антагонистами и D1 и D2 рецепторов [222]. Возможно это связано с активностью дофамина, который оказывает расширяющее сосуды действие [223,224].

Дальнейшие работы продолжили идею о влиянии дофамина на мигрень, анализировались взаимосвязь дофамина и тригеминального нерва. В КТН были обнаружены популяции клеток, экспрессирующих рецепторы дофамина, в основном, D2 типа. Внутривенный дофамин не оказывал влияния на активность КТГ нейронов, но микроионофоретическое введение дофамина оказало ингибирующее действие [225]. Гистологическое окрашивание показало, что дофаминовые рецепторы в КТН совместно локализуются с серотониновыми рецепторами [12]. Предполагается, что дофаминергические входы на КТН исходят из ядра А11 гипоталамуса, который имеет проекции к дорсальным рогам спинного мозга. Более того, в нейронах А11 дофамин совместно локализуется с CGRP [226]. Ноцицептивные сигналы в КТН подавляются при стимуляции А11, чего не происходит при применении антагониста D2 рецепторов, а повреждение ядра А11 усиливает активность в КТН в ответ на стимуляцию твердой мозговой оболочки и

кожи [13]. Существуют ли другие дофаминовые проекции на КТН остается неясным, поэтому гипоталамус рассматривают как главный источник дофаминовой иннервации, но возможно, не единственный.

Таким образом, активация дофаминергической системы у пациентов может спровоцировать продромальные симптомы, но в то же время иннервация от ядра А11 оказывает скорее антиноцицептивное действие. Для определения динамики дофамина проводились измерения уровня дофамина в крови пациентов, при мигрени и кластерной головной боли в тромбоцитах обнаружен повышенный уровень дофамина в период отсутствия головной боли [227]. Использование ПЭТ с радиолигандом, связывающимся с D2/D3 рецепторами ([11^{C}]раклоприд) показало, что во время приступа головной боли происходит снижение высвобождения дофамина в мозге [228]. Популяционные исследования выявили связь между болезнью Паркинсона и мигренью: у пациентов с мигренью выше вероятность развития болезни Паркинсона [229]. В то же время в другом исследовании сделаны выводы о ремиссии мигрени после начала болезни Паркинсона [230]. Эти клинические наблюдения наглядно свидетельствуют о сложной и неоднозначной роли дофаминергической системы в патофизиологии мигрени.

Несмотря на значительное количество исследований, посвященных роли дофамина при мигрени, разнообразию клинических данных, большинство экспериментальных работ основано на кратковременной фармакологической модуляции дофаминовых рецепторов с использованием агонистов или антагонистов D2-подобных рецепторов. Подобный подход позволяет оценить непосредственные эффекты активации отдельных рецепторных подтипов, однако не отражает последствий хронически измененной дофаминергической передачи, которая может сопровождаться развитием компенсаторных перестроек нейрональных сетей, изменением экспрессии рецепторов и нейроиммунных взаимодействий.

В настоящее время практически отсутствуют исследования, в которых для моделирования мигрени использовались бы животные с генетически измененной

функцией дофаминергической системы. Это ограничивает понимание вклада хронического повышения внеклеточного уровня дофамина в механизмы центральной сенситизации, нейровоспаления и хронизации мигрени. Этими факторами обусловлено использование животных с изменением функции транспортера дофамина (dopamine transporter, DAT), кодируемого геном *Slc6a3* в данной работе. Полный нокаут транспортера дофамина (DAT-KO) приводит к практически полному отсутствию обратного захвата дофамина. Несмотря на резкое снижение общего содержания дофамина в ткани мозга вследствие истощения пресинаптических депо, внеклеточная концентрация медиатора возрастает примерно в пять раз, а время его действия значительно увеличивается. Такие животные характеризуются выраженной гиперактивностью, нарушением сна, изменением когнитивных функций и поведенческими фенотипами, напоминающими отдельные проявления синдрома дефицита внимания и гиперактивности, что существенно ограничивает их применение в исследованиях, требующих оценки болевой чувствительности или сложного поведения. Поэтому были использованы животные с гетерозиготной инактивацией гена *Slc6a3* (DAT-HET), характеризующиеся (по сравнению с однопометными животными без нокаута DAT-WT) сохранением тканевого уровня дофамина, тирозингидроксилазы, при хронически повышенном внеклеточном уровне дофамина без развития выраженного измененного поведенческого фенотипа. Такая модель позволяет исследовать влияние длительного повышения дофаминергической передачи в условиях, более близких к физиологическим, чем полный нокаут транспортера, и избежать тяжелых компенсаторных изменений, характерных для DAT-KO животных [231].

6. Нейровоспаление как фактор перехода мигрени в хроническую форму

При мигрени высвобождаются различные воспалительные медиаторы, как было описано выше. Активация тригеминальной системы сопровождается возбуждением тройничного нерва, иннервирующего твердую мозговую оболочку, что приводит к высвобождению нейропептидов CGRP, вещество P, нейрокинин A.

Эта активация также вызывает дегрануляцию менингеальных тучных клеток, которые также высвобождают целый ряд провоспалительных медиаторов [3]. Это формирует локальное воспаление твердой мозговой оболочки и сенситизацию периферических ноцицепторов.

Однако в настоящее время считается, что значение нейрогенного воспаления не ограничивается периферическими событиями. Продолжительная активация менингеальных афферентов приводит к усиленной передаче возбуждения в каудальное ядро тройничного нерва. Именно здесь длительная ноцицептивная стимуляция вызывает активацию микроглии и астроцитов, сопровождающуюся высвобождением провоспалительных цитокинов, оксида азота, простагландинов и других медиаторов, способных изменять синаптическую передачу и повышать возбудимость нейронов второго порядка в тригеминальном пути [232]. Таким образом, периферическое нейрогенное воспаление постепенно трансформируется в центральное нейровоспаление, которое поддерживает состояние центральной сенситизации даже после уменьшения периферической стимуляции.

Нейровоспаление является общей патофизиологической особенностью при многих заболеваниях центральной нервной системы, включая мигрень. Нейровоспаление представляет собой комплекс адаптивных реакций центральной нервной системы, возникающих в ответ на травмы, ишемию и различные нарушения нервной системы. В отличие от классического воспаления, нейровоспаление характеризуется отсутствием интенсивной инфильтрации периферических иммунных клеток, вместо этого активируются резидентные иммунные микроглиальные клетки, а также астроциты, олигодендроциты [233]. В физиологических условиях нейровоспалительный ответ играет защитную роль, обеспечивая удаление клеточного дебриса, поддержание тканевого гомеостаза и восстановление поврежденных нейрональных сетей. Однако при хронической или чрезмерной активации клеток нейровоспаление становится одним из ключевых механизмов формирования стойких функциональных нарушений центральной нервной системы и рассматривается как важный патогенетический фактор многих

неврологических заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эпилепсию, хроническую боль и мигрень (Рисунок 6) [234–236].

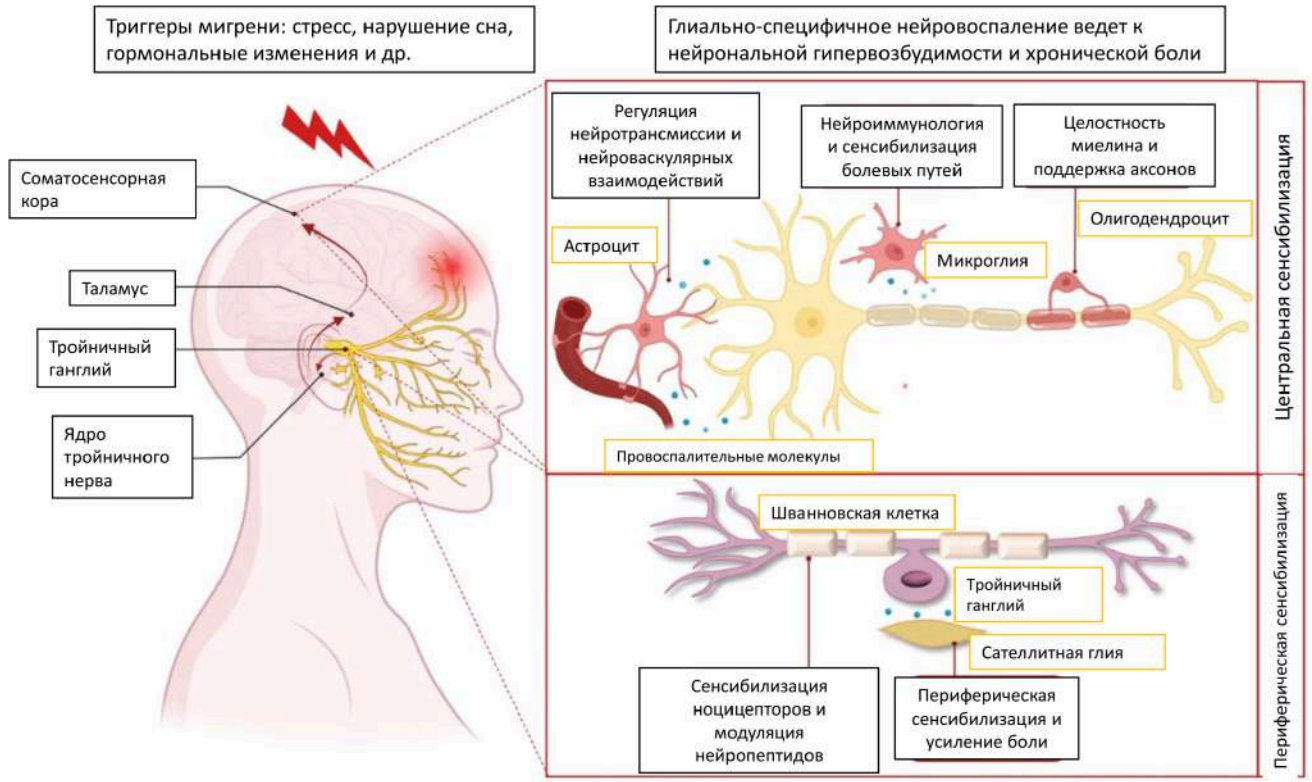


Рисунок 6 – Целенаправленное воздействие на нейровоспаление, специфичное для глиальных клеток, в патофизиологии мигрени. Астроциты и микроглия вызывают распространяющуюся корковую депрессию и воспаление, в то время как олигодендроциты, шванновские клетки и сателлитные глиальные клетки модулируют нейрональную возбудимость и ноцицептивную сигнализацию [237] (с изменениями)

Ключевую роль в развитии нейровоспаления играют клетки глии. Наиболее ранним участником воспалительного ответа является микроглия, специализированные макрофаги центральной нервной системы, происходящие из клеток желточного мешка и постоянно осуществляющие мониторинг микроокружения при помощи высокоподвижных отростков [237]. В физиологических условиях микроглия участвует в синаптическом прунинге, регуляции нейрогенеза, удалении погибших клеток и поддержании гомеостаза внеклеточной среды. При активации микроглиальные клетки изменяют свою

морфологию, могут втягивать отростки и приобретать амебоидную форму, а также начинают активно секретировать широкий спектр медиаторов, включая интерлейкины IL-1β и IL-6, фактор некроза опухоли α (TNF-α), хемокины, простагландины, активные формы кислорода и оксид азота оксид азота [238,239]. IL-6 играет одну из ключевых ролей в сенситизации тройничных афферентов [238].

РКД индуцирует активацию микроглиальных клеток через калиевые каналы выпрямления ($K_{ir}2.1$) из-за значительного нарушения ионных токов при массовой деполяризации [241]. Далее активированная микроглия может приобретать как провоспалительный фенотип, так и противовоспалительный. В *in vitro* исследованиях индукция противовоспалительного фенотипа микроглии повышало порог стимуляции для генерации РКД [242]. Индукция противовоспалительного фенотипа также является частью воспалительного процесса и опосредована своими медиаторами. Одним из таких медиаторов выступает трансформирующий фактор роста-β1 (TGF-β1), который необходим для развития микроглиальных клеток, а также выполняет иммунорегуляторную функцию, ограничивая чрезмерную активацию микроглии и способствуя восстановлению тканевого гомеостаза [243–245]. Этот цитокин синтезируется микроглией, астроцитами, нейронами и эндотелиальными клетками, а его экспрессия увеличивается после повреждения центральной нервной системы [246]. TGF-β1 подавляет продукцию IL-1β, TNF-α и других провоспалительных медиаторов, ингибирует пролиферацию микроглии и способствует формированию фенотипов глиальных клеток, ассоциированных с разрешением воспаления и репарацией тканей [246–248]. В тоже время хроническая сверхэкспрессия TGF-β1 в гиппокампе у взрослых животных оказывала негативное влияние на поведение и приводила к депрессивно-подобному состоянию [249]. Хотя данный цитокин и оказывает в первую очередь нейропротекторную роль, его экспрессия связана с воспалением, поэтому может рассматриваться как маркер активации иммунных клеток при нарушении тканевого гомеостаза.

Астроциты представляют собой наиболее многочисленную группу глиальных клеток в ЦНС, которые выполняют основные функции питания нейронов, поддержания тканевого гомеостаза, синаптической передачи, ионного обмена, связи с сосудами и внеклеточным матриксом [250]. Нарушение данных функций значительно изменяет работу нейронов. Под действием провоспалительных сигналов, в том числе от микроглии, астроциты переходят в состояние реактивного астроглиоза, характеризующееся гипертрофией клеток, повышением экспрессии промежуточных филаментов, прежде всего глиального фибриллярного кислого белка (glial fibrillary acidic protein, GFAP), изменением секреторной активности и продукцией широкого спектра цитокинов и факторов роста [251]. Различные провоспалительные молекулы, как микроглиальные IL-1β, IL-6, TNF-α повышают экспрессию GFAP, виментина, способствуют провоспалительной активации астроцитов при различных заболеваниях. Активированные астроциты в свою очередь высвобождают цитокины, АТФ, хемокины, TNF-α, которые способны активировать микроглию [252]. Это создает самоподдерживающийся цикл активации и может привести к усиленному постоянному воспалению. Таким образом, в отличие от микроглии, которая инициирует воспалительную реакцию, астроциты преимущественно участвуют в ее поддержании и распространении, формируя длительные изменения нейроглиального взаимодействия.

Как было отмечено выше, при активации астроцитов происходит усиление экспрессии GFAP, поэтому он рассматривается как маркер астроглиоза. Помимо него, общепринятым маркером провоспалительной активации астроцитов является белок S100β. В физиологических концентрациях S100β обладает нейротрофическими свойствами, стимулируя рост нейритов, выживание нейронов и поддержание синаптической пластичности, хотя его экспрессия не очень высокая. При провоспалительной активации астроцитов синтез S100β усиливается, белок приобретает свойства провоспалительной молекулы, активируется NF-κB путь, усиливается продукция цитокинов [253]. Повышение уровня S100β описано при различных заболеваниях центральной нервной

системы, включая болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, инсульт, эпилепсию и мигрень, что позволяет рассматривать данный белок как один из маркеров активации астроцитов [254].

Одну из ключевых ролей в запуске глиального воспаления играет пуринергическая сигнализация. Во время интенсивной нейрональной активности, например, при РКД, во внеклеточное пространство высвобождается большое количество АТФ. Одним из основных рецепторов, воспринимающих этот сигнал, является пуринергический рецептор P2X7 (P2rx7), экспрессируемый преимущественно микроглией, а также астроцитами, олигодендроцитами и в меньшей степени нейронами [255]. Активация P2rx7 сопровождается открытием катионного канала, поступлением кальция, активацией инфламмасомы NLRP3 и каспазы-1, что приводит к созреванию и высвобождению IL-1β и IL-18 – ключевых медиаторов нейровоспаления [256]. Блокирование P2rx7 в модели РКД снижало активацию нейронов и нейровоспаление [257]. Поэтому данный маркер может быть рассмотрен как один из маркеров провоспалительной активации в микроглии.

Хроническая мигрень у человека встречается примерно в 2% случаев заболеваемости мигрени. При этом у примерно 2.5% людей эпизодическая мигрень переходит в хроническую форму [258]. В настоящее время все больше данных свидетельствует о том, что нейровоспаление является не только следствием мигренозного приступа, но и одним из ключевых механизмов, обеспечивающих переход эпизодической мигрени в хроническую форму.

В отличие от острого воспалительного ответа, хроническое нейровоспаление характеризуется длительной функциональной перестройкой глиальных клеток. Микроглия и астроциты способны длительно сохранять измененный транскрипционный профиль даже после исчезновения первоначального повреждающего воздействия [259,260]. Подобное состояние иногда обозначают как «праймирование» (priming) глиальных клеток, при котором последующие стимулы вызывают значительно более выраженный воспалительный ответ по сравнению с исходным состоянием [261]. Таким

образом, повторные приступы мигрени потенциально могут не только временно активировать глию, но и изменять ее функциональное состояние на длительный период.

Одним из наиболее убедительных доказательств участия глии в хронизации мигрени являются результаты экспериментальных моделей хронического введения НТГ. Показано, что многократное введение НТГ животным сопровождается стойкой активацией микроглии и астроцитов в каудальном ядре тройничного нерва, околоводопроводном сером веществе, коре головного мозга, сопровождаясь повышением экспрессии GFAP, IL-1β и других медиаторов воспаления [86,262]. При этом фармакологическое подавление активации микроглии с использованием миноциклина или ингибиторов пуринергического рецептора P2rx7 ослабляет развитие механической аллодинии и уменьшает центральную сенситизацию, что свидетельствует о вкладе глиального воспаления в формировании хронической боли [257].

Важную роль в поддержании хронического нейровоспаления играет изменение взаимодействия между микроглией и астроцитами. При активации микроглия длительно сохраняет повышенную продукцию IL-1β, TNF-α и компонентов системы комплемента, которые индуцируют переход астроцитов в реактивное состояние [263]. У таких астроцитов снижается эффективность захвата глутамата, нарушается буферизация внеклеточного калия, что дополнительно повышает возбудимость нейронов [264,265]. Формируется положительная обратная связь, при которой повышенная нейрональная активность поддерживает активацию глии, а активированная глия, в свою очередь, способствует дальнейшему усилению нейрональной гипервозбудимости.

Килническим подтверждением появления нейровоспаления при хронической мигрени являются данные нейровизуализационных исследований у пациентов. Использование пациентов с хронической мигренью с помощью радиолиганда-маркера активации глиальных клеток на ПЭТ/МРТ показало повышенный уровень сигнала в среднем мозге, затылочной доле и черве мозжечка по сравнению со здоровыми пациентами [266]. Другое исследование с

применением данного лиганда на пациентах с мигренью с аурой показало повышение активации глии в зрительной коре, а также зонах обработки боли при мигрени (таламус, островковая кора, S1) [267]. Эти результаты являются важным клиническим подтверждением того, что хроническая мигрень сопровождается длительной перестройкой нейроиммунного микроокружения. Однако, данные клинические результаты не позволяет различить активированную микроглию от астроцитов, поэтому требуются дальнейшие исследования определения роли глиальных клеток в воспалении при разных подтипах мигрени в различных областях ноцицептивной обработки боли.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Животные

Работа выполнена на самцах крыс линии DAT в возрасте 4-12 месяцев генотипа DAT-WT (+/+, n = 35) и DAT-HET (-/+, n = 38), а также 12 самцов крыс линии Wistar. Животные содержались в стандартных условиях: 22 ± 2°C, относительной влажности 50 ± 10%, с чередованием световых циклов каждые 12 часов и свободным доступом к воде и корму для лабораторных грызунов. Подтверждение генетического статуса проводилось по протоколу, описанному Leo и соавторами [231]. Животные, введенные в эксперимент, были разделены на группы, как показано в Таблице 1.

Таблица 1. Экспериментальные группы животных. ИГХ - иммуногистохимический анализ мозга, ТК - окраска тучных клеток, ЭФ - анализ электрофизиологической активности мозга, ПЦР-РВ - ПЦР в реальном времени, n – количество животных

Генотип	Модель	Прижизненные исследования	Забор материала
Wistar	Контроль	Поведение (n = 7)	ИГХ, ТК (n = 7)
Wistar	Хроническая мигрень (НТГ)	Поведение (n = 10)	ИГХ, ТК (n = 5)
DAT-WT	Контроль	-	ИГХ, ТК (n = 6)
DAT-HET		-	ИГХ, ТК (n = 8)
DAT-WT	Хроническая мигрень (НТГ)	Поведение (n = 9)	ИГХ, ТК (n = 5)
DAT-HET		Поведение(n = 10)	ИГХ, ТК (n = 5)
DAT-WT	Острая мигрень с аурой (РКД 2 ч)	Регистрация ЭФ (n = 12)	ИГХ (n = 6), ТК (n = 9)
DAT-HET		Регистрация ЭФ (n = 8)	ИГХ (n = 5), ТК (n = 8)
DAT-WT	Острая мигрень с аурой (РКД 2 ч)	-	ПЦР-РВ (n = 8)
DAT-HET		-	ПЦР-РВ (n = 8)

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и получено заключение локального этического комитета «Сириус» (протокол #2 от 2.05.23).

2.2. Моделирование хронической мигрени без ауры

Для апробации протокола и проверки релевантности исследования нейровоспаления в гиппокампе в модели хронической мигрени использовали крыс линии Wistar. Для валидации модели использовали тестирование механической чувствительности волосками фон Фрея (Рисунок 7).

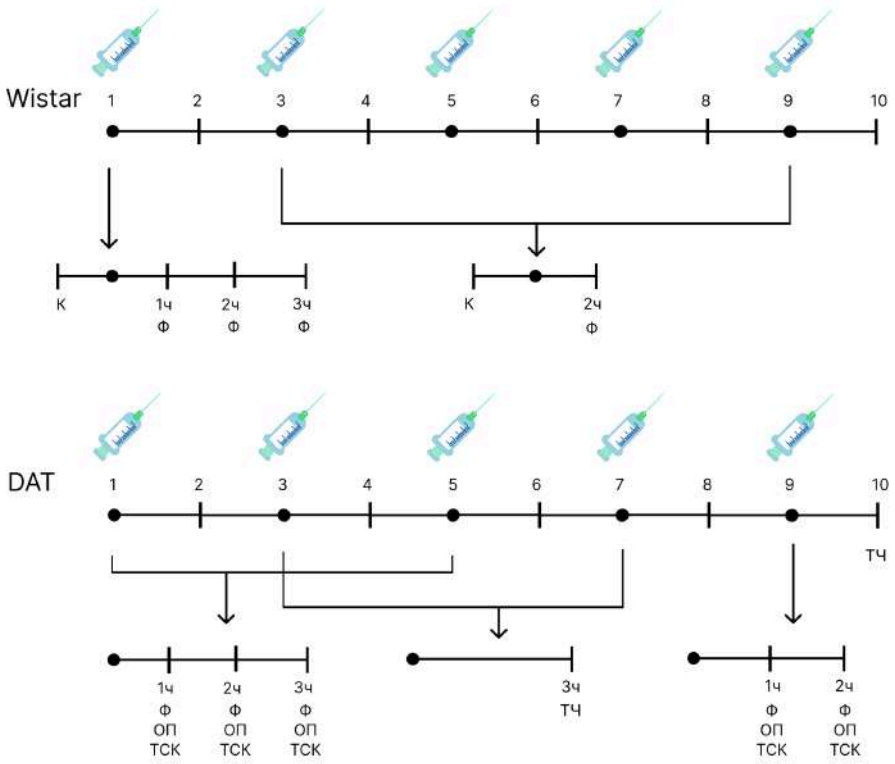


Рисунок 7 – Моделирование хронической НТГ-индуцированной мигрени у крыс линии DAT. Иконки шприцов указывают на введение НТГ/NaCl. К - контроль, Ф - тестирование механической чувствительности волосками фон Фрея, ОП - тест «открытое поле», ТСК - тест «Темно-светлая камера», ТЧ - температурная чувствительность

Были сформированы группу хронической мигрени и контроль. Для моделирования хронической мигрени без ауры применяли стандартный протокол

внутрибрюшинного введения нитроглицерина в концентрации 1 мг/мл (НТГ, Озон, Жигулевск, Россия) с расчетом 10 мг/кг [88], производили уколы через день, всего 5 инъекций (Рисунок 7). В качестве контроля животные получали внутрибрюшинные эквивалентные объемы раствора NaCl (0.9%) по описанному протоколу. У крыс Wistar оценивали пороги механической чувствительности до введения, через 10, 70, 130 мин после 1 укола НТГ/NaCl, а также до и через 2 часа после последующих уколов.

Далее было проведено моделирование хронической мигрени на DAT-WT и DAT-HET при помощи НТГ по аналогичному для Wistar протоколу (Рисунок 7). При моделировании хронической мигрени на DAT после уколов проводилась батарея тестов: после 1 и 3 уколов НТГ крыс тестировали нитями фон Фрея, далее «Открытое поле» и «темно-светлая камера» в течение 3 часов, после 5 укола первые 2 часа; через 3 часа после четных уколов НТГ, а также на 10 день проводили тест «температурная чувствительность хвоста».

2.3. Поведенческие методы исследования

2.3.1 Тестирование механической чувствительности нитями фон Фрея

Поведенческие тестирования начинались в одинаковое время суток, с разницей по времени не более 1 часа. У животных оценивали пороги механической чувствительности задних лап нитями фон Фрея (Ugo Basil, Италия), использовали методику «up-down» [267]. После 1, 3 и 5 укола НТГ животные помещались в установку с сетчатым полом на 10 минут для габитуации и далее тестировались пороги механической чувствительности плантарной зоны задних лап нитями (2.53 – 16.1 г/мм^2), начиная с нити с рассчитываемым давлением 4.93 г/мм^2, понижая давление нити в случае болевой реакции, и наоборот. Каждая нить прикладывалась на 3 с попеременно к левой и правой лапе с перерывом в 7–10 с. Болевой реакцией считали последующее отдергивание, облизывание задней лапы и втягивание живота животным. Порог чувствительности определялся для каждой лапы, в итоговый анализ входило среднее значение.

2.3.2 Тест «Открытое поле»

После тестирования механической чувствительности лап животные помещались в квадратное открытое поле размером 100*100 см в центральный отсек. Пол арены равномерно освещался лампами и был разделен на квадраты размером 20 × 20 см. Животное свободно передвигалось по арене, поведение записывали на камеру в течение 10 минут, обработку видео проводили в программе Noldus (EthoVision XT, Wageningen, The Netherlands). В анализ были взяты такие показатели как: количество переходов между центральной, средней и периферической зоной поля (ед.); время, проведенное на периферии поля (с); суммарная пройденная дистанция по всем зонам (см).

2.3.3 Тест «Темно-светлая камера»

При мигрени как у людей, так и в животной модели, может наблюдаться фотофобия [268]. Для анализа тревожности/фотофобии использовали тест «Темно-светлая камера» со внешними параметрами 65*31*36 см (НПК Открытая наука, Россия). Тестирование проводили сразу после тестов фон Фрея и «Открытое поле». Животные помещались в светлый отсек установки и далее свободно передвигалось в течение 3 мин. Измеряли время, проведенное в темном отсеке, а также количество переходов между отсеками, при котором животное переходило в соседний отсек всеми лапами.

2.3.4 Тест «Температурная чувствительность хвоста»

Данный тест проводился для определения порогов температурной чувствительности по модифицированному протоколу Ramabadran et al. [269]. В данном эксперименте животных фиксировали в тканевое полотенце и далее опускали хвост в емкость с водой до отметки 3 см от основания хвоста в воду температурой 51ºС. Латентный период отдергивания хвоста определяли с момента опускания хвоста до отметки. Животные, не отдергивающие хвост более 40 с, не учитывались при подсчете статистики.

2.4. Электрофизиологические исследования модели с аурой

2.4.1. Хирургия

Для проведения электрофизиологических записей животных подвергали глубокой анестезии ингаляцией 5% изофлурана (Isonic, Italy), дальнейшая операция проводилась под 2% ингаляцией. На черепе разрезалась и раздвигалась кожа и мышцы, кости очищались от надкостницы. После этого животное переводилось на анестезию уретаном 1.5 г/кг уколом внутрибрюшинно (Химкрафт, Россия). Во время операции животное находилось на подогреваемом коврике при 38◦C (RWD, China). При помощи проверки на болевую чувствительность щипками задних лап определяли глубину анестезии, когда животное переставало реагировать на болевые стимулы, оно далее помещалось в стереотаксическую установку. Для установки электродов были просверлены 2 отверстия, над соматосенсорной корой (S1, A/P: -2 мм, M/L: 2.5 мм) и зрительной корой (V1, A/P: -5 мм, M/L: 2.5 мм). Заземляющий электрод из хлорсеребряной проволоки был имплантирован в мозжечок.

2.4.2 Запись распространяющейся корковой депрессии

Для записи электрической активности коры были использованы вольфрамовые электроды (R = 0.5 – 1 МОм) (A-M Systems, США), которые погружались на глубину 800-950 мкм, соответствующему 4 слою коры, в месте введения твердая мозговая оболочка предварительно протыкалась иглой 29G. Регистрировались внеклеточный локальный полевой потенциал (ЛПП) и множественные потенциалы действия (МПД), при помощи усилителя в режиме постоянного тока с коэффициентом усиления 10 в диапазоне 0–300 Гц и в режиме переменного тока с коэффициентом усиления 1000 в диапазоне 300–6000 Гц и использованием CED Micro1401 (Cambridge Electronic Design Limited, UK). Запись оцифровывалась в программе Spike2 (Cambridge Electronic Design Limited, UK) с частотой 20 кГц. После погружения электродов выдерживали 40 минут перед началом записи для восстановления активности нейронов.

Проводили определение порогов генерации РКД при помощи аппликации 10 мкл раствора хлорида калия (KCl) в возрастающей концентрации от 0,05 М до 1 М в лунку для электрода на твердую оболочку над S1 корой, записывали сигнал в течение 10 мин, детекцию РКД производили под визуальным контролем в программе Spike2 в режиме реального времени. При отсутствии РКД проводили повышении концентрации раствора KCl, между аппликациями проводили отмывку коры раствором 0.9% хлорида натрия (NaCl).

После определения порога также проводили отмывку коры физиологическим раствором и далее непрерывно записывали активность коры на фоне действия 1 М раствора KCl в течение 2 часов.

2.4.3. Анализ распространяющейся корковой депрессии

Исходный сигнал, записанный с частотой дискретизации 20000 Гц, децимировали до 2000 Гц и сглаживали фильтром Савицкого-Голея (с длинной окна 31 точка). Детекцию РКД проводили визуально по выраженным отрицательным отклонениям сигнала ЛПП амплитудой более 5 мВ и длительностью более 6 с) [270].

Для первого РКД в каждом эксперименте рассчитывали следующие амплитудно-временные параметры [270,271] (Рисунок 8):

1. Начало РКД (с) соответствовало увеличению частоты МПД на 20% от контрольной записи перед отрицательным сдвигом ЛПП.
2. Onset (с) рассчитывали как время между началом РКД и локальным отрицательным пиком первой производной ЛПП, предшествующем отрицательному пику РКД. Значение первой производной ЛПП рассчитывались в 100 мс интервале. Базовую линию определяли как среднее значение ЛПП в временном окне от 20 до 10 с перед onset.
3. Латентность - время от аппликации KCl до начала РКД (с). Начало РКД определялось по характерному повышению МПД активности.
4. Длительность РКД (с) рассчитывалась от начала РКД до пересечения базовой линии с сигналом ЛПП.

5. Половина длительности (T1/2, с) как длительность РКД на уровне половины его амплитуды.

6. Амплитуда РКД (мВ) как максимальный отрицательный пик ЛПП от базовой линии.

7. Время нарастания РКД (с) как интервал между достижением 20% и 80% амплитуды РКД.

8. Скорость деполяризации (мВ/с). Значение производной в точке Onset, т.е. в участке максимальной крутизны волны.

9. Скорость распространения РКД (мм/мин), рассчитываемую как отношение расстояния между двумя электродами к разнице времени детекции первого РКД между ними.

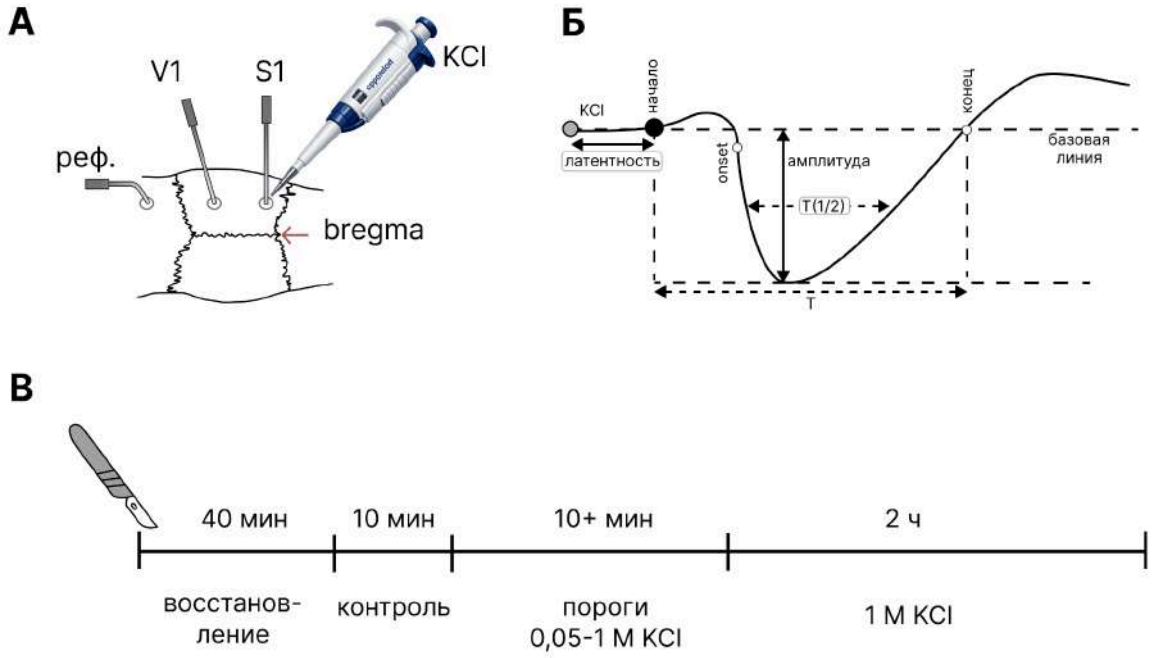


Рисунок 8 – Схема моделирования мигрени с аурой при помощи растворов KCl. А – расположение электродов в S1 и V1 коре и аппликации KCl. Б – параметры анализа амплитудно-временных характеристик РКД, Т – длительность, Т(1/2) – половина длительности. В – схема эксперимента

Во время записи электрической активности при аппликации 1 М KCl в течение 2 часов оценивалось количество РКД в S1 (ед.).

2.4.4 Анализ множественных потенциалов действия

Для анализа МПД активности исходный сигнал подвергали полосовой фильтрации методом Баттерворта 4-го порядка в диапазоне 300-5000 Гц. МПД детектировали по пересечению порога, рассчитанного на основе медианы абсолютных отклонений. Порог детекции рассчитывали по следующей формуле [272–274]:

$$Thr = -5\sigma, \quad (1)$$

где $\sigma = median\{|x|/0.6745\}$, x - 10-минутный полосно-фильтрованный сигнал контрольной записи (до аппликации KCl).

Для количественной оценки изменений нейронной активности в ответ на РКД определяли частоту МПД в 10 секундный период после начала РКД. Из выборок были исключены результаты, на которых артефакты записи препятствовали анализу волны.

2.5. Молекулярно-генетические методы исследования мигрени с аурой

2.5.1 Выделение РНК для ПЦР в реальном времени

Для анализа транскрипционной активности генов методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) использовали животных после индукции РКД в течение двух часов при помощи 1 М раствора KCl (без записи корковой активности, Таблица 1). Усыпленных животных декапитировали на хладагенте и отбирали образцы головного мозга, которые затем подвергали быстрой заморозке в жидком азоте, после чего переносили на хранение при -80°C до обработки. Мозг подвергали диссекции при температуре -20°C, чтобы свести к минимуму деградацию мРНК во время выделения тканей, выделяли области первичной соматосенсорной коры (S1), гиппокамп и таламус с учетом стороны индукции РКД на полушарии.

Для извлечения общей РНК замороженные образцы мозга были вручную гомогенизированы в 1 мл ExtractRNA (Evrogen, Россия), представляющем собой монофазный водный раствор фенола и гуанидин изотиоцианата. Полученный лизат инкубировали при комнатной температуре 10 минут. Параллельно с

инкубацией происходило перемешивание содержимого пробирки с помощью вортекса. Далее лизат центрифугировали при 12500 g в течение 10 минут, супернатант переносили в новую пробирку. На стадии разделения фаз к супернатанту добавлялось 0.2 мл хлороформа, после чего пробирка вручную встряхивалась в течение 15 секунд. Центрифугирование при 12500 g в течение 10 минут, после чего в новую пробирку отбиралась водная фаза. К водной фазе добавляли 0,5 мл изопропанола, перемешивали с помощью пипетирования и центрифугировали при 12500 g в течение 10 минут для осаждения РНК. Осадок РНК промывали 1 мл 80% этанола, центрифугировали при 12500 g в течение 5 минут и сушили при комнатной температуре в течение 5-7 минут. Далее осадок РНК растворяли в воде, свободной от нуклеаз, и прогревали при 55–60 °C в течение 3-5 минут для улучшения растворения. Чистоту РНК оценивали по спектрофотометрическим характеристикам (соотношение 260/280 и 260/230), а также на агарозном гель-электрофорезе. Для удаления примесей геномной ДНК использовали ДНКазу E (Evrogen, Россия). Очищенную РНК хранили при -20°C. Для предотвращения деградации РНК все манипуляции проводили на льду, избегая избыточных циклов замораживания-размораживания.

2.5.2 Реакция обратной транскрипции для получения кДНК

Синтез первой цепи комплементарной ДНК (кДНК) проводили с использованием набора реактивов MMLV RT kit (Evrogen, Россия), содержащего обратную транскриптазу MMLV (ревертаза), полученную из штамма *E. coli*, экспрессирующего ген pol вируса лейкемии мышей MMLV. Набор предназначен для синтеза первой цепи кДНК с одноцепочечной матрицы РНК и последующего использования в амплификации, клонировании, экспрессии и анализе с помощью ПЦР-РВ. В пробирке смешивали 2.5 мкг общей РНК и 2 мкл олиго(dT)-праймеров, далее доводили объем до 11 мкл с помощью воды, свободной от нуклеаз. Смесь прогревали при 70 °C в течение 2 минут для денатурации вторичной структуры РНК, после чего быстро охлаждали на льду. К охлажденной смеси добавляли 9 мкл предварительно подготовленной реакционной смеси, содержащей: 4 мкл 5X First strand buffer, 2 мкл dNTP mix (10 мМ каждого нуклеотида), 2 мкл DTT (20

мМ), 1 мкл MMLV Reverse Transcriptase (100 е.а./мкл). Реакционную смесь перемешивали пипетированием и центрифугировали для удаления пузырьков воздуха. Инкубацию проводили при 37 °С в течение 60 минут для синтеза первой цепи кДНК, после чего реакцию останавливали нагреванием при 70 °С в течение 10 минут. Образцы охлаждали на льду. Полученную первую цепь кДНК использовали в качестве матрицы для ПЦР-РВ.

2.5.3 Постановка ПЦР в реальном времени

Для изучения активации клеток и маркеров воспаления в модели мигрени с аурой были выбраны 3 гена (*Fos, Tgfb1, P2rx7*) с помощью ПЦР-РВ, с использованием бета-актина (*Actb*) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (*Gapdh*) в качестве генов «домашнего хозяйства» (Таблица 2). Данные экзонных последовательностей генов крыс были получены из баз данных NCBI Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank). Для оптимизации дизайна праймеров, направленных на стыки границ экзонов, было использовано программное обеспечение UGENE, позволяющее минимизировать образование димеров праймеров и тугоплавких шпилек. Все праймеры были подобраны учетом схожих температур плавления на уровне 59-60°С.

Для проведения ПЦР-РВ использовали готовую реакционную смесь 5X qPCRmix-HS SYBR (Evrogen, Россия), содержащую высокопроцессивную Taq ДНК-полимеразу с моноклональными антителами, интеркалирующий краситель SYBR Green I, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTPs), Mg^{2+} и ПЦР-буфер. Концентрация магния в 1X реакционной смеси составляла 3 mM, а концентрация каждого dNTP – 0,12 mM. Реакционную смесь размораживали при комнатной температуре и тщательно перемешивали. Исследуемые образцы объёмом 25 мкл содержали 1x SYBR green master mix (Evrogen), 0,4 мкмоль каждого праймера и 50 нг продукта обратной транскрипции (кДНК). В качестве отрицательного контроля вместо кДНК использовалась вода высокой степени очистки, обработанная диэтилпирокарбонатом.

Таблица 2 – Используемые праймеры

Название	Прямая последовательность	Обратная последовательность
Tgfb1 (трансформирующий фактор роста, бета 1)	GGCTTTCGCTTCAGTGCTC	GAGCACTGAAGCGAAAGCC
P2rx7 (пуринергический рецептор P2X, лиганд-управляемый ионный канал, 7)	GCACCATCAAGTGGATCTTGC	CAAAGAACGAGTTTCCCCTGC
Fos (онкоген остеосаркомы FBJ)	GAGCAGCTATTCTCCTGAAGAGG	CAAGTTGATCGTCTCCGCTTG
Actb (актин, бета)	GACCCAGATCATGTTTGAGACC	CCATCACAATGCCAGTGGTAC
Gapdh (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа)	CGGTGTGAACGGATTTGGC	GGATCTCGCTCCTGGAAGATG

Амплификация проводилась в трех повторностях с использованием прибора для ПЦР-РВ Applied Biosystems QuantStudio 5 (Фостер-Сити, США). Реакцию проводили в следующих условиях: предварительная денатурация при 95 °C в течение 5 мин, 40 циклов денатурации (при 95 °C в течение 15 с), отжига праймеров (60 °C в течение 30 с) и элонгации (72 °C в течение 60 с). В конце фазы амплификации проводили этап диссоциации для определения температуры плавления: 95 °C в течение 15 с, 60 °C в течение 60 с и 95 °C в течение 60 с.

Относительный уровень транскрипционной активности (экспрессии) исследуемых генов определяли методом сравнительного порогового цикла ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Для каждого образца рассчитывали значение ΔCt как разность между пороговым циклом исследуемого гена и геометрического среднего референсных генов. Далее вычисляли величину ΔΔCt относительно контрольной группы. Определяли относительное изменение экспрессии (Fold Change, FC). Для симметричного представления изменений экспрессии и удобства статистического анализа результаты дополнительно выражали в виде логарифма по основанию 2 от

Fold Change (log2 Fold Change, log2FC), как мера разницы уровня экспрессии гена между опытом и контролем, равная простому отношению их средних значений:

$$\log_2 FC = \log_2(2^{-\Delta\Delta Ct}) \quad (2)$$

Таким образом определяли различия в уровнях экспрессии изучаемых генов под действием РКД, а также влияние на них генотипа животных.

2.6. Гистологические методы исследования

2.6.1 Забор тканей для гистологического окрашивания

После окончания моделирования мигрени с аурой и без производили забор материала на гистологический анализ. Крыс из группы моделирования хронической мигрени предварительно глубоко анестезировали изофлураном (ИзоНик, Chemical Iberica PV, Испания). Проводили транскардиальную перфузию 350 мл раствором 0.9% NaCl с гепарином и далее 4% забуференным параформальдегидом до жесткой фиксации тканей. Голову декапитировали, череп очищали от мягких тканей и разделяли на 2 половины, вместе с головным мозгом хранили в 4% PFA.

2.6.2 Окрашивание менингеальных тучных клеток

Получерепа с менингеальными оболочками промывали в растворе фосфатно-солевого буфера (PBS, pH 7.4), под бинокуляром отделяли твердую мозговую оболочку и фиксировали на предметном стекле высушиванием (Рисунок 9А). Окрашивание проводили водным раствором 0.1% толуидинового синего в течение 10 мин, промывали дистиллированной водой и после дегидрировали 96% этанолом. Препараты анализировали под микроскопом с камерой Zeiss Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, Thornwood, NY, США). На каждом препарате анализировали не менее 100 клеток в рандомных полях зрения. Для оценки степени активации ТК использовали индекс дегрануляции (ИД), который рассчитывали по формуле (Рисунок 9В-Е):

$$ИД = (А*0 + Б*1 + В*2 + Г*3)/n, \quad (3)$$

где А, Б, В, Г – степень дегранулированности клеток, А – недегранулированные тучные клетки, Б – клетки со слабой степенью дегрануляции, В – умеренно дегранулирующие тучные клетки, Г – клетки с высокой степенью дегрануляции; n = число всех тучных клеток.

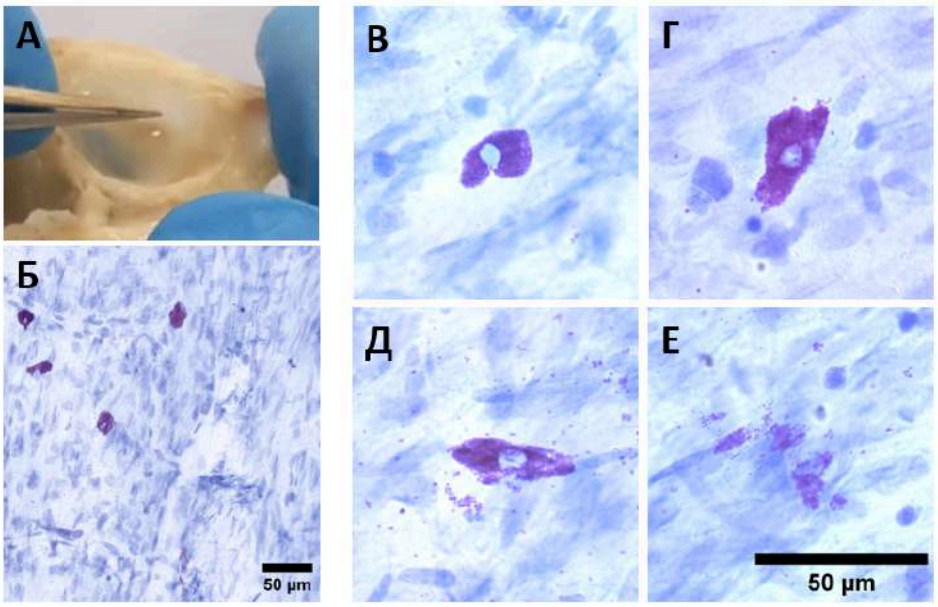


Рисунок 9 – Окрашивание тучных клеток твердой мозговой оболочки. А - препарирование фиксированной твердой мозговой оболочки. Б - фотография окрашенного препарата твердой мозговой оболочки крысы. В-Е клетки с разной степенью дегрануляции, от недегранулированной (В) до высокой степени дегрануляции (Е)

2.6.3 Иммуногистохимический анализ глиальных клеток

После фиксации в 4% параформальдегиде образцы головного мозга крыс были нарезаны на микротоме с вибрирующим лезвием (Leica VT1000S, Leica Biosystems, США) на коронарные срезы толщиной 50 мкм. Свободноплавающие срезы хранили в криопротекторной жидкости при -18°C. Для мечения зрелых астроцитов использовались антитела кролика к GFAP в разведении 1:2000 (Abcam, Waltham, MA, США), антитела кролика к провоспалительному астроцитарному маркеру S100β использовали в разведении 1:4000 (Abcam, Waltham, MA, США), для мечения микроглиальных клеток использовали кроличьи поликлональные антитела к Iba1 в разведении 1:500 (Abcam, Waltham, MA, США). После

инкубации в первичных антителах в течение 12 часов срезы промывали 3 раза в PBS содержащим 0.3% Tween-20 (Himedia Laboratories, арт. MB031, США), далее использовали набор со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, а также 3,3'-диаминобензидином в качестве хромогена (Праймбиомед, Москва, Россия). После проявления коричневого осадка срезы промывали в дистиллированной воде, перемещались на предметные стекла, обезвоживались 98% этанолом и заключались под покровное стекло при помощи монтирующей среды Витрогель (Эргопродакшн, Санкт-Петербург, Россия).

2.6.4 Съемка и анализ срезов

Для оценки глиальных изменений на фоне моделирования хронической мигрени без ауры и острой мигрени с аурой у крыс иммуногистохимический анализ проводили в дорсальном гиппокампе и вентральных ядрах таламуса.

Съемку полученных после окрашивания срезов проводили с помощью светового микроскопа Zeiss Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, Германия) с объективом 20x и камеры AxioCam 503 (Carl Zeiss Германия) в ПО AxioVision software (Carl Zeiss, Германия). Идентичные области были выбраны в обеих экспериментальных группах (A/P: (-3.1) - (-3.4)): лучистый слой (stratum radiatum, SR) CA1 и CA3, ворота (hilus) и молекулярный слой (ML) зубчатой извилины дорсального гиппокампа, а также область вентральных задних ядер (VPM, VPL) таламуса.

Количественный анализ глиальных клеток проводился с использованием FIJI ImageJ (NIH, Бетесда, Мэриленд, США), как описано в предыдущей работе [275]. В анализ включались только клетки, сомы и отростки которых полностью находились в пределах толщины среза. Плотность клеток GFAP+, S100β+ и Iba1+ на мм³ рассчитывалась по следующей формуле [276]:

$$d = (10^6 \times n)/(S \times l), \quad (4)$$

где n - количество клеток, S - площадь анализируемой области (в мкм²), l - толщина среза (в мкм), 10^6 - коэффициент пересчета из мкм² в мм².

Для более детального анализа морфометрии микроглии был использован плагин, находящийся в свободном доступе [277]. Все микрофотографии

микроглии переводились в формат 8 бит, инвертировались, как того требует работа плагина. Для статистического анализа были выбраны параметры: средняя длина отростков (мкм), площадь и компактность клеток (площадь всей клетки/площадь отростков). Для каждого животного плотность клеток определяли с 1 среза мозга в исследуемых областях левого и правого полушарий. В последующий статистический анализ включали усредненное по обоим полушариям значение.

2.7. Статистический анализ

Статистический анализ данных проводился с использованием GraphPad prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, США), Microsoft Excel (Microsoft, Tulsa, OK, США) и R Studio. Нормальность распределения данных в каждой подгруппе проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Однородность дисперсий оценивали с помощью критерия Левена. Для анализа двух несвязанных выборок, не прошедших тест на нормальность, использовали тест Манна-Уитни.

Для двухфакторного анализа связанных выборок использовали дисперсионный анализ (ANOVA) смешанного типа с поправкой Сидака. Для анализа выборок с двумя независимыми факторами при прохождении выборками критерия Шапиро-Уилка и Левена использовали двухфакторный ANOVA с последующим апостериорным тестом Тьюки. При нарушении хотя бы одного из критериев применяли двухфакторный дисперсионный анализ на основе выровненного рангового преобразования (Aligned Rank Transform) с апостериорным сравнением контрастов взаимодействия (ART C) и поправкой Холма на множественность сравнений. Расчёты выполнены в среде R с использованием пакетов ARTool, emmeans и car.

Различия считались статистически значимыми при $p<0.05$ (*/#), также для обозначения статистически значимых эффектов введены уровни достоверности **/## - $p<0.01$, ***/### - $p<0.001$ (# – для внутригрупповых сравнений, * – для сравнений между выборками).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Моделирование хронической мигрени на крысах линии Wistar

3.1.1 Исследование порогов механической чувствительности в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar

Мигрень у пациентов часто сопровождается развитием аллодинии [167], которая обнаруживается и у животных при введении НТГ [91]. Для оценки развития аллодинии у крыс линии Wistar в модели мигрени с введением донора NO было проведено исследование порогов механической чувствительности после однократного укола НТГ. Были измерены пороги чувствительности до и в течение 3х часов после введения НТГ (Рисунок 10А). Было показано статистическое снижение порогов чувствительности на 2 и 3 час измерения по сравнению с контрольными значениями ($n = 10$, $p<0.05$). Также были проведены тестирования механической чувствительности у группы, получившей эквивалентное введение NaCl (n=7), различий в сравнении с контрольными измерениями не обнаружено. Полученные данные подтверждают роль экзогенного NO в развитии аллодинии.

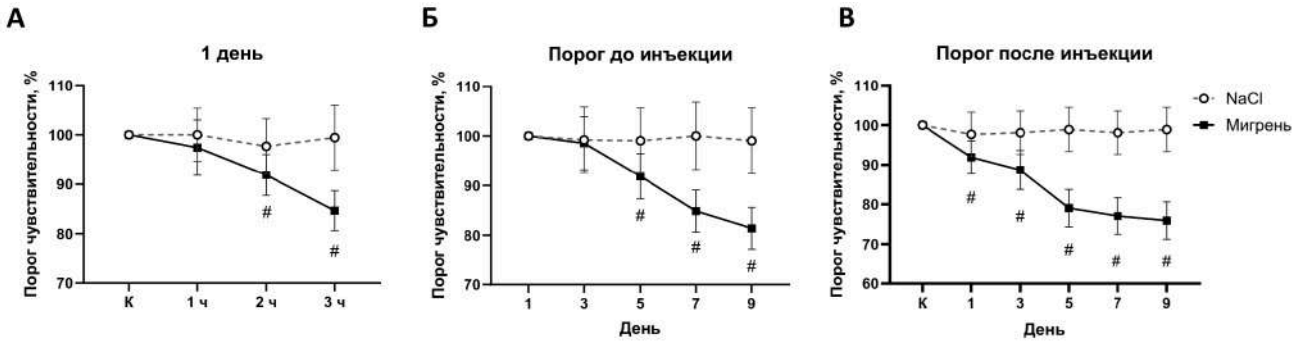


Рисунок 10 – Пороги механической чувствительности крыс линии Wistar при ведении НТГ. А – однократное введение; тестирование порогов механической чувствительности до (Б) и после инъекции НТГ (В). К – контроль, # - $p<0.05$

При моделировании хронической мигрени у животных измеряли пороги механической чувствительности до (Рисунок 10Б), а также через 2 часа после

введений НТГ (Рисунок 10В). По идентичному протоколу проводились тестирования группы сравнения, получавшей уколы NaCl. Моделирование хронической мигрени привело к понижению порогов базальной чувствительности у животных до введения НТГ после 3 укола и в последующие дни по сравнению с контрольными измерениями (с 5 дня, соответственно, $p<0.05$). Через 2 часа после инъекции НТГ у Wistar также стабильно понижались пороги механической чувствительности по сравнению с контролем, после каждого укола (с 1 по 9 день тестирования, $p<0.05$). При этом в группе, получавшей NaCl изменения порогов не обнаружено, что подтверждает развитие аллодинии в модели хронической мигрени.

3.1.2 Исследование провоспалительной активации астроцитов в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar

Для оценки провоспалительной активации астроцитов был использован маркер S100β, проведен анализ плотности S100β+ клеток в гиппокампе при хроническом введении НТГ и NaCl крысам линии Wistar (Рисунок 11).

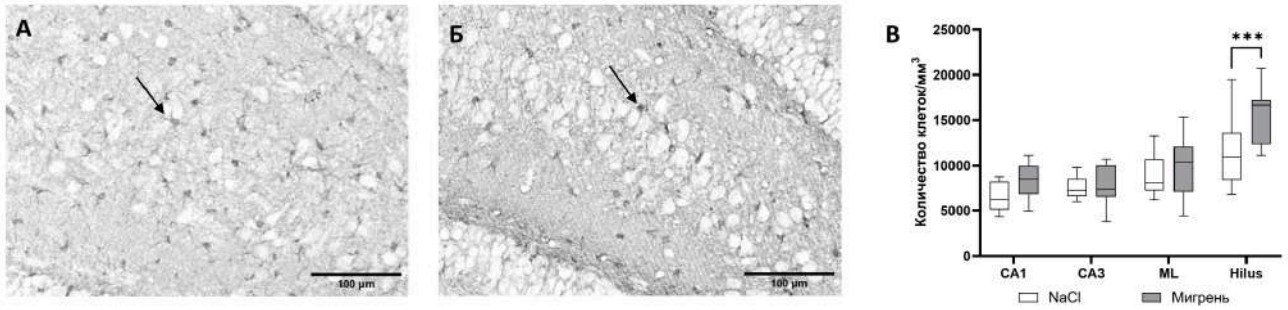


Рисунок 11 – Анализ плотности S100β+ клеток в дорсальном гиппокампе крыс линии Wistar в модели хронической мигрени. А – область hilus у контрольной группы крыс; Б – область hilus у крысы в модели хронической мигрени; В – сравнение плотности клеток при хроническом НТГ и NaCl . ***-$p<0.001$

Сравнительный анализ показал, что в модели хронической мигрени ($n = 5$) более высокая плотность S100β+ в зоне hilus зубчатой извилины гиппокампа, чем после уколов NaCl ($n = 7$, $p<0.001$). В то же время в других зонах изменений окрашивания не обнаружено.

Таким образом, было показано наличие глиального воспаления в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar.

3.2 Исследование влияния дофамина на поведенческую активность у крыс DAT-HET в модели хронической мигрени без ауры

3.2.1 Механическая чувствительность крыс DAT-HET в модели хронической мигрени без ауры

Для определения вклада дофамина в развитие кожной аллодинии в модели хронической мигрени и использовали крыс DAT-HET. Сравнение контрольных значений порогов механической чувствительности не показало различий между животными DAT-WT (n = 9) и DAT-HET (n = 10). Моделирование хронической мигрени на крысах DAT-WT и DAT-HET показало повышение механической чувствительности задних лап. Различий в порогах чувствительности между двумя группами не обнаружено (p>0.05) (Рисунок 12).

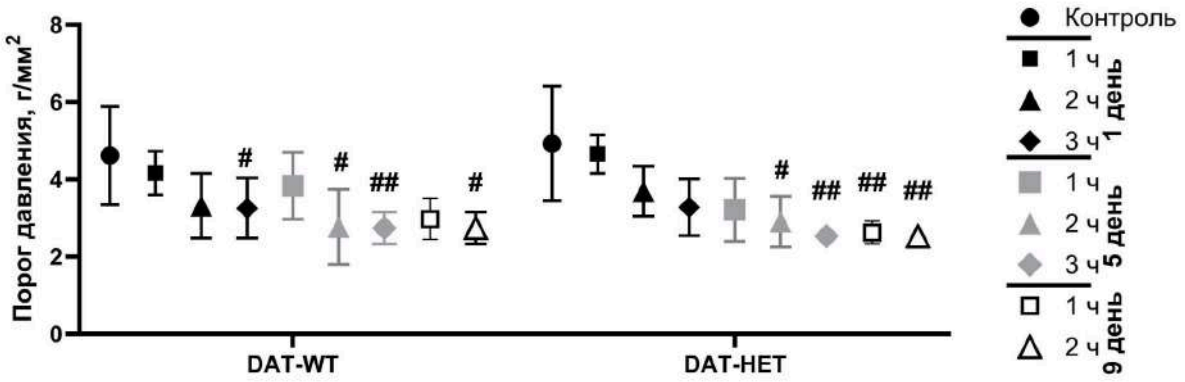


Рисунок 12 – Пороги механической чувствительности у крыс DAT-WT/HET при моделировании хронической мигрени без ауры. Представлены пороги чувствительности у крыс DAT-WT и DAT-HET. Данные представлены как Mean±SD. Сравнение с контрольными значениями до введение НТГ внутри группы: # - p<0.05, ## - p<0.01

У крыс генотипа DAT-WT понижение порогов механической чувствительности происходит на 3 час после 1 укола НТГ (1 день). В последующих тестированиях в течение 1 часа статистического изменения порогов

не происходит, но значимо снижаются на 2-3 час по сравнению с контрольными значениями.

У крыс генотипа DAT-HET также происходит стабильное снижение порогов механической чувствительности, первое значимое снижение происходит после 3 укола (5 день) в течение 2 часа эксперимента и далее в другие дни тестирования.

Таким образом, крысы обоих генотипов демонстрируют снижение порогов механической чувствительности при моделировании хронической мигрени повторным введением НТГ, у DAT-WT различия наступаю статистически раньше, однако, различий между группами не обнаружено.

3.1.2 Пороги температурной чувствительности у DAT-HET крыс в модели хронической мигрени

Помимо развития повышенной механической чувствительности при мигрени также отмечается повышение температурной чувствительности [91]. В тесте «температурная чувствительность хвоста», при котором измеряли пороги температурной чувствительности к высокой температуре (51°C), не наблюдалось статистически значимых изменений у крыс группы DAT-WT на 3 и 7 день эксперимента (n = 9, p>0.05), однако, на 10 день пороги чувствительности снизились по сравнению с контрольным тестированием (Рисунок 13).

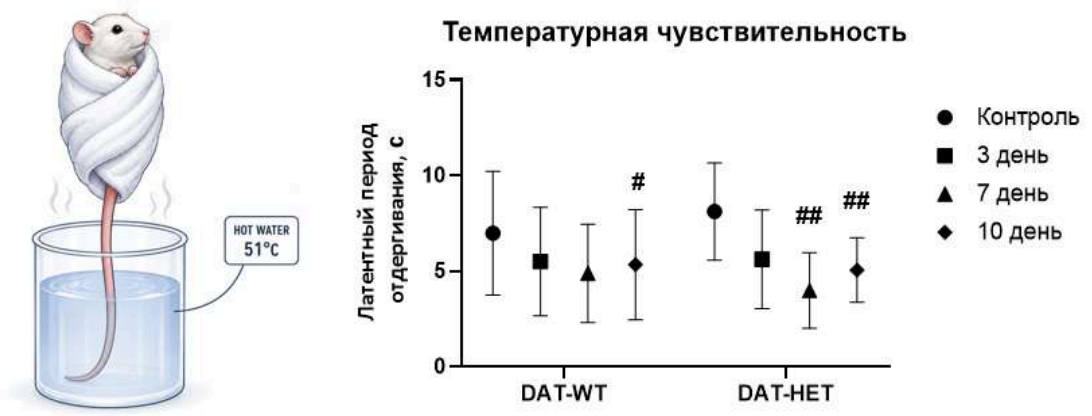


Рисунок 13 – Температурная чувствительность хвоста у крыс DAT-WT/HET. Данные представлены как Mean±SD. Сравнение с контрольными значениями внутри группы до уколов НТГ и на 3, 7, 10 день после начала: # - p<0.05, ## - p<0.01

У крыс DAT-HET, по сравнению с контрольными измерениями, после 4 укола (7 день) наблюдалось снижение латентного периода отдергивания (n = 10, <0.001), как и на 10 день эксперимента (p<0.01). Сравнение контрольных порогов температурной чувствительности между двумя группами не показало значимых различий (p>0.05).

Снижение температурной, как и механической чувствительности, может свидетельствовать о развитии аллодинии у животных, при этом у DAT-HET крыс температурная аллодиния развивается быстрее, а механическая - медленнее, чем у DAT-WT.

3.1.3 Влияние хронического введения нитроглицерина на поведенческие реакции в тесте «Открытое поле» у крыс DAT-HET

У пациентов с мигренью часто наблюдаются коморбидные психические заболевания, такие как тревожность, депрессия, фобии [278]. Одним из общепринятых тестов на определение тревожного поведения и локомоторной активности является тест «Открытое поле».

Контрольные тестирования животных до начала введения НТГ не показали различий в поведении (количество переходов, время в на периферии и пройденной дистанции) между DAT-WT и DAT-HET (p>0.05).

После 1 укола НТГ, в 1 день эксперимента у крыс DAT-WT (n = 9) по сравнению с контрольными измерениями не изменилась локомоторная активность (Рисунок 14В). Количество переходов между периферической и центральными зонами, а также пройденная дистанция у DAT-WT после 1 укола достоверно не отличаются от контрольных измерений, как и время, проведенное на периферии (p>0.05, Рисунок 14А,Б).

У крыс DAT-HET (n = 10) после 1 укола количество переходов, а также время, проведенное на периферии установки «Открытое поле», не изменилось относительно контроля (p>0.05, Рисунок 14А,Б). Пройденная дистанция значительно понизилась на 1 и 2 час после 1 укола, но 3 час различий с контролем не обнаружено (Рисунок 14В).

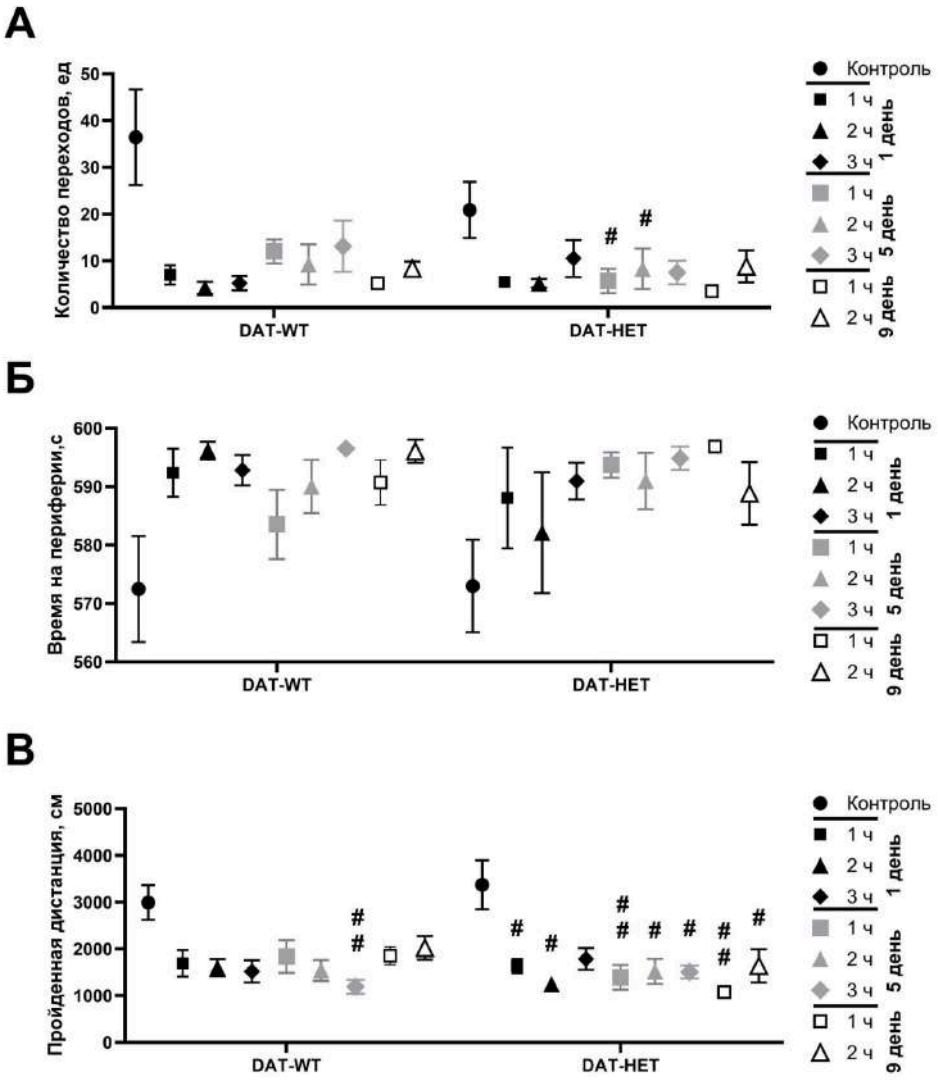


Рисунок 14 – Анализ поведения животных в тесте «Открытое поле». Количество переходов между зонами (А), время, проведенное на периферии (Б), общая пройденная дистанция (В). Данные представлены как Mean±SE. Сравнение с контрольными значениями внутри группы до введения НТГ и на 1, 5, 9 день: # - $p<0.05$, ## - $p<0.01$

На 5 день эксперимента, после 3 укола НТГ у крыс DAT-WT в течение 3х часов не изменилось количество переходов между центральными и периферической зоной установки, а также время, проведенное на периферии не отличалось от контрольных значений (Рисунок 14А,Б). При этом пройденная дистанция на 5 день эксперимента осталась сниженной по сравнению с контрольным тестированием на 3 час после укола НТГ (Рисунок 14В). Таким образом, у крыс DAT-WT на 5 день моделирования хронической мигрени проходили меньшую дистанцию, но продолжали исследовать среднюю и

центральную зоны «Открытого поля», что позволяет говорить только о снижении локомоторной активности, но не исследовательского поведения.

У животных DAT-HET после 3 укола НТГ на 5 день моделирования хронической мигрени количество переходов между зонами снизилось на 1 и 2 час после укола НТГ, но животные не проводили больше времени на периферии (Рисунок 14А,Б). Дистанция также показала снижение в сравнении с контролем в течение всех трех часов тестирования (Рисунок 14В).

На 9 день моделирования хронической мигрени после 5 укола НТГ у крыс DAT-WT в течение 3 часов количество переходов между периферией и центральными зонами, пройденная дистанция и время на периферии не отличается от контрольных измерений (Рисунок 14). У крыс DAT-HET на 9 день тестирования показано снижение пройденной дистанции на 1 и 2 час после укола НТГ (Рисунок 14А). Количество переходов между центральными и периферическими зонами не изменилось (Рисунок 14Б,В).

Было проведено сравнение показателей между животными двух генотипов, ни один из параметров не показал значимых различий между животными DAT-WT и DAT-HET в модели хронической мигрени ($p>0.05$).

Таким образом, в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET, но не DAT-WT, в 1, 5 и 9 день тестирования снижается локомоторная активность после 1 укола НТГ, что может быть связано с общим снижением локомоторной активности или усилением тигмотаксиса (избегание открытых мест), часто сопровождающим болевой фенотип [279].

3.1.4 Исследование светобоязни и тревожности у DAT-HET крыс в модели хронической мигрени в тесте «Темно-светлая камера»

Одним из распространенных симптомов мигрени является фотофобия [268]. У животных введение НТГ также может вызывать поведение, связанное с избеганием света и тревожностью, общепринятым тестом является «Темно-светлая камера».

Сравнение между DAT-WT и DAT-HET животными не показало значимых различий в количестве переходов и времени в темном отсеке в контрольных тестированиях и при моделировании хронической мигрени ($p>0.05$).

Количество переходов между светлой и темной зоной у DAT-WT в течение моделирования хронической мигрени не показали различий с фоновыми показателями ($n = 9$). У DAT-HET при моделировании хронической мигрени также не выявлено достоверных различий в количестве переходов ($n = 10$). Время, проведенное животными генотипа DAT-WT и DAT-HET в темном отсеке, также достоверно не отличалось от контрольных тестирований внутри группы (Рисунок 15Б).

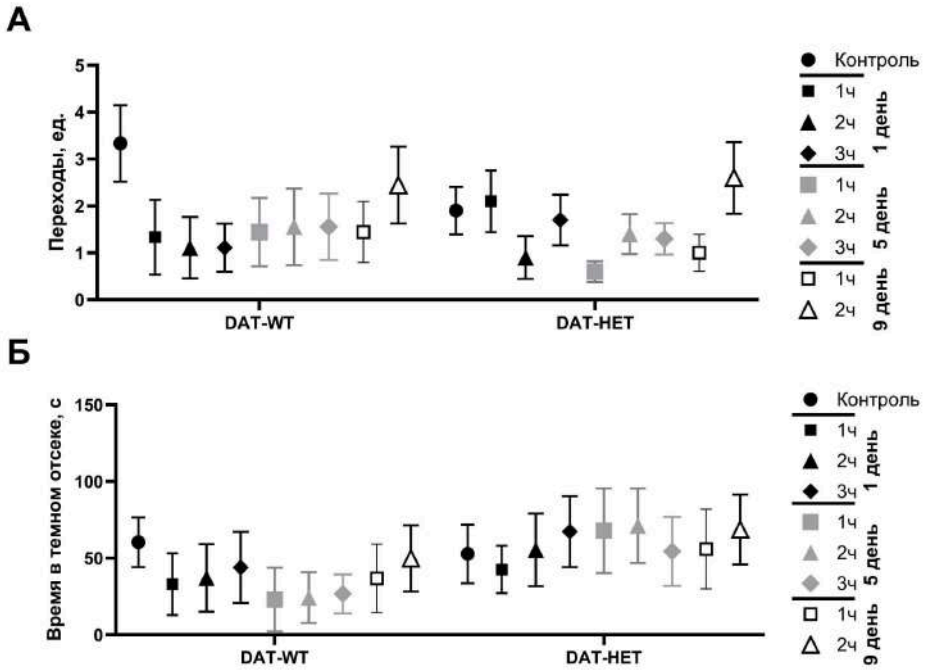


Рисунок 15 – Результаты теста «Темно-светлая камера» при моделировании хронической мигрени на крысах DAT-WT/HET. А - количество переходов между светлой и темной зоной; Б - время, проведенное в темном отсеке. Контрольные измерения до начала моделирования мигрени и на 1, 5 и 9 день тестирования. Данные представлены как Mean±SE

Таким образом, результаты тестов «открытое поле» и «темно-светлая камера» не показали развитие тревожно-подобного поведения или фотофобии в модели хронической мигрени у DAT-WT и DAT-HET крыс.

3.2 Исследование влияния дофамина на активацию тучных клеток у крыс DAT-HET в модели хронической мигрени

Активация тучных клеток и последующая дегрануляция тесно связаны с сенсибилизацией и воспалительными процессами при мигрени [59]. Индекс дегрануляции (ИД) отражает степень высвобождения тучными клетками гранул, содержащих провоспалительные молекулы, в ответ на такие триггеры, как активация тройничного нерва, воспаление, растяжение сосудов [93].

Проведен сравнительный анализ ИД тучных клеток крыс разного генотипа в контроле, который показал одинаковую степень активации тучных клеток у DAT-WT (n = 4) и DAT-HET крыс (n = 6) (Рисунок 16Б), что обусловлено отсутствием различий в соотношении клеток с различной степенью дегрануляции (Рисунок 16В).

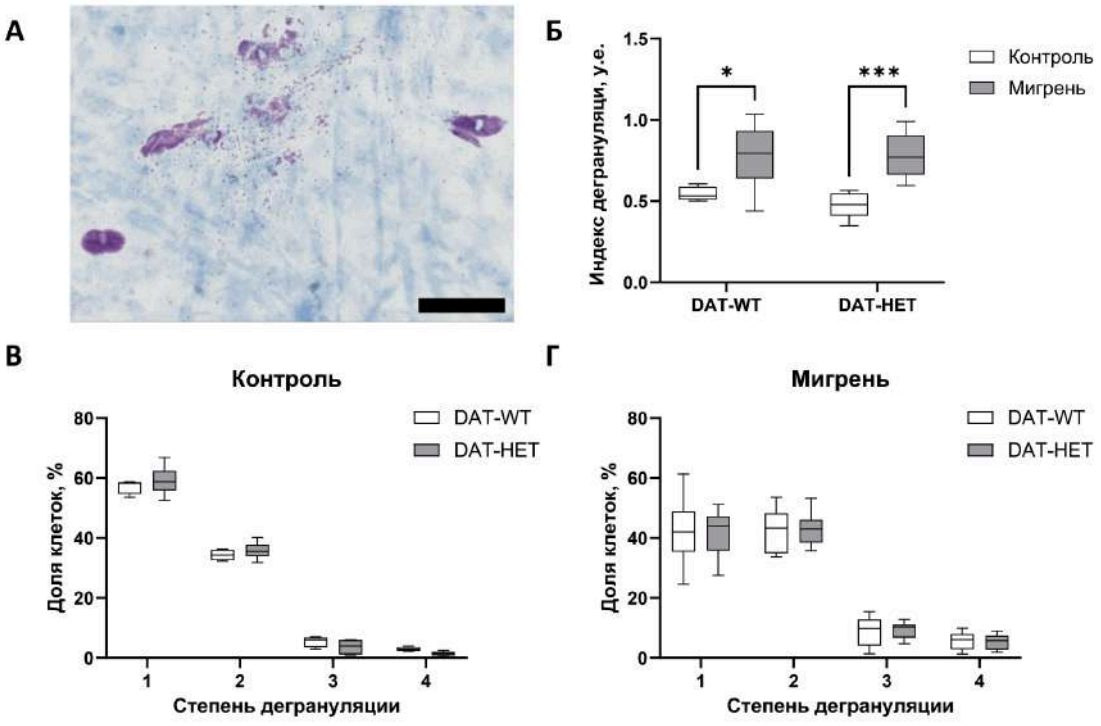


Рисунок 16 – Оценка активации тучных клеток в модели хронической мигрени у DAT-WT/HET. А - микрофотография окрашенной твердой мозговой оболочки у DAT-HET крысы после моделирования мигрени, шкала равна 50 мкм; Б - индексы дегрануляции в контрольных и группах хронической мигрени; В-Г - доля клеток с разной степенью дегрануляции от недегранулированных (1) до полностью дегранулированных (4) в контроле и группе хронической мигрени. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0,05$, ***-$p<0.001$

Хроническое введение НТГ привело к значительному повышению ИД у DAT-WT (n = 9) и DAT-HET крыс (n = 10) (Рисунок 16Б) по сравнению с контрольными группами без мигрени, доля клеток с разной степенью дегрануляции при этом не отличалась от контрольных групп (Рисунок 16Г).

Таким образом, в модели хронической мигрени без ауры происходит активация периферической иммунной системы и выброс воспалительных медиаторов независимо от генотипа животного.

3.3 Глиальные изменения в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET

Для изучения глиального ответа у крыс линии DAT-HET на хроническое введение НТГ мы использовали маркеры зрелых (GFAP) и провоспалительных астроцитов (S100β), а также классический маркер микроглии (Iba1).

Окрашивание астроцитов гиппокампа маркером GFAP в контроле не показало различий в плотности клеток между DAT-WT (n = 6) и DAT-HET крысами (n = 8) (Рисунок 17, $p>0.05$), это предполагает, что измененная дофаминергическая активность не влияет на астроцитарное окружение в норме. После индукции хронической мигрени у DAT-WT животных не наблюдается достоверных изменений в окрашивании с антителами к GFAP по сравнению с контрольной группой животных (n = 5, $p>0.05$).

У DAT-HET крыс не отмечено изменений в плотности GFAP+ астроцитов в дорсальном гиппокампе в зонах CA1, CA3, hilus, но в молекулярном слое зубчатой извилины (ML) наблюдается более высокая плотность клеток по сравнению с контрольной группой (n = 5, $p<0.05$).

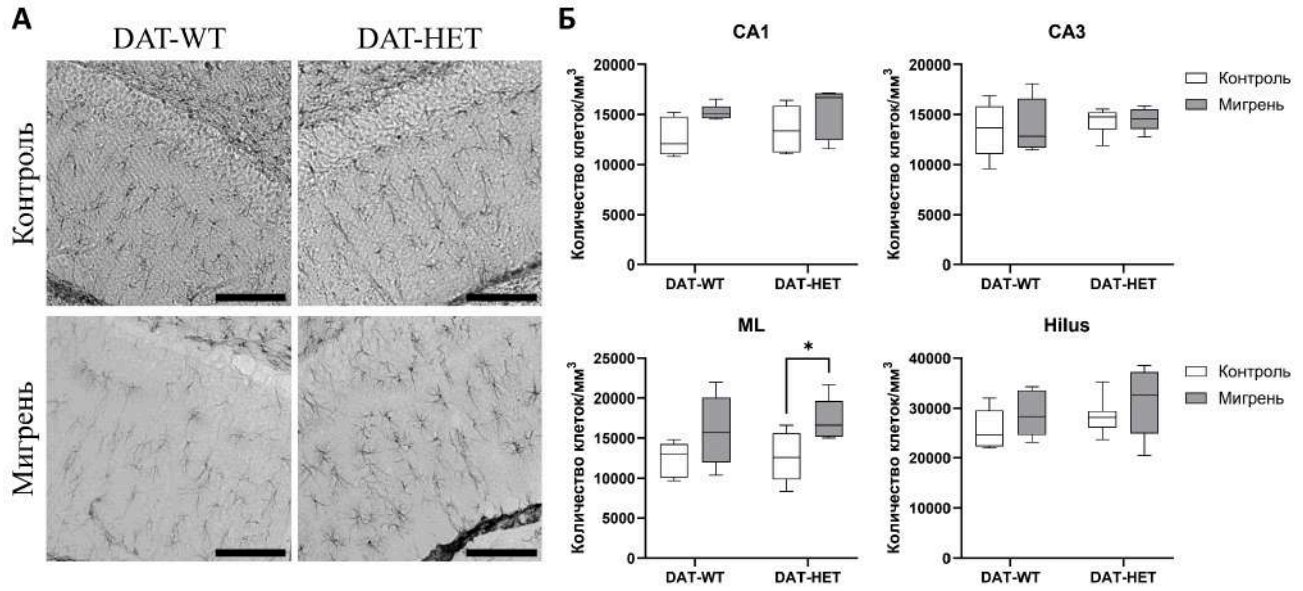


Рисунок 17 – Сравнение эффектов хронической мигрени у крыс DAT-WT/HET на распределение маркера астроцитов GFAP в дорсальном гиппокампе. А - фотографии мечения GFAP в молекулярном слое (ML) у DAT-WT и DAT-HET в контроле и модели хронической мигрени, шкала равна 100 мкм. Б - плотность GFAP+ клеток в областях CA1, CA3, а также ML и hilus зубчатой извилины. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0.05$

Для оценки изменений количества астроцитов с провоспалительным фенотипом был использован маркер S100β. Сравнение клеток гиппокампа в контроле у DAT-WT и DAT-HET крыс не показало различий в плотности S100β+ клеток ни в одной из зон (Рисунок 18). Вероятно, общий уровень провоспалительной активации астроцитов гиппокампа не зависит от дофаминергической иннервации.

Однако в модели хронической мигрени было обнаружено значительное повышение количества S100β+ астроцитов у крыс обоих генотипов в зонах CA1 и CA3 гиппокампа. В области зубчатой извилины активация зависела от генотипа: у DAT-WT животных увеличивалась плотность астроцитов в hilus, у DAT-HET, наоборот, в ML (Рисунок 18Б). Эти данные свидетельствуют о воспалительной нагрузке на гиппокамп при хронической НТГ-индуцированной мигрени. Различий в уровне количества S100β+ клеток при моделировании хронической мигрени между DAT-WT и DAT-HET крысами не обнаружено.

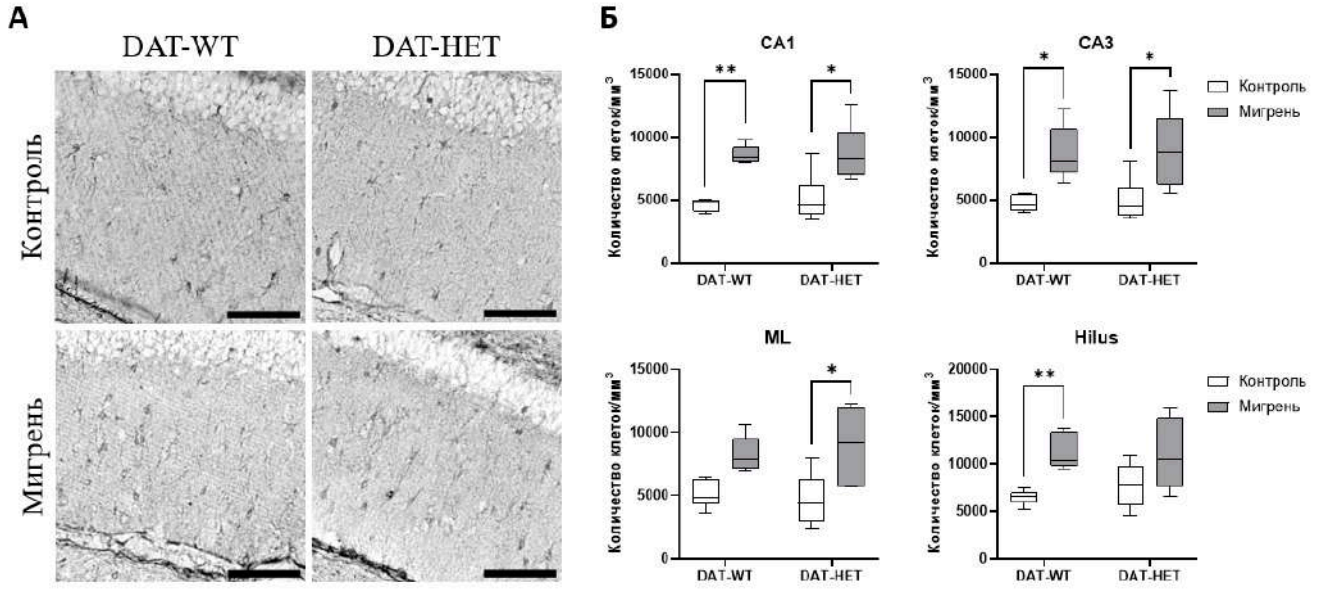


Рисунок 18 – Усиление провоспалительного профиля астроцитов при хронической мигрени у крыс DAT-WT/HET в дорсальном гиппокампе. А - мечение S100β в молекулярном слое (ML) у DAT-WT и DAT-HET в контроле и модели хронической мигрени, шкала равна 100 мкм. Б - плотность S100β+ клеток в областях CA1, CA3, а также ML и hilus зубчатой извилины. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0.05$, **-$p<0.01$

Известно, что активация астроцитов и их переход в провоспалительный фенотип во многом инициируются сигнальными каскадами, запускаемыми микроглией [262,280]. Для количественной оценки микроглиальной популяции в ткани мозга проводили анализ плотности Iba1+-клеток. Сравнение контрольных показателей плотности микроглии не показало различий между DAT-WT и DAT-HET животными (Рисунок 19). У DAT-WT и DAT-HET крыс не выявлено достоверных изменений окрашивания Iba1 после индукции хронической мигрени.

Таким образом, иммуногистохимический анализ показал, что в модели хронической мигрени многократное введение донора NO индуцирует активацию астроцитов и их фенотипическую трансформацию в провоспалительное состояние в зонах CA1 и CA3 гиппокампа независимо от генотипа и уровня дофамина в мозге. В то же время в молекулярном слое зубчатой извилины у крыс DAT-HET выявлено достоверное увеличение как общей плотности астроцитарной популяции, так и доли клеток с провоспалительным профилем. Полученные данные свидетельствуют о том, что активация астроглии в ответ на моделирование

хронической мигрени является неспецифическим компонентом патофизиологического ответа, не зависящим от функционального состояния дофаминовой системы в зонах CA1 и CA3, но в зубчатой извилине воспаление астроцитов зависит от генотипа. Несмотря на выраженную активацию астроцитов, плотность микроглии не изменялась в модели хронической мигрени вне зависимости от генотипа.

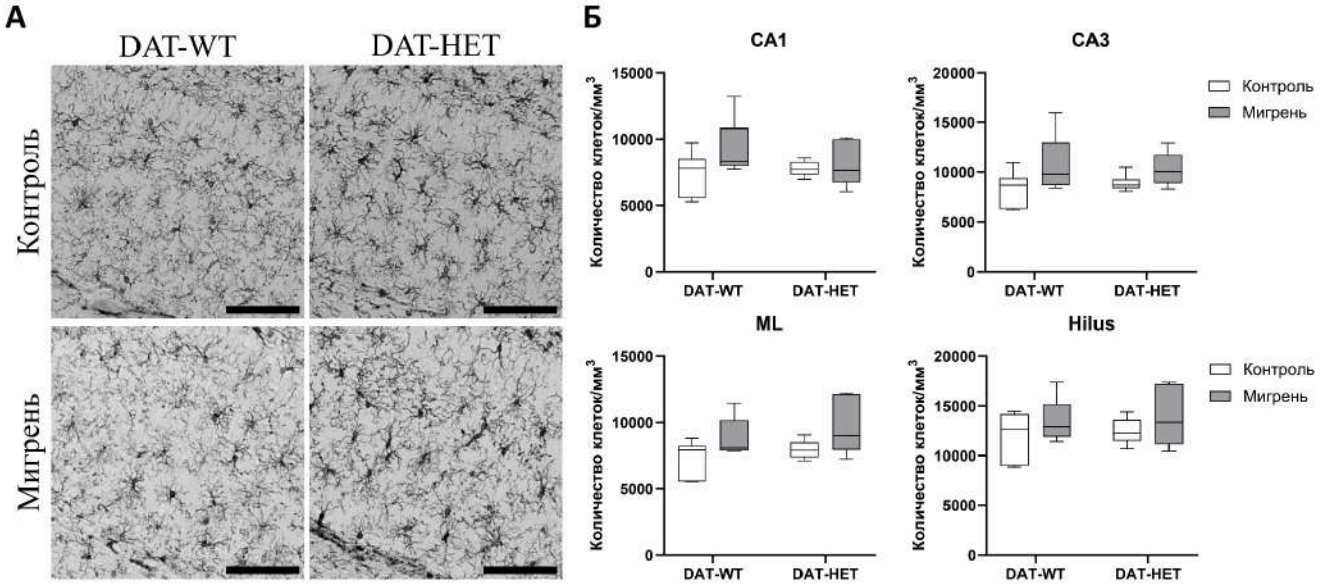


Рисунок 19 – Окрашивание микроглии в модели хронической мигрени у крыс DAT-WT/HET в дорсальном гиппокампе. А - Iba1 в молекулярном слое (ML) у DAT-WT и DAT-HET в контроле и модели хронической мигрени, шкала равна 100 мкм. Б - плотность S100β+ клеток в областях CA1, CA3, а также ML и hilus зубчатой извилины. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили

Для более детального изучения микроглии в гиппокампе в модели хронической мигрени был проведен анализ морфометрии. Анализ формы микроглии в области CA1 показал сохранение средней длины отростков после индукции хронической мигрени у крыс DAT-WT и DAT-HET (Рисунок 20А). Анализ компактности клеток не показал различий между группами хронической мигрени и контрольными крысами генотипа DAT-WT и DAT-HET.

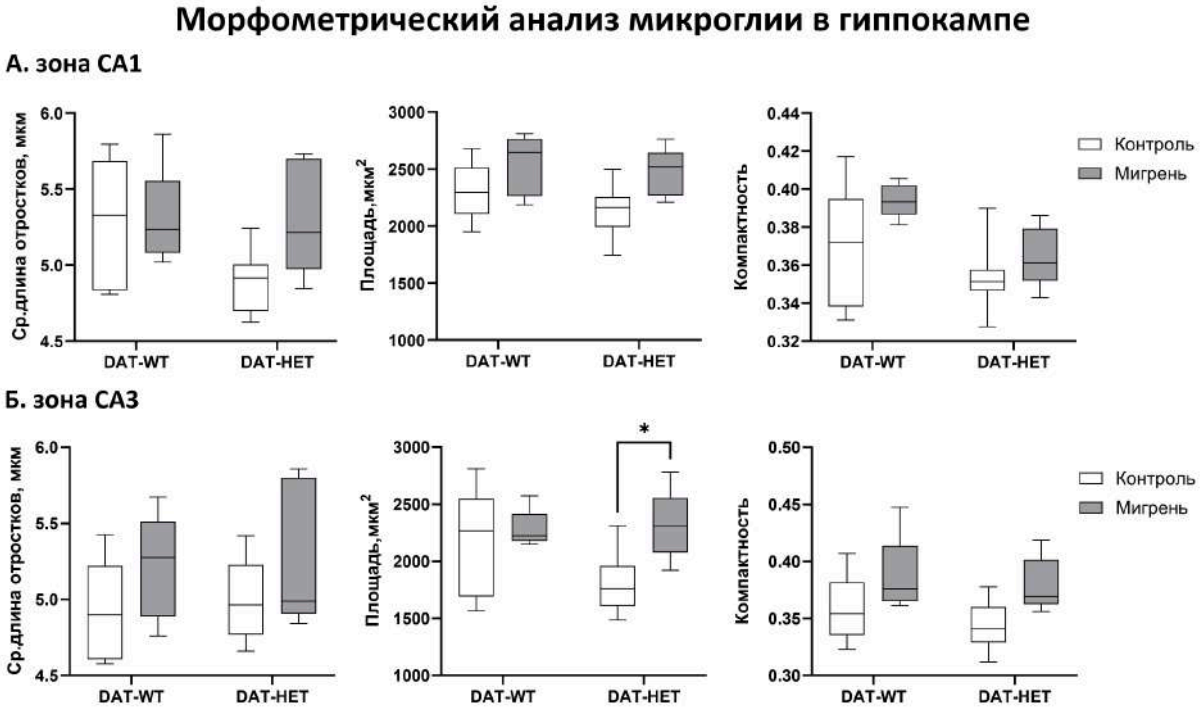


Рисунок 20 – Результаты морфометрического анализа микроглии в дорсальном гиппокампе в зонах CA1 и CA3 в контроле и модели хронической мигрени. Анализировались средняя длина отростков (мкм), средняя площадь клетки (мкм²), компактность. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-p<0.05

Анализ зоны CA3 не показал изменения в морфометрии микроглии у DAT-WT в модели хронической мигрени без ауры. У крыс DAT-HET в CA3 отмечено увеличение площади клеток при сохранении средней длины отростков, что подтверждается сохранением компактности клеток на том же уровне (Рисунок 20Б). Это может говорить о гипертрофии микроглии в условиях моделирования хронической мигрени.

В зубчатой извилине гиппокампа также обнаружены морфологические изменения микроглии у DAT-HET крыс. В зоне hilus и слое ML микроглия DAT-HET крыс после моделирования хронической мигрени показала большую компактность при сохранении средней площади клеток пос сравнению с показателями контрольной группы (Рисунок 21). Это свидетельствует о том, что соотношение площади тела к отросткам увеличилось, при этом средняя длина отростков осталась неизменной.

У DAT-WT в слое ML и зоне hilus зубчатой извилины не обнаружено различий между группами контроля и хронической мигрени (Рисунок 21Б).

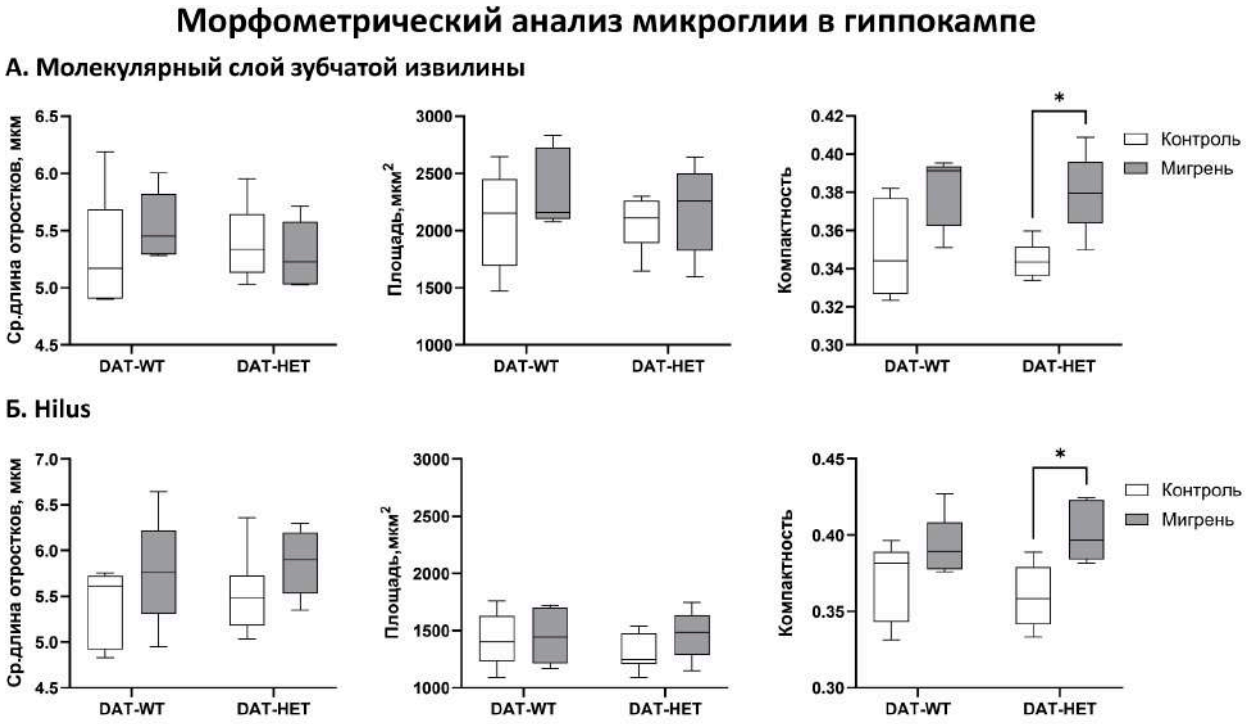


Рисунок 21 – Результаты морфометрического анализа микроглии в зубчатой извилине гиппокампа в зонах молекулярного слоя и hilus в контроле и модели хронической мигрени. Анализировались средняя длина отростков (мкм), средняя площадь клетки (мкм²), компактность. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-p<0.05

Таким образом, у крыс с нормальным уровнем дофамина и экспрессией DAT при моделировании хронической мигрени не изменяются показатели морфологии микроглии, такие как площадь, средняя длина отростков и компактность клеток, которая показывает соотношение между общей площадью клетки по отношению к отросткам. Вместе с анализом плотности микроглии в ткани, это может говорить об отсутствии выраженной активации клеток и воспалительного процесса. В то же время у DAT-HET наблюдается иной паттерн изменений микроглии в модели хронической мигрени: при неизменной плотности микроглии в ткани у клеток произошли изменения морфологии в нескольких зонах гиппокампа, в том числе повышение средней площади клеток в зоне CA3, а также увеличение компактности в зонах зубчатой извилины, что может быть свидетельством активации клеток.

3.4 Глиальные изменения в вентральных ядрах таламуса в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET

Проекции тригеминальной системы проходят через ядра таламуса, вентральные ядра которого служат узлом передачи соматических и тригеминальных ноцицептивных стимулов [46]. Для оценки развития глиального воспаления в модели хронической мигрени и вклада дофаминергической системы были определены распределения плотности клеток в вентральных ядрах таламуса.

Окрашивание микроглии с использованием маркера Iba1 выявило достоверное повышение плотности микроглиальных клеток в вентральных ядрах таламуса только у DAT-WT крыс в условиях хронической мигрени по сравнению с контрольной группой (n = 4, n = 5, соответственно) (Рисунок 22Б).

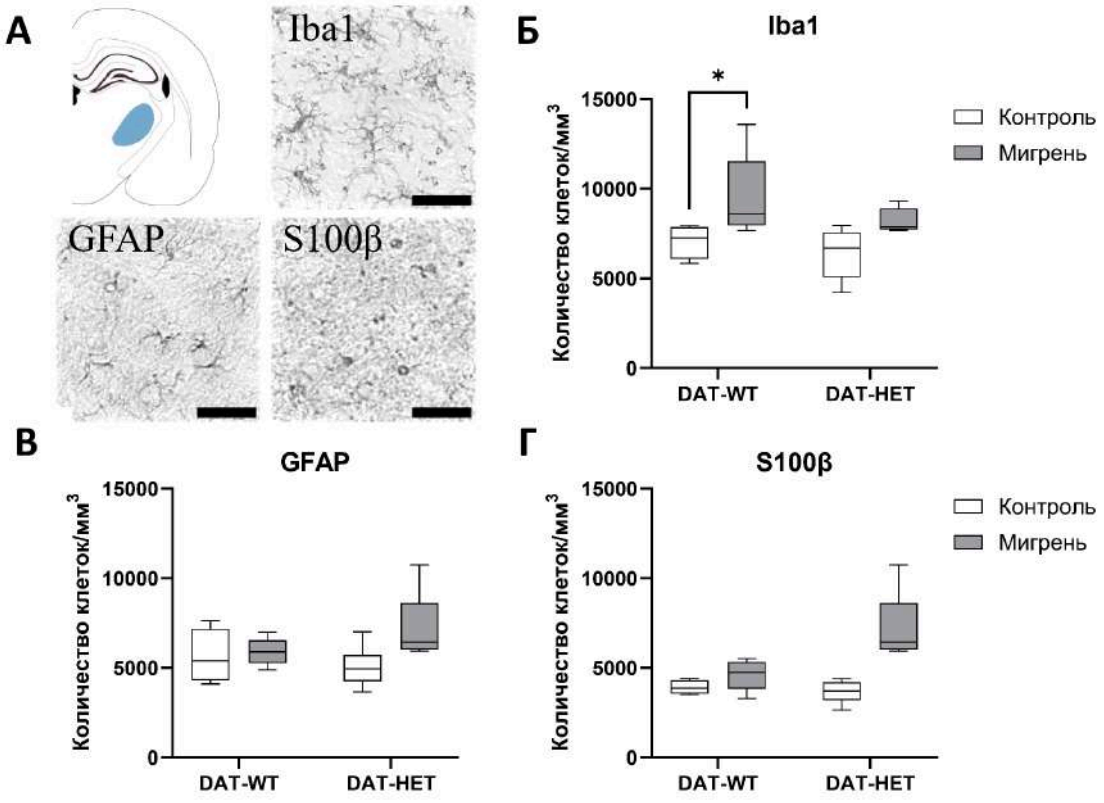


Рисунок 22 – Глиальные клетки в вентральных ядрах таламуса в модели хронической мигрени у крыс . А - в левом верхнем углу представлен рисунок мозга, синим цветом обозначены задние вентральные ядра таламуса, рядом представлены репрезентативные микрофотографии срезов мозга, шкала - 50 мкм. Б-Г - результаты анализа плотности клеток при помощи маркеров GFAP/S100β/Iba1 в контрольной группе и в модели хронической мигрени. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0.05$

В то же время сравнение контрольных животных разных генотипов не выявило значимых различий в плотности Iba1+ микроглии (DAT-HET: n = 8 в контроле, n = 5 в группе хронической мигрени) (Рисунок 22Б).

Несмотря на изменения в микроглиальном окружении, различий между значениями плотности GFAP+ и S100β+ астроцитов в контрольной и экспериментальной группе мигрени у DAT-WT и DAT-HET не было обнаружено (Рисунок 22В-Г). Статистически значимых различий в плотности GFAP+ и S100β+ астроцитов в контроле между DAT-WT и DAT-HET не обнаружено.

3.5 Исследование электрической активности мозга у крыс DAT-HET в модели острой мигрени с аурой

РКД является физиологическим коррелятом ауры мигрени, который представляет собой волну деполяризации, за которой следует длительный период восстановления спонтанной и вызванной нейрональной активности, во время которого происходит восстановление ионного гомеостаза и мембранного потенциала клеток [103]. Раствор KCl наносили на поверхность твердой мозговой оболочки, после чего фиксировали возникновение волны РКД. Порог генерации РКД определяли, как минимальную концентрацию KCl, аппликация которой вызывала волну деполяризации. Данный показатель отражает порог возбудимости кортикальной ткани, чем ниже концентрация KCl, необходимая для запуска РКД, тем выше чувствительность коры и, соответственно, ниже порог генерации РКД [270]. Минимальный порог генерации РКД варьировал 0.47±0.19 M KCl у DAT-WT (n = 11) и 0.56-0.24 M у DAT-HET крыс (n = 5), значимых различий между животными с разными генотипами не было обнаружено (Рисунок 23).

Были проанализированы амплитудно-временные характеристики первой волны РКД, зарегистрированной при определении порога ее генерации. Было показано, что у крыс DAT-HET (n = 8) латентность генерации волны РКД в ответ на аппликацию KCl длиннее по сравнению с показателями крыс DAT-WT (n = 11, $p<0.05$, Рисунок 23). Количество волн РКД в S1 коре не различалось у крыс с разным генотипом (DAT-WT - n = 11, DAT-HET - n = 8, $p>0.05$).

Для оценки возможной связи между обратным захватом дофамина и скоростью распространения волны РКД горизонтально по коре было зафиксировано время генерации первой волны РКД в S1 и V1 коре. Результаты не показали различий данного показателя между DAT-WT (n= 4) и DAT-HET крысами (n = 6, p>0.05).

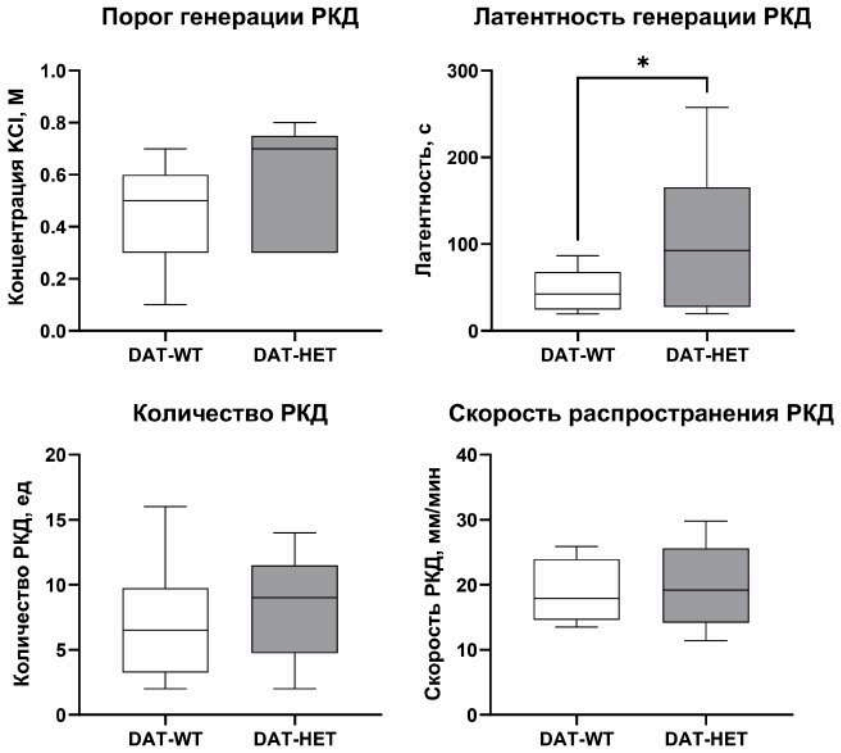


Рисунок 23. Анализ генерации первой волны распространяющейся корковой депрессии у крыс DAT-HET. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-p<0.05

Амплитуда первой волны РКД в S1 коре у DAT-WT (n = 12) оказалась выше, чем у DAT-HET крыс (n = 8, p<0.05). Скорость деполяризации, которая отражает максимальную крутизну волны РКД на фазе деполяризации, у животных DAT-HET оказалась ниже, чем у DAT-WT крыс (p<0.05). При этом другие показатели волны РКД не достигли статистически значимых различий между DAT-WT (n = 12) и DAT-HET (n = 8), в том числе: длительность (T, p>0.05), половина длительности (T(1/2), p>0.05), время нарастания волны (p>0.05) (Рисунок 24).

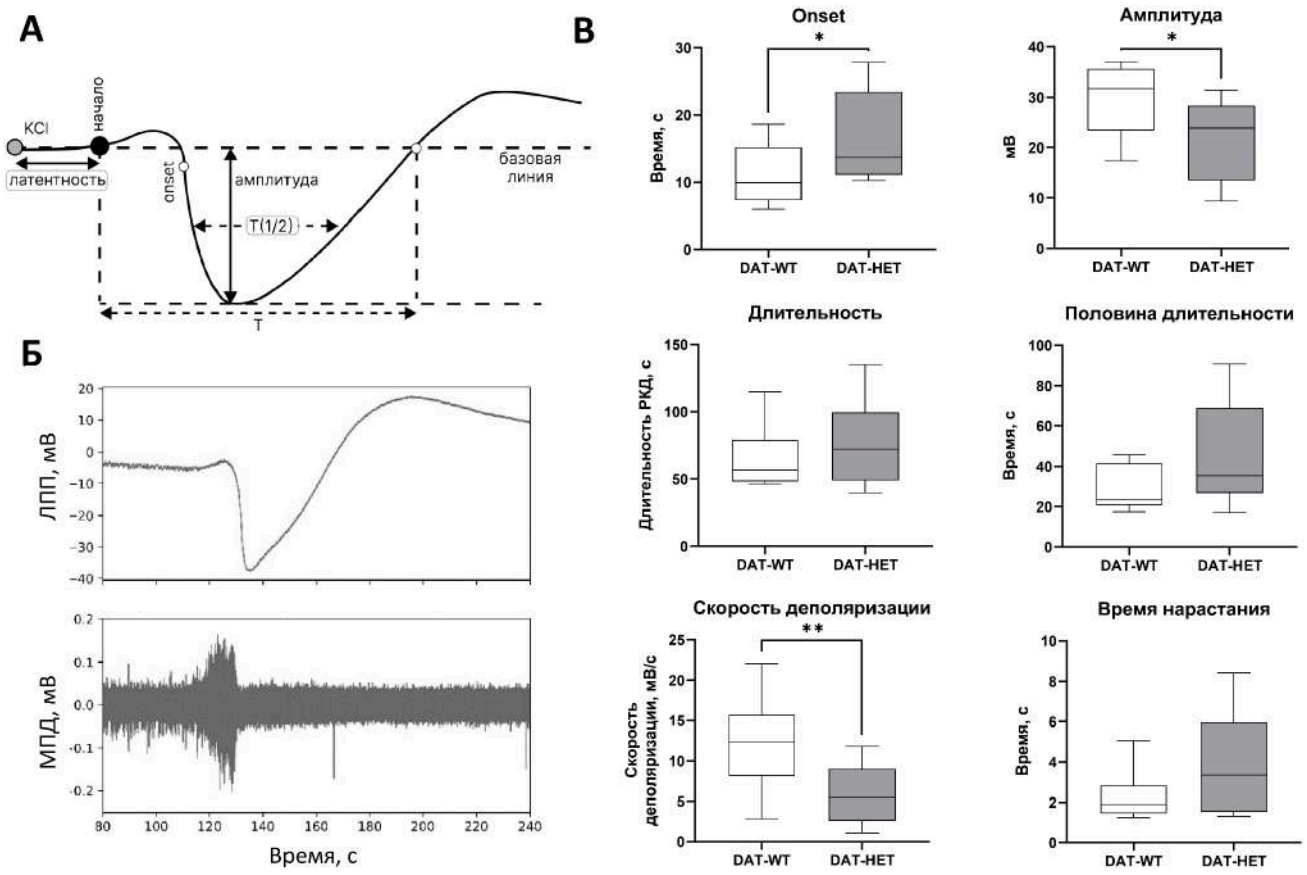


Рисунок 24 – Анализ амплитудно-временных характеристик первой волны распространяющейся корковой депрессии (РКД) у крыс DAT-WT/HET в S1 коре. А - схематическое изображение РКД и основных анализируемых параметров; Т - длительность, Т(1/2) - половина длительности. Б - пример записи волны РКД у DAT-WT, сверху запись локального полевого потенциала (ЛПП), снизу запись множественных потенциалов действия (МПД). В - сравнение амплитудно-временных характеристик РКД. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0.05$

Также была проанализирована первая волна РКД под вторым электродом, находящемся в V1 коре (Рисунок 25). Здесь также нет различий в длительности, onset, половине длительности, амплитуде и времени нарастания РКД между DAT-WT (n = 4) и DAT-HET крысами (n = 6, $p>0.05$). В отличие от РКД в S1 коре, скорость деполяризации в V1 коре не отличалась между крысами разного генотипа.

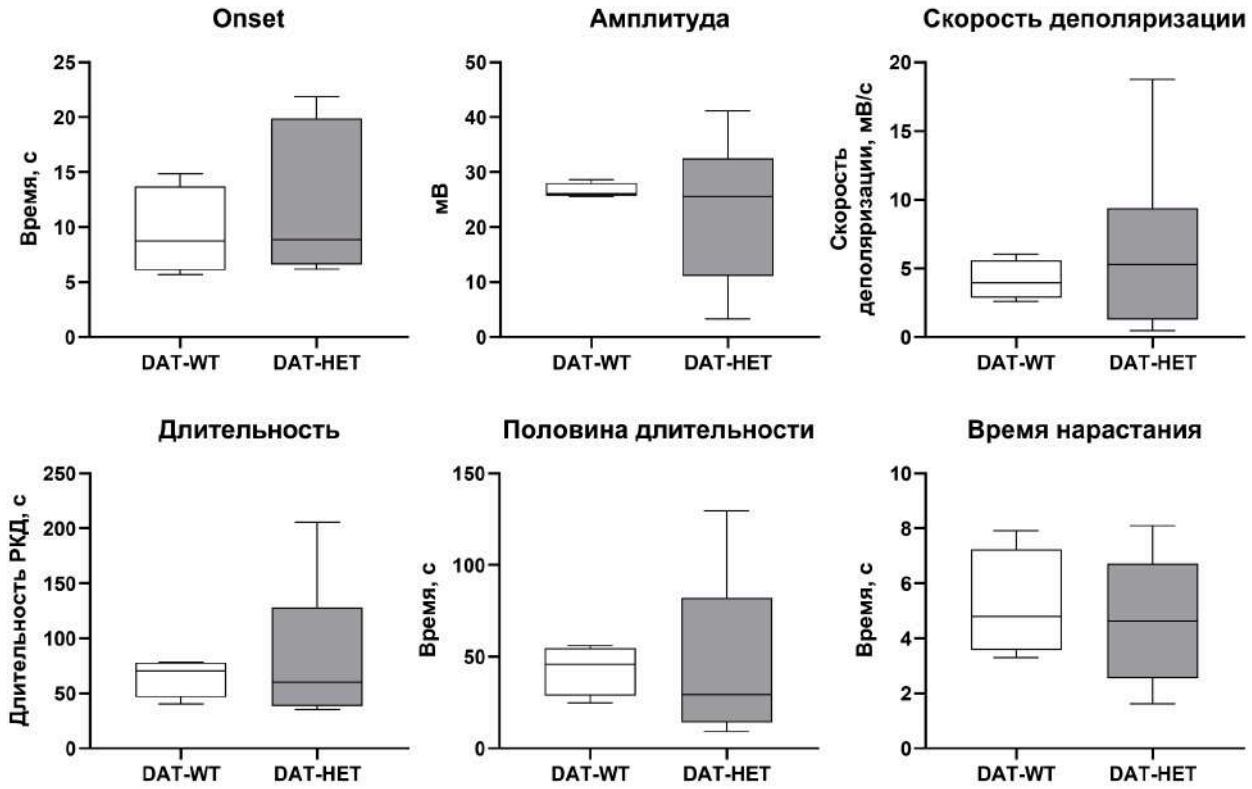


Рисунок 25 – Анализ амплитудно-временных характеристик первой волны распространяющейся корковой депрессии в V1 коре. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили

Таким образом, различий в амплитудно-временных характеристиках первой волны РКД, которая распространилась под электродом в V1 коре, у крыс DAT-WT и DAT-HET не обнаружено.

Для изучения МПД проводилась также запись активности S1 коры в режиме переменного тока. Фоновые показатели частоты МПД в 10 с были определены по контрольной записи до начала определения порогов РКД, которые сравнивались с количеством спайков в течение 10 с после начала волны. Частота МПД в конртольных записях не различалась у крыс DAT-WT и DAT-HET ($p>0.05$). Частота МПД в S1 коре значимо увеличилась после начала первой волны РКД у DAT-WT ($n = 11$, $p<0.001$) и DAT-HET животных ($n = 5$, $p<0.01$) по сравнению с активностью на контрольных записях. При этом статистически значимых различий между животными разного генотипа обнаружено не было ($p>0.05$).

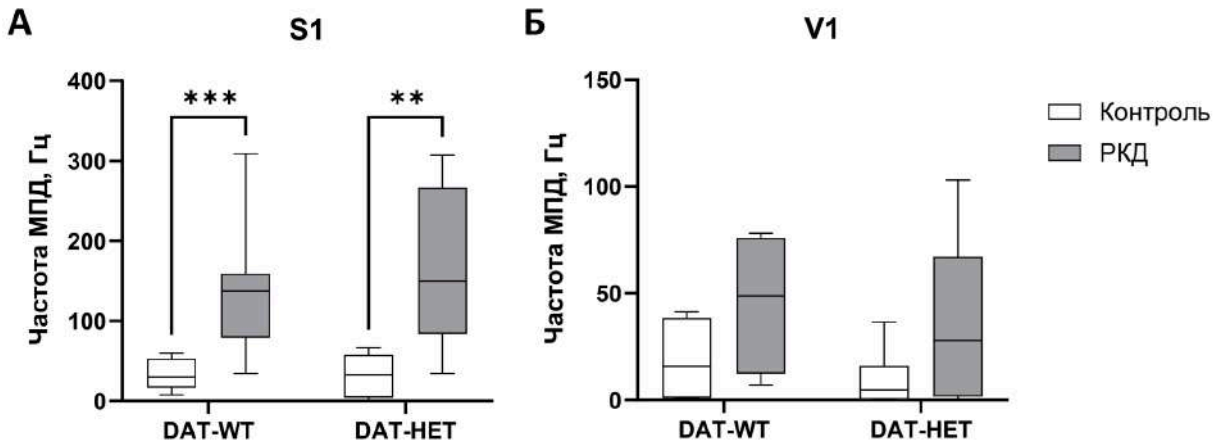


Рисунок 26 – Анализ множественных потенциалов действия (МПД) при первой волне распространяющейся корковой депрессии. Частота МПД во время распространяющейся корковой депрессии в S1 (А) и V1 (Б) коре в сравнении с контрольными записями. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. **-$p<0.01$, ***-$p<0.001$

Также был проведен анализ МПД во время первой волны РКД в V1 коре, который не показал статистического изменения частоты МПД при наступлении РКД у DAT-WT (n = 4) и DAT-HET крыс (n = 6, $p>0.05$) (Рисунок 26Б). Таким образом, различия в обратном захвате дофамина не повлияло на генерацию МПД во время РКД.

3.6 Активация тучных клеток в модели острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET

В модели острой мигрени с аурой после индукции 2х-часового РКД было показано, что на стороне аппликации KCl только у DAT-WT крыс (n = 9) происходит повышение ИД тучных клеток по сравнению с тучными клетками над интактным полушарием (Рисунок 27), это различие в первую очередь вызвано снижением доли не дегранулированных клеток (Рисунок 27В).

Напротив, у DAT-HET крыс нет значимых различий в активации тучных клеток, ИД не отличается между полушариями (n = 8, Рисунок 27Б). Это подтверждается сохранением соотношения клеток с разной степенью дегрануляции (Рисунок 27Г).

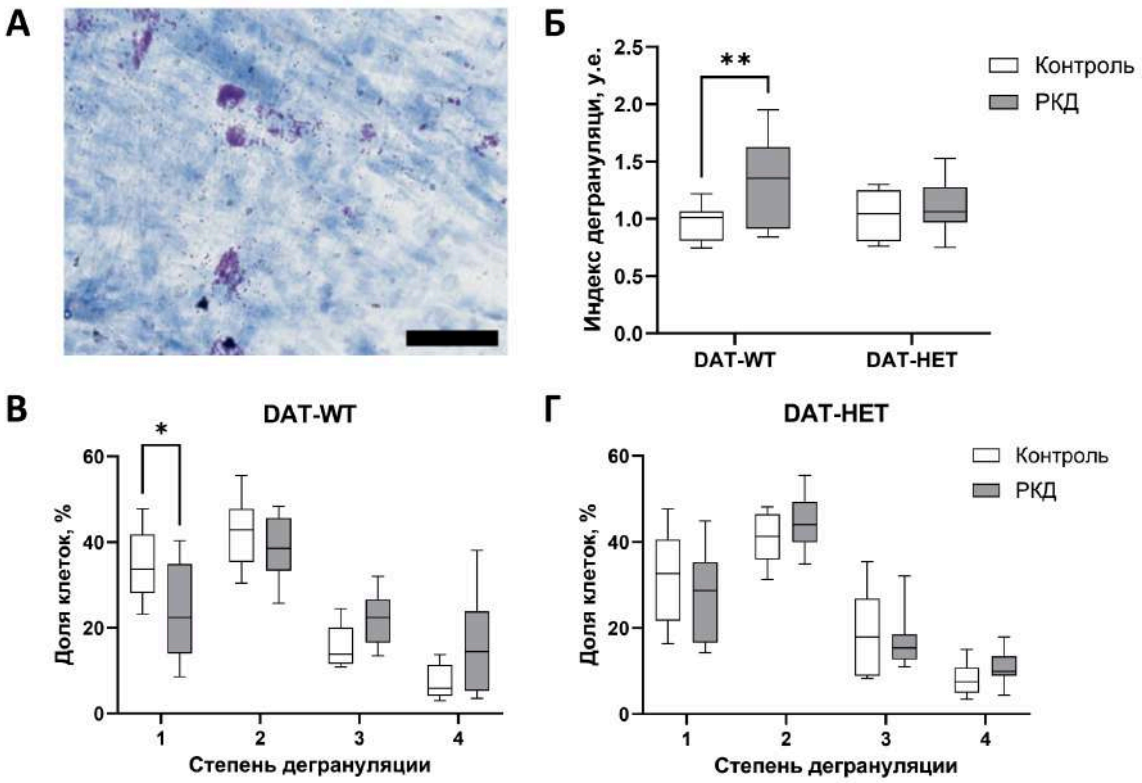


Рисунок 27 – Оценка активации тучных клеток в модели острой мигрени с аурой у DAT-WT/HET. А - микрофотография окрашенной твердой мозговой оболочки у DAT-WT после РКД, тучные клетки окрашены фиолетовым, шкала - 50 мкм; Б - индексы дегрануляции в полушарии с РКД по сравнению с контрольным полушарием; В-Г - доля клеток с разной степенью дегрануляции от недегранулированных (1) до полностью дегранулированных (4). Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. *-$p<0.05$, **-$p<0.01$

Таким образом, у DAT-HET животных не обнаружена повышенная активность при моделировании острой мигрени с аурой, что может быть связано с опосредованной дофаминергической модуляцией иммунной системы в твердой мозговой оболочке у крыс.

3.7 Глиальные клетки в модели мигрени с аурой в дорсальном гиппокампе у крыс DAT-HET

Также были рассмотрены изменения плотности глиальных клеток в модели мигрени с аурой. Несмотря на относительную непродолжительность воздействия раствора KCl, были показаны различия в плотности глиальных клеток в гиппокампе после РКД.

Окрашивание GFAP показало более низкую плотность окрашенных клеток в полушарии с РКД в зоне ML по сравнению с интактным полушарием у крыс DAT-WT (n = 6, p<0.01) (Рисунок 28). При этом в других зонах гиппокампа у DAT-WT изменений окрашивания GFAP не наблюдается (p>0.05). У DAT-HET изменений в распределении GFAP+ клеток не обнаружено (p>0.05, n = 5).

Ни у DAT-WT, ни у DAT-HET крыс не обнаружено различий в плотности S100β+ клеток во всех исследуемых слоях гиппокампа (p>0.05, Рисунок 29), что предполагает недостаточную продолжительность патологического воздействия для изменений астроцитов в гиппокампе.

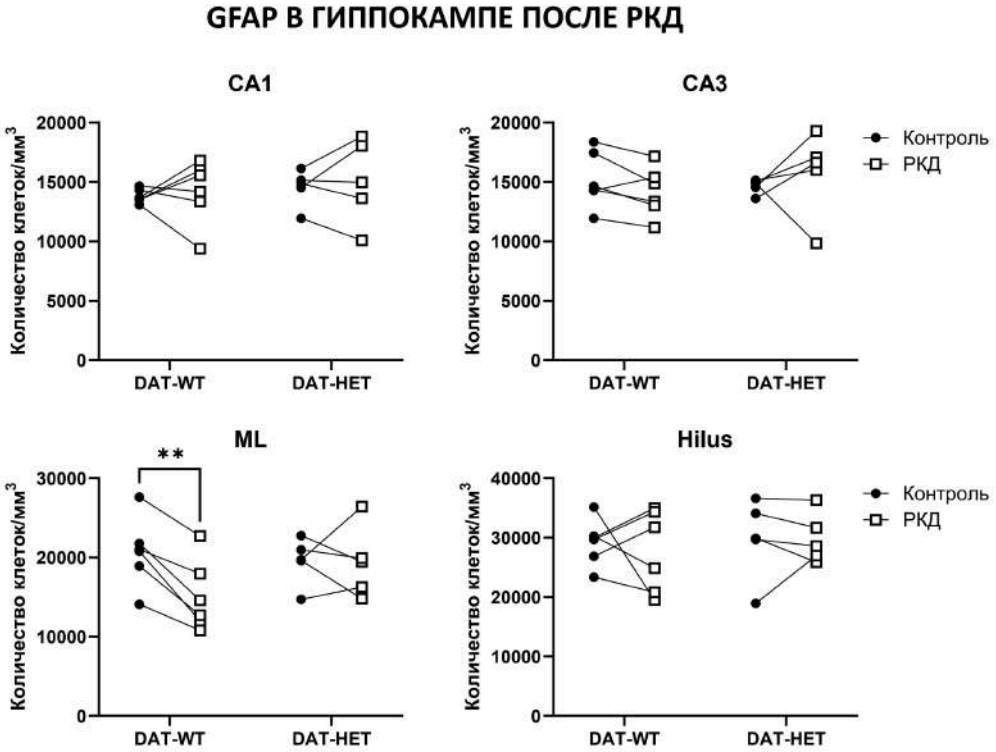


Рисунок 28 – Плотность GFAP+ клеток в дорсальном гиппокампе в модели острой мигрени с аурой. Представлены значения плотности GFAP-окрашенных клеток в интактном (контрольном) и полушарии с РКД. Линиями соединены значения плотности между полушариями у одного животного. **-p<0.01

Окрашивание с помощью антител к Iba1 не показало статистических различий в распределении микроглии у DAT-WT между полушариями в гиппокампе (Рисунок 30). У DAT-HET также не обнаружено различий в

распределении плотности Iba1+ клеток, кроме зоны hilus, в которой плотность микроглии оказалась более высокой в полушарии с РКД (p<0.01, Рисунок 30).

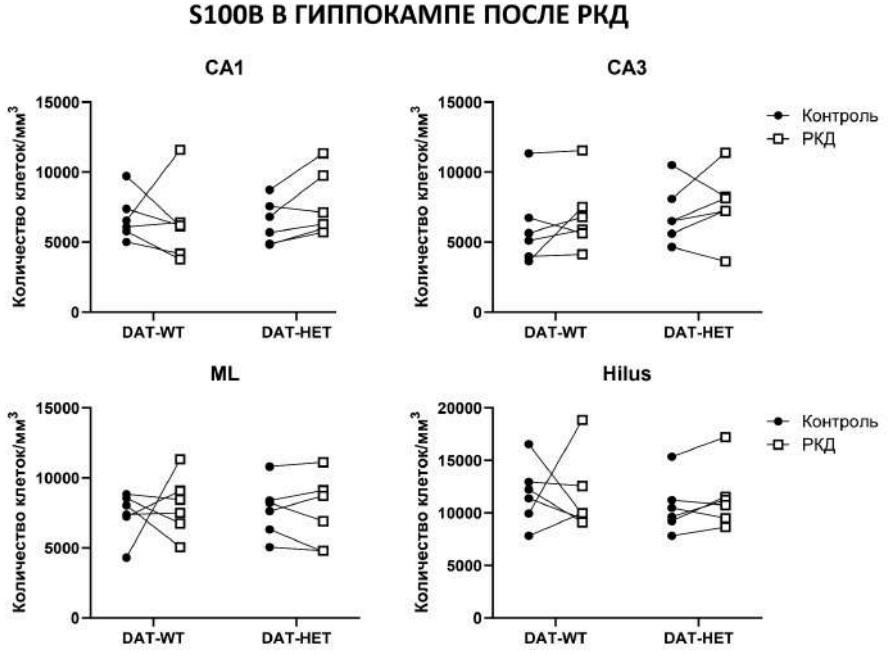


Рисунок 29 – Плотность S100β+ клеток в дорсальном гиппокампе в модели острой мигрени с аурой. Представлены значения плотности S100β-окрашенных клеток в интактном (контрольном) и полушарии с РКД. Линиями соединены значения плотности между полушариями у одного животного. **-p<0.01

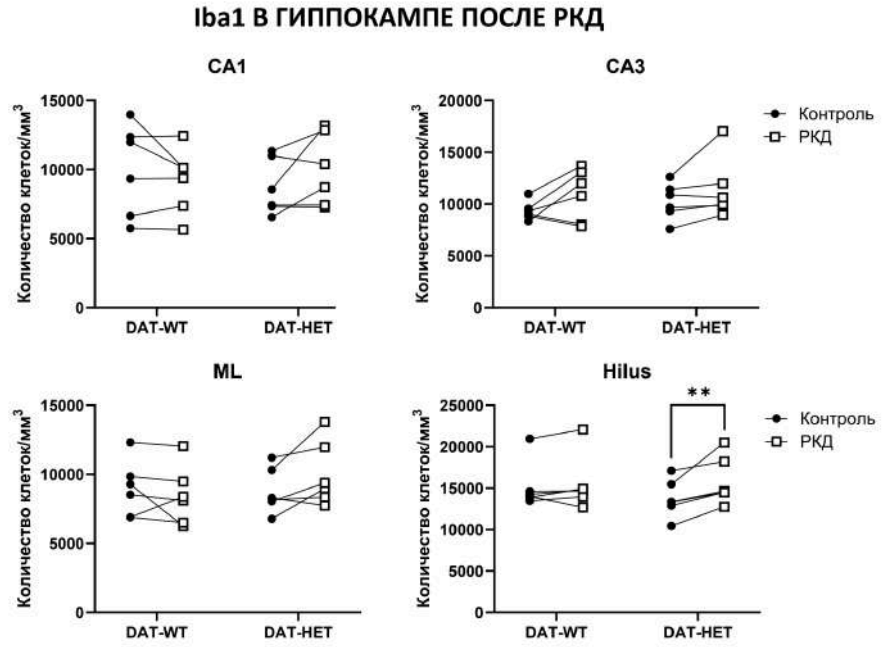


Рисунок 30 – Плотность Iba1+ клеток в дорсальном гиппокампе в модели острой мигрени с аурой. Представлены значения плотности Iba1-окрашенных клеток в интактном (контрольном) и полушарии с РКД. Линиями соединены значения плотности между полушариями у одного животного. **-p<0.01

Таким образом, после 2х часов РКД глиальные ответы могут быть обнаружены с использованием выбранных глиальных маркеров только в зубчатой извилине дорсального гиппокампа.

3.8 Глиальные клетки в вентральных ядрах таламуса в модели острой мигрени с аурой у крыс DAT-HET

Анализ глиальных клеток в вентральных ядрах таламуса после РКД не показал развитие воспаления. Плотность микроглиальных Iba1+ клеток достоверно не различалась между двумя полушариями как у DAT-WT, так и у DAT-HET крыс (Рисунок 31Б).

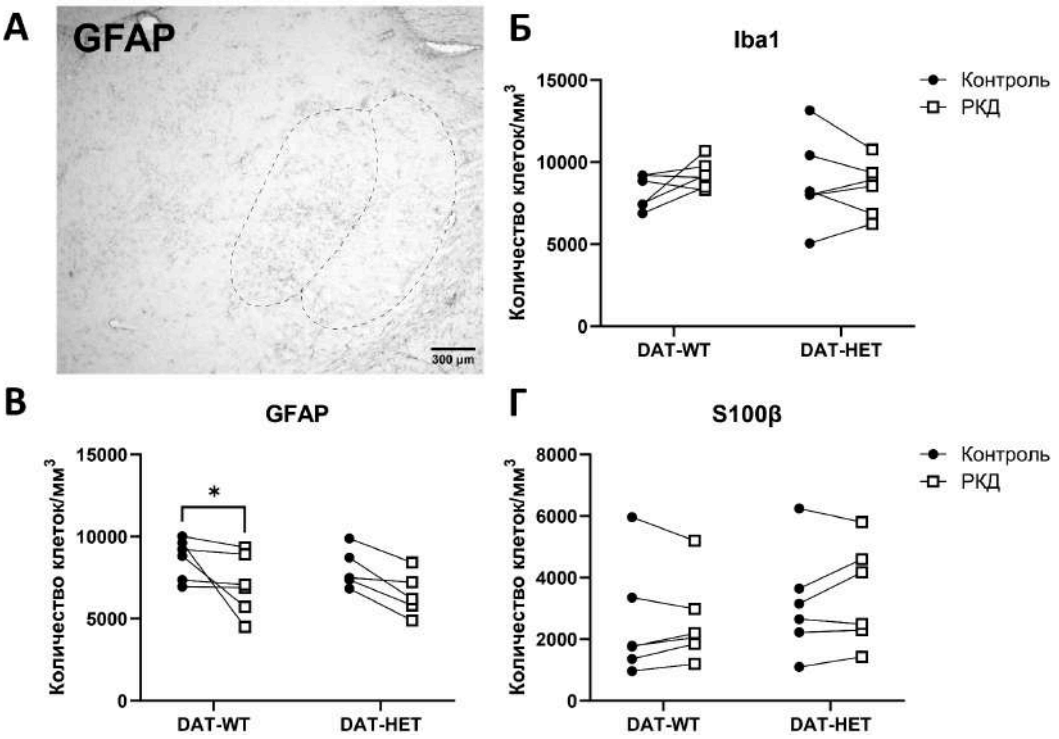


Рисунок 31 – Анализ глиальных клеток в вентральных ядрах таламуса после индукции РКД. А - микрофотография среза мозга DAT-WT на интактном полушарии, окрашенного GFAP, пунктирной линией выделены задние вентральные ядра таламуса (VPM и VPL). Б-Г - результаты анализа плотности клеток при помощи маркеров GFAP/S100β/Iba1 в полушарии с РКД по сравнению с интактным (контрольным) полушарием животного. * - $p<0.05$

Окрашивание астроцитов при помощи GFAP показало снижение плотности клеток в полушарии с РКД у крыс DAT-WT, у DAT-HET достоверных различий не

обнаружено. У крыс DAT-WT и DAT-HET различий плотности астроцитов, окрашенных на S100β между полушарием с РКД и контрольным полушарием не обнаружено (Рисунок 31Г).

Таким образом, иммуногистохимический анализ вентральных ядер таламуса после односторонней индукции РКД не показал различий в распределении астроцитов и микроглии у DAT-HET, а у DAT-WT крыс показано сравнительно меньшее число GFAP+ астроцитов в полушарии с РКД по сравнению с контрольным. Несмотря на то, что воздействие раствора KCl было однократным в течение 2х часов, уменьшение количества астроцитов может быть свидетельством гибели глиальных клеток таламуса вследствие 2х-часового РКД.

3.9 Анализ экспрессии транскрипционной активности маркеров активации и воспаления глии у DAT-HET в модели острой мигрени с аурой

После индукции РКД образцы головного мозга забирались на молекулярно-генетические исследования. С помощью ПЦР в реальном времени определяли относительный уровень экспрессии генов, ассоциированных с клеточной активацией и инициацией про- и противовоспалительных каскадов. Данный анализ позволил дополнить гистологические данные оценкой транскрипционной активности на ранних этапах нейровоспалительного ответа и выявить потенциальные молекулярные механизмы, лежащие в основе генотип-зависимых различий в модели мигрени с аурой. Как и в случае гистологического анализа, в качестве контроля использовались материалы с интактного полушария.

В S1 коре экспрессия цитокина *Tgfb1* не различается между контрольными полушариями у DAT-WT и DAT-HET животных (Рисунок 32). В полушарии с РКД по сравнению с контролем относительная экспрессия мРНК гена *Tgfb1* не изменилась.

Оценка экспрессии рецептора *P2rx7* в S1 коре не показала различий между полушариями у DAT-WT крыс. Однако, у DAT-HET крыс в полушарии с РКД экспрессия данного маркера значительно увеличивается относительно контрольного полушария и относительно экспрессии в полушарии с РКД у

DAT-WT крыс. Данный рецептор представлен на различных клетках ЦНС, но в основном экспрессируется в микроглии [281], повышение его экспрессии связано со многими патологиями [282]. P2rx7 - пуринергический рецептор, который активируется внеклеточным АТФ, который активно высвобождается при РКД [256], однако, его экспрессия повысилась только у DAT-HET крыс после РКД.

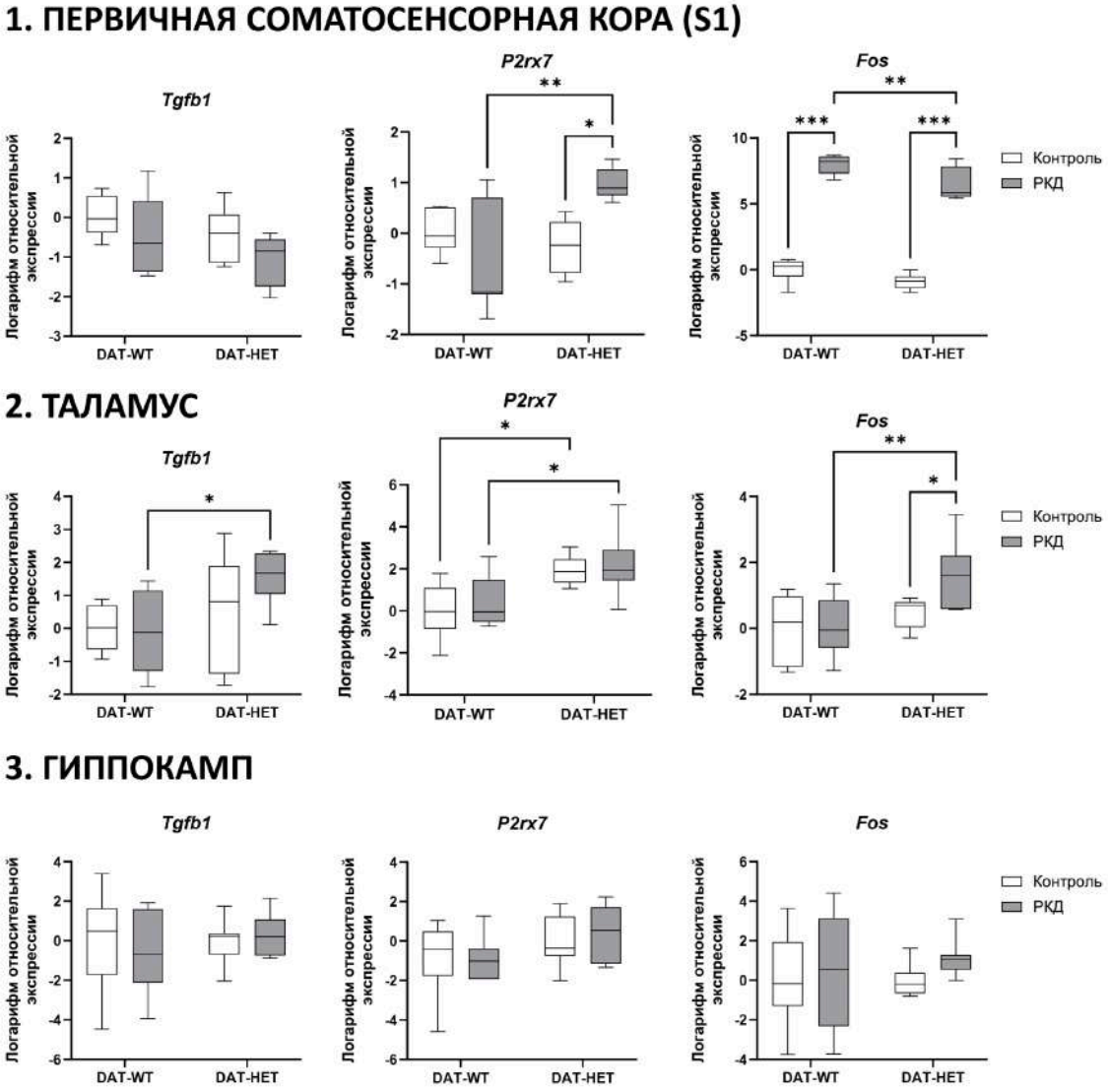


Рисунок 32 – Оценка уровня экспрессии генов после индукции РКД. Анализировали области S1 коры, таламуса, дорсального гиппокампа в интактном (контрольном) полушарии и полушарии с РКД. Данные представлены как медиана и 25-75% квартили. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

Односторонняя аппликация KCl на кору вызывает ипсилатеральную РКД, которая не переходит на другое полушарие. В данной работе это подтверждается

маркером *Fos*, который показал значительное повышение экспрессии в полушарии с РКД по сравнению с контралатеральным полушарием как у DAT-WT, так и у DAT-HET крыс в S1 коре. Важно отметить, что несмотря на высокий уровень экспрессии *Fos* в S1 коре в полушарии с РКД, у DAT-HET крыс экспрессия *Fos* после РКД ниже, чем у DAT-WT ($p<0.01$, Рисунок 32.1).

В таламусе экспрессия *Tgfb1* у DAT-WT и DAT-HET животных также не отличается между полушариями при односторонней РКД. Однако, сравнение экспрессии в полушариях с РКД показало относительно повышенные значения у DAT-HET крыс по сравнению с DAT-WT, что означает более высокую активность противовоспалительных путей ($p<0.05$, Рисунок 32.2).

Анализ экспрессии *P2rx7* в таламусе не показал различий между контрольным и полушарием с РКД у DAT-WT и DAT-HET крыс, хотя значения экспрессии у DAT-HET выше, чем в аналогичных группах у DAT-WT ($p<0.05$, Рисунок 32.2).

Исследования показывают, что РКД может распространяться на подкорковые структуры, в том числе в ядра таламуса [122,283]. Оценка экспрессии *Fos* в таламусе показала повышение у крыс DAT-HET в полушарии с РКД относительно контралатерального таламуса ($p<0.05$), но не у крыс DAT-WT. Это предполагает участие дофаминергической иннервации в активации ядер таламуса при РКД (Рисунок 32.2).

Аналогичные маркеры были проанализированы в дорсальном гиппокампе. Транскрипционная активность генов *Tgfb1, P2rx7* и *Fos* не показала каких-либо изменений в полушарии с РКД по сравнению с контрольным полушарием у крыс DAT-WT и DAT-HET. Различий между животными с разным уровнем транспортера дофамина не обнаружено (Рисунок 32.3). Это может свидетельствовать о том, что потенциальные клеточные изменения глиальных клеток в гиппокампе, которые выявленные при гистологическом анализе, могут быть следствием изменений в альтернативных молекулярных путях.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Большое количество экспериментальных и клинических данных свидетельствуют о значимой роли дофаминергической системы в патогенезе мигрени. Дофамин, помимо известных ролей в регуляции движения, эмоциональном поведении, может модулировать ноцицептивную передачу тригеминальной системы и сосудистый тонус [45]. У пациентов с мигренью отмечается повышенная чувствительность дофаминовых рецепторов, что может объяснять развитие продромальных симптомов (зевота, сонливость, изменения настроения, тошнота) задолго до возникновения головной боли [14]. Предполагается, что активация D2-подобных рецепторов способствует усилению тригеминальной ноцицепции и изменению обработки болевых стимулов на уровне ствола головного мозга, гипоталамуса и таламических структур. Кроме того, взаимодействие дофаминергической системы с серотонинергическими и глутаматергическими нейронными сетями может определять снижение порога возникновения мигренозного приступа и способствовать центральной сенситизации [13,45].

Несмотря на значительное количество исследований, роль дофаминергической системы в патогенезе мигрени остается предметом дискуссии. То, что некоторые симптомы мигрени, предшествующие головной боли, купируются антагонистами D2-рецепторов (метоклопрамид, дроперидол) может указывать на негативную роль в патофизиологии мигрени [284,285]. В то же время активация D2-рецепторов в околоводопроводном сером веществе может усиливать активность нисходящих антиноцицептивных путей и подавлять передачу ноцицептивной информации в тригеминоцервикальном комплексе и задних рогах спинного мозга [286]. Предполагается, что противоречивые результаты различных исследований обусловлены различиями в подтипах активируемых дофаминовых рецепторов (D1- и D2-подобные), региональной специфичностью их экспрессии, концентрацией дофамина и стадией мигренозного приступа.

В данной работе мы исследовали, как повышенный внеклеточный уровень дофамина у гетерозиготных по нокауту гена DAT крыс (DAT-HET) влияет на выраженность поведенческих, электрофизиологических, воспалительных ответов в модели хронической мигрени без ауры и острой мигрени с аурой по сравнению с однопометными животными дикого типа без нокаута (DAT-WT).

Выбор генетической модели крыс DAT-HET для изучения патофизиологии мигрени обусловлен рядом методологических и трансляционных преимуществ. Гетерозиготы по нокауту гена DAT показывают устойчивое повышение внеклеточного уровня дофамина в синаптической щели, тогда как общий синтез нейромедиатора остаётся неизменным [231]. Подобный фенотип позволяет исследовать роль эндогенного дофамина в условиях, максимально приближенных к нормальной физиологической, избегая артефактов, характерных для фармакологической модуляции (кратковременность действия, системные побочные эффекты, быстрая десенситизация рецепторов). Сохранность базального синтеза дофамина свидетельствует об адекватной работе компенсаторных механизмов, что делает данную модель более релевантной для изучения межпопуляционных вариаций дофаминовой передачи, ассоциированных с индивидуальной предрасположенностью к мигрени.

В настоящем исследовании использовались две принципиально различные экспериментальные модели мигрени, отражающие разные аспекты патогенеза заболевания. Для моделирования хронической мигрени без ауры использовалась модель 5-ти кратного введения НТГ, которая в настоящее время является одной из наиболее распространенных и хорошо валидированных экспериментальных моделей данного заболевания [287,288]. Известно, что НТГ, являясь донором оксида азота, вызывает активацию тригеминоваскулярной системы, повышение экспрессии Fos и CGRP в тригеминальном ганглии и тригеминоцервикальном комплексе, а также формирование периферической и центральной сенситизации, что соответствует основным звеньям патогенеза мигрени [14,287,289].

Напротив, модель мигрени с аурой, основанная на индукции РКД локальной аппликацией KCl, воспроизводит прежде всего центральный механизм развития

приступа. РКД представляет собой электрофизиологический феномен, сопровождающийся последовательной деполяризацией нейронов и глиальных клеток коры, массовым высвобождением глутамата, ионов калия и АТФ, а также последующей активацией тригеминоваскулярной системы через менингеальные афференты [290,291]. Таким образом, несмотря на то что обе модели в конечном итоге приводят к вовлечению тригеминоваскулярной системы, первичный триггер патологического процесса в них различен: при хроническом введении НТГ активация начинается преимущественно на периферическом уровне, тогда как при РКД исходным событием является нарушение корковой нейрональной активности.

4.1 Нейровоспаление в модели хронической мигрени у крыс линии Wistar

До проведения экспериментов на животных с измененной работой транспортера дофамина протокол хронической НТГ-индуцированной мигрени был апробирован на крысах линии Wistar. Для этого была введена группа животных, получавших уколы НТГ, и группа, получавшая уколы NaCl. Выявленное снижение порогов механической чувствительности после 5 уколов НТГ при отсутствии аналогичной динамики в контрольной группе с введением NaCl подтверждает специфичность сформированного фенотипа с повышенной сенсорной чувствительностью. Полученные результаты соответствуют данным литературы, согласно которым повторное введение НТГ у грызунов приводит к формированию устойчивой гиперчувствительности и других мигренеподобных проявлений [288,292].

Таким образом, полученные на крысах линии Wistar результаты подтверждают воспроизводимость выбранного протокола моделирования мигрени и позволяют использовать его для последующего изучения роли дофаминергической системы в развитии мигрени. Дополнительным подтверждением вовлечения центральных механизмов в мигренеподобное состояние стали результаты иммуногистохимического анализа дорсального гиппокампа. После хронического введения НТГ увеличение плотности S100β+ окрашенных клеток было обнаружено в области hilus зубчатой извилины, тогда

как в остальных областях гиппокампа изменений не наблюдалось. S100β является кальций-связывающим белком, преимущественно экспрессируемым астроцитами, повышение уровня S100β связывают с реактивными и провоспалительными изменениями астроцитарного микроокружения [253,293]. Региональная специфичность выявленного ответа может указывать на повышенную чувствительность отдельных субрегионов гиппокампа к длительной НТГ-индуцированной ноцицептивной стимуляции. Стоит отметить, что последующие эксперименты на DAT-WT и DAT-HET также продемонстрировали наиболее выраженные изменения астроцитарных маркеров именно в различных областях зубчатой извилины, что дополнительно подтверждает вовлечение данной структуры в нейроглиальную перестройку при хроническом мигренеподобном состоянии.

4.2 Поведенческие изменения в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET

Повторное введение НТГ сопровождается развитием стойкой механической и термической аллодинии, которая рассматривается как один из основных симптомов хронической мигрени у человека [91,288]. Так и в исследовании на крысах линии DAT-HET было показано стойкое снижение порогов механической чувствительности в тесте «Нити фон Фрея» (Рисунок 12). Также снизились и пороги терморецепции, как у DAT-WT, так и у DAT-HET в ходе моделирования хронической мигрени (Рисунок 13), что также свидетельствует о развитии аллодинии. Статистической разницы чувствительности между показателями у крыс с разным генотипом не обнаружено, это предполагает, что повышенный внеклеточный уровень дофамина не оказывает существенного модулирующего влияния на поведенческие проявления периферической сенситизации в модели хронической мигрени, индуцированной введением донора NO.

Мигрень представляет собой заболевание с высокой частотой психиатрической коморбидности. Многочисленные клинические исследования показали, что риск развития депрессивных и тревожных расстройств у пациентов с мигренью в 2-4 раза выше, чем в общей популяции, причем между этими

состояниями существует двунаправленная связь: наличие тревоги или депрессии повышает вероятность хронизации мигрени, а увеличение частоты приступов, в свою очередь, способствует развитию аффективных нарушений [294]. Предполагается, что данная коморбидность обусловлена общими патогенетическими механизмами, включающими дисфункцию серотонинергической и дофаминергической нейротрансмиссии [295].

В настоящем исследовании повторное введение НТГ не сопровождалось статистически значимыми изменениями показателей тревожно-подобного поведения в тестах «Открытое поле» и «темно-светлая камера» (Рисунок 14, 15). Следует отметить, что в других экспериментальных исследованиях при использовании сходных протоколов введения НТГ выраженные изменения тревожности/фотофобии были менее воспроизводимыми по сравнению с нарушениями болевой чувствительности [288]. Вместе с тем в нашей работе наблюдалось достоверное снижение порогов механической и температурной чувствительности, свидетельствующее о формировании механической и термической аллодинии. Данный феномен считается одним из наиболее характерных проявлений центральной сенситизации при хронической мигрени и отражает повышение возбудимости нейронов тригеминоцервикального комплекса и других структур центральной нервной системы, участвующих в обработке ноцицептивной информации [296]. Полученные результаты подтверждают, что использованная модель воспроизводит основные сенсорные нарушения, характерные для хронической мигрени, даже при отсутствии выраженных изменений тревожно-подобного поведения.

Выявленные различия между результатами, полученными в исследовании на животных линии DAT-HET и на крысах Wistar могут быть связаны с особенностями генетического фона и физиологии используемых животных. Известно, что различные лабораторные линии крыс могут существенно различаться по исходным поведенческим характеристикам, нейрохимическим показателям, экспрессии рецепторов и других молекулярных компонентов, а также по характеру ответа на фармакологические и патологические воздействия

[297–299]. Следовательно, даже при использовании идентичного экспериментального протокола результаты, полученные на разных генетических линиях, не всегда могут быть непосредственно сопоставлены. В частности, различия в глиальном ответе, выявленные между Wistar и животными линии DAT-HET, могут быть обусловлены не только изменение дофаминергической передачи, но и особенности генетического фона, сформировавшегося в процессе выведения соответствующей линии.

В связи с этим в настоящей работе для оценки вклада измененной функции дофаминового транспортера в патофизиологические изменения в модели хронической мигрени использовали DAT-WT в качестве основного контрольного генотипа для DAT-HET. Животные обоих генотипов происходили из одних пометов и содержались в сопоставимых условиях, что позволяет минимизировать влияние межлинейных различий и факторов содержания. При этом линия DAT-KO была получена на основе крыс Wistar-Han [231], однако DAT-WT не следует рассматривать как экспериментальный эквивалент аутбредным Wistar, использованным при предварительной апробации модели. Поэтому результаты, полученные на Wistar и DAT-WT, следует интерпретировать прежде всего, как подтверждение воспроизводимости основных эффектов НТГ в разных экспериментальных системах, а не как основание для прямого количественного сравнения отдельных показателей. Такой дизайн позволяет более корректно оценить вклад дофаминового транспортера в формирование глиальных и нейровоспалительных изменений в модели хронической мигрени.

4.3 Тучные клетки в модели мигрени с аурой и без ауры у крыс DAT-HET

Тучные клетки твердой мозговой оболочки рассматриваются как один из ключевых компонентов воспалительного и вазоактивного ответа при мигрени. Дегрануляция тучных клеток сопровождается высвобождением гистамина, серотонина, простагландинов, цитокинов и других провоспалительных медиаторов, способных активировать и сенситизировать тригеминальные ноцицепторы [95]. Кроме того, установлено, что медиаторы, высвобождаемые

окончаниями тройничного нерва, включая CGRP и субстанцию P, способны индуцировать дегрануляцию тучных клеток, формируя положительную обратную связь между иммунными клетками твердой мозговой оболочки и тригеминоваскулярной системой [94].

Полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с существующими представлениями о роли тучных клеток в патогенезе мигрени. Повторное введение НТГ сопровождалось увеличением степени дегрануляции тучных клеток твердой мозговой оболочки как у крыс DAT-WT, так и у животных DAT-HET. Аналогичные изменения неоднократно описаны в экспериментальных моделях хронической мигрени и рассматриваются как морфологическое проявление активации менингеального воспаления, индуцированного повторной активацией тригеминоваскулярной системы [300,301]. Таким образом, полученные нами данные подтверждают, что модель хронической мигрени, индуцированной НТГ, воспроизводит один из периферических механизмов мигренозной боли - активацию тучных клеток твердой мозговой оболочки.

Вместе с тем в модели мигрени с аурой, индуцированной РКД, были выявлены отличия между генотипами. После индукции РКД увеличение степени дегрануляции тучных клеток над полушарием с РКД наблюдалось только у животных DAT-WT, тогда как у крыс DAT-HET аналогичные изменения отсутствовали. Известно, что РКД является электрофизиологическим субстратом мигренозной ауры и способна вызывать асептическое воспаление мозговых оболочек, активацию тригеминальных афферентов и дегрануляцию менингеальных тучных клеток [115,302]. Однако отсутствие выраженной дегрануляции у животных DAT-HET может свидетельствовать о том, что повышение дофамина во внеклеточном пространстве за счет снижения экспрессии транспортера DAT может влиять на взаимодействие тригеминальных афферентов и тучных клеток при РКД. Дофамин играет двойственную роль в регуляции функции тучных клеток и способен как вызывать их активацию, так и блокировать выброс гранул [303–305]. Исследование тригеминальных афферентов в менингеальных оболочках показало проноцицептивное действие дофамина, как у

DAT-WT, так и у DAT-HET [306]. Можно предположить, что эндогенно повышенный внеклеточный уровень дофамина у DAT-HET может смещать баланс в сторону противовоспалительной модуляции, ограничивая нейрогенное воспаление на периферии даже при наличии центрального триггера в виде РКД.

4.4 Нейровоспаление в модели хронической мигрени у крыс DAT-HET

В последние годы накоплено большое количество данных, свидетельствующих о структурных и функциональных изменениях гиппокампа у пациентов с хронической мигренью, включая нарушения нейропластичности, развитие нейровоспаления и изменение активности глиальных клеток [183,307]. Особое внимание уделяется зубчатой извилине гиппокампа, поскольку именно эта область сохраняет способность к нейрогенезу во взрослом возрасте и отличается высокой чувствительностью к воспалительным процессам и повторной активации ноцицептивных путей [308].

В настоящем исследовании хроническое введение НТГ сопровождалось увеличением плотности GFAP+ астроцитов в молекулярном слое зубчатой извилины у животных DAT-WT, тогда как у крыс DAT-HET подобных изменений выявлено не было. Полученные результаты согласуются с опубликованными данными, свидетельствующими об увеличении GFAP+ клеток и активации астроцитов в дорсальном гиппокампе животных в модели хронической мигрени [307]. Отсутствие аналогичных изменений у животных DAT-HET может свидетельствовать о том, что повышение внеклеточного уровня дофамина вследствие снижения экспрессии транспортера DAT ограничивает развитие реактивного астроглиоза в наиболее чувствительных отделах гиппокампа.

Следует отметить, что результаты иммуногистохимического окрашивания S100β лишь частично совпадали с данными GFAP. В отличие от GFAP, отражающего преимущественно реактивные изменения цитоскелета астроцитов, белок S100β экспрессируется более широкими популяциями зрелых астроцитов и участвует в регуляции внутриклеточного кальциевого гомеостаза, нейрональной пластичности и процессов нейровоспаления [309]. В настоящем исследовании увеличение плотности S100β+ клеток наблюдалось в областях CA1 и CA3 у

животных обоих генотипов, что позволяет предположить развитие общей астроцитарной активации в гиппокампе независимо от генотипа. Вместе с тем в зубчатой извилине изменения носили генотип-специфический характер: у животных DAT-HET увеличение плотности S100β+ клеток выявлено преимущественно в молекулярном слое, тогда как у DAT-WT в области hilus. Подобные изменения могут отражать различную чувствительность отдельных субрегионов гиппокампа к изменениям дофаминергической нейротрансмиссии.

Микроглиальные клетки являются основными иммунными клетками в нервной системе и регулируют процессы нейровоспаления, активации астроцитов, синаптический прунинг [310,311]. Изменения микроглии носили преимущественно морфологический характер. Несмотря на отсутствие различий в плотности Iba1+ клеток, морфометрический анализ выявил увеличение площади микроглиальных клеток в области CA3 и повышение их компактности в зубчатой извилине у животных DAT-HET. Анализ морфологических характеристик при таких условиях может быть более показателен, поскольку активация микроглии сопровождается прежде всего ремоделированием клеточного тела и отростков [238]. Увеличение компактности клеток может свидетельствовать о переходе микроглии к более активированному фенотипу, характеризующемуся укорочением и утолщением отростков, что описано при различных моделях нейровоспаления и хронической боли [312]. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что изменение дофаминергической передачи вследствие снижения экспрессии DAT не предотвращает развитие глиальной активации, а скорее изменяет ее паттерн в гиппокампе: провоспалительная активация зависит от региона, тогда как изменения микроглии проявляются преимущественно на уровне клеточной морфологии.

Астроциты являются не только участниками метаболизма дофамина, но и мишенями дофаминергической системы: связывание нейромедиатора с их мембранными рецепторами индуцирует повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [313]. Параллельно дофамин осуществляет прямую модуляцию микроглии, экспрессирующей специфические дофаминовые рецепторы.

Активация данных рецепторов регулирует ключевые аспекты поведения микроглиальных клеток, включая хемотаксис, адгезивные свойства и запуск внутриклеточных провоспалительных каскадов [314,315]. Таким образом, дофаминергическая передача выступает важнейшим межклеточным регулятором, координирующим реактивность обоих основных типов глии в ответ на нейровоспалительные стимулы.

Выявленный нейровоспалительный ответ в дорсальном гиппокампе в модели хронической мигрени может являться одним из патофизиологических механизмов, лежащих в основе когнитивных дефицитов и нарушений обработки сенсорных сигналов, характерных для пациентов с мигренью. Региональная вариабельность активации астроцитов в субполях зубчатой извилины, вероятно, обусловлена особенностями их афферентной иннервации. Несмотря на то что дофаминергические проекции наиболее плотно иннервируют CA1 и в меньшеей степени зубчатую извилину, локальные различия в активации глиальных клеток молекулярного слоя и hilus, по-видимому, опосредованы не столько анатомической плотностью нервных окончаний, сколько топографией экспрессии дофаминовых рецепторов [190].

Вентральные ядра таламуса выступают ключевым релейным узлом в обработке ноцицептивной информации, а их функциональная дисрегуляция традиционно ассоциируется с нарушением сенсорной интеграции и формированием аллодинии при мигрени [168,316]. В настоящем исследовании хроническое введение НТГ сопровождалось увеличением плотности Iba1+ микроглиальных клеток в вентральных ядрах таламуса у животных DAT-WT, тогда как у крыс DAT-HET аналогичных изменений выявлено не было. Полученные результаты позволяют предположить, что более низкие уровни дофамина ограничивают развитие микроглиальной активации в таламусе в модели хронической мигрени. Такое предположение согласуется с данными литературы, свидетельствующими о важной роли дофаминергической системы в регуляции нейровоспалительных процессов. Известно, что многие ядра таламуса получают плотную дофаминергическую иннервацию из гипоталамических и

мезэнцефальных дофаминергических ядер, благодаря чему дофамин способен непосредственно модулировать активность как нейронов, так и глиальных клеток [317]. Экспериментальное введение блокатора обратного захвата дофамина на животных оказывало противовоспалительное действие в таламусе, подавляя активацию микроглиальных клеток, в других исследованиях отсутствие дофамина усиливалось микроглиальное воспаление [318–320]. Совокупность этих данных позволяет предположить, что повышенный уровень внеклеточного дофамина у животных DAT-HET может ограничивать развитие таламического нейровоспаления, индуцированного хроническим введением НТГ. Полученные результаты дополняют представления о неоднозначной роли дофамина в патогенезе мигрени. Таким образом, влияние дофаминергической системы на хроническую боль может быть обусловлено не только прямой модуляцией нейрональной передачи, но и изменением выраженности нейровоспалительной реакции в структурах, обеспечивающих обработку ноцицептивной информации.

4.5 Модель мигрени с аурой: вклад дофамина в изменение электрофизиологических показателей активности нейронов коры и нейровоспаление

РКД принято считать электрофизиологическим субстратом ауры мигрени и рассматривать как один из ключевых механизмов, запускающих последующую активацию тригеминоваскулярной системы и развитие мигренозной боли [290]. Роль дофамина в регуляции РКД остается недостаточно изученной, однако еще в ранних клинических исследованиях была выдвинута гипотеза о повышенной чувствительности дофаминовых рецепторов при мигрени, что потенциально может способствовать снижению порога нейрональной возбудимости [321]. Дополнительным подтверждением участия дофаминергической системы стали экспериментальные данные, демонстрирующие, что фармакологическая блокада D2-рецепторов способна подавлять распространение РКД, тогда как их активация оказывает противоположный эффект [322].

Результаты настоящего исследования лишь частично согласуются с предыдущими работами. В одной из первых работ по изучению роли дофамина

было высказано предположение, что при мигрени возникает гиперчувствительность дофаминовых рецепторов, что может привести к понижению порогов нейрональной возбудимости [323]. Однако, не обнаружено различий в чувствительности коры крыс к KCl-индуцированной РКД у крыс разного генотипа. Более того, у животных DAT-HET наблюдалось увеличение латентного периода возникновения первой волны РКД и снижение скорости начальной деполяризации. Также у DAT-HET крыс увеличилось время от начала РКД, при котором происходит увеличение МПД нейронов и до момента наибольшей крутизны волны (onset), что предполагает необходимость более длительного периода нарушения тканевого гомеостаза для отклонения ЛПП при частичном нарушении работы DAT. Полученное в настоящем исследовании снижение амплитуды первой волны РКД у животных DAT-HET представляет особый интерес в сопоставлении с данными о фармакологической модуляции дофаминовых рецепторов. Ранее было показано, что применение антагонистов D2-рецепторов снижает амплитуду РКД [322]. Однако прямое сопоставление этих результатов ограничено различиями между острой фармакологической и врожденной генетической модификацией дофаминергической передачи. В условиях длительного повышения внеклеточного дофамина, характерного для DAT-HET, возможно формирование компенсаторных изменений дофаминовых рецепторов и внутриклеточных сигнальных механизмов, вследствие чего эффект повышенного дофамина в синаптической щели может отличаться от эффекта острой активации D2-рецепторов. Кроме того, в статье Guerrero Prieto et al., свидетельствуют о том, что влияние D2-рецепторов на динамику РКД зависит от типа лиганда и продолжительности его воздействия.

При этом такие параметры, как продолжительность, скорость распространения и количество волн РКД, между исследуемыми группами не различались ни в S1, ни в V1 коре. В совокупности с выявленными ранее более поздним началом и снижением скорости деполяризации РКД у DAT-HET уменьшение амплитуды первой волны может указывать на изменение способности корковой нейрональной сети поддерживать выраженную синхронную

деполяризацию после достижения порога ее генерации. При этом отсутствие различий в пороге возбудимости коры к KCl-индуцированной РКД свидетельствует о сохранении самой способности к генерации РКД. Следовательно, хроническое изменение дофаминергической системы, вероятно, оказывает влияние преимущественно на последующую динамику деполяризации, а не на его непосредственную инициацию.

Дополнительную информацию о влиянии дофаминергической системы на процессы, предшествующие развитию РКД, позволил получить анализ МПД. В контрольных условиях статистически значимых различий в частоте МПД и между крысами DAT-WT и DAT-HET выявлено не было. Полученные данные свидетельствуют о том, что врожденное повышение внеклеточной концентрации дофамина у DAT-HET не сопровождается изменением уровня спонтанной активности кортикальных нейронных сетей в состоянии покоя. Следует учитывать, что регистрация проводилась в условиях уретановой анестезии, которая в значительной степени сохраняет естественную организацию корковых ритмов, близких к фазе сна без быстрых движений глаз, что делает ее одной из наиболее предпочтительных моделей для изучения механизмов РКД [324]. Таким образом, отсутствие различий в фоновой активности позволяет предположить, что изменение дофаминергической передачи не приводит к генерализованной гипервозбудимости коры.

Вместе с тем у животных обоих генотипов развитие первой волны РКД сопровождалось выраженным всплеском МПД, частота которого значительно превышала уровень фоновой активности. Подобная последовательность событий соответствует современным представлениям о механизмах возникновения РКД, согласно которым первоначальная синхронная активация популяции нейронов приводит к массовому высвобождению глутамата и ионов калия во внеклеточное пространство, после чего запускается самоподдерживающаяся волна деполяризации [325]. Примечательно, что МПД во время всплеска активности не различались между животными DAT-WT и DAT-HET. Это свидетельствует о

сохранности способности кортикальных сетей генерировать начальную синхронную активность независимо от состояния дофаминергической передачи.

Иммуногистохимический анализ мозга после двухчасовой индукции РКД в зонах дорсального гиппокампа и вентральных ядер таламуса не показал активного нейровоспаления. Хотя РКД не всегда распространяется до гиппокампа, индукция РКД изменяет потенциацию нейронов гиппокампа, а значит, непосредственно влияет на активность клеток данной зоны [326]. В гиппокампе у животных DAT-WT наблюдалось снижение плотности GFAP+ астроцитов в молекулярном слое зубчатой извилины, тогда как у крыс DAT-HET аналогичные изменения отсутствовали. Анализ маркера S100β не выявил различий между исследуемыми группами независимо от генотипа, что свидетельствует об отсутствии выраженной перестройки общей популяции астроцитов на данном этапе после РКД. В то же время единственным изменением микроглии стало увеличение плотности Iba1+ клеток в области hilus зубчатой извилины у животных DAT-HET. В таламусе также отмечались незначительные изменения: у животных DAT-WT наблюдалось снижение плотности GFAP+ клеток, тогда как показатели S100β и Iba1 оставались неизменными у животных обоих генотипов. В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что через два часа после индукции РКД выраженная клеточная реакция астроцитов и микроглии, как в случае моделирования хронической мигрени, еще не успевает сформироваться. Отсутствие существенных изменений большинства иммуногистохимических маркеров, вероятнее всего, отражает ранний срок анализа, а не отсутствие участия глиальных клеток в патогенезе РКД.

В отличие от иммуногистохимических данных, молекулярный анализ выявил ранние изменения экспрессии ряда генов, свидетельствующие об активации внутриклеточных сигнальных путей уже в первые часы после РКД. Односторонняя аппликация KCl вызывала развитие РКД в ипсилатеральном полушарии, не переходящее на противоположную сторону, что подтверждается характером экспрессии гена раннего ответа *Fos* в соматосенсорной коре. В S1 коре уровень экспрессии *Fos* значительно возрастал в полушарии с РКД относительно

контралатерального как у животных DAT-WT, так и у DAT-HET, что соответствует многочисленным данным о быстрой активации транскрипционных программ в нейронах после РКД [327,328]. При этом выраженность увеличения экспрессии *Fos* у животных DAT-HET была ниже, чем у крыс DAT-WT. С учетом выявленного ранее увеличения латентного периода возникновения РКД и замедления начальной деполяризации у DAT-HET можно предположить, что хроническое повышение внеклеточного уровня дофамина приводит к снижению интенсивности раннего нейронального ответа на распространяющуюся деполяризацию, не препятствуя ее возникновению. В таламусе у DAT-HET также увеличивается транскрипция *Fos* на ипсилатеральной с РКД стороне. Существующие данные подтверждают, что РКД может распространяться на подкорковые структуры, в том числе на таламус [283]. Однако, важно отметить, что таковой активации не происходит у DAT-WT, что может свидетельствовать о влиянии дофаминергической системы на распространение патологического возбуждения по кортико-таламическому или иному пути.

Особый интерес представляют результаты анализа экспрессии *P2rx7*. Несмотря на отсутствие изменений экспрессии данного рецептора в таламусе у животных DAT-WT и DAT-HET при сравнении ипси- и контралатерального полушарий, уровень экспрессии *P2rx7* у животных DAT-HET был выше, чем у DAT-WT крыс (Рисунок 32). Напротив, в коре головного мозга после РКД экспрессия *P2rx7* у животных DAT-HET значительно увеличивалась как относительно собственного контралатерального полушария, так и по сравнению с животными DAT-WT. Известно, что пуринергический рецептор *P2rx7* является одним из ключевых медиаторов раннего нейровоспалительного ответа, активируясь под действием внеклеточного АТФ, который в большом количестве высвобождается во время РКД [329]. Экспрессия *P2rx7* характерна не только для микроглии, но также для астроцитов, олигодендроцитов и в определенной степени нейронов, поэтому повышение уровня экспрессии на столь раннем этапе может не сопровождаться заметными морфологическими изменениями глиальных клеток [330]. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что

изменение дофаминергической передачи у животных DAT-HET сопровождается усилением раннего молекулярного ответа на РКД, предшествующего развитию выраженной перестройке тканевой архитектуры.

Отсутствие изменений экспрессии *Tgfb1* во всех исследованных структурах мозга после индукции РКД может быть связано с ранними сроками забора материала. В настоящем исследовании мозг исследовали через 2 часа после аппликации KCl, то есть в период, когда преимущественно регистрируется ранний нейрональный ответ на РКД. Это подтверждается выраженным повышением экспрессии *Fos* в первичной соматосенсорной коре на ипсилатеральной стороне, тогда как изменения большинства исследованных глиальных показателей были ограниченными. В отличие от ранних генов активации, TGF-β1 является многофункциональным регуляторным фактором, участвующим в поддержании гомеостаза нервной ткани, регуляции активности микроглии и астроцитов и ограничении воспалительного ответа [242,247,248]. Поэтому изменения его транскрипции могут отражать более позднюю фазу глиальной перестройки и не возникают непосредственно после первичного патологического стимула.

В отличие от коры, в гиппокампе экспрессия *Fos*, *P2rx7* не изменялась после индукции РКД ни у животных DAT-WT, ни у DAT-HET. Вероятно, это связано с тем, что РКД и не вызывала достаточной активации гиппокампальных структур в течение первых двух часов после воздействия. Отсутствие изменений в гиппокампе также согласуется с минимальной выраженностью иммуногистохимических признаков активации глии и дополнительно подтверждает региональную специфичность раннего ответа на РКД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показали, что повышенный уровень дофамина в синаптической щели у животных DAT-HET не препятствует формированию основных поведенческих проявлений хронической НТГ-индуцированной мигрени по сравнению с крысами DAT-WT. У животных обоих генотипов наблюдалось снижение порогов механической и температурной чувствительности, а также снижение локомоторной активности после моделирования мигренеподобного состояния. При этом признаков формирования выраженного тревожноподобного поведения выявлено не было. Отсутствие значимых различий между DAT-WT и DAT-HET по ряду поведенческих показателей свидетельствует о том, что врожденное повышение внеклеточного дофамина не определяет выраженность основных поведенческих проявлений мигрени.

Выявлены генотип-зависимые различия в периферическом и центральном нейроиммунном ответе. При хронической НТГ-индуцированной мигрени активация менингеальных тучных клеток наблюдалась у животных обоих генотипов, что соответствует представлениям о вовлечении периферического нейровоспаления в патогенез мигрени. В то же время после индукции РКД увеличение дегрануляции тучных клеток выявлялось только у DAT-WT, тогда как у DAT-HET данный ответ отсутствовал. Это позволяет предположить, что дофаминергическая система способна модулировать взаимодействие между нервной и иммунной системами уже на периферическом уровне, причем характер этого влияния зависит от механизма или времени воздействия фактора, инициирующего мигренеподобное состояние.

Анализ глиальных клеток выявил более сложный генотип-зависимую паттерн. В модели хронической мигрени в гиппокампе показано усиление окрашивания S100β, что предполагает провоспалительную астроцитарную активацию. Изменения микроглии обнаружены только у DAT-HET, что проявлялось увеличением компактности микроглии в зубчатой извилине и увеличении площади микроглии в CA3. В вентральных ядрах таламуса у DAT-WT

и DAT-HET крыс не обнаружено активации астроцитов, но у DAT-WT увеличилась плотность микроглиальных клеток, что может указывать на развитие воспаления. Таким образом, изменения дофаминергической системы не приводили к однонаправленному усилению или подавлению глиальной активации, а изменяло ее региональный паттерн.

Вместе с тем изменение обратного захвата дофамина оказывало влияние на амплитуду и время инициации распространяющейся корковой депрессии. У животных DAT-HET с повышенным дофамином синаптической щели такие же пороги генерации РКД, что указывает на независимость возникновения РКД в S1 коре от дофаминергической активности. В то же время, у DAT-HET увеличилось время начала РКД и время от начала РКД до наибольшей скорости массовой деполяризации, при этом уменьшилась амплитуда, что может указывать на участие дофамина в модуляции начальной активации корковых сетей при РКД.

После индукции РКД в течение 2х часов глиальный ответ был ограничен, гистологическое окрашивание не показало значительных изменений в гиппокампе или таламусе. При этом молекулярный анализ выявил более выраженные изменения нейрональной и нейровоспалительной активности в ипсилатеральном полушарии, непосредственно подвергавшемся воздействию РКД. Повышение экспрессии *Fos* в первичной соматосенсорной коре подтвердило ограниченность нейрональной активации у DAT-WT и DAT-HET только полушарием с аппликацией KCl. В то же время повышение экспрессии *P2rx7* у DAT-HET в соматосенсорной коре после РКД, а также фоновая повышенная экспрессия в таламусе указывает на повышенную провоспалительную активацию клеток у животных с более высоким уровнем дофамина в синаптической щели. Более того, только у DAT-HET повышалась экспрессия *Fos* в таламусе, что предполагает распространение возбуждения РКД по нисходящим путям в таламус и регуляцией дофаминергической системой данных путей. Отсутствие выраженных изменений выбранных молекулярных маркеров в гиппокампе свидетельствует о том, что кратковременное воздействие РКД не приводит к формированию столь же выраженной транскрипционной перестройки в данной структуре.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют рассматривать дофамин не как однозначный про- или антиноцицептивный фактор при мигрени, а как модулятор патологических процессов, действие которого определяется длительностью патологического воздействия, типом инициирующего стимула, анатомической структурой и конкретным типом клеток. Врожденное повышение внеклеточного дофамина не препятствует формированию мигренеподобного болевого фенотипа, однако изменяет отдельные характеристики корковой возбудимости, периферического иммунного ответа и глиальной реакции в центральной нервной системе.

ВЫВОДЫ

1. Развитие аллодинии в модели хронической мигрени у крыс не зависит от генотипа. Достоверных различий в поведенческом фенотипе между животными DAT-WT и DAT-HET не обнаружено.

2. Моделирование хронической мигрени сопровождается изменением глиального профиля и астроцитарной активацией дорсального гиппокампа, характер которых зависит от генотипа и анатомической области мозга. В вентральных ядрах таламуса в модели хронической мигрени не изменялось астроцитарное окружение, рост плотности микроглиальных клеток выявлен только у DAT-WT животных.

3. В модели острой мигрени с аурой порог инициации РКД не зависел от генотипа животных, тогда как кинетические параметры волны (латентность, амплитуда, скорость деполяризации) модулировались дофаминергической системой.

4. От экспрессии дофаминового транспортера не зависит фоновая активность менингеальных тучных клеток, как и активация в модели хронической мигрени. Однако, у DAT-HET крыс после РКД не происходит повышения активности тучных клеток в модели острой мигрени с аурой.

5. В модели острой мигрени с аурой РКД вызывает перестройку глии в дорсальном гиппокампе и таламусе. У DAT-HET крыс плотность астроцитов поддерживалась на контрольном уровне в ответ на РКД в таламусе. В гиппокампе изменения глии показали регион-специфические эффекты при РКД.

6. В соматосенсорной коре РКД усиливает экспрессию *Fos* у DAT-WT крыс и в меньшей степени у DAT-HET, однако у DAT-HET животных происходит увеличение экспрессии *Fos* в таламусе. У DAT-HET крыс волна деполяризации усиливает экспрессию *P2rX7* в коре. РКД не вызвала изменения экспрессии *Fos, P2rX7, Tgfb1* в гиппокампе вне зависимости от генотипа животных в модели острой мигрени с аурой.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-HT - 5-hydroxytryptamine, 5-гидрокситриптамин, серотонин

CGRP - calcitonin gene-related peptide, кальцитонин-ген-родственный пептид

DAT - dopamine transporter, транспортер дофамина

DAT-HET - крысы гетерозиготные нокауты по гену транспортера дофамина

DAT-KO - крысы гомозиготные нокауты по гену транспортера дофамина

DAT-WT - крысы дикого типа без нокаута по гену транспортера дофамина

GFAP - glial fibrillary acidic protein, глиальный фибриллярный кислый белок

ML - molecular layer, молекулярный слой зубчатой извилины

NK1R - рецептор нейрокинина 1

NO - оксид азота

P2rx7 - пуринергический рецептор, лиганд-управляемый ионный канал 7

PACAP - пептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза

PBS - фосфатно-солевой буфер

SR - stratum radiatum, лучистый слой

TGF-β1 - трансформирующий фактор роста-β1

TNF-α - фактор некроза опухоли α

VPL - вентропостеролатеральное ядро таламуса

VPM - вентропостеромедиальное ядро таламуса

ИД - индекс дегрануляции

КТН - каудальное ядро тройничного нерва

ЛПП - локальный полевой потенциал

МПД - множественные потенциалы действия

НТГ - нитроглицерин

ППК - передняя поясная кора

ПЦР-РВ - полимеразная цепная реакция в реальном времени

ПЭТ - позитронно-эмиссионная томография

РКД - распространяющаяся корковая депрессия

ССК - соматосенсорная кора

фМРТ - функциональная магнитно-резонансная томография

ЭЭГ - электроэнцефалография

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wijeratne T. и др. Global, regional, and national burden of headache disorders, 1990–2021, with forecasts to 2050: A Global Burden of Disease study 2021 // Cell Reports Medicine. 2025. Т. 6, № 10. С. 102348.

2. on behalf of Lifting The Burden: the Global Campaign against Headache и др. Migraine remains second among the world's causes of disability, and first among young women: findings from GBD2019 // J Headache Pain. 2020. Т. 21, № 1. С. 137, s10194-020-01208–0.

3. Ashina M. и др. Migraine and the trigeminovascular system-40 years and counting // Lancet Neurol. 2019. Т. 18, № 8. С. 795–804.

4. Russo A. F. Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP): A New Target for Migraine // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2015. Т. 55, № 1. С. 533–552.

5. Segelcke D., Messlinger K. Putative role of 5-HT_{2B} receptors in migraine pathophysiology // Cephalalgia. 2017. Т. 37, № 4. С. 365–371.

6. Ferrari M. D. и др. Oral triptans (serotonin 5-HT1B/1D agonists) in acute migraine treatment: a meta-analysis of 53 trials // The Lancet. 2001. Т. 358, № 9294. С. 1668–1675.

7. Akerman S., Goadsby P. Dopamine and Migraine: Biology and Clinical Implications // Cephalalgia. 2007. Т. 27, № 11. С. 1308–1314.

8. Charbit A. R., Akerman S., Goadsby P. J. Comparison of the Effects of Central and Peripheral Dopamine Receptor Activation on Evoked Firing in the Trigeminocervical Complex // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2009. Т. 331, № 2. С. 752–763.

9. Zhang W. и др. Dopamine receptor D2 regulates GLUA1-containing AMPA receptor trafficking and central sensitization through the PI3K signaling pathway in a male rat model of chronic migraine // J Headache Pain. 2022. Т. 23, № 1. С. 98.

10. Haarmann A. M. и др. Modulatory Effects of Dopamine D2 Receptors on Spreading Depression in Rat Somatosensory Neocortex // Basic Clin Neurosci. 2014. Т. 5, № 4. С. 246–252.

11. Charbit A. R., Akerman S., Goadsby P. J. Dopamine: what's new in migraine?: // Current Opinion in Neurology. 2010. Т. 23, № 3. С. 275–281.

12. Charbit A. R., Akerman S., Goadsby P. J. Trigeminocervical complex responses after lesioning dopaminergic A11 nucleus are modified by dopamine and serotonin mechanisms // Pain. 2011. Т. 152, № 10. С. 2365–2376.

13. Charbit A. R. и др. Neurons of the Dopaminergic/Calcitonin Gene-Related Peptide A11 Cell Group Modulate Neuronal Firing in the Trigeminocervical Complex: An Electrophysiological and Immunohistochemical Study // J. Neurosci. 2009. Т. 29, № 40. С. 12532–12541.

14. Goadsby P. J. и др. Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing // Physiol Rev. 2017. Т. 97, № 2. С. 553–622.

15. Ashina M. и др. Migraine: disease characterisation, biomarkers, and precision medicine // The Lancet. 2021. Т. 397, № 10283. С. 1496–1504.

16. Raghavendra V., DeLeo J. A. The role of astrocytes and microglia in persistent pain // Advances in Molecular and Cell Biology. Elsevier, 2003. Т. 31. С. 951–966.

17. May A., Schulte L. H. Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment // Nat Rev Neurol. 2016. Т. 12, № 8. С. 455–464.

18. Hernandez J. и др. Headache Disorders: Differentiating Primary and Secondary Etiologies // J. Integr. Neurosci. 2024. Т. 23, № 2. С. 43.

19. Aguilar-Shea A. L., Membrilla Md J. A., Diaz-de-Teran J. Migraine review for general practice // Aten Primaria. 2022. Т. 54, № 2. С. 102208.

20. Andreou A. P., Edvinsson L. Mechanisms of migraine as a chronic evolutive condition // J Headache Pain. 2019. Т. 20, № 1. С. 117.

21. Lipton R. B. и др. Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy // Neurology. 2007. Т. 68, № 5. С. 343–349.

22. Vetvik K. G., MacGregor E. A. Sex differences in the epidemiology, clinical features, and pathophysiology of migraine // The Lancet Neurology. 2017. Т. 16, № 1. С. 76–87.

23. Pavlovic J. M. и др. Sex‐related influences in migraine // J of Neuroscience Research. 2017. Т. 95, № 1–2. С. 587–593.

24. Buse D. C. и др. Migraine Progression: A Systematic Review // Headache. 2019. Т. 59, № 3. С. 306–338.

25. Natoli J. и др. Global prevalence of chronic migraine: A systematic review // Cephalalgia. 2010. Т. 30, № 5. С. 599–609.

26. Bigal M. E., Lipton R. B. Clinical course in migraine: Conceptualizing migraine transformation // Neurology. 2008. Т. 71, № 11. С. 848–855.

27. Mahmoud A. N. и др. Migraine and the risk of cardiovascular and cerebrovascular events: a meta-analysis of 16 cohort studies including 1 152 407 subjects // BMJ Open. 2018. Т. 8, № 3. С. e020498.

28. Lipton R. B. и др. Comorbidity of migraine: the connection between migraine and epilepsy // Neurology. 1994. Т. 44, № 10 Suppl 7. С. S28-32.

29. Dodick D. W., Eross E. J., Parish J. M. Clinical, Anatomical, and Physiologic Relationship Between Sleep and Headache // Headache. 2003. Т. 43, № 3. С. 282–292.

30. Zwart J. ‐A. и др. Depression and anxiety disorders associated with headache frequency. The Nord‐Trøndelag Health Study // Euro J of Neurology. 2003. Т. 10, № 2. С. 147–152.

31. Smith J. H. The Migraine Brain: Imaging Structure and Functionedited by BorsookDavid, MayArne, GoadsbyPeter J.and HargreavesRichard, 384pp., Oxford University Press, 2012, $145. // Neurology. 2013. Т. 80, № 17. С. 1623–1623.

32. Appenzeller O. Pathogenesis of Migraine // Medical Clinics of North America. 1991. Т. 75, № 3. С. 763–789.

33. Graham J. R. MECHANISM OF MIGRAINE HEADACHE AND ACTION OF ERGOTAMINE TARTRATE // Arch NeurPsych. 1938. Т. 39, № 4. С. 737.

34. Feniuk W. и др. Rationale for the use of 5-HT1-like agonists in the treatment of migraine // J Neurol. 1991. Т. 238, № S1. С. S57–S61.

35. Moskowitz MichaelA. и др. NEUROTRANSMITTERS AND THE FIFTH CRANIAL NERVE: IS THERE A RELATION TO THE HEADACHE PHASE OF MIGRAINE? // The Lancet. 1979. Т. 314, № 8148. С. 883–885.

36. Olesen J. и др. Origin of pain in migraine: evidence for peripheral sensitisation // The Lancet Neurology. 2009. Т. 8, № 7. С. 679–690.

37. Keller J. T. и др. Innervation of the posterior fossa dura of the cat // Brain Research Bulletin. 1985. Т. 14, № 1. С. 97–102.

38. Schueler M. и др. Extracranial projections of meningeal afferents and their impact on meningeal nociception and headache // Pain. 2013. Т. 154, № 9. С. 1622–1631.

39. O'Connor T., Van Der Kooy D. Pattern of intracranial and extracranial projections of trigeminal ganglion cells // J. Neurosci. 1986. Т. 6, № 8. С. 2200–2207.

40. Ebersberger A. и др. Release of substance P, calcitonin gene-related peptide and prostaglandin E2 from rat dura mater encephali following electrical and chemical stimulation in vitro // Neuroscience. 1999. Т. 89, № 3. С. 901–907.

41. Eftekhari S. и др. Localization of CGRP, CGRP receptor, PACAP and glutamate in trigeminal ganglion. Relation to the blood–brain barrier // Brain Research. 2015. Т. 1600. С. 93–109.

42. Della Pietra A. и др. Mechanosensitive receptors in migraine: a systematic review // J Headache Pain. 2024. Т. 25, № 1. С. 6.

43. Goadsby P. J., Hoskin K. L. The distribution of trigeminovascular afferents in the nonhuman primate brain *Macaca nemestrina* : a c‐fos immunocytochemical study // Journal of Anatomy. 1997. Т. 190, № 3. С. 367–375.

44. Noseda R. и др. Cortical Projections of Functionally Identified Thalamic Trigeminovascular Neurons: Implications for Migraine Headache and Its Associated Symptoms // J. Neurosci. 2011. Т. 31, № 40. С. 14204–14217.

45. Akerman S., Holland P. R., Goadsby P. J. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine // Nat Rev Neurosci. 2011. Т. 12, № 10. С. 570–584.

46. Terrier L.-M., Hadjikhani N., Destrieux C. The trigeminal pathways // J Neurol. 2022. Т. 269, № 7. С. 3443–3460.

47. May A., Goadsby P. J. Substance P receptor antagonists in the therapy of migraine // Expert Opinion on Investigational Drugs. 2001. Т. 10, № 4. С. 673–678.

48. Andersen R. K., Lund J. P., Puil E. Enkephalin and substance P effects related to trigeminal pain // Can J Physiol Pharmacol. 1978. Т. 56, № 2. С. 216–222.

49. Maeno H., Kiyama H., Tohyama M. Distribution of the substance P receptor (NK-1 receptor) in the central nervous system // Brain Res Mol Brain Res. 1993. Т. 18, № 1–2. С. 43–58.

50. Alpay B. и др. Substance P and the trigeminovascular system: From preclinical mechanisms to human headache induction // Cephalalgia. 2025. Т. 45, № 8. С. 03331024251355944.

51. Whittle B. J., Lopez-Belmonte J., Rees D. D. Modulation of the vasodepressor actions of acetylcholine, bradykinin, substance P and endothelin in the rat by a specific inhibitor of nitric oxide formation // Br J Pharmacol. 1989. Т. 98, № 2. С. 646–652.

52. Edvinsson J. C. и др. Neurokinins and their receptors in the rat trigeminal system: Differential localization and release with implications for migraine pain // Mol Pain. 2021. Т. 17. С. 17448069211059400.

53. Liu-Chen L. Y. и др. Co-localization of retrogradely transported wheat germ agglutinin and the putative neurotransmitter substance P within trigeminal ganglion cells projecting to cat middle cerebral artery // J Comp Neurol. 1984. Т. 225, № 2. С. 187–192.

54. Diener H.-C. Rpr100893, A Substance-P Antagonist, is Not Effective in the Treatment of Migraine Attacks // Cephalalgia. 2003. Т. 23, № 3. С. 183–185.

55. Goldstein D. и др. Ineffectiveness of Neurokinin-1 Antagonist in Acute Migraine: A Crossover Study // Cephalalgia. 1997. Т. 17, № 7. С. 785–790.

56. Goldstein D. и др. Lanepitant, an NK-1 Antagonist, in Migraine Prevention // Cephalalgia. 2001. Т. 21, № 2. С. 102–106.

57. Samsam M. и др. Simultaneous depletion of neurokinin A, substance P and calcitonin gene-related peptide from the caudal trigeminal nucleus of the rat during electrical stimulation of the trigeminal ganglion // Pain. 2000. Т. 84, № 2. С. 389–395.

58. Uddman R. и др. Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: Trigeminal origin and co-existence with substance P // Neuroscience Letters. 1985. Т. 62, № 1. С. 131–136.

59. Pedersen-Bjergaard U. и др. Calcitonin gene-related peptide, neurokinin A and substance P: Effects on Nociception and neurogenic inflammation in human skin and temporal muscle // Peptides. 1991. Т. 12, № 2. С. 333–337.

60. Iyengar S. и др. CGRP and the Trigeminal System in Migraine // Headache. 2019. Т. 59, № 5. С. 659–681.

61. Mason B. N. и др. Induction of Migraine-Like Photophobic Behavior in Mice by Both Peripheral and Central CGRP Mechanisms // J Neurosci. 2017. Т. 37, № 1. С. 204–216.

62. Hou K.-S. и др. Role of Calcitonin Gene-Related Peptide in Nociceptive Modulationin Anterior Cingulate Cortex of Naïve Rats and Rats With Inflammatory Pain // Front. Pharmacol. 2020. Т. 11. С. 928.

63. Ramón C., Cernuda-Morollón E., Pascual J. Calcitonin gene-related peptide in peripheral blood as a biomarker for migraine // Curr Opin Neurol. 2017. Т. 30, № 3. С. 281–286.

64. Goadsby P. J., Edvinsson L., Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache // Ann Neurol. 1990. Т. 28, № 2. С. 183–187.

65. Lee M. J. и др. Feasibility of serum CGRP measurement as a biomarker of chronic migraine: a critical reappraisal // J Headache Pain. 2018. Т. 19, № 1. С. 53.

66. Latif R. и др. Diagnostic Accuracy of Serum Calcitonin Gene-Related Peptide and Apolipoprotein E in Migraine: A Preliminary Study // IJGM. 2021. Т. Volume 14. С. 851–856.

67. Tvedskov J. F. и др. No increase of calcitonin gene–related peptide in jugular blood during migraine // Annals of Neurology. 2005. Т. 58, № 4. С. 561–568.

68. Hansen J. M. и др. Calcitonin gene-related peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura // Cephalalgia. 2010. Т. 30, № 10. С. 1179–1186.

69. Vollesen A. L. H. и др. Effect of Infusion of Calcitonin Gene-Related Peptide on Cluster Headache Attacks: A Randomized Clinical Trial // JAMA Neurol. 2018. Т. 75, № 10. С. 1187–1197.

70. Dodick D. W. и др. Safety and efficacy of ALD403, an antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of frequent episodic migraine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, exploratory phase 2 trial // The Lancet Neurology. 2014. Т. 13, № 11. С. 1100–1107.

71. Dodick D. W. и др. Safety and efficacy of LY2951742, a monoclonal antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of migraine: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled study // The Lancet Neurology. 2014. Т. 13, № 9. С. 885–892.

72. Rissardo J. P., Caprara A. L. F. Gepants for Acute and Preventive Migraine Treatment: A Narrative Review // Brain Sci. 2022. Т. 12, № 12. С. 1612.

73. Christensen C. E., Ashina M., Amin F. M. Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) and Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) in Migraine Pathogenesis // Pharmaceuticals (Basel). Basel, Switzerland, 2022. Т. 15, № 10. С. 1189.

74. Tuka B. и др. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients // Cephalalgia. 2013. Т. 33, № 13. С. 1085–1095.

75. Amin F. M. и др. Investigation of the pathophysiological mechanisms of migraine attacks induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38 // Brain. 2014. Т. 137, № 3. С. 779–794.

76. Wienholtz N. K. F. и др. Early treatment with sumatriptan prevents PACAP38-induced migraine: A randomised clinical trial // Cephalalgia. 2021. Т. 41, № 6. С. 731–748.

77. Rustichelli C. и др. Targeting pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) with monoclonal antibodies in migraine prevention: a brief review // Expert Opinion on Investigational Drugs. 2020. Т. 29, № 11. С. 1269–1275.

78. Ashina M. и др. A Monoclonal Antibody to PACAP for Migraine Prevention // N Engl J Med. 2024. Т. 391, № 9. С. 800–809.

79. Picón-Pagès P., Garcia-Buendia J., Muñoz F. J. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. 2019. Т. 1865, № 8. С. 1949–1967.

80. Gudi T. и др. Nitric oxide and cGMP regulate gene expression in neuronal and glial cells by activating type II cGMP-dependent protein kinase // FASEB J. 1999. Т. 13, № 15. С. 2143–2152.

81. Khan B. V. и др. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells // Proc Natl Acad Sci U S A. 1996. Т. 93, № 17. С. 9114–9119.

82. Förstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function // Eur Heart J. 2012. Т. 33, № 7. С. 829–837, 837a–837d.

83. Olesen J., Thomsen L. L., Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches // Trends Pharmacol Sci. 1994. Т. 15, № 5. С. 149–153.

84. Marone I. M. и др. TRPA1/NOX in the soma of trigeminal ganglion neurons mediates migraine-related pain of glyceryl trinitrate in mice // Brain. 2018. Т. 141, № 8. С. 2312–2328.

85. Yao G. и др. NO up-regulates migraine-related CGRP via activation of an Akt/GSK-3β/NF-κB signaling cascade in trigeminal ganglion neurons // Aging. 2020. Т. 12, № 7. С. 6370–6384.

86. He W. и др. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1β release and contributes to central sensitization in a recurrent nitroglycerin-induced migraine model // J Neuroinflammation. 2019. Т. 16, № 1. С. 78.

87. Lackovic J. и др. Peroxynitrite Contributes to Behavioral Responses, Increased Trigeminal Excitability, and Changes in Mitochondrial Function in a Preclinical Model of Migraine // J. Neurosci. 2023. Т. 43, № 9. С. 1627–1642.

88. Sureda-Gibert P., Romero-Reyes M., Akerman S. Nitroglycerin as a model of migraine: Clinical and preclinical review // Neurobiol Pain. Cambridge, Mass., 2022. T. 12. C. 100105.

89. Tassorelli C., Joseph S. A. Systemic nitroglycerin induces Fos immunoreactivity in brainstem and forebrain structures of the rat // Brain Research. 1995. T. 682, № 1–2. C. 167–181.

90. Strecker T., Dux M., Messlinger K. Nitric Oxide Releases Calcitonin-Gene-Related Peptide from Rat Dura mater Encephali Promoting Increases in Meningeal Blood Flow // J Vasc Res. 2002. T. 39, № 6. C. 489–496.

91. Bates E. и др. Sumatriptan alleviates nitroglycerin-induced mechanical and thermal allodynia in mice // Cephalalgia. 2010. T. 30, № 2. C. 170–178.

92. Galli S. J., Tsai M. Mast cells: Versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis // Journal of Dermatological Science. 2008. T. 49, № 1. C. 7–19.

93. Koyuncu Irmak D., Kilinc E., Tore F. Shared Fate of Meningeal Mast Cells and Sensory Neurons in Migraine // Front Cell Neurosci. 2019. T. 13. C. 136.

94. Lauritano D. и др. Activation of Mast Cells by Neuropeptides: The Role of Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines // IJMS. 2023. T. 24, № 5. C. 4811.

95. Guan L. C., Dong X., Green D. P. Roles of mast cells and their interactions with the trigeminal nerve in migraine headache // Mol Pain. 2023. T. 19. C. 17448069231181358.

96. Hautakangas H. и др. Genome-wide analysis of 102,084 migraine cases identifies 123 risk loci and subtype-specific risk alleles // Nat Genet. 2022. T. 54, № 2. C. 152–160.

97. Sutherland H. G., Griffiths L. R. Genetics of Migraine: Insights into the Molecular Basis of Migraine Disorders // Headache. 2017. T. 57, № 4. C. 537–569.

98. Peroutka S. J. Sumatriptan in acute migraine: pharmacology and review of world experience // Headache. 1990. T. 30 Suppl 2. C. 554–560.

99. Perry C. M., Markham A. Sumatriptan: An Updated Review of its Use in Migraine // Drugs. 1998. T. 55, № 6. C. 889–922.

100. Evans M. S. и др. Sumatriptan Inhibits TRPV1 Channels in Trigeminal Neurons // Headache. 2012. Т. 52, № 5. С. 773–784.

101. Rasmussen B. K., Olesen J. Migraine With Aura and Migraine Without Aura: An Epidemiological Study // Cephalalgia. 1992. Т. 12, № 4. С. 221–228.

102. Viana M. и др. Clinical features of migraine aura: Results from a prospective diary-aided study // Cephalalgia. 2017. Т. 37, № 10. С. 979–989.

103. Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura: The spreading depression theory // Brain. 1994. Т. 117, № 1. С. 199–210.

104. Leo A. A. P. FURTHER OBSERVATIONS ON THE SPREADING DEPRESSION OF ACTIVITY IN THE CEREBRAL CORTEX // Journal of Neurophysiology. 1947. Т. 10, № 6. С. 409–414.

105. Hadjikhani N. и др. Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex // Proc Natl Acad Sci U S A. 2001. Т. 98, № 8. С. 4687–4692.

106. McLeod G. A. и др. Mapping the migraine: Intracranial recording of cortical spreading depression in migraine with aura // Headache. 2025. Т. 65, № 4. С. 658–665.

107. Somjen G. G. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization // Physiol Rev. 2001. Т. 81, № 3. С. 1065–1096.

108. Al-Karagholi M. A.-M. и др. Opening of ATP sensitive potassium channels causes migraine attacks with aura // Brain. 2021. Т. 144, № 8. С. 2322–2332.

109. Peters O. и др. Different mechanisms promote astrocyte Ca2+ waves and spreading depression in the mouse neocortex // J Neurosci. 2003. Т. 23, № 30. С. 9888–9896.

110. Nye B. L., Thadani V. M. Migraine and Epilepsy: Review of the Literature // Headache. 2015. Т. 55, № 3. С. 359–380.

111. Akerman S., Goadsby P. J. Topiramate inhibits cortical spreading depression in rat and cat: impact in migraine aura // NeuroReport. 2005. Т. 16, № 12. С. 1383–1387.

112. Chen S.-P. и др. Vagus nerve stimulation inhibits cortical spreading depression // Pain. 2016. Т. 157, № 4. С. 797–805.

113. Kincses Z. T. и др. Are Migraine With and Without Aura Really Different Entities? // Front. Neurol. 2019. Т. 10. С. 982.

114. Bolay H. и др. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model // Nat Med. 2002. Т. 8, № 2. С. 136–142.

115. Zhang X. и др. Activation of central trigeminovascular neurons by cortical spreading depression // Annals of Neurology. 2011. Т. 69, № 5. С. 855–865.

116. Olesen J., Larsen B., Lauritzen M. Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine // Ann Neurol. 1981. Т. 9, № 4. С. 344–352.

117. Brennan K. C. и др. Distinct vascular conduction with cortical spreading depression // J Neurophysiol. 2007. Т. 97, № 6. С. 4143–4151.

118. Shukla S. D., Morrison W. J. Platelet activating factor receptor occupancy in relation to activation and desensitization of phosphoinositide specific phospholipase C // Prog Clin Biol Res. 1988. Т. 283. С. 341–344.

119. Lambert G. A., Truong L., Zagami A. S. Effect of cortical spreading depression on basal and evoked traffic in the trigeminovascular sensory system // Cephalalgia. 2011. Т. 31, № 14. С. 1439–1451.

120. Burstein R., Strassman A., Moskowitz M. Can cortical spreading depression activate central trigeminovascular neurons without peripheral input? Pitfalls of a new concept // Cephalalgia. 2012. Т. 32, № 6. С. 509–511.

121. Eikermann-Haerter K. и др. Enhanced subcortical spreading depression in familial hemiplegic migraine type 1 mutant mice // J Neurosci. 2011. Т. 31, № 15. С. 5755–5763.

122. Fu X. и др. Cortical spreading depression induces propagating activation of the thalamus ventral posteromedial nucleus in awake mice // J Headache Pain. 2022. Т. 23, № 1. С. 15.

123. Kochneva A. A. и др. Studies on Mechanisms of Development and Electrostimulation Approaches to Migraine Therapy // J Evol Biochem Phys. 2024. Т. 60, № S1. С. S50–S66.

124. Anttila V. и др. Towards an understanding of genetic predisposition to migraine // Genome Med. 2011. Т. 3, № 3. С. 17.

125. Neuffer F. H., Brogdon B. G., Robinson A. E. Transdiaphragmatic extension of disease through congenital defects of the diaphragm // Ala J Med Sci. 1983. Т. 20, № 4. С. 431–433.

126. Pietrobon D. Ion channels in migraine disorders // Current Opinion in Physiology. 2018. Т. 2. С. 98–108.

127. Bolay H., Berman N. E. J., Akcali D. Sex-related differences in animal models of migraine headache // Headache. 2011. Т. 51, № 6. С. 891–904.

128. Weiller C. и др. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks // Nat Med. 1995. Т. 1, № 7. С. 658–660.

129. Akerman S. и др. Oxygen inhibits neuronal activation in the trigeminocervical complex after stimulation of trigeminal autonomic reflex, but not during direct dural activation of trigeminal afferents // Headache. 2009. Т. 49, № 8. С. 1131–1143.

130. Knight Y. E. и др. Patterns of fos expression in the rostral medulla and caudal pons evoked by noxious craniovascular stimulation and periaqueductal gray stimulation in the cat // Brain Research. 2005. Т. 1045, № 1–2. С. 1–11.

131. Goadsby P. J., Zagami A. S. STIMULATION OF THE SUPERIOR SAGITTAL SINUS INCREASES METABOLIC ACTIVITY AND BLOOD FLOW IN CERTAIN REGIONS OF THE BRAINSTEM AND UPPER CERVICAL SPINAL CORD OF THE CAT // Brain. 1991. Т. 114, № 2. С. 1001–1011.

132. Knight Y. E., Bartsch T., Goadsby P. J. Trigeminal antinociception induced by bicuculline in the periaqueductal gray (PAG) is not affected by PAG P/Q-type calcium channel blockade in rat // Neurosci Lett. 2003. Т. 336, № 2. С. 113–116.

133. Liu Y. и др. Brainstem and thalamic projections from a craniovascular sensory nervous centre in the rostral cervical spinal dorsal horn of rats // Cephalalgia. 2009. Т. 29, № 9. С. 935–948.

134. Bartsch T., Knight Y. E., Goadsby P. J. Activation of 5-HT(1B/1D) receptor in the periaqueductal gray inhibits nociception // Ann Neurol. 2004. Т. 56, № 3. С. 371–381.

135. Jia Z. и др. Disrupted functional connectivity between the periaqueductal gray and other brain regions in a rat model of recurrent headache // Sci Rep. 2017. Т. 7, № 1. С. 3960.

136. Mason P. Ventromedial medulla: pain modulation and beyond // J Comp Neurol. 2005. Т. 493, № 1. С. 2–8.

137. Edelmayer R. M. и др. Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in headache‐related pain // Annals of Neurology. 2009. Т. 65, № 2. С. 184–193.

138. Martin W. J., Tsou K., Walker J. M. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of the rat tail-flick reflex after microinjection into the rostral ventromedial medulla // Neurosci Lett. 1998. Т. 242, № 1. С. 33–36.

139. Schulte L. H., Allers A., May A. Hypothalamus as a mediator of chronic migraine: Evidence from high-resolution fMRI // Neurology. 2017. Т. 88, № 21. С. 2011–2016.

140. Abdallah K. и др. Bilateral descending hypothalamic projections to the spinal trigeminal nucleus caudalis in rats // PLoS One. 2013. Т. 8, № 8. С. e73022.

141. Robert C. и др. Paraventricular Hypothalamic Regulation of Trigeminovascular Mechanisms Involved in Headaches // J. Neurosci. 2013. Т. 33, № 20. С. 8827–8840.

142. Condés-Lara M. и др. Hypothalamic Paraventricular Stimulation Inhibits Nociceptive Wide Dynamic Range Trigeminocervical Complex Cells via Oxytocinergic Transmission // J Neurosci. 2024. Т. 44, № 17. С. e1501232024.

143. Wang Y. и др. Repeated oxytocin prevents central sensitization by regulating synaptic plasticity via oxytocin receptor in a chronic migraine mouse model // J Headache Pain. 2021. Т. 22, № 1. С. 84.

144. Krause D. N. и др. Hormonal influences in migraine — interactions of oestrogen, oxytocin and CGRP // Nat Rev Neurol. 2021. Т. 17, № 10. С. 621–633.

145. Fitzek M. P. и др. Oxytocin receptor antagonism in migraine: a randomized, double-blind, placebo-controlled provocation study // J Headache Pain. 2026. Т. 27, № 1. С. 54.

146. Bernard V., Young J., Binart N. Prolactin — a pleiotropic factor in health and disease // Nat Rev Endocrinol. 2019. Т. 15, № 6. С. 356–365.

147. Al-Karagholi M. A.-M. и др. Prolactin in headache and migraine: A systematic review of clinical studies // Cephalalgia. 2023. Т. 43, № 2. С. 3331024221136286.

148. Meek D. W., Nimmo H. G. Effects of phosphorylation on the kinetic properties of rat liver fructose-1,6-bisphosphatase // Biochem J. 1984. Т. 222, № 1. С. 125–130.

149. Oliveira M. da C. и др. Resolution of headache after reduction of prolactin levels in hyperprolactinemic patients // Arq Neuropsiquiatr. 2020. Т. 78, № 1. С. 28–33.

150. Kallestrup M.-M. и др. Prolactinoma-associated headache and dopamine agonist treatment // Cephalalgia. 2014. Т. 34, № 7. С. 493–502.

151. Salinas-Abarca A. B. и др. The role and interaction of hypothalamic-related neurotransmitters in migraine // J Headache Pain. 2025. Т. 26, № 1. С. 110.

152. Avona A. и др. Meningeal CGRP‐Prolactin Interaction Evokes Female‐Specific Migraine Behavior // Annals of Neurology. 2021. Т. 89, № 6. С. 1129–1144.

153. Bartsch T. и др. Differential modulation of nociceptive dural input to [hypocretin] orexin A and B receptor activation in the posterior hypothalamic area // Pain. 2004. Т. 109, № 3. С. 367–378.

154. Kooshki R. и др. Activation orexin 1 receptors in the ventrolateral periaqueductal gray matter attenuate nitroglycerin-induced migraine attacks and calcitonin gene related peptide up-regulation in trigeminal nucleus caudalis of rats // Neuropharmacology. 2020. Т. 178. С. 107981.

155. Cady R. J. и др. Dual orexin receptor antagonist 12 inhibits expression of proteins in neurons and glia implicated in peripheral and central sensitization // Neuroscience. 2014. Т. 269. С. 79–92.

156. Chabi A. и др. Randomized controlled trial of the orexin receptor antagonist filorexant for migraine prophylaxis // Cephalalgia. 2015. Т. 35, № 5. С. 379–388.

157. Cavadas C. и др. NPY Regulates Catecholamine Secretion from Human Adrenal Chromaffin Cells // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2001. Т. 86, № 12. С. 5956–5963.

158. Gallai V. и др. Neuropeptide Y in juvenile migraine and tension-type headache // Headache. 1994. Т. 34, № 1. С. 35–40.

159. Oliveira M.-M. и др. Neuropeptide Y inhibits the trigeminovascular pathway through NPY Y1 receptor: implications for migraine // Pain. 2016. Т. 157, № 8. С. 1666–1673.

160. Bartsch T. и др. Inhibition of nociceptive dural input in the trigeminal nucleus caudalis by somatostatin receptor blockade in the posterior hypothalamus // Pain. 2005. Т. 117, № 1. С. 30–39.

161. Matharu M. S. и др. Subcutaneous octreotide in cluster headache: randomized placebo-controlled double-blind crossover study // Ann Neurol. 2004. Т. 56, № 4. С. 488–494.

162. Levy M. J. и др. Octreotide is not effective in the acute treatment of migraine // Cephalalgia. 2005. Т. 25, № 1. С. 48–55.

163. DaSilva A. F. M. и др. Somatotopic Activation in the Human Trigeminal Pain Pathway // J. Neurosci. 2002. Т. 22, № 18. С. 8183–8192.

164. Magon S. и др. Morphological Abnormalities of Thalamic Subnuclei in Migraine: A Multicenter MRI Study at 3 Tesla // J Neurosci. 2015. Т. 35, № 40. С. 13800–13806.

165. Rubin J. и др. Phase II study of 9-10 anthracene-dicarboxaldehyde bis(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl) hydrazone dihydrochloride (CL216,942; ADAH) in patients with advanced colorectal carcinoma // Am J Clin Oncol. 1983. Т. 6, № 4. С. 477–479.

166. Amin F. M. и др. Altered thalamic connectivity during spontaneous attacks of migraine without aura: A resting-state fMRI study // Cephalalgia. 2018. Т. 38, № 7. С. 1237–1244.

167. Lipton R. B. и др. Cutaneous allodynia in the migraine population // Ann Neurol. 2008. Т. 63, № 2. С. 148–158.

168. Burstein R. и др. Thalamic sensitization transforms localized pain into widespread allodynia // Ann Neurol. 2010. Т. 68, № 1. С. 81–91.

169. Strassman A. M., Raymond S. A., Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches // Nature. 1996. Т. 384, № 6609. С. 560–564.

170. Boyer N. и др. General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression // Pain. 2014. Т. 155, № 7. С. 1196–1205.

171. Burstein R. и др. Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons // J Neurophysiol. 1998. Т. 79, № 2. С. 964–982.

172. Veinante P., Jacquin M. F., Deschênes M. Thalamic projections from the whisker-sensitive regions of the spinal trigeminal complex in the rat // J Comp Neurol. 2000. Т. 420, № 2. С. 233–243.

173. Galdino G., Veras F. P., Dos Anjos-Garcia T. The Role of the Thalamus in Nociception: Important but Forgotten // Brain Sciences. 2024. Т. 14, № 8. С. 741.

174. Rohatgi R. и др. Utility of positron emission tomography in predicting cardiac events and survival in patients with coronary artery disease and severe left ventricular dysfunction // Am J Cardiol. 2001. Т. 87, № 9. С. 1096–1099, A6.

175. Coppola G. и др. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on somatosensory evoked potentials and high frequency oscillations in migraine // Cephalalgia. 2012. Т. 32, № 9. С. 700–709.

176. Dodd R. More comments on ethics of alternative therapies // J Am Vet Med Assoc. 2001. Т. 218, № 7. С. 1082–1083; author reply 1083-1084.

177. Wei H.-L. и др. Impaired functional connectivity of limbic system in migraine without aura // Brain Imaging and Behavior. 2020. Т. 14, № 5. С. 1805–1814.

178. Jassar H. и др. Impact of chronic migraine attacks and their severity on the endogenous μ-opioid neurotransmission in the limbic system // NeuroImage: Clinical. 2019. Т. 23. С. 101905.

179. Bu F. и др. Inhibition of NR2A reduces calcitonin gene-related peptide gene expression induced by cortical spreading depression in rat amygdala // Neuropeptides. 2020. Т. 84. С. 102097.

180. Wilcox S. L. и др. Increased Functional Activation of Limbic Brain Regions during Negative Emotional Processing in Migraine // Front. Hum. Neurosci. 2016. Т. 10.

181. Sakalinskas M. A., Martinkenas L. V. [Disturbances in auditory analyzer function in patients with fractures of the cranial base during the acute stage of cranial-brain trauma] // Vestn Otorinolaringol. 1971. Т. 33, № 1. С. 46–52.

182. Chen L. и др. Trigeminal nerve direct current stimulation causes sustained increase in neural activity in the rat hippocampus // Brain Stimulation. 2024. Т. 17, № 3. С. 648–659.

183. Maleki N. и др. Common hippocampal structural and functional changes in migraine // Brain Struct Funct. 2013. Т. 218, № 4. С. 903–912.

184. Yu Y. и др. Headache frequency associates with brain microstructure changes in patients with migraine without aura // Brain Imaging and Behavior. 2021. Т. 15, № 1. С. 60–67.

185. Liu H.-Y., Chou K.-H., Chen W.-T. Migraine and the Hippocampus // Curr Pain Headache Rep. 2018. Т. 22, № 2. С. 13.

186. Chong C. D., Dumkrieger G. M., Schwedt T. J. Structural Co‐Variance Patterns in Migraine: A Cross‐Sectional Study Exploring the Role of the Hippocampus // Headache. 2017. Т. 57, № 10. С. 1522–1531.

187. Aimone J. B. и др. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition // Physiol Rev. 2014. Т. 94, № 4. С. 991–1026.

188. Tuncdemir S. N., Lacefield C. O., Hen R. Contributions of adult neurogenesis to dentate gyrus network activity and computations // Behavioural Brain Research. 2019. Т. 374. С. 112112.

189. Tsetsenis T., Broussard J. I., Dani J. A. Dopaminergic regulation of hippocampal plasticity, learning, and memory // Front. Behav. Neurosci. 2023. Т. 16. С. 1092420.

190. Edelmann E., Lessmann V. Dopaminergic innervation and modulation of hippocampal networks // Cell Tissue Res. 2018. Т. 373, № 3. С. 711–727.

191. Schmitz N. и др. Frontal lobe structure and executive function in migraine patients // Neuroscience Letters. 2008. Т. 440, № 2. С. 92–96.

192. Webb-Peploe M. M., Spathis G. S., Reed P. I. Cushing’s syndrome: use of lysine vasopressin to distinguish overproduction of corticotrophin by pituitary from other causes of adrenal cortical hyperfunction // Lancet. London, England, 1967. Т. 1, № 7483. С. 195–197.

193. Mohamad Safiai N. I. и др. High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation at dorsolateral prefrontal cortex for migraine prevention: A systematic review and meta-analysis // Cephalalgia. 2022. Т. 42, № 10. С. 1071–1085.

194. Charlton B. и др. A comparison of the effects of plasma exchange and immunoadsorption on anti-insulin antibody synthesis in rabbits // Clin Exp Immunol. 1988. Т. 72, № 2. С. 326–329.

195. Bliss T. V. P. и др. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain // Nat Rev Neurosci. 2016. Т. 17, № 8. С. 485–496.

196. Jin C. и др. Structural and functional abnormalities in migraine patients without aura // NMR Biomed. 2013. Т. 26, № 1. С. 58–64.

197. Ou Y. и др. Structural and functional changes of anterior cingulate cortex subregions in migraine without aura: relationships with pain sensation and pain emotion // Cerebral Cortex. 2024. Т. 34, № 2. С. bhae040.

198. Hodkinson D. J. и др. Primary Somatosensory Cortices Contain Altered Patterns of Regional Cerebral Blood Flow in the Interictal Phase of Migraine // PLoS ONE / под ред. Fuh J.-L. 2015. Т. 10, № 9. С. e0137971.

199. Lang E. Hyperexcitability of the primary somatosensory cortex in migraine--a magnetoencephalographic study // Brain. 2004. Т. 127, № 11. С. 2459–2469.

200. Thörig L., Bill A. Effects of B-HT 920 in the eye and on regional blood flows in anaesthetized and conscious rabbits // Curr Eye Res. 1986. Т. 5, № 8. С. 565–573.

201. Kim J. H. и др. Thickening of the somatosensory cortex in migraine without aura // Cephalalgia. 2014. Т. 34, № 14. С. 1125–1133.

202. Gollion C. и др. Somatosensory migraine auras evoked by bihemispheric cortical spreading depression events in human parietal cortex // J Cereb Blood Flow Metab. 2025. Т. 45, № 3. С. 558–567.

203. Hansen J. M. и др. Distinctive anatomical and physiological features of migraine aura revealed by 18 years of recording // Brain. 2013. Т. 136, № 12. С. 3589–3595.

204. Salminen-Vaparanta N. и др. Subjective characteristics of TMS-induced phosphenes originating in human V1 and V2 // Cereb Cortex. New York, N.Y. : 1991, 2014. Т. 24, № 10. С. 2751–2760.

205. Boulloche N. и др. Photophobia in migraine: an interictal PET study of cortical hyperexcitability and its modulation by pain // J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2010. Т. 81, № 9. С. 978–984.

206. Brigo F. и др. Primary visual cortex excitability in migraine: a systematic review with meta-analysis // Neurol Sci. 2013. Т. 34, № 6. С. 819–830.

207. Schwedt T. J., Berisha V., Chong C. D. Temporal lobe cortical thickness correlations differentiate the migraine brain from the healthy brain // PLoS One. 2015. T. 10, № 2. C. e0116687.

208. Coppola G. и др. Evidence for brain morphometric changes during the migraine cycle: a magnetic resonance-based morphometry study // Cephalalgia. 2015. T. 35, № 9. C. 783–791.

209. Dai W. и др. Cortical mechanisms in migraine // Mol Pain. 2021. T. 17. C. 17448069211050246.

210. Vikelis M., Mitsikostas D. D. The role of glutamate and its receptors in migraine // CNS Neurol Disord Drug Targets. 2007. T. 6, № 4. C. 251–257.

211. Bell T. и др. GABA and glutamate in pediatric migraine // Pain. 2021. T. 162, № 1. C. 300–308.

212. Aggarwal M., Puri V., Puri S. Serotonin and CGRP in migraine // Ann Neurosci. 2012. T. 19, № 2. C. 88–94.

213. Nieoullon A., Coquerel A. Dopamine: a key regulator to adapt action, emotion, motivation and cognition // Curr Opin Neurol. 2003. T. 16 Suppl 2. C. S3-9.

214. Hjelholt A. J. и др. Dopamine and prolactin in migraine: Mechanisms and potential therapeutic targets // J Neuroendocrinol. 2025. T. 37, № 12. C. e70098.

215. Sicuteri F. Dopamine, the second putative protagonist in headache // Headache. 1977. T. 17, № 3. C. 129–131.

216. May A., Burstein R. Hypothalamic regulation of headache and migraine // Cephalalgia. 2019. T. 39, № 13. C. 1710–1719.

217. Jones J. и др. Randomized double-blind trial of intravenous prochlorperazine for the treatment of acute headache // JAMA. 1989. T. 261, № 8. C. 1174–1176.

218. Marmura M. J. Use of dopamine antagonists in treatment of migraine // Curr Treat Options Neurol. 2012. T. 14, № 1. C. 27–35.

219. Cerbo R. и др. Dopamine hypersensitivity in migraine: role of the apomorphine test // Clin Neuropharmacol. 1997. T. 20, № 1. C. 36–41.

220. Blin O. и др. Apomorphine-induced yawning in migraine patients: enhanced responsiveness // Clin Neuropharmacol. 1991. Т. 14, № 1. С. 91–95.

221. Del Zompo M. и др. Dopamine hypersensitivity in migraine: role in apomorphine syncope // Headache. 1995. Т. 35, № 4. С. 222–224.

222. Serra G., Collu M., Gessa G. L. Yawning is elicited by D2 dopamine agonists but is blocked by the D1 antagonist, SCH 23390 // Psychopharmacology. 1987. Т. 91, № 3. С. 330–333.

223. Edvinsson L. и др. Vasomotor response of cerebral blood vessels to dopamine and dopaminergic agonists // Adv Neurol. 1978. Т. 20. С. 85–96.

224. Edvinsson L., McCulloch J., Sharkey J. Vasomotor responses of cerebral arterioles in situ to putative dopamine receptor agonists // Br J Pharmacol. 1985. Т. 85, № 2. С. 403–410.

225. Bergerot A., Storer R. J., Goadsby P. J. Dopamine inhibits trigeminovascular transmission in the rat // Ann Neurol. 2007. Т. 61, № 3. С. 251–262.

226. Orazzo C. и др. CGRP-like immunoreactivity in A11 dopamine neurons projecting to the spinal cord and a note on CGRP-CCK cross-reactivity // Brain Res. 1993. Т. 600, № 1. С. 39–48.

227. D’Andrea G. и др. Platelet Levels of Dopamine Are Increased in Migraine and Cluster Headache // Headache. 2006. Т. 46, № 4. С. 585–591.

228. DaSilva A. F. и др. Dopamine D2/D3 imbalance during migraine attack and allodynia in vivo // Neurology. 2017. Т. 88, № 17. С. 1634–1641.

229. Ha W.-S. и др. The association between migraine and Parkinson’s disease: a nationwide cohort study // Epidemiol Health. 2024. Т. 46. С. e2024010.

230. Barbanti P. и др. Dopamine and migraine: does Parkinson’s disease modify migraine course? // Cephalalgia. 2000. Т. 20, № 8. С. 720–723.

231. Leo D. и др. Pronounced Hyperactivity, Cognitive Dysfunctions, and BDNF Dysregulation in Dopamine Transporter Knock-out Rats // J Neurosci. 2018. Т. 38, № 8. С. 1959–1972.

232. Malhotra R. Understanding migraine: Potential role of neurogenic inflammation // Ann Indian Acad Neurol. 2016. Т. 19, № 2. С. 175–182.

233. Kölliker-Frers R. и др. Neuroinflammation: An Integrating Overview of Reactive-Neuroimmune Cell Interactions in Health and Disease // Mediators Inflamm. 2021. Т. 2021. С. 9999146.

234. Kursun O. и др. Migraine and neuroinflammation: the inflammasome perspective // J Headache Pain. 2021. Т. 22, № 1. С. 55.

235. Giovannini G., Meletti S. Fluid Biomarkers of Neuro-Glial Injury in Human Status Epilepticus: A Systematic Review // IJMS. 2023. Т. 24, № 15. С. 12519.

236. McManus R. M., Heneka M. T. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights // Alzheimers Res Ther. 2017. Т. 9, № 1. С. 14.

237. Lu W. и др. Targeting glial-orchestrated neuroinflammation in migraine pathophysiology // J Headache Pain. 2026. Т. 27, № 1. С. 52.

238. Vidal-Itriago A. и др. Microglia morphophysiological diversity and its implications for the CNS // Front Immunol. 2022. Т. 13. С. 997786.

239. Figuera-Losada M., Rojas C., Slusher B. S. Inhibition of Microglia Activation as a Phenotypic Assay in Early Drug Discovery // SLAS Discovery. 2014. Т. 19, № 1. С. 17–31.

240. Wendt S. и др. Experimental Cortical Spreading Depression Induces NMDA Receptor Dependent Potassium Currents in Microglia // J Neurosci. 2016. Т. 36, № 23. С. 6165–6174.

241. Pusic K. M. и др. Spreading depression requires microglia and is decreased by their M2a polarization from environmental enrichment // Glia. 2014. Т. 62, № 7. С. 1176–1194.

242. Butovsky O. и др. Identification of a unique TGF-β–dependent molecular and functional signature in microglia // Nat Neurosci. 2014. Т. 17, № 1. С. 131–143.

243. Butovsky O., Weiner H. L. Microglial signatures and their role in health and disease // Nat Rev Neurosci. 2018. Т. 19, № 10. С. 622–635.

244. Zöller T. и др. Silencing of TGFβ signalling in microglia results in impaired homeostasis // Nat Commun. 2018. Т. 9, № 1. С. 4011.

245. Patel R. K. и др. Transforming growth factor-beta 1 signaling regulates neuroinflammation and apoptosis in mild traumatic brain injury // Brain, Behavior, and Immunity. 2017. Т. 64. С. 244–258.

246. Gilbert R., Vickaryous M., Viloria-Petit A. Signalling by Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Wound Healing and Tissue Regeneration // JDB. 2016. Т. 4, № 2. С. 21.

247. Zhou X., Spittau B., Krieglstein K. TGFβ signalling plays an important role in IL4-induced alternative activation of microglia // J Neuroinflammation. 2012. Т. 9, № 1. С. 210.

248. Depino A. M., Lucchina L., Pitossi F. Early and adult hippocampal TGF-β1 overexpression have opposite effects on behavior // Brain Behav Immun. 2011. Т. 25, № 8. С. 1582–1591.

249. Sofroniew M. V., Vinters H. V. Astrocytes: biology and pathology // Acta Neuropathol. 2010. Т. 119, № 1. С. 7–35.

250. Zhang D. и др. Astrogliosis in CNS Pathologies: Is There A Role for Microglia? // Mol Neurobiol. 2010. Т. 41, № 2–3. С. 232–241.

251. Giovannoni F., Quintana F. J. The Role of Astrocytes in CNS Inflammation // Trends Immunol. 2020. Т. 41, № 9. С. 805–819.

252. Villarreal A. и др. S100B alters neuronal survival and dendrite extension via RAGE‐mediated NF‐κB signaling // Journal of Neurochemistry. 2011. Т. 117, № 2. С. 321–332.

253. Michetti F. и др. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury // Journal of Neurochemistry. 2019. Т. 148, № 2. С. 168–187.

254. Bedetta M., Pizzo P., Lia A. The Multifaceted Role of P2X7R in Microglia and Astrocytes // Neurochem Res. 2025. Т. 50, № 4. С. 239.

255. Yue N. и др. Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors // J Neuroinflammation. 2017. Т. 14, № 1. С. 102.

256. Uzay B. и др. The effect of P2X7 antagonism on subcortical spread of optogenetically-triggered cortical spreading depression and neuroinflammation // J Headache Pain. 2024. Т. 25, № 1. С. 120.

257. Manack A. N., Buse D. C., Lipton R. B. Chronic migraine: epidemiology and disease burden // Curr Pain Headache Rep. 2011. Т. 15, № 1. С. 70–78.

258. Cuautle D. G. и др. Pathological remodeling of reactive astrocytes: Involvement of DNA methylation and downregulation of homeostatic genes // Journal of Neurochemistry. 2024. Т. 168, № 9. С. 2935–2955.

259. Huang M. и др. Microglial immune regulation by epigenetic reprogramming through histone H3K27 acetylation in neuroinflammation // Front. Immunol. 2023. Т. 14. С. 1052925.

260. Keating S. T., El-Osta A. What’s past is prologue: epigenetic memory links transient inflammation to future disease // Sig Transduct Target Ther. 2026. Т. 11, № 1. С. 256.

261. Cropper H. C. и др. Glial activation in pain and emotional processing regions in the nitroglycerin mouse model of chronic migraine // Headache. 2024. Т. 64, № 8. С. 973–982.

262. Liddelow S. A. и др. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia // Nature. 2017. Т. 541, № 7638. С. 481–487.

263. Conti F., Pietrobon D. Astrocytic Glutamate Transporters and Migraine // Neurochem Res. 2023. Т. 48, № 4. С. 1167–1179.

264. Romanos J. и др. Astrocyte dysfunction increases cortical dendritic excitability and promotes cranial pain in familial migraine // Sci. Adv. 2020. Т. 6, № 23. С. eaaz1584.

265. Chang Y. и др. Evidence for brain glial activity in chronic migraine patients: a [11C] PBR28 PET/MR study // Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2025. Т. 52, № 11. С. 4334–4344.

266. Albrecht D. S. и др. Imaging of neuroinflammation in migraine with aura: A [11C]PBR28 PET/MRI study // Neurology. 2019. Т. 92, № 17. С. e2038–e2050.

267. Bonin R. P., Bories C., De Koninck Y. A simplified up-down method (SUDO) for measuring mechanical nociception in rodents using von Frey filaments // Mol Pain. 2014. Т. 10. С. 26.

268. Wilkins A. J. и др. Photophobia in migraine: A symptom cluster? // Cephalalgia. 2021. Т. 41, № 11–12. С. 1240–1248.

269. Ramabadran K. и др. Tail immersion test for the evaluation of a nociceptive reaction in mice. Methodological considerations // J Pharmacol Methods. 1989. Т. 21, № 1. С. 21–31.

270. Gerasimova E. и др. Hyperhomocysteinemia increases susceptibility to cortical spreading depression associated with photophobia, mechanical allodynia, and anxiety in rats // Behavioural Brain Research. 2021. Т. 409. С. 113324.

271. Nasretdinov A. и др. Direct Current Coupled Recordings of Cortical Spreading Depression Using Silicone Probes // Front. Cell. Neurosci. 2017. Т. 11. С. 408.

272. Quiroga R. Q., Nadasdy Z., Ben-Shaul Y. Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering // Neural Comput. 2004. Т. 16, № 8. С. 1661–1687.

273. Leys C. и др. Detecting outliers: Do not use standard deviation around the mean, use absolute deviation around the median // Journal of Experimental Social Psychology. 2013. Т. 49, № 4. С. 764–766.

274. Cimolato A., Katic N., Raspopovic S. Modern approaches of signal processing for bidirectional neural interfaces // Somatosensory Feedback for Neuroprosthetics. Elsevier, 2021. С. 631–659.

275. Kochneva A. A. и др. Neuroinflammatory and Redox Responses in a Rat Model of NTG-Induced Migraine // IJMS. 2025. Т. 27, № 1. С. 26.

276. Tyrtyshnaia A. и др. N-Docosahexanoylethanolamine Reduces Microglial Activation and Improves Hippocampal Plasticity in a Murine Model of Neuroinflammation // IJMS. 2020. Т. 21, № 24. С. 9703.

277. Martinez A. и др. Characterization of microglia behaviour in healthy and pathological conditions with image analysis tools // Open Biol. 2023. Т. 13, № 1. С. 220200.

278. Raudenská J. и др. Anxiety Disorders, Anxious Symptomology and Related Behaviors Associated With Migraine: A Narrative Review of Prevalence and Impact // Curr Pain Headache Rep. 2025. Т. 29, № 1. С. 40.

279. Zhang X. Y. и др. A systematic review and meta-analysis of thigmotactic behaviour in the open field test in rodent models associated with persistent pain // PLoS ONE / под ред. Hrncic D. 2023. Т. 18, № 9. С. e0290382.

280. Li T. и др. Microglia induce the transformation of A1/A2 reactive astrocytes via the CXCR7/PI3K/Akt pathway in chronic post-surgical pain // J Neuroinflammation. 2020. Т. 17, № 1. С. 211.

281. Zhao Y.-F., Tang Y., Illes P. Astrocytic and Oligodendrocytic P2X7 Receptors Determine Neuronal Functions in the CNS // Front. Mol. Neurosci. 2021. Т. 14. С. 641570.

282. Jimenez-Mateos E. M. и др. Regulation of P2X7 receptor expression and function in the brain // Brain Res Bull. 2019. Т. 151. С. 153–163.

283. Tepe N. и др. The thalamic reticular nucleus is activated by cortical spreading depression in freely moving rats: prevention by acute valproate administration // Eur J of Neuroscience. 2015. Т. 41, № 1. С. 120–128.

284. Abdelmonem H. и др. The efficacy and safety of metoclopramide in relieving acute migraine attacks compared with other anti-migraine drugs: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials // BMC Neurol. 2023. Т. 23, № 1. С. 221.

285. Siegel R. B., Motov S. M., Marcolini E. G. Droperidol Use in the Emergency Department: A Clinical Review // J Emerg Med. 2023. Т. 64, № 3. С. 289–294.

286. Huang M. и др. Differential roles of dopamine D1 and D2 receptors in pain modulation: a review // Front. Neurol. 2026. Т. 17. С. 1802976.

287. Pradhan A. A. и др. Characterization of a novel model of chronic migraine // Pain. 2014. Т. 155, № 2. С. 269–274.

288. Harris H. M. и др. The effects of repeated nitroglycerin administrations in rats; modeling migraine-related endpoints and chronification // J Neurosci Methods. 2017. Т. 284. С. 63–70.

289. Tassorelli C. и др. Nitroglycerin induces hyperalgesia in rats--a time-course study // Eur J Pharmacol. 2003. Т. 464, № 2–3. С. 159–162.

290. Eikermann-Haerter K., Ayata C. Cortical spreading depression and migraine // Curr Neurol Neurosci Rep. 2010. Т. 10, № 3. С. 167–173.

291. Ayata C., Lauritzen M. Spreading Depression, Spreading Depolarizations, and the Cerebral Vasculature // Physiological Reviews. 2015. Т. 95, № 3. С. 953–993.

292. Pradhan A. A. и др. Characterization of a novel model of chronic migraine // Pain. 2014. Т. 155, № 2. С. 269–274.

293. Villarreal A. и др. S100B protein activates a RAGE‐dependent autocrine loop in astrocytes: implications for its role in the propagation of reactive gliosis // Journal of Neurochemistry. 2014. Т. 131, № 2. С. 190–205.

294. Breslau N. и др. Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis // Neurology. 2003. Т. 60, № 8. С. 1308–1312.

295. Ferrari M. D. и др. Migraine // Nat Rev Dis Primers. 2022. Т. 8, № 1. С. 2.

296. Goadsby P. J. и др. Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing // Physiol Rev. 2017. Т. 97, № 2. С. 553–622.

297. Goepfrich A. A. и др. Behavioral differences in three Wistar Han rat lines for emotional reactivity, cognitive processing and ethanol intake // Physiology & Behavior. 2013. Т. 110–111. С. 102–108.

298. DeLeo J. A., Rutkowski M. D. Gender differences in rat neuropathic pain sensitivity is dependent on strain // Neuroscience Letters. 2000. Т. 282, № 3. С. 197–199.

299. Richards J. B. и др. Strong genetic influences on measures of behavioral‐regulation among inbred rat strains // Genes Brain and Behavior. 2013. Т. 12, № 5. С. 490–502.

300. Pedersen S. H. и др. Mechanisms of glyceryl trinitrate provoked mast cell degranulation // Cephalalgia. 2015. Т. 35, № 14. С. 1287–1297.

301. Reuter U. и др. Delayed inflammation in rat meninges: implications for migraine pathophysiology // Brain. 2001. Т. 124, № Pt 12. С. 2490–2502.

302. Erdener Ş. E., Kaya Z., Dalkara T. Parenchymal neuroinflammatory signaling and dural neurogenic inflammation in migraine // J Headache Pain. 2021. Т. 22, № 1. С. 138.

303. Gaskill P. J., Khoshbouei H. Dopamine and norepinephrine are embracing their immune side and so should we // Current Opinion in Neurobiology. 2022. Т. 77. С. 102626.

304. Mori T. и др. D1-like dopamine receptors antagonist inhibits cutaneous immune reactions mediated by Th2 and mast cells // Journal of Dermatological Science. 2013. Т. 71, № 1. С. 37–44.

305. Seol I.-W., Kuo N. Y., Kim K. M. Effects of dopaminergic drugs on the mast cell degranulation and nitric oxide generation in RAW 264.7 cells // Arch Pharm Res. 2004. Т. 27, № 1. С. 94–98.

306. Svitko S. и др. Comparison of Dopamine and Tyramine Action on the Firing Rate of Trigeminal Dural Afferents in Wild Type and DAT-HET Rats // Biochem. Moscow Suppl. Ser. A. 2025. Т. 19, № 1. С. 106–114.

307. Liu Q. и др. α7 Nicotinic acetylcholine receptor-mediated anti-inflammatory effect in a chronic migraine rat model via the attenuation of glial cell activation // J Pain Res. 2018. Т. 11. С. 1129–1140.

308. Sierra A. и др. Neuronal hyperactivity accelerates depletion of neural stem cells and impairs hippocampal neurogenesis // Cell Stem Cell. 2015. Т. 16, № 5. С. 488–503.

309. Michetti F. и др. The S100B Protein: A Multifaceted Pathogenic Factor More Than a Biomarker // IJMS. 2023. Т. 24, № 11. С. 9605.

310. Sun S. и др. Microglia TREM1-mediated neuroinflammation contributes to central sensitization via the NF-κB pathway in a chronic migraine model // J Headache Pain. 2024. Т. 25, № 1. С. 3.

311. Sun M. и др. Astrocyte-Microglia Crosstalk: A Novel Target for the Treatment of Migraine // Aging and disease. 2023. С. 0.

312. Salter M. W., Stevens B. Microglia emerge as central players in brain disease // Nat Med. 2017. Т. 23, № 9. С. 1018–1027.

313. Favetta G., Bubacco L. Beyond neurons: How does dopamine signaling impact astrocytic functions and pathophysiology? // Progress in Neurobiology. 2025. Т. 251. С. 102798.

314. Fan Y. и др. Differential Regulation of Adhesion and Phagocytosis of Resting and Activated Microglia by Dopamine // Front. Cell. Neurosci. 2018. Т. 12. С. 309.

315. Vidal P. M., Pacheco R. The Cross-Talk Between the Dopaminergic and the Immune System Involved in Schizophrenia // Front. Pharmacol. 2020. Т. 11. С. 394.

316. Coppola G. и др. Cortical pain processing in migraine // J Neural Transm. 2020. Т. 127, № 4. С. 551–566.

317. Sánchez-González M. A. и др. The primate thalamus is a key target for brain dopamine // J Neurosci. 2005. Т. 25, № 26. С. 6076–6083.

318. Nishikawa Y. и др. Anti-inflammatory effects of dopamine on microglia and a D1 receptor agonist ameliorates neuroinflammation of the brain in a rat delirium model // Neurochemistry International. 2023. Т. 163. С. 105479.

319. Kamal M.-A. M. и др. Modafinil Ameliorated Fibromyalgia Syndrome in Rats by Modulating Mast Cells and Microglia Activation Through Dopamine/Substance P/MRGPRX/Histamine and PI3K/p-Akt/NF-κB Signaling Pathways // J Neuroimmune Pharmacol. 2025. Т. 20, № 1. С. 38.

320. Dominguez-Meijide A. и др. Dopamine modulates astroglial and microglial activity via glial renin-angiotensin system in cultures // Brain, Behavior, and Immunity. 2017. Т. 62. С. 277–290.

321. Barbanti P. и др. Dopaminergic symptoms in migraine // Neurol Sci. 2013. Т. 34, № S1. С. 67–70.

322. Guerrero Prieto S. C., Cabrera Baez M., Araújo Guedes R. C. Cortical spreading depression dynamics are altered by topical D2 receptor ligands // J Gen Physiol. 2025. Т. 157, № 6. С. e202513843.

323. Del Zompo M. Dopaminergic hypersensitivity in migraine: clinical and genetic evidence // Funct Neurol. 2000. Т. 15 Suppl 3. С. 163–170.

324. Brankačk J. и др. Similarities and differences between natural sleep and urethane anesthesia // Sci Rep. 2025. Т. 15, № 1. С. 18270.

325. Vitale M. и др. Mechanisms of initiation of cortical spreading depression // J Headache Pain. 2023. Т. 24, № 1. С. 105.

326. Wernsmann B. и др. Effect of cortical spreading depression on synaptic transmission of rat hippocampal tissues // Eur J of Neuroscience. 2006. Т. 23, № 5. С. 1103–1110.

327. Iqbal Chowdhury G. M. и др. Cortical spreading depression affects Fos expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and the cerebral cortex of both hemispheres // Neurosci Res. 2003. Т. 45, № 2. С. 149–155.

328. Ingvardsen K. B. и др. Possible mechanism of c-fos expression in trigeminal nucleus caudalis following cortical spreading depression: // Pain. 1997. Т. 72, № 3. С. 407–415.

329. Schock S. C. и др. Cortical spreading depression releases ATP into the extracellular space and purinergic receptor activation contributes to the induction of ischemic tolerance // Brain Res. 2007. Т. 1168. С. 129–138.

330. Illes P. и др. Regulation of Microglial Functions by Purinergic Mechanisms in the Healthy and Diseased CNS // Cells. 2020. Т. 9, № 5. С. 1108.