

На правах рукописи

СОКОЛОВ

Алексей Юрьевич

**НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА МИГРЕНИ
И АНТИЦЕФАЛГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СРЕДСТВ
ЕЁ ЛЕКАРСТВЕННОЙ И НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ**

03.03.01 – физиология

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург - 2019

Работа выполнена в лаборатории кортико-висцеральной физиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук.

Научные консультанты: **Любашина Ольга Анатольевна**,
доктор биологических наук
Звартау Эдвин Эдуардович,
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Веселкин Николай Петрович**,
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный
руководитель ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и
биохимии им. И.М.Сеченова» РАН, Санкт-Петербург
Спасов Александр Алексеевич,
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ФГБОУ
ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Волгоград
Корешкина Марина Игоревна,
доктор медицинских наук, невролог, руководитель Центра
лечения головной боли ООО «АВА-ПЕТЕР», Санкт-Петербург

Ведущее учреждение: Московский государственный медико-стоматологический университет
имени А.И.Евдокимова

Защита состоится «17» июня 2019 года в 13 часов на заседании Диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.020.01 при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН по адресу: 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6) и на сайте <http://www.infran.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
доктор биологических наук

Н.Э. Ордян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Мигрень представляет собой одну из форм первичных головных болей (ГБ) и небезосновательно рассматривается как инвалидизирующее заболевание, существенно снижающее качество жизни и нарушающее все виды деятельности человека (Амелин А.В. и др., 2011; Agosti R., 2018). Кроме причинения субъективных страданий из-за ощущения боли и сопутствующих сенсорных и вегетативных нарушений, эта цефалгия осложняет течение коморбидных патологий (эпилепсия, нейродегенеративные заболевания, болевые синдромы другой локализации и т.д.), а также является фактором риска развития сердечно-сосудистых катастроф (инфаркт миокарда, инсульт) и психических (депрессия) расстройств (Зенкевич А.С. и др., 2015; Amoozegar A., 2017; Zarccone D., Corbetta S., 2017; Adelborg K. et al., 2018). Мигрень поражает не менее 10% населения планеты, причем максимум заболеваемости приходится на наиболее трудоспособный (25-50 лет) возраст, что сопровождается существенными финансовыми потерями за счет прямых (стоимость обследования и лечения) и косвенных (снижение производительности труда и утрата рабочих дней) материальных убытков (Steiner T.J. et al., 2013; Ayzenberg I. et al., 2014; Agosti R., 2018).

Базовая теория патогенеза этой ГБ носит название «тригемино-вазкулярной» и предлагает рассматривать её как нейрососудистое расстройство. Действительно, анатомо-физиологическим субстратом данной цефалгии является так называемая тригемино-вазкулярная система (ТВС), состоящая из экстра- и интракраниальных сосудов, включая артерии и вены мозговых оболочек, а также периферических и центральных образований тройничного нерва, участвующих в формировании восходящего тригемино-таламо-кортикального пути. Согласно современным представлениям, симптоматика мигрени связана с тем, что либо спонтанно, либо под действием различных внешних факторов, при посредничестве коры и/или супраспинальных структур, происходит активация ТВС, сопровождающаяся существенным усилением восходящего тригемино-таламического ноцицептивного трафика. Ключевую роль в этом процессе играют спинальное ядро тройничного нерва (СЯТН) и вентральное заднемедиальное ядро таламуса (ВЗМЯ), повышение возбудимости нейронов которых рассматривается как важная составляющая нейробиологии мигрени, во многом определяющая нюансы клинической картины и способствующая хронизации этого заболевания (Burstein R. et al., 2015; Akerman S. et al., 2017; Goadsby P.J. et al., 2017). Однако представления о нейрофизиологических признаках сенситизации указанных клеток сформулированы недостаточно четко, а роль этого феномена в развитии коморбидных мигрени заболеваний вообще не установлена. Это требует детального изучения функциональной активности клеток СЯТН и ВЗМЯ в

условиях, максимально имитирующих состояние ГВС при цефалгиях, что возможно осуществить лишь в эксперименте на животных.

Лечение мигрени подразумевает купирование приступа ГБ и профилактику его возникновения, при этом используются как медикаментозные, так и нелекарственные подходы (Antonaci F. et al., 2016; Осипова В.В. и др., 2017). Несмотря на объективную широту выбора терапевтических опций, все они не лишены существенных недостатков, что предопределяет высокую неудовлетворенную потребность в средствах контроля этого заболевания и отчасти объясняет утверждение ВОЗ, что «во всем мире ГБ не лечится в надлежащих масштабах» (<http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/headache-disorders>), с чем солидарны многие исследователи-цефалгологи (Lipton R.B. et al., 2013; Ayzenberg I. et al., 2014; Steiner T.J. et al., 2014, 2018). При этом непонимание механизма антицефалгического действия реально используемых лекарственных препаратов и нефармакологических методов сдерживает разработку свежих стратегий для лечения ГБ, что предопределяет необходимость обратной трансляции данных успешной клинической практики в условия эксперимента. Впрочем, возможные пути оптимизации терапии мигрени заключаются не только в создании принципиально новых лекарств или оригинальных способов доставки уже использующихся (Schuster N.M., Rapoport A.M. , 2016; Goadsby P.J., Holland S., 2018). Необходимо проводить обоснованный поиск фармакологических агентов с антицефалгическими свойствами среди препаратов, разрешенных к клиническому применению по иным, т.е. не связанным с ГБ, показаниям, но имеющих в этом плане определенный потенциал, а также разрабатывать и внедрять различные методы немедикаментозного лечения.

Совершенно очевидно, что реализация всех обозначенных пунктов невозможна без дальнейшего прогресса в понимании патогенеза мигрени и изучения механизмов действия существующих и предполагаемых антимигренозных интервенций, что в свою очередь требует проведения фундаментальных и прикладных доклинических исследований с использованием экспериментальных моделей цефалгий. Из всех существующих на сегодняшний день методик, электронейрофизиологическая модель тригемино-дуроваскулярной ноцицепции (ТДВН), суть которой заключается во внеклеточной микроэлектродной регистрации фоновой спайковой активности нейронов тригемино-таламо-кортикального пути и их ответов на электростимуляцию твердой мозговой оболочки, единодушно признается мировым научным сообществом как наиболее информативный способ исследования релятивных мигрени процессов в экспериментах на животных. Модель позволяет проводить в режиме реального времени мониторинг возбудимости указанных нейронов в условиях разномодальной активации

ТВС и объективно оценивать эффекты любых интервенций, будь то введение фармакологического агента или некое иное воздействие. Высокая предикционная валидность модели ТДВН дает возможность с определенной уверенностью транслировать полученные на ней результаты в реальную клиническую практику (Akerman S. et al., 2013; Romero-Reyes M., Akerman S., 2014; Munro G. et al., 2017).

Цель исследования: изучить нейрофизиологические механизмы патогенеза мигрени и терапевтического действия ряда лекарственных и немедикаментозных способов её лечения, а также провести доклиническое тестирование фармакологических средств с потенциальной антимигренозной активностью с использованием модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции.

Задачи исследования:

1. Определить нейрофизиологические маркеры сенситизации конвергентных нейронов тройничного комплекса при воздействии провоспалительных агентов на области их интра- и экстракраниальных рецептивных полей, а также выявить возможный механизм коморбидности орофациальных и головных болей.

2. Изучить центральные нейрональные эффекты некоторых препаратов, используемых в клинической практике для abortивного и профилактического лечения мигрени, в условиях ноцицептивной активации тригемино-васкулярной системы.

3. Провести доклиническое исследование фармакологических средств-кандидатов для лечения мигрени путем оценки их влияния на спайковую активность нейронов тригемино-таламического пути.

4. Провести пилотное клиническое исследование препарата с положительным прогнозом антицефалгического действия, полученным в нейрофизиологическом эксперименте, с целью оценки его терапевтического эффекта у пациентов с мигренью.

5. Выявить нейрофизиологические механизмы, лежащие в основе эффективности разных способов периферической нейростимуляции (электрическая стимуляция блуждающего или большого затылочного нервов) при лечении головных болей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Индукторами сенситизации тригеминальных нейронов 2-го порядка, получающих афферентацию от твердой мозговой оболочки, являются очаги периферического воспаления не только интра-, но и экстракраниальной локализации. Такая сенситизация имеет свои нейрофизиологические маркеры, является фармакологически обратимым процессом и может лежать в основе коморбидности орофациальных и головных болей.

2. Одним из нейрофизиологических механизмов антицефалгического действия препаратов, применяемых для купирования и профилактики головных болей, является

подавление спайковой активности менингеально-чувствительных нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса.

3. Выявление у фармакологического средства свойств ингибитора ноцицептивной трансмиссии на уровне спинального ядра тройничного нерва позволяет прогнозировать наличие у этого препарата потенциальной антицефалгической активности и рекомендовать его к клинической апробации.

4. Подавление возбудимости менингеально-чувствительных спинальных тригеминальных нейронов является общим нейрофизиологическим механизмом реализации терапевтического действия электростимуляции блуждающего и большого затылочного нервов при первичных головных болях.

5. Вызванное фармакологической или нелекарственной интервенциями угнетение возбудимости сенсорных клеток спинального ядра тройничного нерва и/или вентрального заднемедиального ядра таламуса, являющихся, соответственно, нейронами 2-го и 3-го порядков в пути проведения ноцицептивных сигналов от твердой мозговой оболочки, целесообразно рассматривать в качестве индикатора потенциального антимигренозного свойства исследуемого вмешательства, что должно учитываться при проведении доклинических изысканий в области лечения мигрени.

Научная новизна. Впервые показано, что состояние сенситизации нейронов спинального ядра тройничного нерва (СЯТН) может быть наиболее точно определено в эксперименте на основании одновременного наличия трех признаков: повышения уровня фоновой активности указанных клеток, понижения порогов их реагирования на тактильное раздражение кожных рецептивных полей и усиления ответов на электростимуляцию твердой мозговой оболочки (ТМО). Эти маркеры дополняют друг друга и в своей сумме формируют наиболее объективную картину процессов эскалации и затухания центральной сенситизации (ЦС); кроме того, они чувствительны к фармакологическому вмешательству, способному реверсировать состояние ЦС, в частности к системному введению кеторолака, который используется в клинической практике для купирования ГБ.

Впервые установлено, что персистенция воспалительного очага в орофациальной области способствует развитию сенситизации конвергентных нейронов СЯТН, что сопровождается облегчением ноцицептивного входа в указанное ядро с ТМО – рецептивного поля, не являющегося первичным источником болевых ощущений. Полученные результаты вносят вклад в понимание патофизиологических процессов, способствующих развитию коморбидности орофациальных и головных болей.

Впервые продемонстрировано, что общим нейрофизиологическим эффектом вальпроевой кислоты и метамизола является подавление спайковой активности

нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса (ВЗМЯ). Указанная способность, сопровождающаяся торможением на супраспинальном уровне ноцицептивной передачи от интракраниальных структур по тригемино-таламо-кортикальному пути, может быть одним из компонентов механизма антицефалгического действия этих препаратов.

Впервые выявлено, что фиксированные комбинации 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин (ДХБККК) и декстрометорфан + хинидин (ДМХ) обладают прямым дозозависимым угнетающим влиянием на возбудимость нейронов СЯТН, что позволяет прогнозировать наличие у них антицефалгических свойств и рассматривать указанные препараты как возможные средства-кандидаты для лечения мигрени. При этом в открытом неконтролируемом клиническом исследовании ДМХ продемонстрировал эффективность в качестве профилактического средства, уменьшающего частоту и интенсивность приступов мигрени.

Впервые показано, что гранисетрон не оказывает существенного влияния на фоновую и вызванную стимуляцией ТМО активности нейронов СЯТН и ВЗМЯ, что не поддерживает идею использования 5-НТЗ-антагонистов в качестве препаратов для лечения мигрени и позволяет сделать вывод о минорной роли 5-НТЗ-рецепторов в серотонинергическом модулировании тригемино-васкулярной ноцицептивной трансмиссии.

Впервые выявлено подавляющее влияние электростимуляций блуждающего и большого затылочного нервов на активность нейронов СЯТН, которое может рассматриваться в качестве общего нейрофизиологического механизма антицефалгического действия периферической нейростимуляции при лечении головных болей.

Впервые сформулировано представление, что ингибирование возбудимости менингеально-чувствительных нейронов СЯТН и/или ВЗМЯ, вызванное как фармакологическим, так и немедикаментозным воздействиями, уместно рассматривать в качестве валидного маркера вероятного антицефалгического свойства изучаемой интервенции, что необходимо учитывать при проведении доклинических исследований.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о функционировании тригемино-васкулярной системы и нейрональных процессах, обеспечивающих ноцицептивную трансмиссию в тригемино-таламическом пути, а также о механизмах взаимодействия интра- и экстракраниальных афферентных входов на спинальном и супрасегментарном уровнях ЦНС. Полученные результаты приумножают, систематизируют и детализируют сведения о возможностях электрофизиологической модели тригемино-дуроваскулярной

ноцицепции, позволяющей имитировать в острых опытах на животных патофизиологическое состояние тригемино-васкулярной системы, сопоставимое с таковым при мигрени у человека. Благодаря использованию указанной методики получены новые данные в области патогенеза ГБ, а также выявлены центральные нейрональные механизмы терапевтического действия некоторых фармакологических и нейростимуляционных способов лечения цефалгий. В частности, результаты проведенного исследования подчеркивают важное значение сенситизации конвергентных нейронов СЯТН, развитие которой не только во многом определяет клинику мигрени, но и является нейробиологическим базисом формирования коморбидности различных кранио-фациальных болевых синдромов, включая ГБ, прозопалгии, одонталгии, а также боли при дисфункции височно-нижнечелюстного сустава или патологии ЛОР-органов. Кроме этого, сформулировано заключение о том, что выявленное на модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции угнетение возбудимости клеток тройнично-таламического пути, вызванное некой фармакологической или нелекарственной интервенцией, допустимо рассматривать в качестве предиктивного маркера антимигренозной активности исследуемого вмешательства, что должно учитываться при проведении доклинических изысканий в области лечения мигрени.

Практическая значимость работы заключается, прежде всего, в выявлении двух препаратов-кандидатов для лечения мигрени, один из которых продемонстрировал свою эффективность в качестве превентивного антимигренозного средства в пилотном клиническом проекте, что является удачным примером прямой трансляции экспериментальных данных в реальную практику и лишний раз подтверждает высокую предикционную валидность модели тригемино-васкулярной ноцицепции. Соответственно, указанная модель может использоваться для проведения не только фундаментальных, но и прикладных исследований, в частности, для осуществления преклинического скрининга перспективных медикаментозных и нелекарственных способов терапии ГБ. Кроме этого, полученные в ходе исследования результаты могут помочь в определении направлений дальнейшего поиска новых фармакологических субстанций и физиотерапевтических подходов для лечения цефалгий.

Апробация результатов работы. Материалы исследований были представлены на Научно-практической конференции с международным участием «Достижения клинической фармакологии в России» (Москва, 2009); Российской научно-практической конференции с международным участием «Боль: медицинские и социальные аспекты» (Москва, 2009); 7-ой Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 160-летию со дня рождения И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2009); Научной конференции с международным

участием «Актуальные проблемы фармакологии», посвященной 110-летию кафедры фармакологии СПбГМУ и 85-летию со дня рождения А.В. Вальдмана (Санкт-Петербург, 2009); 5-ой международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Клязьма, 2010); XXI, XXII и XXIII Съездах Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010; Волгоград, 2013; Воронеж, 2017); XX, XXI и XXII ежегодных научных сессиях Института фармакологии имени А.В. Вальдмана (Санкт-Петербург, 2010; 2017; 2018); Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН «Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды» (Санкт-Петербург, 2010); Научно-практической конференции с международным участием, посвященной 170-летию кафедры фармакологии и клинической фармакологии Национального медицинского университета им. О.О. Богомольца (Киев, 2011); III и IV Съездах физиологов СНГ (Ялта, 2011; Сочи, 2014); 8-ом Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2012); Международном симпозиуме по проблемам боли «Подходы к пониманию механизмов и лечению симптомов боли» (Санкт-Петербург, 2012); 8-ой Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 220-летию со дня рождения академика К.М. Бэра (Санкт-Петербург, 2012); 19-ой Российской научно-практической конференции с международным участием «Боль: междисциплинарная проблема» (Екатеринбург, 2013); Российской научно-практической конференции с международным участием «Головная боль – 2013» (Москва, 2013); Всероссийской научной конференции с международным участием «Фармакологическая нейропротекция», посвященной 90-летию отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ИЭМ СЗО РАМН (Санкт-Петербург, 2013); XX Российской научно-практической конференции с международным участием «Болевые синдромы: современный взгляд на диагностику и лечение» (Астрахань, 2014); Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения академика АМН СССР А.В. Вальдмана «Инновации в фармакологии: от теории к практике» (Санкт-Петербург, 2014); Научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии «Современные проблемы нейробиологии» (Ярославль, 2014); XXI Российской научно-практической конференции с международным участием «Лечение боли: успехи и проблемы» (Казань, 2015); Российской научной конференции «Фармакология экстремальных состояний», посвященной 150-летию Н.П. Кравкова (Санкт-Петербург, 2015); Совместном научном заседании, посвященном 75-летию со дня рождения академика РАМН Ю. Д. Игнатова «Новое в фармакотерапии болевых синдромов» (Санкт-Петербург, 2015); II Российско-

финском симпозиуме «Современные тенденции в разработке лекарственных препаратов» (Санкт-Петербург, 2015); XXIII Российской научно-практической конференции с международным участием «Диагностика и лечение боли – междисциплинарное взаимодействие» (Новосибирск, 2017); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 140-летию со дня рождения М.И. Аствацатурова «Неотложные состояния в неврологии: современные методы диагностики и лечения» (Санкт-Петербург, 2017); V Съезде фармакологов России (Ярославль, 2018); XXIV Российской научно-практической конференции с международным участием «Медицина боли: от понимания к действию» (Ростов-на-Дону, 2018).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 48 работ, включая 22 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для докторских диссертаций, и 1 монографию.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу Института фармакологии им. А.В. Вальдмана и клиники неврологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, лаборатории кортико-висцеральной физиологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, в учебный процесс кафедр фармакологии и неврологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Личный вклад автора. Все представленные в диссертации результаты получены либо автором лично, либо при его непосредственном участии. Автор самостоятельно определял идеологию исследований, разрабатывал протокол и осуществлял постановку экспериментов, участвовал в обработке, интерпретации и публикации полученных данных.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методической главы, пяти глав результатов исследований, общего заключения, выводов и списка литературы, включающего 1136 источников, в том числе 33 отечественных и 1103 иностранных. Диссертация изложена на 346 страницах печатного текста, содержит 54 рисунка и 14 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Лабораторные животные. Работа выполнена в острых опытах на 212 самцах крыс линии Вистар массой 240-400 г. Крысы содержались в клетках размером 60×20×40 см, группами по 4-6 особей, при температуре воздуха 20-24 °С и влажности 45-80%, с сохранением естественного режима «день–ночь». Крысы имели свободный доступ к пище и воде.

Подготовка животного к эксперименту. Общую анестезию животных осуществляли введением смеси уретана («ICN», США, 0,8-1,1 г/кг, в/б) и альфа-хлоралозы («ICN», США, 60-70 мг/кг, в/б). Производили катетеризацию бедренных вены и артерии для введения фармакологических препаратов и регистрации артериального давления соответственно, а также выполняли трахеостомию для последующего подключения к аппарату искусственной вентиляции легких. Далее животное помещали в стереотаксический аппарат («Медикор», Венгрия) таким образом, что голова была жестко фиксирована по трем точкам, а туловище находилось на подогревающей пластине.

Для экспозиции твердой мозговой оболочки (ТМО) производили краниотомию в левой теменной области. В сериях опытов по изучению активности нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса (ВЗМЯ) дополнительно выполняли краниотомию в правой теменной области с последующим иссечением мозговых оболочек в границах трепанационного окна. В сериях экспериментов по изучению активности нейронов спинального ядра тройничного нерва (СЯТН) производили послойное рассечение и разъединение дорсальных мышц шеи и ламинэктомию первого цервикального позвонка с последующим удалением мозговых оболочек.

В опытах с электростимуляцией *n. vagus* левый блуждающий нерв выделяли из окружающих тканей, пересекали, выводили его центральный отрезок в сформированную на дорсо-латеральной поверхности шеи сквозную нишу и укладывали на биполярный электрод крючковидной формы. В опытах с электростимуляцией большого затылочного нерва (БЗН), в толще боковых мышц шеи отсепаровывали фрагмент левого БЗН длиной порядка 1 см, который также укладывали на биполярный электрод.

После введения миорелаксанта (пипекурония бромид, «Гедеон Рихтер», Венгрия, 1,2 мг/кг, в/в) животное переводили на искусственную вентиляцию легких с частотой 75-100 дыхательных циклов/мин и объемом в пределах 2-4 мл. В ходе опытов

поддерживали среднее артериальное давление в пределах 60-100 мм рт. ст. и температуру тела на уровне 37-38 °С.

Электрическое раздражение твердой мозговой оболочки и мониторинг нейрональной активности. Для электрического раздражения ТМО использовали накладной биполярный серебряный электрод с сопротивлением около 50 кОм. Стимуляцию проводили одиночными прямоугольными импульсами тока силой 0,3-1,0 мА (15-50В) и длительностью 0,3-1,0 мс с помощью электростимулятора (ЭСУ-2, Россия).

Поиск нейронов левого СЯТН проводили на уровне первого сегмента цервикального отдела спинного мозга на расстоянии от 0,0 до 3,5 мм каудальнее обех и от 1,5 до 2,5 мм латеральнее средней линии на глубине от 0,2 до 1,3 мм от поверхности мозга. Поиск нейронов правого ВЗМЯ таламуса осуществляли по стереотаксическим координатам в области, расположенной на 2,0-4,0 мм каудальнее брегмы, на 2,5-3,5 мм латеральнее средней линии и на глубине от 4,0 до 6,5 мм от поверхности мозга.

Регистрацию активности нейронов указанных ядер производили внеклеточно с помощью вольфрамовых микроэлектродов (World Precision Instruments, США) с диаметром кончика 1 мкм и сопротивлением 1 мОм. Погружение микроэлектрода в ткань мозга осуществляли с помощью электронного манипулятора (МП-2, Россия) с шагом 4 мкм.

Для регистрации отбирали только фоновоактивные нейроны, отвечавшие и на электрическое раздражение ТМО, и на механическую стимуляцию кожи морды. Мониторинг и анализ активности исследуемых нейронов, а также управление электрической стимуляцией ТМО осуществляли в режиме реального времени с помощью специальной авторской компьютерной программы (Пантелеев С.С., 2001). Оценку ответов нейронов на электрораздражение ТМО производили по перистимульным гистограммам с постстимульной эпохой анализа длительностью 50-100 мс. Гистограммы накапливали по двадцати последовательным реализациям одиночного электрического раздражения ТМО с частотой следования 1 стимул в 3 с. Спонтанную нейрональную активность оценивали по гистограммам, накопленным в режиме без подачи электрического стимула, при котором программа анализировала количество спайков в каждом из 50 следующих друг за другом с частотой 1 Гц отрезков непрерывной осциллограммы фоновой активности нейрона длительностью 500 мс.

Дизайн экспериментов и фармакологические средства. После нахождения нейрона, соответствующего условиям отбора и имеющего стабильные показатели фоновой и вызванной электрическим раздражением ТМО активностей, производили их контрольную запись в качестве исходных значений. Далее выполняли необходимую

интервенцию (вводили изучаемое вещество, стимулировали периферический нерв и т.д.), после которой в течение 1-2 ч через каждые 5-15 мин осуществляли запись спонтанной активности и ответов нейронов. Выводы о влиянии интервенции на фоновую и вызванную активности нейронов делали на основании сравнения полученных через указанные промежутки времени данных с исходными значениями и с результатами контрольной группы (при её наличии).

В опытах с сенситизацией нейронов СЯТН интервенция заключалась в 5-минутной экспозиции на поверхности ТМО смеси провоспалительных медиаторов (СПВМ, 0,5% раствор гистамина + 0,3% р-р серотонина + 0,03% р-р простагландина E2 + 0,3% р-р брадикинина + 0,5% р-р капсаицина при рН 5,5). Если через 60 мин после нанесения СПВМ нейрон демонстрировал как минимум два из трех признаков сенситизации (увеличение фоновой активности, усиление вызванных электрическим раздражением ТМО ответов и снижение порогов чувствительности при механической стимуляции кожи морды), животному вводили кеторолак (2 мг/кг, в/в, n=6, основная группа) или физиологический раствор (в/в, n=6, контрольная группа). После введения препарата/физраствора в течение последующего часа осуществлялся мониторинг нейрональной активности.

В опытах с формалиновым тестом у 20 крыс (основная группа) в центр кожного механорецептивного поля регистрируемого нейрона подкожно вводили 5% раствор формалина в объеме 15 мкл. Десять крыс (контрольная группа) получали подкожную инъекцию эквивалентного объема физиологического раствора.

В опытах с вальпроевой кислотой основная группа (n=16) внутривенно получала вальпроевую кислоту («Конвулекс», Gerot Pharmazeutika, Австрия). Использовали два режима дозирования: болюсный (разовая инфузия в дозе 300 мг/кг в объеме 1 мл в течение 1 мин, n=8) и кумулятивный (трехкратное введение фиксированной дозы 100 мг/кг в объеме 0,3 мл через каждые 30 мин, n=8). Контрольная группа (n=15) внутривенно получала эквивалентные объемы физраствора, согласно либо болюсному (n=7), либо кумулятивному (n=8) режимам назначения. Таким образом, в основной и контрольной группах было по две субпопуляции животных, с каждой из которых работали по отдельному протоколу.

В опытах с метамизолом основная группа (n=16) внутривенно получала метамизол натрия («Анальгин», ООО «Алвилс», Россия), при этом использовали кумулятивный режим дозирования: трехкратное введение фиксированной дозы 150 мг/кг в объеме 0,3 мл через каждые 30 мин. Контрольная группа (n=7) получала внутривенно эквивалентные объемы физиологического раствора по схеме кумулятивного назначения.

В опытах с комбинированным препаратом 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин (ДХБККК) основная группа (n=16) получала ДХБККК (Харьковский НМУ, Украина) в дозах 12,5 (n=4), 25 (n=5) и 37,5 (n=7) мг/кг. В контрольной группе (n=5) вводили эквивалентный объем растворителя (смесь диметилсульфоксида, этанола, полиэтиленгликоля-400 и физиологического раствора) при прочих равных условиях эксперимента.

В опытах с комбинированным препаратом декстрометорфан + хинидин (ДМХ) основная группа (n=8) получала внутривенно раствор ДМХ (Nuedexta, «Avanir Pharmaceuticals», США), при этом использовался кумулятивный режим дозирования: трехкратное введение фиксированной дозы 15(ДМ)/7,5(Х) мг/кг в объеме 0,5 мл через каждые 30 мин. Контрольная группа (n=7) получала эквивалентные объемы физиологического раствора по аналогичной схеме назначения.

В опытах с гранисетроном животные основной группы (n=36) внутривенно получали гранисетрон (Sigma-Aldrich, США), эффект которого оценивался в трех различных дозах (2, 4 и 6 мг/кг, для каждой из доз) на двух нейроанатомических уровнях (СЯТН и ВЗМЯ), т.е. всего было шесть подгрупп (в каждой n=6). Животные контрольной группы (n=7 для опытов на СЯТН и n=6 для опытов на ВЗМЯ) внутривенно получали эквивалентные объемы физраствора.

В опытах с электростимуляцией блуждающего нерва (вагусная нейростимуляция, ВНС) фоновую и вызванную стимуляцией ТМО спайковые активности нейронов СЯТН регистрировали до, во время и через 5 мин после ВНС (0,1-0,3 mA (5-15 В); 0,5 мс). Использовали два режима ВНС – прекондиционирующий (серия импульсов частотой 30 Гц, применяемая в течение 200 мс перед каждой стимуляцией ТМО, n=8) и непрерывный (серия импульсов частотой 10 Гц, на фоне которой раздражали ТМО, n=44). Эффекты ВНС оценивали путем сравнения частот фоновых и вызванных стимуляцией ТМО разрядов клеток СЯТН, зарегистрированных во время и через 5 мин после стимуляции блуждающего нерва, с их исходными – до ВНС – значениями.

В опытах с электростимуляцией большого затылочного нерва (ЭСБЗН) фоновую и вызванную стимуляцией ТМО спайковые активности нейронов СЯТН регистрировали до и во время ЭСБЗН. Протокол исследования предусматривал изучение эффектов ЭСБЗН в пяти различных вариантах соотношения параметров частоты и напряжения на каждом животном с 10-минутными интервалами между тестами в следующей последовательности: (1) 1В-50Гц, (2) 1В-100Гц, (3) 6В-50Гц, (4) 6В-100Гц и (5) 3В-75Гц; длительность стимула во всех случаях составляла 0,4 мс. Использовался прекондиционирующий режим ЭСБЗН, при котором серия импульсов, подаваемая на БЗН с указанными выше частотой и силой, предшествовала эпохе анализа нейрональной

активности в СЯТН. Влияние ЭСБЗН оценивалось путем попарного сравнения частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО спайков клеток СЯТН в момент назначения ЭСБЗН с их исходными – до стимуляции нерва – значениями, предшествующими каждому из пяти стимуляционных сетов непосредственно перед подачей электрораздражения на БЗН.

Выведение животных из эксперимента осуществляли путем в/в инфузии уретана в дозе не менее 3 г/кг. При необходимости проводили забор мозга для последующего гистологического исследования с целью верификации положения кончика регистрирующего микроэлектрода.

Обработка данных. Первичную обработку данных осуществляли с помощью специально разработанной авторской компьютерной программы. Результаты первичного преобразования данных импортировали в программные пакеты «Origin 7.5» (OriginLab, США) и «GraphPad InStat 3.02» (GraphPad Software, США), с помощью которых производили статистическую обработку и графическое оформление результатов экспериментов. Определение значимости полученных результатов производили с помощью непараметрических статистических методов. Уровень статистической значимости был установлен как $\alpha=0,05$. В таблицах и графиках данные показаны как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$).

Участники и дизайн клинического исследования

Дизайн: открытое неконтролируемое исследование.

Место проведения: центр рассеянного склероза клиники неврологии медицинской школы Кека Университета Южной Калифорнии, США.

Участники: $n=33$ (10 мужчин и 23 женщины, этнически различные, возраст от 33 до 72 лет).

Тактика набора в исследование: последовательное поступление пациентов за период 2014-2016 гг.

Критерии включения: верифицированный рассеянный склероз, наличие псевдобульбарного аффекта и мигрени.

Фоновые интервенции: стандартная базис-терапия рассеянного склероза + профилактика и купирование приступов мигрени.

Назначение в исследовании: фиксированная комбинация декстрометорфан + хинидин (ДМХ) (Nuedexta, «Avanir Pharmaceuticals», США) в форме капсул для перорального приема по 20/10 мг два раза в сутки в течение 3-6 месяцев (в среднем 4,5 месяца).

Способ оценки эффекта назначения: сравнение клинических показателей мигрени с помощью анкетирования пациентов до и после лечения ДМХ.

Критерии оценки: частота приступов мигрени в месяц, интенсивность приступов (по 10-балльной визуальной аналоговой шкале (ВАШ)), переносимость ДМХ, нежелательные реакции.

Обработка данных: для определения значимости полученных результатов использовали тест Вилкоксона в программе статистического анализа GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., США, версия 6.01); данные представлены как медиана с межквартильным интервалом (Me[Q1-Q3]).

Результаты и их обсуждение

Нейрофизиологические маркеры сенситизации нейронов тройничного комплекса и влияние на них кеторолака

Цель данного фрагмента работы заключалась, во-первых, в изучении функциональной активности нейронов СЯТН после индукции их сенситизации предварительной дуральной экспозицией смеси провоспалительных медиаторов (СПВМ), и, во-вторых, в оценке влияния кеторолака – типичного препарата купирования мигрени из группы нестероидных противовоспалительных средств – на возбудимость сенситизированных клеток СЯТН.

Исходная средняя частота фоновой активности нейронов СЯТН в основной и контрольной группах животных значимо не различалась, составляя $3,8 \pm 1,4$ имп/с и $2,2 \pm 1,3$ имп/с соответственно. После индукции сенситизации в течение последующего часа она значимо ($P < 0,01$, тест Фридмана) возрастала до $10,1 \pm 0,8$ имп/с в основной группе и до $8,1 \pm 0,8$ имп/с в контроле. Введение кеторолака восстанавливало в течение 60 мин исходный уровень средней частоты фоновой активности ($3,6 \pm 0,4$ имп/с), что существенно ($P < 0,01$, тест Манна–Уитни) отличалось от её значений за тот же промежуток времени после введения физраствора (в среднем $10,2 \pm 0,9$ имп/с) (рисунок 1, А). Аналогичным образом изменялись ответы нейронов СЯТН на электрическую стимуляцию ТМО. Исходно средняя частота вызванных разрядов составляла $20,6 \pm 3,0$ имп/с (основная группа) и $17,6 \pm 1,6$ имп/с (контроль), что значимо не различалось. После дуральной экспозиции СПВМ она существенно ($P < 0,05$, тест Фридмана) возрастала в течение 60 мин и составляла, в среднем, $32,8 \pm 0,7$ имп/с и $31,7 \pm 2,3$ имп/с в основной и контрольной группах соответственно. Системное введение кеторолака реверсировало развитие сенситизации, снижая в течение 1 часа частоту вызванных разрядов в среднем до $22,1 \pm 0,9$ имп/с, что было значимо ниже, чем соответствующее значение в контроле ($P < 0,01$, тест Манна–Уитни). Введение физраствора не останавливало процесс

нарастания вызванной активности нейронов СЯТН, частота которой в течение 60 мин после инфузии составляла, в среднем, $39,1 \pm 2,9$ имп/с (см. рисунок 1, Б).

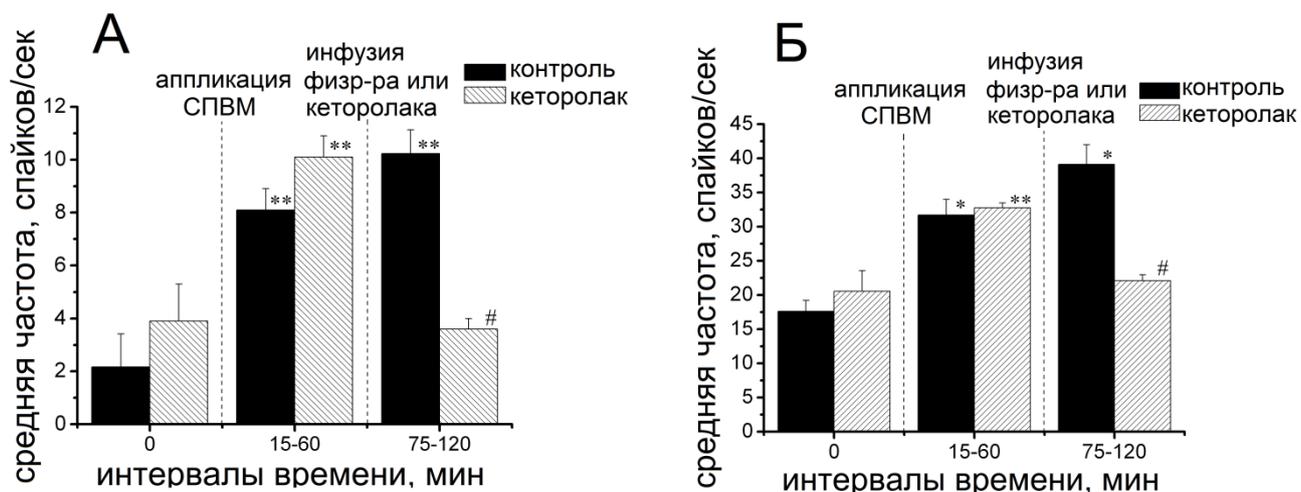


Рисунок 1 – Изменения фоновой активности нейронов СЯТН (А) и их ответов на электрическое раздражение ТМО (Б) при дуральной аппликации смеси провоспалительных медиаторов (СПВМ) и после введения кеторолака или физиологического раствора.

Представлено соотношение средних значений (\pm SEM) частот спонтанной и вызванной электростимуляцией ТМО нейрональных активностей в различные фазы эксперимента в основной ($n=6$, серые столбики) и контрольной ($n=6$, черные) группах животных. Вертикальные пунктирные линии – моменты нанесения СПВМ и введения кеторолака или физраствора.

* и ** – изменения значимы при $P < 0,05$ и $P < 0,01$ по сравнению с исходными значениями (0 мин),

– изменения значимы при $P < 0,01$ по сравнению с 60 мин после отмывания ТМО от СПВМ (тест Вилкоксона).

После нанесения СПВМ также наблюдалось постепенное снижение порогов чувствительности нейронов СЯТН к механическому раздражению их кожных рецептивных полей, достигающее достоверных ($P < 0,05$, тест Вилкоксона) по сравнению с исходным уровнем различий к 60 мин эксперимента в обеих группах животных. Введение физраствора не изменяло тенденцию снижения порогов, в то время как кеторолак восстанавливал исходную чувствительность к концу эксперимента.

Таким образом, в проведенном исследовании кратковременная дуральная аппликация СПВМ сопровождалась выраженным увеличением фоновой и вызванной электрическим раздражением ТМО активностей нейронов СЯТН, что, учитывая стойкость этих изменений и автономное их существование длительное время после прекращения действия периферического раздражителя, свидетельствует о развитии сенситизации указанных нейронов. При этом важным маркером центральной сенситизации (ЦС) представляется усиление вызванных электростимуляцией ТМО

ответов, поскольку данный тип раздражения позволяет активировать непосредственно нервное волокно, минуя периферические механизмы трансдукции ноцицепции. Уменьшение порогов чувствительности кожных рецептивных полей, которые не подвергались предварительной химической обработке, также является индикатором развития ЦС. Кроме этого, полученные результаты подтверждают представление о высокой хемочувствительности ноцицепторов мозговых оболочек и подчеркивают принципиальную возможность индукции гипервозбудимости нейронов тройничного комплекса биологически активными веществами, действующими в пределах их менингеальных рецептивных полей.

Введение кеторолака сопровождалось редукцией нейрофизиологических маркеров сенситизации нейронов тройничного комплекса и восстановлением нейрональной активности до значений, сопоставимых с исходным уровнем до развития сенситизации. Это, во-первых, объясняет его клиническую эффективность в abortивной терапии некоторых ГБ, в том числе и приступов мигрени с симптомами тактильной аллодинии, и, во-вторых, позволяет дополнительно валидизировать выявленные маркеры ЦС и используемую модель в целом.

Динамика спайковой активности менингеально-чувствительных (тригемино-васкулярных) конвергентных нейронов СЯТН в условиях орофациального формалинового теста

Основная цель экспериментальной серии – имитация состояния коморбидности орофациальных и головных болей (ОФБ и ГБ) и изучение в условиях конвергенции различных болевых потоков активности нейронов СЯТН. Для этого в острых опытах на крысах использовали электрическое раздражение ТМО при одновременном формалин-индуцированном воспалении мягких тканей лицевой поверхности морды, т.е. в одном эксперименте комбинировались две известные модели: орофациальный формалиновый тест и электрофизиологическая модель тригемино-дуроваскулярной ноцицепции.

Исходно средняя частота фоновых разрядов клеток СЯТН в основной (n=20) и контрольной (n=10) группах значимо не различалась (P=0,48, тест Манна–Уитни) и составляла $7,5 \pm 1,6$ и $7,3 \pm 1,6$ спайков/с соответственно. Нейроны обеих групп отвечали на ипсилатеральную электростимуляцию ТМО пачкой разрядов с латентностями, соответствующими активации главным образом А δ -волокон. Средняя частота вызванных спайков исходно значимо не различалась между основной и контрольной группами (P=0,82, тест Манна–Уитни) и составляла $4,3 \pm 0,4$ и $4,1 \pm 0,3$ спайков/стимул соответственно. Подкожная инъекция физраствора в область рецептивных полей не вызывала существенных изменений ни показателей спонтанной активности соответствующих нейронов, ни интенсивности их ответов на электрораздражение ТМО.

В свою очередь, подкожная инъекция формалина вызывала значимое по сравнению с исходными значениями ($P < 0,0001$, тест Фридмана) усиление фоновой активности у 11 (55%) нейронов основной группы, в котором четко прослеживались две фазы. Вместе с тем у 9 нейронов основной группы фоновая активность не изменялась (рисунок 2, А). Таким образом, на основании влияния подкожного введения формалина на спонтанную активность, в рамках основной группы можно выделить две функционально различные популяции нейронов СЯТН: активирующиеся после инъекции формалина («респондеры») и не реагирующие на его введение («нон-респондеры»). Нейроны «респондеры» ($n=11$) также показывали и существенное усиление ответов на электрораздражение ТМО ($P < 0,0001$, тест Фридмана), достигавшее, впрочем, значимых по сравнению с исходными значениями различий лишь с 40 мин ($P=0,02$, тест Вилкоксона). В целом изменения фоновой и вызванной активностей носили схожий по интенсивности и во времени характер. Клетки «нон-респондеры» ($n=9$) не демонстрировали каких-либо существенных изменений интенсивности ответа на электрическое раздражение ТМО (см. рисунок 2, Б).

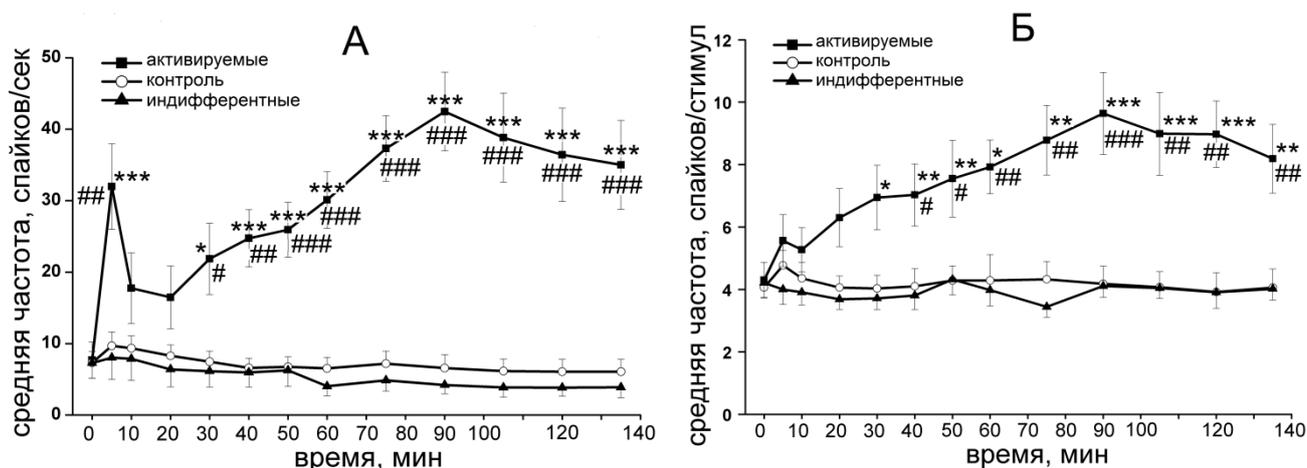


Рисунок 2 – Изменение фоновой активности нейронов СЯТН (А) и их ответов на электростимуляцию ТМО (Б) после подкожного введения формалина.

Показано изменение во времени средних значений частот \pm SEM фоновой активности нейронов СЯТН и их ответов на электростимуляцию ТМО в основной и контрольной группах. Символика: черные квадраты – активируемые формалином клетки («респондеры», $n=11$), черные треугольники – индифферентные к формалину клетки («нон-респондеры», $n=9$), белые кружки – контроль ($n=10$). Значимость различий показана как: # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$ по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона), * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни).

Таким образом, было впервые показано, что у реагирующих на формалин нейронов СЯТН инъекция этого вещества под кожу лицевой поверхности морды сопровождается не только двухфазным увеличением фоновой активности, но и аналогичным усилением

их ответов на электрическое раздражение ТМО, причем данные изменения носят схожий по времени возникновения и интенсивности характер. Однако, в отличие от изменений спонтанной активности, значимое усиление нейрональных ответов на дуральную стимуляцию происходило только во вторую фазу формалинового теста, в то время как колебание их значений в первую фазу было сопоставимо с контролем. Иными словами, в условиях персистирующей лицевой боли достоверно облегчается ноцицептивный вход в СЯТН с ТМО, т.е. с интактного рецептивного поля, не подвергнувшегося воздействию формалина и не являющегося первичным источником боли. Есть основания полагать, что выявленное увеличение вызванной электростимуляцией ТМО активности нейронов СЯТН во вторую фазу может являться не только следствием тонического ноцицептивного потока из очага формалинового воспаления, поддерживающего гипервозбудимость указанных клеток, но и результатом изменения их собственных физиологических свойств, т.е. развития ЦС. Полученный результат является прямым экспериментальным доказательством предположения, что сравнительно частая коморбидность ОФБ и ГБ может быть связана с наличием общей иннервации ветвями тройничного нерва интракраниальных структур и костно-мышечных тканей ороронального региона, что обеспечивает схожие патофизиологические механизмы развития обоих болевых синдромов.

Влияние вальпроевой кислоты и метамизола на спайковую активность нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса

Вентральное заднемедиальное ядро таламуса (ВЗМЯ) нередко рассматривается как одна из возможных нейроанатомических мишеней терапевтического действия различных антицефалгических препаратов на супраспинальном уровне ЦНС. Поэтому целью данной части работы было изучение влияния метамизола и вальпроевой кислоты – двух известных препаратов для abortивной и превентивной терапии цефалгий – при их внутривенном введении на спайковую активность нейронов ВЗМЯ в условиях экспериментальной имитации ГБ на модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции.

В опытах с вальпроатом зарегистрированные нейроны исходно характеризовались преимущественно пачечной фоновой активностью с частотой, в среднем, $11,2 \pm 2,1$ спайков/с. Все нейроны отвечали на одиночную электрическую стимуляцию ТМО паттерном из 4-12 разрядов (в среднем $7,2 \pm 1,0$ спайков/стимул) со средней латентностью $12,1 \pm 0,3$ мс. Клетки основной и контрольной групп исходно не различались ни по частоте спонтанных импульсов ($P=0,36$, тест Манна–Уитни), ни по интенсивности ответа на электростимуляцию ТМО ($P=0,19$). В отличие от инфузии физраствора ($n=8$), кумулятивное введение вальпроата ($n=8$) сопровождалось

выраженным и стабильно прогрессирующим угнетением как фоновой активности таламических нейронов, так и их ответов на электростимуляцию ТМО, причем эти изменения были значимы по сравнению с исходными значениями и контролем ($p < 0,01$, тесты Фридмана и Манна–Уитни соответственно). Уже через 5 мин после инфузии первой дозы вальпроата (100 мг/кг) частота спонтанных разрядов нейронов ВЗМЯ уменьшилась до $49 \pm 17\%$, а интенсивность ответов – до $77 \pm 4\%$ от начального уровня. Эти изменения с каждым последующим введением препарата постепенно нарастали, и к концу эксперимента, через 30 мин после инфузии третьей дозы вальпроата, степень ингибирования фоновой активности составляла $34 \pm 10\%$, а вызванной – $49 \pm 12\%$ от исходных значений (рисунок 3).

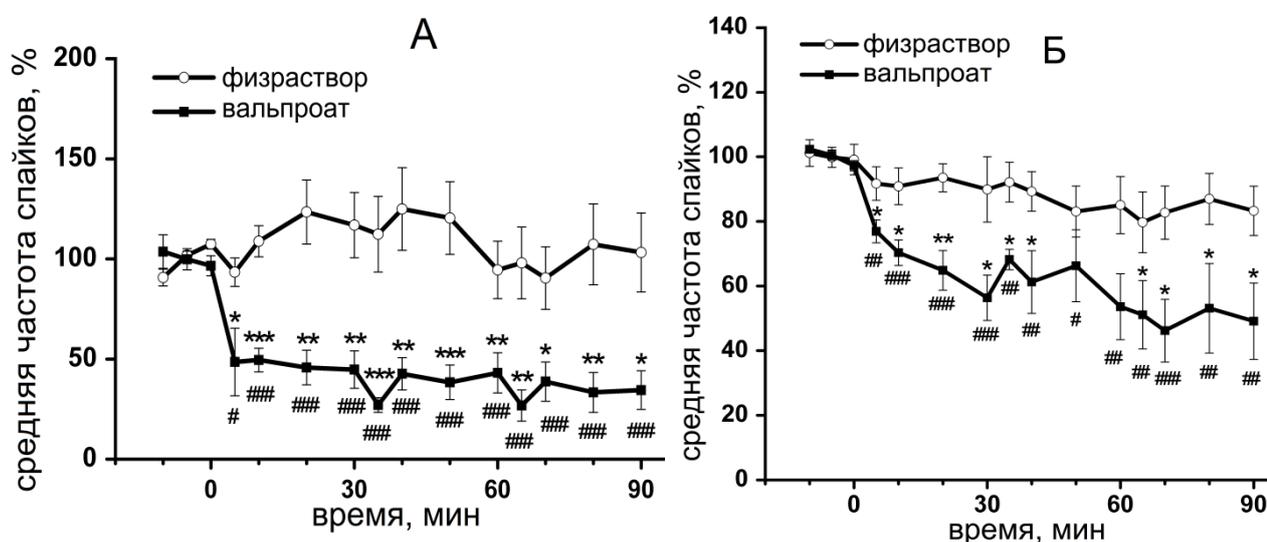


Рисунок 3 – Эффект кумулятивного введения вальпроевой кислоты на фоновую активность нейронов ВЗМЯ (А) и их ответы на электрическую стимуляцию ТМО (Б).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов ВЗМЯ после кумулятивного введения (трехкратная инфузия через каждые 30 мин) вальпроата (черные квадраты, $n=8$) или физраствора (белые кружки, $n=8$). По оси абсцисс – время в мин, где отметки 0, 30 и 60 – моменты 1-й, 2-й и 3-й инфузии соответственно; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения вальпроата или физраствора. Уровни значимости обозначены как *, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни), и как #, ## и ### при $P < 0,05$, 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона).

Болюсное введение препарата ($n=8$) через 5 мин после его инфузии привело к резкому торможению частоты фоновых спайков клеток ВЗМЯ до $25 \pm 2\%$ и ослаблению ответов до $48 \pm 11\%$ относительно начального уровня, что значимо ($P < 0,001$, тест Вилкоксона) отличалось от него и от контроля. Однако столь мощный редуцирующий

эффект был кратковременным; фоновая и вызванная спайковые нейрональные активности постепенно нарастали и спустя 45 мин после начала опыта уже не отличались от контроля и были вполне сопоставимы с исходными значениями (рисунок 4).

В опытах с метамизолом средняя частота спонтанных разрядов в контрольной (n=7) и основной (n=16) группах существенно не различалась (P=0,91, тест Манна-Уитни) и составляла $8,4 \pm 1,0$ и $8,5 \pm 1,4$ спайков/с соответственно. Все нейроны отвечали на одиночную электрическую стимуляцию ТМО паттерном из 3-16 разрядов со средней латентностью $11,0 \pm 0,4$ мс. Исходно средняя частота вызванных спайков существенно не различалась (P=0,82) между контрольной и основной группами и составляла $9,5 \pm 1,0$ и $9,8 \pm 0,8$ спайков/стимул соответственно.

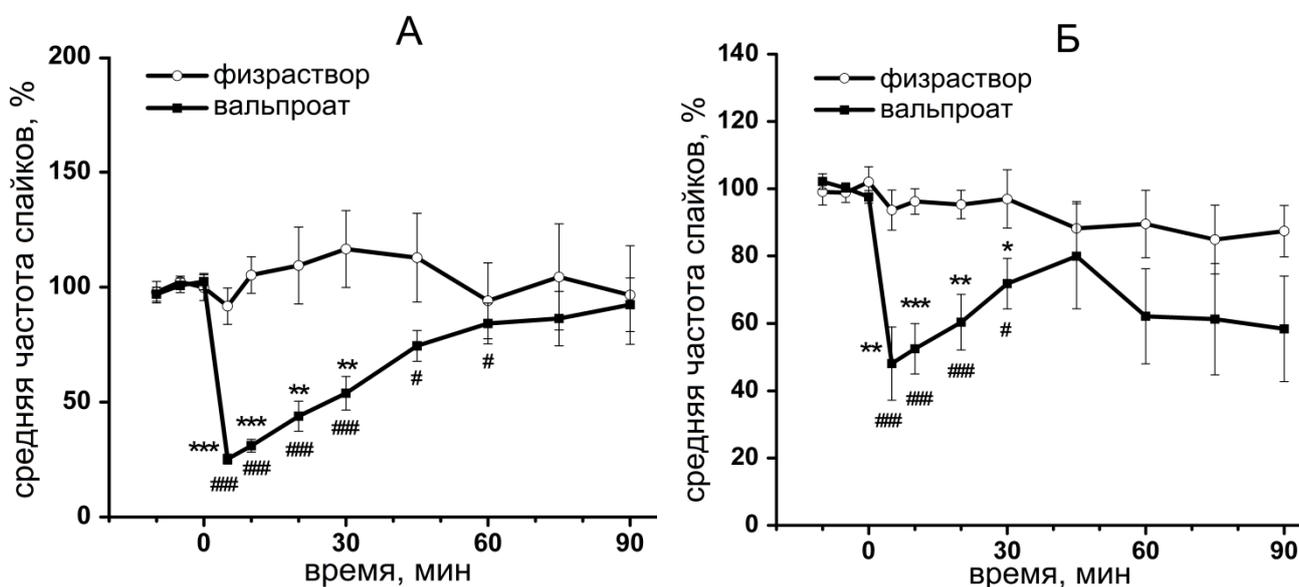


Рисунок 4 – Эффект болюсного введения вальпроевой кислоты на фоновую активность нейронов ВЗМЯ (А) и их ответы на электрическую стимуляцию ТМО (Б).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов ВЗМЯ после болюсного введения вальпроата (черные квадраты, n=8) или физраствора (белые кружки, n=7). По оси абсцисс – время в мин, где 0 – момент инфузии; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения вальпроата или физраствора. Уровни значимости обозначены как *, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна-Уитни), и как # и ### при $P < 0,05$ и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона).

Введение физраствора не вызывало существенных изменений фоновой и вызванной электрической стимуляцией ТМО активностей нейронов ВЗМЯ (рисунок 5). Кумулятивное введение метамизола у 9 (56%) из 16 животных основной группы сопровождалось выраженным и стабильно прогрессирующим угнетением как фоновой

активности таламических нейронов, так и их ответов на электростимуляцию ТМО, причем эти изменения были достоверны по сравнению с исходными значениями и контролем в течение всего периода наблюдения ($p < 0,01$, тесты Вилкоксона и Манна–Уитни, соответственно). Уже через 5 мин после инфузии первой дозы метамизола (150 мг/кг) частота спонтанных разрядов нейронов ВЗМЯ уменьшилась до $75 \pm 13\%$, а интенсивность ответов – до $74 \pm 9\%$ от начального уровня. Эти изменения с каждым последующим введением препарата постепенно нарастали, и к концу эксперимента, через 30 мин после инфузии третьей дозы метамизола, показатель фоновой активности составлял $34 \pm 9\%$, а вызванной – $30 \pm 8\%$ от исходных данных. Вместе с тем 7 из 16 исследованных клеток основной группы не реагировали на инфузию метамизола, т.е. не изменяли частоту спонтанных разрядов и интенсивность ответа на дуральную электростимуляцию, значения которых на всем протяжении опыта не отличались от контроля и базовых показателей (рисунок 5).

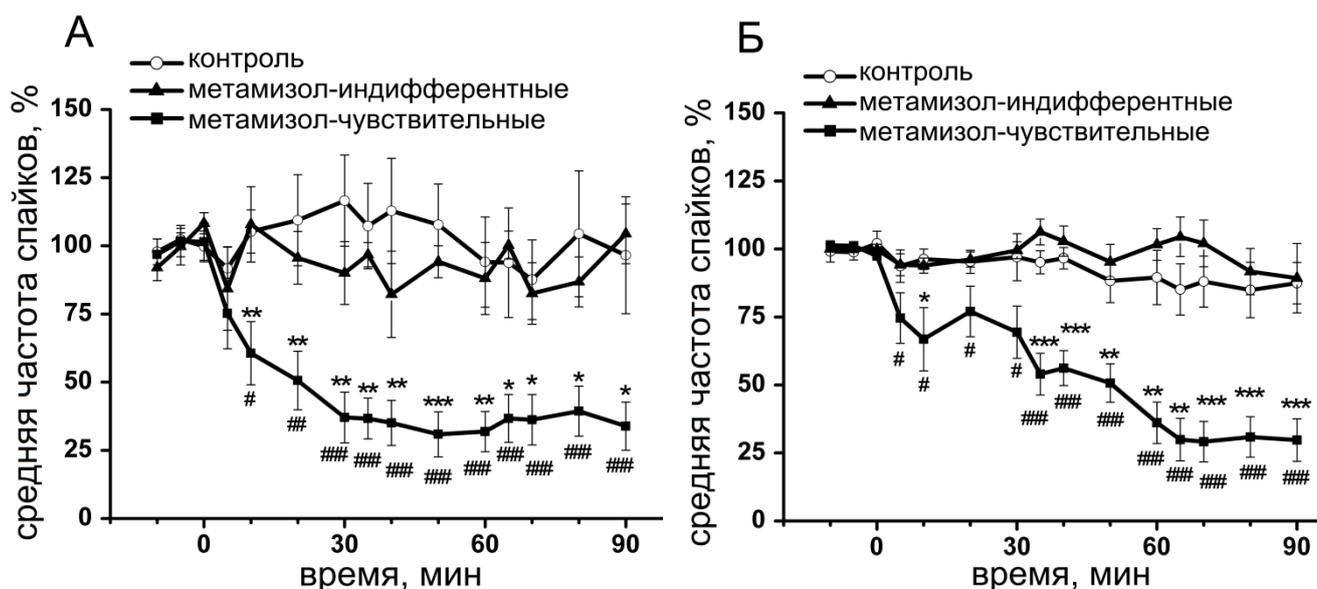


Рисунок 5 – Эффект кумулятивного введения метамизола на фоновую активность нейронов ВЗМЯ (А) и их ответы на электрическую стимуляцию ТМО (Б).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов ВЗМЯ после кумулятивного введения (трехкратная инфузия через каждые 30 мин) метамизола (черные квадраты – «метамизол-чувствительная» подгруппа, $n=9$; черные треугольники – «метамизол-индифферентная» популяция, $n=7$) или физраствора (белые кружки, $n=7$). По оси абсцисс – время в мин, где отметки 0, 30 и 60 – моменты 1-й, 2-й и 3-й инфузии, соответственно; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения метамизола или физраствора. Уровни значимости обозначены как *, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни), и как #, ## и ### при $P < 0,05$, 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона).

Стоит отметить, что нейроны «метамизол-чувствительной» и «метамизол-индифферентной» популяций не отличались друг от друга ни по нейрофизиологическим характеристикам, ни по особенностям анатомической локализации в ядре, формируя исходно однородную группу.

В проведенном исследовании было впервые показано, что внутривенное введение вальпроата и метамизола сопровождается дозозависимым угнетением фоновой и вызванной электрораздражением ТМО спайковых активностей нейронов ВЗМЯ. Очевидно, что это будет приводить к нарушению передачи в кору сенсорного потока, возникающего при тригемино-вазкулярной активации – ключевого процесса, лежащего в основе патогенеза мигрени. Таким образом, одним из компонентов механизма антимигренозного действия указанных препаратов может являться угнетение ноцицептивного трафика на уровне таламуса за счет подавления возбудимости дурсенситивных клеток ВЗМЯ. Существование «метамизол-индифферентных» нейронов вполне согласуется с умеренной анальгетической активностью препарата в реальной клинической практике и в некоторой мере объясняет определенную избирательность его терапевтического действия среди пациентов с первичными ГБ.

Доклиническая оценка препаратов-кандидатов для лечения цефалгий на модели тригемино-дуровазкулярной ноцицепции

Одним из способов расширения имеющегося арсенала антицефалгических средств может быть обоснованный поиск фармакологических агентов среди препаратов, разрешенных к клиническому применению по иным, т.е. не связанным с ГБ, показаниям, но имеющим в этом плане определенный потенциал. Кроме этого, необходимо внедрение новых субстанций, продемонстрировавших позитивные результаты на этапе доклинического скрининга. Целью представленного фрагмента работы было изучение на преклинической модели мигрени эффектов некоторых препаратов – как используемых, так и пока не применяющихся в клинической практике – претендующих на роль антицефалгических средств на основании их фармакологических свойств и ряда предварительных наблюдений.

В опытах с комбинированным препаратом 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин (ДХБККК) зарегистрированные нейроны СЯТН (n=21) исходно характеризовались стабильной фоновой активностью с частотой, в среднем, $9,2 \pm 1,6$ спайков/с. Одиочное электрическое раздражение ТМО вызывало реакцию нейронов в виде пачечного разряда, состоящего минимум из 2-х спайков, с латентным периодом не более 12 мс. Введение растворителя (n=5) не сопровождалось значимыми изменениями фоновой активности и ответов нейронов СЯТН. В свою очередь, ДХБККК в линейке доз 12,5; 25 и 37,5 мг/кг при в/в введении оказывал в целом прямое

дозозависимое угнетающее влияние на нейрональную активность. При этом в дозах 12,5 и 25 мг/кг эти изменения не являлись существенными, однако в дозе 37,5 мг/кг (n=7) ДХБККК значимо – по сравнению как с контролем, так и с их исходными значениями до введения препарата – ингибировал фоновую активность и ответы на стимуляцию ТМО нейронов СЯТН ($p < 0,05$, тесты Манна–Уитни и Вилкоксона соответственно). При этом тормозный эффект развивался сразу после назначения ДХБККК и продолжался в течение последующих 75 минут (рисунок 6).

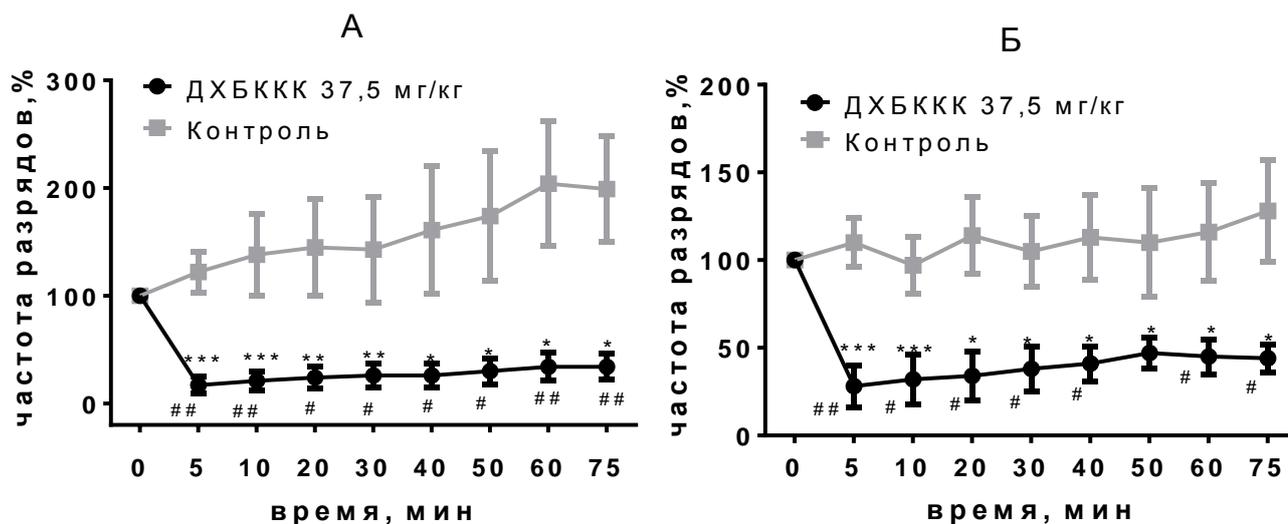


Рисунок 6 – Эффект введения ДХБККК в дозе 37,5 мг/кг на фоновую активность нейронов СЯТН (А) и их ответы на электрическую стимуляцию ТМО (Б).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов СЯТН после в/в введения ДХБККК в дозе 37,5 мг/кг (черные кружки, n=7) или растворителя (серые квадраты, n=5). По оси абсцисс – время в мин, где 0 – исходное значение и момент введения препарата или растворителя; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения препарата или растворителя. Уровни значимости обозначены как *, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона), и как #, ## и ### при $P < 0,05$, 0,01 и 0,001 соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни).

На основании ранее полученных другими авторами данных (Goadsby P.J. et al., 2002; Akerman S. et al., 2004; Storer R.J. et al., 2004) справедливо утверждать, что если некое вещество оказывает ингибирующее действие на нейрональную активность в СЯТН, то оно обладает потенциальными антицефалгическими свойствами и может быть рекомендовано к изучению в когорте соответствующих пациентов. Таким образом, полученный нами результат позволяет теоретически расценивать ДХБККК как средство для лечения ГБ, но для подтверждения этого предположения и оценки реальной эффективности препарата необходимо проведение клинических исследований ДХБККК и дальнейшее изучение его фармакодинамики на альтернативных моделях цефалгий.

В опытах с гранисетроном все зарегистрированные нейроны СЯТН (n=25) исходно были фоновоактивными с частотой спонтанных разрядов, в среднем, $7,4 \pm 0,7$ спайков/с. Все клетки отвечали на одиночное электрическое раздражение ТМО пачкой из 2-7 разрядов, в среднем $4,6 \pm 0,3$ спайков/стимул, со средней латентностью $10,5 \pm 0,6$ мс. В свою очередь, отобранные для исследования клетки ВЗМЯ (n=24) исходно характеризовались преимущественно пачечной фоновой активностью с частотой 3-24 спайков/с, в среднем $9,1 \pm 0,6$ спайков/с. Все нейроны отвечали на одиночную электрическую стимуляцию ТМО паттерном из 5-13 разрядов, в среднем $8,4 \pm 0,5$ спайков/стимул, со средней латентностью $11,7 \pm 0,5$ мс. Введение гранисетрона во всем диапазоне исследуемых доз (2, 4 и 6 мг/кг; в/в; n=6 для каждой дозы) не оказывало существенного влияния на вызванные дуральной электростимуляцией ответы нейронов СЯТН и ВЗМЯ, равно как и на фоновую спайковую активность клеток СЯТН. При этом препарат оказывал обратный дозозависимый стимулирующий эффект на частоту спонтанных разрядов нейронов ВЗМЯ (рисунок 7).

Выше уже говорилось о том, что характерным и значимым компонентом антицефалгической фармакодинамики многих эффективных в клинике антимигренозных препаратов является их способность подавлять вызванные электростимуляцией ТМО ответы и фоновую активность нейронов СЯТН или ВЗМЯ. На этом основании можно сделать вывод о том, что если некий фармакологический агент не влияет на возбудимость клеток обозначенных структур, то сравнительно высока вероятность того, что он не проявит эффективность в клинической практике. Полученные результаты не поддерживают идею использования 5-НТЗ-антагонистов в качестве препаратов для лечения мигрени. Кроме этого, можно сделать вывод, что в условиях отсутствия стойкой сенситизации нейронов тригемино-таламического пути значение 5-НТЗ-рецепторов в серотонинергическом модулировании ноцицептивной трансмиссии в тригемино-васкулярной системе является несущественным.

В опытах с комбинированным препаратом декстрометорфан + хинидин (ДМХ) средние частоты фоновых спайков зарегистрированных нейронов СЯТН в контрольной (n=7) и основной (n=8) группах исходно значимо не различались ($P=0,78$, тест Манна-Уитни) и составляли $8,7 \pm 2,1$ и $10,5 \pm 1,1$ спайков/с соответственно. Нейроны обеих групп отвечали на одиночное электрическое раздражение ТМО пачкой из 3-7 спайков с латентностью, соответствующей активации главным образом Ад-волокон. Исходно средние частоты вызванных спайков в контрольной и основной группах существенно не различались ($P=0,85$) и составляли $5,0 \pm 0,5$ и $5,8 \pm 0,8$ спайков/стимул соответственно.

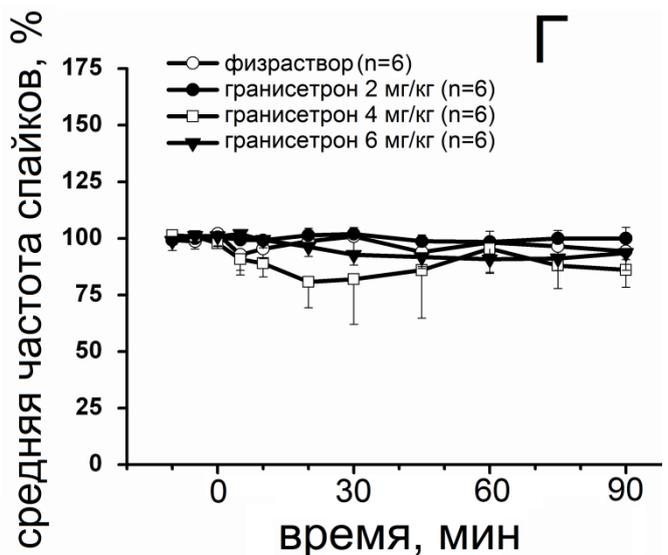
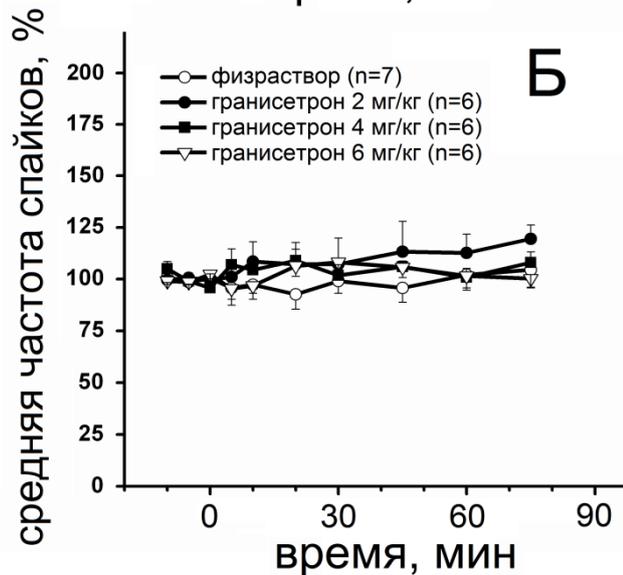
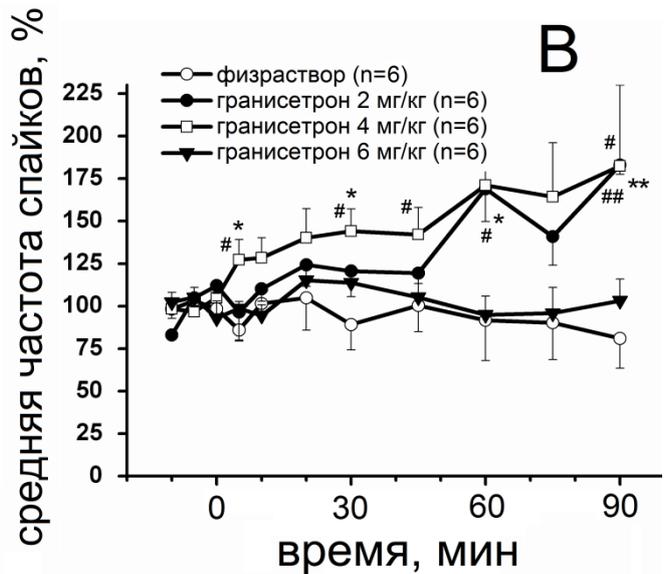
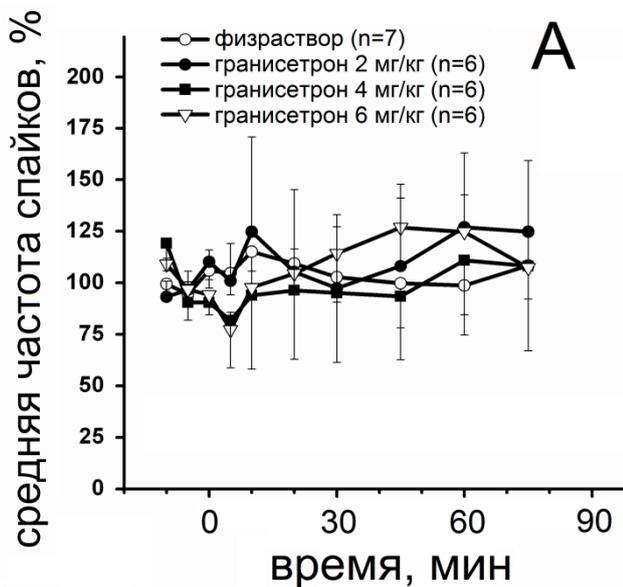


Рисунок 7 – Эффект введения гранисетрона в различных дозах на фоновую (А, В) и вызванную электрической стимуляцией ТМО (Б, Г) активности нейронов СЯТН (А,Б) и ВЗМЯ (В,Г).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов СЯТН и ВЗМЯ после введения гранисетрона в дозах 2; 4 и 6 мг/кг или физраствора. По оси абсцисс – время в мин, где 0 – момент инфузии; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения гранисетрона или физраствора. Уровни значимости обозначены как * и ** при $P < 0,05$ и $0,01$, соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна-Уитни), и как # и ## при $P < 0,05$ и $0,01$, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона).

Кумулятивное введение физраствора не вызывало значимых изменений фоновой активности. В свою очередь, инфузия ДМХ оказывала мощный подавляющий эффект на частоту спонтанных спайков ($P=0,0006$, тест Фридмана). Также, в отличие от физраствора, внутривенное кумулятивное введение которого не сопровождалось существенными изменениями вызванной активности ($P=0,48$), ДМХ значительно подавлял ответы нейронов СЯТН на электростимуляцию ТМО ($P=0,005$), причем ступенчатый характер этого подавления четко соответствовал во времени трем инфузионным шагам (рисунок 8).

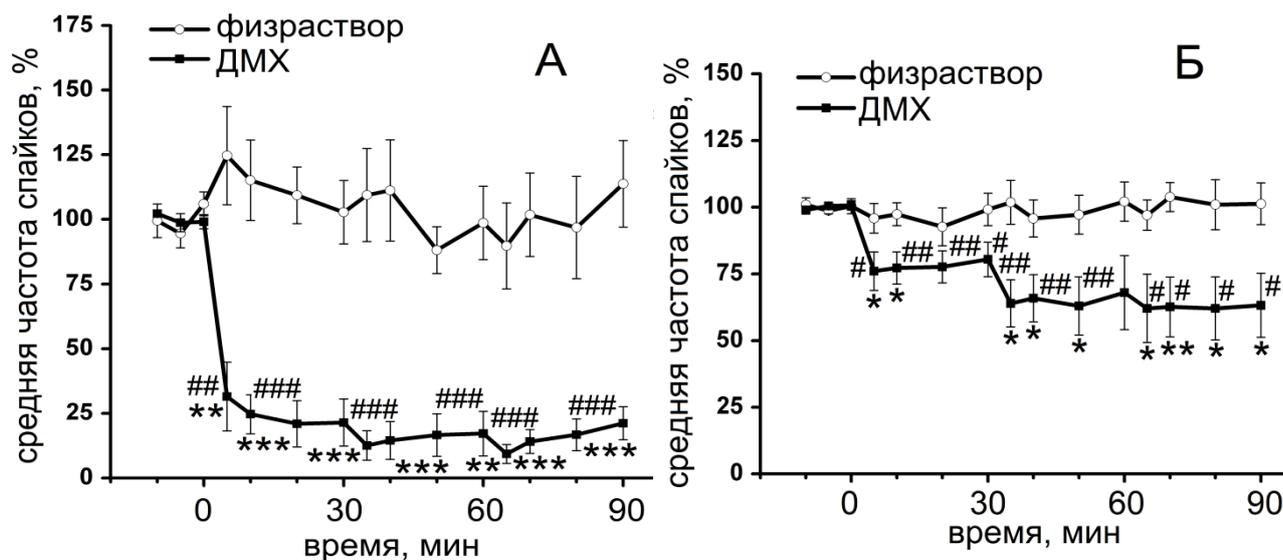


Рисунок 8 – Эффект кумулятивного введения ДМХ на фоновую активность нейронов СЯТН (А) и их ответы на электрическую стимуляцию ТМО (Б).

На рисунке показано изменение во времени средних значений \pm SEM частот фоновых и вызванных электростимуляцией ТМО разрядов нейронов СЯТН после кумулятивного введения (трехкратная инфузия через каждые 30 мин) ДМХ (черные квадраты, $n = 8$) или физраствора (белые кружки, $n = 7$). По оси абсцисс – время в мин, где отметки 0, 30 и 60 – моменты 1-й, 2-й и 3-й инфузии соответственно; по оси ординат – средняя частота разрядов в процентах к исходному уровню до введения ДМХ или физраствора. Уровни значимости обозначены как *, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни), и как #, ## и #### при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями (тест Вилкоксона).

Очевидно, что выявленное при введении ДМХ уменьшение возбудимости клеток СЯТН будет сопровождаться сегментарным торможением проведения ноцицептивной информации от мозговых оболочек в вышележащие структуры ЦНС, что является ключевым компонентом фармакодинамики многих известных антимигренозных препаратов. Полученные в представленной экспериментальной серии данные позволяют предварительно предположить наличие у ДМХ потенциальных антицефалгических свойств, для подтверждения которых необходимо проведение клинических исследований.

Пилотное клиническое исследование эффективности и безопасности фиксированной комбинации декстрометорфан + хинидин в профилактическом лечении мигрени

Целью исследования было изучение влияния ДМХ на частоту и интенсивность приступов ГБ у пациентов с мигренью на фоне рассеянного склероза, осложненного псевдобульбарным аффектом (n=33). Отбор пациентов в исследование ограничивался рамками показаний к клиническому применению ДМХ. В целом ежедневный пероральный прием ДМХ в дозе 20/10 мг 2 раза в сутки в течение не менее 3-х месяцев сопровождался существенным улучшением клинической картины мигрени (рисунок 9). Так, частота приступов уменьшилась у 29 из 33 участников (до $48,17 \pm 30,72\%$ от исходных показателей), у 4 – не изменилась, при этом не было пациентов, отметивших увеличение количества атак в месяц. Интенсивность приступов уменьшилась у 28 пациентов (до $58,19 \pm 29,34\%$), у 5 – не изменилась, из их числа только 2 участника (мужчина, 59 лет, и женщина, 53 года, у обоих мигрень диагностирована более 30 лет назад) оказались «полными нон-респондерами», т.е. у них не было изменений ни в частоте, ни в тяжести приступов. Все пациенты отмечали хорошую переносимость ДМХ; ни один из участников не прервал исследование из-за развития нежелательных реакций.

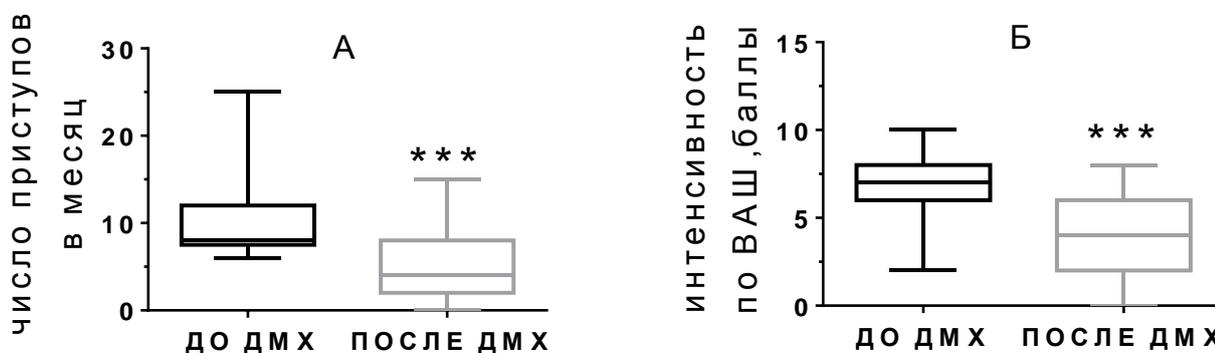


Рисунок 9 – Эффект ДМХ на частоту (А) и интенсивность (Б) приступов мигрени (n=33). Данные представлены как Ме (Q1-Q3); ВАШ – 10-балльная визуальная аналоговая шкала; *** – изменения значимы по сравнению с исходными значениями (до приема ДМХ) при $P < 0,0001$ (тест Вилкоксона).

В проведенном пилотном клиническом исследовании было впервые показано, что более чем у 80% пациентов с рассеянным склерозом и коморбидной мигренью курсовое пероральное назначение ДМХ в суточной дозе 40/20 мг с целью коррекции симптомов сопутствующего ПБА сопровождалось значимым снижением частоты и/или

интенсивности приступов ГБ, а также уменьшением выраженности сопутствующих вегетативных и сенсорных нарушений. Препарат хорошо переносился, и на фоне его приема снижалось потребление средств превентивного ряда. Проведенное исследование в силу его пилотного характера имеет существенные ограничения, пока не позволяющие делать окончательный вывод об эффективности ДМХ в профилактике мигрени. Тем не менее полученные данные являются веским основанием для продолжения работы в выбранном направлении изучения антицефалгической активности ДМХ.

Влияние периферической нейростимуляции на активность нейронов СЯТН

Целью данного фрагмента работы было изучение нейрофизиологического механизма антицефалгического действия электрической стимуляции блуждающего (ВНС) и большого затылочного нервов (ЭСБЗН) на экспериментальной модели мигрени.

В опытах с ВНС все нейроны ($n=52$) исходно были фоновоактивными с частотой спонтанных разрядов, в среднем, $8,2 \pm 1,3$ спайков/с. Эти клетки отвечали на одиночное электрическое раздражение ТМО пачкой из 3-6 спайков (в среднем $4,4 \pm 0,4$ спайков/стимул) со средней латентностью $11,9 \pm 0,4$ мс. Прекондиционирующая ВНС ($n=8$) не вызывала существенных изменений в интенсивности нейрональных ответов на электростимуляцию ТМО. Непрерывная ВНС у 21 (48%) из 44 исследованных по данному протоколу нейронов вызывала выраженное (более чем на 20%) и значимое ($P=0,002$, тест Вилкоксона) угнетение вызванной стимуляцией ТМО активности. У 17 (81%) из 21 нейрона СЯТН, что демонстрировали во время ВНС торможение ответов на стимуляцию ТМО, также наблюдалось одновременное угнетение и фоновой активности ($P=0,0012$). В то же время у 13 (29,5%) из 44 исследованных по протоколу непрерывной ВНС нейронов, указанный режим стимуляции сопровождался существенным усилением ответов на электрораздражение ТМО ($P=0,0002$). Кроме того, в этой клеточной подгруппе ($n=13$) ВНС вызывала существенное усиление фоновой активности ($P=0,011$, тест Вилкоксона) (рисунок 10). Оставшиеся 10 (22,5%) из 44 нейронов не реагировали на ВНС.

В проведенных нами экспериментах впервые было показано, что у крыс непрерывная электростимуляция центрального отрезка блуждающего нерва оказывает преимущественно подавляющее влияние на вызванные электрическим раздражением ТМО ответы конвергентных нейронов СЯТН. Одновременно с этим, большинство исследуемых клеток демонстрировали индуцированное ВНС снижение фоновой спайковой активности, которое было более длительным по сравнению с редукцией ответов. Поскольку снижение возбудимости нейронов СЯТН ассоциируется с антиноцицептивным эффектом, полученные результаты могут объяснять успешность применения ВНС в лечении цефалгий.

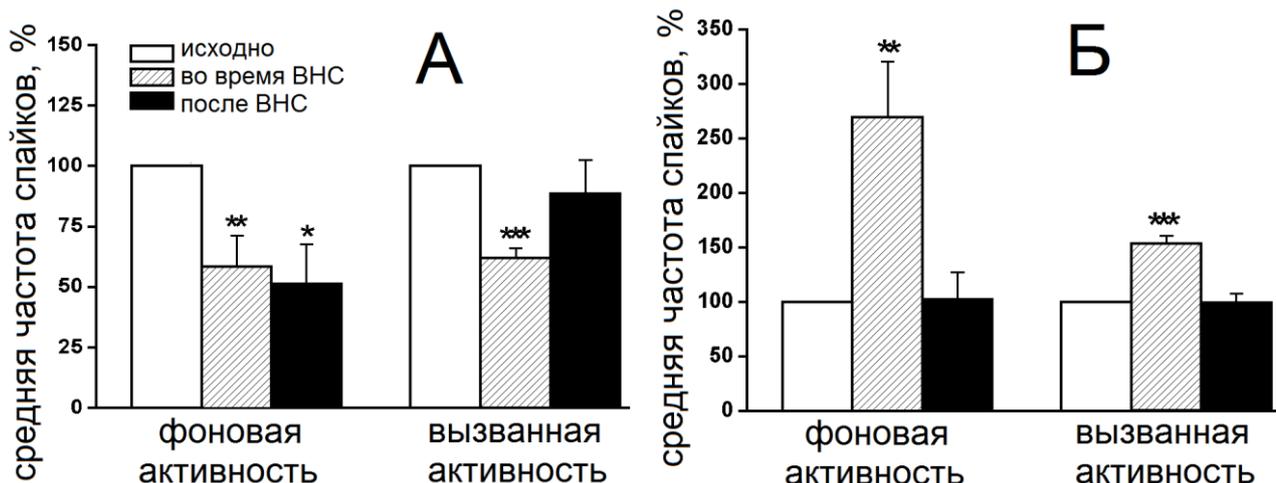


Рисунок 10 – Влияние непрерывной ВНС на фоновую активность нейронов СЯТН (n=44) и их ответы на электрическое раздражение ТМО.

На рисунке представлены соотношения средних значений \pm SEM частот фоновой и вызванной активностей до (белые столбики), во время (заштрихованные столбики) и через 5 мин после (черные столбики) ВНС в популяциях тормозящихся (А) и активирующихся (Б) клеток СЯТН. Уровни значимости обозначены как*, ** и *** при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно, по сравнению с исходными значениями до ВНС (тест Вилкоксона).

С учетом того факта, что около трети зарегистрированных клеток демонстрировали во время ВНС усиление спонтанной и вызванной активностей, можно сделать вывод, что её влияние на болевую трансмиссию в тригемино-вазкулярной системе может быть не только угнетающим, но и стимулирующим, что в целом совпадает с клиническими наблюдениями.

В опытах с ЭСБЗН все нейроны (n=11) были фоновоактивными с частотой спонтанных разрядов, в среднем, $15,6 \pm 3,4$ спайков/с и отвечали на одиночное электрическое раздражение ТМО пачкой из 2-6 спайков (в среднем $4,0 \pm 0,5$ спайков/стимул) со средней латентностью $10,0 \pm 0,9$ мс. Одиночное электрическое раздражение БЗН вызывало у всех клеток ответ, состоящий из 3-5 спайков, возникающих с латентностью 6-8 мс. В целом ЭСБЗН сопровождалась подавлением как фоновой активности нейронов СЯТН, так и их ответов на электрораздражение ТМО, при этом максимальное ингибирование спонтанной активности наблюдалось при параметрах ЭСБЗН 6V-50Hz и 3V-75Hz ($P < 0,01$), а торможение вызванных разрядов – при 6V-100Hz ($P < 0,01$), 6V-50Hz ($P < 0,01$) и при 3V-75Hz ($P < 0,05$, тест Вилкоксона с поправкой Бонферрони на множественность сравнений) (рисунок 11).

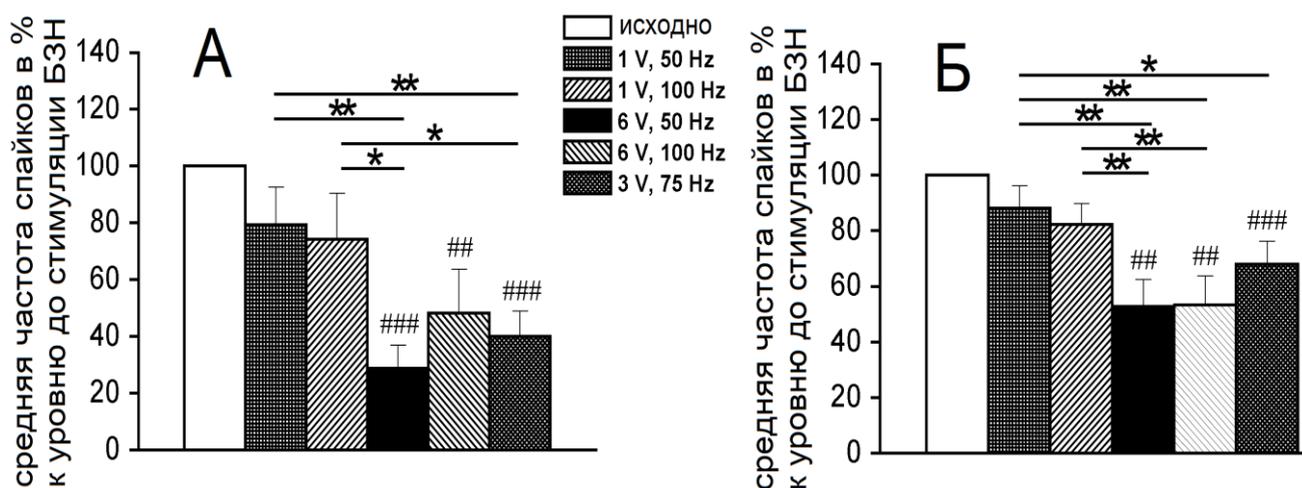


Рисунок 11 – Эффект ЭСБЗН с различными параметрами на фоновую (А) и вызванную электрическим раздражением ТМО (Б) активности нейронов СЯТН (n=11).

Каждый из заштрихованных столбиков демонстрирует изменение средней частоты спайков \pm SEM в процентах к значению непосредственно перед стимуляцией (белый столбик) под действием отдельных сетов ЭСБЗН с различным соотношением напряжения и частоты. Значимость различий обозначена как ## и #### при $P < 0,01$ и $P < 0,001$ по сравнению с уровнем до стимуляции БЗН, и как * и ** при $P < 0,05$ и $P < 0,01$ по сравнению с другими стимуляционными сетями (тест Вилкоксона).

Таким образом, прекондиционирующая высокочастотная ЭСБЗН при сопоставимых с используемыми в клинической практике параметрах сопровождается подавлением возбудимости конвергентных нейронов СЯТН, причем это угнетающее действие имеет прямо пропорциональную зависимость от значений амплитуды ЭСБЗН. По сравнению с эффектами ВНС, изменение частоты спонтанных и вызванных спайков под действием ЭСБЗН носило схожий, хотя и более выраженный и однонаправленный характер, что позволяет говорить о возможной сопоставимости ЭСБЗН и ВНС как методов лечения ГБ в плане наличия общего механизма действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали результаты проведенного исследования, состояние центральной сенситизации (ЦС) сегментарного уровня, индуцированное в эксперименте экспозицией СПВМ на поверхности ТМО, может быть наиболее точно определено путем одновременной оценки фоновой активности нейронов СЯТН, порогов их реагирования на раздражение кожных рецептивных полей и ответов на электростимуляцию ТМО. Эти нейрофизиологические маркеры чувствительны к фармакологическому вмешательству, способному реверсировать состояние сенситизации, в частности к назначению кеторолака, который используется в клинической практике для купирования ГБ.

Очевидно, что механизм антицефалгического действия кеторолака связан с угнетением гипервозбудимости нейронов СЯТН, следствием чего является торможение ноцицептивного трафика в вышележащие структуры ЦНС и нормализация периферической чувствительности.

С помощью модели ТДВН удалось впервые доказать, что персистенция болевого очага в фациальной области способствует выраженному увеличению тригемино-васкулярного ноцицептивного потока на сегментарном уровне, по-видимому, за счет развития сенситизации конвергентных нейронов СЯТН, активация которых рассматривается как важнейшая составляющая нейробиологии ГБ. Полученные результаты вносят вклад в понимание патофизиологических процессов, способствующих развитию коморбидности ОФБ и ГБ. Также можно сделать обобщающее заключение о том, что индуктором центральных функциональных нейропластических изменений, происходящих в СЯТН, могут выступать периферические воспалительные очаги, причем как интра-, так и экстракраниальной локализации.

Общим нейрофизиологическим свойством вальпроевой кислоты и метамизола является способность подавления активности таламических тригемино-васкулярных нейронов 3-го порядка. Указанная способность, сопровождающаяся торможением ноцицептивного трафика на уровне таламуса, может быть одним из компонентов механизма антицефалгического действия этих препаратов. В совокупности с ранее полученными данными, результаты настоящего исследования способствуют формированию целостной картины их фармакодинамики в пределах тригемино-таламического пути. Кроме этого, выявленное на модели ТДВН угнетение возбудимости клеток тригемино-таламического пути, вызванное некой фармакологической или нелекарственной интервенцией, допустимо рассматривать в качестве вероятного признака антимигренозной активности исследуемого вмешательства, что должно учитываться при проведении доклинических изысканий в области лечения мигрени.

В отдельных экспериментальных сериях были получены принципиально новые данные о нейрофизиологических свойствах трех различных препаратов, два из которых вполне могут претендовать на роль антимигренозных средств. При этом в открытом неконтролируемом клиническом исследовании на малой выборке пациентов с мигренью ДМХ продемонстрировал эффективность в качестве профилактического средства, уменьшающего частоту и интенсивность приступов мигрени. Этот факт, во-первых, лишний раз подчеркивает предикционные свойства модели ТДВН, что позволяет использовать её на этапе доклинического скрининга, и, во-вторых, является предпосылкой для проведения дополнительных исследований более строгого дизайна.

Поскольку гранисетрон не проявил свойств ингибитора возбудимости тригемино-васкулярных нейронов, едва ли он представляет интерес с точки зрения лечения ГБ. Что же касается ДХБККК, то этот комбинированный препарат может быть рекомендован к клинической апробации у лиц с мигренью.

Полученные в опытах по изучению эффектов периферической нейростимуляции данные позволяют с уверенностью предполагать, что торможение ноцицептивной трансмиссии на уровне СЯТН может быть общим, хотя и не единственным, нейрофизиологическим механизмом реализации терапевтического потенциала электростимуляции блуждающего и большого затылочного нервов в лечении первичных цефалгий. Учитывая тот факт, что один из ключевых аспектов фармакодинамики антимигренозных препаратов также заключается в снижении возбудимости нейронов СЯТН, напрашивается гипотетический вывод о наличии неких схожих нейробиологических путей развития антицефалгического эффекта лекарственного и физиотерапевтического методов лечения ГБ.

ВЫВОДЫ

1. Аппликация смеси провоспалительных и аллогенных субстанций на поверхность твердой мозговой оболочки приводит к развитию сенситизации нейронов спинального ядра тройничного нерва, нейрофизиологическими маркерами которой являются повышение частоты генерации указанными клетками фоновых спайков, снижение порогов активации их кожных афферентов и усиление ответа на электрическое раздражение твердой мозговой оболочки. Кеторолак при внутривенном введении реверсирует состояние центральной сенситизации, что проявляется в восстановлении исходных – до развития сенситизации – показателей частот спонтанных и вызванных электрораздражением твердой мозговой оболочки разрядов клеток спинального тригеминального ядра, а также нормализацией чувствительности их кожных рецептивных полей.
2. Персистенция вызванного подкожным введением формалина болевого очага в лицевой области способствует существенному усилению тригемино-васкулярного ноцицептивного потока на сегментарном уровне за счет развития сенситизации конвергентных нейронов спинального ядра тройничного нерва, получающих афферентные входы от твердой мозговой оболочки; это раскрывает возможный механизм формирования коморбидности орофациальных и головных болей.
3. Вальпроевая кислота и метамизол при внутривенном введении дозозависимо подавляют фоновую спайковую активность менингеально-чувствительных нейронов

вентрального заднемедиального ядра таламуса и их ответы на электрораздражение твердой мозговой оболочки; указанный нейрофизиологический механизм может обеспечивать клиническую эффективность этих препаратов в профилактике и купировании приступов мигрени.

4. Фиксированные комбинации 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин и декстрометорфан + хинидин при внутривенном введении оказывают прямой дозозависимый подавляющий эффект на возбудимость нейронов спинального ядра тройничного нерва, что может рассматриваться в качестве предиктора их клинической эффективности в лечении головных болей.
5. Выявленный в моноцентровом неконтролируемом клиническом исследовании превентивный антицефалгический эффект фиксированной комбинации декстрометорфан + хинидин у пациентов с мигренью на фоне рассеянного склероза позволяет позиционировать препарат как потенциальное средство для профилактики мигрени и является основанием для проведения дальнейших масштабных контролируемых исследований.
6. Фармакологическая блокада 5-НТЗ-рецепторов с помощью гранисетрона не оказывает существенного влияния на фоновую активность менингеально-чувствительных нейронов спинального тройничного ядра и таламуса, а также их ответы на электрическое раздражение твердой мозговой оболочки, что свидетельствует о несущественной роли 5-НТЗ-зависимых механизмов в серотонинергическом модулировании ноцицептивной трансмиссии в тригемино-васкулярной системе. Эти результаты указывают на потенциальную бесперспективность использования 5-НТЗ-антагонистов в качестве препаратов для лечения мигрени.
7. Электрическая стимуляция блуждающего и большого затылочного нервов сопровождается подавлением возбудимости конвергентных нейронов спинального ядра тройничного нерва, что может лежать в основе проявления антицефалгических свойств указанных способов немедикаментозного лечения головных болей.
8. Угнетение функциональной активности нейронов спинального ядра тройничного нерва и/или вентрального заднемедиального ядра таламуса, получающих ноцицептивную информацию от твердой мозговой оболочки, можно рассматривать в качестве универсального нейрофизиологического механизма реализации терапевтического потенциала фармакологических и физиотерапевтических методов лечения мигрени.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК

1. **Соколов А.Ю.**, Амелин А.В., Игнатов Ю.Д., Пантелеев С.С. Влияние ГАМК-позитивных препаратов на фоновую и вызванную электрическим раздражением верхнего сагиттального синуса активность нейронов каудального ядра тройничного нерва крысы // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 5. – С. 3-7.

2. **Соколов А.Ю.**, Игнатов Ю.Д. Сегментарные анатомические структуры ствола мозга, участвующие в механизмах формирования головной боли // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10, № 2. – С. 17-31.

3. **Соколов А.Ю.**, Игнатов Ю.Д. Основные подкорковые структуры мозга как мишень действия препаратов для фармакотерапии первичных головных болей // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2010. – Т.8, № 2. – С.13-26.

4. **Sokolov A.Y.**, Lyubashina O.A., Pantelev S.S., Chizh B.A. Neurophysiological markers of central sensitisation in the trigeminal pathway and their modulation by the cyclo-oxygenase inhibitor ketorolac // Cephalalgia. – 2010. – Vol. 30, № 10. – P. 1241-1249.

5. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С. С. Роль серотониновых рецепторов в механизмах формирования мигрени // Нейрохимия. – 2011. – Т. 28, № 2. – С 104-112.

Перевод:

Sokolov A.Y., Lyubashina O.A., Pantelev S.S. The Role of Serotonin Receptors in Migraine Headaches // Neurochemical Journal. – 2011. – Vol. 5, № 2. – P. 92-99.

6. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Игнатов Ю.Д., Пантелеев С.С., Сырвая А.О., Звягинцева Т.В. Влияние «Мигрепина» на активность нейронов каудального ядра тройничного нерва // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, № 5. – С. 13-16.

7. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Игнатов Ю.Д., Амелин А.В., Пантелеев С.С. Роль сенситизации в механизмах формирования мигрени // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11, № 2. – С. 3-14.

8. **Sokolov A.Y.**, Lyubashina O.A., Pantelev S.S. Spinal trigeminal neurons demonstrate an increase in responses to dural electrical stimulation in the orofacial formalin test // J. Headache Pain. – 2012. – Vol. 13. – P. 75-82.

9. Lyubashina O.A., **Sokolov A.Y.**, Pantelev S.S. Vagal afferent modulation of spinal trigeminal neuronal responses to dural electrical stimulation in rats // Neuroscience. – 2012. – Vol. 222. – P. 29-37.

10. Беркович Р.Р., Тотолян Н.А., **Соколов А.Ю.**, Игнатов Ю.Д., Скоромец А.А. Лечение обострений рассеянного склероза // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – № 10. – С. 69-77.

11. **Sokolov A.Y.**, Lyubashina O.A., Sivachenko I.B., Berkovich R.R., Pantelev S.S. Intravenous valproate inhibits ongoing and evoked activity of dura-sensitive thalamic neurons in rats // Eur. J. Pharmacol. – 2013. – Vol. 715. – P. 204-211.

12. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Амелин А.В., Пантелеев С.С. Роль норадреналина в патогенезе первичных головных болей // Нейрохимия. – 2013. – Т. 30, № 4. – С. 289-300.

Перевод:

Sokolov A.Y., Lyubashina O.A., Amelin A.V., Pantelev S.S. The Role of Noradrenalin in the Pathogenesis of Primary Headaches // Neurochemical Journal. – 2013. – Vol. 7, № 4. – P. 256-265.

13. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Амелин А.В., Пантелеев С.С. Роль гамма-аминомасляной кислоты в патогенезе мигрени // *Нейрохимия*. – 2014. – Т. 31, № 2. – С. 106-121.

Перевод:

Sokolov A.Y., Lyubashina O.A., Amelin A.V., Panteleev S.S. The Role of Gamma-Aminobutyric Acid in Migraine Pathogenesis // *Neurochemical Journal*. – 2014. – Vol. 8, № 2. – P. 89-102.

14. **Sokolov A.Y.**, Lyubashina O.A., Sivachenko I.B., Panteleev S.S. Effects of intravenous metamizole on ongoing and evoked activity of dura-sensitive thalamic neurons in rats // *Eur. J. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 731. – P. 58-64.

15. Сиваченко И.Б., Медведев Д.С., Молодцова И.Д., Пантелеев С.С., **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А. Эффект электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на экспериментальной модели мигрени // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2015. – Т. 160, № 10. – С. 420.

16. **Sokolov A.Y.**, Lyubashina O.A., Berkovich R.R., Panteleev S.S. Intravenous dextromethorphan/quinidine inhibits activity of dura-sensitive spinal trigeminal neurons in rats // *Eur. J. Pain*. – 2015. – Vol. 19, № 8. – P. 1086-1094.

17. Lyubashina O.A., Panteleev S.S., **Sokolov A.Y.** Inhibitory effect of high-frequency greater occipital nerve electrical stimulation on trigeminovascular nociceptive processing in rats // *J. Neural. Transm.* – 2017. – Vol. 124. – P. 171-183.

18. **Соколов А.Ю.**, Мурзина А.А., Осипчук А.В., Любашина О.А., Амелин А.В. Холинергические механизмы формирования головных болей // *Нейрохимия*. – 2017. – Т. 34, № 3. – С. 189-208.

Перевод:

Sokolov A.Y., Murzina A.A., Osipchuk A.V., Lyubashina O.A., Amelin A.V. Cholinergic Mechanisms of Headaches // *Neurochemical Journal*. – 2017. – Vol. 11, № 3. – P. 194-212.

19. **Sokolov A.Y.**, Sivachenko I.B., Panteleev S.S., Lyubashina O.A. Blockade of 5-HT₃ receptors with granisetron does not affect trigeminothalamic nociceptive transmission in rats: implication for migraine // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2018. – Vol. 45. – P. 34-41.

20. Berkovich R.R., **Sokolov A.Y.**, Togasaki D.M., Yakupova A.A., Cesar P.H., Sahai-Srivastava S. Dextromethorphan/Quinidine in Migraine Prophylaxis: An Open-label Observational Clinical Study // *Clin. Neuropharmacol.* – 2018. – Vol. 41, № 2. – P. 64-69.

21. **Соколов А.Ю.**, Попова Н.С., Поваренков А.С., Амелин А.В. Роль дофамина в механизмах формирования первичных головных болей // *Нейрохимия*. – 2018. – Т. 35, № 4. – С. 323-337.

Перевод:

Sokolov A.Y., Popova N.S., Povarenkov A.S., Amelin A.V. The Role of Dopamine in Primary Headaches // *Neurochemical Journal*. – 2018. – Vol. 12, № 4. – P. 324-336.

22. Ваганова Ю.С., Амелин А.В., Бабаян Л.Э., **Соколов А.Ю.**, Готовчиков А.А., Максимов И.В., Скоромец А.А. Сравнительная оценка эффективности лечения лекарственно-индуцированной головной боли в стационаре и амбулаторных условиях // *Российский журнал боли*. – 2018. – Т. 57, № 3. – С. 26-34.

Публикации в материалах конференций, изданных в рецензируемых журналах

1. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Амелин А.В., Игнатов Ю.Д. Влияние кеторолака на активность сенситизированных нейронов спинального ядра тройничного нерва // *Достижения клинической фармакологии в России: Материалы научно-*

практич. конф. с междунар. участием // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – № 6. – С. 300-301.

2. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Игнатов Ю.Д., Амелин А.В. Нейрофизиологические маркеры сенситизации нейронов тройничного комплекса и влияние на них неселективного ингибитора циклооксигеназы кеторолака // Боль: медицинские и социальные аспекты: Материалы XV Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием // Боль. – 2009. – Т. 24, № 3. – С. 43-44.

3. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С., Амелин А.В., Игнатов Ю.Д. Влияние вальпроата на спайковую активность нейронов вентрального задне-медиального ядра таламуса // Боль: междисциплинарная проблема: Материалы 19-й Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием // Российский журнал боли. – 2013. – Т. 36, № 1. – С. 17.

4. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С., Игнатов Ю.Д. Эффекты вальпроевой кислоты на возбудимость нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса крысы // Фармакологическая нейропротекция: Мат. всерос. научн. конф. с междунар. участием // Обзоры по клин. фарм. и лек. терапии. – 2013. – Т. 11. – С. 130.

5. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Амелин А.В. Влияние электрической стимуляции большого затылочного нерва на спайковую активность нейронов спинального тройничного ядра // Болевые синдромы: современный взгляд на диагностику и лечение: Материалы XX Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием // Российский журнал боли. – 2014. – Т. 37, № 1. – С. 21-22.

6. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Амелин А.В., Беркович Р.Р. Влияние фиксированной комбинации декстрометорфана и хинидина на спайковую активность нейронов тригемино-цервикального комплекса // Лечение боли: успехи и проблемы: Материалы XXI Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием // Российский журнал боли. – 2015. – № 1. – С. 36-37.

7. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Амелин А.В. Вентральное заднемедиальное ядро таламуса как мишень действия препаратов для лечения головной боли // Фармакология экстремальных состояний: Материалы Рос. науч. конф. // Обзоры по клин. фарм. и лек. терапии. – 2015. – Т. 13. – С. 155.

8. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Бабаян Л.Э., Самулышко Ю.С., Амелин А.В. Возможный нейрофизиологический механизм реализации антицефалгического эффекта периферической нейростимуляции // Диагностика и лечение боли – междисциплинарное взаимодействие: Тез. XXIII Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием // Российский журнал боли. – 2017. – Т. 52, № 1. – С. 4-5.

Публикации в сборниках научных трудов

1. Пантелеев С.С., **Соколов А.Ю.** Влияние ГАМК-ергических соединений на активность нейронов спинномозгового ядра тройничного нерва // Механизмы функционирования висцеральных систем: Тез. докл. 7-й Всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 160-летию со дня рожд. И.П. Павлова. – СПб, 2009. – С. 332.

2. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Игнатов Ю.Д., Сырвая А.О., Звягинцева Т.В. Влияние мигрепина на функциональную активность нейронов тригемино-цервикального комплекса // Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам: Материалы 5-й междунар. конф. – Клязьма, 2010. – С. 81.

3. Громова А.А., **Соколов А.Ю.** Фоновая и вызванная активность нейронов ядра тройничного нерва в условиях экспериментальной краниоваскулярной боли // Тез. докл. XXI Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. – Калуга, 2010. – С. 164.

4. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сыровая А.О. Влияние «мигрепина» на электрическую активность нейронов ядра тройничного нерва крысы // Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды: Тез. докл. Всерос. конф. с междунар. участ., посвящ. 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. – СПб, 2010. – С. 268-269.

5. Сыровая А.О., Звягинцева Т.В., Пантелеев С.С., Любашина О.А., **Соколов А.Ю.** Экспериментальное исследование антимигренозной активности «Мигрепина» // Материалы научно-практической конф. с межд. участ., посв. 170-летию кафедры фармакологии и клинической фармакологии Национального медицинского университета им. О.О. Богомольца // Украинский научно-медицинский молодежный журнал. – 2011. – Специальный выпуск, № 4, С. 86.

6. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Игнатов Ю.Д., Пантелеев С.С. Динамика фоновой и вызванной активности нейронов спинального ядра тройничного нерва в условиях орофациального формалинового теста // Тез. докл. III Съезда физиологов СНГ // Научные труды III Съезда физиологов СНГ / под ред. А.И. Григорьева, О.А. Крышталя, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили. – М.: Медицина–Здоровье, 2011. – С. 32-33

7. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С. Эффекты стимуляции блуждающего нерва на фоновую и вызванную активность конвергентных нейронов спинального тройничного ядра // Нейронаука для медицины и психологии: Тез. докл. 8-го междунар. Междисциплинарного конгресса – Судак, 2012. – С. 382-383.

8. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Пантелеев С.С., Амелин А.В., Игнатов Ю.Д. Нейрофизиологическая модель тригемино-дуроваскулярной ноцицепции как современный метод изучения нейробиологии и фармакотерапии мигрени // Подходы к пониманию механизмов и лечению симптомов боли: Тез. докл. – СПб, 2012. – С. 99-100.

9. Любашина О.А., **Соколов А.Ю.**, Пантелеев С.С. Возможный механизм терапевтического действия вагусной нейростимуляции при цефалгиях // Тез. докл. 8-й всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 220-летию со дня рождения академика К.М. Бэра. – СПб, 2012. – С. 138-139.

10. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С., Амелин А.В., Игнатов Ю.Д. Влияние метамизола на фоновую активность нейронов вентрального заднемедиального ядра таламуса // Тез. докл. на XXII Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова, 16-20 сентября 2013. – Волгоград, 2013. – С. 492.

11. Амелин А.В., Богданова Ю.Н., Бабаян Л.Э., **Соколов А.Ю.** Эффективность и переносимость прегабалина и вальпроата при лечении частых приступов мигрени // Головная боль–2013: Сборник докл. Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием, 13-14 декабря 2013. – М., 2013. – С. 17-18.

12. Любашина О.А., **Соколов А.Ю.**, Пантелеев С.С., Амелин А.В. Эффекты вагусной нейростимуляции на модели головной боли у крыс // // Головная боль–2013: Сб. докладов Рос. научно-практич. конф. с межд. участием, 13-14 декабря 2013. – М., 2013. – С. 53-56.

13. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С., Амелин А.В. Возможный нейрофизиологический механизм антицефалгического действия метамизола //

Головная боль–2013: Сб. докладов Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием, 13-14 декабря 2013. – М., 2013. – С. 65-67.

14. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Амелин А.В., Пантелеев С.С. Эффекты электрической стимуляции большого затылочного нерва на частоту разрядов конвергентных нейронов тригемино-цервикального комплекса // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, 8-12 октября 2014. – Сочи-Дагомыс, 2014. – С. 61.

15. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Беркович Р.Р., Пантелеев С.С., Амелин А.В. Пилотное доклиническое исследование комбинации декстрометорфана и хинидина на экспериментальной модели мигрени у крыс // Инновации в фармакологии: от теории к практике: Тез. докладов Всерос. конф. с между. участ., посвящ. 90-летию со дня рождения академика АМН СССР А.В. Вальдмана, Санкт-Петербург, 27-28 октября 2014. – СПб, 2014. – С. 160-162 (приложение к журналу «Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева»).

16. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С. Роль 5-НТЗ-рецепторов в механизмах модуляции активности нейронов тригемино-таламо-кортикального пути // Современные проблемы нейробиологии : Материалы науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 70-летию Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль, 2014. – С. 44-45.

17. **Соколов А.Ю.**, Любашина О.А., Беркович Р.Р. Изучение противомигренозной активности фиксированной комбинации декстрометорфана и хинидина в эксперименте и клинике // Научные основы поиска и создания новых лекарств: Материалы V съезда фармакологов России, 14-18 мая 2018 г., Ярославль // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, приложение. – С. 227.

Монография

1. Амелин А.В., Игнатов Ю.Д., Скоромец А.А., **Соколов А.Ю.** Мигрень. Патогенез, клиника, фармакотерапия: руководство для врачей. – М.: МЕДпресс-информ, 2011/2014. – 256 с.

Список сокращений

БЗН	– большой затылочный нерв
ВАШ	– визуальная аналоговая шкала
ВЗМЯ	– вентральное заднемедиальное ядро таламуса
ВНС	– вагусная нейростимуляция
ДМХ	– фиксированная комбинация декстрометорфан + хинидин
ДХБККК	– фиксированная комбинация 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин
ГБ	– головная боль
ОФБ	– орофациальная боль
СПВМ	– смесь провоспалительных медиаторов
СЯТН	– спинальное ядро тройничного нерва
ТДВН	– тригемино-дуроваскулярная ноцицепция
ТМО	– твердая мозговая оболочка
ЦС	– центральная сенситизация
ЭСБЗН	– электростимуляция большого затылочного нерва