



HAL
open science

Etude comparative chez les rats mâles et femelles de l'implication du complexe trigémino-cervical et du locus coeruleus dans l'intégration d'une douleur méningée

Maxime Barnet

► **To cite this version:**

Maxime Barnet. Etude comparative chez les rats mâles et femelles de l'implication du complexe trigémino-cervical et du locus coeruleus dans l'intégration d'une douleur méningée. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Clermont Auvergne, 2021. Français. NNT : 2021UCFAC120 . tel-04474529

HAL Id: tel-04474529

<https://theses.hal.science/tel-04474529>

Submitted on 23 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE D'Auvergne-UFR d'Odontologie
Ecole Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, et
Environnement

Année 2021

THÈSE

pour le

DOCTORAT d'UNIVERSITÉ

Mention : Sciences Biologiques et Médicales
Option : Neurosciences

Présentée et soutenue publiquement le 25 novembre 2021 par

Maxime BARNET

Etude comparative chez les rats mâles et femelles de l'implication du complexe trigémino-cervical et du locus coeruleus dans l'intégration d'une douleur méningée

Membres du Jury

Dr Annabelle RÉAUX-LE-GOAZIGO Rapporteur
Dr Michel BARROT Rapporteur
Pr Serge MARCHAND Rapporteur
Pr Xavier MOISSET Président du jury
Dr Myriam ANTRI Directrice
Dr Lénaïc MONCONDUIT Directrice

Remerciements

Merci tout d'abord aux membres du Jury : la chercheuse Annabelle Réaux-Le-Goazigo, le neurologue Xavier Moisset, le chercheur Michel Barrot et le professeur Serge Marchand, qui ont accepté de lire, commenter et juger mon travail, une tâche jamais simple et fastidieuse qui empiète sur leur emploi du temps. Vous avez toute ma gratitude.

Afin de me dédouaner des éventuels oublis, je vais d'abord remercier le laboratoire dans son ensemble pour son aide et son accueil. Cette thèse a bien évidemment été un travail collectif, et vivre cette période ô combien épuisante dans un univers déplaisant aurait été horrible. Hors labo, je remercie Mme Bouzaboune, incroyable organisatrice de l'école doctorale qui comme les scouts est toujours présente. Merci aussi à Catherine, l'impavide mais efficace surveillante de la fac, et au personnel de ménage, qui ne m'a jamais insulté malgré le fait que je venais les déranger tôt le matin dans leur travail fatigant (surtout qu'un nombre conséquent d'entre eux avait peur des rongeurs).

Au sein du labo, je remercie évidemment en premier mes encadrantes, les enseignant-chercheurs Lénaïc Monconduit et Myriam Antri, qui lors de l'été 2018, après un entretien Skype où j'ai bafouillé, se sont dites que j'étais le candidat idéal pour passer le concours de l'école doctorale sur un sujet de thèse que je ne connaissais pas, dans un laboratoire que je ne connaissais pas non plus, et après n'avoir pas approché une paillasse depuis une année. C'est un peu l'équivalent de parier au PMU sur le cheval avec la cote la plus basse, mais elles l'ont fait, et pour ça elles méritent toute ma reconnaissance. Je n'ai pas été l'étudiant le plus facile ni le plus doué (LITOTE) et j'espère qu'elles ne regrettent pas (trop) leur choix. Je leur souhaite bien des découvertes glorieuses, et les meilleurs étudiants possibles.

Je remercie ensuite le Pr. Radhouane Dallel, directeur du laboratoire, qui a une capacité à trouver des financements quasi-mystique, et une façon bien à lui de motiver ses étudiants qui fonctionne étonnamment bien.

Merci à Gisela DaSilva-Borges, la rainha da eletrofisiologia (et des injections de traceurs), collègue affreusement gentille et énergique, à l'esprit scientifique toujours affuté. Faire des chirurgies ou des séances microscopie à tes côtés fut un plaisir. Tu as pris tellement de temps pour m'expliquer ou discuter avec moi que je te dois beaucoup dans le simple fait de comprendre à peu près mon travail.

Merci à Amélie Descheemaeker qui, outre avoir réalisé mes manip de comportements de manière qualitative et quantitative, possède beaucoup d'humanité, et est capable de mettre (beaucoup trop) à l'aise le moindre nouvel étudiant timide, et de le faire taire si besoin.

Merci à Anne-Marie Gaydier, éternelle gestionnaire du labo, toujours de bonne humeur et prompte à régler tous les problèmes abominablement administratifs. Chaque jour, elle vous demandera si « ça va », ça n'a l'air de rien mais ça compte.

Bien que je n'ai pas travaillé avec eux, merci à Karine Herault (animatrice officielle du labo), à Cédric Peirs (chercheur aux virus de qualité) et François Gabrielli (premier et dernier recours de tout le labo en cas de souci informatique).

Merci enfin aux étudiant(e)s du labo (avec des variations, on a eu des « cas »), doctorants comme stagiaires, qui installent une bonne ambiance, avec des séances de plaintes collectives qui fonctionnent comme une efficace thérapie de groupe. Moi qui ne sort de base pas beaucoup, heureusement que vous étiez là pour me changer d'air. Bon courage à vous, vous verrez ça passe vite.

Merci bien sûr à ma famille, mon père Alain, ma mère Martine et ma sœur Axelle (docteur aussi YAY) pour leur soutien sans faille, considérant que le fils/frère ingrat que je suis n'appelle pas souvent, et qui jubilent à l'idée que je n'ai bientôt plus d'excuse (la thèse) pour rester planqué chez moi.

Enfin un immense merci à la docteur Sarah Mountadem, la future docteur Jennifer Makhoul et à mon ami de toujours Vincent Lopata. Les deux premières ont été mes collègues de bureau mais surtout mes amies : ensemble nous avons ri, mangé, bu, beaucoup trop joué aux cartes... bref vécu hors du travail. Sans elles, j'aurai très certainement craqué mentalement donc cette thèse est aussi la leur (une deuxième YAY). Merci à vous, j'espère rester votre ami encore longtemps. Le troisième était là au début, au milieu et à la fin de cette thèse. Ami depuis le lycée, tu m'as aidé à m'installer, tu m'as invité chez toi d'innombrables fois et malgré ma disparition (surtout en troisième année) tu as continué à m'inonder de memes et de vidéos absurdes. Mon cher Vincent, tu as illuminé mes périodes de doutes. Merci également à leurs conjoints respectifs, Benoît (quel homme), Charbel (quel homme aussi) et Eugénie (femme de poigne mais tolérante à notre stupidité, c'est un honneur d'être le parrain de ta future fille).

J'aurais pu remercier mon chat mais c'est lui qui me doit tout.

Ce fut une thèse laborieuse, mais comme l'édicte le Principe de Peter : « tout homme tend à s'élever jusqu'à son niveau d'incompétence ». En ce qui me concerne je me sens très bien élevé.

Résumé

La migraine est une pathologie chronique qui est caractérisée par la survenue d'intenses céphalées associées à d'autres symptômes tels que la photo/phonophobie, nausée/vomissements ou encore allodynie : douleur déclenchée par une stimulation non douloureuse. Ces symptômes apparaissent par crises entrecoupées d'intervalles d'accalmie. La migraine touche 15 à 18% de la population dans le monde, est retrouvée préférentiellement chez les femmes, et parfois de manière plus intense lors des menstruations. Même si certains mécanismes de la migraine commencent à être connus, il reste de nombreuses questions et notamment de savoir comment se fait l'intégration de la douleur migraineuse et si cette intégration est différente selon le sexe des individus.

Dans notre projet, nous avons exploré chez les rats mâles et femelles, l'implication du complexe trigémino-cervical (CTC) et du Locus Coeruleus (LC) dans le développement de l'allodynie cutanée dans un modèle de douleur méningée induit par l'injection répétée de soupe inflammatoire (IS). La première région cérébrale, le CTC, constitue le premier relai central provenant de la région orofaciale dont les méninges. Le LC est un noyau noradrénergique dont les voies descendantes vont, entre autre, moduler la douleur et projeter sur le CTC. En combinant des analyses comportementales et des techniques immunohistologiques, nous avons montré chez les mâles comme chez les femelles qu'une injection durale d'IS induit une allodynie, qui devient persistante lors de la répétition des injections d'IS. Cependant, l'évolution de l'allodynie est plus rapide chez les femelles. En dissociant les femelles selon leur cycle hormonal : proestrus/estrus (P/E) et Metestrus/Diestrus (M/D), nous avons montré que les femelles P/E avaient une allodynie céphalique plus importante que les femelles M/D après 2 injections d'IS. De plus, en utilisant le marqueur d'activation neuronal c-Fos, les femelles aux stades P/E présentaient une activation plus importante dans le CTC suite à l'inflammation des méninges. Contrairement aux neurones du CTC, les neurones du LC n'ont pas été activés par l'IS, cependant, nous avons pu observer, en condition physiologique, un dimorphisme sexuel importants du LC : les neurones C-Fos dans le LC sont en quantité plus importante chez la femelle que chez le mâle. Enfin, nous nous sommes intéressés aux projections du LC à l'aide de techniques de traçage, et confirmé l'existence de projections directes du LC sur le CTC et de projections indirectes, utilisant la médulla rostro-ventrale comme intermédiaire. Nous avons également observé l'existence de projections corticales superficielles, qui pourraient avoir une influence sur la vascularisation méningée, et indirectement sur le CTC. Il n'existe cependant pas de différences anatomiques de ces projections entre les mâles et les femelles.

L'ensemble de ces résultats démontre que l'intégration d'une douleur méningée dépend du cycle hormonal, et que l'activité du CTC est le reflet de cette intégration après deux injections d'IS. Nous avons également montré l'existence de voies directes et indirectes pouvant permettre au LC de moduler le CTC. Enfin, notre projet démontre la nécessité d'inclure les deux sexes dans les études scientifiques et de prendre en compte le cycle hormonal.

Abstract

Migraine is a chronic neurological disorder whose the incidence is threefold higher in women. Among migraine symptoms, cutaneous allodynia is recognized as a central sensitization signal during migraine attacks. To date, most of studies have been restricted to male animals and little is known about how sex and estrous affect migraine-induced allodynia and central sensitization. Moreover, the pathophysiology of migraine is not completely understood due to, among other reasons, the lack of studies targeting the neuroanatomical supraspinal organization. The sexually dimorphic Locus coeruleus has been gaining relevance in migraine modulation, but its connections with key regions in this pathology, such as the Trigemino-Cervical Complex (TCC), have been lightly studied.

Using preclinical behavioral model of migraine, we show that one inflammatory soup (IS) injection produce a reversible cephalic allodynia that becomes persistent upon four repeated IS stimulations in female, as well as in male rats. However, the peak of allodynia following each dural inflammation appeared earlier in females than males. Furthermore, when we dissociate females according to their hormonal cycles, Proestrus/Estrus (P/E) females displayed a higher intensity hypersensitivity than Metestrus/Diestrus (M/D) ones after two IS stimulations. These results clearly illustrate the importance of stratifying data by the stage of the estrous cycle. Using c-Fos immunoreactivity, we also examined the effect of gender and estrous cycle on TCC and Locus Coeruleus (LC) neurons after two repeated-IS injection. Touch-induced c-Fos expression was observed specifically in the V1 region of the most caudal TCC and increased in only P/E females after dural stimulations. We further showed sexual dimorphism of c-Fos expression in LC and surprisingly, LC neurons did not displayed c-Fos over-expression following dural inflammation, neither in males nor in P/E and M/D females. However, we aim to study the direct and indirect projections by which the LC may could modulate TCC activity. We employed retrograde traditional and anterograde specific viral neuroanatomical tracing and immunohistochemistry techniques to identify LC projections to the TCC, to the rostroventral medulla (RVM), to the cortex, and to the meningeal circulatory system. Our results confirmed that the LC innervates the TCC by a direct pathway. It also shows that indirect modulation of the descending pain control system is possible, as demonstrated by the convergence, in the RVM, of LC terminations contacting RVM neurons projecting to the TCC. The study of the LC anatomical pathway regulating peripheral encephalic circulatory system still requires further research.

Together, our data demonstrate that the intensity of migraine-induced mechanical allodynia is associated to activation of TCC neurons and depends on the hormonal estrous cycle. Our anatomic results uncover the LC network in migraine, and more precisely in headache pain. Indeed, the role of LC in gating and modulating sensory information could account for increasing TCC excitability and, in turn, lower the threshold for headache, through direct and indirect pathways.

Liste des abréviations

5-HT	sérotonine
AINS	Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdien
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AR	Récepteur noradrénergique
CeA	noyau central de l'amygdale
CGRP	Calcitonin-gene related peptide
CIDN	Contrôle Inhibiteur Diffus induit par une stimulation Nociceptive
CRF	Corticotropin Releasing Factor
CST	Complexe Sensitif Trigéminal
CTC	Complexe Trigémino-Cervical
DBH	Dopamine-Beta-Hydroxylase
DCE (CSD)	Dépression Corticale Envahissante (Cortical Spreading Depression)
ER	récepteur aux estrogènes
FSH	hormone folliculo-stimulante
GABA	Gamma-AminoButyric Acid
HMGB1	High Mobility Group Box 1
IHS	International Headache Society
IS	soupe inflammatoire
LC	Locus Coeruleus
LH	hormone lutéinisante (Luteinizing Hormone)
MHF	Migraine Hémiplégique Familiale
MMP-9	Matrix MetalloPeptidase-9
mPFC	cortex préfrontal médian
NA	NorAdrénaline
Nf-kB	Nuclear Factor-Kappa B
NO	monoxyde d'azote
NS	Nociceptif Spécifique
PACAP	Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide
PAG	substance grise périaqueducule
PGE2	ProstaGlandine E2
PGi	noyau paragigantocellulaire
RVM	médulla Rostro-Ventro-Médiale
SP	Substance P
Sp5C	sous-noyau caudal du CST.
Sp5I	sous-noyau interpolaire du CST.
Sp5O	sous-noyau oral du CST.
STV	Système Trigémino-Vasculaire
SubC	région subcéruléenne
TEP	Tomographie à Emission de Positons
TH	Tyrosine Hydroxylase
TRPV1	Transient Receptor Potential Vanilloid type 1
V1	branche ophtalmique du nerf trijumeau
V2	branche maxillaire du nerf trijumeau
V3	branche mandibulaire du nerf trijumeau
VPM	noyau du thalamus VentroPostéroMédian
WDR	Wide Dynamic Range

Abréviations uniques aux figures

Figure 4

Vc sous-noyau caudal du CST

Figure 5

CS sous-noyau caudal du CST

dPSN partie dorsale du noyau principal du CST

IS sous-noyau interpolaire du CST

OS sous-noyau oral du CST

vPSN partie ventrale du noyau principal du CST

Figure 6

PF cortex préfrontal

BG ganglions de la base

ACC cortex cingulaire antérieur

Amyg amygdale

M1 cortex moteur primaire

SMA cortex moteur supplémentaire

PCC cortex cingulaire postérieur

PPC cortex pariétal postérieur

S1 cortex somatosensoriel primaire

S2 cortex somatosensoriel secondaire

HT hypothalamus

PB noyau parabrachial

Figure 9

PPE extravasation de protéines plasmatiques

Figure 10

CSD dépression cortical envahissante (DCE)

TG ganglion trigéminal

TCC complexe trigémino-cervical (CTC)

CC cortex cingulaire

Figure 12

Ctx cortex

BNST noyau du lit de la strie terminale

POA aire préoptique de l'hypothalamus

Hy hypothalamus

MRN noyau réticulé du mésencéphale (Midbrain Reticular Nucleus)

PRN noyau réticulé pontin

Cb cervelet (Cerebellum)

SVN noyau vestibulaire spinal

IRN noyau réticulé intermédiaire

LRN noyau réticulé latéral
PGRN/GRN noyau paragigantocellulaire (PGi)

Figure 13

BO bulbe olfactif
CPF cortex préfrontal
CTX cortex
HC hippocampe
TH thalamus
AM amygdale
HP hypothalamus
ME moelle épinière

Figure 14

TG ganglion trigéminal
TCC complexe trigémino-cervical (CTC)
DCE dépression cortical envahissante (DCE)

Tableau 4

GPCR récepteur couplé à un protéine G (G Protein Coupled Receptor)
KO test comportemental d'un animal transgénique
PW test de retrait de la patte suite à une stimulation thermique radiante
PSNL ligation partielle du nerf sciatique
BDNF facteur neurotrophique issu du cerveau
SNI lésion partielle d'un nerf
CCL constriction chronique d'un nerf
DAMP motifs moléculaires associés aux dégâts
STZ streptozotocine
M mâles
F femelles

Figure 18

PROG progestérone
EST estradiol
FSH hormone folliculo-stimulante (Follicle Stimulating Hormone)
HCG gonadotropine chorionique humaine

Figure 19

LC core noyau du LC
DL peri-LC régions péricéruléenne dorsolatérale
VM Peri-LC régions péricéruléenne ventromédiane
BNST noyau du lit de la strie terminale
Bar noyau de Barrington
NTS noyau du tract solitaire

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Schéma représentant les 3 phases de la migraine	2
Figure 2 : Courbes représentant la relation stimulus cutanée/douleur chez un patient sain, neuropathique ou avec une perte de sensibilité	4
Figure 3 : Histogramme illustrant la variété des déclencheurs de migraine	6
Figure 4 : Schémas de la distribution anatomique des neurones nociceptifs	15
Figure 5 : Schéma de l'anatomie de différents noyaux du CST	17
Figure 6 : Illustration des différentes régions corticales et sous-corticales impliquées dans la douleur	19
Figure 7 : Schéma des voies ascendantes en parallèle des voies descendantes	21
Figure 8 : Schéma de la physiopathologie de la douleur migraineuse	27
Figure 9 : Mécanisme hypothétique de l'inflammation neurogène durable	33
Figure 10 : représentation schématique de la théorie associant DCE (ici CSD pour Cortical Spreading Depression), inflammation neurogène et douleur migraineuse	35
Tableau 1 : Tableau des traitements de crise non-spécifiques de la migraine	39
Tableau 2 : Tableau des traitements de crise spécifiques de la migraine	41
Tableau 3 : Tableau des traitements de fond oraux de la migraine	43
Figure 11 : Représentation du mode d'action de la noradrénaline	45
Figure 12 : Représentation sagittale des différentes afférences du LC dans le cerveau de rat	47
Figure 13 : Représentation sagittale des différentes efférences du LC dans le cerveau de rat	51
Figure 14 : Représentation des influences du LC dans la physiopathologie de la migraine décrites par Vila-Pueyo et al. (2019)	57
Tableau 4 : Tableau regroupant les protéines avec un rôle sexe-dépendant dans l'intégration de la douleur	63
Figure 15 : Variations du niveau d'hormones stéroïdiennes chez l'homme et la femme au cours de la vie	65
Figure 16 : Niveaux d'estradiol, de progestérone et d'hormone lutéinisante (LH) au cours du cycle hormonal chez la femme (A) et la rate (B)	67
Figure 17 : Graphique décrivant les changements d'intensité douloureuse chez la femme en fonction de la variation cyclique des estrogènes	69

Figure 18 : Graphique représentant les changements hormonaux et l'incidence de la migraine sans aura chez la femme, au cours du cycle hormonal, de la grossesse et de la ménopause	71
Figure 19 : Schéma représentant le noyau du LC ainsi que les régions péricéruléennes chez le rat	75
Figure 20 : Représentation schématique de nos objectifs	77

TABLE DES MATIERES

Chapitre I : INTRODUCTION	1
Partie I : Epidémiologie et physiopathologie de la migraine	3
I. Généralités sur la migraine	3
1) Epidémiologie de la migraine	3
2) Diagnostic	3
3) Facteurs déclencheurs de la crise de migraine	5
4) Comorbidités et facteurs de risque	7
a) Facteurs hormonaux	7
b) Anxiété et dépression	7
c) Prédispositions génétiques	8
d) Epilepsie	9
e) Obésité	9
f) Troubles du sommeil	10
g) Chronicisation de la migraine	10
II. Anatomie des voies de la douleur trigéminal	11
1) Les méninges	12
2) Les fibres trigéminales	13
3) Le CST	16
4) Les voies ascendantes de la douleur	20
5) Les voies de modulation de la douleur	22
a) La PAG	22
b) La RVM	23

c) Modulation par le LC	24
d) Contrôles nociceptifs inhibiteurs diffus	24
e) Contrôles à partir de l'hypothalamus	24
f) Contrôles corticaux	25
III. Physiopathologie de la migraine	25
1) Déclenchement de la crise de migraine	26
a) Théorie vasculaire	26
b) Théorie neuronale	26
1) <u>Dysfonctionnement du tronc cérébral</u>	<u>26</u>
a. Implication de la PAG	28
b. Implication de la RVM	28
c. Implication du LC	29
2. <u>Dysfonctionnement de l'hypothalamus</u>	<u>29</u>
3. <u>Hyperexcitabilité corticale</u>	<u>30</u>
2) Mécanismes de l'aura migraineuse : la Dépression Corticale Envahissante (DCE) et ses conséquences	30
3) Mécanismes de la céphalée migraineuse	32
a) L'inflammation neurogène	32
b) Implication de la DCE	36
c) Implication du système parasympathique	36
d) Implication des astrocytes	37
IV. Traitements de la migraine	38
1) Traitements de crise	38
2) Les traitements de fond	40
Partie II : Locus Coeruleus, afférences, efférences et fonctions	44
I. Historique et anatomie générale	44
II. Mode d'action de la NA	44
III. Afférences du LC	46
1) Noyau paragigantocellulaire (PGi)	46
2) Le noyau du prepositus hypoglossi (Ph)	48
3) La PAG	48

4) Hypothalamus	48
5) Amygdale	49
6) Cortex	49
IV. Efférences et fonctions du LC	49
1) Rôle du LC dans l'éveil	50
2) Rôle dans le stress	50
3) Rôle dans la mémoire	52
4) Rôle du LC dans la modulation sensorielle	52
Partie III. Le Locus Coeruleus dans la douleur	53
I. Le LC dans la douleur	53
1) LC et douleur aiguë	53
2) LC et douleur chronique	55
II. Le LC dans la migraine	58
Partie IV : Différences sexuelles dans la douleur	59
I. Généralités	59
1) Prévalence et perception de la douleur selon le sexe	59
2) Efficacité des traitements à la douleur selon le sexe	61
3) Mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués	64
4) Importance des hormones sexuelles dans la douleur	64
II. Dymorphisme sexuel dans un contexte de migraine	70
1) La migraine et les femmes	70
2) Dimorphisme sexuel dans le complexe trigemino-vasculaire	72
a) Génétique	72
b) Expression des récepteurs aux estrogènes	73
c) Activité neuronale du STV	73
3) Dimorphisme sexuel dans le LC	74
a) Génétique	74
b) Anatomie	74
c) Embryogenèse et développement	74
d) Récepteurs des hormones sexuelles	76

<u>Hypothèse de travail et objectifs</u>	<u>78</u>
Chapitre II : Articles	79
Article 1 : Sex and Estrus cycle influence trigeminospinal central but not Locus Coeruleus sensitization associated to migraine development in rat	80
Article 2 : Direct and indirect Locus coeruleus projections to the Trigemino-Cervical Complex: Reappraisal of the noradrenergic pathways and putative implication in migraine modulation	114
Chapitre III : Discussion, Conclusions et perspectives	149
DISCUSSION	151
Sensibilisation du CTC	152
Le rôle du LC dans la migraine	155
Le rôle de la RVM dans la migraine	160
Conclusion et Perspectives	162
Chapitre IV : Références bibliographiques	165

Chapitre I :

Introduction

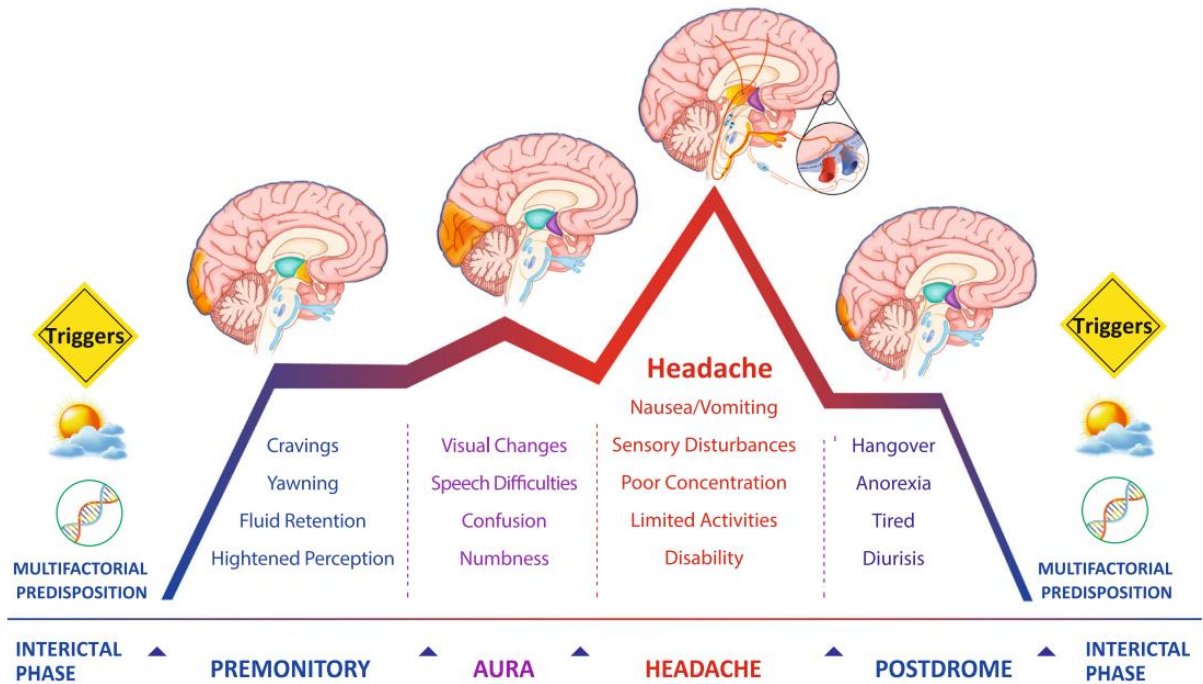


Figure 1 : Schéma représentant les 3 phases de la migraine, additionnées de l'aura : la migraine se caractérise par des crises récurrentes séparées par des phases interictales. Chaque phase de la crise possède des symptômes particuliers, dont la présence varie selon les patients (Andreou & Edvinsson, 2019).

Partie I : Epidémiologie et physiopathologie de la migraine

I. Généralités sur la migraine

1) Epidémiologie de la migraine

Terme apparu au XII^e siècle et signifiant en grec « douleur dans la moitié de la tête », la migraine est aujourd'hui connue comme la pathologie neurologique la plus invalidante qui touche 15 à 18% de la population mondiale (Goadsby et al., 2017), soit plus d'un milliard deux cents millions de personnes concernées (Global Burden of Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, 2018) dont presque douze millions de personnes pour la France. Une caractéristique importante de cette maladie est sa prévalence selon le sexe : la proportion étant de trois femmes touchées pour un homme (Stovner et al., 2018). Cette prévalence tend à pointer le rôle des hormones féminines dans le déclenchement de la migraine. De plus, les crises de migraines surviennent plus fréquemment autour du premier jour du cycle menstruel (premier jour des règles), correspondant à la chute brutale du taux d'estrogènes (Stewart et al., 2000 ; Pavlovic et al., 2016). Enfin, elles tendent à disparaître après la ménopause (Merikangas et al., 2011), après un pic d'incidence entre l'âge de 25-34 ans (Robbins & Lipton, 2010).

2) Diagnostic

La migraine est diagnostiquée grâce aux critères définis par l'International Headache Society (IHS) depuis 1988. Lesdits critères sont actuellement décrits par la classification ICHD-3, publiée en 2018. La migraine se divise en trois phases (Figure 1) : la phase prodromale suivie de la phase céphalalgique (douleur céphalique) puis de la phase postdromale. Les prodromes et postdromes sont caractérisés par divers symptômes tels qu'une hyper-ou-hypoactivité, une fatigue, un épisode dépressif, des douleurs, ou encore une irritabilité ou des bâillements. Ces 2 phases ne sont pas toujours perceptibles par les patients.

L'allodynie traduit une sensibilisation des neurones des voies de la douleur, qui a lieu à la fois dans le système nerveux central et périphérique. Dans ce dernier cas, la sensibilisation des nocicepteurs (fibres A et/ou C) ne se traduit pas par une diminution de leur seuil d'activation, mais par une augmentation de leur taux de décharge, couplée à une désactivation de systèmes inhibiteurs GABAergiques et glycinergiques situés dans la corne dorsale de la moelle épinière (La & Chung, 2017). Dans le cas de la sensibilisation centrale lors de la migraine, l'imagerie à résonance magnétique montre que les patients allodyniques possèdent un pattern d'activation particulier (sensibilisation) du thalamus et du complexe sensitif trigéminal, ainsi qu'une désactivation des systèmes analgésiques descendants (décrits plus loin) : l'hypothèse étant que l'hypersensibilité du noyau trigéminal expliquerait l'allodynie céphalique, tandis que celle du thalamus justifierait son extension en extracéphalique (Maleki et al., 2021). L'allodynie cutanée céphalique est particulière : en effet, l'injection d'une molécule inflammatoire, l'interleukine 6, dans diverses parties du corps chez le rat, a démontré que seule l'allodynie céphalique pouvait s'étendre à d'autres régions (extracéphaliques) (Avona et al., 2021).

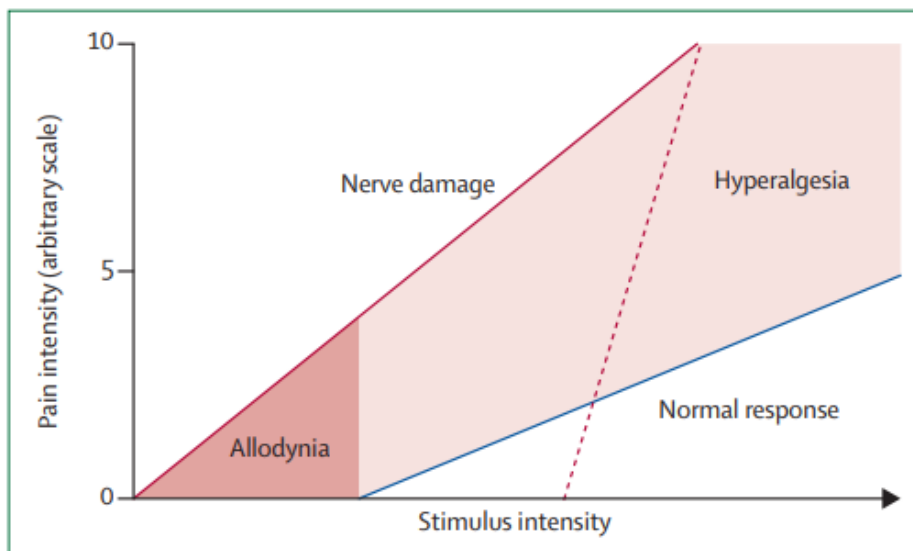


Figure 2 : Courbes représentant la relation stimulus cutané/douleur chez un patient sain (ligne bleue), un patient neuropathique (ligne rouge) et un patient avec une perte de sensibilité (ligne rouge pointillée). L'allodynie, située hors de la ligne bleue, correspond à l'apparition d'une douleur suite à un stimulus normalement non douloureux. L'hyperalgésie correspond à une hausse de la douleur issue d'un stimulus normalement douloureux (Jensen & Finnerup, 2014).

L'IHS sépare les migraines en deux groupes :

- Les migraines sans aura (dont les symptômes sont listés plus bas)
- Les migraines avec aura, similaires aux précédentes à ceci près que les personnes affectées (environ un tiers des migraineux (Lipton et al., 2002)) sont sujettes à des troubles neurologiques temporaires visuels (en majorité), sensitifs et/ou aphasiques. Ces troubles précèdent et parfois accompagnent la phase céphalalgique de la migraine. De manière générale, un patient est diagnostiqué migraineux quand :
 - La céphalée dure de 4 à 72 heures en l'absence de traitement
 - La céphalée possède au moins deux des quatre caractéristiques suivantes :
 - Unilatérale
 - Pulsatile
 - (d'intensité modérée à sévère)
 - Aggravée par l'activité physique
 - La céphalée s'accompagne d'au moins une des caractéristiques suivantes :
 - Nausées voire vomissement
 - Photophobie et phonophobie

Bien que cela ne soit pas un critère diagnostique, il est à noter que 79% des migraineux développent une allodynie pendant leurs crises (Burstein et al., 2000) : ce symptôme se traduit par l'apparition d'une douleur suite à un stimulus non douloureux, comme par exemple une caresse sur la joue (Figure 2). L'allodynie cutanée est bien moins répandue en Asie (14,5% des migraineux coréens, Kim & Park, 2016) par rapport à l'Occident. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer cette observation. La première est que la prévalence des migraines ainsi que la sévérité des crises sont plus faibles en Asie, probablement en raison du fond génétique de ces populations. La seconde est qu'un plus petit Indice de Masse Corporelle est observé dans ce continent ce qui préviendrait des crises de migraine.

3) Facteurs déclencheurs de la crise de migraine

Bien que possédant une prédisposition génétique, les quatre-cinquièmes des patients associent le déclenchement des crises à différents facteurs. Les plus fréquents sont le stress, un sommeil perturbé (Pellegrino et al., 2018), mais également le cycle hormonal, ou encore le jeûne (Kelman, 2007). Plusieurs jours de stress et/ou de manque de sommeil vont être ainsi extrêmement prédictifs de la survenue d'une crise de migraine (Houle et al., 2012). Si le jeûne est un facteur déclencheur important, de nombreux aliments et boissons sont décrits comme favorisant l'apparition de crises de migraine, parmi lesquels l'alcool (Onderwater et al., 2019), le chocolat, la caféine, les produits laitiers et ceux riches en lipides (Rockett et al., 2012). De manière plus précise, les facteurs déclencheurs rapportés

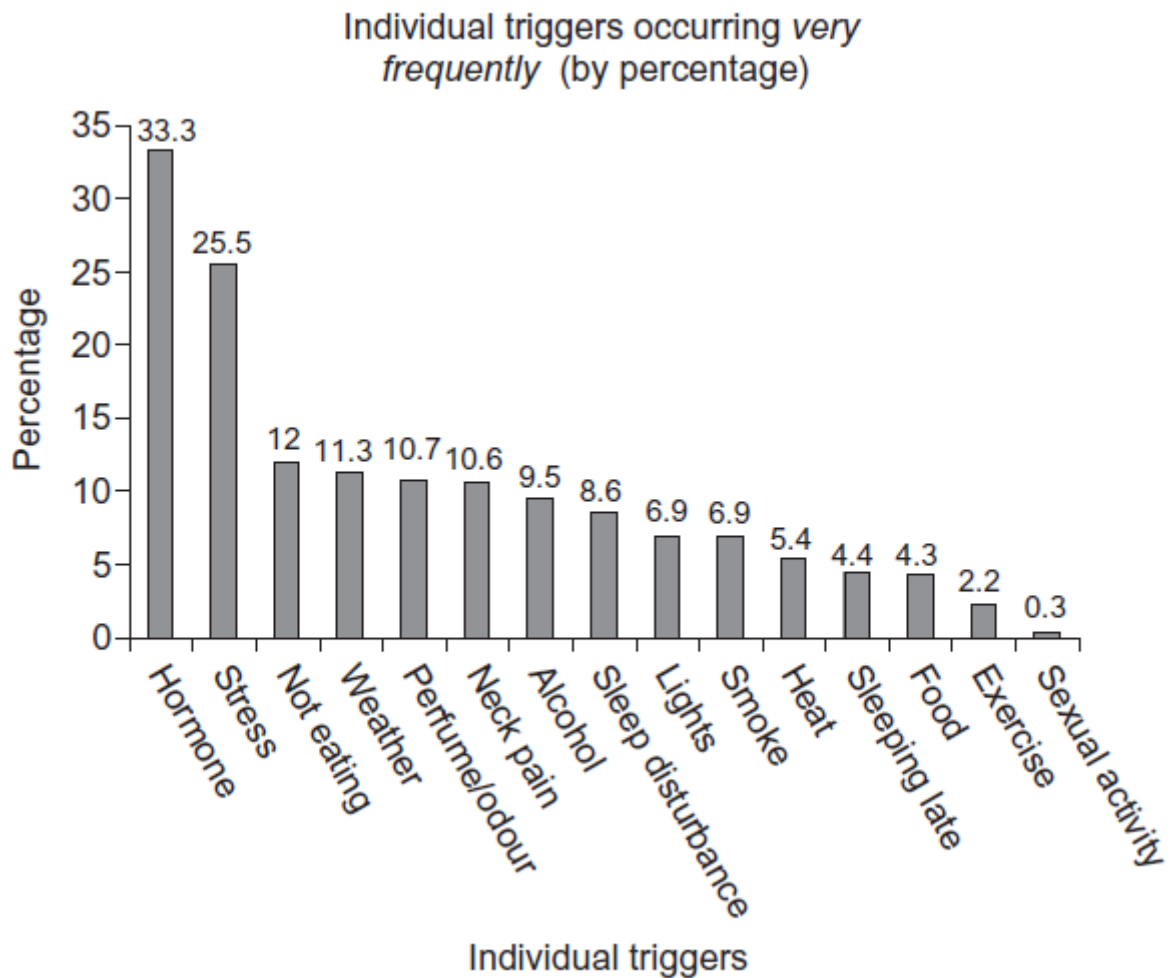


Figure 3 : Histogramme illustrant la variété des déclencheurs de migraine considérés très fréquents (>66% des migraines). Les hormones ne sont mentionnées que par les femmes, et se réfèrent notamment aux règles, ce qui montre bien l'importance primordiale de ce facteur qui sera abordé dans la **Partie IV** (Kelman, 2007).

sont les mêmes dans les deux sexes, si ce n'est que les menstruations sont en première position chez les femmes (Van Casteren et al., 2021, Figure 3). Ainsi, l'exposition à des facteurs déclencheurs aboutit à une crise de migraine dans un tiers des cas tout au plus (Hougaard et al., 2013).

4) Comorbidités et facteurs de risque

Un grand nombre de facteurs et de pathologies sont associés à la survenue ou l'aggravation de la migraine : par exemple, les enfants prématurés et/ou ayant subis des interventions chirurgicales lorsqu'ils étaient nouveau-nés sont touchés plus tôt par la migraine (Maneyapanda, 2005). Les pathologies cardiovasculaires (notamment le risque d'accident vasculaire cérébral) sont plus répandues chez les migraineux, qu'ils soient homme ou femme (Kurth et al., 2007 & 2016).

a) Facteurs hormonaux

Etant donnée la large prévalence de la migraine chez la femme par rapport à l'homme (3/1), il existe un lien très fort entre les variations hormonales sexuelles et le risque migraineux. Il est intéressant de noter d'ailleurs qu'il y a autant de garçons que de filles touchés par la migraine avant la puberté, et que c'est seulement après la puberté que l'écart entre homme et femme se dessine (Stewart et al., 1991). Cette partie sera plus approfondie dans le chapitre traitant des différences sexuelles dans la migraine.

b) Anxiété et dépression

Les troubles psychologiques, tels qu'anxiété chronique ou dépression, sont aussi positivement corrélés avec les céphalées (migraines comprises), notamment en fonction de la fréquence de celles-ci (Zwart et al., 2003). La dépression est l'une des comorbidités psychiatriques les plus courantes chez les patients migraineux. Plusieurs études ont montré que les migraineux avaient 2,5 fois plus de risques de souffrir de dépression que les non-migraineux (Lipton et al., 2000 ; Minen et al., 2016 ; Zwart et al., 2003). Les troubles anxieux (anxiété généralisée, panique, troubles compulsifs et phobies) sont, quant à eux, 2 à 5 fois plus fréquents chez les patients migraineux que dans la population générale (Buse et al., 2013 b ; Minen et al., 2016). Par ailleurs les études d'associations pangénomiques qui comparent le génome de vastes cohortes d'individus montrent qu'il existe une corrélation génétique entre la migraine et différents troubles psychiatriques que sont les troubles du déficit de l'attention avec ou sans hyperactivité, les troubles de l'anxiété, ou encore les troubles dépressifs majeurs (Brainstorm Consortium (2018) Analysis of shared heritability in common disorders of the brain. Science). Ces symptômes sont également retrouvés dans les modèles de migraine chez l'animal, notamment dans le modèle de migraine par injection de soupe inflammatoire sur les méninges chez le rat (Melo-Carrillo & Lopez-Avila, 2013 ; Zhang et al., 2017).

c) Prédispositions génétiques

L'apparition des techniques de séquençage du génome a ouvert une nouvelle voie dans la recherche sur la migraine, et notamment sur son origine. Un intérêt tout particulier s'est porté sur la recherche d'une susceptibilité héréditaire, grâce à l'étude de la migraine hémiplésique familiale (MHF), un sous-type de migraine. Des mutations récurrentes ont par exemple été découvertes le gène ATP1A2, codant la sous-unité alpha-2 de la pompe sodium/potassium (De Fusco et al., 2003) ou encore le gène SCN1A, responsable d'un canal sodique voltage-dépendant (Dichgans et al., 2005). Une autre mutation génétique recherchée en routine dans le diagnostic de la MHF touche le gène PRRT2, codant pour une protéine transmembranaire riche en proline qui serait impliquée dans la libération des neurotransmetteurs (Riant et al., 2012). Ainsi les mutations identifiées dans la cadre de la MHF concernent toutes des gènes impliqués dans la régulation ionique (canaux ou transporteur), certaines protéines associées au complexe d'exocytose et l'excitabilité neuronale, suggérant que la migraine, dans certaines conditions, serait plutôt une canalopathie. Pourtant, dans une étude de 2008 par Thomsen et al., les mutations de CACNL1A4 et ATP1A2 ne furent retrouvées que chez deux des vingt-sept patients atteints de migraine hémiplésique sporadique. D'autres variantes de ces gènes furent découvertes, mais le plus souvent les mutations concernaient des parties non transcrites des protéines, éliminant de facto ces gènes comme responsables de ce sous-type de migraine.

Les progrès du séquençage ont également permis le lancement de vastes études d'association pangénomique, afin de trouver un génotype commun aux différents types de migraine. L'étude de Chasman et al. en 2011 a par exemple utilisé des bases de données génétiques européennes et mis en évidence l'association de 3 gènes avec la migraine, impliquant TRMP8 (responsable de la douleur due au froid), LRP1 (rôle dans la signalisation intra-cellulaire) et PRDM16 (corégulateur de la transcription dans la graisse brune). Une autre méta-analyse a révélé 38 variants prédominants chez les migraineux, dont un sur le chromosome X (Gormley et al., 2016). Cette étude a permis de mettre en évidence que la migraine, en dehors de la MHF, n'est pas une canalopathie puisque seulement 2 loci sur les 38 étaient rattachés à un canal. En s'appuyant sur les résultats de cette étude, les loci identifiés sont en lien avec les tissus vasculaires, ce qui conforte le rôle important de cette composante dans la physiopathologie de la migraine. Plus récemment, l'étude d'une banque de données génétique anglaise de plus de deux cents mille personnes a relevé plusieurs milliers de mutations significatives entre migraineux et non-migraineux, la plus retrouvée concernant le gène codant pour le récepteur à l'hormone du stress, le Corticotropin Releasing Factor (CRF, Meng et al., 2018). Par ailleurs, il est intéressant de noter que plusieurs mutations génétiques sont communes aux migraineux et aux personnes souffrant de dépression (Yang et al., 2018) ainsi que de troubles de l'anxiété ou encore de déficit d'attention lié ou non à une hyper-activité (Brainstorm Consortium, 2018).

d) Epilepsie

Les patients épileptiques sont plus affectés par la migraine que les sujets contrôles, tandis que les migraineux ont 79% de risque en plus que les gens sains d'être épileptiques (Keezer et al., 2015). A l'instar des non-épileptiques, la migraine est plus fréquente chez les femmes, et les patients les moins sujets aux migraines sont également moins sujets aux crises épileptiques (Çilliler et al., 2017). Comme pour les troubles dépressifs, des mutations génétiques touchant des canaux ioniques sont retrouvées entre épileptiques et migraineux atteints de la forme hémiplegique familiale, ce qui tendrait à leur donner une pathophysiologie commune (Prontera et al., 2018). Il est possible cependant que cette relation soit surestimée, étant donné que la migraine est un effet secondaire courant des traitements antiépileptiques (Nevitt et al., 2017).

e) Obésité

En considérant la population générale, les personnes obèses ont un risque supérieur de 27% de souffrir de migraine par rapport aux personnes ayant un Indice de Masse Corporelle moyen, mais cette prévalence dépend beaucoup des différentes variables (Gelay et al., 2017). La migraine est plus répandue dans la population blanche, féminine et en âge reproductif (donc avec une influence des hormones sexuelles), et ces groupes sont ceux où l'obésité est effectivement une comorbidité (Peterlin et al. 2013). Chez les femmes notamment, il existe une corrélation entre l'IMC et la fréquence des crises, ce qui indiquerait que l'obésité favorise l'aggravation de la migraine, et qu'elle serait donc potentiellement un facteur de risque de la migraine (Winter et al., 2009). Preuve de l'influence de l'obésité sur la sensibilisation douloureuse, les patients migraineux en surpoids sont bien plus affectés par l'allodynie cutanée (Minguez-Olaondo et al., 2020). Les tissus adipeux pourraient contribuer à cette sensibilisation via la sécrétion de molécules inflammatoires, les adipocytokines (Domínguez et al., 2018). Les récepteurs à ces cytokines se retrouvent notamment dans l'hypothalamus, impliqué dans la régulation de la prise de nourriture et suspecté d'être l'un des déclencheurs de la crise de migraine. Le lien entre obésité et céphalées ne semble pourtant exister que dans le cas d'une obésité générale, et pas dans le cas d'une obésité uniquement abdominale (Kristoffersen et al., 2020). La perte de poids chez les patients obèses migraineux est corrélée avec une amélioration de la migraine (Di Vincenzo et al., 2020). A noter que, curieusement, les personnes en sous-poids sont également légèrement plus sujettes à la migraine (Gelay et al., 2017). En dehors de l'obésité, l'alimentation joue également un rôle essentiel : certains aliments (variables selon les individus) induisent une libération d'anticorps IgG ce qui est considéré comme une forme d'état proinflammatoire qui favoriserait la survenue de crises de migraine. De manière intéressante, éviter ces aliments réduit drastiquement les crises de migraine chez plus de 75% des migraineux (Hernández et al., 2007). Cependant, une méta-analyse récente montre qu'un régime alimentaire spécifique, tel qu'un régime cétogène, ou au contraire un régime

pauvre en graisse a peu d'effet sur la fréquence des crises de migraine (Hindiyyeh et al., 2020). Des études complémentaires sont nécessaires dans ce domaine.

f) Troubles du sommeil

Les migraineux dont les crises surviennent au cours du sommeil ou au moment du réveil ont plus de troubles du sommeil (Engstrøm et al., 2014). Ces troubles ont une prévalence de presque 50% chez les migraineux (Song et al., 2018). Les troubles du sommeil comprennent par exemple l'insomnie, liée à une plus grande prévalence des céphalées en général (Kim et al., 2018) : ce lien est bidirectionnel dans le cas de la migraine, puisque les insomniaques ont 40% de risque supplémentaire de développer une migraine (Ødegård et al., 2011) et que l'insomnie semble être un facteur de risque de chronicisation de la migraine (Sancisi et al., 2010). Les troubles du sommeil sont fortement réduits lorsqu'un traitement efficace de la migraine est mis en place chez le patient (Uluduz et al., 2015). La migraine est également corrélée avec la présence du syndrome des jambes sans repos qui est d'ailleurs plus sévère chez les migraineux (Acar et al., 2016). Par ailleurs les patients atteints de ce syndrome ressentent plus de symptômes liés à la migraine tels que nausées, photophobie et phonophobie quand ils sont migraineux (Chen et al., 2010). Enfin, les patients souffrant de narcolepsie et d'hypersomnie sont également plus fréquemment touchés par la migraine (respectivement 52,9% et 77,1%), la fréquence de ces crises étant corrélée avec le nombre de ces endormissements (Suzuki et al., 2015). Ce lien fort entre migraine et troubles du sommeil est probablement dû à une pathophysiologie partagée. Cela impliquerait un dysfonctionnement de l'hypothalamus, lié à 2 peptides libérés par cette structure, le Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP, Holland et al., 2018) et/ou l'orexine (Holland et al. 2005). Rejoignant cette dernière hypothèse, la narcolepsie (Peyron et al., 2000) et les parasomnies (Messina et al., 2018) sont liées au système orexinergique.

g) Chronicisation de la migraine

D'après l'IHS, lorsque les crises de migraine avec les caractéristiques décrites en début de chapitre, surviennent à quinze reprises ou plus au cours d'un mois, et ce pendant trois mois, le patient est alors considéré comme souffrant de migraine chronique. En moyenne, chaque année, 3% des migraineux épisodiques transitent vers la migraine chronique, majoritairement des patients qui répondent peu aux traitements (Lipton et al., 2015). Dans le même temps, une partie des migraineux chroniques peuvent retourner à un stade épisodique, notamment lorsque l'utilisation d'un traitement de fond est un succès (Manack et al., 2011). Une étude de Buse et al. (2019) s'est intéressée aux facteurs conduisant à la transformation de la migraine épisodique en migraine chronique. Malgré une faible quantité de données disponibles pour établir des liens significatifs, une fréquence élevée des crises, l'installation d'une dépression et l'abus de traitements antimigraineux sont des facteurs favorisant la

chronicisation de la migraine. Une étude internationale évaluant le coût de la migraine (Stokes et al., 2011) stipule que les comorbidités précédemment évoquées pour la migraine sont plus fréquentes et plus graves si la maladie a évolué en migraine chronique, ce qui rajoute encore au coût élevé de cette pathologie. Bien que controversée (Reuter et al., 2004), l'apparition de migraines chroniques par l'abus médicamenteux d'Anti-Inflammatoires Non-Stéroïdiens (AINS) et de triptans serait due, dans le cas des triptans, à une diminution de la synthèse des récepteurs sérotoninergiques suite à leur sur-activation (Dobson et al., 2004). Il est cependant certain que cette céphalée par surconsommation médicamenteuse chez les patients migraineux possède une origine particulière car elle se caractérise par une concentration normale de Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP), un neuropeptide fortement impliqué dans la migraine (Munksgaard et al., 2018 ; Iyengar et al., 2019 ; Edvinsson, 2019). Chez l'Homme, la migraine chronique se distingue également de la migraine épisodique par un métabolisme accru dans le tronc cérébral et diminué dans le cortex somatosensoriel (Aurora et al., 2007). De manière générale, toutes les comorbidités et symptômes associés à la migraine sont plus importants dans le cas de la migraine chronique, notamment l'allodynie et l'abus de médicaments (Raggi et al., 2015), l'anxiété et la dépression (Buse et al., 2013 a), ou encore les problèmes respiratoires et cardiovasculaires. En cas de migraine chronique, plusieurs zones du cerveau montrent une diminution de leur matière grise, notamment le cortex antérieur cingulaire, impliqué dans la composante émotionnelle de la douleur ainsi que la modulation descendante (Valfrè et al., 2007). Une autre zone affectée par la chronicisation est l'amygdale, dont la connectivité est fortement augmentée (Chen et al., 2017 c). Ces effets de la migraine chronique, et particulièrement l'allodynie, pourraient être dus à une hyperexcitabilité corticale, puisqu'il a été montré que les potentiels évoqués par des stimulations non nociceptives, que ce soit dans les cortex visuel ou somatosensoriel, ont une amplitude plus importante chez les patients migraineux chroniques par rapport aux patients migraineux épisodiques. Les chercheurs en ont déduit que la chronicisation de la migraine serait la conséquence d'une sensibilisation corticale (Coppola et al., 2012).

II. Anatomie des voies de la douleur trigéminal

La phase céphalalgique de la migraine implique les voies trigéminales de la douleur. En effet la douleur implique les nocicepteurs méningés et cette sensation est transmise par le nerf V, aussi appelé nerf trijumeau au niveau du Complexe Trigémino-Cervical (CTC), premier relais central de la sensibilité de la sphère oro-faciale. Il faut noter qu'il y a également l'intervention des nerfs rachidiens des premiers niveaux cervicaux de la moelle épinière. Cette information nociceptive sera ensuite intégrée dans les structures supra-segmentaires, mais aussi modulée par les voies descendantes de la douleur.

1) Les méninges

Les méninges sont des membranes qui enveloppent le système nerveux central, l'encéphale et la moelle épinière, la portion intracrânienne des nerfs crâniens et les racines des nerfs spinaux. Leur fonction principale est de protéger le système nerveux des chocs. De plus, elles alimentent le système nerveux en nutriments et jouent un rôle dans l'immunité du cerveau. On distingue, de la surface vers la profondeur la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère.

Classiquement, la conception anatomique des méninges admet que celles-ci sont au nombre de trois, mais récemment une conception plus moderne tend à parler de méninges à 2 feuillets, une méninge molle et une méninge dure. La méninge molle est l'accolement de la pie-mère et de l'arachnoïde que l'on rassemble sous le terme de leptoméninge. Il s'agit d'un tissu lâche, intermédiaire entre la dure-mère et le névraxe. On retrouve entre ces feuillets, l'espace sous-arachnoïdien qui contient du liquide cérebrospinal.

La dure-mère est la méninge dure dont les rôles principaux sont le soutien et la protection. Elle se compose de lames épaisses de tissu fibreux et élastique qui sont accolées aux os situés au-dessus. Elle est divisée en une couche épidurale qui adhère aux os du crâne et une couche méningée au contact direct des méninges molles. Les deux couches sont posées l'une au-dessus de l'autre, sans qu'il y ait d'espace entre les deux.

La surface interne de la dure-mère est tapissée du feuillet pariétal de l'arachnoïde, qui lui adhère fortement. De cette surface se détache un certain nombre de prolongements ou de cloisons qui s'interposent entre les différents segments de la masse encéphalique. Ceci permet d'isoler des compartiments les uns des autres et d'assurer ainsi un maintien de leur situation, quelle que soit la position de la tête. On trouve quatre cloisons qui sont la tente du cervelet, la faux du cerveau, la faux du cervelet et la tente de l'hypophyse (Marieb & Hoen, 2014).

Les méninges et leur réseau vasculaire sont innervés par le système sympathique, parasympathique et par des fibres sensorielles. L'étage sus-tentorial est innervé par les branches du nerf V et l'étage sous-tentorial par les nerfs cervicaux supérieurs et le nerf vague (X). Longtemps, l'innervation sensitive a été attribuée à la dure-mère. Or il a été démontré aujourd'hui que les autres feuillets des méninges, et notamment la pie-mère et ses petits vaisseaux, peuvent également être médiateurs de la douleur (Dallel et al. 2003 ; Fontaine et al. 2018).

Le nerf V est divisé en 3 branches : la branche ophtalmique (V1), la branche maxillaire (V2) et la branche mandibulaire (V3). La branche impliquée principalement dans la douleur migraineuse est la branche V1, courant de la fosse crânienne antérieure à la tente du cervelet (Penfield & McNaughton, 1940) en innervant la région orbitaire, l'arête du nez, le scalp ainsi que les méninges. Chez le rat, ce réseau

axonal s'étend sur toute la surface des méninges, avec une concentration de fibres le long des sinus veineux. Ces fibres forment un quadrillage légèrement oblique par rapport à l'axe rostro-caudal ; une partie des axones étant parallèle aux artères méningées, tandis que l'autre est perpendiculaire (Strassman et al., 2004). Les terminaisons se retrouvent particulièrement autour des vaisseaux sanguins tandis que les corps cellulaires de ces neurones sont situés dans le ganglion trigéminal (ou ganglion de Gasser) ipsilatéral (Mayberg et al., 1984). Lors de la stimulation des vaisseaux méningés, la seule sensation obtenue est la douleur (Ray & Wolff, 1940)

L'innervation sympathique des méninges, particulièrement retrouvée autour des vaisseaux sanguins, expriment la tyrosine hydroxylase (TH), et libèrent de la noradrénaline (NA) et du neuropeptide Y. Ces deux molécules sont vasoconstrictrices, l'effet de la NA étant ici médié par le récepteur noradrénergique alpha-1 ($AR_{\alpha-1}$, Edvinsson et al., 1998). L'innervation de ces vaisseaux extra-parenchymateux provient du ganglion cervical supérieur. Ces projections synthétisent également des prostaglandines, pouvant être impliquées dans le maintien de la douleur, notamment migraineuse (Gonzales et al., 1989). Une faible proportion de fibres sympathiques concentrée autour des vaisseaux sanguins est sérotoninergique (Keller et al., 1991). En parallèle se trouve une innervation parasympathique dont les fibres proviennent des ganglions otiques et sphéno-palatins, et expriment principalement le PACAP, ainsi que le Vasoactive Intestinal Polypeptide, le monoxyde d'azote (NO), la sérotonine (5-HT) et l'acétylcholine (Messlinger et al., 2011). Concernant les nocicepteurs de la dure-mère chez le rat, le système sympathique augmenterait leur sensibilité alors que le parasympathique réduirait cette sensibilisation (Ebersberger et al., 2006).

2) Les fibres trigéminales

Dans une étude de 1903, Sherrington, suite à diverses stimulations tactiles sur des chiens, émettait l'hypothèse d'une spécificité de fonction des terminaisons nerveuses de la peau. Il opposait notamment les fibres « nociciennes » (réagissant uniquement aux stimulus douloureux) aux fibres « tangiciennes » (s'occupant par exemple des réflexes). Le terme adapté de nocicepteur est demeuré pour désigner les neurones de premier ordre qui transmettent au système nerveux central des stimulations nociceptives qu'elles soient thermiques, mécaniques ou chimiques. Ces nocicepteurs concernent deux types de fibres, les fibres A-delta et les fibres C, définies par leurs caractéristiques anatomiques et physiologiques. Les fibres C sont non myélinisées, à faible diamètre et vitesse de conduction faible (0,4 à 4 m/s), tandis que les fibres A-delta sont myélinisées, à plus grand diamètre et vitesse de conduction rapide (4 à 30m/s). Dans les nerfs, les fibres A-beta sensibles aux stimulations mécaniques, myélinisées à grande vitesse (>30m/s), sont également présentes. Les fibres C sont également divisées en deux contingents en fonction de leur nature neurochimique : certaines

contiennent des peptides comme la substance P (SP) ou le CGRP et sont appelées fibres peptidergiques, tandis que les autres en sont dépourvues, mais sont capables de se lier de façon spécifique à une lectine, l'isolectine B4 (IB4), et sont appelées fibres non peptidergiques (Dallel et al, 2003).

L'association entre le nerf trijumeau et la vascularisation méningée est dénommée complexe trigémino-vasculaire : l'activation de ce complexe par des stimuli mécaniques, électriques ou chimiques entraîne des céphalées similaires à celles ressenties lors d'une crise de migraine (Ashina et al., 2019). L'anatomie de ce système a longuement été étudiée ces 70 dernières années et a permis de mieux comprendre la physiopathologie de la migraine et la distribution de ses douleurs.

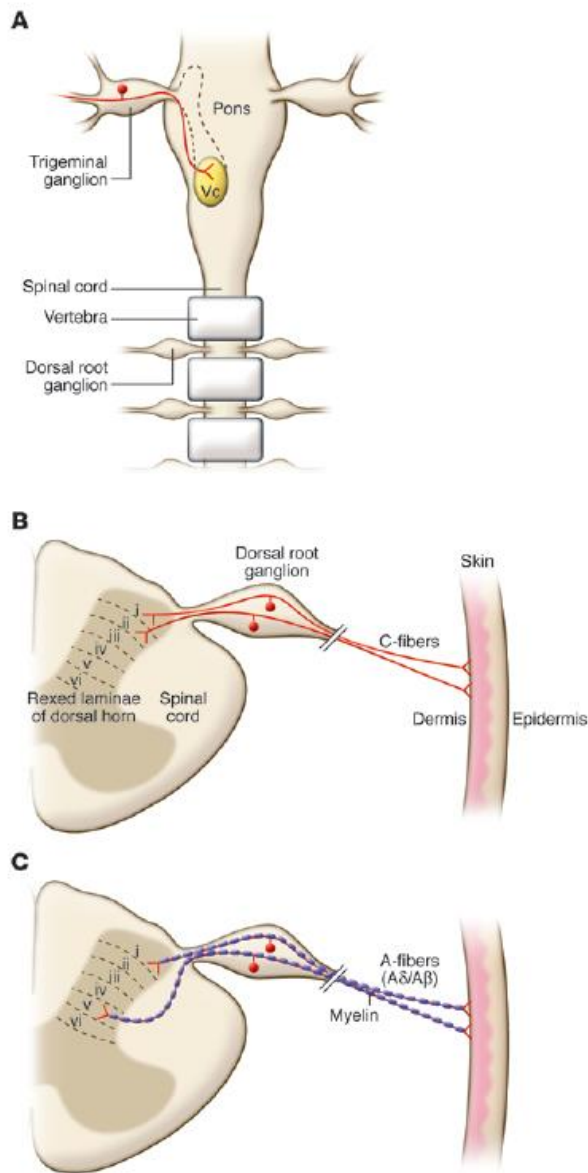


Figure 4 : Schémas de la distribution anatomique des neurones. Dans le cas de la nociception céphalique (A), le soma des nocicepteurs est localisé dans le ganglion trigéminal (Trigeminal ganglion dans le schéma) et projette dans le Sp5C (Vc) localisé dans le tronc cérébral.

Dans le cas de la nociception extracéphalique (B) et (C), le soma des nocicepteurs est localisé dans les ganglions spinaux (Dorsal root ganglion). Les plus nombreux sont les fibres C lentes non-myélinisées ((B) en rouge), auxquels on ajoute les fibres A δ rapides myélinisées ((C) en bleu). Les fibres A β ne participent à la nociception qu'en condition pathologique (Dubin et al., 2010).

Au niveau des méninges, seul tissu intra-crânien innervé qui joue donc un rôle central dans la migraine, la majorité des récepteurs méningés sont des nocicepteurs polymodaux de fibres peu myélinisées A-delta et de fibres non myélinisées C qui répondent à des stimuli de natures variées (Strassman et al., 1986 & 1996). A l'instar de ce qui a été décrit précédemment, des fibres A-beta ont été également identifiées. Elles ont sans doute aussi une fonction nociceptive puisqu'aucune autre sensation ne peut être déclenchée au niveau des méninges (Schueler et al., 2014, Figure 4). Comme au niveau de la peau, les fibres C peptidergiques et non peptidergiques sont exprimées. Les premières ont été particulièrement étudiées car elles sont impliquées dans l'inflammation neurogène qui aurait lieu au niveau des méninges lors des crises migraineuses (décrite dans le chapitre concernant la physiopathologie de la migraine). Ainsi, dans le ganglion trigéminal, un tiers des neurones expriment le CGRP tandis que la SP n'est présente que dans une petite minorité (Edvinsson et al., 1989). Cette proportion de neurones positifs au CGRP devient plus élevée dans les modèles animaux de migraine (Guo et al., 2021).

Ces fibres, qui correspondent aux axones des neurones en T, possèdent un prolongement dendritique au contact des méninges et un prolongement axonal au contact des neurones de second ordre, situés dans le Complexe Sensitif du Trijumeau (CST). Le corps cellulaire de ces neurones se situe dans le ganglion trigéminal, localisé dans une poche de dure-mère nommée cavum de Meckel. Chez l'Homme, le ganglion compte un peu plus de 30 000 neurones (Laguardia et al., 2000).

3) Le CST

Le CST, est le premier relais des neurones sensitifs innervant la sphère orofaciale dans le système nerveux central. Il est situé dans le prolongement de la moelle épinière, à l'extrémité caudale du tronc cérébral. Il est cependant à noter qu'une minorité de neurones nociceptifs projettent dans des ganglions spinaux, jusqu'au niveau C5 (Arvidsson et al., 1992).

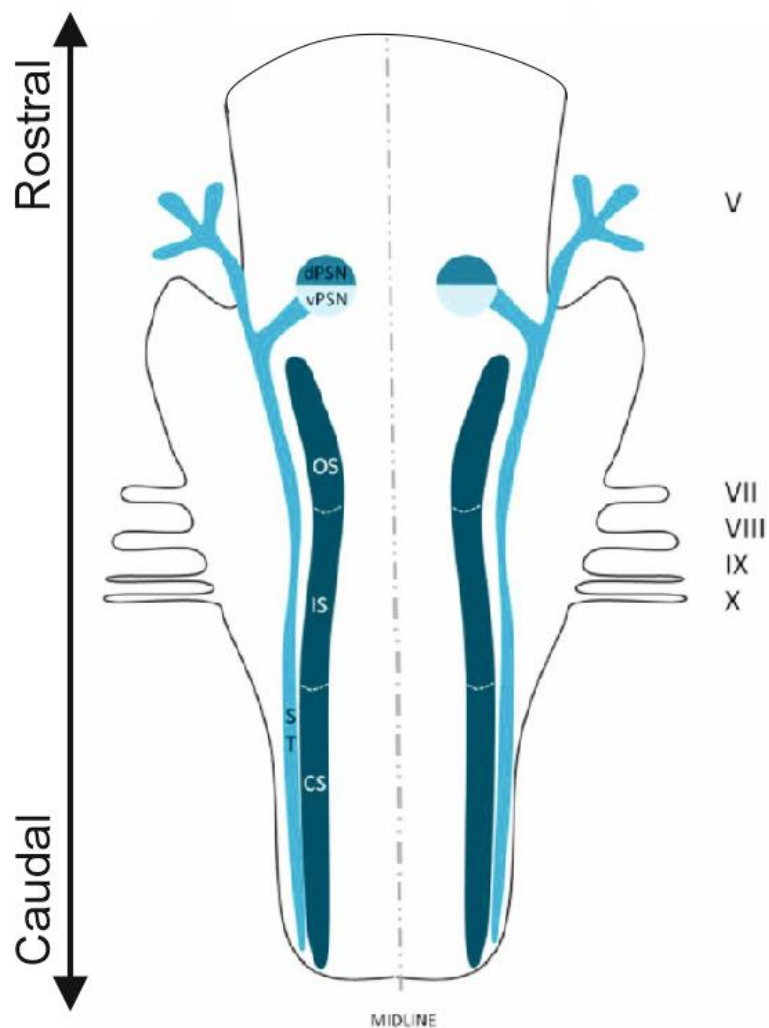


Figure 5 : Schéma de l'anatomie de différents noyaux du CST. Les trois branches du nerf trijumeau (V, cyan) innervent les territoires ophtalmique, maxillaire et mandibulaire de la face. Le noyau principal est subdivisé en une partie dorsale (dPSN) et une partie ventrale (vPSN) et reçoit majoritairement des informations non-nociceptives. Le noyau spinal est constitué des sous-noyau oral (OS), interpolaire (IS) et caudal (CS), qui reçoit la plupart des informations nociceptives transmises par le tract spinal (ST). Le tronc cérébral reçoit également les afférences des nerfs facial (VII), vestibulocochléaire (VIII), glossopharyngé (IX) et vague (X) (Henssen et al., 2016).

Le CST est composé de 3 noyaux bilatéraux (Figure 5) :

- Le noyau mésencéphalique, situé latéralement au 4^{ème} ventricule et composé de neurones très larges, innerve les muscles masticatoires et les ligaments dentaires. Des connections bidirectionnelles existent entre ce noyau et le noyau spinal (Wang & May, 2008).
- Le noyau principal (ou pontin), situé latéralement au noyau moteur du nerf trijumeau, projette massivement vers le thalamus (Torvik, 1957). La région dorsale du noyau reçoit des afférences non nociceptives issues des structures intraorales (Nomura et al., 1986).
- Le noyau spinal, le plus caudal, s'étend de la moelle épinière jusqu'au noyau principal. Le noyau spinal est lui-même composé de 3 sous-noyaux :
 - Le sous-noyau oral (Sp5O), situé dans le prolongement caudal du noyau principal. Il reçoit les afférences orales et péri-orales non-nociceptives et nociceptives.
 - Le sous-noyau interpolaire (Sp5I), situé entre le Sp5O et le Sp5C, reçoit les afférences intra et péri-orales non nociceptives (notamment des vibrisses), mais qui sont moins denses que pour le Sp5O (Waite & Ashwell, 2012).
 - Le sous-noyau caudal (Sp5C ou caudalis) s'étend de l'obex jusqu'aux premiers segments de la moelle cervicale C1-C2. C'est le relais majeur des informations thermiques et nociceptives provenant de la face. Le Sp5C a une organisation fonctionnelle comparable à celle de la moelle épinière avec une organisation laminaire en 5 couches (Shankland, 2000). L'ensemble regroupant le Sp5C et les premiers segments de la moelle est désigné Complexe Trigémino-Cervical (CTC).

Ces trois noyaux reçoivent tous des fibres A mais seul le CTC reçoit les fibres C, ce qui le rend primordial pour la nociception de la face. Des neurones du noyau spinal projettent également dans l'ensemble de la moelle épinière chez le rat, formant le faisceau trigéminospinal (Ruggiero et al., 1981). Au niveau du CTC, une organisation somatotopique peut être observée : les fibres de la branche V1 pénètrent dans le noyau spinal ventralement, les fibres V2 latéralement et les fibres V3 dorsalement (Borsook et al., 2003).

Au niveau du CST sont intégrés les messages des différentes modalités, qu'elles soient nociceptives ou non. Ici, nous traiterons plus particulièrement l'intégration des messages nociceptifs. Les informations nociceptives périphériques, via les fibres C et A-delta, arrivent presque exclusivement au niveau du CTC où elles activent des neurones de projection qui vont ensuite transmettre le message nociceptif aux structures supra-spinales. Ces neurones de projection sont divisés en deux catégories : les neurones nociceptifs spécifiques (NS) et les neurones nociceptifs non-spécifiques (Wide Dynamic Range, WDR). Les neurones NS sont situés au niveau des couches superficielles (I-II) et sont

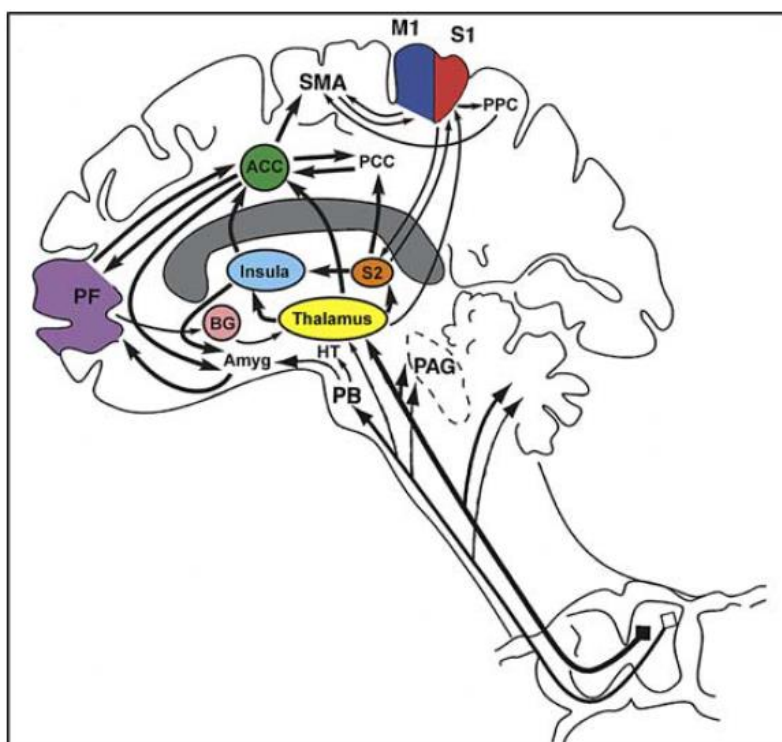


Figure 6 : Illustration non exhaustive des régions corticales et sous-corticales impliquées dans la perception et l'intégration de la douleur et leur interconnectivité, qui correspond aux voies ascendantes de la douleur. Ces régions comprennent le cortex préfrontal (PF, violet), les ganglions de la base (BG, rose), le cortex cingulaire antérieur (ACC, vert), l'insula (bleu clair), l'amygdale (Amyg), les cortex moteur primaire et supplémentaire (M1, bleu foncé et SMA), le cortex cingulaire et pariétal postérieur (PCC et PPC), les cortex somatosensoriels primaire et secondaire (S1, rouge et S2, orange), le thalamus (jaune), l'hypothalamus (HT), le noyau parabrachial (PB) et la PAG. Les informations nociceptives proviennent des couches I (carré blanc) et V (carré noir) de la moelle épinière (Apkarian et al., 2005).

uniquement activés par des stimulations nociceptives. Les neurones WDR, situés dans les couches profondes (V), reçoivent non seulement des messages véhiculés par les fibres C (indirectement, via les interneurons situés dans la couche II), mais également via les fibres de types A-beta et A-delta ce qui leur permet de répondre à une grande variété de stimuli.

D'autre part, les neurones WDR reçoivent à la fois des afférences provenant des méninges et de la peau (Davis & Dostrovsky, 1988). Cette convergence entre territoire viscéral/cutané explique la douleur référée au niveau cutané au moment des crises de migraine, ce qui fait des neurones WDR un élément central dans la physiopathologie de la migraine.

4) Les voies ascendantes de la douleur

Les informations nociceptives issues des méninges et de leurs vaisseaux sont ensuite transmises depuis les couches I et V du CTC vers le tronc cérébral et le diencephale. Les différentes régions cérébrales activées (Figure 6) rendent compte des différentes composantes de la douleur : la composante sensori-discriminative, indiquant la localisation de la douleur, son intensité et son type (lancinante, pulsatile, sourde), la composante affectivo-émotionnelle qui représente le caractère désagréable de la douleur, et la composante cognitivo-comportementale qui comprend la mémoire, les phénomènes d'attention, ainsi que les conséquences motrices et décisionnelles.

Les neurones de projections des couches I et V de la corne dorsale émettent des axones vers les structures supra-segmentaires via plusieurs faisceaux. Parmi ces voies, nous retiendrons les faisceaux trigémino-thalamique et trigémino- (ponto) mésencéphalique :

Le faisceau trigémino- (ponto) mésencéphalique comprend principalement des axones de neurones de la couche I qui projettent de façon bilatérale dans le bulbe sur des centres pré-autonomiques, comme les groupes de cellules catécholaminergiques du bulbe ventrolatéral, du noyau du faisceau solitaire et du tegmentum pontique dorsolatéral (locus coeruleus (LC), aires péri-coeruleus et Kölliker-Füse). Ces régions sont impliquées, entre autres, dans les réponses réflexes homéostatiques cardiorespiratoires provoquées par les stimulations nociceptives (Andrew et al., 2003), mais aussi dans la modulation descendante de la nociception. Par ailleurs, ces neurones de la couche I projettent également sur l'aire parabrachiale, à la jonction mésencéphalique. Cette structure est un site majeur d'intégration viscérosensorielle (Saper, 2002; Dallel et al., 2004), qui projette à son tour vers de multiples structures cérébrales impliquées dans la douleur comme l'amygdale, probablement responsable de l'anxiété et de la peur, ou l'hypothalamus, qui participe notamment aux réactions comportementales à la douleur. Il existe également une petite population de neurones formant une connexion directe entre CST et hypothalamus (Malick et al., 2000). D'autres axones du faisceau

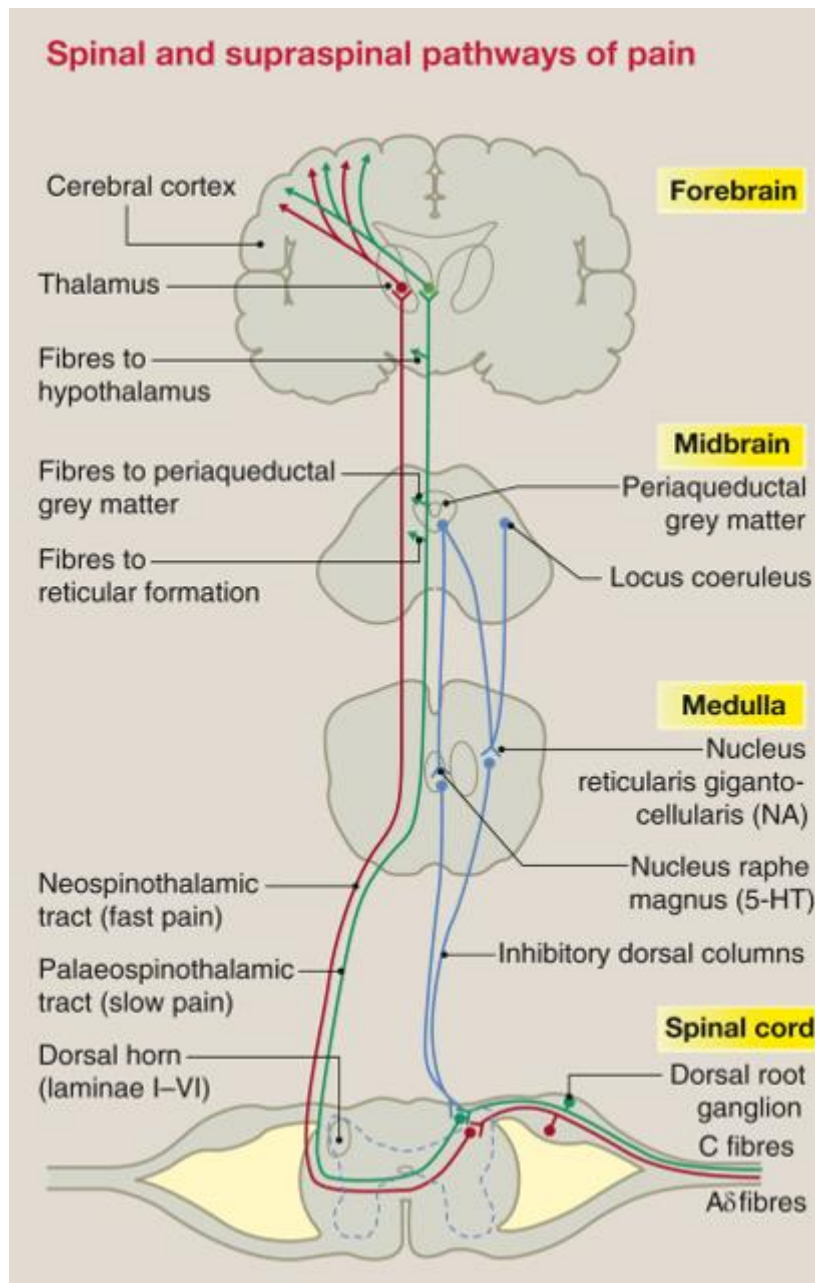


Figure 7 : Schéma représentant les voies ascendantes des couches I (vert) et V (rouge) en parallèle des voies de modulation descendantes (bleu). Les 3 structures modulatrices principales au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière ou du Sp5C sont la PAG (Periaqueductal Grey Matter), le LC (Locus Coeruleus) agissant au moyen de la noradrénaline (NA) et la RVM (ici le Nucleus raphe magnus) agissant au moyen de la sérotonine (5-HT) (Steeds, 2016).

trigémino-mésencéphalique se terminent au niveau de régions impliquées dans la modulation de la nociception, comme par exemple la substance grise périaqueducale (PAG), qui est le principal site mésencéphalique d'intégration motrice pour les réponses de défense et de vocalisation (Bandler et al., 2000; Gauriau & Bernard, 2002).

Le faisceau trigémino-thalamique comprend les axones des neurones nociceptifs spécifiques et des neurones à convergence issus des couches I et V. Ces axones se terminent sur le thalamus latéral, au niveau du noyau ventropostéromédian (VPM) et ventropostérolatéral ainsi qu'au niveau du thalamus médian, au niveau du noyau postérieur ventro-médial, la portion ventro-caudale du noyau dorso-médian et le noyau latéral (Beggs et al., 2003; De Chazeron et al., 2004; Craig, 2004; Guy et al., 2005).

A partir du thalamus, les informations sont ensuite transmises au niveau cortical. Le VPM, ainsi, projette principalement vers le cortex somatosensoriel et l'insula. Ces connections possèdent une organisation somatotopique, ce qui permet de discriminer les informations en provenance du nerf trigéminal et en particulier celles de la branche ophtalmique. Ceci explique la capacité des patients migraineux à localiser leur douleur avec précision, ainsi que son intensité et sa qualité lancinante et pulsatile. Les autres noyaux du thalamus possèdent également des projections vers le cortex somatosensoriel, ainsi que vers les aires motrices, visuelles, olfactives et auditives (Noseda et al., 2011). La place de ces aires corticales dans l'intégration de la céphalée pourrait être à l'origine des déficits moteurs et cognitifs observés durant la crise de migraine, mais aussi des signes associés comme la photophobie, la phonophobie ou l'osmophobie.

5) Les voies de modulation de la douleur

La nociception ne peut pas être résumée au seul système de voies ascendantes. En effet, les messages ascendants sont capables d'activer, au niveau des relais supra-spinaux, des contrôles dit descendants de la nociception (Figure 7). Ces contrôles agissent sur différentes structures et en particulier sur le relais segmentaire, c'est-à-dire dans le cas de la migraine, au niveau du CTC.

a) La PAG

Chez l'Homme, la stimulation électrique de la PAG, composée de neurones synthétisant des enképhalines, des peptides (SP, CGRP) et du Gamma-AminoButyric Acid (GABA, Beitz, 1982 b & c), induit une analgésie, disparaissant si la stimulation est répétée : cette tolérance peut être bloquée par la naloxone (antagoniste des récepteurs aux opioïdes), ce qui indique l'implication des opioïdes endogènes dans ce phénomène (Hosobuchi et al., 1977). Cette analgésie n'est pas médiée par la PAG dans son ensemble : chez le rat, seules les stimulations électriques de la PAG ventrolatérale et de la partie dorsomédiale du raphé dorsal provoquent une analgésie. La stimulation de la PAG dorsale et

dorsolatérale, quant à elle, déclenche l'apparition de comportements aversifs, tels que la fuite ou des vocalisations (Fardin et al., 1984). Par ailleurs, la PAG reçoit des projections de plusieurs régions corticales, particulièrement du cortex somatosensoriel et de la région frontale (Bragin et al., 1984), mais aussi de l'hypothalamus, du LC, de l'aire parabrachiale (Beitz, 1982 a) ou encore du noyau cunéiforme (Zemlan & Behbehani, 1988 ; Bernard et al., 1989). Etant donné que le noyau cunéiforme projette sur l'hypothalamus et le thalamus (Edwards & De Olmos, 1976), cette voie pourrait permettre de moduler les réponses comportementales et émotionnelles à la douleur (Dunckley, 2005).

La PAG ventro-latérale est impliquée dans la modulation des messages nociceptifs au niveau du sous-noyau caudal, par l'intermédiaire de la médulla Rostro-Ventro-Médiale (RVM) et du tegmentum pontique dorsolatéral (Hayashi et al., 1984). Cet effet se fait principalement via des neurones GABAergiques (71%) ciblant eux-mêmes d'autres neurones GABAergiques de la RVM qui projettent à leur tour vers la moelle épinière (Morgan et al., 2008).

b) La RVM

Le blocage des récepteurs au GABA dans la RVM déclenche une inhibition de la douleur tandis le GABA entraîne une augmentation de la douleur (Heinricher & Kaplan, 1991). Cet effet démontre que les contrôles descendants de la douleur peuvent être aussi bien algésiques qu'analgésiques. L'inhibition de la RVM par la lidocaïne supprime l'allodynie consécutive à une neuropathie chez le rat (Pertovaara et al., 1996), ou bien encore consécutive à la stimulation des récepteurs méningés (Edelmayer et al., 2009) tandis qu'elle favorise cette allodynie chez un animal naïf (Pertovaara et al., 1996). Ce dernier effet est également obtenu lors de l'activation des récepteurs aux opioïdes κ ou le blocage des récepteurs noradrénergiques α -2 ($AR_{\alpha-2}$) dans la RVM (De Felice et al., 2011). Ces observations seraient sous-tendues par les 3 types cellulaires présents dans la RVM : les neurones « ON », les neurones « OFF » et les neurones neutres. Les cellules « ON » sont facilitatrices de la douleur car elles sont activées lors d'une stimulation nociceptive tandis que les cellules « OFF » sont inhibitrices de la douleur car elles présentent une activité tonique importante qui est inhibée par une stimulation nociceptive. En plus de la modulation de la douleur exercée par les cellules « ON » et « OFF », une sous-catégorie des cellules neutres de la RVM libère de la 5-HT au niveau de la moelle épinière ou du CST (Kwiat & Basbaum, 1992). La RVM, tout comme les autres acteurs de la modulation descendante de la douleur, peut avoir également une influence sur les structures ascendantes de la douleur. Ainsi, dans un modèle de migraine, l'inhibition de la RVM active le circuit dopaminergique de la récompense afin de renforcer les comportements diminuant la douleur (DeFelice et al., 2013).

c) Modulation par le LC

Une autre structure impliquée dans ces contrôles descendants de la douleur est le LC, situé dans le tegmentum pontique dorso-latéral, et qui synthétise la majeure partie de la NA du système nerveux central : le LC est décrit plus en détail dans un chapitre dédié.

d) Contrôles nociceptifs inhibiteurs diffus

Selon le principe d'Hippocrate qu'une douleur forte fait disparaître une douleur plus faible, une stimulation nociceptive appliquée sur une partie du corps peut être modulée par une deuxième stimulation nociceptive appliquée sur une autre partie du corps (Willer et al., 1999). Ce phénomène appelé « contrôle inhibiteur diffus induit par une stimulation nociceptive » est une boucle de régulation faisant nécessairement intervenir la corne dorsale de la moelle épinière ou du CST et des régions supra-segmentaires comme le sous-noyau réticulaire dorsal (Villanueva & Le Bars, 1995), l'aire parabrachiale (Lapirot et al., 2009) et le noyau hypothalamique A11 (Lapirot et al., 2011). Les contrôles descendants peuvent également être mis en jeu par des facteurs d'ordre supérieur. Ainsi, les fortes connexions entre l'hypothalamus, l'amygdale, le cortex cingulaire et l'insula fournissent un support anatomique pour expliquer les effets modulateurs de facteurs comme l'attention, l'attente ou la peur sur la nociception (Villemure & Bushnell, 2002). Au cours du stress, les réponses habituelles à une stimulation nociceptive sont diminuées (Kelly & Franklin, 1985). Quand un animal est exposé à un stimulus aversif puissant et nouveau, comme un choc électrique auquel il ne peut échapper, sa sensibilité à d'autres stimulations nociceptives se trouve réduite. La durée de l'analgésie liée au stress dépend de la nature et de la sévérité des stimulations appliquées. Elle met en jeu des mécanismes dépendants ou indépendants de l'activation des récepteurs opioïdes et/ou cannabinoïdes (Hohmann, 2005).

e) Contrôles à partir de l'hypothalamus

L'hypothalamus est une structure importante pour l'homéostasie de fonctions telles que les cycles veille-sommeil, la digestion-nutrition (notamment via la modulation de l'appétit), la circulation sanguine (modification du rythme cardiaque), la reproduction (stimulation de la sécrétion d'hormones) ou encore la gestion du stress. Les noyaux impliqués dans le contrôle descendant de la nociception sont les noyaux A11, paraventriculaire, latéral et perifornical, qui envoient des projections aux niveaux spinal et trigéminal. Au niveau du CTC, ces projections sont bilatérales et majoritairement dans la partie ventrolatérale, correspondant au territoire ophtalmique V1 (Abdallah et al., 2013). Les projections du noyau A11 sont dopaminergiques et sont inhibées via des neurones GABAergiques lors d'une stimulation douloureuse (Abdallah et al., 2015). Dans le cadre d'une stimulation nociceptive

méningée chez le rat, la lésion du A11 facilite la décharge des neurones du CTC tandis que son activation la diminue, ce qui démontre le pouvoir antinociceptif de la dopamine (Charbit et al., 2009).

Les noyaux paraventriculaire et supraoptique libèrent de l'ocytocine dans la corne dorsale, ce qui va entraîner une inhibition de la nociception d'une part en inhibant l'excitation glutamatergique (Robinson et al., 2002), et d'autre part en facilitant l'activité inhibitrice des interneurons GABAergiques et glycinergiques (Jiang et al., 2014). L'hypothalamus contrôle également la libération de vasopressine par la glande pituitaire. L'activation des récepteurs à la vasopressine spinaux V1a ont une action antinociceptive, tandis que les récepteurs supra-spinaux V1b sont pronociceptifs (Honda & Takano, 2009). Ocytocine et vasopressine fonctionnent d'ailleurs de concert : dans un modèle de ligature du nerf infra-orbitaire chez le rat, l'application d'ocytocine diminue l'hyperexcitabilité des neurones du ganglion trigéminal via l'action des récepteurs V1a, qui sont d'ailleurs surexprimés lors d'une telle situation neuropathique (Kubo et al., 2017).

La glande pituitaire sécrète également des orexines A et B. En intraveineuse ou intrathécale, l'orexine A possède une action antinociceptive dans plusieurs modèles inflammatoires animaux, en agissant principalement sur le récepteur aux orexines 1. Bloquer ce récepteur augmente d'ailleurs l'hypersensibilité en condition inflammatoire, ce qui démontre l'existence d'un tonus inhibiteur orexinergique (Bingham et al., 2001 ; Yamamoto et al., 2002).

f) Contrôles corticaux

Chez le chat, environ 50% des cellules du noyau principal du CST sont inhibées par une stimulation du cortex somatosensoriel S1 (Dubner, 1967). Par ailleurs des projections directes issues du cortex somatosensoriel et de l'insula se terminent respectivement au niveau des couches III-V et I-II du CTC (Nosedá et al., 2010). Les premières inhibent la nociception tandis que les secondes la facilitent (Nosedá et al., 2010). Ces structures participent donc à l'intégration de la douleur ainsi qu'à sa modulation.

III. Physiopathologie de la migraine

Ce n'est qu'en 1979 que Moskowitz propose comme théâtre de la migraine le système trigémino-vasculaire (STV), un terme désignant la relation anatomique et physiologique entre les méninges, le nerf trijumeau, le CST et les premiers niveaux cervicaux de la moelle épinière. Cette hypothèse sera étayée par la suite grâce à l'étude des réseaux et neurotransmetteurs impliqués dans la migraine (Ashina 2019). Cependant, malgré les avancées réalisées depuis les années 70 jusqu'à nos jours, la physiopathologie de la migraine questionne encore, notamment sur les mécanismes entraînant le déclenchement des crises de migraine ou encore ceux à l'origine de la progression de la migraine vers

le stade chronique. Ainsi dans la migraine, il convient de distinguer les régions nerveuses et/ou vasculaires qui pourraient être impliquées dans le déclenchement de la crise de migraine, de celles responsables de la douleur migraineuse ou céphalée migraineuse (Figure 8).

1) Déclenchement de la crise de migraine

a) Théorie vasculaire

Dans les années 40, l'origine de la crise de migraine fut située dans les vaisseaux sanguins cérébraux possédant des fibres nociceptives (Ray & Wolff, 1940), particulièrement ceux de la dure-mère (Feindel & McNaughton, 1960). Leur vasodilatation est en effet corrélée avec la localisation de la douleur, celle-ci diminuant lorsqu'une vasoconstriction des vaisseaux extracérébraux est déclenchée (Asghar et al., 2011). Cependant cette vasodilatation est inconstante comme le montre la mesure du flux sanguin cérébral de patients migraineux qui montre plutôt une hypoperfusion (Olesen et al., 1981). De même, l'injection de nitroglycerine chez des migraineux n'a permis d'observer qu'une vasodilatation temporaire bien qu'une crise de migraine soit advenue chez 74% des participants (Schoonman et al., 2008). Enfin, un grand nombre d'observations expérimentales et cliniques ont prouvé que la vasodilatation cérébrale n'est ni nécessaire, ni suffisante pour déclencher une migraine (Kruuse et al., 2003). A l'inverse, un vasoconstricteur peut très bien provoquer une crise (Rowbotham & Lowenstein, 1990). L'ensemble de ces données remettent en cause la théorie vasculaire comme origine de la migraine, pour se tourner vers une théorie neuronale.

b) Théorie neuronale

A la suite d'études d'imagerie et d'électrophysiologie réalisées sur des patients migraineux ou dans des modèles animaux de migraine, il s'est avéré que de multiples régions cérébrales étaient activées pendant et/ou entre les crises de migraine, qu'elles étaient hyperexcitables ou encore que leur connectivité était modifiée.

1) Dysfonctionnement du tronc cérébral

Les études menées durant la dernière décennie suggèrent que le déclenchement des crises migraineuses pourrait reposer sur un dysfonctionnement des noyaux du tronc cérébral impliqués dans les contrôles descendants de la douleur (Matharu, 2004 ; Afridi et al., 2005 ; Moulton et al., 2008 ; Tajti et al., 2012 ; Morelli et al., 2013). En effet, les crises migraineuses s'accompagnent d'une augmentation du débit sanguin dans des régions circonscrites du tronc cérébral, impliquant la PAG, le LC et le noyau raphé magnus (Bahra et al., 2001 ; Afridi et al., 2005) mais la localisation précise d'une telle activation varie selon les études. Après disparition de la céphalée grâce à l'injection de sumatriptan, cette activité

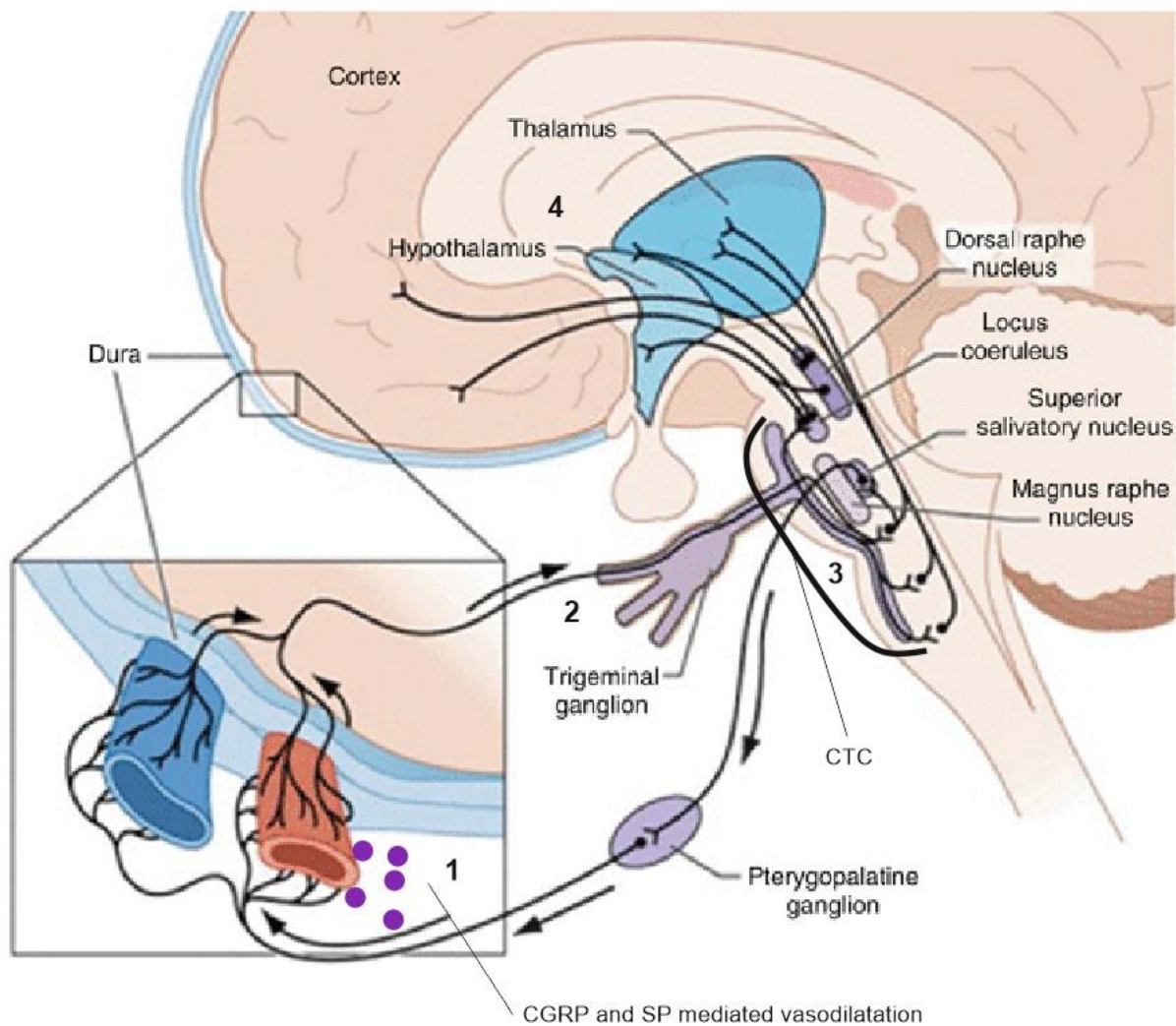


Figure 8 : Physiopathologie de la douleur migraineuse : l'activation des nocicepteurs méningés semble être le résultat d'une libération de neuropeptides tels que le CGRP et la SP dans au niveau de la vascularisation méningée, qui va également induire une vasodilatation (1). Le système parasympathique participerait à ce phénomène via le ganglion sphéno-palatine. Le signal nociceptif est transmis par le nerf V, dont le soma des neurones est situé dans le ganglion trigéminal (2). Les fibres C aboutissent dans le CTC (3), qui relaie l'information par les voies ascendantes jusqu'au thalamus et l'hypothalamus, où le signal est traduit en douleur (4). Le noyau du raphé dorsal (appartenant à la PAG), le Locus Coeruleus et le noyau du raphé magnus (appartenant à la RVM) vont pouvoir moduler ce signal douloureux (Hansen et al., 2015).

du tronc cérébral semble perdurer (Weiller et al., 1995). Ces résultats ont conduit à proposer l'existence de centres générateurs des crises, situés dans le tronc cérébral.

a. Implication de la PAG

L'implication de la PAG dans la physiopathologie de la migraine est issue d'observations cliniques qui montrent que chez l'homme, la stimulation de la PAG ventrolatérale dans le cadre du traitement des douleurs chroniques déclenche des céphalées qui sont semblables à la migraine (Veloso et al., 1998 ; Raskin et al., 1987). Par ailleurs, les données cliniques démontrent que les connexions de la PAG avec plusieurs aires cérébrales impliquées dans la modulation de la douleur, telles que le cortex préfrontal et cingulaire antérieur, ainsi que l'amygdale, sont diminuées, même entre les crises, chez les patients migraineux (Mainero et al., 2011 ; Chen et al., 2017 a). En revanche, celles avec d'autres structures du tronc cérébral seraient augmentées (Schwedt et al., 2014). Les études animales soutiennent également une implication directe de la PAG dans la migraine. En effet, dans différents modèles animaux, une stimulation électrique (Knight & Goadsby, 2001) ou une microinjection d'un triptan (Bartsch et al., 2004) dans cette partie de la PAG suffisent à inhiber la nociception méningée. De plus, la stimulation du sinus sagittal supérieur entraîne une augmentation concomitante de l'expression de la protéine c-Fos dans la PAG et le CTC (Hoskin et al., 2001).

b. Implication de la RVM

Chez l'Homme, l'activation anormale de la RVM entre les crises de migraine a été mise en évidence (Kim et al., 2021). Dans un modèle animal, l'activation de la voie facilitatrice descendante provenant de la RVM semble être un mécanisme impliqué dans la sensibilisation des neurones du CST. En effet, l'inflammation chimique des méninges provoque l'activation prolongée des cellules « ON » et une inhibition passagère des cellules « OFF » (Edelmayer et al., 2009). Par ailleurs, les effets anti-nociceptifs des triptans pourraient être dus, en partie, à l'activation de ces cellules « OFF » (Ellrich et al., 2001). La RVM est également impliquée dans la synthèse de la 5-HT. Les observations en faveur de l'implication de la 5-HT dans la physiopathologie de la migraine sont surtout de nature pharmacologique. Ainsi, l'efficacité des triptans et des ditans dans le traitement de la crise migraineuse est due à leur action sur les récepteurs 5-HT_{1b/1d} et 5-HT_{1f}, tandis que l'administration orale de m-Chlorophénylpiperazine, un agoniste préférentiel des récepteurs 5-HT_{2b/c}, à des migraineuses suffit à leur déclencher une migraine (Brewerton et al., 1988). Ainsi, selon la nature du récepteur concerné, la 5-HT pourrait tantôt s'opposer à la crise migraineuse, tantôt, au contraire, contribuer à son déclenchement.

c. Implication du LC

Quelques études récentes ont confirmé l'implication du LC dans la physiopathologie de la migraine, et ce dans toutes les phases de la crise : ce sujet sera développé dans le chapitre dédié au LC.

2. Dysfonctionnement de l'hypothalamus

Une étude prospective (Quintela et al., 2006) a montré que 80% des patients développent des symptômes prémonitoires de la crise migraineuse, tels que la faim, la soif, la lassitude, la fatigue, les bâillements, l'oppression ou l'envie d'uriner qui suggèrent une origine hypothalamique. De plus, les symptômes autonomiques crâniens tels que larmoiement, injection conjonctivale, congestion nasale, rhinorrhée reflètent une altération de l'activité hypothalamique (Goadsby & Lipton, 1997 ; Maniyar et al., 2012). Par ailleurs, chez l'homme, des études d'imagerie ont montré une activation hypothalamique pendant (Denuelle et al., 2007 ; Lerebours et al., 2019) les crises de migraine et même en intercrise chez les patients migraineux chroniques (Lerebours et al., 2019). Celle-ci persiste après le soulagement de la douleur par le sumatriptan sous-cutané, pouvant expliquer les résurgences de la céphalée lorsque le triptan a cessé d'agir (Denuelle et al., 2007). Chez l'animal, il a été montré que la stimulation de la dure-mère du rat provoque l'expression de la protéine c-Fos dans les noyaux ventro-médian, dorso-médian et paraventriculaire de l'hypothalamus, tandis que la stimulation du sinus longitudinal supérieur du chat provoque l'expression de ce marqueur dans les noyaux supra-optiques et postérieur de l'hypothalamus (Alstadhaug, 2009). De plus, ces mêmes noyaux sont connectés à la PAG, à la RVM, ainsi qu'aux structures cortico-limbiques, impliquées dans les composantes cognitives et affectives de la douleur (Millan, 1999). Par ailleurs, la dopamine pourrait agir sur les fibres afférentes primaires afin de moduler l'activité du STV qui contient des récepteurs D1 et D2 (Charbit et al., 2011). Parmi les noyaux hypothalamiques, le noyau A11 est particulièrement intéressant étant donné qu'il est le seul noyau à avoir des projections dopaminergiques descendantes directes sur les neurones du CTC (Abdallah et al., 2015). Le A11 a un effet inhibiteur sur la transmission nociceptive du Sp5C (Charbit et al., 2009). En plus de la dopamine, l'hypothalamus synthétise des orexines et contrôle la libération d'orexines de la glande pituitaire. Dans un modèle de migraine chez des rats, l'injection en intraveineuse d'un antagoniste des récepteurs orexinergiques diminue la vasodilatation méningée, l'activation du CTC et la sensibilité à la Dépression Corticale Envahissante (Hoffmann et al., 2015), ce qui indique un rôle pronociceptif des orexines dans cette pathologie. Ainsi un dysfonctionnement de ce contrôle inhibiteur pourrait donc avoir un effet pro-nociceptif sur le CTC, conduisant à la phase douloureuse de la migraine (Charbit et al., 2011 ; Maniyar et al., 2012).

3. Hyperexcitabilité corticale

L'hypothèse d'une hyperexcitabilité du cortex cérébral est née en considérant la vulnérabilité des migraineux à certains facteurs, comme le stress ou les stimulations sensorielles intenses, notamment visuelles, qui déclenchent des crises. De manière générale, le cortex sensoriel des migraineux répond de manière excessive aux stimuli répétés, et cette sensibilité persiste parfois de manière permanente (Coppola et al., 2007 a). Par ailleurs, la stimulation magnétique transcrânienne du cortex visuel, primaire et secondaire, a également montré que le seuil d'induction des phosphènes est significativement plus bas chez les migraineux que chez les témoins (Aurora et al., 2003). Néanmoins, la gamme des seuils d'induction des phosphènes est large, suggérant une excitabilité variable chez les migraineux (Antal et al., 2006). Ces observations suggèrent l'existence de changements périodiques de l'excitabilité corticale, pouvant conduire à une crise de migraine lorsque l'abaissement du seuil d'excitabilité corticale coïncide avec un stimulus déclenchant. Cette modification de l'excitabilité n'est pas restreinte au cortex occipital car elle a pu être mise en évidence dans le cortex moteur (Brighina et al., 2011) et pariétal (Andreatta et al., 2012) même si cela n'est pas systématique (Gunaydin et al., 2006). Plus précisément, les enregistrements des potentiels évoqués corticaux visuels, mais également auditifs et somesthésiques, ont mis en évidence un défaut de l'habituation qui est la diminution de l'amplitude des potentiels normalement observée lorsque l'on répète les trains de stimulation (Ambrosini, 2003; Coppola et al., 2007 b & c). Ce défaut d'habituation résulterait d'un dysfonctionnement des voies monoaminergiques intra-corticales et/ou sous-corticales (Coppola et al., 2007 a). Les mécanismes à l'origine de l'altération de l'excitabilité corticale restent largement méconnus et sont probablement multifactoriels. La possibilité d'une excitation excessive provoquée par une libération anormale de neurotransmetteurs excitateurs est suggérée par la mise en évidence d'une concentration plasmatique de glutamate plus élevée chez les migraineux (Peres et al., 2004).

Plus récemment, la région préfrontale a été impliquée dans le développement de la crise de migraine sur la base de données indirectes. En effet, la courbe de prévalence de la migraine augmente à la puberté puis diminue lors de la vieillesse, ce qui correspondrait à des périodes de maturation et de déclin du cortex préfrontal (Barbanti et al., 2019).

2) Mécanismes de l'aura migraineuse : la Dépression Corticale

Envahissante (DCE) et ses conséquences

En 1941, Lashley a conclu, à partir de l'analyse de ses propres symptômes, que l'aura visuelle résulte d'un dysfonctionnement neuronal singulier (Tfelt-Hansen, 2010). En effet, il comporte successivement une brève activation (se traduisant par des phosphènes) puis une inhibition prolongée (se traduisant par un scotome) des neurones corticaux. Par ailleurs, il se propage dans le cortex visuel à une vitesse

de 3 à 5 mm par minute. Ces caractéristiques sont également celles d'un phénomène cortical expérimental décrit par Leão (Leão, 1944) sous le nom de cortical spreading depression, ou en français la DCE. Celle-ci correspond à une vague de dépolarisation puis hyperpolarisation des neurones partant du cortex occipital et progressant rostralement (Leão & Morison, 1945). Ces travaux expérimentaux de Leão et les constatations cliniques de Lashley furent comparés par Milner (Milner, 1958), qui proposa que l'aura migraineuse puisse résulter d'un processus similaire ou comparable à une DCE et que les modifications du débit sanguin cortical qui l'accompagnent sont la conséquence et non la cause du dysfonctionnement neuronal.

La DCE peut être déclenchée aussi bien chez l'Homme que chez l'animal au moyen de stimulations électriques, chimiques ou mécaniques (Ayata & Lauritzen, 2015) et n'est pas exclusive à la migraine, puisqu'elle peut apparaître lors d'un infarctuscérébral par exemple (Dohmen et al., 2008). Il a été également démontré qu'elle pouvait être induite par un stimulus vasculaire comme l'endothéline 1 (Dreier et al., 2002). Elle est initiée par une brève mais importante dépolarisation neuronale et gliale, responsable de l'hyperactivation et associée à une hyperperfusion locale. Elle est suivie d'une hyperpolarisation neuronale durable, responsable d'une inactivation (« dépression »), accompagnée d'une diminution locale du débit sanguin de 20 à 30% (Ayata & Lauritzen, 2015).

La migraine sans aura, comme son nom l'indique, ne s'accompagne d'aucun symptôme neurologique avant la céphalée. Chez la plupart des patients atteints de ce type de migraine, les premières mesures de débit cérébral utilisant la tomographie à émission monophotonique (Olesen et al., 1990) ou la tomographie à émission de positons (TEP) (Weiller et al., 1995) n'ont pas détecté de modifications vasculaires significatives dans le cortex occipital. Une étude utilisant l'électroencéphalographie durant des crises de migraine sans aura a cependant montré une dépression de l'activité corticale supérieure du côté de l'hémicrânie, interprétée comme le reflet possible d'une dépression unilatérale de l'activité neuronale (Schoenen et al., 1987) semblable à celle décrite dans la DCE par Leão. En 1994, Woods et al. ont pu enregistrer fortuitement en TEP le début d'une crise spontanée chez une jeune femme souffrant de migraine sans aura qui subissait des mesures répétées de débit sanguin cérébral pendant une stimulation visuelle (Woods et al., 1994). Les auteurs ont alors observé une hypoperfusion bi-occipitale qui s'est ensuite étendue vers l'avant. Une autre étude TEP portant sur 9 patients examinés pendant une crise de migraine sans aura a rapporté une baisse modérée mais significative (15%) du débit sanguin cérébral global, sans changement de l'extraction d'oxygène (Bednarczyk et al., 1998). Dans une autre étude, 4 patients avec migraine sans aura déclenchée par le vin rouge ont présenté également une hypoperfusion plutôt postérieure (Andersson et al., 1997), tandis que Denuelle et al (2008) montrent que 7 patients ont expérimenté une oligohémie pariéto-occipitale. Dans certains cas de céphalées migraineuses sans aura induites par une stimulation visuelle (Cao et al., 1999 & 2002),

des anomalies du signal BOLD ont été observées dans le cortex occipital précédant la céphalée et identiques à celles observées lors d'auras visuelles typiques (Hadjikhani et al., 2001). Ainsi, il existe des arguments électrophysiologiques et métaboliques qui suggèrent que certaines migraines sans aura pourraient, comme la migraine avec aura, s'accompagner d'un phénomène cortical analogue à celui caractérisant l'aura. Hadjikhani et Vincent ont proposé en 2019 deux hypothèses : soit la DCE serait asymptomatique, et les troubles neurologiques constatés dépendraient d'autres facteurs ; soit l'oligohémie observée lors de la migraine sans aura serait un phénomène fondamentalement différent de la DCE de l'aura (Hadjikhani & Vincent, 2019).

3) Mécanismes de la céphalée migraineuse

Diverses données obtenues en expérimentation animale et en recherche clinique suggèrent que la céphalée migraineuse et les symptômes associés sont la conséquence d'une activation du STV, incluant les nocicepteurs qui entourent les vaisseaux méningés, le CST et les premiers segments cervicaux.

En effet, chez des patients subissant une craniotomie sous anesthésie locale, il a été montré que des stimulations appliquées sur les méninges et les structures vasculaires qui en dépendent induisent une douleur pulsatile alors que les mêmes stimulations appliquées au parenchyme cérébral lui-même sont indolores (Penfield, 1934). Le second argument en faveur de l'activation du STV est l'augmentation du taux de CGRP dans la veine jugulaire interne pendant la crise migraineuse et la normalisation de ce taux après l'administration de sumatriptan (Juhász et al., 2005). Si le traitement est un échec, le taux de CGRP reste élevé (Juhász et al., 2005). Chez le chat, la stimulation du sinus sagittal supérieur provoque une augmentation du débit sanguin cérébral régional et une élévation des taux du CGRP dans les veines jugulaires externe et interne (Zagami et al., 1990). Chez le rat, Moskowitz et al. (1993) ont montré que la stimulation électrique du ganglion de Gasser provoque une augmentation du débit sanguin cérébral et extra-cérébral, ainsi qu'une « inflammation neurogène » de la dure-mère, où s'associent vasodilatation, extravasation protéique, dégranulation mastocytaire et agrégation plaquettaire. Cette inflammation stérile aboutirait à l'activation et à la sensibilisation des afférences méningées trigéminales. Son rôle potentiel dans la genèse et le maintien de la douleur migraineuse a donc été particulièrement étudié (Ramachandran, 2018).

a) L'inflammation neurogène

L'inflammation neurogène stérile (c'est-à-dire sans microorganisme pathogène associé) peut être induite par stimulation électrique du ganglion trigéminal et du sinus sagittal supérieur. Le volume sanguin extra-cérébral augmente et des molécules à fort pouvoir vasodilatateur, tels que des neuropeptides (CGRP, SP), des prostaglandines, de la 5-HT et du NO, sont libérés par les fibres nociceptives trigéminales et les fibres sympathiques.

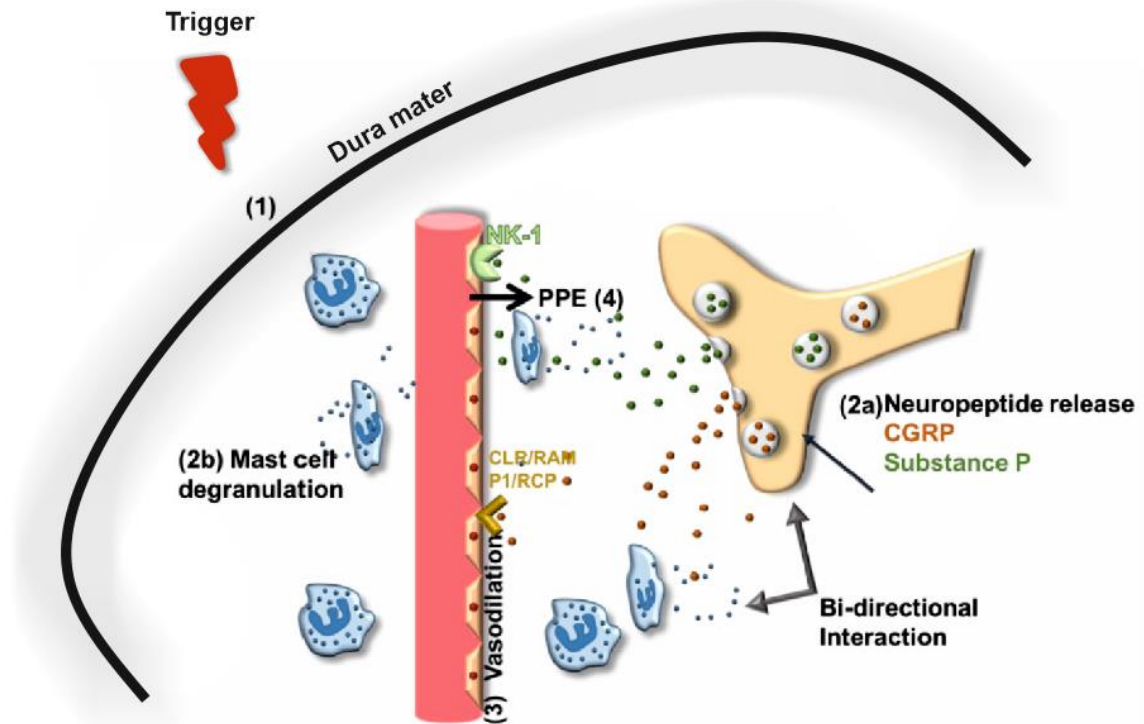


Figure 9 : Mécanisme hypothétique de l’inflammation neurogène durale. (1) Un facteur de déclenchement de la migraine (Trigger) peut provoquer l’inflammation neurogène par deux voies potentielles : (2a) L’activation du CST qui libère des neuropeptides comme le CGRP et la SP au niveau des afférences trigéminales et/ou (2b) la dégranulation des mastocytes qui libère des molécules pro-inflammatoires qui vont alors activer les fibres trigéminales. (3) Les deux voies aboutissent à la liaison des neuropeptides à leurs récepteurs, notamment CGRP (son récepteur étant CLR/RAMP1/RCP), qui déclenchent une vasodilatation des vaisseaux duraux et une disruption de l’endothélium. (4) L’extravasation de protéines plasmatiques (PPE) qui s’ensuit entretient la situation inflammatoire et l’activation des nocicepteurs (Ramachandran, 2018)

La SP est le premier neuropeptide à avoir été découvert dans les fibres sensorielles trigéminales en 1931. Elle exerce une puissante action vasodilatatrice et provoque une libération de bradykinine, histamine et 5-HT, contribuant à l'inflammation. La SP réside principalement dans les fibres C trigéminales où elle cohabite étroitement avec le CGRP (Uddman et al., 1985). Elle n'est cependant pas présente dans toutes les fibres et l'utilisation en recherche clinique d'antagonistes au récepteur de la SP n'a pas donné de résultats probants (May & Goadsby, 2001). Très rapidement, l'hypothèse de la présence d'autres neuropeptides impliqués a été émise (Liu-Chen et al., 1983).

Le CGRP est un peptide capable de déclencher une crise de migraine quand il est administré chez les patients migraineux (Lassen et al., 2002). Il est présent en plus grande quantité dans la circulation extracérébrale de ceux-ci (Goadsby et al., 1990). Libéré par les fibres C, le CGRP se lie à son récepteur, composé des sous-unités CLR et RAMP1, présent sur les muscles lisses des vaisseaux, les fibres A, les cellules gliales (Eftekhari et al., 2010). Puissant vasodilatateur qui agit majoritairement au niveau des artères et artérioles, mais pas au niveau des veines, le CGRP augmente ainsi le débit sanguin cérébral. Il agit au niveau de l'endothélium de l'artère (Edwards et al., 1991) qui possède un fonctionnement indépendant, régi par l'adénylate cyclase (Edvinsson, 1985). Dans le ganglion trigéminal, 70 % des neurones positifs au CGRP sont colocalisés avec le récepteur TRPV1, ce qui est bien plus important qu'au niveau de la corne dorsale. Ceci explique peut-être le rôle prédominant du CGRP dans les voies de signalisation du STV (Messlinger et al., 2020).

Concernant les prostaglandines, elles peuvent provoquer la libération de CGRP (Ramachandran, 2018) et la ProstaGlandine E2 (PGE2) possède une capacité vasodilatatrice. Ces dernières sont capables de déclencher une céphalée quand elles sont injectées en intraveineuse chez des patients sains, contrairement aux prostaglandines non vasodilatrices. Pourtant, l'utilisation d'un antagoniste au récepteur de PGE2 ne permet pas de supprimer une migraine induite par PGE2 (Antonova et al., 2013).

Les fibres sympathiques méningées, quant à elles, vont libérer de la 5-HT et du NO. La 5-HT favorise l'excitation des nocicepteurs méningés, ainsi que leur sensibilisation mécanique (Strassman et al., 1996). En revanche, il a été montré en culture cellulaire que l'activation des récepteurs 5-HT_{1b/d} empêche la libération de CGRP et de glutamate (Xiao et al., 2008), ce qui explique l'effet des triptans. Le NO, quant à lui, augmente la synthèse et la libération de CGRP (Bellamy et al., 2006), en plus de son action vasodilatatrice.

Ainsi l'inflammation neurogène provoquée par ces substances serait un élément clé, provoquant la sensibilisation des nocicepteurs méningés (Figure 9). En effet, ces molécules vont provoquer une vasodilatation, une extravasation plasmatique ainsi qu'une dégranulation des mastocytes (Ramachandran, 2018).

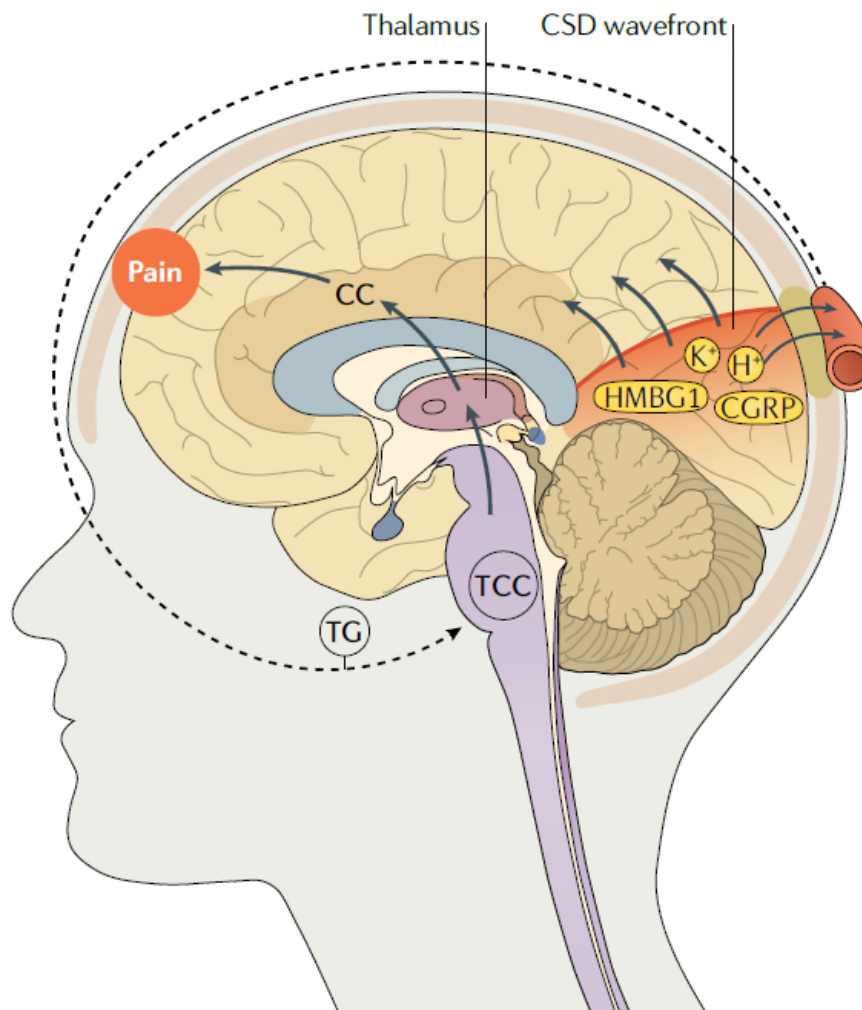


Figure 10 : Représentation schématique de la théorie associant DCE (ici CSD pour Cortical Spreading Depression), inflammation neurogène et douleur migraineuse. En plus d'être le mécanisme de l'aura, la DCE déclencherait la libération de potassium (K^+) et de HMGB1, ce qui entraînerait une extravasation de molécules pro-inflammatoires et d'ions (H^+). En parallèle, la DCE favoriserait la perméabilité de la barrière hématoencéphalique, ce qui permettrait à l'inflammation de se propager dans les méninges, où des peptides tels que le CGRP pourrait alors activer les nocicepteurs. Le signal nociceptif en découlant se transmettrait via le ganglion trigéminal (TG) puis le CTC (TCC pour TrigeminoCervical Complex) avant d'être traduit en douleur dans le cortex (notamment le cortex cingulaire, CC) (Bauer et al., 2021).

Ces derniers, à leur tour, libèreraient des molécules inflammatoires, dont l'histamine connue pour activer les fibres C et favoriser la libération de CGRP (Ramachandran, 2018). Ainsi l'ensemble de ces molécules agissent de façon synergique pour abaisser le seuil de réponse des nocicepteurs aux stimuli mécaniques (Strassman et al., 1996). La sensibilisation des nocicepteurs trigéminovasculaires serait ainsi responsable du caractère pulsatile de la douleur ainsi que de son aggravation par des stimuli tels que les pulsations artérielles, le déplacement de la tête, les efforts physiques et la toux.

Ainsi, bien qu'elle ne reste qu'une hypothèse chez l'Homme et dans la migraine, le cumul de ces études montre que l'inflammation neurogène est un excellent mécanisme pour expliquer l'apparition d'une douleur méningée.

b) Implication de la DCE

Il a été montré dans plusieurs modèles animaux de migraine que la DCE pouvait activer les neurones, du ganglion trigéminal (Zhang et al., 2010) et du CTC (Zhang et al., 2011). En effet, il a été montré que l'augmentation de potassium extracellulaire suite à la DCE ouvre les canaux pannexin 1 au niveau du cortex, ce qui active la Caspase-1 et entraîne la synthèse d'interleukines par les neurones et les astrocytes (Silverman et al., 2009). Dans le même temps, les neurones libèrent la protéine HMGB1, qui déclenche la transcription d'autres molécules inflammatoires (Karatas et al., 2013), notamment dans les astrocytes (Pedrazzi et al., 2007). Il a donc été émise l'hypothèse que cette libération d'HMGB1 serait responsable de l'activation du facteur de transcription NF- κ B dans les astrocytes formant la Glia Limitans, qui entraîne la synthèse de cytokines, de prostaglandines et de NO (Reuter et al., 2002, Figure 10).

L'expression et la libération de la protéase MMP-9 est également augmentée suite à la DCE, ce qui va occasionner une perméabilisation de la barrière hémato-encéphalique (Gursoy-Ozdemir et al., 2004). Cette perméabilisation permettrait ainsi aux molécules inflammatoires citées de passer au niveau méningé et d'activer les nocicepteurs présents, ce qui a développé l'idée que la DCE pourrait à la fois être responsable de l'aura et de la céphalée (Ramachandran 2018). Corroborant cette idée, il a été démontré chez la souris que la DCE pouvait activer les macrophages présents dans les méninges, qui libèrent notamment des cytokines pro-inflammatoires (Schain et al., 2018).

c) Implication du système parasympathique

Le système parasympathique est supposé être à l'origine des symptômes tels que le rougissement, la rhinorrhée ou encore les larmoiements pouvant être observés pendant une crise de migraine (Mikhailov et al., 2016). Ces symptômes, présents chez 37,4% des migraineux, sont corrélés avec des céphalées plus douloureuses, ce qui suggère que le système parasympathique pourrait aggraver la

sensibilisation du nerf trijumeau (Barbanti et al., 2016). Ainsi, la stimulation électrique du ganglion sphéno-palatinal suffit à déclencher une extravasation de protéines importante dans l'espace sub-arachnoïdien, un phénomène qui participerait à l'inflammation neurogène (Delépine & Aubineau, 1997). Par ailleurs, le PACAP peut déclencher une crise chez les migraineux, sans modifier la vascularisation (Edvinsson et al., 2018). Il serait également impliqué dans la dégranulation mastocytaire (Baun et al., 2012).

d) Implication des astrocytes

Au niveau cortical, les astrocytes régulent le pH ainsi que les concentrations de glutamate et de potassium dans le milieu extracellulaire. Lorsque cette fonction est altérée, par exemple suite à une interruption des communications entre astrocytes, l'élévation de ces molécules favoriserait la propagation des DCE et probablement la survenue de l'inflammation neurogène (Rovegno et al., 2018). Dans un modèle murin transgénique de MHF, un dysfonctionnement de cette fonction d'homéostasie a pu être observé suite à la diminution de l'expression des pompes sodium/potassium des astrocytes. Cela entraînait une facilitation de la DCE ainsi qu'une augmentation de la fréquence de décharge des neurones du cortex cingulaire, particulièrement impliqués dans l'intégration de la douleur (Romanos et al., 2020). Il a été également montré chez le rat qu'une DCE activait les afférences méningées et augmentait la concentration de calcium intracellulaire des astrocytes, même lorsque ceux-ci étaient inhibés. En revanche, cette inhibition supprimait la sensibilisation des afférences méningées, suggérant un rôle des astrocytes corticaux dans le maintien de l'inflammation neurogène (Zhao et al., 2021).

IV. Traitements de la migraine

Le traitement des migraines repose sur trois grands axes : limiter les facteurs déclenchants, trouver le traitement de crise approprié et adapter un traitement de fond si nécessaire (Silberstein et al., 2012). L'éducation du patient est aussi un élément clé dans la prise en charge des migraines ; il permet notamment de limiter l'abus médicamenteux, qui est un facteur important de chronicisation de migraine. Par exemple, la tenue d'un calendrier des céphalées par le patient est utile afin de mesurer l'efficacité des traitements et d'ajuster la stratégie thérapeutique. Le patient va répertorier la fréquence, la durée et l'intensité des crises, mais aussi les traitements pris, les signes associés et l'élément déclencheur s'il parvient à l'identifier.

Parmi les traitements médicamenteux, celui de crise doit être proposé à tous les patients migraineux. Si la fréquence des attaques dépasse quatre crises par mois ou si celles-ci deviennent trop invalidantes, un traitement de fond pourra être envisagé.

1) Traitements de crise

Les traitements ayant heureusement évolué depuis les trépanations du Néolithique (Esther Lardreau, 2014), l'objectif des traitements antimigraineux de crise est aujourd'hui avant tout la disparition de la douleur dans les deux heures suivant le début de la crise.

Selon la French Headache Society, les traitements de crise sont séparés en traitements non spécifiques et spécifiques. Les molécules non spécifiques comptent notamment le paracétamol, un analgésique, dont l'efficacité est augmentée en combinaison avec la caféine. Il est également souvent prescrit un AINS (inhibiteur de la synthèse de cytokines), les plus recommandés étant l'ibuprofène, le diclofenac, le flurbiprofène et l'aspirine. Ces molécules peuvent être accompagnées de métoprolol pour lutter contre les nausées (Ducros et al., 2021, Tableau n°1).

Les traitements spécifiques comprennent :

Les triptans (agonistes des récepteurs 5HT_{1b} et d à la sérotonine), parfois en association avec un anti-inflammatoire, font partie des traitements de deuxième intention, à cause d'un coût élevé et d'une efficacité variable, le plus efficace étant le sumatriptan injecté en sous-cutané (Cameron et al., 2015). Le sumatriptan semble agir sur la migraine grâce à son action vasoconstrictrice, sa capacité à réduire la libération de CGRP par les terminaisons des fibres nociceptives du nerf trijumeau (Humphrey & Goadsby, 1994) et à moduler la synthèse de 5-HT au niveau cortical (Sakai et al., 2008).

Table 1 – Non-specific acute migraine treatments (MA: specific French Market Approval for the acute treatment of migraine headache).

Analgesics		Level of evidence for efficacy	Strength of recommendation by the French Headache Society	Dose, route	Main side effects	Main contraindications ^a
Acetylsalicylate acid, aspirin	High	Strong	1000 mg (tablet, powder, disintegrating tablet) Maximum 3000 mg/day	Acetylsalicylate: digestive disorder, hemorrhage, allergy, Reye syndrome	Acetylsalicylate: active gastroduodenal ulcer, hemorrhagic risk, pregnancy, asthma, severe hepatic, cardiac or renal insufficiency, hypersensitivity, pregnancy	
Acetylsalicylate + metoclopramide (MA)	High	Strong	900 mg + 10 mg (powder) Maximum 3/day	Metoclopramide: dyskinetic syndrome, restlessness psychiatric disorder, endocrine disorder	Metoclopramide: gastrointestinal hemorrhage, digestive perforation, history of dyskinesia, extrapyramidal syndrome, children	
Paracetamol	High (in mild-to-moderate attacks)	High in mild attacks, moderate in moderate attacks, not recommended in severe attacks	500, 1000 mg (tablet) Maximum 4 g/day	Paracetamol: hepatic and hematologic toxicity	Severe hepatic insufficiency	
Paracetamol + caffeine	High	Low	500 mg + 50 mg (tablet) Maximum 6 tablets/day	Caffeine: palpitation, insomnia		
NSAIDs	Level of evidence	Strength of recommendation	Dose, route	Main side effects	Main contraindications^a	
Diclofenac	High	Strong	25, 50, 100 mg (tablet) Maximum 150 mg/day	Hemorrhagic syndrome	Active gastroduodenal ulcer Hypersensitivity to NSAIDs	
Flurbiprofen	High	Strong	8.75 mg (tablet) Maximum 5 tablets/day	Digestive disorder, dyspepsia, nausea, diarrhea, constipation	Hemorrhagic risk (cerebral, digestive other), severe hepatic or renal insufficiency, pregnancy (after the 5th month)	
Ibuprofen (MA)	High	Strong	200, 400 mg (tablet) Maximum 1200 mg/day			
Indomethacin	Medium	Moderate	25, 75 mg (tablet) 100 mg (suppository)	Dizziness, asthenia		
Ketoprofen (MA)	High	Strong	Maximum 300 mg/day 100, 150 mg (tablet)			
Naproxen	High	Strong	100 mg (suppository) Maximum 200 mg/day 550, 1000 mg (tablet) Maximum 1100 mg/day			

NSAIDs: nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

^a Contraindications and side effects are not exhaustive, but listed according to frequency occurrence. Interactions are not given. Refer to Vidal.

Tableau 1 : Tableau des traitements de crise non-spécifiques de la migraine (Ducros et al., 2021)

Les ditans (comme le lasmiditan) sont des agonistes du récepteur 5HT-1f de la sérotonine, et contrairement aux triptans, ils ne possèdent pas d'effet sur la vasoconstriction : le seul ditan actuellement testé pour traiter les crises de migraine est le Lasmiditan (Lamb, 2019), qui n'a pas encore d'autorisation de mise sur le marché (AMM) en France. Le récepteur 5-HT1f est très peu présent à la périphérie et quasiment absent au niveau vasculaire, mais il est retrouvé en abondance dans le système nerveux central, et notamment dans le CST (Vila-Pueyo, 2018).

Les gépants qui sont des antagonistes des récepteurs au CGRP, ont émergé en tant que traitements prometteurs de la douleur migraineuse. Plusieurs études ont démontré l'efficacité des gépants développés, y compris chez des patients habituellement résistants aux traitements, et sans effets secondaires significatifs (Omaer et al., 2021), alors que les premiers gépants possédaient une certaine hépatotoxicité. Aucun gépant ne possède pour le moment d'AMM en France.

Les dérivés ergotés comme la dihydroergotamine doivent leur efficacité à leur effet vasoconstricteur ainsi que comme agoniste des récepteurs 5-HT1b et d (Ngo & Tadi, 2020). Ce sont des traitements anciens et très rarement utilisés, notamment à cause de forts effets secondaires (Ducros et al., 2021, Tableau n°2). Il est à noter que ces traitements agissent toujours en aval de la migraine. Afin de prévenir en amont la crise, ou tout du moins de diminuer sa fréquence, sa durée et/ou son intensité, il est nécessaire de pouvoir fournir aux patients un traitement de fond (nommé aussi préventif ou prophylactique).

2) Les traitements de fond

Pour le moment, comme le décrit l'American Headache Society (AHS Consensus Statement 2018), les traitements de fond existants sont issus d'usage non conformes de divers médicaments, à l'efficacité plus ou moins reconnue. Parmi ceux estimés les plus probants, on peut retrouver des antiépileptiques (notamment le topiramate), des bêtabloquants (métoprolol, propranolol, timolol), l'onabotulinumtoxine A (Botox), ou encore un antidépresseur, l'amitriptyline (Ducros et al., 2021). Bien qu'encore peu connu, le mécanisme d'action de ces molécules sur la prévention de la migraine se révèle petit à petit. Les études précliniques montrent qu'ils peuvent diminuer la fréquence de la DCE, ou encore de réduire la sensibilisation neuronale (Sprenger et al., 2018). Dans le cas du topiramate par exemple, son action prophylactique semble être due à son effet potentialisateur du GABA couplé à une action inhibitrice sur plusieurs canaux ioniques dans le système nerveux central (White, 2005). Dans le cas des bêtabloquants, il a été montré que le propranolol prévient l'altération des contrôles descendants de la douleur, préservant notamment le système de modulation noradrénergique (Boyer et al., 2017). Dans le cas des antidépresseurs tricycliques, leur action semble se porter sur la DCE puisqu'ils

Table 2 – Specific acute migraine treatments (MA: specific French Market Approval for the acute treatment of migraine headache).

Triptans	Level of evidence for efficacy	Strength of recommendation by the French Headache Society	Dose (route)	Main side effects	Main contraindications ^a
Almotriptan (MA)	High	Strong	12.5 mg (tablet) Maximum 25 mg/day	Paresthesia of extremities, nausea, feeling of cold, dizziness, asthenia, "chest syndrome" (feeling of constriction in the chest and neck), flushing, somnolence	Coronary heart disease Wolff Parkinson White syndrome Myocardial infarction Peripheral arterial disease Raynaud TIA and stroke
Eletriptan (MA)	High	Strong	20 or 40 mg (tablet) Maximum 80 mg/day		
Frovatriptan (MA)	High	Strong	2.5 mg (tablet) Maximum 5 mg/day		
Naratriptan (MA)	High	Strong	2.5 mg (tablet) Maximum 5 mg/day		Uncontrolled hypertension Serious hepatic or renal insufficiency
Rizatriptan (MA)	High	Strong	5, 10 mg (tablets), 10 mg (disintegrating tablet) Maximum 20 mg/day		Concurrent treatment with a MAO inhibitor Cross allergy with sulfonamides (except for rizatriptan and zolmitriptan)
Sumatriptan (MA)	High	Strong	50 mg (tablets) Maximum 300 mg/day 10/20 mg (nasal spray) Maximum 40 mg/day 6 mg (subcutaneous injection)	Rare cases of coronary spasms, severe hypertension, serotonin syndrome	
Zolmitriptan (MA)	High	Strong	Maximum 12 mg/day 2.5 mg (tablet/disintegrating tablet) Maximum 10 mg/day Nasal spray 5 mg (not available in France)		
Gepants	Level of evidence	Strength of recommendation	Dose, route	Main side effects	Main contraindications ^a
Rimegepant (not available in France in 2021)	High	Strong	75 mg (tablet) Maximum 75 mg/day	Nausea Rare severe allergic reaction	History of hypersensitivity reaction to rimegepant
Ubrogepant (not available in France in 2021)	High	Strong	50 mg, 100 mg (tablets) Maximum 200 mg/day	Nausea, drowsiness Rare severe allergic reaction	History of hypersensitivity reaction to ubrogepant
Ditans	Level of evidence	Strength of recommendation	Dose, route	Main side effects	Main contraindications ^a
Lasmiditan (not available in France in 2021)	High	Moderate	50 mg, 100 mg (tablets) Maximum 200 mg/day No more than one dose should be taken in 24 hours (FDA)	Common (>2%): dizziness, fatigue, paresthesia, sedation, nausea and/or vomiting, muscle weakness Significant driving impairment Central nervous system depression (dizziness, sedation) Rare (1%): hallucinations, euphoria Risk of misuse or abuse Rare cases of serotonin syndrome	Should be used with caution if used in combination with alcohol, cannabis or other CNS depressants No driving within the first 8 hours after intake (FDA)

NSAIDs: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; FDA: Food and Drug Administration.

^a Contraindications and side effects are not exhaustive, but listed according to frequency occurrence. Interactions are not given. Refer to Vidal.

Tableau 2 : Tableau des traitements de crise spécifiques de la migraine (Ducros et al., 2021)

diminuent la fréquence de survenue. Par ailleurs ils semblent également faciliter les contrôles descendants inhibiteurs de la douleur (Sprenger et al., 2018). Le Botox, injecté au niveau de la face de rats, diminue l'expression du récepteur TRPV1 dans le ganglion trijumeau et les terminaisons du nerf V, notamment la branche V1 (Shimizu et al., 2012). Ces dernières années, de traitements de fond ciblant spécifiquement la migraine ont été développés. C'est le cas des anticorps monoclonaux anti-CGRP ou anti-récepteur au CGRP. Le premier de ces anticorps monoclonaux à avoir obtenu une AMM est l'erenumab (en 2018 pour les Etats-Unis et l'Europe). Ce produit est disponible sous la forme d'un auto-injecteur utilisable à domicile. Actuellement, la principale restriction est le coût du traitement, estimé à plus de 6 000 francs suisses annuel par patient, alors que son remboursement par les organismes payeurs n'est pas encore approuvé (Sandor et al., 2019). En France, ce traitement est réservé aux patients souffrant au minimum de 8 jours de migraine par mois et après l'échec d'au moins 2 traitements de fond. Seuls les neurologues peuvent les prescrire (Ducros et al., 2021, Tableau n°3).

Il existe également des traitements non pharmacologiques telle que la stimulation électrique qui peut être transcutanée ou invasive. Elle est utilisée lors de la crise ou préventivement, et peut cibler différentes régions. Ainsi on peut citer la stimulation du nerf vague ou du ganglion sphéno-palatinal pour une action sur le parasymphatique, ou bien encore une stimulation du nerf supraorbitaire, issu de la branche V1 du nerf trijumeau. Ces méthodes souffrent d'un manque d'études en double-aveugle souvent limitées à des modèles animaux, d'un prix parfois très élevé pour une efficacité variable (Moisset et al., 2020). Bien que le mécanisme exact soit inconnu, la stimulation par l'acupuncture semble faire preuve d'une bonne efficacité dans le traitement préventif de la migraine (Zhang 2020 a).

Enfin, des modifications de l'hygiène de vie et du comportement du patient peuvent améliorer l'efficacité des traitements : des séances régulières de sport d'endurance diminuent la sévérité des crises et peuvent permettre de réduire certaines comorbidités (notamment l'obésité, Santiago et al., 2014). L'usage de techniques de relaxation, de réduction du stress et l'éducation du patient à la physiopathologie de la migraine permettent de potentialiser l'efficacité d'un traitement et parfois d'améliorer la qualité de vie générale (Holroyd et al., 2010 ; Wells et al., 2021).

Table 4 – Oral prophylactic treatments: dosage, side effects and contraindications.

Treatment (French Market Approval, yes or no)	Level of evidence for efficacy	Strength of recommendation by the French Headache Society	Daily dosage Minimum–Maximum (mean daily dosage)	Main side effects	Main contraindications
Amitriptyline (yes)	High in EM Fair in CM	Strong in EM Moderate in CM	10–100 mg (25 mg) Once at dinner time	Dry mouth, somnolence, weight gain	Absolute: glaucoma, prostatic adenoma Relative: obesity
Beta-blocker Propranolol (yes)	High in EM Fair in CM	Strong in EM Weak in CM	20–240 mg (80 mg) BID or once in the morning (extended release)	Common: asthenia, poor tolerance to effort Rare: depression	Absolute: asthma, heart failure, atrio-ventricular block, bradycardia Relative: depression
Metoprolol (yes)	High in EM Unknown in CM	Strong in EM Not recommended in CM	50–200 mg (100 mg) Once in the morning (extended release)		
Nebivolol (no)	Medium in EM Unknown in CM	Moderate in EM Not recommended in CM	5–10 mg (10 mg) Once in the morning		
Atenolol (no)	High in EM Fair in CM	Moderate in EM Weak in CM	50–200 mg (100 mg) Once in the morning		
Timolol (no)	High in EM Unknown in CM	Moderate in EM Not recommended in CM	10–60 mg (20 mg) BID		
Candesartan (no)	Medium in EM Fair in CM	Strong in EM Weak in CM	8–32 mg (16 mg) BID or once a day	Hypotension	Absolute: heart failure, renal artery stenosis, renal impairment, pregnancy Relative: hypotension
Flunarizine (yes)	High in EM Fair in CM	Moderate in EM Weak in CM	5–10 mg (5 mg) Once in the evening Stop after 6 months	Common: somnolence, weight gain, depression Rare: parkinsonism	Depression, obesity, Parkinson disease, parkinsonism, pregnancy
Lisinopril (no)	Fair in EM Unknown in CM	Moderate in EM Not recommended in CM	5–40 mg (20 mg) Once a day	Hypotension, dry cough, exanthema, impaired renal function	Angio-edema, renal artery stenosis, renal impairment, hyperkalemia, pregnancy
Lamotrigine (no)	Fair in migraine with aura	Weak in migraine with aura Not recommended in migraine without aura	25–300 mg (100 mg) Once or twice a day	Common: dizziness, insomnia Rare: serious hypersensitivity reactions, depression, suicidal ideation	Absolute: hypersensitivity to lamotrigine, breastfeeding Relative: previous allergy to another antiepileptic
Levetiracetam (no)	Medium in EM Fair in CM	Weak in EM Weak in CM	500–3000 mg Twice a day	Irritability, depression	Relative: renal impairment
Oxetorone (yes)	Fair in EM Unknown in CM	Moderate in EM Not recommended in CM	60–180 mg (120 mg) Once in the evening	Common: somnolence Rare: diarrhea, parkinsonism	Parkinson disease, parkinsonism, pregnancy
Pizotifene (yes)	Medium in EM Unknown in CM	Moderate in EM Not recommended in CM	50–300 mg (150 mg) BID	Common: sedation, weight gain	Obesity, glaucoma, prostatic adenoma, pregnancy
Topiramate (yes)	High in EM High in CM	Strong in EM Strong in CM	50–200 mg (100 mg) Once or twice a day	Common: paresthesia, weight loss, cognitive effects (word-finding difficulties), depression Rare: renal calculi, acute myopia with secondary angle closure glaucoma	Absolute: hypersensitivity to topiramate, pregnancy, glaucoma, severe pulmonary disease, metformin use, hepatic disease, nephrolithiasis, renal failure Relative: depression, suicidal ideation
Valproate (no)	High in EM Medium in CM	Strong in EM Moderate in CM Do never use in women of childbearing potential	250–2000 mg (750 mg) Once in the evening or twice a day	Common: nausea, weight gain, somnolence, tremor, alopecia, ASAT, ALAT increase, hepatitis	Absolute: liver disease, pregnancy, mitochondrial disease Relative: obesity Do never use in women of childbearing potential
Venlafaxine (no)	Fair in EM Unknown in CM	Weak in EM Not recommended in CM	37.5–300 mg (75–150 mg) Once a day	Common: nausea, dry mouth, hyperhidrosis	Hypersensitivity to venlafaxine

Tableau 3 : Tableau des traitements de fond oraux de la migraine (EM = Migraine épisodique, CM = Migraine chronique, Ducros et al., 2021)

Partie II : Locus Coeruleus, afférences, efférences et fonctions

I. Historique et anatomie générale

Bien que décrit pour la première fois par Félix Vicq d'Azyr en 1786, le LC n'est nommé ainsi qu'en 1812 par Joseph et Karl Wenzel. Signifiant littéralement « emplacement azur », le terme Locus Coeruleus est dû à sa légère coloration bleutée, conséquence de la présence de neuromélanine dans ce noyau.

Le LC, également nommé noyau A6 car il fait partie des 7 groupes noradrénergiques du système nerveux central (Grzanna & Molliver, 1980 ; Aston-Jones & Waterhouse, 2016), se présente sous la forme de deux noyaux bilatéraux situés de part et d'autre du 4^{ème} ventricule, dans la partie la plus dorsale du tronc cérébral. Même si le LC est majoritairement constitué de neurones noradrénergiques, des études récentes montrent qu'il existe une population d'interneurones GABA qui pourraient moduler l'activité des neurones NA (Jin et al, 2016 ; Breton-Provencher & Mrikanga, 2019). Les neurones NA du LC présentent différentes morphologies relativement bien régionalisées (Grzanna & Molliver, 1980) : le « cœur » du LC contient une population dense de neurones mesurant 20-25µm, avec une orientation rostro-caudale. La moitié caudale du LC présente dorsalement de petits neurones (10-20µm) et ventralement de gros neurones (30-40µm) plus espacés et multipolaires. Enfin, la pointe rostrale du LC est constituée de neurones orientés verticalement mesurant 35 à 45µm, faisant d'eux les plus grands neurones noradrénergiques du cerveau. Possédant de nombreuses projections (Loughlin et al., 1986), le LC assure la majorité de l'innervation noradrénergique du cerveau, et est ainsi impliqué dans de nombreux processus biologiques (Schwarz et al., 2015).

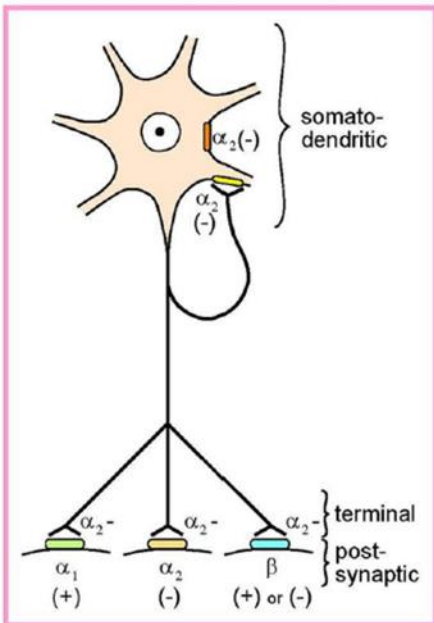
II. Mode d'action de la NA

La synthèse de la NA se fait à partir de la L-tyrosine qui, captée par les neurones exprimant la TH, est transformée en L-dopa. La L-dopa est ensuite transformée en Dopamine (DA) par l'action de la Dopa-décarboxylase, avant de donner la NA grâce à l'intervention de la Dopamine-Beta-Hydroxylase (DBH). La NA est libérée ensuite dans de nombreuses régions cérébrales par l'intermédiaire de varicosités axonales.

Les récepteurs noradrénergiques sont des protéines à sept segments transmembranaires couplées à des protéines G intracellulaires (Hein, 2006). 9 récepteurs à la NA ont été caractérisés, chacun issu d'un gène différent, que l'on peut diviser en 3 grandes familles : les AR_{alpha-1}, les AR_{alpha-2} et les récepteurs noradrénergiques beta (AR_{beta}). Les AR_{alpha-1} comptent 3 sous-types a, b et d, et sont couplés à une protéine Gq activatrice. Ils sont localisés sur les neurones post-synaptiques de différentes régions cérébrales comme le LC, le bulbe olfactif, le cortex, le gyrus denté, l'amygdale ou encore le thalamus.

NORADRENERGIC NEURONE:

ADRENOCEPTORS



NORADRENERGIC SYNAPSE

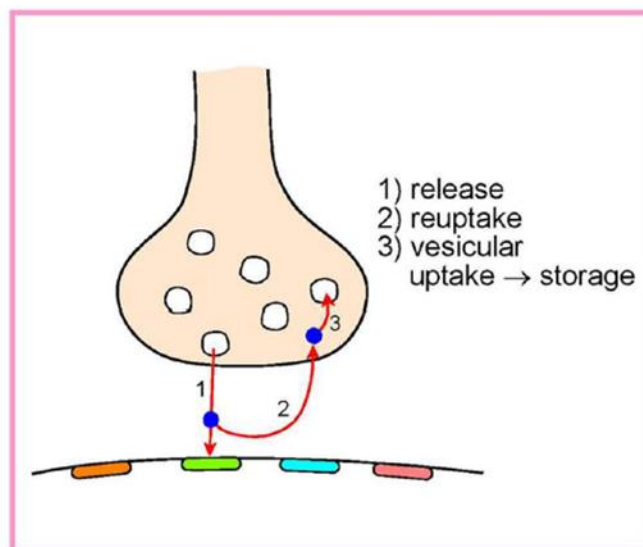


Figure 11 : Représentation du mode d'action de la noradrénaline. Le schéma de gauche montre la localisation en pré ou post-synaptique des 3 types de récepteurs noradrénergiques connus. Ces récepteurs sont couplés à des protéines G activatrices (+) et/ou inhibitrices (-). Les autorécepteurs pré-synaptiques terminaux inhibent la libération de NA tandis que les autorécepteurs somatodendritiques inhibent les décharges neuronales. Le schéma de droite montre la libération de NA (1, release), qui est ensuite éliminée de la fente synaptique par recapture (2, reuptake) et stockée dans des vésicules (3, storage) (Szabadi, 2013).

Les AR_{alpha-2} comptent les sous-types a, b et c, et sont couplés à une protéine Gi : ils ont donc un rôle inhibiteur. On retrouve ces récepteurs aussi bien en pré qu'en post-synaptique, notamment dans l'hypothalamus, l'amygdale et le LC. Dans le LC, ces autorécepteurs vont donc permettre un rétrocontrôle (Huang et al., 2012) qui module la libération de la NA (Starke, 2001). Les AR_{beta}, quant à eux, sont divisés en AR_{beta-1}, AR_{beta-2} et AR_{beta-3}, qui sont couplés à une protéine Gs : ils peuvent donc être aussi bien activateurs qu'inhibiteurs. Les AR_{beta-1} et AR_{beta-2} sont présents dans diverses régions cérébrales mais majoritairement situés dans le cortex, tandis que les AR_{beta-3} sont principalement retrouvés dans l'hippocampe et le cortex frontal ainsi que potentiellement dans le LC. Ces récepteurs ont un rôle essentiel dans le système nerveux sympathique (Schena & Caplan, 2019 ; Hussain et al., 2021). Les effets de la NA vont dépendre des récepteurs présents à la surface des neurones, mais également de la quantité de NA libérée. En effet, il existe une affinité décroissante respectivement des AR_{alpha-2}, AR_{alpha-1}, et AR_{beta} pour la NA, ce qui signifie qu'en fonction de l'activité du LC et donc de la concentration de NA, des comportements différents allant du sommeil à l'éveil ou l'intégration des informations sensorielles peuvent être obtenus (Figure 11, Atzori et al., 2016).

III. Afférences du LC

Le LC intègre des informations provenant de nombreuses régions cérébrales (Figure 12). Les 2 projections majeures sont issues des noyaux paragigantocellulaire (PGi) et prepositus hypoglossi (Ph). Si le premier de ces noyaux exerce une influence à la fois excitatrice et inhibitrice, le deuxième ne semble avoir que des projections inhibitrices.

1) Noyau paragigantocellulaire (PGi)

Localisé dans la partie ventromédiale du bulbe rachidien et scindé en deux parties séparées par la RVM, le PGi peut être activé par des stimulations nociceptives appliquées au niveau de la patte (Gau et al., 2012) et de la face (Hamba et al., 1994). Il reçoit des projections directes issues des couches profondes de la corne dorsale de la moelle épinière et du CTC (Van Bockstaele et al., 1989). Ainsi l'information sensitive issue de la corne dorsale est d'abord relayée au niveau du PGi avant d'être transmise au LC. En effet, une microinjection de lidocaine et de GABA dans le PGi inhibe l'activation du LC lors d'une stimulation cutanée (Chiang & Aston-Jones, 1993). Bien que cette projection du PGi sur le LC soit essentiellement ipsilatérale (Ennis & Aston-Jones, 1987 ; Pieribone & Aston-Jones, 1991), le LC intègre les informations sensorielles de manière bilatérale puisque les deux parties du PGi sont interconnectées (Van Bockstaele et al., 1993). Chez le singe et le chat, il existe en plus de la voie PGi-LC des projections directes issues des couches superficielles de la moelle épinière (Craig, 1992).

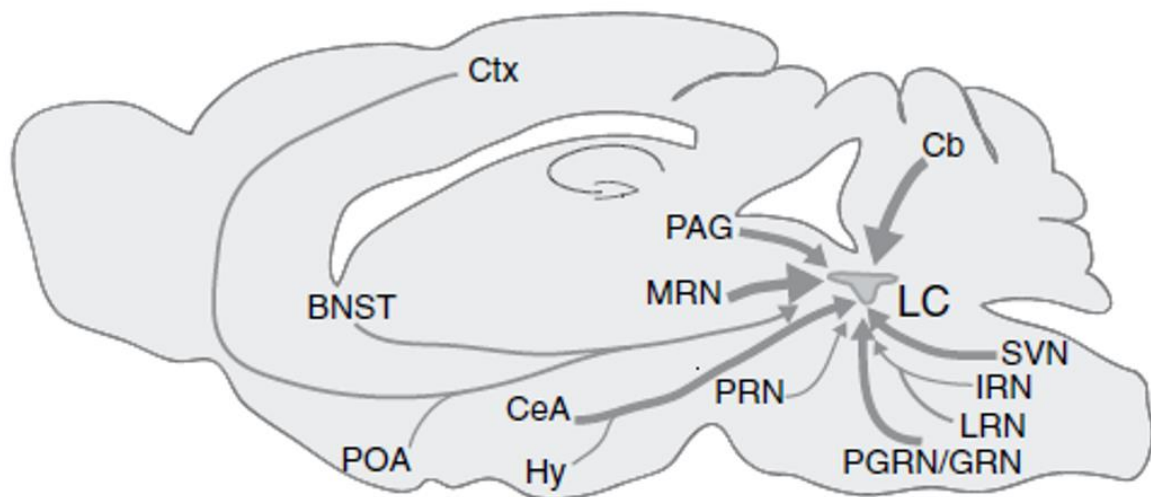


Figure 12 : Représentation sagittale des différentes afférences du LC dans le cerveau de rat. L'épaisseur des flèches représente l'importance relative des afférences de chaque régions qui comprennent : le cortex (Ctx), le noyau du lit de la strie terminale (BNST), l'aire préoptique de l'hypothalamus (POA), l'amygdale centrale (CeA), l'hypothalamus (Hy), la PAG, le noyau réticulé du mésencéphale (MRN), le noyau réticulé pontin (PRN), le cervelet (Cb), le noyau vestibulaire spinal (SVN), le noyau réticulé intermédiaire (IRN), le noyau réticulé latéral (LRN) et le noyau paragigantocellulaire (PGRN/GRN). Dans notre chapitre, nous avons décidé de ne décrire que les plus importantes ou les plus pertinentes sur notre sujet (Schwarz et al., 2015).

Les projections du PGI vers le LC sont principalement excitatrices. En effet, chez le rat, plus de 70% des neurones du LC sont activés par une stimulation du PGI tandis que 16% sont inhibés (Ennis & Aston-Jones, 1988). Les projections excitatrices sont glutamatergiques, puisque l'injection d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques dans le LC, inhibe la transmission des informations sensorielles par le PGI (Ennis et al., 1992). Quant aux projections inhibitrices, elles sont le fait de projections adrénérgiques issues du PGI latéral (Pieribone & Aston-Jones, 1991) qui activent les AR_{alpha-2} (Aston-jones et al., 1992), de projections glycinergiques (Rampon et al., 1999) et GABAergiques (Sirieix et al., 2012). Elles ont surtout été impliquées dans le cycle de veille/sommeil (Sirieix et al., 2012), puisque le GABA provenant du PGI permet le maintien du sommeil paradoxal (Clément et al., 2014). Enfin, co-localisant avec le GABA, des opioïdes endogènes enkephalinergiques sont libérés par les neurones du PGI (Zitnik, 2016) et diminuent l'activité tonique du LC en se fixant les récepteurs μ -opioïdes (Drolet et al., 1992).

2) Le noyau du prepositus hypoglossi (Ph)

La deuxième projection afférente majeure vers le LC provient du Ph, noyau localisé dans la partie caudale du pont. Ce sont des projections inhibitrices puisque GABAergiques, enkephalinergiques et adrénérgiques (Ennis & Aston-Jones, 1989 ; Zitnik, 2016). Le rôle de ces connexions est mal connu : il serait impliqué dans le maintien du sommeil paradoxal via le LC (Kaur et al., 2001).

3) La PAG

Les projections de la PAG ventrolatérale vers le LC sont concentrées dans la zone péri-LC rostrale ventromédiale (Van Bockstaele et al., 2001). Ces projections sont glycinergiques, et capables d'inhiber le LC suite à une stimulation de la PAG (Rampon et al., 1999).

4) Hypothalamus

Chez plusieurs espèces, dont le rat et les primates non-humains, il a été montré que le LC ainsi que la région péri-LC recevait des projections importantes issues de plusieurs noyaux hypothalamiques incluant le noyau paraventriculaire (Geerling et al., 2010), les régions hypothalamiques latérales (Puskás et al., 2010), le noyau ventro-médial (Saper et al., 1976) ainsi que les régions pré-optiques (Cedarbaum & Aghajanian, 1978 ; Chou et al., 2002). Les projections excitatrices sont majoritairement issues des régions hypothalamiques latérales et du noyau ventro-médial dont les neurones vont libérer de l'orexine (Zitnik, 2016). Cette orexine provoque l'augmentation de la fréquence de décharge ainsi que l'expression de c-Fos dans les neurones du LC, ce qui va favoriser l'éveil et l'attention (Bourgin et al., 2000 ; Hagan et al., 1999 ; Ivanov & Aston-Jones, 2000). Le noyau paraventriculaire est plutôt activateur du LC par ses projections libérant du CRF (Reyes et al., 2005) et inhibiteur grâce à ses projections contenant de la somatostatine (Inoue et al., 1988 ; Olpe et al., 1991). Cette dernière

favoriserait la transition de l'éveil vers le sommeil (Zitnik, 2016). Il existe d'autres projections inhibitrices de l'activité du LC (Gervasoni et al., 1998 ; Nitz & Siegel, 1997 ; Dimitrov et al., 2013) telles que celles de l'aire préoptique ventrolatérale ainsi que du noyau latéral postérieur qui contiennent des neurones GABAergiques (Szymusiak & McGinty, 2008).

5) Amygdale

Les neurones de l'amygdale qui projettent directement sur le LC, libèrent du CRF et du GABA (Van Bockstaele et al., 1998 ; Dimitrov et al., 2013). Le CRF libéré lors d'une exposition à des agents stressants augmente le taux de décharge des neurones du LC provoquant la libération de NA (Curtis et al., 2002 & 2012). Cependant, chez des rats neuropathiques, l'activation de l'amygdale entraîne une diminution de l'activité du LC (Viisanen & Pertovaara, 2007), ceci étant dû à ses projections GABAergiques vers le LC (Dimitrov 2013). Avant cette inhibition, il existe une courte activation du LC, déclenchée par les projections exprimant le CRF (Bouret et al., 2003).

6) Cortex

Quelques neurones provenant du cortex insulaire projettent vers le LC (Cedarbaum & Aghajanian, 1978), mais cette observation n'est pas systématique (Luppi et al., 1995). La projection la plus importante est glutamatergique et provient du cortex préfrontal (Jodo et al., 1998).

IV. Efférences et fonctions du LC

Le LC projette dans la majorité du système nerveux central, ce qui explique son rôle modulateur dans un grand nombre de fonctions cérébrales (Benarroch, 2017, Figure 13). Les projections efférentes du LC sont divisées en trois faisceaux de fibres :

- le faisceau noradrénergique dorsal qui innerve les structures du mésencéphale, le thalamus, le système limbique et le néocortex (Gatter & Powell, 1977 ; Jones & Moore, 1977) ;
- la voie cérébelleuse qui projette sur le cervelet (Szabadi, 2013) ;
- la voie descendante, qui projette sur la moelle épinière, envoie également des collatérales sur les noyaux moteurs du tronc cérébral (tels que le noyau dorsal du nerf vague et le complexe olivaire inférieur) et vers la moelle épinière (Moore et Bloom, 1979 ; Szabadi, 2013).

D'une manière générale, les projections efférentes du LC semblent respecter une certaine topographie. Ainsi, les neurones issus de la partie dorsale du LC projettent plutôt vers les zones cérébrales rostrales, telles que le cortex ou le thalamus tandis que les neurones issus de la partie ventrale projettent plutôt vers les zones caudales comme la moelle épinière (Schwarz et al., 2015). Par

ailleurs, un même neurone peut projeter vers plusieurs structures (Uematsu et al., 2017 ; Steindler, 1981).

Le rôle du LC peut être vu comme un système modulateur qui optimiserait l'activité cérébrale dans le but d'adapter le comportement aux modifications de l'environnement (Aston-Jones & Cohen, 2005).

1) Rôle du LC dans l'éveil

Il existe une relation entre l'état de vigilance et l'activité du LC. En effet les études suggèrent que les 4 différents niveaux de vigilance, comprenant le sommeil, l'éveil calme, l'éveil actif et l'hypervigilance en réponse à un stress, correspondent à des niveaux croissants de libération de NA (Atzori et al., 2016). Ainsi, il a été montré que l'activation du LC par stimulation optogénétique augmente l'état d'éveil tandis que son inhibition favorise le sommeil (Carter et al., 2010). L'implication du LC dans les phénomènes d'éveil et de vigilance est imputable à ses projections vers le système limbique, en particulier vers le cortex préfrontal médian. En effet, l'activation du LC est suivie, après un délai de 5 à 30 secondes, d'un changement dans l'électroencéphalogramme du cortex correspondant à une élévation de son activité (Berridge & Foote, 1991). Cet effet peut être supprimé par l'activation des AR_{alpha-2} du LC (Page et al., 1993).

L'hypothalamus est également une structure centrale dans le maintien de l'état de veille. La stimulation du LC inhibe les neurones pro-sommeils de l'aire préoptique ventrolatérale de l'hypothalamus, et active les neurones pro-éveils (Modirrousta et al., 2004).

2) Rôle dans le stress

Le LC a un rôle majeur dans le comportement et les réponses végétatives liés au stress (Benarroch, 2017). Le LC projette ainsi vers le noyau basolatéral de l'amygdale (Giustino et al., 2020), qui joue un rôle dans la mémorisation de l'émotion liée à la peur (Haubrich et al., 2020). En plus de cette projection, le LC projette également vers le noyau central de l'amygdale qui est impliqué dans l'arrêt de l'alimentation, conditionné par la peur (Yang et al., 2021). Ainsi, les projections réciproques entre le LC et l'amygdale entretiennent un état de stress puisque l'activation des neurones de l'amygdale libérant du CRF dans le LC provoque un comportement anxiogène (McCall et al., 2015). Dans le LC, le CRF se fixe sur les récepteurs CRF1 : il a été montré que chez les rongeurs mâles, ce récepteur s'internalisait en cas d'hypersécrétion du CRF, ce qui n'est pas le cas chez les femelles (Bangasser et al., 2010 & 2016). Cette variation selon le sexe pourrait expliquer la prévalence plus importante de pathologies liées au stress chez la femme.

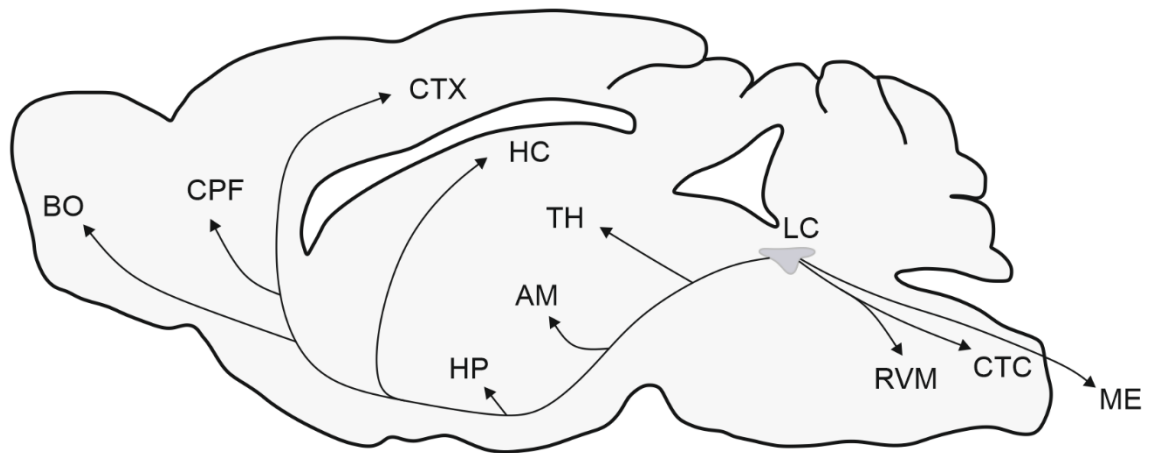


Figure 13 : Représentation sagittale des différentes efférences du LC dans le cerveau de rat. Les deux noyaux du LC projettent majoritairement de manière ipsilatérale. Un même neurone peut projeter vers plusieurs structures, telles que : le bulbe olfactif (BO), le cortex préfrontal (CPF), le cortex (CTX), l'hippocampe (HC), le thalamus (TH), l'amygdale (AM), l'hypothalamus (HP), la RVM, le CTC et la moelle épinière (ME).

Le LC va également moduler l'activité du thalamus lors d'une exposition à un élément stressant. En effet l'activation du LC, dans ces conditions, entraîne une désinhibition du noyau paraventriculaire thalamique, qui est impliqué dans les états aversifs (Beas et al., 2018).

Enfin le LC va également agir au niveau périphérique en stimulant le système nerveux végétatif sympathique. Ceci va entraîner une augmentation de la fréquence cardiaque, de la fonction pulmonaire, et de la pression artérielle (Yao & Lawrence, 2005 ; Biancardi et al., 2014).

3) Rôle dans la mémoire

Comme mentionnée ci-dessus, la NA libérée par le LC dans l'amygdale permet la consolidation de la mémoire liée à la peur (Haubrich et al., 2020). D'autre part, l'hippocampe participe également à la consolidation de la mémoire issue de la peur par l'intermédiaire des AR_{beta} astrocytaires qui libèrent du lactate renforçant ainsi la transmission synaptique (Gao et al., 2016). Le LC joue donc un rôle important dans les phénomènes mnésiques car il est la source principale de NA dans l'hippocampe (loughlin et al., 1986). Ainsi, les beta-bloquants, comme le propranolol, bloquent la mémoire émotionnelle et contextuelle (Chamberlain et al., 2006). Par ailleurs, le LC co-libère de la dopamine avec la NA : cette dopamine joue un rôle dans la mémorisation via l'activation des récepteurs dopaminergiques D1/D5 (Yamasaki & Takeuchi, 2017).

4) Rôle du LC dans la modulation sensorielle

En plus de son rôle dans les états de vigilance, de stress ou encore dans la mémoire, le LC module également les voies sensorielles, que ce soit au niveau périphérique ou central. Ainsi le système noradrénergique permettrait de faciliter l'intégration des informations sensorielles jugées pertinentes, en améliorant le rapport signal-sur-bruit (Aston-Jones & Cohen, 2005).

Par exemple, des études sur le système olfactif montrent que le LC peut moduler l'information sensorielle dès le premier relai périphérique. En effet, la stimulation du LC augmente la réponse des cellules périphériques olfactives à un stimulus faible (Jiang et al., 1996). Le LC sert aussi d'intermédiaire entre l'amygdale et le système olfactif : l'inactivation de l'amygdale désinhibe (par la diminution d'activité des interneurons GABA) la première synapse olfactive, un effet médié par la NA du LC (Fast & Mc Gann, 2017).

Cette théorie d'ajustement du gain se base sur les 2 modes de décharges des neurones du LC : l'activité tonique ou spontanée et l'activité phasique ou évoquée. L'activité phasique obtenue lors de stimulations pertinentes provoque une libération brève de NA. Le niveau de l'activité tonique, quant à lui, varie selon les états de vigilance. C'est pendant les périodes d'activité tonique modérée qu'il existe le meilleur rapport signal-sur-bruit. En revanche une activité tonique soutenue s'accompagne

d'une activité phasique plus faible, ce qui signifie que le LC est moins activable par une stimulation sensorielle. Au niveau comportemental, cela se traduit par moins d'attention et un comportement distrait et agité (Aston-Jones et al., 1994 ; Rajkowski et al., 1994 ; Aston-Jones et al., 1999).

Le chapitre suivant sera consacré plus particulièrement au rôle du LC dans l'intégration des informations sensorielles nociceptives.

Partie III. Le Locus Coeruleus dans la douleur

I. Le LC dans la douleur

Le LC est un des acteurs majeurs de la modulation descendante de la douleur décrite précédemment. En effet, grâce aux projections issues de la partie ventrale du LC sur la corne dorsale de la moelle épinière et du CST, il assure 80% de l'innervation noradrénergique tandis que les 20% restants proviennent des noyaux adrénérgiques A5 et A7 (Howorth et al., 2009).

Les études suggèrent que le système descendant noradrénergique n'intervient pas ou peu dans la détection d'une douleur aiguë (Llorca-Torralba et al., 2016 ; Pertovaara, 2013). Pourtant les études immunohistochimiques montrent que le LC est activé dans différents modèles de douleur tels que la stimulation de la pulpe dentaire (Voisin et al., 2005), l'inflammation suite à l'injection d'adjuvant de Freud (Imbe et al., 2009), de formol (Farahani et al., 2021), ou de carraghénine (Tsuruoka et al., 2004). Il est donc admis que le LC aurait plutôt un rôle anti-nociceptif dans le cas d'une douleur soutenue. Cependant cette affirmation doit être nuancée à la lecture des études réalisées dans le domaine (Llorca-Torralba et al., 2016).

1) LC et douleur aiguë

Dans les modèles de douleur aiguë, la stimulation électrique ou chimique du LC provoque un effet analgésique (Jones & Gebhart, 1986 b ; Viisanen & Pertovaara, 2007). Cet effet est proportionnel à l'intensité du stimulus (Jones & Gebhart, 1986 a) et peut être prévenu par l'injection de lidocaïne dans le tegmentum pontique dorso-latéral qui contient le LC et le sub-coeruleus (Janss & Gebhart, 1988). Par ailleurs, l'injection d'un agoniste des AR_{alpha-2} dans le LC provoque un effet antinociceptif, cet effet étant bloqué par l'injection d'un antagoniste de ces mêmes récepteurs (Guo et al., 1996). Une étude plus récente de stimulation optogénétique du LC montre qu'une analgésie est obtenue lors de la stimulation de la partie ventrale du noyau (Hickey et al., 2014). Ceci est en accord avec les études anatomiques qui montrent que les neurones du LC projetant sur la corne dorsale de la moelle épinière sont situés au niveau ventral de ce noyau (Schwarz et al., 2015). Par ailleurs, le rôle anti-nociceptif du LC a été confirmé par des études de lésion. Ainsi dans un modèle d'inflammation à la carraghénine,

une lésion bilatérale du LC provoque une hyperalgésie thermique (Tsuruoka et al., 2004). De manière intéressante, les auteurs montrent que l'hyperalgésie n'est pas limitée à la patte enflammée, mais est également observée au niveau de la patte antérieure. Il est à noter, par contre, qu'une destruction unilatérale à la 6OHDA n'est pas suffisante pour augmenter l'hypersensibilité de la patte dans le même modèle (Maeda et al., 2009). Cependant les lésions bilatérales ne modifient pas le seuil nociceptif des rats lors de stimulations aiguës thermiques (Jasmin et al., 2003), ou mécaniques (Fukui et al., 2004), ce qui confirme qu'il est nécessaire d'avoir une stimulation nociceptive soutenue pour activer le système NA descendant. Cette activation du LC ne se fait pas directement à partir de la corne dorsale de la moelle épinière, mais par l'intermédiaire principalement du PGI (Chiang & Aston-Jones, 1993) grâce à sa projection glutamatergique. Le glutamate n'est pas la seule molécule qui puissent activer le LC. En effet, dans un modèle de douleur mécanique chez le rat, la stimulation des récepteurs P2X du LC par l'ATP entraîne une diminution de la réponse nociceptive (Fukui et al., 2004). De même l'acétylcholine est un autre neurotransmetteur capable de déclencher l'activité anti-nociceptive du LC (Oliveira et al., 2016). Dans et autour du LC, on trouve également des populations de neurones qui synthétisent du GABA et possèdent une forte capacité modulatrice sur le LC (Iijima, 1993 ; Jin et al., 2016 ; Breton-Provencher & Mrikanga, 2019).

Malgré quelques données contradictoires (Liu & Zhao, 1992), il est admis que l'effet antinociceptif du système NA implique les AR_{alpha-2} de la corne dorsale de la moelle épinière. En effet l'injection intrathécale de yohimbine, un antagoniste des AR_{alpha-2}, diminue l'effet antinociceptif obtenu par la stimulation électrique du LC. Ceci peut être prévenu si l'intensité de la stimulation est augmentée (Jones & Gebhart, 1986 b). D'autre part, l'application de médétomidine, autre agoniste des AR_{alpha-2}, diminue la nociception évoquée par une stimulation thermique chez le rat (Pertovaara & Hämäläinen, 1994). En électrophysiologie in vivo, l'application de NA sur la corne dorsale de la moelle épinière hyperpolarise les neurones nociceptifs (Sonohata et al., 2003), ce qui a pour effet de les inhiber (Kawasaki et al., 2003). Le même effet inhibiteur est obtenu par l'injection de clonidine, un activateur des AR_{alpha-2} (Sonohata et al., 2003 ; Kawasaki et al., 2003). A contrario, l'utilisation d'agonistes des AR_{alpha-1} ou des AR_{beta} n'a aucun effet sur la réponse des neurones nociceptifs lors de la stimulation des fibres A-delta ou C (Kawasaki et al., 2003).

La glie pourrait contribuer à l'effet antinociceptif de la NA libérée par le LC au niveau spinal : en effet, des cellules gliales exprimant les AR_{alpha-1} et AR_{alpha-2} dans la couche V ainsi que les AR_{alpha-1} et AR_{beta} dans les couches III-IV faciliteraient la transmission synaptique des neurones inhibiteurs GABAergiques et glycinergiques au niveau spinal (Seibt & Schlichter, 2015). L'activation de la microglie spinale, qui entraîne la libération de molécules inflammatoires, pourrait également être inhibée par la NA, ce qui renforcerait son action analgésique (Bohren et al., 2013 ; Zhang et al., 2018).

En conclusion, dans la douleur aiguë, le LC n'est pas impliqué dans la détection d'une stimulation nociceptive. Cependant lorsque la douleur devient soutenue, il semble avoir un rôle anti-nociceptif.

2) LC et douleur chronique

Dans la douleur chronique, l'effet du LC est plus controversé. Quand certaines études montrent son rôle anti-nociceptif, d'autres suggèrent plutôt qu'il aurait un rôle pro-nociceptif.

En effet, dans le modèle de neuropathie, beaucoup utilisé comme modèle de douleur chronique, la stimulation du LC ipsilatéral à la ligature du nerf sciatique produit un effet anti-nociceptif modéré lors d'une stimulation thermique (Viisanen & Pertovaara, 2007). Toujours dans un modèle de neuropathie, une lésion bilatérale du LC augmente l'hyperalgésie mécanique, sans aucun changement dans l'hypermensibilité thermique (Jasmin et al., 2003). A contrario, Brightwell et Taylor (2009) montrent que le LC contribuerait au développement de la douleur neuropathique. En effet, dans cette étude, la destruction bilatérale des neurones du LC retarde le développement de l'allodynie et des signes de l'hyperalgésie. En accord avec ce travail, il a été montré dans un modèle de constriction du nerf infraorbitaire, que la destruction des neurones du LC par la DBH-saporine permet de diminuer l'hypermensibilité cutanée (Kaushal et al., 2016). De même, la destruction du LC fait également disparaître le comportement d'autotomie, considéré comme un modèle de douleur fantôme (Al Adawi et al., 2002). Par ailleurs, une microinjection de lidocaïne dans le LC 3 semaines après une ligature nerveuse n'induit aucune modification de l'hypermensibilité tactile installée (Song et al., 2013). Confirmant ce rôle pro-nociceptif, un antagoniste des AR_{alpha-2}, appliqué au niveau de la corne dorsale, permet une diminution de l'allodynie mécanique de rats neuropathiques (Wei & Pertovaara, 2006), mais a peu d'effet sur l'hypermensibilité thermique (Wei & Pertovaara, 2006 ; Rahman et al., 2008) et aucun sur l'hyperalgésie mécanique (Wei & Pertovaara, 2006) ou sur des réponses évoquées par stimulation électrique (Rahman et al., 2008). De même, la yohimbine n'a plus aucun effet sur la douleur de rats neuropathique, 3 semaines après la ligature du nerf (Hughes et al., 2013). Confirmant l'altération du système noradrénergique dans les conditions neuropathiques, il a été montré que bloquer les AR_{alpha-2}, situés sur les neurones NA du LC, permet de restaurer une voie NA descendante fonctionnelle qui active les AR_{alpha-2} spinaux et permet une inhibition des afférences primaires (Kawasaki et al., 2003) ou une activation/inhibition des interneurones spinaux (Olave & Maxwell, 2002). Les antidépresseurs tricycliques permettraient également de restaurer la voie descendante noradrénergique. En effet, un traitement *per os* de ces inhibiteurs de recapture de la NA chez des souris neuropathiques permet de diminuer leur allodynie. Cet effet serait médié en partie par la voie descendante noradrénergique via l'activation des AR_{alpha-2} (du sous-type a) et en partie par des fibres sympathiques agissant sur les AR_{beta} (Kremer et al., 2018).

La transition d'un rôle antinociceptif vers un rôle pronociceptif semble être suivi par une plasticité des fibres noradrénergiques. En effet, chez la souris suite à une ligature du nerf sciatique, l'arborisation des terminaisons noradrénergiques est augmentée (Ma & Eisenach, 2003). Cet effet est retrouvé chez le rat et correspond à une capacité analgésique plus efficace du système noradrénergique (Hayashida et al., 2008). Toujours chez le rat, dans un modèle de neuropathie chimique, l'augmentation de l'arborisation NA est observée dans toutes les couches de la moelle épinière et leur action se traduit par une inhibition de la nociception médiée par les AR_{alpha-2} (Costa-Pereira et al., 2020). En revanche, au bout de trois semaines dans un modèle de transection du nerf tibial, l'innervation noradrénergique est fortement diminuée. Il est à noter qu'à ce stade, les inhibiteurs de recapture de la NA sont toujours capables de restaurer cette influence antinociceptrice (Hughes et al., 2013).

L'action pronociceptive du LC au niveau de la moelle pourrait impliquer également la glie, et particulièrement les astrocytes. Ceux-ci participent à l'intégration du signal nociceptif et ont notamment été impliqués dans l'allodynie (Miraucourt et al., 2011). Chez la souris, suite à l'injection intraplantaire de formaline, la contribution des astrocytes à cette douleur est médiée par la NA issue du LC qui va notamment permettre l'élévation de calcium dans les astrocytes en activant les AR_{alpha-1} (particulièrement le sous-type α , Kawanabe et al., 2021). L'activation ciblée de ces récepteurs situés sur les astrocytes suffit à déclencher une hyperalgésie chez la souris (Kohro et al., 2020). Au regard de ce que nous avons décrit précédemment sur l'implication des astrocytes dans la migraine, on peut émettre l'hypothèse que le LC pourrait avoir le même effet sur les astrocytes corticaux.

Ainsi l'implication du système noradrénergique n'est pas claire dans la douleur chronique, mais il semble se dégager des différentes études qu'il devient moins efficace pour inhiber la douleur induite par les stimulations nociceptives et qu'il pourrait même devenir pronociceptif, jouant ainsi un rôle dans le maintien de la douleur chronique.

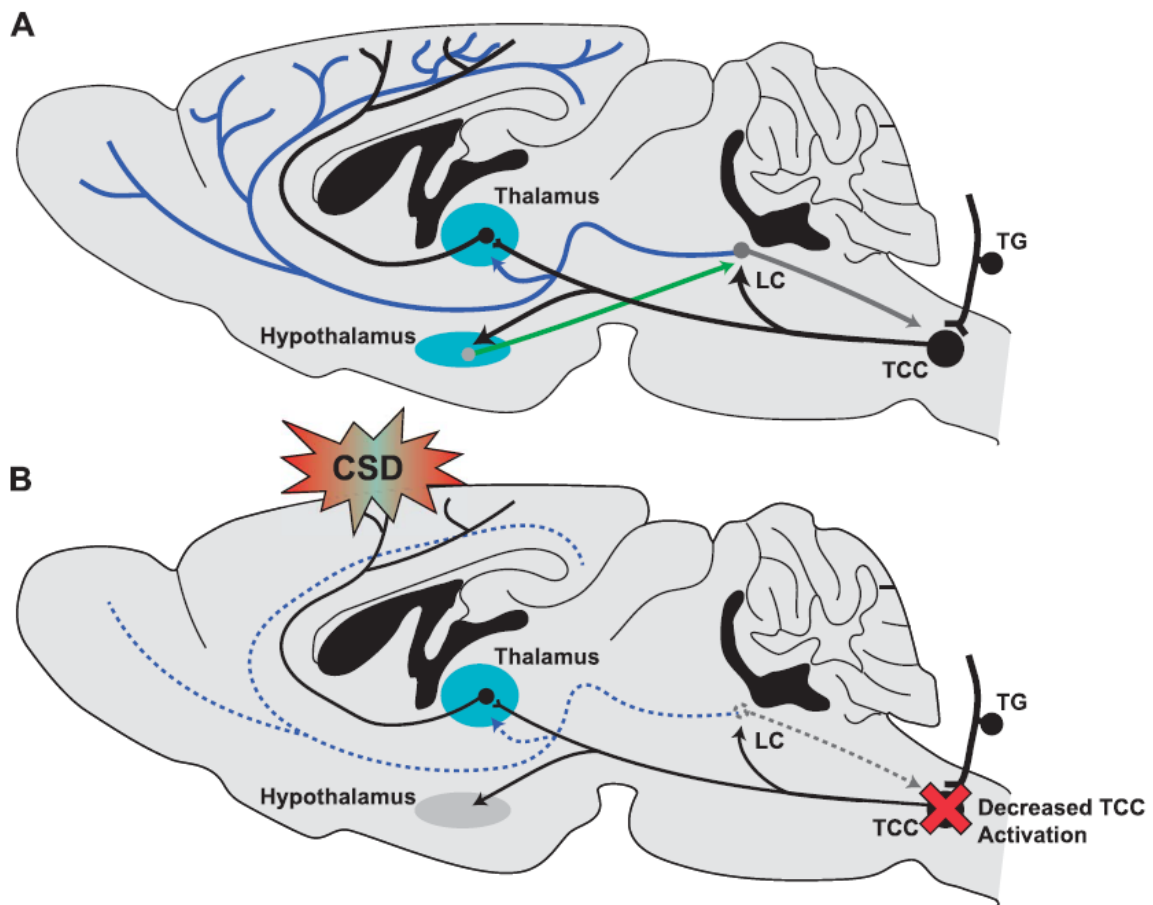


Figure 14 : Représentation des influences du LC dans la pathophysiologie de la migraine décrites par Vila-Pueyo et al.. (A) Les signaux nociceptifs des méninges sont transmis au système nerveux central via le ganglion trigéminal (TG) jusqu'au CTC (TCC). Les voies ascendantes transmettent les signaux jusqu'au thalamus et au LC (via le PGI). Pendant l'éveil, le LC reçoit des projections excitatrices de l'hypothalamus (flèche verte), et en retour projette de manière descendante vers le CTC (flèche grise) et de manière ascendante vers le thalamus et le cortex (flèches bleues). (B) La destruction du LC inhibe les signaux nociceptifs au niveau du CTC tout en augmentant la susceptibilité à la DCE (CSD) (Vila-Pueyo et al., 2019).

II. Le LC dans la migraine

Peu d'études se sont intéressées à l'implication directe du LC dans la physiopathologie de la migraine. Pourtant, chez l'Homme, la région du tegmentum pontique dorso-latéral contenant le LC, présente une hausse de son activité, que ce soit avant la crise (Maniyar et al., 2014) ou pendant la crise migraineuse (Afridi et al., 2005). Toujours chez l'Homme, l'étude du phénotype des neurones NA du LC a montré la présence de CGRP et de PACAP à la fois dans les corps cellulaires et dans les vésicules contenant la NA (Tajti et al., 2001). Or ces 2 peptides ont été impliqués dans la physiopathologie de la migraine. Par ailleurs, les antidépresseurs ou les bêta-bloquants, utilisés comme traitements de fond dans la migraine, ont aussi une action connue sur les voies noradrénergiques. De plus les études de modèles animaux ont montré que les antidépresseurs modulent l'activité du LC (Alba-Delgado et al., 2012), et que le propranolol, injecté directement dans le LC, permet de diminuer l'allodynie provoquée par une activation répétée des nocicepteurs méningés (Signoret-Genest et al., soumis). Une étude de Vila-Pueyo et al. (2019, Figure 14) montre que le rôle du LC dans la physiopathologie de la migraine est complexe. En effet une lésion du LC chez le rat diminue l'activité évoquée des neurones du CTC, par une stimulation méningée. Pourtant cette même lésion augmente la susceptibilité du cortex à déclencher des DCE (Vila-Pueyo et al., 2019). L'innervation noradrénergique du LC limiterait donc l'hyperexcitabilité corticale génératrice de DCE (Vila-Pueyo et al., 2019) dans des conditions physiologiques. Au niveau cortical, l'activité noradrénergique semble jouer un rôle dans l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique (Giorgi et al., 2020) et dans la vasomotricité des artérioles intracérébrales ainsi que des vaisseaux pie-mèriens perforants. En effet, les terminaisons noradrénergiques établissent des contacts directement sur les vaisseaux intracérébraux ou bien indirectement en interagissant avec les astrocytes qui participent à la barrière hémato-encéphalique (Paspalas & Papadopoulos, 1996). Chez l'animal, la stimulation du LC induirait une réduction de débit sanguin cérébral (Goadsby et al., 1982 ; Katayama et al., 1981) particulièrement dans le cortex occipital (Goadsby et al., 1985), lorsque cette stimulation se fait à basse fréquence (Goadsby & Duckworth, 1989). Cependant des études plus récentes montrent que la stimulation des neurones du LC provoquerait une augmentation du débit sanguin cortical (Toussay et al., 2013). Ainsi le LC pourrait jouer un rôle à plusieurs niveaux dans la physiopathologie de la migraine, grâce à son rôle dans la modulation de la douleur au niveau du CTC, mais aussi grâce à des connexions importantes au niveau cortical qui semblent importante pour la vasomotricité et l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique.

Enfin, étant donné le rôle du LC dans l'éveil et la vigilance, il a été émis l'hypothèse que le LC serait impliqué dans la fatigue, qui est à la fois un facteur déclencheur, un prodrome et un remède de la migraine (Kelman, 2007). En effet, rappelons que l'activité du LC est quasi-nulle lors du sommeil (Hayat et al., 2020) : cette théorie stipule donc que la fatigue serait issue d'une baisse d'activité basal du LC, afin de normaliser sa suractivation pendant la migraine.

Partie IV : Différences sexuelles dans la douleur

La sensation de douleur n'est pas égale chez tous les individus. Elle évolue avec l'âge (avec une diminution progressive de la sensibilité au cours du temps, El Tumi, et al., 2017), elle diffère selon l'ethnie (les populations afro-américaines semblent avoir une plus grande sensibilité, Forsythe et al., 2011) ou encore le sexe (Racine et al., 2012 ; Mogil, 2020). Depuis maintenant une dizaine d'année, un nombre croissant d'études cliniques et pré-cliniques fait état de différences importantes face à la douleur, entre hommes et femmes, selon le sexe des modèles expérimentaux ou encore selon l'état hormonal des individus. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à ces différentes études (chez l'Homme puis chez l'animal) dans un contexte général de douleur, puis dans le cas particulier de la migraine.

I. Généralités

1) Prévalence et perception de la douleur selon le sexe

Il est généralement admis que pour certaines pathologies et selon le site corporel étudié, la prévalence et la sévérité de la douleur sont différentes entre les hommes et les femmes. Une prévalence féminine a notamment été observée dans les douleurs musculo-squelettiques, comme celles touchant les articulations : l'ostéoarthrite du genou (13,6% chez les femmes contre 10,1% chez les hommes) et des hanches (9,6% versus 3,9%), l'ostéoporose (9,9% versus 1,9%) ou encore la fibromyalgie (2,1% versus 0,2%) (Picavet, 2003). L'arthrite rhumatoïde est également à prédominance féminine avec une prévalence presque trois fois plus élevée chez la femme que chez l'homme (Hunter et al., 2017) et une intensité douloureuse plus importante (Barnabe et al., 2012). On retrouve aussi certaines douleurs musculo-squelettiques telles que le mal de dos ou des épaules, qui vont toucher plus sévèrement les femmes avec des comorbidités plus importantes comme le stress ou un état dépressif (Bingefors & Isacson, 2004).

Comme pour les douleurs musculo-squelettiques, les femmes sont aussi globalement plus sujettes aux douleurs abdominales, qu'elles soient dues à des pathologies chroniques, comme lors du syndrome du côlon irritable, ou liées à des symptômes aigus, comme la constipation (Drossman et al., 1993) ou aux douleurs neuropathiques dont la prévalence féminine est de 8% contre 5,7% chez l'homme (Bouhassira et al., 2008).

La perception de la douleur est également liée à de nombreux facteurs, comme les facteurs psychologiques, le stress ou encore l'environnement. Et là encore, un dimorphisme sexuel semble exister. Par exemple la douleur rapportée par les hommes en présence d'une femme est moindre qu'en présence d'un autre homme (Levine & De Simone, 1991).

Même si ces travaux vont dans le sens d'une prévalence féminine à la douleur et une sensibilité augmentée chez la femme, cette différence sexuelle n'est pas si claire dans toutes les études (Racine et al., 2012). Des études cliniques qui utilisent des stimulations exogènes pour tester la sensibilité, ont montré que le seuil à la douleur chez la femme était plus bas mais que cela variait selon le type de stimulus utilisé : une simulation douloureuse thermique ne présentait pas de différence sexuelle alors qu'une stimulation électrique ou une pression en présentait. Parmi les facteurs évoqués pour expliquer cette variabilité, il y a la diversité des tests nociceptifs qui peuvent mobiliser différentes voies de signalisation plus ou moins sujettes à des spécificités sexuelles. La taille des échantillons pourrait aussi être en cause. En effet, Riley et al. en 1998 a évalué la taille minimale requise pour observer une différence de douleur selon le sexe à quarante-et-un individus dans chaque groupe, un nombre peu souvent atteint.

Les modèles animaux permettent également d'étudier les différences potentielles de nociception et/ou d'intégration de la douleur selon le sexe. Comme dans les études cliniques, les résultats obtenus varient selon les modèles (souche animale, animaux intacts ou gonadectomisés...), ou encore les tests utilisés (température des tests thermiques, intensité des tests électriques..., Kuba & Quinones-Jenab 2005 ; Mogil et al., 2000). Par exemple, dans le cas de chocs électriques, la sensibilité est plus élevée chez les femelles (Beatty & Fessler, 1977). Suite à une injection de formaline ou de capsaïcine, les femelles présentent un comportement douloureux plus marqué (Gaumond et al., 2002 & 2005 ; Lu et al., 2009), tandis que l'injection de carragénine provoque une allodynie plus importante chez le mâle (Tall & Crisp, 2004). De la même façon, l'utilisation de tests thermiques a parfois montré une sensibilité nociceptive plus élevée chez les mâles mais a majoritairement échoué à montrer une différence sexuelle chez le rat (Mogil et al., 2000). Des études plus récentes utilisant des modèles de douleur chronique, chez le rat comme la souris, présentent quant à elles une meilleure uniformité des résultats. Par exemple, l'allodynie suite à une constriction du nerf sciatique est plus intense chez la rate (Nicotra et al., 2014). Egalement, dans un modèle murin de sclérose multiple, seule la femelle présente des signes de douleurs neuropathiques (Rahn et al., 2014) ou encore, dans un modèle de cancer osseux

chez la souris, la femelle montre un comportement douloureux plusieurs jours avant le mâle, bien qu'aucune différence sur la gravité de la pathologie ne soit détectée (Falk et al., 2013). Enfin, une lésion musculaire répétée chez la souris induit une hyperalgésie plus longue chez la femelle que chez le mâle (Gregory et al., 2013). Malgré les controverses, la sensibilisation du système nociceptif des femelles semble être plus rapide et plus durable que chez le mâle.

2) Efficacité des traitements à la douleur selon le sexe

De nombreuses études se sont intéressées à la différence d'efficacité de traitements chez l'homme par rapport à la femme, notamment l'efficacité des opioïdes comme la morphine (Fillingim & Gear., 2004 ; Craft, 2003 ; Berkley et al., 2006). Même si Cepeda & Carr (2003) ont montré que les femmes avaient une douleur plus intense suite à une chirurgie, et avaient besoin d'une quantité de morphine supérieure de 30% pour atteindre un niveau d'analgésie similaire aux hommes, toutes les études ne vont pas dans ce sens. Par exemple, dans le cadre d'une douleur chronique venant d'un cancer et traitée par la morphine, aucune différence sexuelle n'a pu être constatée (Kaiko et al., 1983) (les douleurs cancéreuses faisant partie des douleurs dont l'intensité rapportée ne varie pas selon le sexe). De la même façon, le traitement de sujets sains avec un analgésique opioïde, la pentazocine, n'a montré aucune différence d'analgésie entre les hommes et les femmes (Fillingim et al., 2004). Il a même été rapporté que les patientes d'un hôpital consommaient moins de morphine suite à une opération chirurgicale, pour une analgésie similaire aux hommes (Chia et al., 2002). Une méta-analyse semble néanmoins pencher vers une efficacité supérieure de la morphine chez la femme par rapport à l'homme (Niesters et al., 2010).

Chez le rongeur aussi il existe une variabilité d'efficacité de la morphine selon le sexe (Mogil et al., 2000 ; Craft, 2003). A l'inverse de l'homme, les opioïdes seraient plus efficaces chez les rats mâles, et ce quel que soit la souche ou le pouvoir analgésique des molécules (Terner et al., 2002). D'un point de vue mécanistique, plusieurs causes pourraient expliquer cette différence de sensibilité aux opioïdes comme la plus grande quantité de récepteurs aux opioïdes μ dans le tronc cérébral chez les mâles et notamment dans la PAG (Loyd et al., 2007), ou l'implication des récepteurs « Toll-like receptor 4 » (TLR4) sur les cellules microgliales de la PAG femelle (Doyle et al., 2017 ; Averitt et al., 2019). L'utilisation d'une combinaison de molécules associée à la morphine a également permis de mettre en évidence un dimorphisme sexuel de réponse au traitement. Par exemple, l'ajout d'un antagoniste des opiacés augmente l'analgésie morphinique chez la femelle et la diminue chez le mâle (Hamann et al., 2004). De même, l'ajout d'antagonistes aux récepteurs NMDA potentialise l'analgésie d'une faible dose de morphine et réduit celle d'une forte dose chez le mâle et non chez la femelle (Nemmani et al. 2004).

Au-delà des morphiniques, d'autres traitements semblent avoir une différence d'efficacité selon le sexe. C'est le cas de la fluoxétine, un antidépresseur inhibiteur de la recapture de la 5-HT, qui réduit drastiquement la douleur lors d'un test à la formaline chez la souris femelle. Cet effet sexe-dépendant serait lié à une surexpression du récepteur mGlu2 et une sous-expression de l'enzyme HDAC2 (Zammataro et al., 2017). De même, bien que son mode d'action ne soit pas connu, la cérébrolysine, un cocktail de peptides dérivé du cerveau porcin, est capable de supprimer l'allodynie due à une inflammation périphérique. Dans le cas d'une inflammation déclenchée par une injection de carraghénines, cette rémission n'est constatée que chez la femelle rat (Morales-Medina et al., 2019).

Protein	Type	Type of evidence	Measure	Sex difference reported
Brain				
Dopamine D1 receptor	GPCR	Pharmacology	Formalin test	F only
Dopamine D3 receptor	GPCR	KO	Formalin test	F only
GABA _A receptor (delta)	Ionotropic receptor	Electrophysiology, pharmacology	CFA-induced current; PW	F only
Melanocortin-1 receptor	GPCR	KO, pharmacology	κ-Opioid analgesia	F only ^a
NMDA receptor	Ionotropic receptor	Pharmacology	Stress analgesia; κ-opioid analgesia	M only
Vasopressin V1A receptor	Peptide	KO, pharmacology	Formalin test; capsaicin	M only ^a
Spinal cord				
Angiotensin IV	Peptide	Pharmacology	PSNL-induced pain hypersensitivity	M only
Dopamine D5 receptor	GPCR	KO, pharmacology	Formalin test; BDNF-induced priming	M only
LVV-haemorphin 7	Peptide	Pharmacology	PSNL-induced pain hypersensitivity	M only
Oxytocin	Peptide	Pharmacology	PSNL-induced pain hypersensitivity	M only
PKC ν /λ	Kinase	Pharmacology	Multiple	M only
PKMζ	Kinase	KO, pharmacology	Multiple	M only
PMCA2	Transporter	KO	Multiple	F only
Prolactin (and receptor)	Peptide	KO	Incision-induced pain hypersensitivity	F only
T cells				
PPAR α	Transcription factor	Pharmacology	SNI-induced pain hypersensitivity	M only
PPAR γ	Transcription factor	Pharmacology	SNI-induced pain hypersensitivity	F only
Microglia				
Caspase 6	Protease	KO, pharmacology	CCI-induced pain hypersensitivity	M only
P2X4	Purinoreceptor	Pharmacology	SNI-induced pain hypersensitivity	M only
p38	Kinase	Pharmacology	SNI-induced pain hypersensitivity	M only
Toll-like receptor 4	DAMP	KO, pharmacology	Multiple pain hypersensitivity	M only
Macrophages				
Toll-like receptor 9	DAMP	KO, pharmacology	Paclitaxel-induced pain hypersensitivity	M only
Periphery				
PKC δ	Kinase	Pharmacology	STZ-induced pain hypersensitivity	F only
PKC ϵ	Kinase	Pharmacology	PGE ₂ -induced priming	M only
Ryanodine receptor	Ca ²⁺ channel	Pharmacology	Ryanodine-induced priming	F only ^b
Serotonin 1B receptor	GPCR	Pharmacology	Sumatriptan-induced pain hypersensitivity	M only
Serotonin 1D receptor	GPCR	Pharmacology	Sumatriptan-induced pain hypersensitivity	F only

Tableau 4 : Tableau regroupant les protéines avec un rôle sexe-dépendant dans l'intégration de la douleur. Le terme « pain hypersensitivity » regroupe l'allodynie et l'hyperalgésie. Les études pharmacologiques ont utilisé un agoniste et un antagoniste des récepteurs concernés. GPCR : Récepteur couplé à une protéine G, KO : Test comportemental d'un animal transgénique, PW : Test de retrait de la patte suite à une stimulation thermique radiante, PSNL : Ligation partielle du nerf sciatique, BDNF : Facteur neurotrophique issu du cerveau, SNI : Lésion partielle d'un nerf, CCL : Constriction chronique d'un nerf, DAMP : Motifs moléculaires associés aux dégâts, STZ : Streptozotocine, PGE₂ : Prostaglandine E₂, M : Mâles, F : Femelles (Mogil, 2020).

3) Mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués

Depuis ces dernières années, de nombreux travaux ont permis de réaliser des avancées importantes quant aux réseaux activés et aux mécanismes cellulaires et moléculaires potentiellement impliqués dans ces divergences sexuelles (Tableau n°4, Mogil, 2020). Par exemple, au niveau supraspinal, un nouveau circuit de la douleur lié au sexe a été mis en évidence : ce circuit implique les neurones dopaminergiques du raphe dorsal et de la PAG ventrolatérale qui projettent sur le noyau du lit de la strie terminale, et régulent de manière différente le comportement chez le mâle et la femelle souris. En effet, l'activation des projections dopaminergiques diminue la sensibilité douloureuse en condition normale et pathologique (lors d'une inflammation) uniquement chez le mâle, tandis qu'elle favorise l'activité locomotrice chez la femelle (Yu et al., 2021). Au niveau spinal, la microglie, et particulièrement son récepteur P2X4 est nécessaire au développement de l'allodynie chez le mâle : en effet, le blocage de ce récepteur réduit fortement l'allodynie, un phénomène absent chez la femelle (Sorge et al., 2015). Toujours dans la microglie spinale, l'activation de la MAP-kinase p38 lors de la douleur neuropathique n'a lieu que chez le mâle (Taves et al., 2016). Il est à noter que les cellules microgliales spinales sont en nombre inférieur chez la femelle, et que l'inhibition desdites cellules supprime l'hypersensibilité post-inflammatoire uniquement chez le mâle (Fernandez-Zafra et al., 2019). Les cellules immunitaires semblent également jouer un rôle important dans les différences de douleur selon le sexe. Chez la femelle, le recrutement de cellules immunitaires lors de l'inflammation, notamment les cellules Th17, est beaucoup plus important (Noor et al., 2019). L'expression de certains gènes dans les ganglions des racines dorsales peut varier lors d'une douleur chronique neuropathique : chez le rat, l'expression de 2310 gènes est modifiée spécifiquement chez le mâle pour 303 chez la femelle (Stephens et al., 2019). Ces données sont bien sûr non exhaustives et ne rapportent que quelques cas avec des conditions expérimentales précises et il semble que de nombreuses autres protéines soient impliqués dans les différences de sensibilité liées au sexe (Tableau n°4, Mogil, 2020).

4) Importance des hormones sexuelles dans la douleur

Une autre hypothèse qui pourrait expliquer ces différences chez l'homme et la femme de sensibilité à la douleur ou aux traitements, serait l'implication des hormones sexuelles. Il existe plusieurs types d'hormones sexuelles chez l'Homme comme l'estradiol ou la testostérone dont la quantité va varier selon le sexe et au cours du temps (White & Porterfield, 2013, Figure 15).

Chez les femmes, de nombreuses études ont montré que la douleur était corrélée au cycle hormonal (Herren, 1933 ; Martin, 2009). Schématiquement le cycle hormonal comprend deux phases : la phase folliculaire qui correspond à la croissance d'un ovocyte jusqu'à l'ovulation et qui contient entre autres les pics de progestérone et d'estrogènes (estradiol, estriol et estrone), et la phase lutéale qui se situe

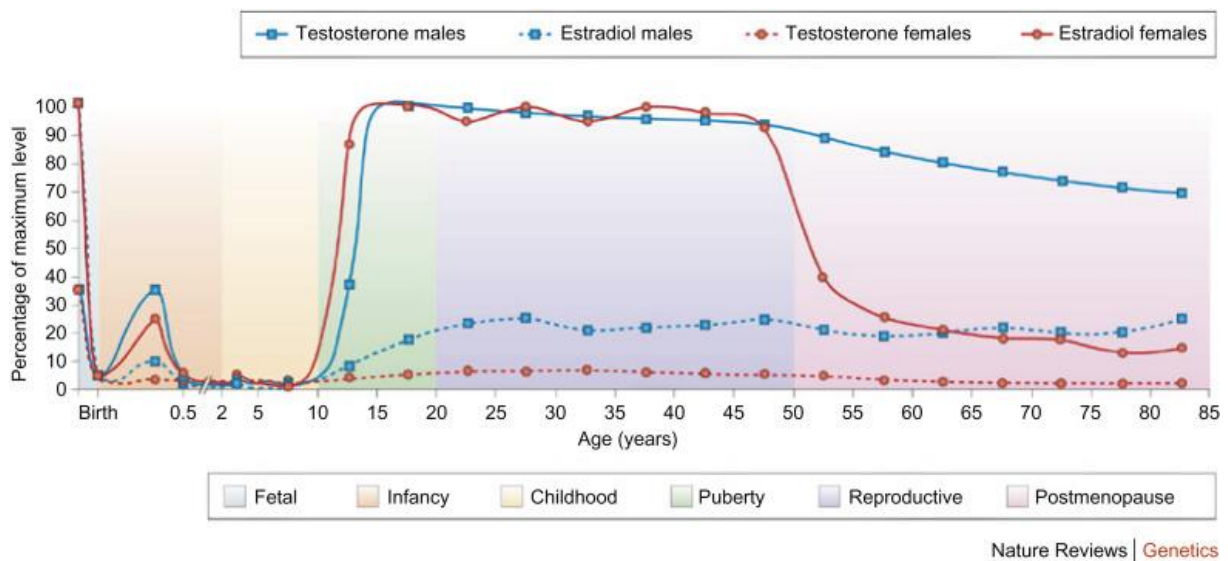


Figure 15 : Variations du niveau d’hormones stéroïdiennes chez l’homme et la femme au cours de la vie, représentées en pourcentages du niveau maximum. Ce graphique ne représente que la testostérone (hormone masculine représentative) et l’estradiol (hormone féminine représentative). Pour l’estradiol féminin, le niveau représenté est celui du milieu de la phase folliculaire, et ne prends donc pas en compte les variations mensuelles. Les variations quotidiennes des deux hormones ne sont pas prises en compte. Chaque hormone représentative du sexe est massivement synthétisée au début de la puberté puis diminue à la fin de l’âge reproductif (Ober et al., 2008).

après l'ovulation et présente un taux d'hormones bas (Figure 16 A). Même s'il n'existe pas de consensus quant aux cycles où le seuil de douleur est le plus élevé (Iacovides et al., 2015), dans de nombreux cas les phases menstruelles et prémenstruelles ou lors de l'ovulation sont souvent les phases où les femmes constatent une douleur plus importante (Herren, 1933 ; Riley et al., 1999 ; Leresche et al., 2003 ; Hellstrom & Anderberg, 2003 ; Long et al., 2017).

Bien que la plus grande partie des articles traitant des différences sexuelles de la douleur mettent en lumière les hormones féminines comme les estrogènes (Iacovides et al., 2015), la testostérone, hormone exprimée en plus grande quantité chez l'homme, possède également une action sexe-spécifique sur la douleur. Par exemple, dans une étude s'intéressant aux douleurs musculaires d'ouvrières scandinaves, les travailleuses les plus souffrantes possédaient un taux de testostérone très bas (Kaergaard et al., 2000). Ou encore, une stimulation nociceptive thermique chez des femmes possédant un taux de testostérone élevé va provoquer une activation plus importante de la RVM (observée en imagerie cérébrale) et un seuil de sensibilité plus élevé (Vincent et al., 2013).

Chez le rongeur, des études ont également mis en évidence l'influence des hormones dans la sensibilité douloureuse, bien que à l'instar des études chez l'Homme, elles s'intéressent le plus souvent aux estrogènes, ou en tous cas au cycle hormonal féminin. En effet, même si le cycle hormonal des femelles rongeurs ne dure que 4 à 5 jours, il est également composé de plusieurs phases qui comprennent des changements importants de concentration d'hormones sexuelles (Becker et al., 2005, Figure 16 B).

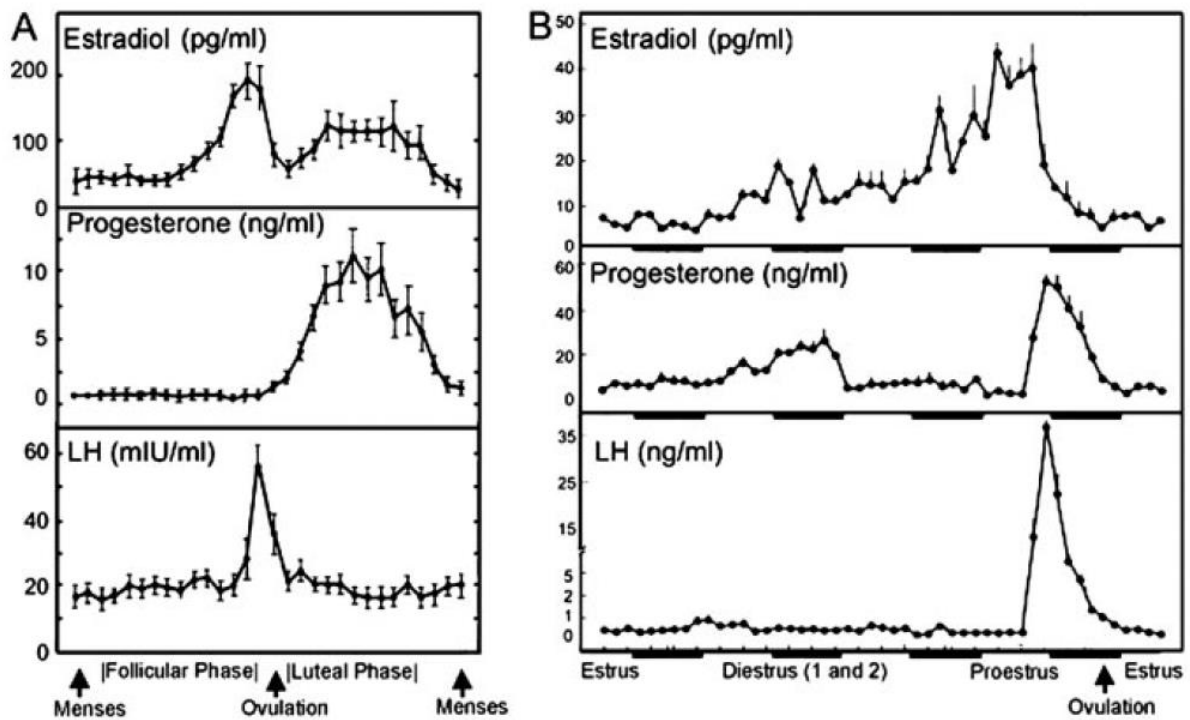


Figure 16 : Niveaux d'estradiol, de progestérone et d'hormone lutéinisante (LH) au cours du cycle hormonal chez la femme (A) et la rate (B). L'axe des abscisses (temps) est en jours (30) pour (A) et en heures (96), les barres noires en (B) représentent les périodes de nuit des animaux. L'hormone lutéinisante est souvent associée aux autres hormones par son importance dans le déclenchement de l'ovulation et son activité facilitant la synthèse d'hormones sexuelles, notamment lors de la grossesse. Les auteurs considèrent que la phase folliculaire est analogue aux phases de diestrus (Becker et al., 2005).

On retrouve également chez le rongeur une modulation de l'analgésie par les opioïdes différente selon la phase hormonale. En effet, l'action des opioïdes est plus efficace lors des phases de métestrus, diestrus et proestrus, par rapport à l'estrus (Craft et al., 2003 ; Terner et al., 2005 ; Stoffel et al., 2003).

On retrouve :

- La phase proestrus avec un premier pic de concentration d'estradiol qui arrive en début de phase, tandis qu'un pic de progestérone et d'hormone lutéinisante est observé en fin de phase.
- La phase estrus (correspondant à l'ovulation), où l'estradiol et la progestérone sont en faible quantité.
- La phase métestrus (ou diestrus 1) où l'estradiol augmente légèrement puis diminue, tandis qu'une légère augmentation de progestérone est observée en fin de phase métestrus.
- La phase diestrus (ou diestrus 2) où la concentration d'estradiol augmente graduellement et une seconde augmentation de progestérone est observée au milieu de phase.

Comme chez l'homme, la sensibilité nociceptive chez la rate semble liée au cycle hormonal. En effet, un pic de sensibilité peut être observé lors de la phase proestrus et au début de la phase d'estrus (Fillingim & Ness, 2000 ; Tall & Crips, 2004).

La testostérone semble également influencer différemment le comportement douloureux chez le mâle et la femelle. Par exemple, une injection de formaline chez le rat va provoquer un comportement de léchage plus fréquent chez la femelle et le ramener au niveau du mâle suite à un traitement de testostérone (Aloisi et al., 2004). Cet effet impliquerait différents acteurs du système immunitaire comme des lymphocytes T et les récepteurs TLR4 principalement localisés dans la microglie (Sorge et al., 2011 & 2015).

En plus de l'analgésie liée au cycle hormonal, les types de récepteurs activés semblent jouer un rôle important. En effet, dans une étude très complète de 2005, Stoffel et al. ont mesuré l'analgésie produite par des agonistes des récepteurs aux opioïdes mu, delta et kappa chez des rats et rates gonadectomisés (ou non) recevant (ou non) des hormones (testostérone pour les mâles, estradiol et/ou progestérone pour les femelles). Ils ont montré que l'activation des récepteurs mu et kappa était plus efficace chez le mâle, tandis que l'activation des récepteurs delta était plus efficace chez la femelle. A l'inverse, dans un modèle d'inflammation de l'articulation temporomandibulaire chez le rat, la douleur induite était plus intense chez les femelles en phase diestrus, et l'analgésie médiée par l'activation des récepteurs kappa plus efficace dans ce même groupe (Clemente et al., 2004). Ces résultats démontrent une hétérogénéité d'effet en fonction du type de récepteur aux opioïdes activé, du cycle hormonal et du modèle étudié.

L'importance du cycle hormonal dans la sensibilité douloureuse semble indiscutable, cependant, émettre un précepte général sur un potentiel rôle pro ou anti-nociceptif de telle ou telle hormone

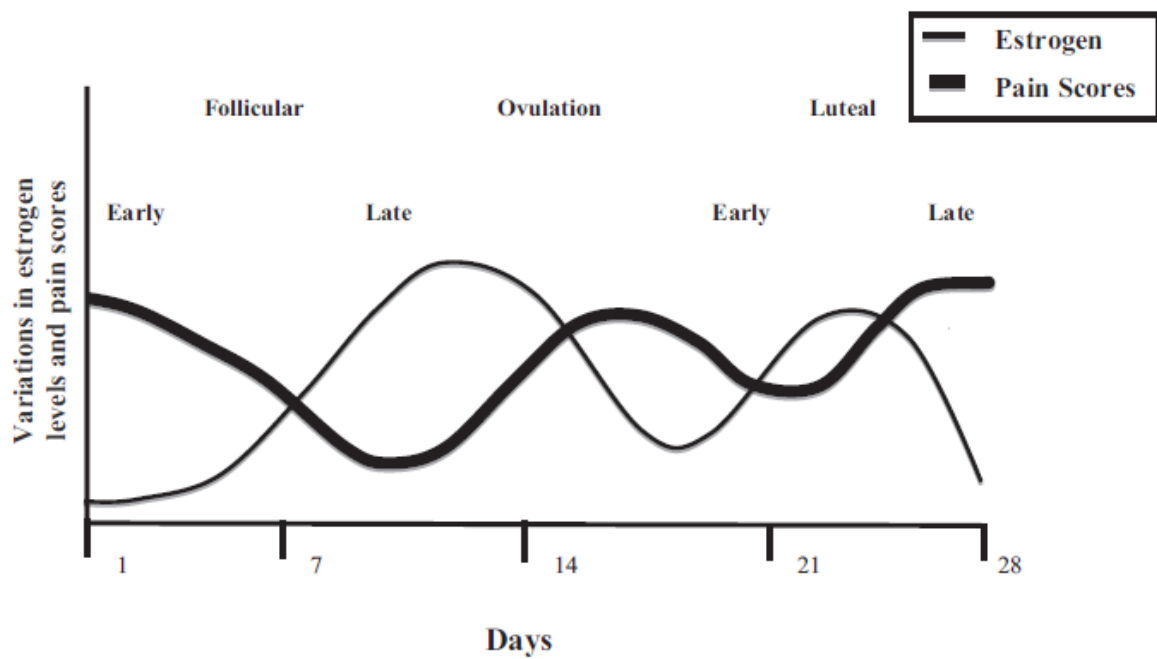


Figure 17 : Graphique décrivant les changements d'intensité douloureuse chez la femme en fonction de la variation cyclique des estrogènes, basée sur une revue de la littérature. Cette littérature s'est concentrée sur les douleurs chroniques non cancéreuses, et démontre l'existence d'un consensus sur l'impact des variations hormonales dans la douleur chez la femme (Hassan et al., 2014).

n'est pas chose aisée. Par exemple, même si une injection d'estradiol chez des rats en situation neuropathique peut être liée à une action anti-douloureuse (Lee et al., 2018), le fait que l'injection d'estradiol sur des rates ovariectomisées diminue l'analgésie médiée par la morphine lors d'une distension colorectale (Ji et al., 2007), suggère parfois un rôle plutôt pro-douloureux de l'estradiol. L'action des hormones, semble donc aussi dépendre du modèle, de la stimulation nociceptive et ne présente pas toujours de cohérence dans les études sur des femelles ayant un cycle hormonal naturel et lors d'injection d'estrogènes chez les femelles ovariectomisées. Il a d'ailleurs récemment été suggéré que la fluctuation du niveau d'hormones serait plus importante que le niveau en lui-même (Zhang et al., 2020 b, Figure 17).

II. Dymorphisme sexuel dans un contexte de migraine

1) La migraine et les femmes

Comme nous l'avons vu dans la première partie de cette thèse, la migraine fait partie des douleurs chroniques dont une des caractéristiques majeures est sa prévalence chez la femme, avec une incidence deux fois supérieure à celle des hommes (Burch et al., 2021), des crises plus longues et des symptômes liés (nausées, photophobie et phonophobie) plus importants (Bolay et al., 2014). De plus, il est admis que les crises de migraine surviennent plus fréquemment lors des menstruations (MacGregor & Hackshaw, 2004 ; Stewart et al., 2000), se raréfient lors de la grossesse (Maggioni et al., 1997) et tendent à disparaître après la ménopause (Victor et al., 2010). Dans tous les cas, ces phases correspondent à une modification du taux d'hormones. De plus, le fait que le maintien d'un taux fixe d'estrogènes grâce à l'utilisation de contraceptifs oraux modifie l'incidence de la migraine (Silberstein et al., 1993) et que les migraineuses aient une chute des estrogènes à la fin de la phase lutéale plus rapide que les non migraineuses (Pavlovic et al., 2016), montre qu'en plus d'une différence sexuelle homme/femme dans la prévalence de la migraine, il y a une très forte implication des hormones féminines (notamment les estrogènes) dans le déclenchement de la migraine (Figure 18). Une fois ce constat fait, une des questions qui se pose est d'identifier les mécanismes cellulaires qui contribuent à ces différences.

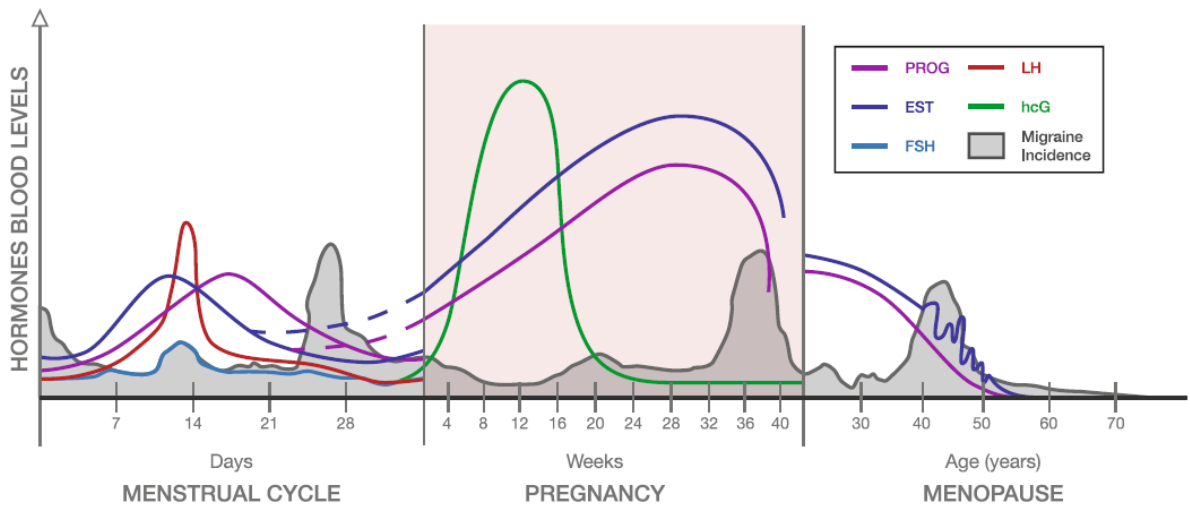


Figure 18 : Graphique représentant les changements hormonaux et l'incidence de la migraine sans aura chez la femme, au cours du cycle menstruel, de la grossesse et de la ménopause. Les hormones représentées sont la progestérone (PROG), l'œstrogène (EST), la LH et la FSH (Hormone folliculo-stimulante qui stimule la croissance des follicules ovariens, la synthèse d'hormone et favorise la fécondation) ainsi que la HCG (Gonadotropine chorionique humaine qui stimule la synthèse d'hormones pendant la grossesse et inhibe la LH et la FSH). On peut remarquer que les pics d'incidence de la migraine sont corrélés avec la chute concomitante de l'œstrogène et de la progestérone quelle que soit la période considérée (Sacco et al., 2012).

Une des hypothèses qui a été émise dans plusieurs études serait un dimorphisme sexuel des régions du système nerveux périphérique et central, impliquées dans la physiopathologie de la migraine. Dans les chapitres précédents, nous avons vu que de multiples régions supraspinales étaient liées aux crises de migraine (comme le thalamus, la RVM, la PAG, ou encore le CST et le LC...), mais pour contextualiser cette introduction dans le cadre de notre projet, nous nous intéresserons à deux régions spécifiques : le STV et le LC.

2) Dimorphisme sexuel dans le complexe trigemino-vasculaire

Le STV fait partie des structures fondamentales impliquées dans la physiopathologie de la migraine : or, les différentes structures qui le composent, et notamment le ganglion trigéminal avec ses neurones nociceptifs/non nociceptifs à la périphérie et le CTC au niveau central, vont présenter un certain nombre de différences sexuelles.

a) Génétique

Le fonctionnement du STV est régulé par de nombreux facteurs. Parmi ces facteurs, certains vont être exprimés différemment selon le sexe en condition physiologique et/ou en condition pathologique. Tout d'abord, en condition physiologique chez la souris, des différences importantes d'expression génique sont observées entre la femelle (au stade estrus) et le mâle, dans le ganglion du nerf trijumeau. La femelle va en effet exprimer plus de gènes que le mâle et ces gènes vont être liés à la régulation de la nociception, à l'inflammation, ou encore à l'excitabilité neuronale (Mecklenburg et al., 2020). Certains canaux potassiques spécifiques, comme les canaux K-ATP de type Kir.2, vont être exprimés en quantité plus importante chez le mâle que chez la femelle (Niu et al., 2011). Pour les gènes qui ne montrent aucune différence selon le sexe en condition physiologique, des différences peuvent survenir en condition pathologique. Par exemple lors de la constriction du nerf infraorbitaire, la lésion va augmenter l'expression de certains gènes chez le mâle et d'autres gènes chez la femelle, ou alors va provoquer une augmentation de l'expression de certains gènes plus importante chez la femelle (ou chez le mâle). Parmi les gènes surexprimés chez la femelle, 92% sont impliqués dans la modulation de la réponse à la douleur, et notamment ceux qui ont un rôle dans les processus inflammatoires (Korczeniewska et al., 2018). Dans un autre contexte, une inflammation périphérique (par le CFA) peut également provoquer dans le ganglion trigéminal une modification de l'expression de certaines protéines qui sera différente selon le sexe : le CGRP va augmenter de manière plus importante chez la souris femelle, alors qu'une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (interleukine 1b, IL6, TNF) et de BDNF sera plus grande chez la souris mâle (Kuzawska et al., 2014).

b) Expression des récepteurs aux estrogènes

Comme dans de nombreuses régions supraspinales impliquées dans la migraine, le système sensoriel trigéminal contient une quantité importante de récepteurs aux estrogènes (ER, Bereiter et al., 2005 ; Warfvinge et al., 2020). Parmi ces récepteurs ER, on retrouve les récepteurs ER α et ER β qui sont des récepteurs nucléaires (Hewitt & Korach, 2018) et un troisième type, les récepteurs aux estrogènes couplés aux protéines G qui sont des récepteurs de membrane (Prossnitz & Hathaway, 2015). Ces trois types sont retrouvés dans le ganglion trigéminal, comme dans les couches superficielles du CTC (Amandusson & Blomqvist, 2010 ; Flores et al., 2003 ; Bereiter et al., 2005 ; Warfvinge et al., 2020). De manière intéressante, les femelles aux stades proestrus et diestrus ont dans la partie caudale du Sp5C une plus grande quantité de neurones qui expriment les récepteurs ER α par rapport aux mâles (Bereiter et al., 2005). Cette variabilité est intéressante car il a été montré à l'aide de souris transgéniques KO pour ER α ou ER β que ces récepteurs semblaient avoir respectivement un effet anti et pronociceptif (Coulombe et al., 2011).

c) Activité neuronale du STV

Les cycles hormonaux sont connus pour affecter l'activité neuronale du STV. Par exemple, une inflammation de l'articulation temporomandibulaire chez le rat provoque une activation des neurones des couches profondes du CTC qui est d'amplitude et de durée différente selon le cycle hormonal. Par exemple, la fréquence de décharge des neurones est bien plus importante chez les femelles en proestrus que chez les femelles en diestrus (Okamoto et al., 2003). De la même façon, une activation des méninges (via l'application de capsaïcine) aux différents stades du cycle hormonal, va provoquer une sensibilisation du STV plus importante chez les rates aux stades proestrus/estrus que diestrus/metestrus avec un élargissement du champ récepteur et une augmentation de la fréquence de décharge des neurones des ganglions et du Sp5C (Martin et al., 2007). Même chez l'homme, une injection de capsaïcine au niveau du front va provoquer un élargissement des champs récepteurs et une augmentation de l'allodynie qui sera non seulement différente selon le sexe (plus importants chez la femme) mais aussi selon le cycle hormonal (plus importants lors de la période menstruelle, Gazerani et al., 2005). D'un point de vue cellulaire, une augmentation d'excitabilité et une baisse du seuil de potentiel d'action des neurones en culture issus des ganglions trigéminaux prélevés chez des femelles aux stades proestrus ou estrus (Saleeon et al., 2015), semblent confirmer l'importance du sexe et du cycle hormonal dans la sensibilisation différentielle du STV.

3) Dimorphisme sexuel dans le LC

Une autre structure dont les différences sexuelles nous intéressent particulièrement est le LC (Figure 19).

a) Génétique

Mulvey et al. (2018) a étudié chez la souris l'expression de nombreux gènes dans différentes régions du tronc cérébral. Dans le cas du Locus, il est apparu que plus d'une centaine de gènes étaient exprimés différemment chez la femelle ou le mâle, que ce soit au niveau basal ou après activation du LC avec du LPS. L'un des gènes ayant attiré leur attention était *PtgER3* (deux fois plus exprimé chez la femelle), encodant le récepteur de la PGE2.

b) Anatomie

Le LC chez le rat adulte (Wistar mais pas Long-Evans) contient entre 2000 et 2600 neurones chez la femelle contre 1600 à 2200 pour le mâle (Guillamón et al., 1988, Garcia-Falgueras et al., 2006). Le volume du LC chez la rate (mais pas chez la souris femelle) est également proportionnellement supérieur au mâle (Guillamón et al., 1988). Cependant, cette différence de volume est générale, et se complexifie lorsque la régionalisation du LC est prise en compte. Ainsi, le LC dorsal, contenant majoritairement des projections ascendantes vers le cortex, est plus large chez le mâle (Babstock et al., 1997), tandis que le volume et le nombre de cellules est plus important dans le LC antérieur des femelles (Luque et al., 1992). La morphologie dendritique des neurones du LC est également différente selon le sexe : les arborisations ventro-médianes des neurones sont bien plus importantes chez la femelle, en longueur comme en nombre de branches (Bangasser et al., 2011). Sachant que la région ventrale du LC est très proche d'une population de neurones GABAergiques projetant sur le LC (Aston-Jones, 2004), les différences sexuelles anatomiques du LC pourraient modifier son propre fonctionnement. Il est à noter que ces différences tendent à disparaître quand les rats sont gonadectomisés à la naissance (le nombre de cellules étant alors le même pour les deux sexes, à un niveau intermédiaire), ce qui démontre un rôle prépondérant des hormones sexuelles dans la formation du LC, qui survient au moins en partie après la naissance (Guillamón et al., 1988).

c) Embryogenèse et développement

Le nombre de neurones chez le rat croît de manière similaire dans les deux sexes jusqu'à la naissance. Après celle-ci, un pic d'apoptose survient chez les mâles, ce qui va temporairement diminuer le nombre de neurones du LC. Ce pic ne semble pas dépendre de la testostérone synthétisée à ce moment puisque le nombre de neurones du LC mâle n'est pas modifié par la castration (Guillamón et al., 1988), alors qu'il a été démontré que des mâles issus d'une souche de rat mutant aux testicules « féminisés »

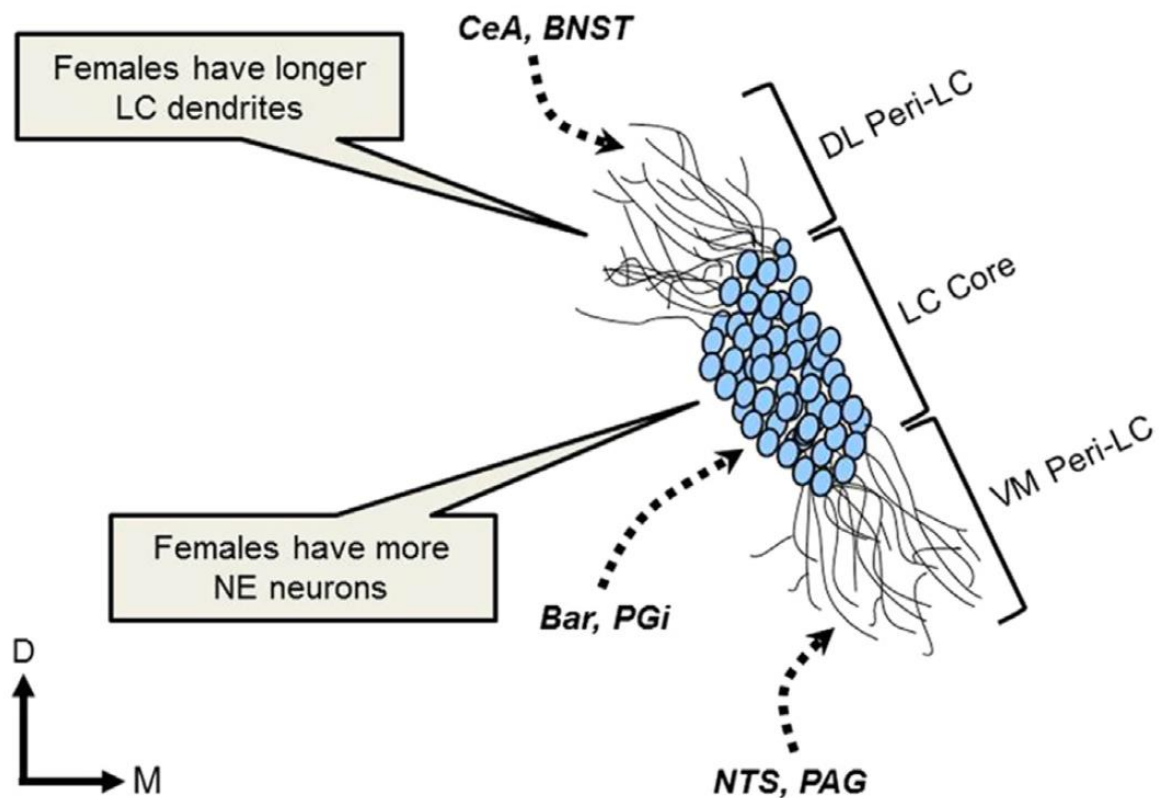


Figure 19 : Schéma représentant le noyau du LC (LC core) ainsi que les régions péri-célulées dorsolatérale (DL Peri-LC) et ventromédiane (VM Peri-LC) chez le rat. Les deux différences sexuelles structurelles majeures sont mentionnées, à savoir les dendrites femelles plus étendues et plus complexes et le plus grand nombre de neurones femelle. Plusieurs afférences du LC pouvant affecter la région péri-LC sont mentionnés : le noyau central de l'amygdale (CeA), le noyau du lit de la strie terminale (BNST), le noyau de Barrington (Bar), le PGI, le noyau du tract solitaire (NTS) et la PAG (Bangasser et al., 2016).

possédaient un LC similaire à celui des femelles (Garcia-Falgueras et al., 2005). La neurogenèse continue jusqu'à la puberté des rats (45 jours), puis stoppe chez les mâles, tandis qu'elle se maintient chez les femelles jusqu'à la soixantième journée, atteignant dans les deux cas le nombre de neurones définitif du LC « adulte », et mettant ainsi en place la plus grande partie du dimorphisme sexuel du LC. L'influence des estrogènes apparaissant à la puberté est nécessaire à la prolongation de la neurogenèse féminine puisque sa suppression maintient le nombre de neurones au niveau masculin (Pinos et al., 2001). Chez la souris, si ce nombre plus élevé de neurones chez la femelle est avérée, la quantité de neurones exprimant la TH, enzyme essentielle à la synthèse de NA, diminue quatre mois après la naissance pour arriver au niveau des mâles, ladite diminution étant médiée par le ER β , sept fois plus présent dans le LC mâle (Pendergast et al., 2008). Toutes ces caractéristiques ne doivent être transposées à l'Homme qu'avec prudence : les données de comptage des neurones du LC humain proviennent majoritairement d'études sur les maladies d'Alzheimer ou de Parkinson, où une dégénérescence du LC est constatée. Ainsi, si certaines de ces études semblent bien indiquer un nombre plus élevé de neurones chez la femme (Ohm et al., 1997 ; Busch et al., 1997), d'autres n'y parviennent pas (Liu et al., 2019).

d) Récepteurs des hormones sexuelles

En plus des différences sexuelles, le LC présente des différences d'expression des récepteurs aux hormones en fonction du cycle. Ainsi, le récepteur aux estrogènes ER α est surexprimé en toute fin de diestrus (comme pour le récepteur à la progestérone), au début de proestrus et à la fin de l'estrus (Helena et al., 2006). Ce récepteur semble être majoritairement responsable de la modulation du LC par les hormones puisque chez le rat, une injection d'estradiol chez la femelle ovariectomisée multiplie par trois la quantité de TH et DBH (toutes deux enzymes de la voie de synthèse de la NA) présente dans le LC. Cet effet n'est pas observé en cas de non-expression du ER α (Serova et al., 2002 & 2004). De plus, un traitement à l'estradiol seul sur des femelles ovariectomisées inhibe l'activation des neurones du LC (observée via l'utilisation du marqueur d'activation neuronale c-Fos et d'enregistrement de l'activité spontanée), tandis que l'action concomitante d'estradiol et de progestérone active les neurones du LC (Szawka et al., 2009). Ces résultats suggèrent l'importance de l'ensemble des hormones dans le dimorphisme sexuel du LC.

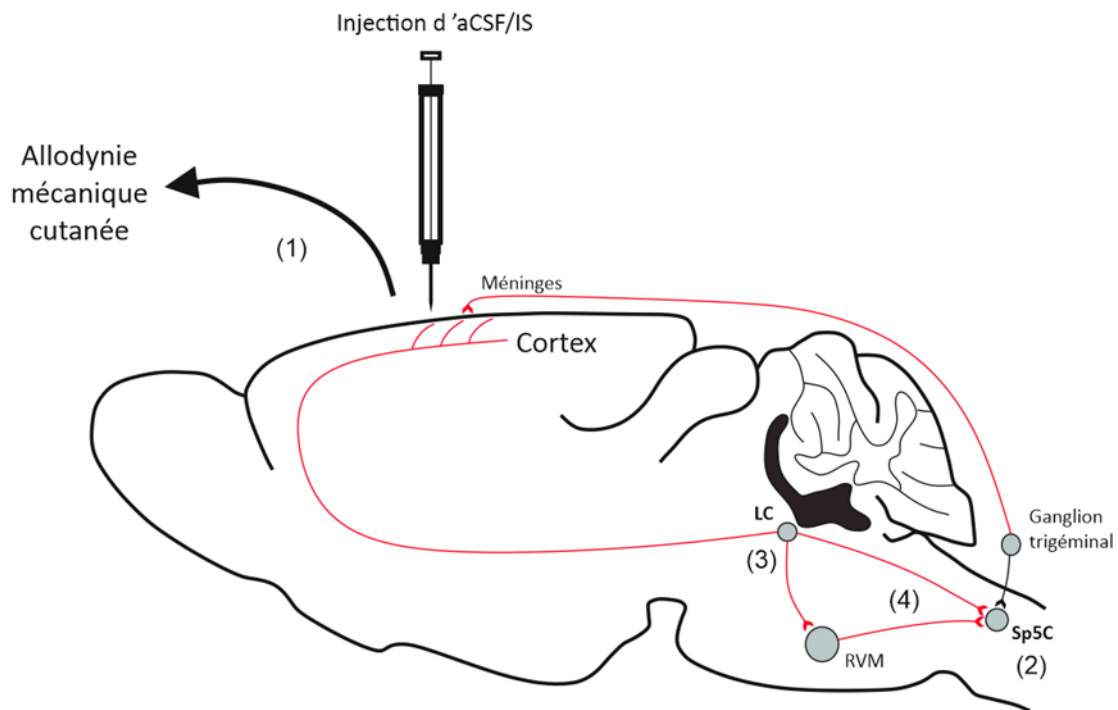


Figure 20 : Représentation schématique de nos objectifs. Suite à une injection d'aCSF (témoin) ou d'IS (traitement), nous avons étudié le développement de l'allodynie mécanique cutanée (1). Nous avons ensuite analysé l'expression de c-Fos au niveau du CTC (2) et du LC (3) après injections d'aCSF ou de soupe inflammatoire (IS). Enfin, des injections de traceurs ont été faites dans le CTC, le LC et les méninges afin d'étudier les afférences/efférences (4, en rouge).

Les deux premières questions ont fait l'objet d'une première publication (article 1) et la troisième question d'une seconde publication (article 2)

Hypothèse de travail et objectifs

Une multitude de mécanismes aux niveaux cellulaires et moléculaires peuvent ainsi expliquer les différences sexuelles dans la douleur, aussi bien en clinique (Picavet, 2003) qu'en pré-clinique (Mogil et al., 2000), et particulièrement dans un contexte de douleur chronique. Ce constat est encore plus vrai pour la migraine, dont la prévalence féminine est très importante (Bolay et al., 2015). D'un point de vue mécanistique, l'intégration de la douleur céphalique passe par le CTC, qui va être lui-même être modulé par différentes régions supraspinales, dont le LC. Ces deux structures vont être particulièrement intéressantes dans notre problématique car elles présentent toutes deux un important dimorphisme sexuel (Guillamón et al., 1988 ; Bereiter et al., 2005).

L'objectif général de notre projet a donc été d'évaluer dans un modèle animal de douleur migraineuse l'importance du sexe et du cycle hormonal dans l'allodynie cutanée et l'activation du CTC et du LC. Nous avons également étudié le réseau par lequel le LC peut moduler l'intégration de la douleur par le CTC

Nous avons tenté de répondre à plusieurs questions :

Dans une étude précédente, l'injection de soupe inflammatoire (IS) sur les méninges chez le mâle a induit une allodynie mécanique cutanée (mesurée à l'aide de filaments de Von Frey), croissante au fur et à mesure des injections (Boyer et al., 2014). **Y a-t-il une différence d'allodynie entre le mâle et la femelle dans notre modèle de migraine ? Que se passe-t-il si l'on dissocie les femelles selon le cycle hormonal ?**

Chez le mâle, la douleur méningée issue des injections est associée à une augmentation d'expression de c-Fos (un marqueur d'activation neuronale) dans le CTC. De plus, la sensibilisation du CTC serait liée à une activation des neurones du LC. (Boyer et al., 2017). **L'activation du CTC et du LC est-elle observée suite aux injections répétées de SI chez la femelle ? Est-elle la même selon le cycle hormonal ?**

Si l'anatomie et le rôle des projections spinales du LC sont bien décrits (Schwarz et al., 2015), l'existence de projections directes du LC vers le CTC ne fait pas l'objet d'un consensus (Couto et al., 2006 ; Kaushal et al., 2016), alors que le CTC est activé par les nocicepteurs méningés et qu'il est influencé par d'autres contrôles inhibiteurs descendants. **Ces projections existent-elles chez le rat ? Si oui, y a-t-il des différences entre les sexes ?** Pour répondre à cette problématique, nous avons injecté des traceurs et virus rétrogrades dans le CTC, et un virus antérograde dans le LC. Nous avons également appliqué un traceur rétrograde sur les méninges afin d'observer son innervation.

Chapitre II :

Articles

Article 1

**Sex and Estrus cycle influence trigeminospinal central
but not Locus Coeruleus sensitization
associated to migraine development in rat**

Sex and Estrus cycle influence trigeminospinal central but not Locus Coeruleus sensitization associated to migraine development in rat

Barnet, M.¹, Descheemaeker, A.¹, Dallel, R.¹, Artola, A.¹, Monconduit, L.^{1*}, Antri, M.^{1*}

Affiliations:

¹ Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Inserm, Neuro-Dol, 63000 Clermont-Ferrand, France

* Correspondence to: Inserm/UCA U1107, Neuro-Dol: Trigeminal pain and migraine, Faculté de Chirurgie Dentaire, 2 rue de Braga, Clermont-Ferrand 63100, France. Tel.: +33 4 73 17 73 13. fax: +33 4 73 17 73 06. E-mail address: myriam.antri@uca.fr (M. Antri); Lenaic.monconduit@uca.fr (L. Monconduit).

To be submitted to Pain

ABSTRACT

Migraine is a chronic neurological disorder whose the incidence is threefold higher in women. Among migraine symptoms, cutaneous allodynia is recognized as a central sensitization signal during migraine attacks. To date, most of studies have been restricted to male animals and little is known about how sex and estrous affect migraine-induced allodynia and central sensitization. Using preclinical behavioral model of migraine, we show that one inflammatory soup (IS) injection produce a reversible cephalic allodynia that becomes persistent upon four repeated IS stimulations in female, as well as in male rats. However, the peak of allodynia following each dural inflammation appeared earlier in females than males. Furthermore, when we dissociate females according to their hormonal cycles, Proestrus/Estrus (P/E) females displayed a higher intensity hypersensitivity than Metestrus/Diestrus (M/D) ones after two IS stimulations. These results clearly illustrate the importance of stratifying data by the stage of the estrous cycle. Using c-Fos immunoreactivity, we also examined the effect of gender and estrous cycle on trigemino-cervical complex (TCC) and Locus Coeruleus (LC)/Sub-coeruleus (SubC) neurons after two repeated-IS injection. Touch-induced c-Fos expression was observed specifically in the V1 region of the most caudal TCC and increased in only P/E females after dural stimulations. We further showed sexual dimorphism of c-Fos expression in LC and surprisingly, LC neurons did not displayed c-Fos over-expression following dural inflammation, neither in males nor in P/E and M/D females. Together, our data demonstrate that the intensity of migraine-induced mechanical allodynia is associated to activation of TCC neurons and depends on the hormonal estrous cycle.

1. Introduction

It is now well known that sex differences exist in chronic pain pathologies (Ruau et al., 2012; Mogil, 2012; Melchior et al., 2016). Clinical studies have demonstrated that in numerous chronic pain conditions women are overrepresented compared with males (Riley et al., 1998; Hurley and Adams, 2008; Fillingim et al., 2009; Vetvik and MacGregor, 2017). Most animal studies have confirmed such clinical evidence (Craft et al., 2004), with female rodents consistently exhibiting lower thresholds to painful stimuli than male ones (LaCroix-Fralish et al., 2006). The overall migraine prevalence, too, is higher in women than in men (Burch et al., 2021). Migraine is a complex neurological disorder, characterized by headache attacks together with sensory symptoms such as cutaneous allodynia (Melhado et al., 2020), pain in response to normally innocuous stimuli. Over the last few years, animal models of migraine have significantly improved our understanding of migraine physiopathology (Haanes and Edvinsson, 2019). Nevertheless, though women are roughly twice as likely as men to suffer from migraine (Racine et al., 2012; Buse et al., 2013; Mogil, 2012), most animal studies have been performed in male (Oshinsky and Gomonchareonsiri, 2007; Edelmayer et al., 2009; Wieseler et al., 2010; Boyer et al., 2014; 2017). The issue of the mechanisms involved in gender disparity has thus been little addressed. Moreover, our understanding of migraine development is further complicated by hormonal cycle in women (Krause et al., 2020). Indeed, pain thresholds to all, but electrical, stimulus modalities vary with the hormonal cycle (Riley et al., 1999): thus the reactivity to evoked pain increases perimenstrually and at mid-cycle (Leresche et al., 2003; Hellstrom and Anderberg, 2003; Long et al., 2017). Fluctuations of estrogen level during the menstrual cycle may also contribute to the development of chronic migraine (Dao and LeResche, 2000; Zhang et al., 2020). However, the sex and hormonal cycle-dependent mechanisms that cause migraine attacks are largely unknown.

A large body of evidence suggests that multiple cortical, subcortical and brainstem areas involved in the regulation of autonomic, affective, cognitive and sensory functions are affected by migraine. Among brainstem structures involved in migraine pathophysiology, is the trigemino-cervical complex (TCC), the first sensory relay for meningeal and cutaneous information (Shankland, 2000). Our group showed that repeated activation of meningeal nociceptors induces cephalic and extracephalic mechanical allodynia together with elevated touch-evoked c-Fos expression in the trigeminal as well as spinal dorsal horn (DH) and TCC neuronal spontaneous activity in male rats (Boyer et al., 2014). Such neuronal activity is

modulated by descending controls of pain (Millan, 2002), projecting from cerebral structures, including the Locus Coeruleus (LC) (Westlund and Coulter, 1980; Fritschly and Grzanna, 1990; Kaushal., et al., 2016), the main source of noradrenaline in the central nervous system (Taylor and Westlund, 2017; Aston-Jones and Waterhouse, 2016), to the TCC and DH. LC projections have been shown to play a crucial role in the sensitization of trigeminovascular neurons within TCC (Boyer et al., 2017).

Interestingly, there are many sex differences in the rodent trigeminal sensory system. For example, there are gender differences in trigeminal ganglion (TG) gene expression in physiological (Mecklenburg et al., 2020) and pathological (Korczeniewska et al., 2018) conditions and in its neurochemical response (CGRP, proinflammatory cytokines, BDNF) to facial inflammation (Kuzawinska et al., 2014). CGRP also displays sexual dimorphism in TCC (Stucky et al., 2011; Ji et al., 2019). Or Likewise, LC neurons, too, exhibit sex differences in gene-expression (Mulvey et al., 2018), at anatomical (Guillamón et al., 1988; Luque et al., 1992; Garcia-Falgueras et al., 2006; Bangasser et al., 2011) as well as cellular levels (Bangasser et al., 2010). Such extensive evidence of sex differences in these brain areas led us to investigate the role of sex and estrous cycle in our model of migraine. In this study, we specifically tested the hypothesis that repeated dural injections of inflammatory soup (IS)-induced mechanical allodynia and TCC and LC physiological changes are sex-dependent. Using the anatomical marker of activity, c-Fos immunohistochemistry, in rats, we assessed the sex and estrous cycle-dependent changes in TCC and LC/SubCoeruleus (SubC) neuronal activation.

2. METHODS

2.1. Animals

Adult male and female Sprague-Dawley rats weighing 150 to 250 g (Charles Rivers, Italy) were housed at 21°C in plastic cages (3 rats by cage, 1 after surgery) on soft bedding with ad libitum water and food, under a 12 h light/dark cycles with lights on at 07:00 AM. Environmental enrichment (tissue paper and cardboard rolls) was provided for nest building and shelter, and transferred with rats when cages were cleaned. All efforts were made to minimize the distress of animals and to assure the well-being of rats. 89 Male and females rats were included in this study. All efforts were made to minimize the number of animals used. Animals were randomized in injections groups before the starting of experiments. All procedures and analysis were performed following ARRIVE (Animals in research: reporting of in vivo

experiments) guidelines. Experiments were in accordance with the ethical guidelines of the IASP (Zimmermann 1983) and of the Directive 2010/63/UE of the European Parliament and the Council and French Decree 2013-118 on the protection of animals used for scientific purposes. Experimental protocols were approved by the local animal experimentation committee CEMEAA (“Comité d’Ethique en Matière d’Expérimentation Animale Auvergne”; N° C2EA-02) and the French Ministry of Higher Education and Research (17432).

2.2. Cannula implantation

As previously described (Boyer et al., 2014; 2017), rat underwent surgery after one week of habituation to the experimenter and the observation room. Animals were anesthetized with 2,5% isoflurane in O₂. Rats were placed in a stereotaxic frame with warming pad. A sufficient depth of anesthesia was confirmed periodically by the lack of spontaneous movements or arousal responses evoked by the application of noxious stimuli, and the cutaneous vascularization was periodically checked by observing the color of the paw extremities and the rapidity with which they regained normal color after pressure application. Area of the skull around the bregma was cleared by cutting the skin in the sagittarius axis and cleaning with hydrogen peroxyde. The dura was exposed by drilling a 1mm hole (1mm right to metopic suture and 1 mm anterior to coronal suture) and a hand-made cannula, extending 0,5mm from the skull surface to avoid dural irritation, was inserted. The cannula was glued to 2 screw set at the left side of the metopic suture and posterior to the coronal suture, all consolidated with dental acrylic (Duralay Reliance powder). Animals received an injection (0,1mL/100g) of a 5mg/mL solution of ketoprofen (Axience Nefotek) to help its recovery. Rats were left to recover during 1 week before starting injections and sensory testing (Fig. 1A) while their state was closely monitored. 56 rats were cannulated for sensory testing and 33 for c-Fos immunochemistry.

2.3. Follow-up of the hormonal cycle

Female hormonal cycle was determined with vaginal smears performed each day at the same hour, beginning the first day of injection. We used a very similar protocol as the one described in McLean et al., 2012. Briefly, a plastic pipette was filled with approximately 300µL of distilled H₂O. A drop of water was pumped several times at the entrance of the vaginal canal, and deposited on a glass slide. After drying, the glass slide was stained in a Crystal Violet solution (Sigma C6158-50G 0,1g/100mL distilled water) during 1 min then rinsed in osmosed water 2

times. Photomicrographs were taken on a Nikon optiphot-2 microscope (Nikon optiphot-2, Nikon Europe BV, Amsterdam, Netherlands) using x10 and x20 objective lens. Three primary cell types were identified: nucleated epithelial cells, cornified squamous epithelial cells and leukocytes. The relative ratio of these cells was used identify the stage of the estrous cycle proestrous (P), estrous (E), metestrous (M), aslo referred to as diestrus 1) and diestrous (D, also referred as diestrus 2). We pooled females according to the estrous phase they presented the day of the first injection: in one group we included females in P/E and in the second group, female showing M/D phase (Giamberardino et al., 1997).

2.4. Injections of inflammatory soup or artificial cerebrospinal fluid

After a brief gas anesthesia with 2% isoflurane (≤ 3 min), injections (10 μ L) of inflammatory soup (IS) (composed with histamine, serotonin, bradykinin at all 2mM and PGE2 at 0,2mM, diluted in a 10mM HEPES solution, pH 5.0), or artificial cerebrospinal fluid (aCSF) were performed through the cannula at 2/3 days intervals (Fig. 1A). Animals were randomly assigned to IS or aCSF group by a blind experimenter.

2.5. Face sensory testing

Sensory testing protocols are similar to those previously used (Boyer et al., 2014). Cephalic mechanical cutaneous sensitivity was assessed on the anterior periorbital region with Von Frey (VF) filaments (Bioseb, France, maximum filament strength:8 g). The mechanical threshold was assessed using the ascending-descending method, before surgery and after surgery: before each injection day (day 1, 3, 5 and 8) and every 30 min for 4 hours after injection. VF filaments threshold in grams was equal to the filament evoking a withdrawal response of the head 3 times, with VF application lasting at least 3 seconds to determine negative withdrawal response. The evaluating experimenter was blinded to the experimental group.

2.6. cFos immunohistochemistry and counting

Two days after receiving the first injection of IS or aCSF, 33 animals were deeply anesthetized with a solution of 25% urethane (0,6mL/100g, Sigma, intraperitoneally) and the second injection of IS/aCSF was performed. One hour later, rats were hand-stimulated in the right anterior periorbital area by a 6g VF filament (determined as a non-noxious stimulation for control rats and noxious for inflamed rats) during 1 min at 1Hz. Two hours later, rats

were perfused transcardially: first with a saline heparinized solution (25 UI heparin mL⁻¹) and then with a cold (10°C) 4% paraformaldehyde solution (DiaPath Antigenfix P0014) for 20 min. Brains were removed and postfixed in 4% paraformaldehyde during 2 hours before being cryoprotected in a 30% sucrose and 0,5% azide solution (4°C) for at least 3 days. Coronal frozen section (30µm thick) were cut and collected in Tris Buffered Saline (TBS) with 0,5% azide. Sections containing TCC and LC neurons were isolated and pretreated 5 min in a mixture of 60% TBS, 40% MetOH and 1% H₂O₂. After sections had free-floated in TBS-Triton (0,3%)-BSA (2,5%) for 2 hours, immunohistochemistry reaction was carried out with a Mouse antibody against cFos (1:1000 overnight at room temperature; Abcam Mouse anti-cFos [2H2]) using a peroxidase kit against mouse igG (40 min at room temperature; Vector ImmPRESS Horse anti-Mouse IgG polymer kit MP-7402,). C-Fos immunoreactivity was visualized in sections using 3,30-diaminobenzidene tetrahydrochloride (DAB) and ammonium nickel sulfate (Vector DAB Substrate kit peroxidase SK-4100). All step were performed under 100 rpm agitation and all immunolabels were diluted in 0.25% bovine serum albumin, 0.3% Triton X-100 in TBS, and in all cases, sections were rinsed in TBS several times before and after each incubation. Sections were then transferred to gelatinized slides before being dehydrated (5 min incubation in EtOH 99%, 5 min incubation in Xylenes) and coverslipped with DPX (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Images were acquired using a CCD color camera (Sony DXC-950P; Sony, Tokyo, Japan) connected to a Nikon Optiphot-2 microscope. C-Fos positive neurons were computed out of 11 sections at the level of the trigemino-cervical complex (TCC, between -4000 and 0 mm caudal to the obex according to the Paxinos and Watson Atlas, Paxinos and Watson, 2007) and 6 sections in the locus coeruleus (LC) and in subcoeruleus (SubLC) region (between Bregma - 10.20 and -9.20 mm according to the Paxinos and Watson Atlas, Paxinos and Watson, 2007). Intervals of 200 mm between planes ensured that cells were counted only once. C-Fos cells were also counted according to the somatotopic representation of the trigeminal nerve branches V1, V2 and V3 (according to Strassman and Vos, 1993). Counts were performed by an observer who was blind to the experimental group. The data are expressed as the sum of the total number of labeled cells counted from all sections that were analyzed in each animal.

2.7. Statistical analysis

The number (n) of neurons used for each analysis is shown in the corresponding figure or table. Statistical analysis between groups were performed using GraphPad Prism (v7.04,

GraphPad Inc., La Jolla, CA, USA) software. Values in two groups were tested for normal distribution using a Kolmogorov-Smirnov test, followed by a two-sample t-test if both groups followed the normality or a Kruskal-Wallis test in other cases. When three groups and only one factor were compared, we used one-way non-repeated measures analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey HSD post-test. Two-way repeated or non-repeated measures ANOVA followed by the Tukey HSD (when compared with respective control group) or the Dunnett's multiple comparison (when compared with baseline measures in the same group) post-tests were used to compare differences between three or more groups with two factors. F-values were expressed with their associated degrees of freedom (df): F(df of group, residual) for one-way ANOVA; F_{group} (df of group, residual) and $F_{\text{second factor}}$ (df of second factor/residual) for two-way ANOVA. For behavioral study, as no statistical differences were found between aCSF1, aCSF2, aCSF3 and aCSF4-injected rats, all results were pooled and named "vehicle" group. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant. Figures were made using CorelDraw Graphics software (v12.0, Ottawa, Canada).

3. RESULTS

3.1. Cephalic cutaneous hypersensitivity relies on estrus cycle

We previously showed that cephalic mechanical allodynia worsens with repetition of dural stimulation in male rats (Boyer et al., 2014). We thus first assessed whether similar results were obtained in female rats. As in male rats (Fig. 1B1), each IS injection reduced mechanical thresholds in female (compared with baseline values: $F_{\text{time}} (8,837) = 80.8$, $p < 0.0001$; compared with those obtained in saline-injected animals: $F_{\text{group}} (4,837) = 86.68$, $p < 0.0001$; Fig. 1B2). The first injection (IS1) induced a reversible cephalic cutaneous hypersensitivity with allodynia already detected at 30 min ($p < 0.0001$ IS1 versus vehicle). The second injection (IS2) produced a stronger, but still reversible – no longer detectable at 240 min –, mechanical allodynia compared with IS1. The third (IS3) and fourth (IS4) injections produced ever stronger and longer mechanical allodynia (Fig. 1B2, Supplemental Fig. 1A). In addition, as in male rats (see Boyer et al., 2014), cephalic thresholds before the fourth IS injection (Mean=4.72±0.37g) in female rats were already lower than those before the first IS (Mean=7.82±0.22g), indicating that IS-induced allodynia was superimposed on a persistent cephalic cutaneous static mechanical hypersensitivity ($p < 0.001$, Supplemental Fig. 1B).

We then evaluated the influence of estrous cycle on IS-induced cephalic mechanical hypersensitivity. Using vaginal cytology (Fig. 1C), females were classified as in proestrous/estrous (P/E; n=7) and metestrous/diestrous (M/D; n=17) the day of the first injection. We first controlled that IS injection did not modify the cycle duration (data not shown). Moreover, the sensitivity thresholds measured at IS1, IS2, IS3 and IS4 were independent of the time of the first injection within the estrous cycle (M/D or P/E) (Supplemental Fig. 2). When P/E and M/D females were compared with males, sex differences appeared in the time course of IS1-induced cutaneous hypersensitivity. Mechanical allodynia peaked at 30 min in both P/E and M/D females (Mean=3.34±0.61g and Mean=2.88±0.31g, respectively), whereas males showed a more progressive increase in mechanical allodynia, with a peak at 60 min after IS1 injection (at 60 min: Mean=2.82±0.37g versus at 30 min: Mean=4.44±0.44g; Fig. 1D1). Therefore, there was a shift in the time to peak of IS1-induced cutaneous hypersensitivity between males and females. Furthermore, females in M/D had lower threshold than male rats ($p<0.001$) 30 min after IS1 injection, whereas at 60 min (as well 90 min), male rats displayed more important allodynia compared to both M/D and P/E female rats ($p<0.001$ at 60 and 90 min). On the other hand, there was no difference between females and males at IS2. Nevertheless, there was a difference in females according to estrous cycle ($F_{\text{groups}}(3,43) = 33.07, p<0.0001$; Fig. 1 D2). P/E females were more allodynic than M/D ones at 90 min ($p<0.05$) and 120 min ($p<0.01$). Finally, there were no differences in IS3- and IS4-induced cephalic mechanical allodynia between male, P/E and M/D females (IS3: Fig. 1D3; IS4: Fig. 1 D4).

1.2. Two repeated dural stimulations potentiates touch-induced c-Fos expression according to a somatotopic distribution

By using c-Fos protein expression to monitor neuronal activation, we previously showed that touch-evoked activation of trigeminocervical complex (TCC) neurons is increased in males after four repeated dural noxious stimulations (IS4) (Boyer et al., 2014). We thus asked whether this enhanced activation was observed in males already at IS2 and whether two dural noxious stimulations (IS1 + IS2) also modified c-Fos expression in females. In males, after IS2, cephalic stimulation induced a significant increase in c-Fos expression throughout the ipsilateral ($p<0.05$, aCSF male versus IS2 male; Fig 2A1) as well as contralateral TCC ($p<0.001$, aCSF male versus IS2 male; Fig. 2A2). Compared with aCSF-treated female rats, IS2-treated

ones exhibited a higher touch-evoked c-Fos expression in only the ipsilateral TCC (ipsilateral: $p < 0.05$; contralateral: $p = 0.6$; Fig. 2A3, 2A4).

We also analyzed the rostrocaudal expression of c-Fos from the rostral TCC (level 0) to C2 cervical DH (level -4000) (Fig. 2B). In males, the increase in c-Fos expression was restricted to ipsilateral (Fig. 2C1) as well as contralateral (Fig. 2C2) -2000-C2 levels. We therefore pooled rostral (from 0 to -1600) and caudal (from 2000 to -4000) c-Fos immunoreactive neurons. The c-Fos number of was significantly higher in caudal than in rostral regions (mean caudal c-Fos = 50.00 ± 5.33 vs. mean rostral c-Fos = 14.33 ± 3.00 , $p < 0.001$ in ipsilateral IS2 male; mean caudal c-Fos = 26.17 ± 2.98 vs. mean rostral c-Fos = 9.50 ± 2.61 $p < 0.001$ in contralateral IS2 male; Fig 2D1, D2). Compared with aCSF-injected female rats, IS2 induced a significant increase in the mean number of touch-evoked c-Fos immunoreactive neurons in the caudal region of the ipsilateral ($p < 0.05$ aCSF female vs. IS2 female; Fig. 2D3), but not the contralateral, TCC (Fig. 2D4). This suggests that two repeated dural noxious stimulations are sufficient to potentiate touch-evoked c-Fos activation in ipsilateral as well as contralateral male and ipsilateral female TCC neurons, predominantly in caudal TCC neurons.

The ventral, intermediate and dorsal part of TCC receive sensory information from the ophthalmic (V1), maxillary (V2) and mandibular (V3) branches, respectively (Fig. 3A). Because innocuous mechanical stimulations were applied on the anterior periorbital region of the face, we then asked whether the c-Fos-immunoreactive cells were exclusively located in V1 TCC region or spread up to other regions. We thus counted c-Fos-immunoreactive cells according to the trigeminal somatotopy. In males, c-Fos expression was increased in the caudal part of the V1 region of both ipsilateral (inset: $p < 0.05$; Fig. 3B1) and contralateral (inset: $p < 0.01$; Fig. 3B2) TCCs, but neither in ipsilateral/contralateral V2 TCC region (Fig. 3B3, 3B4) nor in ipsilateral/contralateral V3 TCC region (Fig. 3B5, 3B6). In females, an increase in the number of c-Fos-immunoreactive cells was also found within only the V1 ($p < 0.001$; Fig. 3C1), but not in others, region of ipsilateral TCC (Fig. 3C2-C6). These results indicate that two-repeated activations of meningeal nociceptors can sensitize the caudal part of TCC but such sensitization cannot spread up to other TCC territories.

3.3. The potentiation of touch-evoked c-Fos expression in V1 region of caudal TCC relies on estrus cycle

We then investigated whether the reported touch-evoked c-Fos activation was different in females and males. We showed that sex did not influence c-Fos expression, neither in ipsilateral (Fig. 4A1) nor in contralateral (Fig. 4A2) TCC ($p=0.4$ and $p=0.5$, respectively). Moreover, since our behavioral results suggest that the intensity of cephalic mechanical hypersensitivity is related to estrous stage (see above), we then asked whether c-Fos activation was also dependent on female cycle. When c-Fos-immunoreactive cells were counted based on the female hormonal state (P/E vs. M/D), a significant increase was found in P/E, but not in M/D, females (Fig. 4B, 4C). Compared with c-Fos neurons in aCSF P/E females, those in IS2 P/E females displayed a significant increase in both ipsilateral ($F_{(2,13)} = 8.04$, $p=0.005$; $p<0.01$ aCSF PE females vs. IS2 P/E females, Fig. 4B1) and contralateral ($F_{(2,13)} = 6.13$, $p=0.01$; $p<0.05$ aCSF PE females vs. IS2 P/E females, Fig. 4B2) sides. Such effect was not observed in M/D female rats (ipsilateral: $F_{(2,15)} = 1.75$, $p=0.20$, Fig. 4C1; contralateral: $F_{(2,15)} = 0.16$, $p=0.85$, Fig. 4C2). Therefore, only P/E females exhibited a significant activation of TCC neurons. Overall, these findings indicate that the induction of mechanical allodynia and the sensitization of caudal TCC neurons following two-repeated dural stimulations are regulated by the estrus cycle.

3.4. Locus coeruleus neurons display a sexual dimorphism in touch-induced c-Fos expression and c-Fos expression in LC is not potentiated after inflammation

It was previously shown that inflammation is associated with the activation of LC (Baulmann et al., 1999; Ter Horst et al., 2001), a brainstem structure that projects to TCC (Kaushal et al., 2016). We therefore investigated whether two repeated IS injections had an effect on LC neuronal activation, in male and female rats. Repeated meningeal nociception produced no change in the total numbers of touch-evoked c-Fos-immunoreactive neurons in both ipsilateral (Fig. 5A1, 5B1) and contralateral (Fig. 5A2, 5B2) LCs, in males (Fig. 5A1, 5A2) females (Fig. 5B1, 5B2) as well as in their rostrocaudal distribution (from Bregma -10.20 to -9.20 mm; Fig. 5C, D1-4). Therefore, these results indicate that repeated meningeal nociception fails to increase touch-evoked c-Fos expression within LC. Nevertheless, touch-evoked c-Fos expression was significantly larger in control conditions in females than in males (Fig. 5E; ipsilateral: $P<0.05$ aCSF male vs. aCSF female, Fig. 5F1; contralateral: $P<0.01$ aCSF male vs.

aCSF female, Fig. 5F2). Moreover, this difference remained similar after two repeated dural stimulations (ipsilateral: $P < 0.001$ IS2 male vs. IS2 female, Fig. 5F3; contralateral: $P < 0.01$ IS2 male vs. IS2 female, Fig. 5F4). These strongly support the existence of sexual dimorphism with respect to touch-evoked LC activation.

Though two repeated dural noxious stimulations had no effect on LC activation in females, we investigated whether the hormonal cycle could have an effect (Fig. 6). Neither P/E (Fig. 6A1, 6A2) nor M/D females (Fig. 6A3, 6A4) exhibited repeated dural stimulation-induced change in touch-evoked c-Fos expression in both ipsi- and contralateral LCs (IS2 vs. aSCF). Nevertheless, in inflammatory conditions (IS2), the number of touch-evoked c-Fos immunoreactive neurons in ipsilateral LC was higher in P/E than in M/D female rats ($P < 0.05$, Fig. 6B1). The difference was significant in the somatotopic 9.6 and 9.8 Bregma levels ($F_{(1,66)} = 11.39$, $P = 0.001$; $P < 0.01$ at 9.6 and $P < 0.01$ at 9.8 level, Fig. 6C1).

Since the subcoeruleus region (SubC) receives dense projections from LC, and also directly projects onto LC, we also investigated touch-evoked c-Fos neuronal expression within SubC, at least within the area containing the subcerulean LC sprouting (Fig. 7A). No difference was found in the number of SubC c-Fos immunoreactive neurons between inflammatory and control conditions (IS2 vs. aCSF animals), neither in male (Fig. 7 B) nor in P/E and M/D females (Fig. 7C), on both the ipsilateral and contralateral sides. The rostrocaudal distribution of c-Fos expression from Bregma -10.20 to -9.20 was also similar in both conditions (Fig. 7D). As observed in LC, the number of c-Fos immunoreactive neurons was higher in females than in males in aCSF conditions ($P < 0.05$, ipsilateral and contralateral, Fig. 7E1, E2 respectively) and in the ipsilateral ($P < 0.05$, Fig. 7E3) but not the contralateral (Fig. 7E4) SubC in inflammatory conditions (IS2 animals). However, in contrast to LC, two IS injections produced similar effects in the ipsilateral (Fig. 7F1, F2) and contralateral SubCs (Fig. 7F3, F4) of in P/E and M/D females.

4. DISCUSSION

The present experiments were designed to test the hypothesis that mechanical allodynia and TCC and LC physiological changes, induced by repeated meningeal nociception exhibits sex differences. We demonstrate that an IS injection produces a reversible cephalic mechanical allodynia in both sex. Nevertheless, such cutaneous mechanical allodynia peaks sooner in females than in males. In females as well as in males, IS-induced cutaneous hypersensitivity

gradually worsens and becomes partly persistent upon repetition. Importantly, mechanical allodynia at IS2 depends on the hormonal cycle at IS1: P/E females exhibit greater cephalic allodynia than M/D females. Inflammation of the meninges is also associated with TCC sensitization, mainly in its caudal part receiving afferents from the V1 branch but only in P/E females. Finally, under physiological conditions, touch-evoked c-Fos expressions in LC and SubC are larger in females than in males. In contrast to TCC, LC and SubC do not show enhanced c-Fos expression after two IS injections, although P/E females show a higher c-Fos expression than M/D females.

Influence of sex and hormonal cycle on orofacial skin hypersensitivity

As in our previous study in males (Boyer et al., 2014), repeated IS injections led to a gradual worsening of IS-induced cephalic mechanical allodynia in female. However, there was a sex difference in the time to peak of mechanical allodynia: it came earlier in females than in males (30 min vs. 60 min). There are other examples of faster behavioral expression of pain in females compared with males in rats: in a model of chronic migraine, allodynia occurs in females on day 4 after 10 μ l IS injection but on day 5 in males (Stucky et al., 2011), or in a model of neuropathic pain, hyperalgesia develops faster in females than in males, despite great individual variability (Sherman et al., 2021). In mice, too, mechanical allodynia peaks earlier in females than in males after a non-invasive supradural injection of isothiocyanate or low pH (but not after interleukin-6 or IS injection: Burgos-Vega et al., 2019). In a mouse model of bone cancer, females also exhibit nociceptive behavior several days before males, without differences in disease severity (Falk et al., 2013). Several hypotheses can be put forward to explain these differences, in particular the involvement of sex hormones, which may be in greater or lesser blood concentration according to the hormonal cycle (Becker et al., 2005; Stucky et al., 2011; Hassan et al., 2014). Nevertheless, that, here, both P/E and M/D females, the latter being assumed to have a lower concentration of hormones (Becker et al., 2005), exhibited similar early cephalic mechanical allodynia does not support this hypothesis. Another one is that these differences are related to activation of diffuse inhibitory pain control (CIDN). CIDNs, an endogenous pain regulation circuit, are known to be more effective in males than in females (Quiton and Greenspan, 2007; Popescu et al., 2010; Da Silva et al. 2018). Under our experimental conditions, CIDNs could act more quickly in males and therefore shift the peak of mechanical allodynia.

In contrast to a previous study showing that females exhibit lower mechanical thresholds than males in a model of infraorbital nerve ligation (Dominguez et al., 2009), repeated dural IS injections produced similar mechanical allodynia in pooled males and females. However, when considering the female hormonal cycle, sex differences in pain threshold between male and P/E or M/D females appeared after the first IS injection, and between P/E and M/D females, after the second injection. These results highlight the need to study not only the gender but also hormonal cycle dependency of mechanical allodynia and the underlying neurobiological mechanisms. Differences in models and/or tests used (Kuba and Quinones-Jenab, 2005) but also the hormonal status of the rodent females used in studies may account for the many conflicting results that have been observed in models of spinal pain (Beatty and Fessler, 1977; Mogil et al., 2000; Gaumond et al., 2002; 2005; Tall and Crisp, 2004; Lu et al., 2009)

Our observation that P/E females are more sensitive than M/D females is consistent with clinical studies indicating that migraine is correlated with hormonal cycle (Herren, 1933; Riley et al., 1999; Leresche et al., 2003; Hellstrom and Anderberg, 2003; Long et al., 2017). In animals, although some studies (mainly obtained from visceral pain model) have reported greater sensitivity to pain during the metestrus phase (Drury and Gold, 1978; Giamberardino et al., 1997; Bradshaw et al., 1999; Martínez-Gómez et al., 1994), most recent studies indicate that sensitivity to pain peaks during the proestrus and estrus phases (Frye et al., 1992; 1993; Kayser et al., 1996; Fillingim and Ness, 2000; Tall and Crisp, 2004; Kaur et al., 2018; Moloney et al., 2016). Interestingly, this difference in sensitivity according to the hormonal cycle is no longer observed after the 3rd (IS3) and the 4th (IS4) injection, when mechanical allodynia becomes persistent. This suggests that after 3 IS injections, the hormonal modulation of pain sensitivity is no longer effective.

Hormonal differences in TCC sensitization in migraine model

As previously shown in male, inflammatory meningeal stimulation sensitizes TCC neurons manifested as increased c-Fos expression (Strassman et al., 1994; 1996; Boyer et al., 2014). In our study, we confirm that sensitization is mainly localized within the V1 region of the most caudal part of TCC (Laborc et al., 2020). These results are consistent with a specific activation of the ophthalmic branch, which innervates meninges. We thus can exclude a non-specific activation of the maxillary branch or V2 (Greene, 1936), which could be induced by the muzzle

placement in the stereotaxic frame, and non-specific activation of the mandibular branch or V3 (also corresponding to the auriculo-temporal nerve, Folan-Curran et al., 1994) which could be induced by the placement of the ear bars in ear canals. Thus, the specific activation of the V1 region suggests that 2 IS injections are not sufficient for an extended activation of TCC neurons, in contrast to 4 IS injections (Boyer et al., 2014).

Although, in average, no sexual differences in TCC activation could be observed in our model, the dissociation of females according to the hormonal cycle made it possible to show that only females in P/E stage exhibited increased c-Fos expression. Thus factors related to the hormonal cycle, more than factors related to sex, will modulate the expression of central sensitization induced by meningeal inflammation. Other studies have also highlighted the importance of hormonal cycle and P/E stage, in activating TCC neurons. For example, inflammation of the temporomandibullary joint produces c-Fos expression in superficial TCC layers (Hathaway et al., 1995; Bereiter and Bereiter, 2000), such expression being larger in proestrus than in diestrus females (Bereiter, 2001). In this model, the discharge frequency of neurons located in deep TCC layers was more sustained in females in poestrus (Okamoto et al., 2003). Likewise, the sizes of the receptor fields as well as the amplitude of TCC neuronal responses after meningeal application of capsaicin are larger in P/E than M/D females (Martin et al., 2007). Overall, these data suggest that the estrus stage at which meningeal nociception occurs affects both behavioral pain as well as TCC neuronal activation.

The mechanisms to account for our results are currently unknown. We can nevertheless propose that it may arise from the different expression of certain genes in the trigeminal system depending on sex and /or cycle and /or physiological or pathological experimental condition (Kuzawinska et al., 2014; Korczeniewska et al., 2018; Mecklenburg et al., 2020). We also know that the estrogen receptors ER α and ER β are located within both the trigeminal ganglion and superficial TCC layers (Amandusson and Blomqvist, 2010; Flores et al., 2003; Bereiter et al., 2005; Warfvinge et al., 2020) and that the amount of ER α in TCC under physiological conditions is different in females than those in males (Bereiter et al., 2005). Further experiments are needed to determine which hormonal fluctuations (Zhang et al., 2020), which gene or protein and the associated mechanisms, are involved in our results.

Sexual dimorphism in touch-induced c-Fos expression in Locus Coeruleus (LC) and SubCeruleus (SubC)

Under physiological conditions, touch-induced c-Fos expression in LC as well as SubC, was larger in females than in males. To date, sex differences in the rodent LC have been observed in many studies (Bangasser et al., 2016; 2019). For example, there are differences in the expression of many genes in females and males (Pinos et al., 2001; Mulvey et al., 2018). The LC morphology also exhibit a gender disparity : the LC is larger in females (Luque et al., 1992), the number of neurons is also greater in females (Guillamón et al., 1988; Garcia-Falgueras et al., 2006), and the ventro-median dendritic arborizations of neurons is more extensive and numerous in females compared to males (Bangasser et al., 2011). Although these differences were not observed in all strains of rats (in Wistar rats but not Long Evans), our data confirm the existence of a sexual dimorphism in LC in Sprague Dawley rats, in favor of overexpression of c-Fos neurons in females LC and SubC.

Previous studies in pain models such as stimulation of the dental pulp (Voisin et al., 2005), dural inflammation following formalin (Baulmann et al., 1999) or capsaicin injection (Ter horst et al., 2001) showed a significant increase c-Fos expression in LC. In contrast, two dural IS injections does not sensitize LC and SubC neurons, neither in males nor in females. These results suggest that LC neurons normally involved in descending control of pain (Millan, 2002), did not influence the sensitization of TCC neurons following two IS injections. Other brainstem structures could exert an earlier modulating role in mechanical allodynia triggered by meningeal inflammation such as RVM and PAG. These regions were previously shown to be activated in animals, following four repeated inflammation of the meninges (Boyer et al., 2017), and in humans after spontaneous or induced migraine attack (Weiller et al., 1995; Afridi et al., 2005).

Acknowledgements: This work was supported by funding from Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Université Clermont Auvergne (France) and Région Auvergne (France). We thank Ms. Anne-Marie Gaydier for secretarial assistance. All authors reviewed and approved the final manuscript and the authors declare no competing financial interests.

References

- Afridi SK, Giffin NJ, Kaube H, Friston KJ, Ward NS, Frackowiak RSJ, Goadsby PJ. A Positron Emission Tomographic Study in Spontaneous Migraine. *Arch Neurol* 2005;62:1270.
- Amandusson Å, Blomqvist A. Estrogen receptor- α expression in nociceptive-responsive neurons in the medullary dorsal horn of the female rat. *European Journal of Pain* 2010;14:245–248.
- Aston-Jones G, Waterhouse B. Locus coeruleus: From global projection system to adaptive regulation of behavior. *Brain Research* 2016;1645:75–78.
- Bangasser DA, Curtis A, Reyes BAS, Bethea TT, Parastatidis I, Ischiropoulos H, Van Bockstaele EJ, Valentino RJ. Sex differences in corticotropin-releasing factor receptor signaling and trafficking: potential role in female vulnerability to stress-related psychopathology. *Mol Psychiatry* 2010;15:896–904.
- Bangasser DA, Zhang X, Garachh V, Hanhauser E, Valentino RJ. Sexual dimorphism in locus coeruleus dendritic morphology: A structural basis for sex differences in emotional arousal. *Physiology & Behavior* 2011;103:342–351.
- Bangasser DA, Wiersielis KR, Khantsis S. Sex differences in the locus coeruleus-norepinephrine system and its regulation by stress. *Brain Research* 2016;1641:177–188.
- Bangasser DA, Eck SR, Ordoñez Sanchez E. Sex differences in stress reactivity in arousal and attention systems. *Neuropsychopharmacol* 2019;44:129–139.
- Baulmann J, Spitznagel H, Herdegen T, Unger T, Culman J. Tachykinin receptor inhibition and c-Fos expression in the rat brain following formalin-induced pain. *Neuroscience* 1999;95:813–820.
- Beatty WW, Fessler RG. Sex differences in sensitivity to electric shock in rats and hamsters. *Bull Psychon Soc* 1977;10:189–190.
- Becker JB, Arnold AP, Berkley KJ, Blaustein JD, Eckel LA, Hampson E, Herman JP, Marts S, Sadee W, Steiner M, Taylor J, Young E. Strategies and Methods for Research on Sex Differences in Brain and Behavior. *Endocrinology* 2005;146:1650–1673.
- Bereiter DA, Bereiter DF. Morphine and NMDA receptor antagonism reduce c- fos expression in spinal trigeminal nucleus produced by acute injury to the TMJ region. *Pain* 2000;85:65–77.
- Bereiter DA. Sex Differences in Brainstem Neural Activation after Injury to the TMJ Region. *Cells Tissues Organs* 2001;169:226–237.
- Bereiter DA, Cioffi JL, Bereiter DF. Oestrogen receptor-immunoreactive neurons in the trigeminal sensory system of male and cycling female rats. *Archives of Oral Biology* 2005;50:971–979.
- Boyer N, Dallel R, Artola A, Monconduit L. General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain* 2014;155:1196–1205.
- Boyer N, Signoret-Genest J, Artola A, Dallel R, Monconduit L. Propranolol treatment prevents chronic central sensitization induced by repeated dural stimulation. *Pain* 2017;158:2025–2034.

- Bradshaw HB, Temple JL, Wood E, Berkley KJ. Estrous variations in behavioral responses to vaginal and uterine distention in the rat. *Pain* 1999;82:187–197.
- Burch R, Rizzoli P, Loder E. The prevalence and impact of migraine and severe headache in the United States: Updated age, sex, and socioeconomic-specific estimates from government health surveys. *Headache: The Journal of Head and Face Pain* 2021;61:60–68.
- Burgos-Vega CC, Quigley LD, Trevisan dos Santos G, Yan F, Asiedu M, Jacobs B, Motina M, Safdar N, Yousuf H, Avona A, Price TJ, Dussor G. Non-invasive dural stimulation in mice: A novel preclinical model of migraine. *Cephalalgia* 2019;39:123–134.
- Buse DC, Silberstein SD, Manack AN, Papapetropoulos S, Lipton RB. Psychiatric comorbidities of episodic and chronic migraine. *J Neurol* 2013;260:1960–1969.
- Craft RM, Mogil JS, Aloisi AM. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *European Journal of Pain* 2004;8:397–411.
- Da Silva JT, Zhang Y, Asgar J, Ro JY, Seminowicz DA. Diffuse noxious inhibitory controls and brain networks are modulated in a testosterone-dependent manner in Sprague Dawley rats. *Behavioural Brain Research* 2018;349:91–97.
- Dao TT, LeResche L. Gender differences in pain. *J Orofac Pain* 2000;14:169-84
- Dominguez CA, Kouya PF, Wu W-P, Hao J-X, Xu X-J, Wiesenfeld-Hallin Z. Sex differences in the development of localized and spread mechanical hypersensitivity in rats after injury to the infraorbital or sciatic nerves to create a model for neuropathic pain. *Gender Medicine* 2009;6:225–234.
- Drury RA, Gold RM. Differential effects of ovarian hormones on reactivity to electric footshock in the rat. *Physiol Behav* 1978;20(2):187-191.
- Edelmayer RM, Vanderah TW, Majuta L, Zhang E-T, Fioravanti B, De Felice M, Chichorro JG, Ossipov MH, King T, Lai J, Kori SH, Nelsen AC, Cannon KE, Heinricher MM, Porreca F. Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in headache-related pain. *Ann Neurol* 2009;65:184–193.
- Falk S, Uldall M, Appel C, Ding M, Heegaard A-M. Influence of Sex Differences on the Progression of Cancer-induced Bone Pain. *ANTICANCER RESEARCH* 2013:7.
- Fillingim RB, Ness TJ. Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2000;24:485–501.
- Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL. Sex, Gender, and Pain: A Review of Recent Clinical and Experimental Findings. *The Journal of Pain* 2009;10:447–485.
- Flores CA, Shughrue P, Petersen SL, Mokha SS. Sex-related differences in the distribution of opioid receptor-like 1 receptor mRNA and colocalization with estrogen receptor mRNA in neurons of the spinal trigeminal nucleus caudalis in the rat. *Neuroscience* 2003;118:769–778.
- Folan-curran J, Hickey K, Monkhouse WS. Innervation of the Rat External Auditory Meatus: A Retrograde Tracing Study. *Somatosensory & Motor Research* 1994;11:65–68.

- Fritschy J-M, Grzanna R. Distribution of locus coeruleus axons within the rat brainstem demonstrated byPhaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tracing in combination with dopamine- β -hydroxylase immunofluorescence. *J Comp Neurol* 1990;293:616–631.
- Frye CA, Bock BC, Kanarek RB. Hormonal milieu affects tailflick latency in female rats and may be attenuated by access to sucrose. *Physiology & Behavior* 1992;52:699–706.
- Frye CA, Cuevas CA, Kanarek RB. Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1993;45:255–260.
- Garcia-Falgueras A, Pinos H, Fernández R, Collado P, Pasaro E, Segovia S, Guillamon A. Sexual dimorphism in hybrids rats. *Brain Research* 2006;1123:42–50.
- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Research* 2002;958:139–145.
- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. *Brain Research* 2005;1052:105–111.
- Giamberardino MA, Affaitati G, Valente R, Iezzi S, Vecchiet L. Changes in visceral pain reactivity as a function of estrous cycle in female rats with artificial ureteral calculosis. *Brain Research* 1997;774:234–238.
- Greene, Chace Eunice. *Anatomy of the Rat*. Nature 1936;137:559–559.
- Guillamón A, de Blas MR, Segovia S. Effects of sex steroids on the development of the locus coeruleus in the rat. *Brain Res*. 1988;468(2):306-310.
- Haanes KA, Edvinsson L. Pathophysiological Mechanisms in Migraine and the Identification of New Therapeutic Targets. *CNS Drugs* 2019;33:525–537.
- Hassan S, Muere A, Einstein G. Ovarian hormones and chronic pain: A comprehensive review. *Pain* 2014;155:2448–2460.
- Hathaway CB, Hu JW, Bereiter DA. Distribution of fos-like immunoreactivity in the caudal brainstem of the rat following noxious chemical stimulation of the temporomandibular joint. *J Comp Neurol* 1995;356:444–456.
- Hellström B, Anderberg UM. Pain perception across the menstrual cycle phases in women with chronic pain. *Percept Mot Skills* 2003;96(1):201-211.
- Herren RY. The effect of high and low female sex hormone concentration on the two-point threshold of pain and touch and upon tactile sensitivity. *Journal of Experimental Psychology* 1933;16:324–327.
- Hurley RW, Adams MCB. Sex, Gender, and Pain: An Overview of a Complex Field. *Anesthesia & Analgesia* 2008;107:309–317.
- Ji Y, Rizk A, Voulalas P, Aljohani H, Akerman S, Dussor G, Keller A, Masri R. Sex differences in the expression of calcitonin gene-related peptide receptor components in the spinal trigeminal nucleus. *Neurobiol Pain*. 2019;6:100–031.

- Kaur S, Benton WL, Tongkhuya SA, Lopez CMC, Uphouse L, Averitt DL. Sex Differences and Estrous Cycle Effects of Peripheral Serotonin-Evoked Rodent Pain Behaviors. *Neuroscience* 2018;384:87–100.
- Kaushal R, Taylor BK, Jamal AB, Zhang L, Ma F, Donahue R, Westlund KN. GABA-A receptor activity in the noradrenergic locus coeruleus drives trigeminal neuropathic pain in the rat; contribution of NA α 1 receptors in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 2016;334:148–159.
- Kayser V, Berkley KJ, Keita H, Gautron M, Guilbaud G. Estrous and sex variations in vocalization thresholds to hindpaw and tail pressure stimulation in the rat. *Brain Research* 1996;742:352–354.
- Korczyńska OA, Husain S, Khan J, Eliav E, Soteropoulos P, Benoliel R. Differential gene expression in trigeminal ganglia of male and female rats following chronic constriction of the infraorbital nerve. *Eur J Pain* 2018;22:875–888.
- Krause DN, Warfvinge K, Haanes KA, Edvinsson L. Hormonal influences in migraine — interactions of oestrogen, oxytocin and CGRP. *Nat Rev Neurol* 2021;17:621–633.
- Kuba T, Quinones-Jenab V. The role of female gonadal hormones in behavioral sex differences in persistent and chronic pain: Clinical versus preclinical studies. *Brain Research Bulletin* 2005;66:179–188.
- Kuzawińska O, Lis K, Cudna A, Bałkowiec-Iskra E. Gender differences in the neurochemical response of trigeminal ganglion neurons to peripheral inflammation in mice. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2014;74(2):227-232.
- Laborc KF, Spekker E, Bohár Z, Szűcs M, Nagy-Grócz G, Fejes-Szabó A, Vécsei L, Párdutz Á. Trigeminal activation patterns evoked by chemical stimulation of the dura mater in rats. *J Headache Pain* 2020;21:101.
- LaCroix-Fralish ML, Tawfik VL, Nutile-McMenemy N, DeLeo JA. Progesterone mediates gonadal hormone differences in tactile and thermal hypersensitivity following L5 nerve root ligation in female rats. *Neuroscience* 2006;138:601–608.
- LeResche L, Mancl L, Sherman JJ, Gandara B, Dworkin SF. Changes in temporomandibular pain and other symptoms across the menstrual cycle. *Pain* 2003;106:253–261.
- Long H, Gao M, Zhu Y, Liu H, Zhou Y, Liao L, Lai W. The effects of menstrual phase on orthodontic pain following initial archwire engagement. *Oral Dis* 2017;23:331–336.
- Lu Y-C, Chen C-W, Wang S-Y, Wu F-S. 17 β -Estradiol Mediates the Sex Difference in Capsaicin-Induced Nociception in Rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;331:1104–1110.
- Luque JM, de Blas MR, Segovia S, Guillamón A. Sexual dimorphism of the dopamine-beta-hydroxylase-immunoreactive neurons in the rat locus ceruleus. *Brain Res Dev Brain Res* 1992;67(2):211-215.
- Martin VT, Lee J, Behbehani MM. Sensitization of the Trigeminal Sensory System During Different Stages of the Rat Estrous Cycle: Implications for Menstrual Migraine. *Headache* 2007;0:070222151332003-???

- Martínez-Gómez M, Cruz Y, Salas M, Hudson R, Pacheco P. Assessing pain threshold in the rat: Changes with estrus and time of day. *Physiology & Behavior* 1994;55:651–657.
- McLean AC, Valenzuela N, Fai S, Bennett SAL. Performing Vaginal Lavage, Crystal Violet Staining, and Vaginal Cytological Evaluation for Mouse Estrous Cycle Staging Identification. *JoVE* 2012:4389.
- Mecklenburg J, Zou Y, Wangzhou A, Garcia D, Lai Z, Tumanov AV, Dussor G, Price TJ, Akopian AN. Transcriptomic sex differences in sensory neuronal populations of mice. *Sci Rep* 2020;10:15278.
- Melchior M, Poisbeau P, Gaumond I, Marchand S. Insights into the mechanisms and the emergence of sex-differences in pain. *Neuroscience* 2016;338:63–80.
- Melhado EM, Thiers Rister HL, Galego DR, Oliveira AB, Buttarello IA, Belucio IS, Oliveira Marcos JM, Xavier MLT, Peres MFP. Allodynia in Menstrually Related Migraine: Score Assessment by Allodynia Symptom Checklist (ASC-12). *Headache: The Journal of Head and Face Pain* 2020;60:162–170.
- Millan MJ. Descending control of pain. *Progress in Neurobiology* 2002:120.
- Mogil JS, Chesler EJ, Wilson SG, Juraska JM, Sternberg WF. Sex differences in thermal nociception and morphine antinociception in rodents depend on genotype. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2000;24:375–389.
- Mogil JS. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. *Nat Rev Neurosci* 2012;13:859–866.
- Moloney RD, Sajjad J, Foley T, Felice VD, Dinan TG, Cryan JF, O’Mahony SM. Estrous cycle influences excitatory amino acid transport and visceral pain sensitivity in the rat: effects of early-life stress. *Biol Sex Differ* 2016;7:33.
- Mulvey B, Bhatti DL, Gyawali S, Lake AM, Kriaucionis S, Ford CP, Bruchas MR, Heintz N, Dougherty JD. Molecular and Functional Sex Differences of Noradrenergic Neurons in the Mouse Locus Coeruleus. *Cell Reports* 2018;23:2225–2235.
- Okamoto K, Hirata H, Takeshita S, Bereiter DA. Response Properties of TMJ Units in Superficial Laminae at the Spinomedullary Junction of Female Rats Vary Over the Estrous Cycle. *Journal of Neurophysiology* 2003;89:1467–1477.
- Oshinsky ML, Gomonchareonsiri S. Episodic Dural Stimulation in Awake Rats: A Model for Recurrent Headache. *Headache* 2007;47:1026–1036.
- Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier, 2007.
- Pinos H, Collado P, Rodríguez-Zafra M, Rodríguez C, Segovia S, Guillamón A. The development of sex differences in the locus coeruleus of the rat. *Brain Research Bulletin* 2001;56:73–78.
- Popescu A, LeResche L, Truelove EL, Drangsholt MT. Gender differences in pain modulation by diffuse noxious inhibitory controls: A systematic review. *Pain* 2010;150:309–318.
- Quiton RL, Greenspan JD. Sex differences in endogenous pain modulation by distracting and painful conditioning stimulation. *Pain* 2007;132:S134–S149.

- Racine M, Tousignant-Laflamme Y, Kloda LA, Dion D, Dupuis G, Choinière M. A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception – Part 1: Are there really differences between women and men? *Pain* 2012;153:602–618.
- Riley JL, Robinson ME, Wise EA, Myers CD, Fillingim RB. Sex differences in the perception of noxious experimental stimuli: a meta-analysis. *Pain* 1998;74:181–187.
- Riley JL, Robinson ME, Wise EA, Price D. A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle. *Pain* 1999;81:225–235.
- Ruau D, Liu LY, Clark JD, Angst MS, Butte AJ. Sex Differences in Reported Pain Across 11,000 Patients Captured in Electronic Medical Records. *The Journal of Pain* 2012;13:228–234.
- Shankland WE. The Trigeminal Nerve. Part I: An Over-View. *CRANIO®* 2000;18:238–248.
- Sherman K, Woyach V, Eisenach JC, Hopp FA, Cao F, Hogan QH, Dean C. Heterogeneity in patterns of pain development after nerve injury in rats and the influence of sex. *Neurobiology of Pain* 2021;10:100069.
- Strassman AM, Vos BP. Somatotopic and laminar organization of fos-like immunoreactivity in the medullary and upper cervical dorsal horn induced by noxious facial stimulation in the rat. *J Comp Neurol* 1993;331:495–516.
- Strassman AM, Mineta Y, Vos BP. Distribution of fos-like immunoreactivity in the medullary and upper cervical dorsal horn produced by stimulation of dural blood vessels in the rat. *J Neurosci* 1994;14(6):3725-3735.
- Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature* 1996;384:560–564.
- Stucky NL, Gregory E, Winter MK, He Y-Y, Hamilton ES, McCarson KE, Berman NEJ. Sex Differences in Behavior and Expression of CGRP-Related Genes in a Rodent Model of Chronic Migraine: May 2011. *Headache: The Journal of Head and Face Pain* 2011;51:674–692.
- Tall JM, Crisp T. Effects of gender and gonadal hormones on nociceptive responses to intraplantar carrageenan in the rat. *Neuroscience Letters* 2004;354:239–241.
- Taylor BK, Westlund KN. The noradrenergic locus coeruleus as a chronic pain generator: Is the LC a Neuropathic Pain Generator? *Journal of Neuroscience Research* 2017;95:1336–1346.
- Ter Horst G, Meijler W, Korf J, Kemper R. Trigeminal Nociception-Induced Cerebral Fos Expression in the Conscious Rat. *Cephalalgia* 2001;21:963–975.
- Vetvik KG, MacGregor EA. Sex differences in the epidemiology, clinical features, and pathophysiology of migraine. *The Lancet Neurology* 2017;16:76–87.
- Voisin DL, Guy N, Chalus M, Dallel R. Nociceptive stimulation activates locus coeruleus neurones projecting to the somatosensory thalamus in the rat: Nociceptive activated coeruleo-thalamic projections. *The Journal of Physiology* 2005;566:929–937.
- Warfvinge K, Krause DN, Maddahi A, Edvinsson JCA, Edvinsson L, Haanes KA. Estrogen receptors α , β and GPER in the CNS and trigeminal system - molecular and functional aspects. *J Headache Pain* 2020;21:131.

Weiller C, May A, Limmroth V, Jüptner M, Kaube H, Schayck RV, Coenen HH, Dlener HC. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med* 1995;1:658–660.

Westlund KN, Coulter JD. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport studies and dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry. *Brain Res* 1980;2(3):235-264.

Wieseler J, Ellis A, Sprunger D, Brown K, McFadden A, Mahoney J, Rezvani N, Maier SF, Watkins LR. A novel method for modeling facial allodynia associated with migraine in awake and freely moving rats. *Journal of Neuroscience Methods* 2010;185:236–245.

Zhang W, Wu H, Xu Q, Chen S, Sun L, Jiao C, Wang L, Fu F, Feng Y, Qian X, Chen X. Estrogen modulation of pain perception with a novel 17 β -estradiol pretreatment regime in ovariectomized rats. *Biol Sex Differ* 2020;11:2.

5. Figures

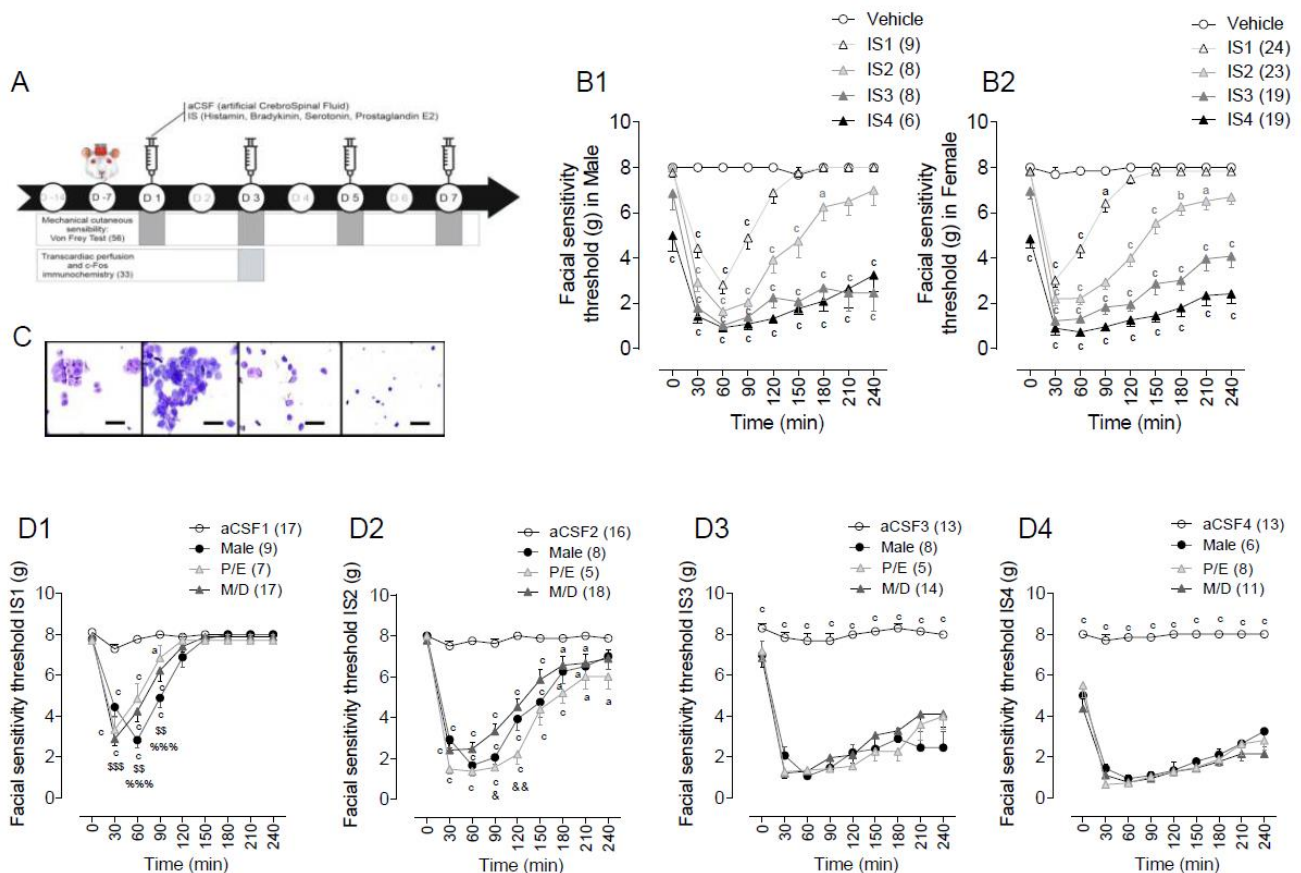


Figure 1:

(A) Timeline representing the protocol of behavior and immunohistochemistry study. Rats were acclimated to glass chamber for behavioral testing and to innocuous mechanical stimulation. One week after cannulation, rat received artificial cerebrospinal fluid (aCSF) or inflammatory soup (IS) injections every 2/3 days and mechanical sensitivity of ophthalmic cutaneous territory was tested using Von Frey Test (VFT). Fos immunohistochemistry were performed on Day 3 after the second aCSF or IS injections.

(B) Time courses of facial sensitivity threshold measured by VFT before (0) and at 30 min intervals (until 240 min) after dural injections of vehicle (respective aCSF) or IS in male (B1) and female (B2) rats. Symbols represent mean \pm S.E.M of n rats per group. ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ versus vehicle-injected rats by Tukey's HSD post-test following two-way measures ANOVA.

(C) Representative photomicrographs (20x magnification) of vaginal cytological samples taken from female rats during Proestrus (P), Estrus (E), Metestrus (M) and Diestrus (D) periods.

(D) Time courses of facial sensitivity threshold measured by VFT in male, Proestrus/Estrus (P/E) and Metestrus/Diestrus (M/D) female rats before (0) and at 30 min intervals (until 240 min) after the first (D1), the second (D2) the third (D3) and the fourth (D4) dural injections of aCSF or IS. Symbols represent mean \pm S.E.M of n rats per group. ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ versus female aCSF-injected rats by Tukey's HSD post-test following two-way measures ANOVA. (D1) ^s $p < 0.05$, ^{ss} $p < 0.01$, ^{sss} $p < 0.001$ male versus corresponding M/D female by Dunnett's post-test following two-way measures ANOVA; ^{%%%} $p < 0.001$ male versus corresponding P/E female by Dunnett's post-test following two-way measures ANOVA. (D2) [&] $p < 0.05$, ^{&&} $p < 0.01$, M/D female versus corresponding P/E female by Dunnett's post-test following two-way measures ANOVA.

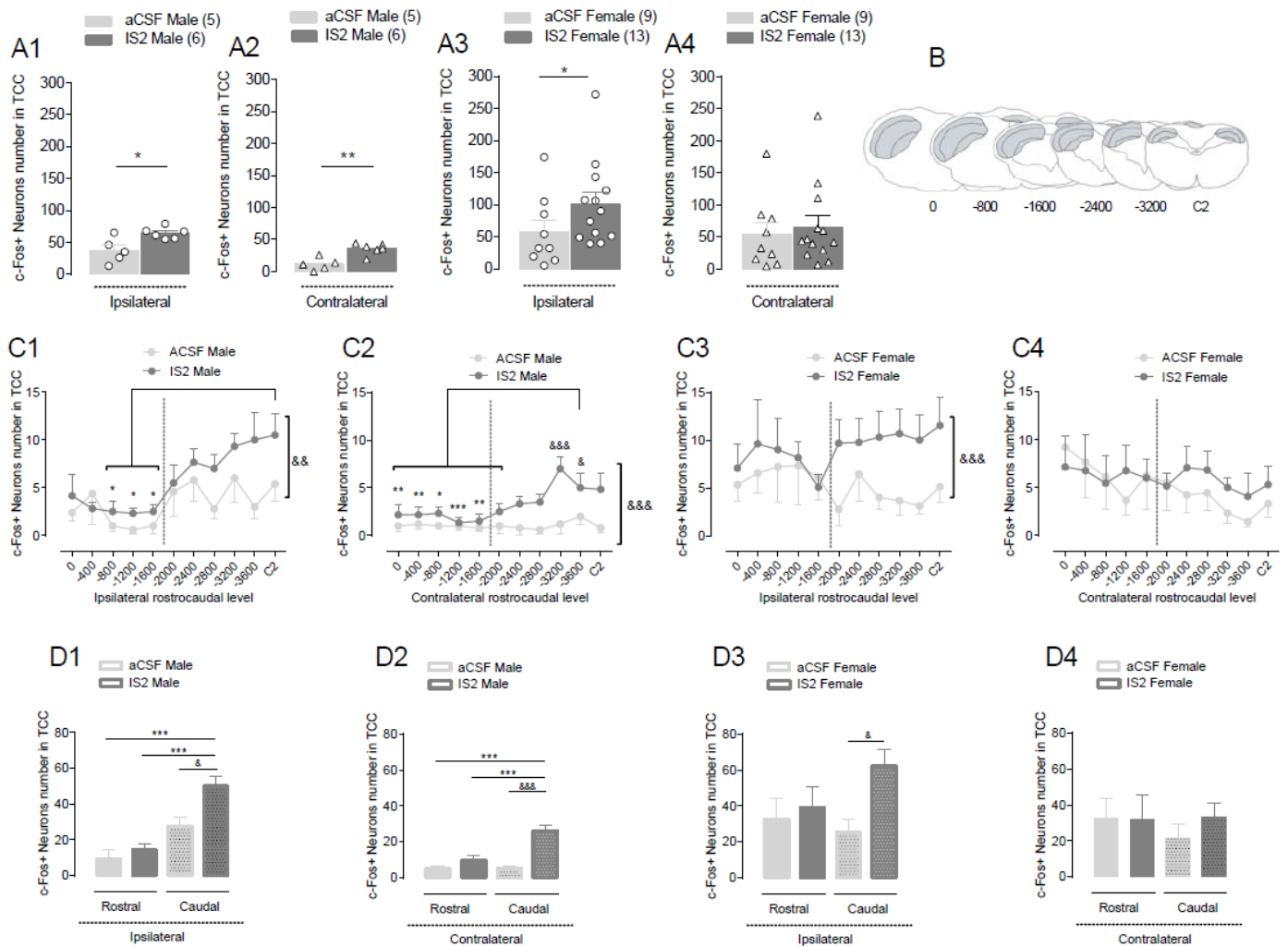


Figure 2 :

(A) Bar histograms showing the density of c-Fos-labeled neurons in TCC evoked by mechanical stimulation (Von Frey Filament) of the face, 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, light grey bar) or inflammatory soup (IS, dark grey bar) injections, in ipsilateral side of male (A1), contralateral side of male (A2), ipsilateral side of female (A3) and contralateral side of female (A4). Data are represented by means \pm SEM. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ by unpaired Student's t-test.

(B) Schematic illustration of six (out of eleven) TCC sections where Fos expressing neurons were quantified. The counted region is highlighted in grey.

(C) Distribution of c-Fos-immunoreactive neurons in TCC from rostral to C2 levels. Fos activation was evoked by mechanical stimulation (Von Frey filament) of the face 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, dark grey line) or inflammatory soup (IS, light grey line) injections in ipsilateral side of male (C1), contralateral side of male (C2), ipsilateral side of female (C3) and contralateral side of female (C4). Data are represented by mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus rostrocaudal levels and & $p < 0.05$, && $p < 0.01$, &&& $p < 0.001$ IS versus corresponding aCSF-injected rats by Tukey's HSD post-test following two-way ANOVA.

(D) Bar histograms showing the mean density of c-Fos-labeled neurons in rostral and caudal TCC. C-Fos activation was evoked by mechanical stimulation (Von Frey Filament) of the face, 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, light grey bar) or inflammatory soup (IS, dark grey bar) injections, ipsilateral side of male (D1), contralateral side of male (D2), ipsilateral side of female (D3) and contralateral side of female (D4). Data are represented by means \pm SEM. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ versus rostrocaudal level and & $p < 0.05$, &&& $p < 0.001$ IS2 versus aCSF-injected rats by Tukey's HSD post-test following one-way ANOVA.

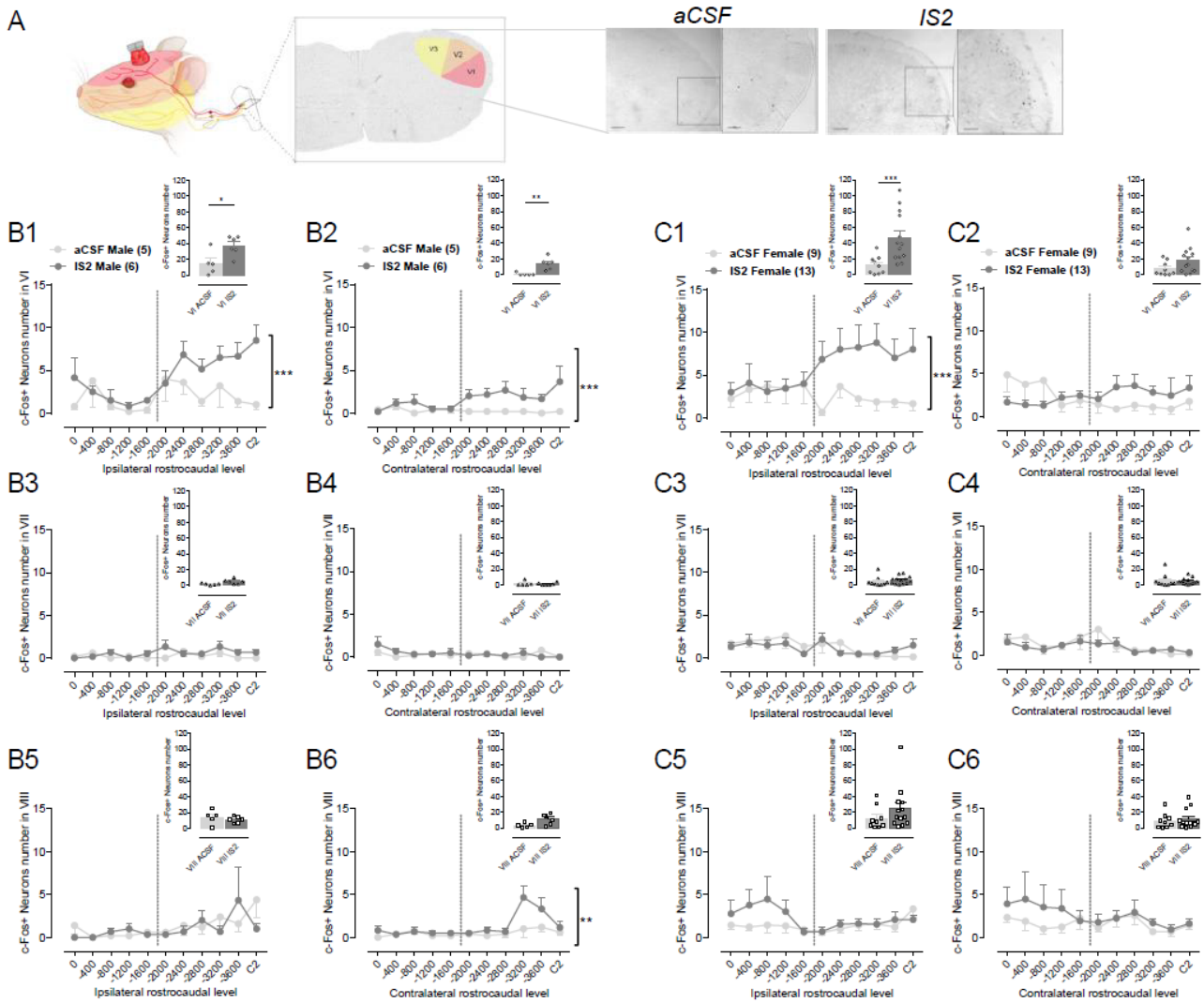


Figure 3:

(A) Schematic figure of trigeminal pain pathway. Left, Dermatome distribution of the trigeminal nerve divisions of the face. Trigeminal ganglion contains the first-order neurons, second-order neurons are found in the spinal cord and medulla. Middle, Schematic figure of the dorsal horn shows the somatotopic representation of the three branches of the trigeminal nerve. The ventral (red), intermediate (orange) and dorsal (yellow) part of the dorsal horn considered to be equivalent to the area of the ophthalmic (V1), maxillary (V2), and mandibular (V3) branch. Right, Representative photomicrographs at low and high (inset) magnification of coronal sections at the -3200 level after 2 injections in aCSF- (left) and IS2-treated rats (right). Bar = 100 μ m. aCSF, artificial cerebrospinal fluid; IS, inflammatory soup.

(B, C) Distribution of c-Fos-immunoreactive neurons from rostral TCC to C2 levels in male (B) and female (C) according to the territories V1 (B1, B2 in male; C1, C2 in female), V2 (B3, B4 in male; C3, C4 in female) and V3 (B5, B6 in male; C5, C6 in female). C-Fos activation was evoked by mechanical stimulation (Von Frey filament) of the face 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, dark grey line) or inflammatory soup (IS, light grey line) injections. Comparison between aCSF and IS2 in ipsilateral side (B1, B3, B5) and contralateral side (B2, B4, B6). Data are represented by mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, IS2 versus aCSF-injected rats by Tukey's HSD post-test following two-way ANOVA. Inset: Bar histograms showing the mean c-Fos number between aCSF (light grey bar) and IS2 (dark grey bar). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ by a two-sample t-test.

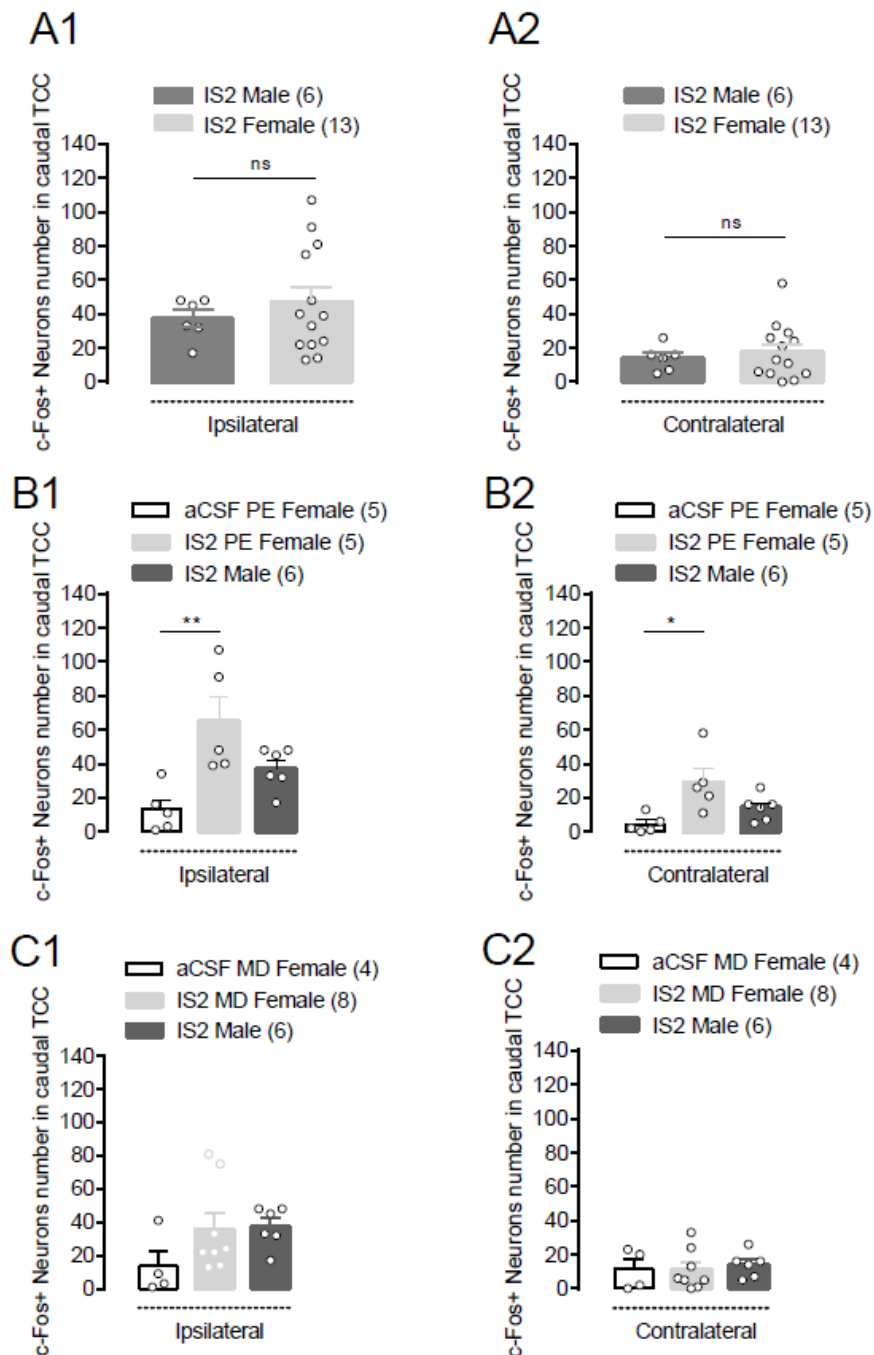


Figure 4:

(A) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in V1 area of caudal TCC region, in male (dark grey bars) and female (light grey bars) after inflammation (IS2). C-Fos was evoked by mechanical stimulation (Von Frey Filament) of the face, 1 hour after inflammatory soup. Ipsilateral side (A1), contralateral side (A2). Data are represented by means \pm SEM. ns: non significant by a two-sample t-test.

(B, C) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in V1 area of caudal TCC region. C-Fos was evoked by mechanical stimulation (Von Frey Filament) of the face, 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF) and inflammatory soup in P/E (B), M/D (C) female rats and male. Comparisons between aCSF P/E or aCSF M/D females (white bars), IS2 P/E or IS2 M/D females (light grey bars) and IS2 males (dark grey bars). Ipsilateral side (B1, C1), contralateral side (B2, C2). Data are represented by means \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Tukey's HSD post test following one-way ANOVA.

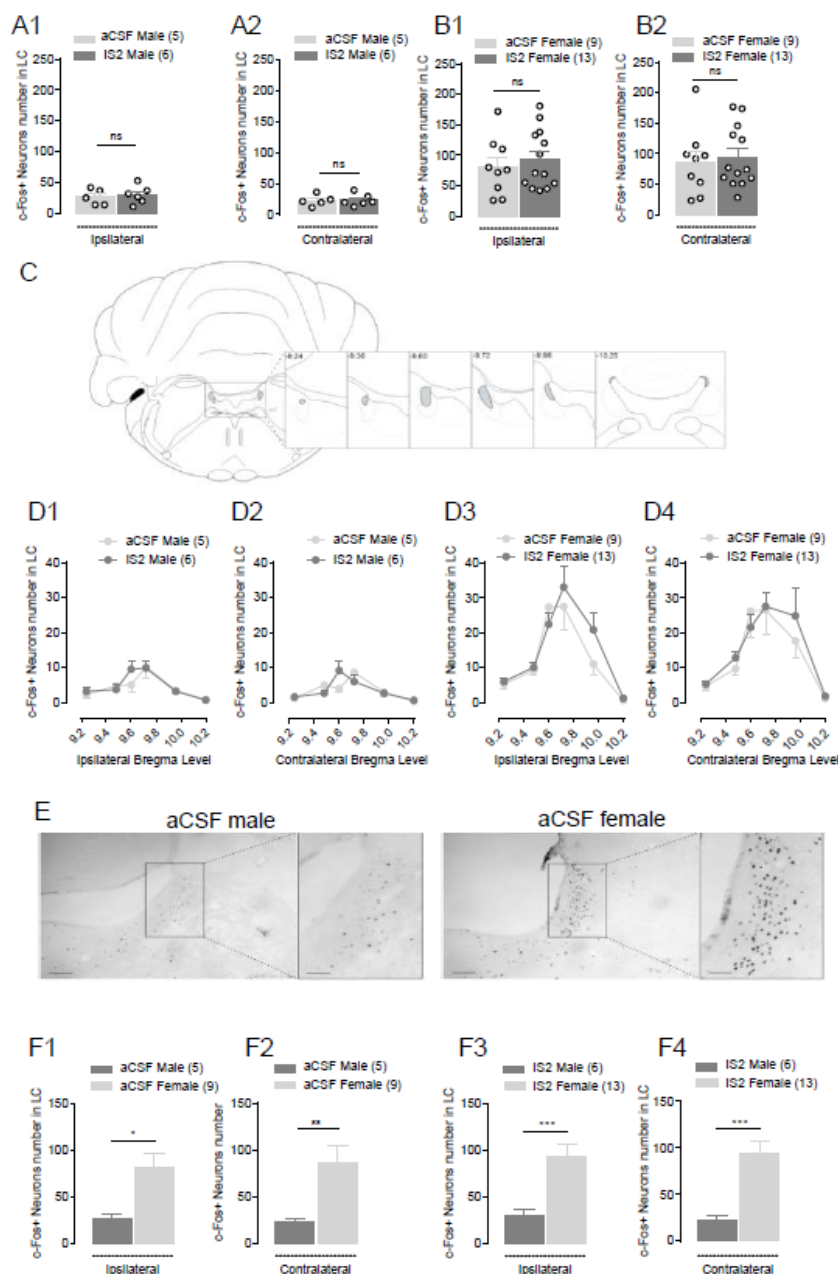


Figure 5:

(A, B) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in locus coeruleus (LC). C-Fos activation was evoked by mechanical stimulation (Von Frey Filament) of the face, 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, dark grey line) or inflammatory soup (IS, light grey line) injections in ipsilateral (A1) and contralateral (A2) side of males and in ipsilateral (B1) and contralateral (B2) side of females. Data are represented by means \pm SEM. ns: by a two-sample t-test.

(C) Schematic illustration of six sections, which contain LC region (highlighted in grey) where c-Fos-expressing neurons were quantified.

(D) Distribution of c-Fos-immunoreactive neurons in LC region from Bregma -10.20 to -9.20 mm. C-Fos activation was evoked by mechanical stimulation (Von Frey filament) of the face 1 hour after the second artificial cerebrospinal fluid (aCSF, dark grey line) or inflammatory soup (IS, light grey line) injections in ipsilateral (D1) and contralateral (D2) side of male and in ipsilateral (D3) and contralateral (D4) side of female. Data are represented by mean \pm SEM.

(E) Representative photomicrographs at low and high magnification (inset) of coronal sections from Bregma 9.8 mm in aCSF male (left) and aCSF female (right) rats. Bar = 100 μ m.

(F) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in LC in male versus female rats. Comparison between males (dark grey bars) and females (light grey bars) rats in aCSF ipsilateral side (F1), aCSF contralateral side (F2), IS2 ipsilateral side (F3), IS2 contralateral side (F4). Data are represented by means \pm SEM. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 by a two-sample t-test

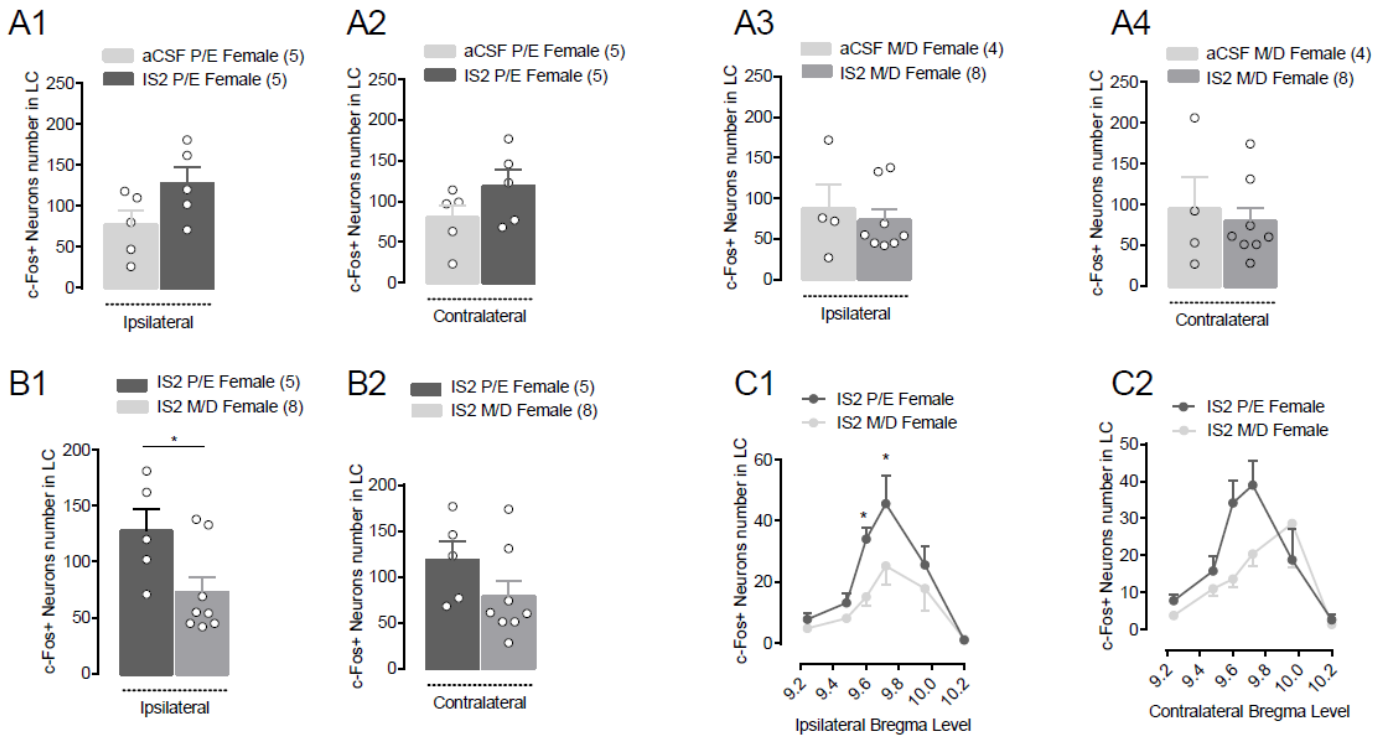


Figure 6:

(A, B) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in LC according to the female hormonal cycle. (A) Comparisons between aCSF (light grey bars) and IS2 (dark grey bars) in P/E female (A1, A2) and in M/D females (A3, A4). (B) Comparisons between IS2 P/E female and IS2 M/D female. Ipsilateral side (A1, A3, B1), contralateral side (A2, A4, B2). * $p < 0.05$ by a two-sample t-test.

(C) Distribution of c-Fos-immunoreactive neurons in LC region from Bregma -10.20 to -9.20 mm. Comparisons between IS2 P/E female (dark grey line) and IS2 M/D female (light grey line). Ipsilateral side (C1), contralateral side (C2). Data are represented by mean \pm SEM. * $p < 0.05$, by Tukey's HSD post-test following two-way ANOVA.

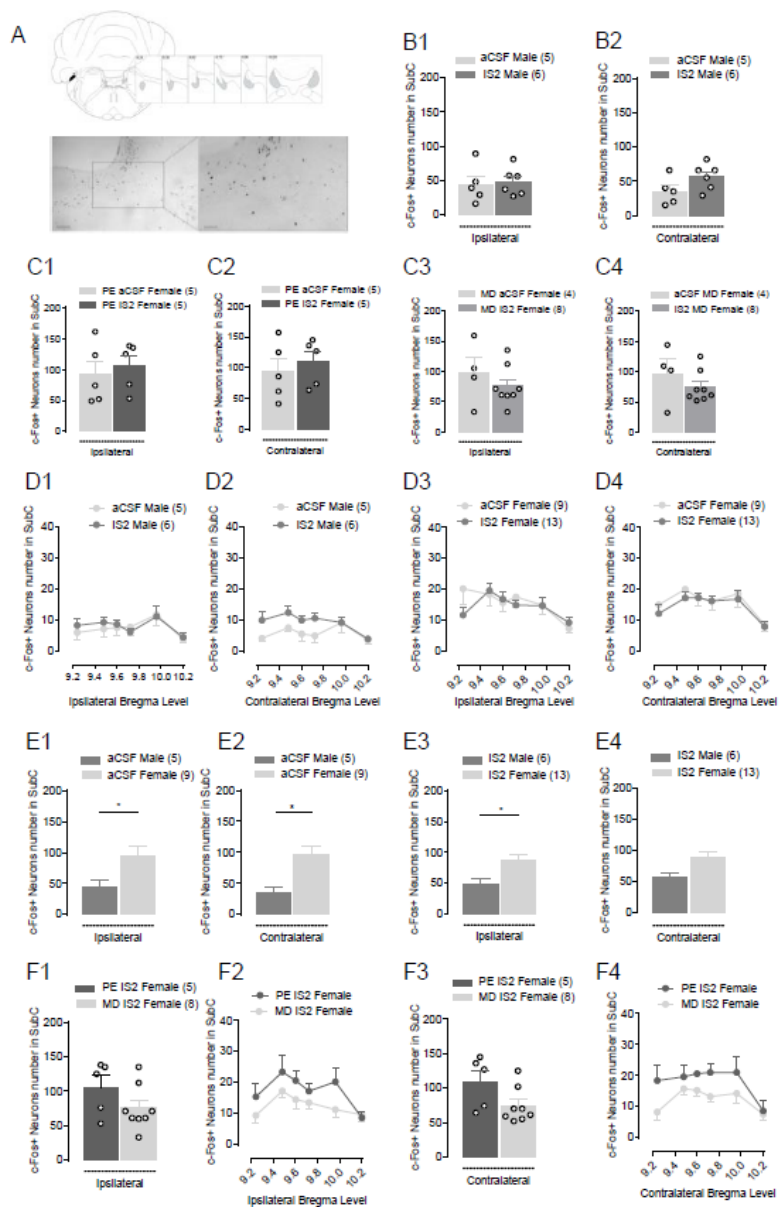


Figure 7:

(A) Up : Schematic illustration of six sections which contain Subcoeruleus (SubC) region (highlighted in grey), where Fos expressing neurons were quantified. Numbers are distance of the section in millimeters from the bregma. *Down* : Representative photomicrographs at low and high (inset) magnification of coronal sections at the 9.8 Bregma region after 2 IS-injections in female. Bar = 100 μ m.

(B, C) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in SubC. (B) Comparisons between aCSF (light grey bars) and IS2 (dark grey bars) in male (B), P/E female (C1, C2) and in M/D females (C3, C4). Ipsilateral side (B1, C1, C3), contralateral side (B2, C2, C4).

(D) Distribution of c-Fos-immunoreactive neurons in SubC region from Bregma -10.20 to -9.20 mm. (D1, D2): Comparisons between aCSF male (light grey bar) and IS2 male (dark grey bar); (D3, D4) Comparisons between aCSF female (light grey line) and IS2 female (dark grey line). Data are represented by mean \pm SEM.

(E) Bar histograms showing the number of c-Fos-labeled neurons in SubC in male versus female rats. (E1, E2): Comparison between aCSF male (dark grey bar) and aCSF female (light grey bar). (E3, E4): Comparison between IS2 male (dark grey bar) and IS2 female (light grey bar). Data are represented by mean \pm SEM. Ipsilateral side (E1, E3), contralateral side (E2, E4). * $p < 0.05$ by a two-sample t-test.

(F) Bar histograms (F1, F3) and distribution (F2, F4) of c-Fos-immunoreactive neurons in SubC region according to female's hormonal cycle. Comparison between IS2 P/E female (dark grey bar/line) and IS2 M/D female (light grey bar/line). Ipsilateral side (F1, F2), contralateral side (F3, F4). Data are represented by mean \pm SEM.

Artificial cerebrospinal fluid (aCSF); inflammatory soup (IS).

Supplementary Figures:

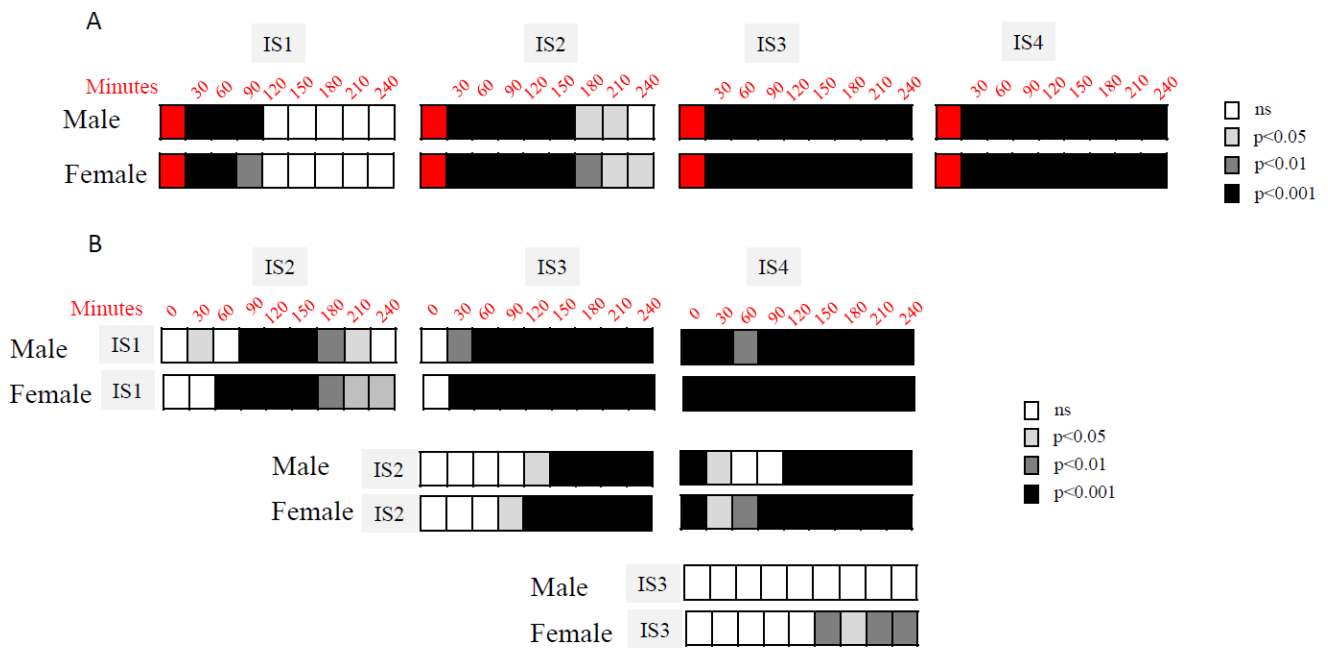


Figure S1:

Statistical stacking table summarizing the statistical differences compared to baseline (0) each time after IS injections (A) and statistical differences between each IS injections (B). The color of each sub-cell indicates the level of significance of the statistical comparison (white, non significant; light gray, $p < 0.05$; dark gray, $p < 0.01$; black, $p < 0.001$). Statistical comparisons were performed using two-way-measures ANOVA followed by Tukey's HSD post-test.

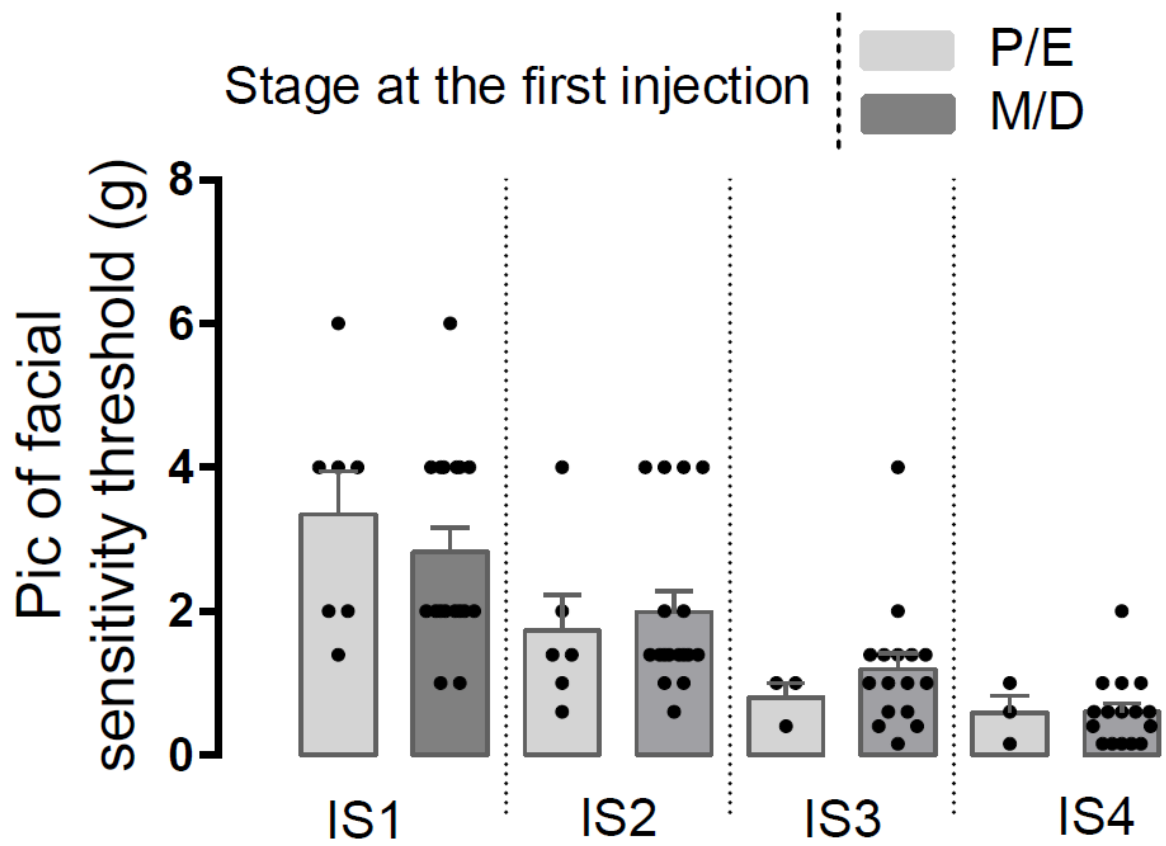


Figure S2:

Bar histograms showing the pic of facial sensitivity threshold according to the stage at the first IS injection: either Proestrous/Estrous or Metestrus/Diestrus. IS1, IS2, IS3, IS4 correspond to the first, second, third and fourth IS injection, respectively.

Article 2

**Direct and indirect Locus coeruleus projections
to the Trigemino-Cervical Complex:
Reappraisal of the noradrenergic pathways
and putative implication in migraine modulation**

**Direct and indirect Locus coeruleus projections to the Trigemino-Cervical Complex:
Reappraisal of the noradrenergic pathways and putative implication in migraine
modulation**

Barnet, M.¹, Da Silva Borges, G.¹, Ginisty, A.¹, Dallel, R.¹, Antri, M.^{1*}, Monconduit, L.^{1*}

Affiliations:

¹ Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Inserm, Neuro-Dol, 63000
Clermont-Ferrand, France

*Corresponding author: Inserm/UCA U1107, Neuro-Dol: Trigeminal pain and migraine,
Faculté de Chirurgie Dentaire, 2 rue de Braga, Clermont-Ferrand 63100, France. Tel.: +33 4
73 17 73 13. fax: +33 4 73 17 73 06. E-mail address: lenaic.monconduit@uca.fr (L.
Monconduit); myriam.antri@uca.fr (M. Antri).

To be submitted to Journal of Headache and Pain

Abstract

The pathophysiology of migraine is not completely understood due to, among other reasons, the lack of studies targeting the neuroanatomical supraspinal organization. The Locus coeruleus-noradrenergic (LC-NA) system has been gaining relevance in migraine modulation, but its connections with key regions in this pathology, such as the Trigemino-Cervical Complex (TCC), have been lightly studied. The few evidence of a direct descending LC-NA innervation of the TCC are from decades ago and are difficult to reconcile. In addition, literature review suggests two putative indirect mechanisms by which the LC might modulate the TCC: either by targeting other structures implicated in the descending pain modulation (such as the rostral ventromedial medulla, RVM); or by targeting the peripheral encephalic circulatory system. Therefore, in the present study, we aim to study the direct and indirect projections by which the LC may modulate TCC activity.

We employed retrograde traditional and anterograde specific viral neuroanatomical tracing and immunohistochemistry techniques to identify LC projections to the TCC, to the RVM, to the cortex, and to the meningeal circulatory system.

Our results confirmed that the LC innervates the TCC by a direct noradrenergic pathway. It also shows that indirect modulation of the descending pain control system is possible, as demonstrated by the convergence, in the RVM, of LC-NA terminations contacting RVM neurons projecting to the TCC. The study of the LC anatomical pathway regulating peripheral encephalic circulatory system still requires further research.

The present study uncovers the LC-NA network in migraine, and more precisely in headache pain. Indeed, the role of LC in gating and modulating sensory information could account for increasing TCC excitability and, in turn, lower the threshold for headache, through direct and indirect pathways.

Introduction

Migraine is a common and debilitating neurological disorder affecting 15% of the worldwide population. It has a complex pathophysiology which is far from being completely understood. A large body of evidence suggests that migraine pathophysiology involves inherited alteration of brain excitability, intracranial arterial dilatation, associated to recurrent activation and sensitization of the trigemino-cervical complex (TCC, [41]).

There is also strong clinical evidence that the transformation from episodic to chronic migraine depends on dysfunctional brainstem nuclei that modulate neuronal excitability and pain [40]. First, stimulation of the brainstem either by electrodes implanted in the dorsal midbrain for pain control [48,62], by lesions from multiple sclerosis [28] or vascular malformation [25,34] causes migraine-like headache in patients. Second, imaging studies have revealed abnormal functioning of the brainstem in migraine, with or without aura, as well as in chronic migraine [1,3,14]. One of the brainstem regions that was ignored for many years in migraine research, although evidence suggests otherwise, is the Locus coeruleus (LC). LC is the main source of noradrenaline (NA) in the nervous system and, helped by its strategic location in the pons near the fourth ventriculus, it has projections to virtually the entire brain and spinal cord. It is therefore undeniable that neurons in the LC modulate several vital functions in the body such as arousal, sleep, stress, anxiety, cognition, or nociception [51]. Particularly in the pain context, LC is crucial in both ascending and descending circuits [44,63,64]. Its role in migraine pathophysiology has been suggested by early neuroanatomical studies [36] and later supported by preclinical and clinical research [9,40,63]. However, even if great progress has been made, there is no sufficient data to understand the role of the LC-NA system in migraine. Nociceptive information arising from the activation of nociceptors around the meningeal blood vessels reaches the LC indirectly, via an intermediary projection from the TCC region to the Paragigantocellularis nucleus (PGi, an excitatory afferent to the LC; [45,61]). Once in the LC, hypothetically, two outcomes are expected: (i) initiation of the noradrenergic descending modulation by descending efferent projections; (ii) initiations of changes in arousal, stress, anxiety, and cognition with forebrain projections.

The direct descending projections from the LC to TCC are mostly assumed without a precise demonstration. For example, Couto et al., 2006 performed a wide retrograde labelling injecting Fast Blue in the spinal trigeminal nucleus (including the caudal division) and found

almost no neurons in the LC [16]. On the contrary, studies using anterograde tracers in the LC lack of clarity in LC projections to TCC. When old papers showed some positive fibers in the spinal trigeminal [22,66], but without a detailed description of the projection distribution, more recent studies with a viral approach identify cervical spinal [11] and medulla projections [52] from the LC noradrenergic neurons but, unfortunately, none of these studies mention the Sp5C.

A second set of studies showed that LC might modulate the TCC by projections to other brain structures involved in the descending control of pain or in the peripheral/meningeal cephalic circulation, suggesting an indirect modulation of the TCC by the LC. Thus, the rostral ventromedial medulla (RVM) innervates the TCC [2] and receives LC-noradrenergic innervation [55]. On the other hand, studies performed almost four decades ago showed that the electrical stimulation of the LC resulted in cerebral vasoconstriction [27]. This effect could be explained by the presence of Dopamine Beta Hydroxylase (DBH)-fibers innervating pial-derived intraparenchymal arterioles and capillaries, which are directly originated at the LC (review in [24]). Altogether, this evidence suggests that, in migraine, the LC might be capable of modulating the TCC by a direct and/or an indirect mechanism, which adds to the complexity of migraine pathophysiology but, unfortunately, no studies provided a comparative description of projections from LC that could be involved in modulation of dural nociceptive information in TCC.

In the present study, we aim to study, in both male and female rats, the direct innervation of the TCC by the LC noradrenergic neurons. We also aim to study the possibility of an indirect modulation of the LC-NA projections targeting either other structures of the descending pain control or targeting the leptomeninges. In carrying out this study, we used different retrograde tracer to determine which one was the best to label LC descending and ascending efferent. Then to confirm our results, we used a genetically specified viral vector-based anterograde tracing method to obtain a more accurate perspective on the noradrenergic projections.

Material & Methods

1) Animals

Male and female Sprague-Dawley (SD) rats weighing 150-250 g were obtained from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France). Male and female heterozygous tyrosine hydroxylase (TH)-Cre transgenic Long-Evans rats were obtained from Champalimaud's Foundation (Lisbon, Portugal), breed and genotyped on site. All animals were housed at $22 \pm 1^\circ\text{C}$ with 12 h light/dark cycles, 3 rats by cage, on soft bedding and environmental enrichment (paper and cardboard rolls), with *ad libitum* access to water and food.

Every effort was made to minimize the number of rats used and the eventual pain that might result from the surgical procedures. All experiments, analysis, and reporting were ARRIVE-compliant (Animals in research: reporting *in vivo* experiments). The experiments followed the ethical guidelines of the Directive 2010/63/UE of the European Parliament and of the Council and French Decree 2013–118 on the protection of animals used for scientific purposes. The protocols used in this study were approved by Clermont-Auvergne University Institutional Review Board and authorized by the French Ministry of Primary, Secondary and Higher Education, and Research (Projects number 20572 and 28656).

- a. **Locus coeruleus to TCC (Retrograde labelling):** To identify supraspinal inputs to the TCC and particularly localize the soma of the LC-projecting neurons, different retrograde tracers were injected unilaterally in the most caudal part of the Sp5C of SD rats. This experiment also served to identify the best tracer for further manipulations.
- b. **Locus coeruleus to TCC (Anterograde labelling):** To identify the LC specific noradrenergic terminations in the TCC, an anterograde Cre-Dependent virus was injected ($\sim 0.5\mu\text{L}$) in the LC of female and male TH-Cre Long-Evans rats. Two cohorts of TH-Cre Long-Evans rats received double injection (anterograde virus in the LC and retrograde tracer in the TCC) to identify TCC input regions receiving direct LC-NA innervation.
- c. **Locus Coeruleus to meningeal membranes/surface (Retrograde labelling):** To study the eventual innervation of the meningeal/dura vessels directly by the

LC, a paper embedded in Fluorogold (FG) was applied to the meningeal membrane of SD rats.

- d. **Locus Coeruleus to meningeal membranes (Anterograde labelling):** The animals used in section “b” (above) were also used to verify the LC-noradrenergic innervation of the meningeal membranes and the surface of the cortex.
- e. **Trigeminal Ganglion to Meningeal surface:** the TGs of the animals used in section c were used to confirm the correct migration of the retrograde tracer.

2) Surgical Procedures

Animals were anesthetized with isoflurane (4% to induce, 2.5% to maintain in 1-2L O₂) and placed in a stereotaxic frame with warming pad. A sufficient depth of anesthesia was confirmed periodically by the lack of spontaneous movements or arousal responses evoked by the application of noxious stimuli. Additionally, the cutaneous vascularization was periodically checked by observing the color of the paw extremities and how fast they regained normal color after pressure application. The eyes were covered with vaseline and the incision zone was cleaned with betadine.

a. Sp5C/C1-C2 injection

For the unilateral (right side) TCC injection, the rat’s head was tilted in ventroflexed position by means of an adapted metallic bar. The Sp5C was exposed by carefully removing the overlying musculature, the atlanto-occipital membrane, and dura mater. Injections were performed approximately 2,6mm lateral and -1.5mm from the obex point, with the stereotaxic arm at, approximately, 15° angle inclination. Injections were 0,4 to 1mm deep to affect various regions of the Sp5C/C1-C2, with the main target being V1 part. Using a heat-polished borosilicate glass capillary (Harvard apparatus GC100F-15 1.0mm OD*0.58mm ID), filled with the tracer/virus, male and female SD rats or TH-Cre rats (Cre-dependent virus) were injected with <0.5µL of FG (**Cohort 1** and **Cohort 6**, Santa Cruz sc-358883, 0,02g/mL in a 0,016g/mL cacodylic acid solution), or Rhodamine (**Cohort 2**; Invitrogen Tetramethylrhodamine 3000 D3308 in a 10% Saline/DMSO solution), or CTB488 (**Cohort 3**; Invitrogen Cholera Toxin Subunit B Alexa Fluor 488 conjugated C34775, 1mg/mL in PBS), or Dil (**Cohort 4**; Invitrogen Fast Dil Oil D3899, 2,5mg/mL in 100% DMSO), or virus AAVrg-hSyn-EGFP

(Cohort 5; 1.5 x 10¹³ GC/mL; Addgene). After 2 minutes of resting the glass capillary was removed, the musculature and the skin were sutured with non-absorbable suture and the surface was cleaned with betadine.

b. Locus coeruleus injection

A 1 mm hole in the occipital bone (From lambda: -5.5mm anteroposterior, -1.2mm mediolateral) was performed uni- or bilaterally. With a 20-degree inclination, a heat-polished borosilicate glass capillary (see reference above) filled with 1µL of anterograde virus (**Cohort 5 and Cohort 6; AAV8/hSyn-DIO-mCherry 2.6 x 10¹³ GC/mL; Addgene**) was lowered 4.8mm from the brain surface and 0.5µL of volume was slowly released into the tissue. One to two minutes later, the glass capillary was gently removed, the incision was closed with a non-absorbable suture and cleaned with betadine.

c. Meningeal administration

A 2 mm hole in the parietal bone (1 mm right of midline, 1 mm anterior to bregma) was drilled to expose the dura of rats. Without damaging the meninges or touching the skull, a 1 mm x 1mm paper square embedded in FG (**Cohort 7**) was placed directly in contact with the meningeal membrane. The incision was closed with a non-absorbable suture and cleaned with betadine. To control this administration and eliminate the possibility of a false positive due to absorption of the tracer by the superficial layers of the cortex (densely innervated by the LC), the procedure was repeated but, in addition to the paper embedded with the tracer, an impermeable barrier of parafilm or aluminum foil (with a larger size than the paper embedded with the tracer), was placed between the meninges and the cortex.

3) Perfusion and immunohistochemistry

One week (for the tracers) or 3 weeks (for viruses) after injection, animals were deeply anesthetized with 25% urethane (0,6mL/100g; Sigma 94300-1KG). Rats were then perfused transcardiacally, first with heparinized saline solution (9g of sodium chloride and 2,5mL of heparin; Choay 25000UI/5mL; approximately 200-250mL per rat) and second with a cold ready-to-use 4% paraformaldehyde solution (DiaPath Antigenfix P0014) for 20mn (approximately 400mL per rat). Brains and spinal cords were removed and postfixed in 4%

paraformaldehyde for 2 hours before being cryoprotected in a 30% sucrose and 0,5% azide solution in Tris Buffered Saline (TBS) for at least 3 days. Once the tissue sinks, 4 series of coronal sections of 30µm were made with a microtome, cryoprotected in sucrose with azide solution and stored at 4°C. In order to avoid excessive autofluorescence, TGs were not post-fixed, they were instead placed directly in 30% sucrose. Four series of TG coronal frozen sections (20µm thick) were made using a cryostat and fixed directly into a gelatin-coated microscope slide and stored at 4°C until further processing.

Each tracer or virus used in the present study was amplified by immunohistochemistry using specific antibodies. The colocalization with TH or DBH was used to identify or confirm their noradrenergic nature. For brains and spinal cords, a free-floating approach was used. Briefly, after 3 washes with TBS, the sections were incubated, for 2 hours, with a blocking solution containing 0.25% bovine serum albumin, 0.3% Triton X-100 in TBS (TBS-T). Afterwards, immunohistochemistry reaction was initiated by incubation, overnight at 4°C, with a TBS-T solution containing a mix of the primary antibody for the tracer/virus plus the primary antibody against TH/DBH: Rabbit against FG (Millipore Rabbit anti-FG ab153, 1/2500); a Rabbit against rhodamine (Rockland Mouse anti-Rhodamine p/n 200-301-246, 1/2000); a Rabbit against mCherry (Takara Living Color DS Red 632496; 1/2000); a Goat against CTB (List Biological Laboratories Goat anti-CTB #703, 1/5000); a Rabbit against TH (Millipore Rabbit anti-TH ab152, 1/2000); Mouse antibody against DBH (Millipore Mouse anti-DBH MAB308, 1/2500).

The sections were then washed three times (5 minutes each wash) with TBS-T. After the washes, the sections were incubated, for two hours at RT, with a TBS-T solution containing a mix of secondary antibodies: a Goat against Mouse (Goat anti-Mouse IgG Cy5 115-175-146 or Cy3 115-165-003 or Cy2 115-225-146, 1/400; Jackson ImmunoResearch), a Goat against Rabbit (Goat anti-Rabbit IgG Alexa Fluor 488 111-545-003 or Cy5 111-175-144 or Cy3 111-165-003, 1/400; Jackson ImmunoResearch), a Donkey against Rabbit (Donkey anti-Rabbit IgG Cy5 711-175-152, 1/400; Jackson ImmunoResearch) and a Donkey against Goat (Donkey anti-Goat IgG Alexa Fluor 488 705-545-003, 1/500; Jackson ImmunoResearch). All incubations were performed under continuous agitation (100rpm). The immunoreaction was finished by performing 3 washes in TBS. The sections were mounted in gelatin-coated microscope slides,

dehydrated (5mn incubation in EtOH 99%, 5mn incubation in Xylene) and mounted with DPX Mountant for histology (Sigma-Aldrich 06522-100ML).

When TG tissue was used, the immunoreaction was performed directly on the microscopy slides, following a similar protocol as described above. The primary antibody used was Rabbit against FG (1/2500) and the secondary antibody was Goat against Rabbit (Goat anti-Rabbit IgG Alexa Fluor 488 111-545, 1/400; Jackson ImmunoResearch).

The images were observed with an epifluorescence microscope Zeiss Axioplan 2, coupled with a Retiga 3 camera and analyzed with the Metamorph software, and a confocal laser Zeiss LSM 800 microscope and analyzed with the software Zen 2 lite Blue edition version 2.0 (Carl Zeiss Microscopy GmbH).

4) Quantification and analysis

The correct placement of the injection and the extension of the injection /infection was confirmed/verified by using as a reference the Atlas Paxinos and Watson (2006, 6th Edition, [43]), and only the rats where the injection was well-placed were included in the present study. In what concerns to the quantification of FG profiles in the LC, the entire Rostral-Caudal axis from Bregma was taken into consideration, their noradrenergic nature (DBH+/DBH-) and, as well, the Dorsoventral and Ipsi-/Contralateral localization of the soma. In what concerns to the quantification of FG profiles in the RVM, only the Rostral Caudal axis from Interaural and the localization Ipsi-/Contralateral localization of the soma were taken into consideration.

Results

In this study, we explored the direct and indirect LC-noradrenergic modulation of the TCC, a key structure in the migraine pathophysiology, by using traditional and specific viral neuroanatomical tracing techniques.

1) Direct descending LC projections to the TCC evidenced by retrograde and anterograde labelling

To identify the LC neurons projecting to the TCC, our approach was to test four traditional retrograde tracers. We then studied the labelling in the LC (Cohort 1-4; Table I; Figure 1A). This experiment served to verify the best tracers for the upcoming experiments. We observed that, even though the injection sites were mostly restricted to TCC (Figure 1B and 1C), positive labelling in the LC was only robustly observed when using FG or, in less extent and intensity, Rhodamine (Figure S1A). We also tested the ability of the AAVrg-hSyn-EGFP virus to effectively infect axonal terminations in the TCC and migrate to the soma of LC-projecting neurons (Figure S1B). Despite positive labelling among other regions, in the LC the presence of positive profiles was extremely rare (only one positive neuron found in the LC among a total of 4 animals). Therefore, further neuroanatomical studies were performed with FG.

Unilateral injection of the retrograde tracer FG into the TCC resulted in an equivalent number of positive neurons in both ipsi- and contralateral sides of the LC in males and females (**Cohort 1**; Figure 2A). However, the entire population of FG+ neurons in males was slightly superior to the FG+ population in females. This difference might be a bias of the extension of the injection site and/or the localization into the Sp5C in both sexes. Furthermore, we observed not all FG+ neurons, identified in the LC, were DBH+. Indeed, in males the proportion of FG+/DBH- neurons was of 5% in the ipsilateral side and 3% in the contralateral side. In females, this proportion was slightly larger: 10% for both ipsi- and contralateral sides (Figure 2B). When considering the distribution along the rostro-caudal extension, we found the majority of FG+ neurons in the central and caudal part of the axis, in both ipsi- and contralateral sides (Figure 2C and 2D). This pattern of distribution was similar for both males and females in the contralateral side of the LC. In the ipsilateral side, FG+ neurons observed in females were mostly located between -9.72mm and -9.96mm from bregma, while in males, the distribution

of positive neurons was observed between -9.36mm and -9.96mm from Bregma. Concerning the dorsoventral localization of the FG+ soma, we found that the great majority was situated in the ventral part (males ipsilateral: 71%; males contralateral: 75%; females ipsilateral: 79% and females contralateral: 84%; Figure 2E and 2F). Overall, these results show that the LC projects bilaterally to the TCC. It also demonstrates that most of the projecting neurons are noradrenergic (Figure 2G) and located in the ventral portion of the LC. Females appear to have a slightly more condensed distribution within the rostro-caudal and dorsoventral axes.

To better characterize the NA projections from LC to TCC, we used TH-Cre transgenic rats, and we injected an anterograde Cre-dependent virus (AAV8/hSyn-DIO-mCherry) into the LC (Figure 3A). This strategy allows to target only noradrenergic cells projecting, among other regions, to the TCC (Figure 3B). Successful infection was confirmed by positive labelling for mCherry in the LC (Figure 3C), specifically by the observation of labelling in the nucleus, cytoplasm and some dendritic arborization and, as well, co-expressing DBH. At the level of the TCC, mCherry+ labelling was found throughout the TCC: while the innervation was dense in deep layers from layer V to III, a sparse innervation was observed in the layer I and only rare mCherry+ fibers in layer II, (Figure 3D, Left panel). This labelling is specifically from the LC as no infection was detected in adjacent noradrenergic regions as A5 and A7 (Figure S2). Confocal magnification photomicrographs show several varicosities throughout the mCherry+ / DBH+ fiber, reaching virtually all the layers of the TCC (Figure 3D, Right panel). As demonstrated above with FG retrograde studies, mCherry+ fibers were detected in both ipsi- and contralateral sides of the TCC. Both males and females showed a similar pattern of distribution of positive mCherry fibers in the TCC. However, the quantity of positive fibers observed in the TCC were proportional to the number of LC-NA neurons infected with the anterograde virus. Nevertheless, corroborating the findings obtained with the retrograde tracer FG, detection of mCherry positive fibers in the TCC were visually more abundant when the infection reached the ventral part of the LC. Overall, the results obtained support the previous findings showing the LC projects bilaterally to the TCC.

2) LC projections are in contact with the descending pain circuit targeting the TCC

Studies pointed out the role of RVM in pain modulation [42] and migraine pathophysiology [18]. To assess whether LC could modulate this projection, we injected anterograde Cre-dependent virus AAV8/hSyn-DIO-mCherry into the LC and/or FG in TCC.

Using the cohort 1, we first analyzed the distribution of FG+ neurons in RVM (Figure 4A). Our results showed that unilateral injection of the retrograde tracer FG into the TCC resulted in an equivalent number of positive neurons in both ipsi- and contralateral sides of the RVM in males and females (Figure 4B). When considering the distribution along the rostro-caudal axis, the majority of FG+ neurons were found in the most caudal part of the RVM (Figure 4C and 4D). When taking into consideration the sex, we observed a slight larger number, accompanied as well of a great variance, of FG+ neurons in the caudal part of the ipsilateral side in females (Figure 4E). Overall, these results show that the RVM projects bilaterally to the TCC.

Wondering whether contacts exist between RVM projecting neurons and LC endings, we analyzed both FG+ neurons and mCherry+ fibers (Figure 5A). We were able to observe that, indeed, some FG+ neurons were in contact with varicosities of mCherry+ fibers originated from the LC (Figure 5B and 5C). Altogether, our results suggest that modulation of the RVM neurons projecting to TCC by noradrenergic inputs from the LC is possible.

3) LC projections reach the leptomeninges

In migraine, events such as cortical spreading depression or inflammatory factors released from mast cell and/or intracranial vessels could lead to peripheral sensitization that in turn drives central sensitization. We assessed whether LC may play a role in these events by studying its projections to cortical superficial layer and leptomeninges. We used a filter paper embedded in FG and applied to the meningeal surface of SD rats (Figure 6A). The results we found were the similar for the males and female analyzed. First, we confirmed the FG migration by analyzing the ipsilateral TG and observing FG+ labelling neurons all present in V1 part of TG (Figure 6B). Then we studied the presence of FG+ neurons in the LC and we found the presence of labelling (Figure 6C). The FG+ neurons co-expressed the marker DBH, confirming their noradrenergic nature, and were distributed throughout the rostrocaudal as

well as the dorsoventral axis of the LC. Although FG site is restricted to the meninges, we found extensive FG labelling in several layers of the cortex (Figure 6D). In fact, cortical neurons that send dendrites to superficial layer as well as LC neurons might take FG spreading from the leptomeninges to the most superficial cortical layer. Indeed, when analyzing the cortex of the TH-Cre Long Evans rats injected with the anterograde mCherry virus, we also observed extensive distribution of mCherry +/ DBH+ fibers throughout the entire cortex, that reached the most superficial layer of cortex (Figure 6E).

Discussion

The present study employed the techniques of anatomical tracing to examine the direct and indirect connections between the LC and TCC in male and female (Figure 7). We did not find significant or major sex differences in the anatomical organization of LC projections to the TCC. Following injections of FG into the TCC, we observed most of the positive labelling in the central, caudal, and ventral part of the LC. Moreover, our results indicate that LC can also modulate neuronal TCC activity through an indirect descending pathway involving RVM, given that in this area, we found a convergence between neurons projecting to TCC, and LC-specific terminations. Finally, the anterograde injection in the LC confirms the noradrenergic innervation of the superficial layers of the cortex.

Technical considerations

Our data on efferent LC projections to TCC are in general accord with previous studies performed in rats using several approaches such as lesions, retrograde tracing, and anterograde tracing. Thus, anterograde tracer studies showed light label bilaterally at least in deep layers of TCC [20, 63] whereas using retrograde strategy, Couto (2006) failed to show LC neurons projecting to TCC. Moreover, anti-DBH-saporine injections into spinal trigeminal nucleus induced NA axonal degeneration at different levels of the LC [35]. However, one technical problem in our experiments was that most of the retrograde tracers we used, failed to label LC neurons, along with Couto et al (2006, [16]). Other studies reported the low labelling efficiency of AAV retrograde virus, which could justify our lack of results when using the retrograde EGFP virus. Indeed monoaminergic projection neurons, such as serotonergic neurons of raphe magnus, dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta or noradrenergic neurons of LC, seem to be resistant to AAV virus transduction [23,58,65]. The likely explanation for the lack of labelling in noradrenergic neurons is the entry of AAV virus into the axon terminals of these cells, or the lack of retrograde transport of the genetic material [23]. More unexpected, we failed to detect any LC neurons labeled from TCC following CTb injections while this tracer is known to be sensitive [23]. Probably, the fact that the CTb used in the present work was conjugated with a fluorophore 488 made it too heavy to be absorbed by the LC terminals. Finally, the best tracer was the FG that allowed us to label LC neurons from TCC injections. However, it is important to keep in mind that this

conventional tracer can be taken up by fibers of passage [15,17,50], which can lead to incorrect identification of projections, even though NA can be released from varicosities which are distributed along the fibers themselves. Moreover, the spread of FG around the injection site results in intense and diffuse labelling that may reflect deposition in the extracellular matrix or take up by neurons or glia [50]. Such non-specific labelling makes it difficult to reliably identify the injection extension. Taken into consideration these limitations, we selected for further analysis, FG sites in medulla that were restricted to the ventral part of TCC, where neurons are activated by both cutaneous and meningeal stimulations [8,12]. On the other hand, we found some technical issues when analyzing the meninges projections from LC. Indeed, we've tried to analyze the meninges from the TH-Cre Long Evans rats injected with the anterograde mCherry virus. However, we have faced a number of difficulties such as important meninge autofluorescence, poor penetration of antibodies, or damage of the meninges during injection into the LC and dissection. Furthermore, we cannot rule out that a part of LC neurons labeled from meningeal FG site are caused by the spread of FG to superficial cortical layers which are densely innervated by LC-NA terminations [24,47]. The examination of the cortical parenchyma below the application of the FG showed some immunoreactivity and, additionally, we found mCherry+ fibers in all the cortex and more specifically in the most superficial layer in the contact with leptomeninges.

In contrast to AAV retrograde, noradrenergic neurons do not show resistance to AAV anterograde virus that are injected into the LC in agreement with previous studies [23,68]. Following AAV8 injections, axons with varicosities were labeled in TCC, RVM, and cortex. In a subset of bilaterally injected animals, unilateral expression was observed, possibly due to off-target administration, like other studies describing the difficulties of targeting a small brainstem nucleus and observing unilateral expression after bilateral LC administration of the viral vector [33,49,53]. When the LC injection was successfully placed, all neurons mCherry+ were DBH+ although no neurons were labeled in A5 or A7.

Functional considerations of LC projections

Functionally, it has been shown that LC is involved in trigeminal pain and migraine pathophysiology. Indeed LC is activated by different orofacial stimulations, such as capsaicin-induced trigeminal nociception [57] and nitroglycerin-induced headache [56], but it is not overactivated by electrical stimulation of the TG [6]. Upon systemic propranolol treatment, a beta-adrenoreceptor blocker, it was observed a decrease of both cutaneous ophthalmic allodynia and the TCC central sensitization [9]. Additionally, this treatment was shown to decrease the LC activity [9]. This suggests that the activation of the LC neurons might have a facilitatory role on TCC sensitization. This is in part corroborated by the fact that destruction of the noradrenergic neurons in the LC inhibits the dural-evoked TCC activation [63]. However, the same authors showed that the susceptibility to cortical spreading depression is increased in this low noradrenergic output condition [63], suggesting a divergent role of the LC in migraine pathophysiology.

Most of FG+ neurons in LC were DBH+ but a few of LC neurons were DBH- in male and female. Although it is generally accepted that all LC neurons contain NA [51,54], recent studies have highlighted a subpopulation of GABA interneurons into the LC that modulate LC excitability [10,31]. However, no non-adrenergic projection neurons have been demonstrated to date. Therefore, it is likely that DBH immunofluorescence was too low to be detected in these few neurons.

Our results indicate that RVM receive bilateral LC projections, according to previous studies [37,66]. However, the functional significance of this pathway raises questions, given that local anesthesia of the nucleus Raphe Magnus does not block LC stimulation-produced inhibition of dorsal horn neurons [32]. This pathway seems therefore to be a minor route for descending pain pathway from LC in acute conditions. As the analgesic activity of LC is altered in chronic pain conditions (for review, see [38]), new functional pathways, such as the LC-RVM-TCC one, might emerge when pain is long-lasting. Neurons in the RVM can either inhibit or facilitate pain transmission through direct projections to the spinal trigeminal nucleus [30]. Three distinct classes of cells have been identified based upon the temporal correlation of changes in their firing with the noxious stimulus-evoked reflex [20]. On-cells increase their neuronal discharge just prior to the occurrence of the tail flick. In contrast, off-cells are characterized by an abrupt pause in firing prior to a noxious stimulus evoked reflex. A third category, neutral

cells, does not respond in a consistent manner to noxious stimulation. Each sub-class of RVM neuron modulates nociception in a distinct manner. Thus, activation of the on-cells and inhibition of the off-cell activities have been involved in the expression of allodynia in a model of migraine [18]. More recently, the activation of at least one sub-class of neutral cells, serotonergic neurons, has been demonstrated to facilitate nociception [13].

We demonstrated FG+ neurons in the LC from meninges injection sites. Whether these FG+ neurons result from meninges site, or whether they result from FG diffusion to the most superficial cortical layers, this is particularly interesting. Indeed, in the first case, NA released by LC could strengthen neurogenic inflammation in meninges ([19,24]). Moreover, in leptomeninges, nociceptors were identified in human studies [21]. The activity of these nociceptors may be modulated par directly by LC. In the second case, penetrating pial arterioles and intracortical microvessels receive a central NA input, originating from the LC. Such NA neuronal-glial and neuronal-glial-vascular associations could be of significance in the regulation of local metabolic and vascular functions under normal and pathologic situations [24]. Thus stimulation of LC can change blood-brain barrier permeability [7,29,47], and the stimulation of cells locally within the LC lead to an increase in cortical cerebral blood flow [59]. Moreover, the glymphatic system, which is thought to be responsible for the delayed sensitization of TCC following cortical spreading depression by releasing all inflammatory agents at once, is likely to be under LC control. This assumption comes from the observations that glymphatic flux is potentiated during sleep, anesthesia or pharmacological inhibition of LC [4], but decreased during wake and modulated by adrenergic antagonists [67].

Conclusion

The role of LC in gating and modulating sensory information [5] could account for increasing TCC excitability and, in turn, lower the threshold for headache, through direct and indirect pathways. The involvement of LC in migraine is consistent with imaging studies revealing an early activation of several regions in migraineurs' brainstem during migraine attacks [39]. Moreover, brainstem/LC activity fluctuates along physiological rhythms and is influenced by homeostatic states. And in particular, because the LC receives strong inputs from the hypothalamus [46] and amygdala [60], its level of activity can also be influenced by the different triggers of migraine attack (e.g., feeling hungry, being tired or stressed). The LC would therefore in turn produce changes at both peripheral – by promoting the vasomotility of intracerebral vessels leading to enhanced peripheral nociceptive inputs to TCC [26] – and central levels – by enhancing the processing of dural nociceptor information in Sp5C – lowering the headache threshold.

Acknowledgements

This work was supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Université Clermont Auvergne (France), and Région Auvergne (France). We thank Ms. Celine Gonthier-Gueret for technical help with this project, Mr. Cedric Peirs for the virus supply, and Ms. Anne-Marie Gaydier for secretarial assistance.

The authors declare no competing financial interests.

References:

- [1] Afridi SK, Giffin NJ, Kaube H, Friston KJ, Ward NS, Frackowiak RSJ, Goadsby PJ. A positron emission tomographic study in spontaneous migraine. *Arch Neurol* 2005;62:1270–1275.
- [2] Aicher SA, Hermes SM, Whittier KL, Hegarty DM. Descending projections from the rostral ventromedial medulla (RVM) to trigeminal and spinal dorsal horns are morphologically and neurochemically distinct. *J Chem Neuroanat* 2012;43:103–111.
- [3] Bahra A, Matharu MS, Buchel C, Frackowiak RS, Goadsby PJ. Brainstem activation specific to migraine headache. *Lancet* 2001;357:1016–1017.
- [4] Benveniste H, Lee H, Ding F, Sun Q, Al-Bizri E, Makaryus R, Probst S, Nedergaard M, Stein EA, Lu H. Anesthesia with Dexmedetomidine and Low-dose Isoflurane Increases Solute Transport via the Glymphatic Pathway in Rat Brain When Compared with High-dose Isoflurane. *Anesthesiology* 2017;127:976–988.
- [5] Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 2003;42:33–84.
- [6] Bohár Z, Fejes-Szabó A, Tar L, Varga H, Tajti J, Párdutz Á, Vécsei L. Evaluation of c-Fos immunoreactivity in the rat brainstem nuclei relevant in migraine pathogenesis after electrical stimulation of the trigeminal ganglion. *Neurol Sci* 2013;34:1597–1604.
- [7] Borges K, Ohlemeyer C, Trotter J, Kettenmann H. AMPA/kainate receptor activation in murine oligodendrocyte precursor cells leads to activation of a cation conductance, calcium influx and blockade of delayed rectifying K⁺ channels. *Neuroscience* 1994;63:135–149.
- [8] Boyer N, Dallel R, Artola A, Monconduit L. General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain* 2014;155:1196–1205.
- [9] Boyer N, Signoret-Genest J, Artola A, Dallel R, Monconduit L. Propranolol treatment prevents chronic central sensitization induced by repeated dural stimulation. *Pain* 2017;158:2025–2034.
- [10] Breton-Provencher V, Sur M. Active control of arousal by a locus coeruleus GABAergic circuit. *Nat Neurosci* 2019;22:218–228.
- [11] Bruinstroop E, Cano G, Vanderhorst VGJM, Cavalcante JC, Wirth J, Sena-Esteves M, Saper CB. Spinal projections of the A5, A6 (locus coeruleus), and A7 noradrenergic cell groups in rats. *J Comp Neurol* 2012;520:1985–2001.

- [12] Burstein R, Yamamura H, Malick A, Strassman AM. Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *J Neurophysiol* 1998;79:964–982.
- [13] Cai Y-Q, Wang W, Hou Y-Y, Pan ZZ. Optogenetic activation of brainstem serotonergic neurons induces persistent pain sensitization. *Mol Pain* 2014;10:70.
- [14] Cao Y, Aurora SK, Nagesh V, Patel SC, Welch KMA. Functional MRI-BOLD of brainstem structures during visually triggered migraine. *Neurology* 2002;59:72–78.
- [15] Conte WL, Kamishina H, Reep RL. Multiple neuroanatomical tract-tracing using fluorescent Alexa Fluor conjugates of cholera toxin subunit B in rats. *Nat Protoc* 2009;4:1157–1166.
- [16] Couto LB, Moroni CR, dos Reis Ferreira CM, Elias-Filho DH, Parada CA, Pelá IR, Coimbra NC. Descriptive and functional neuroanatomy of locus coeruleus-noradrenaline-containing neurons involvement in bradykinin-induced antinociception on principal sensory trigeminal nucleus. *J Chem Neuroanat* 2006;32:28–45.
- [17] Dado RJ, Burstein R, Cliffer KD, Giesler GJ. Evidence that Fluoro-Gold can be transported avidly through fibers of passage. *Brain Research* 1990;533:329–333.
- [18] Edelmayer RM, Vanderah TW, Majuta L, Zhang E-T, Fioravanti B, De Felice M, Chichorro JG, Ossipov MH, King T, Lai J, Kori SH, Nelsen AC, Cannon KE, Heinricher MM, Porreca F. Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in headache-related pain. *Ann Neurol* 2009;65:184–193.
- [19] Fan W, Zhu X, He Y, Li H, Gu W, Huang F, He H. Peripheral sympathetic mechanisms in orofacial pain. *J Pain Res* 2018;11:2425–2431.
- [20] Fields HL, Heinricher MM, Mason P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annu Rev Neurosci* 1991;14:219–245.
- [21] Fontaine D, Almairac F, Santucci S, Fernandez C, Dallel R, Pallud J, Lanteri-Minet M. Dural and pial pain-sensitive structures in humans: new inputs from awake craniotomies. *Brain* 2018;141:1040–1048.
- [22] Fritschy JM, Grzanna R. Distribution of locus coeruleus axons within the rat brainstem demonstrated by Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tracing in combination with dopamine-beta-hydroxylase immunofluorescence. *J Comp Neurol* 1990;293:616–631.
- [23] Ganley RP, Werder K, Wildner H, Zeilhofer HU. Spinally projecting noradrenergic neurons of the locus coeruleus display resistance to AAV2retro-mediated transduction. *Mol Pain* 2021;17:17448069211037888.

- [24] Giorgi FS, Galgani A, Puglisi-Allegra S, Limanaqi F, Busceti CL, Fornai F. Locus Coeruleus and neurovascular unit: From its role in physiology to its potential role in Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neurosci Res* 2020;98:2406–2434.
- [25] Goadsby PJ. Neurovascular headache and a midbrain vascular malformation: evidence for a role of the brainstem in chronic migraine. *Cephalalgia* 2002;22:107–111.
- [26] Goadsby PJ, Lambert GA, Lance JW. Differential effects on the internal and external carotid circulation of the monkey evoked by locus coeruleus stimulation. *Brain Research* 1982;249:247–254.
- [27] Goadsby PJ, Lambert GA, Lance JW. The mechanism of cerebrovascular vasoconstriction in response to locus coeruleus stimulation. *Brain Res* 1985;326:213–217.
- [28] Haas DC, Kent PF, Friedman DI. Headache caused by a single lesion of multiple sclerosis in the periaqueductal gray area. *Headache* 1993;33:452–455.
- [29] Harik SI. Blood--brain barrier sodium/potassium pump: modulation by central noradrenergic innervation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:4067–4070.
- [30] Heinricher MM, Tavares I, Leith JL, Lumb BM. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res Rev* 2009;60:214–225.
- [31] Jin X, Li S, Bondy B, Zhong W, Oginsky MF, Wu Y, Johnson CM, Zhang S, Cui N, Jiang C. Identification of a Group of GABAergic Neurons in the Dorsomedial Area of the Locus Coeruleus. *PLOS ONE* 2016;11:e0146470.
- [32] Jones SL, Gebhart GF. Spinal pathways mediating tonic, coeruleospinal, and raphe-spinal descending inhibition in the rat. *J Neurophysiol* 1987;58:138–159.
- [33] Kane GA, Vazey EM, Wilson RC, Shenhav A, Daw ND, Aston-Jones G, Cohen JD. Increased locus coeruleus tonic activity causes disengagement from a patch-foraging task. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2017;17:1073–1083.
- [34] Katsarava Z, Egelhof T, Kaube H, Diener H-C, Limmroth V. Symptomatic migraine and sensitization of trigeminal nociception associated with contralateral pontine cavernoma. *Pain* 2003;105:381–384.
- [35] Kaushal R, Taylor BK, Jamal AB, Zhang L, Ma F, Donahue R, Westlund KN. GABA-A receptor activity in the noradrenergic locus coeruleus drives trigeminal neuropathic pain in the rat; contribution of NA α 1 receptors in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 2016;334:148–159.

- [36] Lance JW, Lambert GA, Goadsby PJ, Duckworth JW. Brainstem influences on the cephalic circulation: experimental data from cat and monkey of relevance to the mechanism of migraine. *Headache* 1983;23:258–265.
- [37] Levitt P, Moore RY. Origin and organization of brainstem catecholamine innervation in the rat. *J Comp Neurol* 1979;186:505–528.
- [38] Llorca-Torralba M, Borges G, Neto F, Mico JA, Berrocoso E. Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience* 2016;338:93–113.
- [39] Maniyar FH, Sprenger T, Monteith T, Schankin C, Goadsby PJ. Brain activations in the premonitory phase of nitroglycerin-triggered migraine attacks. *Brain* 2014;137:232–241.
- [40] Moulton EA, Becerra L, Johnson A, Burstein R, Borsook D. Altered hypothalamic functional connectivity with autonomic circuits and the locus coeruleus in migraine. *PLoS One* 2014;9:e95508.
- [41] Nosedá R, Burstein R. Migraine pathophysiology: Anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *PAIN®* 2013.
- [42] Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest* 2010;120:3779–3787.
- [43] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* - 6th Edition. n.d. Available: <https://www.elsevier.com/books/the-rat-brain-in-stereotaxic-coordinates/paxinos/978-0-12-374121-9>. Accessed 12 Oct 2021.
- [44] Pertovaara A. The noradrenergic pain regulation system: a potential target for pain therapy. *Eur J Pharmacol* 2013;716:2–7.
- [45] Pieribone VA, Aston-Jones G. Adrenergic innervation of the rat nucleus locus coeruleus arises predominantly from the C1 adrenergic cell group in the rostral medulla. *Neuroscience* 1991;41:525–542.
- [46] Puskás N, Papp RS, Gallatz K, Palkovits M. Interactions between orexin-immunoreactive fibers and adrenaline or noradrenaline-expressing neurons of the lower brainstem in rats and mice. *Peptides* 2010;31:1589–1597.
- [47] Raichle ME, Hartman BK, Eichling JO, Sharpe LG. Central noradrenergic regulation of cerebral blood flow and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975;72:3726–3730.
- [48] Raskin NH, Hosobuchi Y, Lamb S. Headache may arise from perturbation of brain. *Headache* 1987;27:416–420.

- [49] Rorabaugh JM, Chalermphanupap T, Botz-Zapp CA, Fu VM, Lembeck NA, Cohen RM, Weinschenker D. Chemogenetic locus coeruleus activation restores reversal learning in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain* 2017;140:3023–3038.
- [50] Saleeba C, Dempsey B, Le S, Goodchild A, McMullan S. A Student's Guide to Neural Circuit Tracing. *Frontiers in Neuroscience* 2019;13:897.
- [51] Schwarz LA, Luo L. Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. *Curr Biol* 2015;25:R1051–R1056.
- [52] Schwarz LA, Miyamichi K, Gao XJ, Beier KT, Weissbourd B, DeLoach KE, Ren J, Ibanes S, Malenka RC, Kremer EJ, Luo L. Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenaline circuit. *Nature* 2015;524:88–92.
- [53] Stevens L. Optimization of chemogenetic modulation of the locus coeruleus in rat to study its relation to hippocampal excitability [dissertation]. Ghent University. (2021) Available: <http://hdl.handle.net/1854/LU-8722018>. Accessed 12 Oct 2021.
- [54] Swanson LW, Hartman BK. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. *J Comp Neurol* 1975;163:467–505.
- [55] Tanaka M, Matsumoto Y, Murakami T, Hisa Y, Iбата Y. The origins of catecholaminergic innervation in the rostral ventromedial medulla oblongata of the rat. *Neurosci Lett* 1996;207:53–56.
- [56] Tassorelli C, Joseph SA. Systemic nitroglycerin induces Fos immunoreactivity in brainstem and forebrain structures of the rat. *Brain Res* 1995;682:167–181.
- [57] Ter Horst GJ, Meijler WJ, Korf J, Kemper RH. Trigeminal nociception-induced cerebral Fos expression in the conscious rat. *Cephalalgia* 2001;21:963–975.
- [58] Tervo DGR, Hwang B-Y, Viswanathan S, Gaj T, Lavzin M, Ritola KD, Lindo S, Michael S, Kuleshova E, Ojala D, Huang C-C, Gerfen CR, Schiller J, Dudman JT, Hantman AW, Looger LL, Schaffer DV, Karpova AY. A Designer AAV Variant Permits Efficient Retrograde Access to Projection Neurons. *Neuron* 2016;92:372–382.
- [59] Toussay X, Basu K, Lacoste B, Hamel E. Locus coeruleus stimulation recruits a broad cortical neuronal network and increases cortical perfusion. *J Neurosci* 2013;33:3390–3401.
- [60] Van Bockstaele EJ, Colago EE, Valentino RJ. Amygdaloid corticotropin-releasing factor targets locus coeruleus dendrites: substrate for the co-ordination of emotional and cognitive limbs of the stress response. *J Neuroendocrinol* 1998;10:743–757.

- [61] Van Bockstaele EJ, Pieribone VA, Aston-Jones G. Diverse afferents converge on the nucleus paragigantocellularis in the rat ventrolateral medulla: retrograde and anterograde tracing studies. *J Comp Neurol* 1989;290:561–584.
- [62] Veloso F, Kumar K, Toth C. Headache secondary to deep brain implantation. *Headache* 1998;38:507–515.
- [63] Vila-Pueyo M, Strother LC, Kefel M, Goadsby PJ, Holland PR. Divergent influences of the locus coeruleus on migraine pathophysiology. *Pain* 2019;160:385–394.
- [64] Voisin DL, Guy N, Chalus M, Dallel R. Nociceptive stimulation activates locus coeruleus neurones projecting to the somatosensory thalamus in the rat. *J Physiol* 2005;566:929–937.
- [65] Wang Z, Maunze B, Wang Y, Tsoufas P, Blackmore MG. Global Connectivity and Function of Descending Spinal Input Revealed by 3D Microscopy and Retrograde Transduction. *J Neurosci* 2018;38:10566–10581.
- [66] Westlund KN, Coulter JD. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport studies and dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry. *Brain Res* 1980;2:235–264.
- [67] Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, O’Donnell J, Christensen DJ, Nicholson C, Iliff JJ, Takano T, Deane R, Nedergaard M. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* 2013;342:373–377.
- [68] Zerbi V, Floriou-Servou A, Markicevic M, Vermeiren Y, Sturman O, Privitera M, von Ziegler L, Ferrari KD, Weber B, De Deyn PP, Wenderoth N, Bohacek J. Rapid Reconfiguration of the Functional Connectome after Chemogenetic Locus Coeruleus Activation. *Neuron* 2019;103:702-718.e5.

Tables and Figures

Table I: Description of the cohorts of rats used in the present study and resume of the results obtained.

Cohort	Injections	Males	Females	Visualization / Analysis				
				Meninge	TG	Sp5C	LC	Others
Cohort 1	FG in the Sp5C	N=4	N=4	No	No	Injection Site	Yes-Positive FG Labeling	RVM-Positive FG labeling
Cohort 2	Rhodamine in the Sp5C	N=4	N=2	No	No	Injection Site	Yes-Almost no labeling	/
Cohort 3	CTb488 in the Sp5C	N=2	N=2	No	No	Injection Site	Yes-No labeling	/
Cohort 4	Dil in the Sp5C	N=5	N=1	No	No	Injection Site	Yes-No labeling	/
Cohort 5	AAVrg/hSyn-EGFP in the Sp5C AAV8/hSyn-DIO-mCherry in the LC	N=2	N=2	No	No	Injection Site + Positive labeling mCherry	Injection Site + 1 positive EGFP cell in the LC	A5-No labeling A7-No labeling
Cohort 6	FG in the Sp5C AAV8/hSyn-DIO-mCherry in the LC	/	N=2	Yes	No	Injection Site + Positive labeling mCherry	Injection Site + Positive FG labeling	A5-No labeling A7-No labeling
Cohort 7	FG Meniges	N=5	N=1	No	Yes-Positive FG Labeling	No	Yes-Positive FG Labeling	Cortex-Positive labeling

Abbreviations: CTb, Cholera Toxin Subunit B; Dil, 1,1'-Diocetadecyl-3,3,3',3'-tetramethyl indocarbocyanine perchlorate; EGFP, Enhanced Green Fluorescent Protein; FG, Fluorogold; LC, Locus Coeruleus; Sp5C, spinal trigeminal nucleus caudalis; RVM, Rostral Ventromedial Medulla; TG, Trigeminal Ganglion.

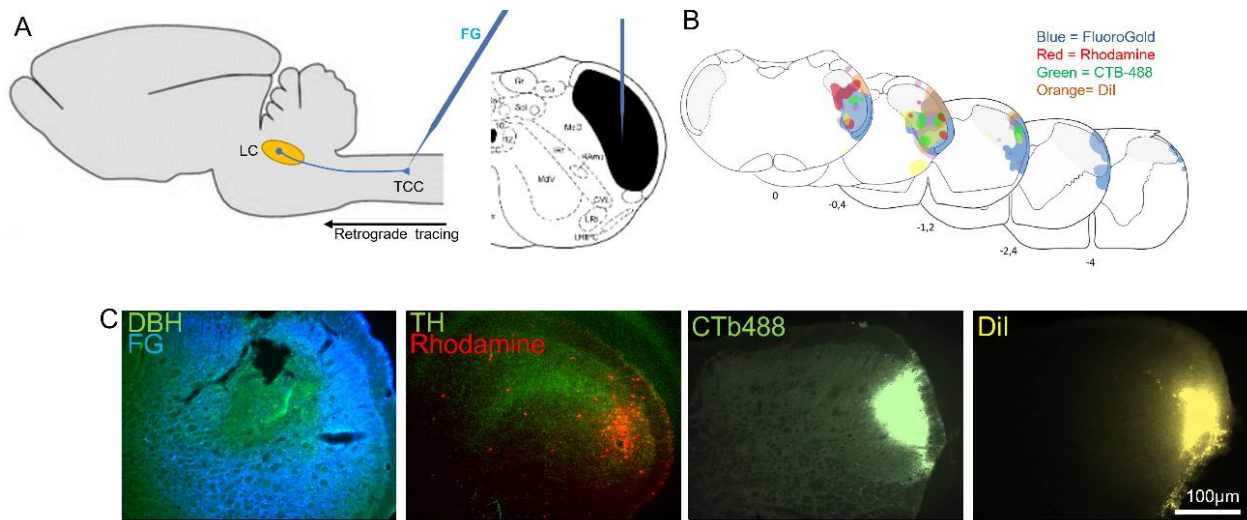


Figure 1: Retrograde labelling to identify Trigemino-Cervical Complex (TCC) inputs. A) Schematic representation of the retrograde tracing strategy to target Locus coeruleus (LC) neurons projecting to the TCC in Sprague-Dawley male and female rats (Left Side) and schematic representation of the target zone of injection (Right Side). B) Overall representation of the injection sites and their extension in the TCC using traditional tracers. C) Representative photomicrographs of the injection sites for each traditional tracer used.

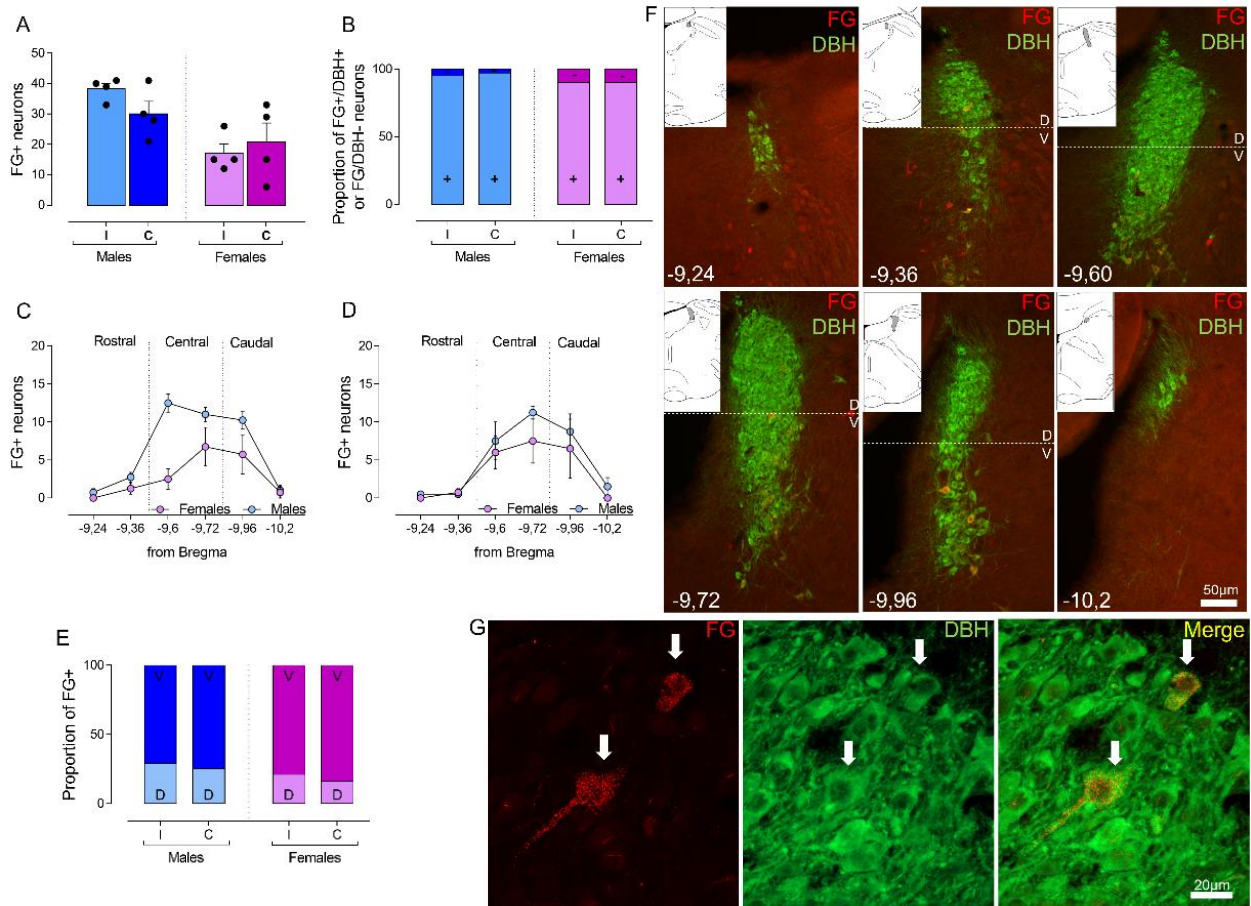


Figure 2: Fluorogold (FG) retrograde tracer labelling Locus coeruleus (LC)-projecting neurons to the Trigemino-Cervical Complex (TCC). A) Total FG-positive profiles quantified in the ipsi- and contralateral sites of the LC, in both males and females' rats. B) Proportion of total FG-positive profiles expressing Dopamine beta-hydroxylase (DBH; light blue for the males and light rose for females) versus FG positive profiles not-expressing DBH (dark blue for the males and dark rose for the females) in both ipsi- and contralateral sides. C-D) Distribution of the FG positive profiles throughout the rostro-caudal axis in the ipsilateral side (C) or contralateral side (D) of the LC in both male and female rats. E) Proportion of total FG-positive profiles localized in the dorsal part or in the ventral part of the LC in both male and female rats. F) Representative photomicrographs of the distribution of FG-positive profiles in the LC of a male rat, with a transverse line indicating the division of Dorsal (D) and Ventral (V) part of the LC. The inserts highlight the localization in the Paxinos and Watson Atlas (Edition 2006). G) Magnified photomicrograph of an FG-positive profile and its colocalization with DBH marker.

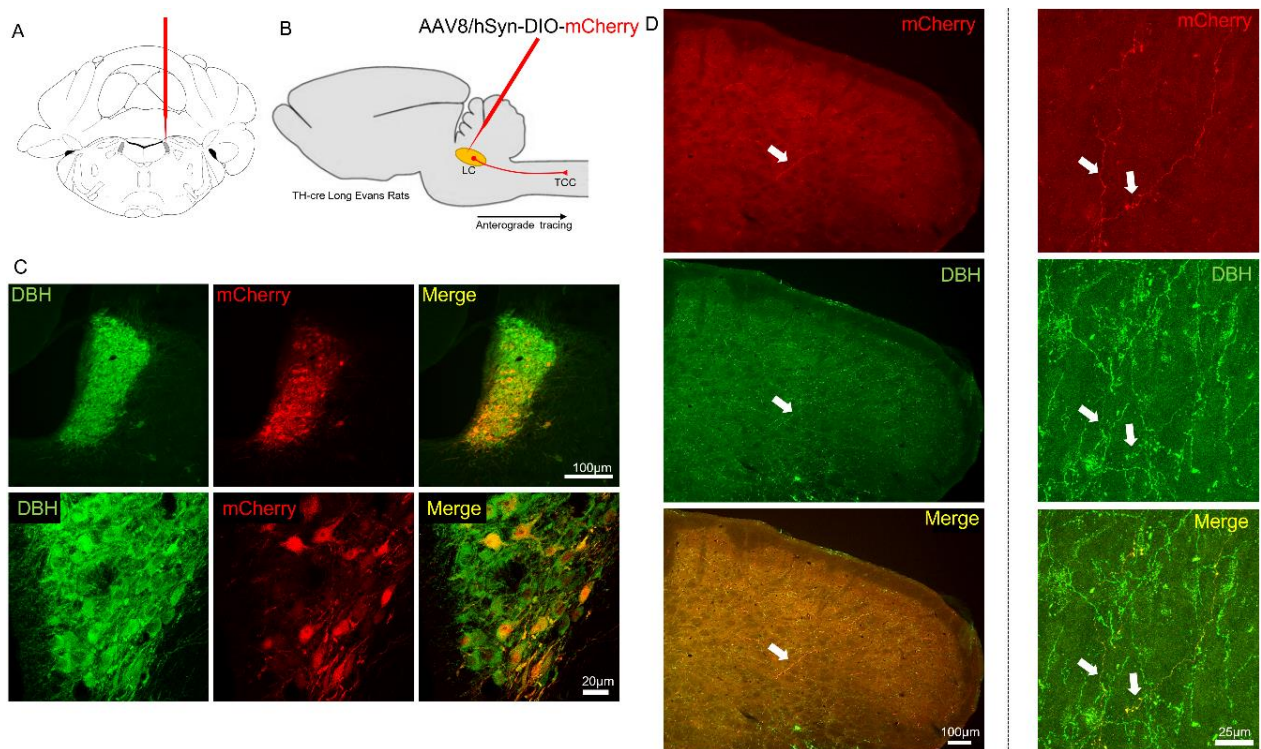


Figure 3: mCherry anterograde tracer labelling Locus coeruleus (LC)-terminations in the Trigemino-Cervical Complex (TCC). A) Schematic representation of the target zone of injection / infection in the LC. B) Schematic representation of the anterograde tracing strategy to target the LC-noradrenergic terminations in the Sp5C in both males and females TH-Cre Long Evans Rats. C) Representative immunohistochemistry of mCherry expression in the LC (above) and high-power confocal images of mCherry in LC noradrenergic neurons. D) Representative photomicrographs showing the LC-noradrenergic innervation in the TCC (Left side) and high-power confocal images of a mCherry- positive fiber and its colocalization with DBH (Right side).

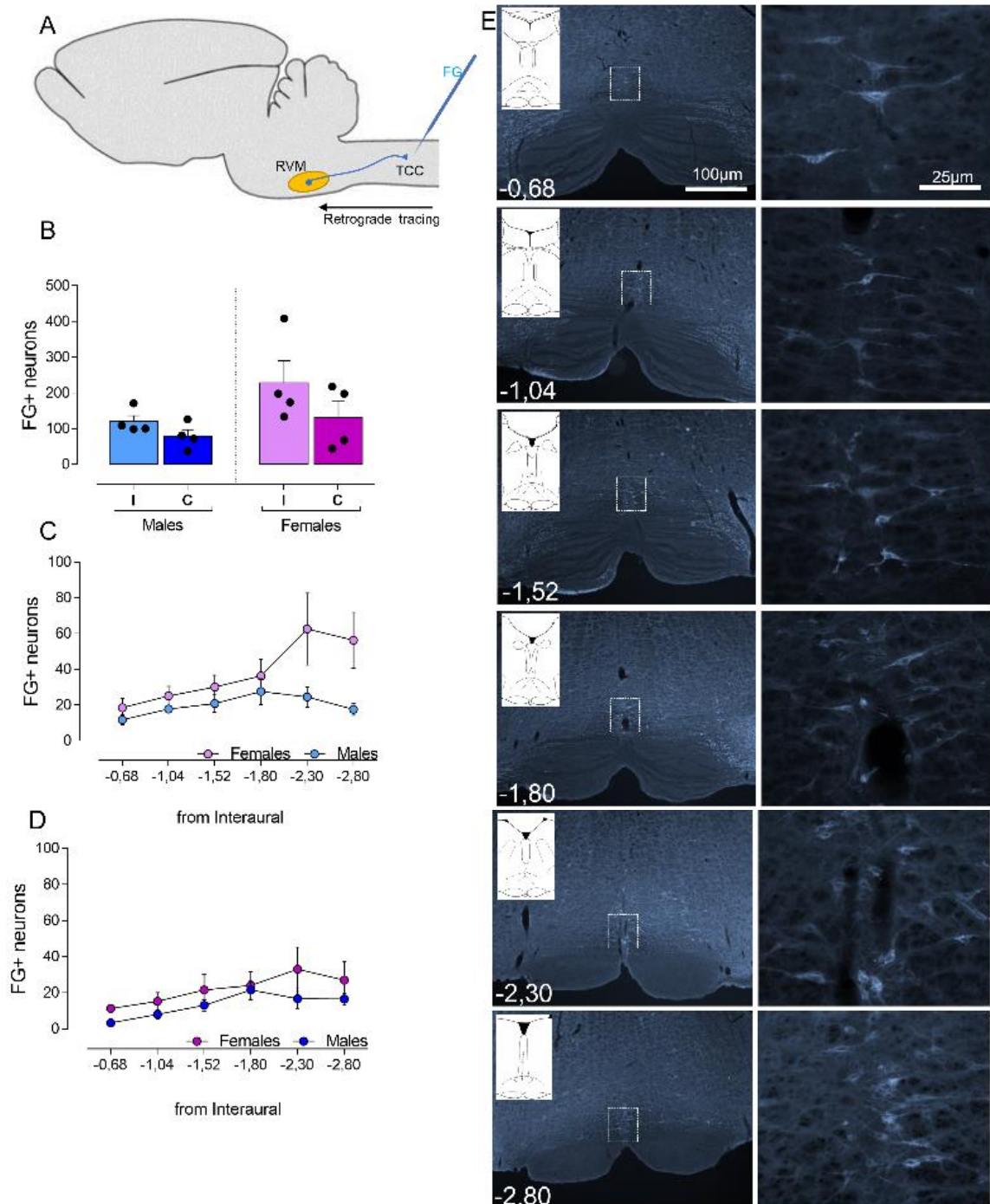


Figure 4: Fluorogold (FG) retrograde tracer labelling Rostral ventromedial medulla (RVM)-projecting neurons to the Trigemino-Cervical Complex (TCC). A) Schematic representation of the retrograde tracing strategy to target RVM neurons projecting to the TCC in Sprague-Dawley male and female rats. B) Total FG-positive profiles quantified in the ipsi- and contralateral sites of the RVM, in both males and females' rats. C-D) Distribution of the FG positive profiles throughout the rostro-caudal axis in the ipsilateral side (C) or contralateral side (D) of the RVM in both male and female rats. F) Representative photomicrographs of the distribution of FG-positive profiles in the RVM of a female rat. The inserts highlight the localization in the Paxinos and Watson Atlas (2006, 6th Edition) and the dashed square identifies the zone of magnification in right panel.

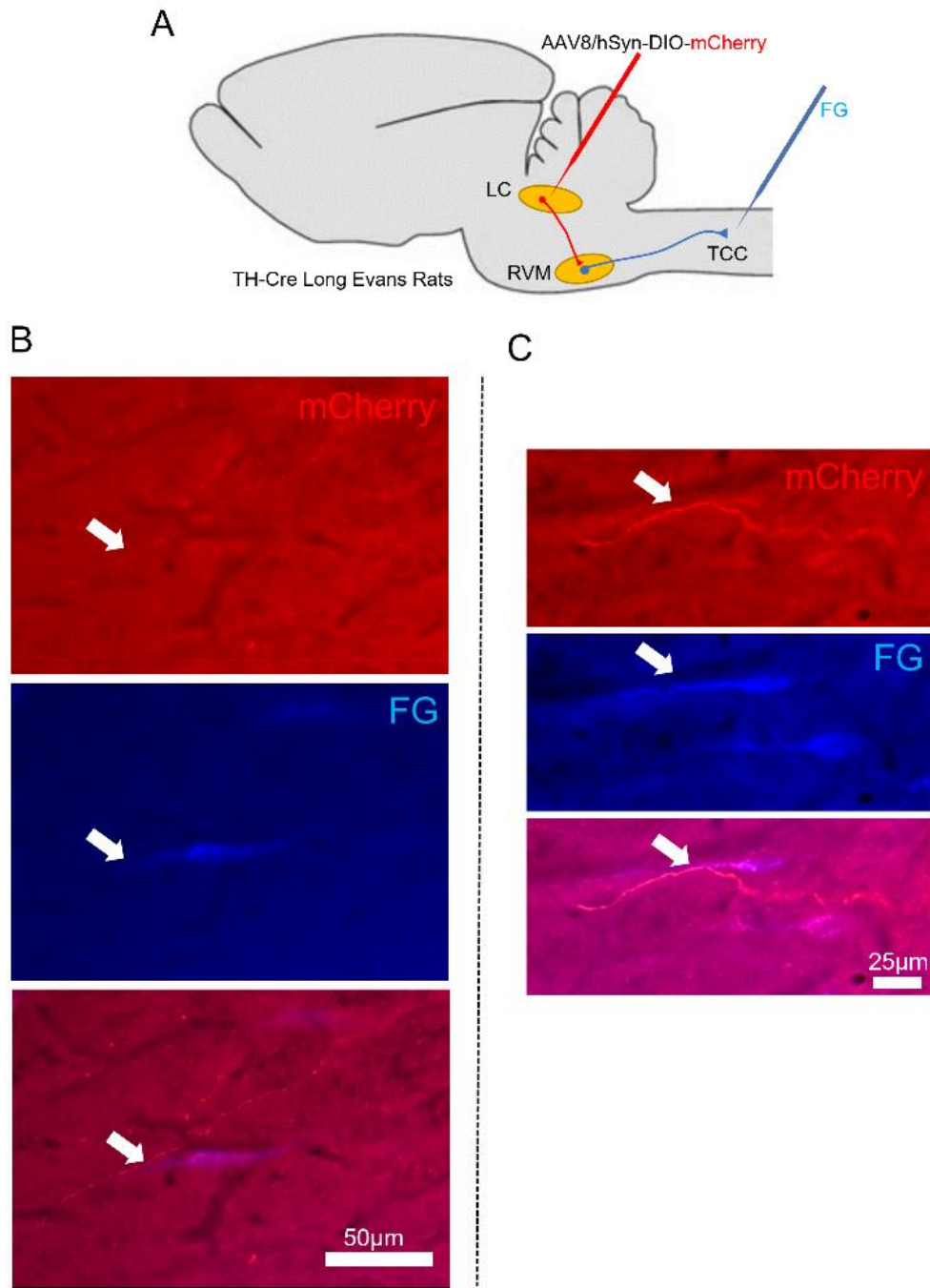


Figure 5: Indirect descending projection of the Locus Coeruleus (LC) to the Trigemino-Cervical Complex (TCC), via Rostral ventromedial medulla (RVM). A) Schematic representation of the double anterograde (Virus mCherry) and retrograde (Fluorogold) tracing strategy to label RVM neurons projecting to the TCC and receiving direct innervation from the LC, in TH-Cre Long Evans male rats. B-C) Magnified photomicrographs of an FG-positive profile and its contact with a mCherry fiber (white arrow).

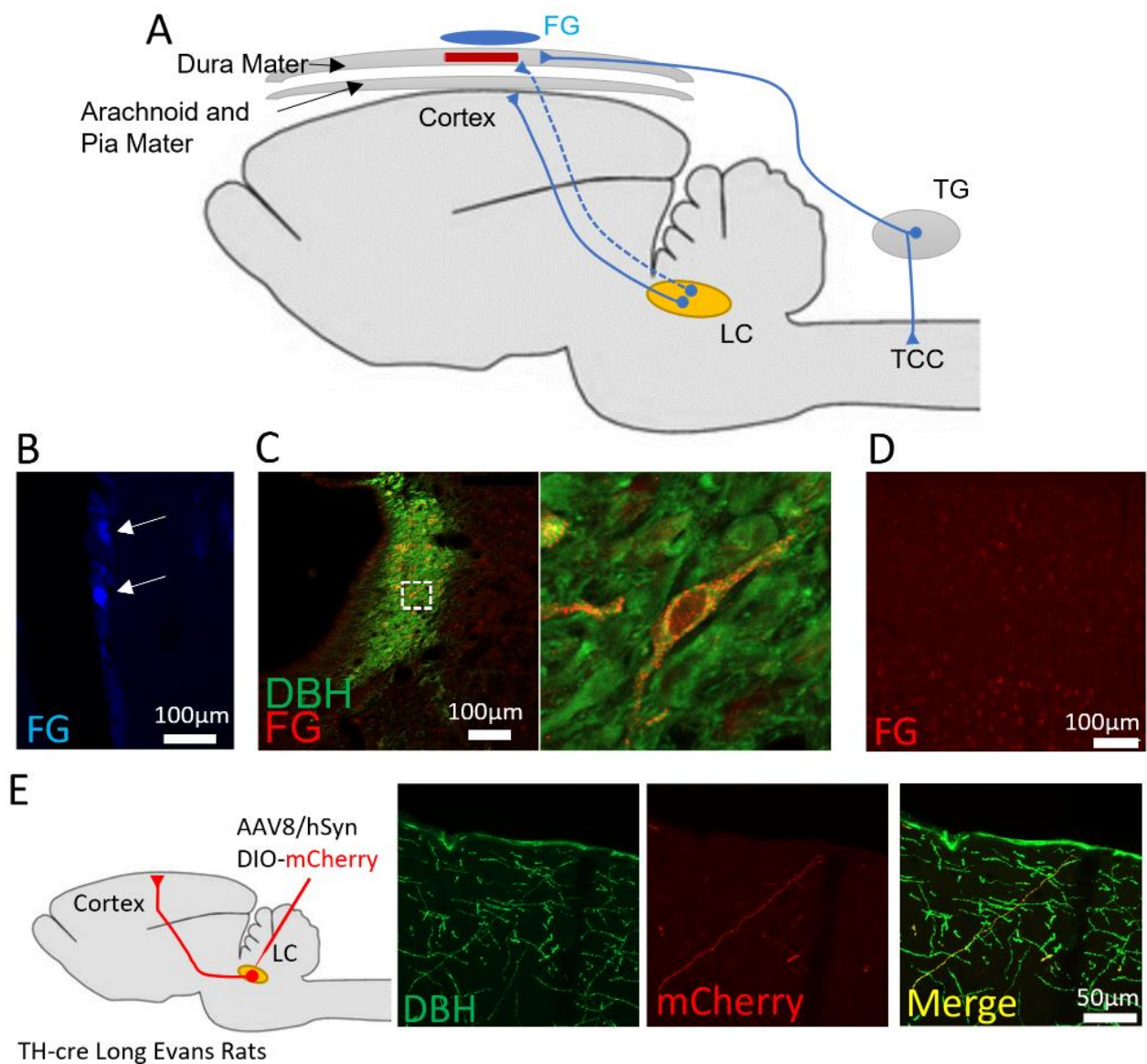


Figure 6: Putative modulation of the encephalic peripheral circulatory system by direct Locus coeruleus (LC) innervation. A-C) Schematic representation of the tracing strategy: A) a filter paper containing Fluorogold (FG) was directly applied to the meninges. FG would be captured by putative LC terminals surrounding meningeal blood vessels and migrate to the soma of the LC neurons. B) Confirmation of FG migration by the presence of FG+ profiles in the Trigeminal ganglion (TG). C) FG retrograde tracer labelling LC-projecting neurons and magnified FG+/DBH+ positive cell in the LC (On the right). D) Positive FG labelling in the Somatosensory Cortex (SST), near to the zone of application of the FG. E) mCherry anterograde tracer labelling LC-terminations in the SSC, analyzed in TH-Cre Long Evans rats receiving LC injection of the anterograde mCherry virus.

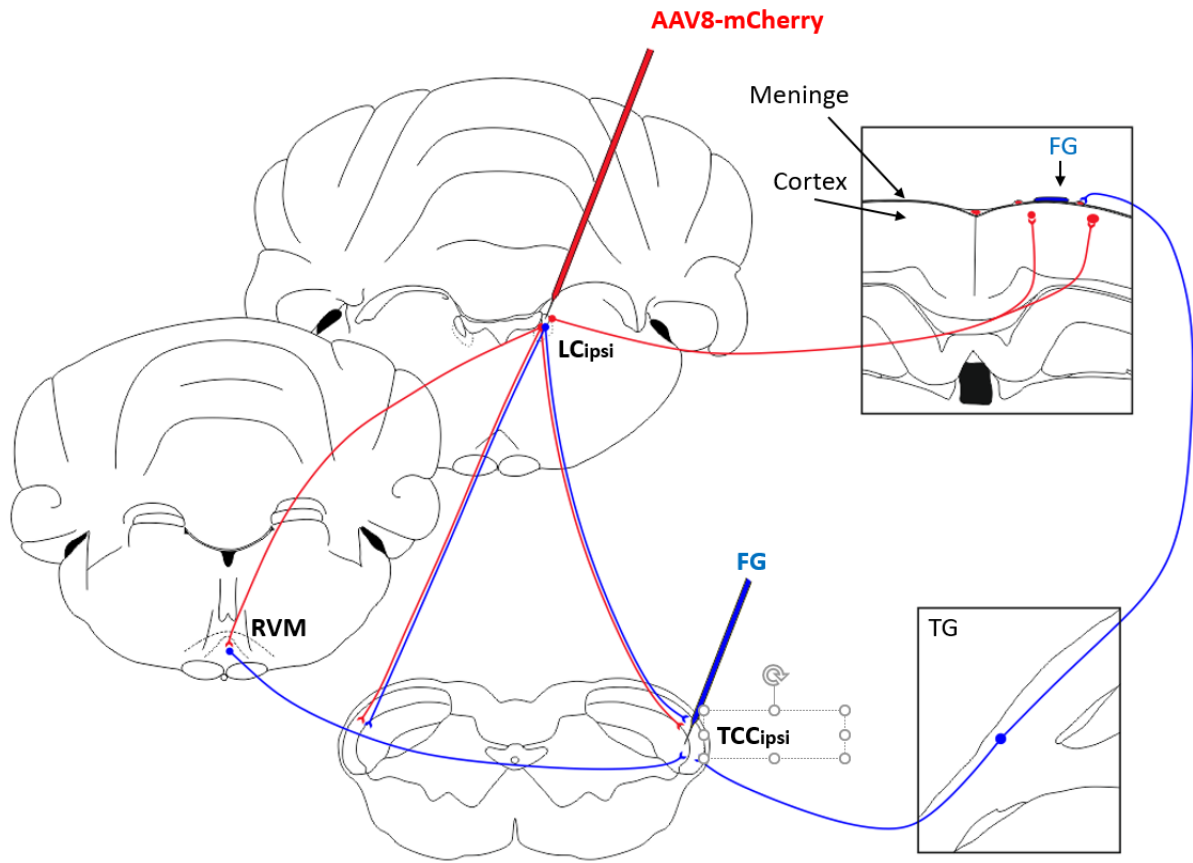


Figure 7: Proposed direct and indirect connections of the Locus coeruleus (LC) with Trigemino-Cervical Complex (TCC).

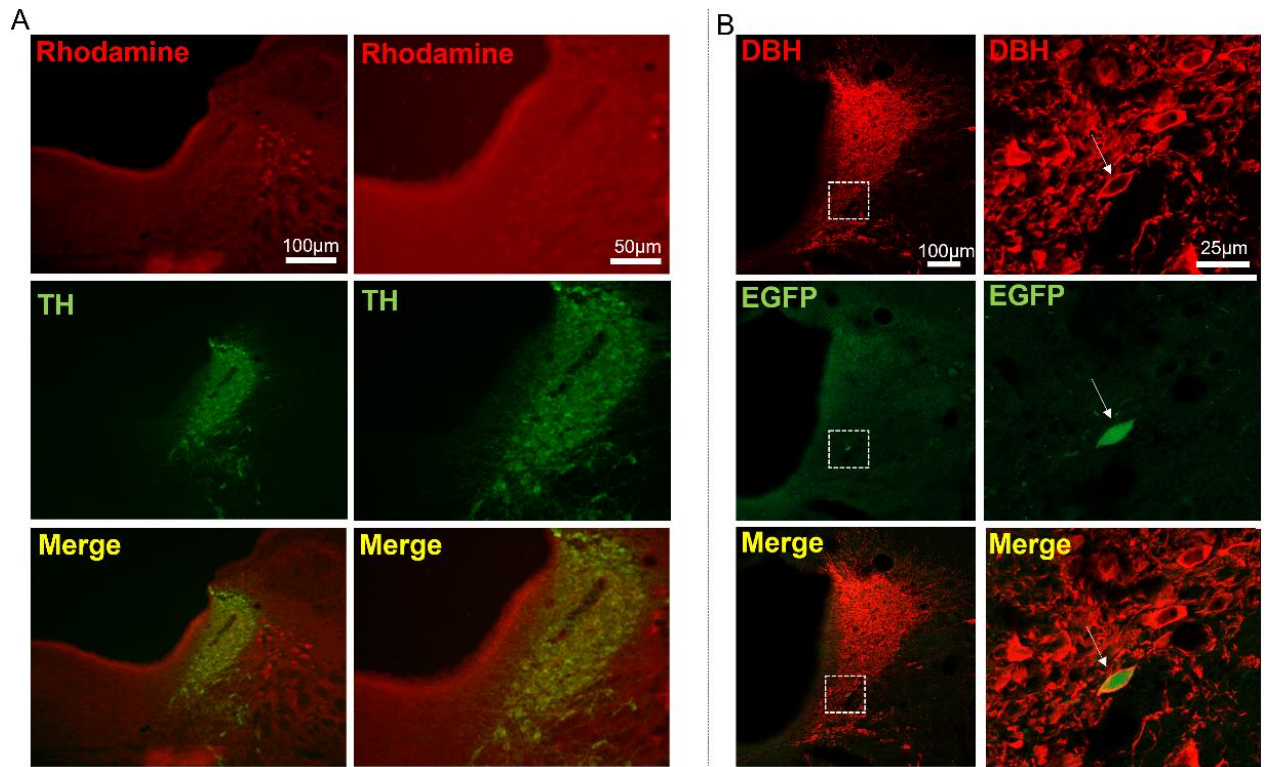


Figure S1: Rhodamine (A) and Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP, B) retrograde labelling to identify Trigemino-Cervical Complex inputs. Positive labelling in the Locus coeruleus was rare, difficult to observe, with a low intensity.

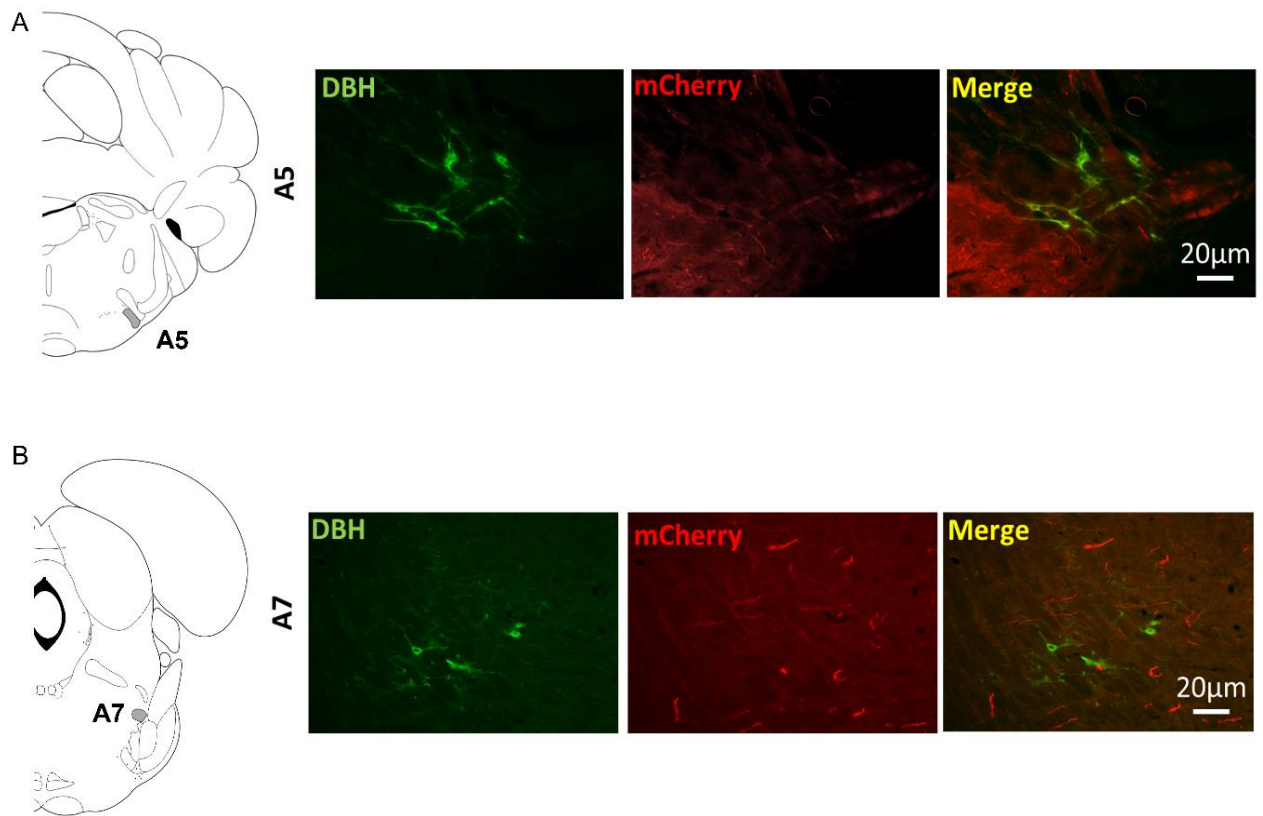


Figure S2: No expression of mCherry was observed in (A) A5 and (B) A7 noradrenergic neurons.

Chapitre III : Discussion, Conclusions et Perspectives

Tableau récapitulatif des résultats

Objectif	Résultats	
	Communs aux deux sexes	Différents selon les sexes et/ou le cycle hormonal
Y a-t-il une différence d'allodynie entre le mâle et la femelle dans notre modèle de migraine ? Que se passe-t-il si l'on dissocie les femelles selon le cycle hormonal ?	Développement d'une allodynie transitoire, qui devient persistante à IS3	<p>Le maximum d'allodynie survient à 30 minutes pour les femelles et 60 minutes pour les mâles</p> <p>L'activité des femelles ne semble pas modifiée par l'IS</p> <p>L'allodynie dépend du cycle hormonal chez la femelle : elle est plus importante en P/E qu'en M/D</p>
L'activation du CTC et du LC est-elle observée suite aux injections répétées de SI chez la femelle ? Est-elle la même selon le cycle hormonal ?	<p>Le nombre de neurones exprimant c-Fos dans le CTC est supérieur après IS2 comparé à aCSF2</p> <p>L'augmentation de l'expression de c-Fos traduit une sensibilisation du CTC et est surtout visible dans la partie ipsilatérale caudale du Sp5C et aux niveaux C1/C2, dans le territoire V1</p>	Le cycle hormonal influence la sensibilisation du CTC: l'augmentation de c-Fos après IS2 n'est significative par rapport à aCSF2 que pour les femelles P/E
	<p>Le LC n'est pas activé dans le modèle de migraine: l'expression de c-Fos n'est pas modifiée par l'IS</p>	<p>Au niveau basal (aCSF2), le LC mâle est moins activé que celui des femelles: l'expression de c-Fos est bien moins importante.</p> <p>Le cycle hormonal influence l'activité du LC dans le modèle de migraine: l'expression de c-Fos ipsilatérale des femelles P/E est supérieure à celle des femelles M/D après IS2.</p>
Les projections directes du LC vers le CTC existent-elles? Y'a-t-il des différences des projections du LC selon le sexe?	<p>Le LC projette vers le CTC, la RVM et le cortex.</p> <p>Les neurones de projections du LC vers le CTC sont localisés dans la partie ventrale du LC, aux niveaux médian et caudal.</p> <p>Les terminaisons du LC dans le CTC sont réparties dans toutes les couches</p> <p>Les projections de la RVM vers le CTC semblent avoir une prédominance ipsilatérale</p>	Une minorité de projections du LC vers le CTC est non-noradrénergique: cette minorité est environ deux fois plus importante chez les femelles

DISCUSSION

Malgré les avancées de ces dernières années, notamment grâce au développement de la génétique, aux études d'imagerie chez l'Homme, et à la compréhension du mécanisme des traitements, la migraine reste une pathologie dont l'origine est inconnue. A l'instar d'autres pathologies inflammatoires, la migraine se caractérise notamment par sa forte prévalence féminine. Par ailleurs, chez la femme, la migraine est associée à des symptômes qui deviennent plus importants pendant certaines phases du cycle menstruel, comme les périodes pré-menstruelles, menstruelles ou lors de l'ovulation (Herren, 1933, Riley et al., 1999, Lereshe et al., 2003, Hellstrom & Anderberg, 2003, Long et al., 2017). Chez l'animal, même si certaines études ont rapporté une plus grande sensibilité lors de la phase Metestrus (Bradshaw et al., 1999 ; Drury & Gold, 1978 ; Giamberardino et al., 1997 ; Martínez-Gómez et al., 1994), la plupart des études semblent montrer un pic de sensibilité plus important lors des phases proestrus et estrus (Frye et al., 1992 ; Frye et al., 1993 ; Kayser et al., 1996 ; Moloney et al., 2016 ; Kaur et al., 2018 ; Fillingim & Ness, 2000 ; Tall & Crips, 2004).

C'est dans le cadre de cette problématique que se place ce travail de thèse. Nos objectifs étaient d'étudier (i) s'il existait des différences d'activation et de sensibilisation du CTC entre les mâles et les femelles dans un modèle murin de migraine, (ii) si le cycle hormonal avait une influence sur ces mécanismes, (iii) si les connections anatomiques et fonctionnelles entre le CTC et le LC étaient identiques chez les mâles et les femelles. Nous avons utilisé un modèle de douleur méningée sur des rats des deux sexes, consistant en l'application à la surface des méninges d'une soupe inflammatoire (IS). Ce modèle est connu pour activer les nocicepteurs méningés, ce qui va induire une allodynie mécanique cutanée et augmenter l'expression de c-Fos dans le CTC.

Nos résultats (tableau ci-contre) ont montré que :

1) Chez la femelle, une allodynie mécanique cutanée se développe dès la première injection d'IS. Les injections suivantes accroissent cette allodynie puisqu'à partir de la troisième injection, le seuil basal diminue et ne revient pas à la normale au bout de 4h.

2) L'évolution temporelle de l'allodynie est différente aux deux premières injections : le pic d'allodynie est plus précoce pour les femelles que pour les mâles.

3) L'allodynie dépend du cycle hormonal après la deuxième injection d'IS : les femelles au stade proestrus/estrus (P/E) présentent une allodynie céphalique d'intensité supérieure par rapport aux femelles en metestrus/diestrus (M/D).

4) Il n'existe pas de différences anatomiques entre les mâles et les femelles dans les voies de modulations de la douleur issue du LC : dans les 2 sexes, le LC projette sur le CTC, mais aussi sur la RVM et les couches les plus superficielles du cortex.

Comme nous l'avons décrit dans l'introduction, la migraine implique de nombreux facteurs et de nombreuses structures cérébrales. Dans cette dernière partie, nous allons discuter de l'ensemble de nos résultats par rapport à la littérature, ainsi que de l'apport de nos données dans la compréhension de la migraine.

Sensibilisation du CTC

Dans ce travail, nous avons montré que l'application d'IS sur les méninges entraîne une allodynie, qui s'accompagne d'une augmentation de l'expression de la protéine c-Fos, aussi bien chez les mâles que chez les femelles. L'allodynie céphalique est un facteur de progression de la migraine et signe une sensibilisation centrale (Bigal et al., 2008). Nos résultats montrent une allodynie céphalique d'intensité évolutive avec la répétition des stimulations, ainsi qu'une persistance de cette allodynie après la 3ème injection. Ceci met en évidence une sensibilisation des neurones du CTC qui reçoivent à la fois des informations nociceptives provenant des méninges et du territoire cutané céphalique péri-orbitaire (Burstein et al., 1998 ; Boyer et al., 2014). Au niveau des méninges, l'application d'IS active de manière prolongée les nocicepteurs, ce qui entraîne par réflexe d'axone (ou inflammation neurogène), une libération de neuropeptides tels que le CGRP ou la SP (Tajti et al., 2015), qui provoquent une vasodilatation et une dégranulation mastocytaire comprenant des molécules inflammatoires. L'ensemble de ces événements va sensibiliser les nocicepteurs périphériques (Ramachandran, 2018) puis entraîner une sensibilisation centrale, qui va s'aggraver avec la répétition des stimulations chimiques (Boyer et al., 2014).

Cette sensibilisation est plus marquée dans le territoire V1 des niveaux les plus caudaux du Sp5C et des premiers segments cervicaux, comme le montre l'expression de la protéine c-Fos. Ainsi, contrairement aux effets liés à 4 injections d'IS (Boyer et al., 2014), 2 injections ne sont pas suffisantes pour étendre l'activation des neurones du CTC aux territoires adjacents. Par ailleurs ces résultats sont cohérents avec les études électrophysiologiques qui montrent que les neurones répondant à la fois aux méninges et au champ ophtalmique de la face sont situés dans ce territoire (Burstein et al., 1998 ; Boyer et al., 2014 & 2017). L'enregistrement électrophysiologique des neurones WDR de cette région montre une augmentation transitoire de leur activité spontanée après 1 injection d'IS. Cette augmentation de l'activité se manifeste également par une augmentation de la taille de leurs champs récepteurs, une diminution de leurs seuils nociceptifs et une augmentation de leur activité évoquée

par des stimulations nociceptives et non nociceptives cutanées (Burstein et al., 1998 ; Boyer et al., 2014 & 2017).

Initiation de la sensibilisation centrale

L'initiation de la sensibilisation des neurones de second ordre dépend essentiellement de l'activation des fibres afférentes primaires et particulièrement des fibres C. En effet, l'anesthésie de ces fibres par la lidocaïne, dix minutes après la stimulation chimique des méninges, prévient la sensibilisation des neurones trigéminaux (Burstein et al., 1998). Quand elles sont activées, celles-ci libèrent à la fois des neuropeptides, tels que le CGRP et la SP, ainsi que du glutamate (Watkins et al., 2005). Ce dernier va cibler les récepteurs ionotropiques NMDA et AMPA et, à travers une cascade d'événements intracellulaires, être à l'origine d'une modification des propriétés fonctionnelles des neurones (Morisset & Nagy, 2000). L'importance du rôle du glutamate dans la sensibilisation centrale lors des crises de migraine est mise en évidence par l'efficacité du topiramate, un antagoniste de ses récepteurs comme traitement de la migraine. Il faut cependant noter que l'effet bénéfique de cette molécule pourrait également être lié à son action inhibitrice sur les canaux sodiques (Andreou & Goadsby, 2011). Par ailleurs, les triptans, traitement de référence de la crise de migraine, inhibent la libération pré-synaptique de glutamate par les fibres afférentes primaires (Choi et al., 2012).

Maintien de la sensibilisation centrale

Le maintien de cette sensibilisation dans le temps, fait également intervenir les neuropeptides sécrétés par ces mêmes fibres (SP, Neural Growth Factor, CGRP). Ces derniers entraînent la phosphorylation de kinases telles que les protéines kinase A ou C ou la protéine ERK qui augmentent alors l'excitabilité des neurones (Ji et al., 2002 ; Woolf, 2011). La transmission synaptique est renforcée, les temps d'ouverture des canaux sont diminués et l'adressage des récepteurs à la membrane est accéléré. Ces protéines kinase entraînent également des changements au niveau des propriétés biochimiques et biophysiques de protéines cibles, dont certaines (CREB, Serum Response Factor) sont impliquées dans la régulation de la transcription et provoquent l'activation de gènes spécifiques (Buritova & Besson, 1999). Après la transcription de gènes à expression précoce immédiate, tel que c-Fos, des gènes plus tardifs, qui vont induire des réponses à long terme, sont exprimés (Buritova & Besson, 1999). Ainsi, la sensibilisation centrale qui était dépendante de l'activité prolongée des nocicepteurs devient indépendante et peut persister sur de longues périodes, comme le montre l'allodynie persistante après 3 injections d'IS. Les enregistrements électrophysiologiques confirment cette persistance de la sensibilisation centrale des neurones au lendemain de la troisième stimulation chimique des méninges et montrent qu'une nouvelle stimulation méningée l'aggrave encore (Boyer et al., 2014).

Influence des hormones dans la sensibilisation centrale

Nos résultats montrent que le pic d'allodynie est plus précoce chez la femelle que chez le mâle (30 minutes versus 60 minutes). Dans des modèles de migraine chronique, l'allodynie est observée chez la femelle au jour 4 alors qu'elle n'apparaît qu'au jour 5 chez le mâle, (Stucky et al., 2011). De même, dans des modèles de douleur neuropathique, le développement de l'hyperalgésie est globalement plus rapide chez les femelles, malgré une grande variabilité individuelle (Sherman et al., 2021). Cette sensibilisation précoce chez les femelles a également été observée dans un modèle de cancer des os chez la souris, où les femelles manifestent un comportement nociceptif plusieurs jours avant les mâles, sans qu'il n'y ait de différences dans la gravité de la maladie (Falk et al., 2013). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette différence, notamment l'implication des hormones sexuelles qui seraient en quantité plus ou moins importante selon le cycle hormonal (Hassan et al., 2014 ; Stucky et al., 2011). Cependant, le fait que dans notre étude, les femelles en proestrus/estrus comme les femelles en metestrus/diestrus (supposée avoir une quantité d'hormones plus faible, Becker et al., 2005), présentent une allodynie céphalique précoce par rapport aux mâles, suggère que des mécanismes autres que hormonaux pourraient être impliqués dans cette différence d'évolution douloureuse. Une possibilité serait l'intervention des CIDN. En effet, il a été montré que les CIDN, qui correspondent à une boucle de régulation endogène de la douleur, sont plus efficaces chez le mâle que chez la femelle (Quiton & Greenspan, 2007 ; Popescu et al., 2010 ; Da Silva et al., 2018). Dans nos conditions expérimentales, les CIDN pourraient donc agir plus rapidement chez le mâle et donc décaler le pic d'allodynie.

Influence du cycle hormonal sur la sensibilisation centrale

Nous avons montré des différences dans le seuil douloureux entre les femelles en proestrus/estrus comparé aux femelles en metestrus/diestrus. En effet, les femelles au stade proestrus/estrus sont plus sensibles que les femelles au stade metestrus/diestrus suite à la deuxième injection de soupe inflammatoire (IS2). De manière intéressante, cette différence de sensibilité selon le cycle hormonal n'est plus observée après la 3ème (IS3) et la 4ème (IS4) injection, lorsque la persistance de l'allodynie apparaît, ce qui suggère qu'à partir de 3 injections de soupe inflammatoire, la modulation hormonale n'est plus efficace. Ces résultats montrent que les facteurs liés au cycle hormonal, plus que les facteurs liés au sexe, vont contribuer à l'expression d'une sensibilisation centrale liée à une inflammation des méninges, bien que la contribution de ces facteurs devienne non-significative au stade « chronique » (IS3 et IS4 dans notre modèle). D'autres modèles d'études ont également souligné l'importance du cycle hormonal et du stade proestrus/estrus dans l'activation des neurones du CTC. Par exemple, une inflammation de l'articulation temporo-mandibulaire va activer les neurones des couches superficielles du Sp5C (Hathaway et al., 1995 ; Bereiter & Bereiter, 2000) de manière plus importante

chez les femelles en proestrus que chez les femelles en diestrus (Bereiter, 2001) et provoquer une activation électrophysiologique des neurones des couches profondes du CTC dont la fréquence de décharge sera plus soutenue chez les femelles en proestrus (Okamoto et al., 2003). De la même façon, la taille des champs récepteurs ainsi que l'amplitude de la réponse des neurones du Sp5C est augmentée au stade proestrus/estrus suite à l'application méningée de capsaïcine (Martin et al., 2007). L'ensemble de ces données suggère que les variations hormonales jouent un rôle fondamental dans l'apparition et l'intensité de l'allodynie cutanée chez l'animal, comme chez l'homme (Riley et al., 1999 ; Lereshe et al., 2003 ; Hellstrom 2003 ; Gazerani et al., 2005 ; Long et al., 2017). Des expériences complémentaires seraient nécessaires pour déterminer quelle(s) hormone(s) et/ou quelle(s) fluctuations hormonales favorisent ou inhibent ces effets sur la douleur allodymique (Zhang et al., 2020 b).

Même si les mécanismes permettant d'expliquer nos résultats sont actuellement inconnus, plusieurs hypothèses pourraient être émises. Par exemple, cela pourrait provenir de l'expression différente de certains gènes dans le système trigéminal selon le sexe et/ou le cycle et/ou la condition expérimentale physiologique ou pathologique (Kuzawińska et al., 2014 ; Korczeniewska et al., 2018 ; Mecklenburg et al., 2020). Nous savons également que les récepteurs aux estrogènes ER α et ER β sont localisés dans le ganglion trigéminal et dans les couches superficielles du Sp5C (Amandusson & Blomqvist, 2010 ; Flores et al., 2003 ; Bereiter et al., 2005 ; Warfvinge et al., 2020) et que la quantité des ER α dans le Sp5C en condition physiologique est différente chez les femelles par rapport aux mâles (Bereiter et al., 2005). Enfin au niveau périphérique, il a été montré chez l'animal, que la densité des cellules mastocytaires méningées variait en fonction du cycle hormonal, avec une augmentation des cellules sous l'effet des estrogènes (Boes & Levy, 2012). Bien que ceci reste pour le moment à démontrer chez la femme, les estrogènes favoriseraient aussi la dégranulation de ces cellules ainsi que la libération des médiateurs inflammatoires (Zaitso et al., 2007), ce qui entraînerait la sensibilisation des nocicepteurs méningés.

Le rôle du LC dans la migraine

Activation du LC dans la migraine

Notre étude anatomique, utilisant des traceurs rétrogrades et antérograde, a montré qu'il existe bien une voie directe bilatérale LC-CTC dont les projections se terminent majoritairement dans les couches profondes du CTC. Au niveau des couches superficielles, les fibres se trouvent en bien moins grande quantité. Ces résultats sont en accord avec les études ayant utilisé des traceurs antérogrades (Westlund & Coulter, 1980 ; Fritschy & Grzanna., 1990), mais pas avec celle ayant choisi la stratégie rétrograde (Couto et al., 2006). En effet il semble que les neurones monoaminergiques descendants

n'absorbent et/ou ne transportent pas efficacement les traceurs rétrogrades (Ganley et al., 2021). Nous-mêmes en avons testé plusieurs et seul le FG, quand le signal est amplifié par une révélation immunohistochimique, a permis de mettre en évidence les neurones du LC projetant sur le CTC. De manière surprenante, notre étude c-Fos ne montre pas d'activation des neurones du LC après 2 injections d'IS à la surface des méninges, contrairement à d'autres études. Par exemple, dans différents modèles de douleur tels que la stimulation de la pulpe dentaire (Voisin et al., 2005), l'inflammation durale après injection de formaline (Baulmann et al., 2000) ou de capsaïcine (Ter horst et al., 2001), une augmentation du nombre de c-Fos dans le LC a pu être observée. Une des hypothèses pour expliquer cette différence serait que c-Fos ne soit pas le bon marqueur pour mettre en évidence une activation du LC évoquée par la stimulation mécanique de la face après l'application d'IS sur les méninges. En effet, alors qu'une stimulation trigéminal par la capsaïcine (Ter Horst et al., 2001) ou par la nitroglycérine, connue pour déclencher des céphalées (Tassoreli & Joseph, 1995), provoquent une augmentation de c-Fos dans le LC, aucune différence dans son expression n'est mise en évidence après une stimulation électrique directe du ganglion trigéminal (Bohár et al., 2013). Par ailleurs, l'expression de c-Fos fait parfois défaut dans certaines régions cérébrales, comme le thalamus latéral par exemple (Pearse et al., 2001), alors que les études électrophysiologiques montrent bien l'activation de ces noyaux lors de stimulations nociceptives (Martin et al., 1996). Il conviendrait donc de tester l'expression d'une autre protéine telle que pERK ou Jun pour confirmer ou infirmer notre résultat. Une deuxième hypothèse serait que 2 stimulations méningées ne soient pas suffisantes pour sensibiliser ces neurones. Il serait alors intéressant de regarder après 4 stimulations si le LC est activé. Ces expériences sont en cours de réalisation et d'analyse.

Même si son rôle semble complexe, il est cependant difficile de croire que le LC n'est pas impliqué dans la modulation de la douleur trigéminal et en particulier dans la douleur déclenchée par les nocicepteurs méningés, au regard des effets des lésions du LC sur l'intégration des messages nociceptifs par le Sp5C. En effet, Vila-Pueyo et al. (2019) montrent que la lésion du LC entraîne une inhibition de l'activité évoquée des neurones du CTC lors de stimulations méningées. Ceci est en accord avec des résultats obtenus au laboratoire où nous montrons que le propranolol, un antagoniste des AR_{beta}, qu'il soit administré per os (Boyer et al., 2017), ou bien injecté directement dans le LC (Signoret-Genest et al, soumis) prévient l'apparition de l'allodynie faciale après des stimulations répétées des méninges, ceci en inhibant l'activité des neurones du LC. Cependant le rôle du LC ne semble pas unidirectionnel puisque dans son étude, Vila-Pueyo et al. (2019) montrent également que la lésion du LC provoque aussi une augmentation des DCE. Il semblerait donc que ces voies descendantes faciliteraient l'intégration du message nociceptif issu des méninges, tandis que les voies ascendantes seraient plutôt inhibitrices. Cette dichotomie du LC a été retrouvée dans une étude utilisant une

stimulation optogénétique ciblée, soit de la partie dorsale, soit de la partie ventrale du LC (Hickey et al., 2014). Ces auteurs montrent que la stimulation de la région ventrale provoque une inhibition de la douleur alors que celle de la partie dorsale provoque une facilitation de cette même douleur. Ainsi à la lumière de ces différents résultats, le LC pourrait jouer un rôle de facilitation dans le déclenchement des migraines en augmentant directement la sensibilité du CTC. Une fois qu'une crise a débuté, l'influence facilitatrice du LC sur le CTC pourrait également augmenter l'intensité de la céphalée. Cependant, l'implication du LC pourrait ne pas s'arrêter à ce rôle quand on prend en compte l'étendue aussi bien de ses projections afférentes qu'efférentes.

Prodromes et facteurs de risques

Si on émet l'hypothèse que le LC joue un rôle dans la phase céphalalgique de la migraine, alors l'activation de ce noyau devrait avoir lieu avant l'apparition de la céphalée, à savoir pendant les prodromes. D'autre part, il est connu que certains facteurs de risque, tels que la faim, la fatigue ou encore le stress, augmentent la probabilité de déclencher des céphalées migraineuses. L'effet de ces facteurs déclencheurs pourrait également passer par une activation du LC.

Par exemple, si l'on s'intéresse à la relation entre le LC, la migraine et la faim, il a été montré qu'une injection intraveineuse de leptine, peptide présent dans l'hypothalamus et connu sous le nom d'hormone de la satiété, diminue l'activation trigéminal induite par une stimulation méningée (Martins-Oliveira et al., 2017). Cette même hormone provoque également une inhibition de l'activité des neurones du LC (Laque et al., 2015). Par ailleurs, la faim a un impact majeur sur l'état de vigilance en augmentant l'attention dans le but de trouver de la nourriture et en diminuant les épisodes de sommeil (Borbély, 1977 ; Jacobs & McGinty, 1971). De fait, l'activité du LC semble être étroitement régulée par la faim (et la satiété), et il est donc probable que la « faim prodromique » puisse mener à l'activation du LC.

Concernant la relation entre le sommeil et/ou la fatigue et les crises de migraine, les migraineux sont davantage en manque de sommeil que les sujets témoins (Kim et al., 2018), et la narcolepsie est un facteur de comorbidité de la migraine (Dahmen et al., 2003). D'autre part, l'activation du LC par les orexines hypothalamiques est nécessaire à l'éveil (Hagan 1999), et des altérations de l'axe hypothalamo-coeruléen peuvent être impliquées dans la fatigue (Hanken et al., 2016 a & b). Or la connexion de ces 2 régions est renforcée chez les migraineux (Moulton et al., 2014), ce qui nous amène à émettre l'hypothèse que le LC pourrait jouer un rôle dans ce symptôme prodromique. En plus de cet axe, une autre région cérébrale est impliquée dans les phénomènes de vigilance : il s'agit du cortex préfrontal médian (mPFC) qui a des projections réciproques avec le LC (Jodo et al., 1998 ; Cerpa et al., 2019). Il faut noter que les cellules du LC qui projettent sur le mPFC possèdent des caractéristiques

spécifiques par rapport à toutes les autres cellules du LC puisqu'elles sont plus excitables et qu'elles synthétisent de manière plus efficace de la NA (Chandler et al., 2014). Ainsi, l'activité du LC augmente au début d'un épisode de fatigue, comme après une privation de sommeil, ce qui entraîne une augmentation de la libération de NA à la fois dans le mPFC et dans les autres cortex (Bellesi et al., 2016). Cependant, après un certain temps, la concentration de NA dans le mPFC diminue, ce qui permet d'expliquer les déficiences cognitives associées à la fatigue. Ce qui est intéressant, c'est que la libération de NA est toujours augmentée dans d'autres régions corticales (Bellesi et al., 2016), et qu'il y a donc une dissociation des niveaux de NA entre le mPFC et ces autres régions. Cela permet d'expliquer non seulement la déficience cognitive associée à la fatigue, par diminution de NA dans le mPFC, mais aussi les effets d'une augmentation de NA ailleurs, en particulier au niveau d'autres régions corticales, favorisant les hypersensibilités.

Comme nous l'avons déjà décrit, le LC est également activé par le stress, via les projections CRF du noyau CeA (Curtis et al., 2002 & 2012). Cette activation du LC est d'ailleurs nécessaire et suffisante pour l'expression comportementale de l'anxiété. Par ailleurs, les régions limbiques, et en particulier l'amygdale, sont plus activées par les émotions négatives chez les patients migraineux (Wilcox et al., 2016). Ceci suggère une forme de sensibilisation de cette région cérébrale, ce qui pourrait avoir pour effet d'augmenter la libération de CRF. De plus, le stress répété conduit à la sensibilisation des neurones du LC au CRF (déplacement de la courbe dose-réponse vers la gauche). Ceci pourrait donc fournir un substrat anatomique sous-tendant la progression de la migraine vers une forme chronique où les patients seraient plus sensibles à des niveaux de stress plus faibles et/ou ils auraient une réponse plus élevée pour un stress donné lorsque les crises se répètent (Chen et al., 2017 c ; Valentino & Van Bockstaele, 2008 ; Petit et al., 2021). D'autre part, la sensibilité accrue du LC des femmes au CRF pourrait être à l'origine de la prévalence accrue de la migraine chez les femmes, d'autant plus que des différences entre les LC des hommes et des femmes se mettent en place à la puberté (Stewart et al., 1991).

Enfin, les troubles temporaires de l'humeur, y compris le sentiment d'être "déprimé", font partie des prodromes chez certains patients (Spierings et al., 1996 ; Laurell et al., 2016). Plus important encore, la dépression est un facteur de risque majeur pour la progression de la migraine vers une forme chronique (May & Schulte, 2016). La théorie monoaminergique classique de la dépression supposait que la cause de la dépression est une déficience en NA et en 5-HT, ce qui était soutenu par l'efficacité des inhibiteurs de recapture. Cependant, les théories actuelles suggèrent plutôt une sur-activation du LC dans la dépression. En effet, des niveaux élevés de NA sont observés dans le cerveau des patients dépressifs (Ehnavall, 2003 ; Wong et al., 2000) et les traitements antidépresseurs efficaces, pharmacologiques (tricycliques, inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine, mirtazapine) ou

non (sismothérapie/électroconvulsivothérapie, utilisées notamment dans le traitement de la dépression) ont tous en commun de réduire (entre autres) l'activité spontanée et évoquée du LC, alors que ce n'est pas le cas des traitements inefficaces (West et al., 2009). Cela suggère que l'effet des antidépresseurs dans la migraine pourrait dépendre de l'inhibition du LC, mais aussi réciproquement que l'augmentation de la fréquence des crises chez les patients dépressifs pourrait être due à une augmentation du tonus noradrénergique.

Il est à noter qu'il est difficile de différencier facteurs de risques et comorbidités ainsi que facteurs favorisants et prodromes, et ce particulièrement lorsqu'on s'intéresse au LC, qui possède souvent une relation bidirectionnelle avec les structures cérébrales impliquées.

Rôle dans la DCE, l'altération de la barrière hémato-encéphalique et la sensibilisation des nocicepteurs méningés

Par ses projections efférentes, le LC peut moduler l'excitabilité corticale. En effet, l'augmentation de l'activité phasique du LC augmente le rapport signal-sur-bruit des réponses sensorielles évoquées au niveau du thalamus et des aires corticales dédiées, rendant ses régions sensibles à des stimulations de faible intensité (Safaai et al., 2015). Ainsi le LC qui projette sur le cortex occipital, à partir de neurones situés dans sa partie dorsale (Waterhouse et al., 1983), pourrait jouer un rôle dans le déclenchement de la DCE. En effet, la lésion du LC augmente la probabilité de déclencher des DCE (Vila-Pueyo et al., 2019), alors que son activation via une stimulation du nerf vague diminue cette probabilité (Groves et al., 2005 ; Chen et al., 2016) ce qui suggère que le LC jouerait un rôle dans l'apparition de ce phénomène. Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction, la DCE peut ensuite entraîner une altération de la barrière hémato-encéphalique qui permettra à des molécules pro-inflammatoires d'aller activer directement les nocicepteurs méningés. Le LC peut, lui aussi, participer directement aux modifications de la perméabilité de cette barrière (Raichle et al., 1975 ; Sarmiento et al., 1994) et induire des modifications du débit sanguin cortical (Goadsby et al., 1984 ; Toussay et al., 2013) qui peuvent être bloquées par l'utilisation d'un antagoniste des AR_{alpha-2} (Goadsby et al., 1985). En effet, comme le montre notre étude anatomique, le LC projette jusqu'au niveau des couches les plus superficielles du cortex, sans doute au niveau des vaisseaux pie-mériens. Il nous faudra confirmer ce dernier résultat en utilisant un marqueur endothélial (comme la P-selectine, Goncharov et al., 2017) pour étudier la proximité des projections NA avec la paroi de ces vaisseaux.

Enfin le LC pourrait directement participer à la sensibilisation des nocicepteurs méningés par ses projections au niveau méningé. L'injection de FG au niveau des méninges montrent des neurones répartis dans tout le LC. Bien que les études antérieures ne montrent pas de projection du LC sur les méninges (Ohta et al., 1991 ; Mathiau et al., 1993), il semble probable que ces neurones innervent au

moins les artérioles pénétrantes provenant des leptoméniges ou méninges molles constituées de la pie-mère et arachnoïde (Bonvento et al., 1990). Dernièrement, une étude chez l'homme a montré que les nocicepteurs méningés n'étaient pas seulement situés au niveau de la dure-mère, mais bien aussi au niveau de la pie-mère (Fontaine et al., 2018). Ainsi ces projections LC-leptoméninge pourrait promouvoir directement la sensibilisation des nocicepteurs et participer à la sensibilisation périphérique du système trigémino-vasculaire. Nous devons cependant confirmer ou infirmer ce résultat en améliorant notre étude anatomique, comme nous en discuterons dans les perspectives.

Influence des hormones sur l'activité du LC

Nous avons observé en condition physiologique que l'expression de c-Fos dans le LC, comme dans la région subcéruléenne (SubC), était plus importante chez la femelle par rapport au mâle. De nombreuses études ont montré des différences sexuelles au niveau cérébral et tout particulièrement dans le LC. Ainsi il existe des différences dans l'expression de nombreux gènes chez les femelles et les mâles en condition physiologique, comme pathologique (Pinos et al., 2001, Mulvey et al., 2018). Il y a aussi des différences dans certaines caractéristiques anatomiques. Par exemple, le LC est plus volumineux chez les femelles (Luque et al., 1992), le nombre de neurones est plus important également chez les femelles (Guillamón et al., 1988, Garcia-Falgueras et al., 2006), ou encore les arborisations dendritiques ventro-médianes des neurones vont être bien plus étendues et nombreuses chez la femelle par rapport aux mâles (Bangasser et al., 2011). Même si ces différences n'ont pas été observées dans toutes les souches de rats (chez les rats Wistar mais pas Long Evans), nos données confirment l'importance d'un dimorphisme sexuel dans le LC chez les rats Sprague Dawley, en faveur d'une surexpression chez la femelle des neurones c-Fos dans le LC et le SubC.

Nous avons également montré une différence d'activation par IS entre les femelles P/E et les femelles M/D du côté ipsilatéral (que l'on ne retrouve pas en condition physiologique). Les différences d'expression des récepteurs hormonaux dans le LC pourraient intervenir dans cette différence. En effet, le récepteur aux estrogènes ER α est surexprimé au début de Proestrus et à la fin de l'Estrus (Helena et al., 2006). Ce récepteur semble être majoritairement responsable de la modulation du LC par les hormones (Serova et al., 2002 & 2004).

Le rôle de la RVM dans la migraine

Nous avons montré que le LC pourrait également moduler la douleur trigéminal indirectement par la voie LC-RVM-CTC. En effet les neurones de la RVM qui projettent sur le CTC se situent à proximité des fibres afférentes NA. Nous n'avons pas pu identifier s'il existait des contacts synaptiques entre les neurones et les fibres, mais les 2 éléments sont suffisamment proches pour que la NA libérée puisse modifier l'activité des neurones. En effet les fibres NA ont la particularité de libérer le contenu de leurs

vésicules au niveau mais aussi en dehors des espaces synaptiques, la NA pouvant ensuite agir à distance grâce à un phénomène de diffusion dans l'espace extracellulaire (Fuxe et al., 2010). La RVM, qui reçoit donc des projections du LC ainsi que de la PAG (Tanaka 1996 ; Hayashi 1984), fait partie des régions importantes impliquées dans les voies descendantes de la douleur et peut moduler les informations nociceptives de la corne dorsale de la moelle épinière tout comme celle du CTC (Pertovaara et al., 1996 ; Edelmayer et al., 2009). La RVM serait impliquée aussi bien dans la modulation des voies ascendantes (De Felice et al., 2013) que dans les voies descendantes (Edelmayer et al., 2009) lors de stimulations nociceptives méningées. L'action de la NA dans la RVM se ferait par l'intermédiaire des AR_{alpha}. En effet, l'administration, dans la RVM, d'agoniste des AR_{alpha-2} (Haws et al., 1990) ou d'antagoniste des AR_{alpha-1} produit une hypoalgésie (Sagen & Proudfit, 1985).

Conclusion et Perspectives :

L'ensemble du travail présenté ici a permis de comparer l'organisation et le rôle du réseau impliquant notamment le CTC et le LC chez les mâles et les femelles. Nos conclusions concernant les structures cérébrales et les mécanismes possibles impliqués dans l'allodynie cutanée induite par la stimulation chimique des méninges nous suggèrent plusieurs orientations dont certaines sont déjà en phase expérimentales.

Quelle est l'activation du CTC et du LC après 5 injections d'IS ?

Tout d'abord, les différences liées au cycle hormonal observées lors de l'étude comportementale à IS2 peuvent être associées à des différences dans l'activation du CTC, mais que le LC ne semble pas jouer de rôle à ce stade. Considérant que cette différence d'allodynie n'est plus visible à partie d'IS3, la suite des expériences serait d'analyser l'expression de c-Fos dans le CTC et le LC après 5 injections d'IS, ce qui est en cours.

Par ailleurs, comme mentionné précédemment, c-Fos pourrait ne pas être le meilleur marqueur d'activation pour le LC. L'utilisation d'un autre marqueur permettrait de vérifier si l'absence d'activation du LC suite à une injection d'IS est réelle et d'étudier l'activation d'autres structures n'exprimant pas c-Fos dans nos conditions comme le thalamus latéral, le ganglion trigéminal.

Le LC pourrait-il être impliqué dans l'allodynie extracéphalique ?

De plus, bien que nous ne présentions pas ces données, nous avons pu observer le développement d'une allodynie extracéphalique (au niveau de la patte arrière ipsilatérale) à partir de la 3^e injection d'IS. Une des questions qui reste en suspens est de savoir quels sont les mécanismes responsable(s) de cette extension. On sait par exemple que le LC projette à la fois vers la moelle épinière et vers le CTC, et qu'il n'est pas rare qu'un neurone du LC projette vers plusieurs régions. En poursuivant notre étude anatomique par l'injection d'un traceur dans le CTC et d'un deuxième dans la corne dorsale de la moelle épinière, nous pourrions peut-être démontrer l'existence d'une population de neurones du LC doublement marqués, projetant simultanément sur ces deux structures. La sensibilisation de ces neurones par les injections d'IS pourrait alors altérer la modulation de la sensibilité spinale et contribuer à l'allodynie extracéphalique.

Quelles voies indirectes peuvent permettre au LC de moduler l'activité du CTC ?

Il est nécessaire d'améliorer notre étude anatomique des projections du LC vers les couches superficielles du cortex et/ou vers la leptoméninge. Pour cela, il nous reste à résoudre le problème de

contamination du cortex sous-jacent par le FG lors de son application sur les méninges. Pour contrer ce problème, nous avons inséré entre le cortex et les méninges, du parafilm ou de l'aluminium, afin de prévenir la diffusion du FG au niveau du cortex : l'analyse de ces expérimentations est en cours. D'autre part, nous allons tester un autre traceur rétrograde qui n'est pas capté par les fibres de passage, tel que la Rhodamine Dextran, puis regarder le marquage au niveau du LC et du cortex. Enfin nous pouvons également améliorer la stratégie antérograde. Pour cela, nous allons infecter de nouveaux rats avec le virus AAV8/hSyn-DIO-mCherry et prélever l'ensemble « méninges-encéphale » pour réaliser des coupes coronales ou sagittales qui maintiennent l'intégrité du cortex, de la leptoméninge et de la dure-mère. Ceci nous permettra une meilleure analyse des fibres m-Cherry+ pour conclure sur la présence ou non de fibres NA au niveau de la pie-mère.

Enfin, au vu du matériel biologique déjà disponible, nous pourrions étudier les projections du LC vers d'autres structures des contrôles descendants projetant également vers le CTC, ainsi que leur activation à IS2 (ce que nous n'avons pas fait pour la RVM par exemple). Une de ces structures serait le subnucleus reticularis dorsalis, impliqué dans les CIDN, et dont la connectivité avec la RVM et le Sp5C est modifiée par la migraine (Mills et al., 2021 ; Hitomi et al., 2016). La même étude anatomique et fonctionnelle est également possible pour toutes les régions projetant vers le CTC, comme le cortex insulaire, le cortex somatosensoriel et le noyau hypothalamique A11, dont la synthèse de dopamine possède une très forte influence sur la modulation de la nociception au niveau du Sp5C (Abdallah 2015).

Chapitre IV :

Références

Bibliographiques

A

- Abdallah K, Artola A, Monconduit L, Dallel R, Luccarini P. « Bilateral Descending Hypothalamic Projections to the Spinal Trigeminal Nucleus Caudalis in Rats ». PLoS ONE (2013).
- Abdallah K, Monconduit L, Artola A, Luccarini P, Dallel R. « GABAergic Inhibition or Dopamine Denervation of the A11 Hypothalamic Nucleus Induces Trigeminal Analgesia ». Pain (2015).
- Acar B A, Acar T, Alagöz A N, Karacan A, Varim C, Uyanik M S, Kaya T, Akdemir R. « Relationship between Primary Restless Legs Syndrome and Migraine with Aura ». The Kaohsiung Journal of Medical Sciences (2016).
- Afridi S K, Giffin N J, Kaube H, Friston K J, Ward N S, Frackowiak R S J, Goadsby P J. « A Positron Emission Tomographic Study in Spontaneous Migraine ». Archives of Neurology (2005).
- Afridi S K, Giffin N J, Kaube H, Goadsby P J. « A Randomized Controlled Trial of Intranasal Ketamine in Migraine with Prolonged Aura ». Neurology (2013).
- Alba-Delgado C, Mico J A, Sánchez-Blázquez P, Berrocoso E. « Analgesic antidepressants promote the responsiveness of locus coeruleus neurons to noxious stimulation: implications for neuropathic pain. » Pain (2012).
- Al-Adawi S, Dawe G S, Bonner A, Stephenson J D, Zarei M. « Central Noradrenergic Blockade Prevents Autotomy in Rat: Implication for Pharmacological Prevention of Postdenervation Pain Syndrome ». Brain Research Bulletin (2002).
- Aloisi A M, Ceccarelli I, Fiorenzani P, De Padova A M, Massafra C. « Testosterone Affects Formalin-Induced Responses Differently in Male and Female Rats ». Neuroscience Letters (2004).
- Alstadhaug K B. "Migraine and the hypothalamus." Cephalalgia : an international journal of headache (2009).
- Amandusson A, Blomqvist A. « Estrogen Receptor- α Expression in Nociceptive-Responsive Neurons in the Medullary Dorsal Horn of the Female Rat ». European Journal of Pain (2010).
- Ambrosini, A. « Lack of Habituation Causes High Intensity Dependence of Auditory Evoked Cortical Potentials in Migraine ». Brain (2003).
- American Headache Society. « The American Headache Society Position Statement On Integrating New Migraine Treatments Into Clinical Practice ». Headache: The Journal of Head and Face Pain (2018).
- Andersson J, Muhr C, Lilja A, Valind S, Lundberg P, Långström B. « Regional Cerebral Blood Flow and Oxygen Metabolism during Migraine with and Without Aura ». Cephalalgia (1997).
- Andreatta M, Puschmann A K, Sommer C, Weyers P, Pauli P, Mühlberger A. « Altered Processing of Emotional Stimuli in Migraine: An Event-Related Potential Study ». Cephalalgia (2012).
- Andreou A P, Edvinsson L. « Mechanisms of migraine as a chronic evolutive condition ». The journal of headache and pain (2019). Andreou A P, Goadsby P J. « Topiramate in the Treatment of Migraine: A Kainate (Glutamate) Receptor Antagonist within the Trigeminothalamic Pathway ». Cephalalgia (2011).
- Andrew D, Krout K E, Craig A D. « Differentiation of Lamina I Spinomedullary and Spinothalamic Neurons in the Cat ». The Journal of Comparative Neurology (2003).
- Antal A, Arlt S, Nitsche M, Chadaide Z, Paulus W. « Higher Variability of Phosphene Thresholds in Migraineurs Than in Controls: A Consecutive Transcranial Magnetic Stimulation Study ». Cephalalgia (2006).
- Antonova M, Wienecke T, Olesen J, Ashina M. « Prostaglandins in Migraine: Update ». Current Opinion in Neurology (2013).

- Apkarian A, Vania M, Bushnell C, Treede R D, Zubieta J K. « Human Brain Mechanisms of Pain Perception and Regulation in Health and Disease ». *European Journal of Pain* (2005).
- Arvidsson J, Pfaller K, Gmeiner S. « The Ganglionic Origins and Central Projections of Primary Sensory Neurons Innervating the Upper and Lower Lips in the Rat ». *Somatosensory & Motor Research* (1992).
- Asghar M S, Hansen A E, Amin F M, van der Geest R J, van der Koning P, Larsson H B W, Olesen J, Ashina M. « Evidence for a Vascular Factor in Migraine ». *Annals of Neurology* (2011).
- Ashina M, Hansen J M, Do T P, Melo-Carrillo A, Burstein R, Moskowitz M A. « Migraine and the trigeminovascular system-40 years and counting ». *Lancet Neurology* (2019).
- Aston-Jones G, Astier B, Ennis M. « Inhibition of Noradrenergic Locus Coeruleus Neurons by C1 Adrenergic Cells in the Rostral Ventral Medulla ». *Neuroscience* (mai 1992).
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Alexinsky T. « Locus Coeruleus Neurons in Monkey Are Selectively Activated by Attended Cues in a Vigilance Task ». *The Journal of Neuroscience* (1994).
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Cohen J. « Role of Locus Coeruleus in Attention and Behavioral Flexibility ». *Biological Psychiatry* (1999).
- Aston-Jones, G. « Numerous GABAergic Afferents to Locus Coeruleus in the Pericerulear Dendritic Zone: Possible Interneuronal Pool ». *Journal of Neuroscience* (2004).
- Aston-Jones G, Cohen J. « AN INTEGRATIVE THEORY OF LOCUS COERULEUS-NOREPINEPHRINE FUNCTION: Adaptive Gain and Optimal Performance ». *Annual Review of Neuroscience* (2005).
- Aston-Jones G, Waterhouse B. « Locus Coeruleus: From Global Projection System to Adaptive Regulation of Behavior ». *Brain Research* (2016).
- Atzori M, Cuevas-Olguin R, Esquivel-Rendon E, Garcia-Oscos F, Salgado-Delgado R C, Saderi N, Miranda-Morales M, Treviño M, Pineda J C, Salgado H. « Locus Coeruleus Norepinephrine Release: A Central Regulator of CNS Spatio-Temporal Activation? » *Frontiers in Synaptic Neuroscience* (2016).
- Aurora S, Welch K, Al-Sayed F. « The Threshold for Phosphenes Is Lower in Migraine ». *Cephalalgia* (2003).
- Aurora S, Barrodale P M, Tipton R L, Khodavirdi A. « Brainstem Dysfunction in Chronic Migraine as Evidenced by Neurophysiological and Positron Emission Tomography Studies ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2007).
- Averitt D L, Eidson L N, Doyle H H, Murphy A Z. « Neuronal and Glial Factors Contributing to Sex Differences in Opioid Modulation of Pain ». *Neuropsychopharmacology* (2019).
- Avona A, Price T J, Dussor G. « Interleukin-6 Induces Spatially Dependent Whole-Body Hypersensitivity in Rats: Implications for Extracerebral Hypersensitivity in Migraine ». *The Journal of Headache and Pain* (2021).
- Ayata C, Lauritzen M. « Spreading Depression, Spreading Depolarizations, and the Cerebral Vasculature ». *Physiological Reviews* (2015).

B

- Babstock D, Malsbury C W, Harley C W. « The Dorsal Locus Coeruleus Is Larger in Male than in Female Sprague-Dawley Rats ». *Neuroscience Letters* (1997).
- Bahra A, Matharu M S, Buchel C, Frackowiak R S, Goadsby P J. « Brainstem activation specific to migraine headache ». *Lancet* (2001).
- Bandler R, Keay K A, Floyd N, Price J. « Central circuits mediating patterned autonomic activity during active vs. passive emotional coping ». *Brain Research Bulletin* (2000).

- Bangasser D A, Curtis A, Reyes B A S, Bethea T T, Parastatidis I, Ischiropoulos H, Van Bockstaele E J, Valentino R J. « Sex Differences in Corticotropin-Releasing Factor Receptor Signaling and Trafficking: Potential Role in Female Vulnerability to Stress-Related Psychopathology ». *Molecular Psychiatry* (2010).
- Bangasser D A, Zhang X, Garachh V, Hanhauser E, Valentino R J. « Sexual Dimorphism in Locus Coeruleus Dendritic Morphology: A Structural Basis for Sex Differences in Emotional Arousal ». *Physiology & Behavior* (2011).
- Bangasser D A, Wiersielis K R, Khantsis S. « Sex Differences in the Locus Coeruleus-Norepinephrine System and Its Regulation by Stress ». *Brain Research* (2016).
- Barbanti P, Aurilia C, Dall'Armi V, Egeo G, Fofi L, Bonassi S. « The Phenotype of Migraine with Unilateral Cranial Autonomic Symptoms Documents Increased Peripheral and Central Trigeminal Sensitization. A Case Series of 757 Patients ». *Cephalalgia* (2016).
- Barbanti P, Fofi L, Aurilia C, Egeo G. « Does the Migraine Attack Start in the Cortex and Is the Cortex Critical in the Migraine Process? ». *Neurological Sciences* (2019).
- Barnabe C, Bessette L, Flanagan C, LeCLERCQ S, Steiman A, Kalache F, Kung T. « Sex Differences in Pain Scores and Localization in Inflammatory Arthritis: A Systematic Review and Metaanalysis ». *The Journal of Rheumatology* (2012).
- Bartsch T, Knight Y E, Goadsby P J. « Activation of 5-HT_{1B/1D} Receptor in the Periaqueductal Gray Inhibits Nociception ». *Annals of Neurology* (2004).
- Bauer P R, Tolner E A, Keezer M R, Ferrari M D, Sander J W. « Headache in People with Epilepsy ». *Nature Reviews Neurology* (2021).
- Baulmann J, Spitznagel H, Herdegen T, Unger T, Culman J. « Tachykinin Receptor Inhibition and C-Fos Expression in the Rat Brain Following Formalin-Induced Pain ». *Neuroscience* (1999).
- Baun M, Pedersen M H, Olesen J, Jansen-Olesen I. « Dural mast cell degranulation is a putative mechanism for headache induced by PACAP-38 ». *Cephalalgia* (2012).
- Beas B S, Wright B J, Skirzewski M, Leng Y, Ho Hyun J, Koita O, Ringelberg N, Kwon H, Buonanno A, Penzo M A. « The Locus Coeruleus Drives Disinhibition in the Midline Thalamus via a Dopaminergic Mechanism ». *Nature Neuroscience* (2018).
- Beatty W W, Fessler R G. « Sex Differences in Sensitivity to Electric Shock in Rats and Hamsters ». *Bulletin of the Psychonomic Society* (1977).
- Becker J B, Arnold A P, Berkley K J, Blaustein J D, Eckel L A, Hampson E, Herman J P. « Strategies and Methods for Research on Sex Differences in Brain and Behavior ». *Endocrinology* (2005).
- Bednarczyk E M, Remler B, Weikart C, Nelson A D, Reed R C. « Global Cerebral Blood Flow, Blood Volume, and Oxygen Metabolism in Patients with Migraine Headache ». *Neurology* (1998).
- Beggs J, Jordan S, Ericson A C, Blomqvist A, Craig A D. « Synaptology of Trigemino- and Spinothalamic Lamina I Terminations in the Posterior Ventral Medial Nucleus of the Macaque ». *The Journal of Comparative Neurology* (2003).
- Beitz, A J. "The organization of afferent projections to the midbrain periaqueductal gray of the rat." *Neuroscience* (1982).
- Beitz, A J. "The sites of origin brain stem neurotensin and serotonin projections to the rodent nucleus raphe magnus." *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* (1982).
- Beitz, A.J. « The Nuclei of Origin of Brain Stem Enkephalin and Substance P Projections to the Rodent Nucleus Raphe Magnus ». *Neuroscience* (1982).

- Bellamy J, Bowen E J, Russo A F, Durham P L. « Nitric Oxide Regulation of Calcitonin Gene-Related Peptide Gene Expression in Rat Trigeminal Ganglia Neurons ». *European Journal of Neuroscience* (2006).
- Bellesi M, Tononi G, Cirelli C, Serra P A. « Region-Specific Dissociation between Cortical Noradrenaline Levels and the Sleep/Wake Cycle ». *Sleep* (2016).
- Benarroch E E. « Locus Coeruleus ». *Cell and Tissue Research* (2018).
- Bereiter D A, Bereiter D F. « Morphine and NMDA Receptor Antagonism Reduce C- Fos Expression in Spinal Trigeminal Nucleus Produced by Acute Injury to the TMJ Region ». *Pain* (2000).
- Bereiter D A. « Sex Differences in Brainstem Neural Activation after Injury to the TMJ Region ». *Cells Tissues Organs* (2001).
- Bereiter D A, Cioffi J L, Bereiter D F. « Oestrogen Receptor-Immunoreactive Neurons in the Trigeminal Sensory System of Male and Cycling Female Rats ». *Archives of Oral Biology* (2005).
- Berkley K J, Zalcman S S, Simon V R. « Sex and Gender Differences in Pain and Inflammation: A Rapidly Maturing Field ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* (2006).
- Bernard J F, Peschanski M, Besson J M. « Afferents and Efferents of the Rat Cuneiformis Nucleus: An Anatomical Study with Reference to Pain Transmission ». *Brain Research* (1989).
- Berridge C, Foote S. « Effects of Locus Coeruleus Activation on Electroencephalographic Activity in Neocortex and Hippocampus ». *The Journal of Neuroscience* (1991).
- Biancardi V, Bicego K C, Gargaglioni L H. « ATP in the Locus Coeruleus as a Modulator of Cardiorespiratory Control in Unanaesthetized Male Rats: ATP in the Locus Coeruleus Modulates Cardiorespiratory Control ». *Experimental Physiology* (2014).
- Bigal M E, Ashina S, Burstein R, Reed M L, Buse D, Serrano D, Lipton R B. « Prevalence and Characteristics of Allodynia in Headache Sufferers: A Population Study ». *Neurology* (2008).
- Bingefors K, Isacson D. « Epidemiology, Co-Morbidity, and Impact on Health-Related Quality of Life of Self-Reported Headache and Musculoskeletal Pain-a Gender Perspective ». *European Journal of Pain* (2004).
- Bingham S, Davey P T, Babbs A J, Irving E A, Sammons M J, Wyles M, Jeffrey P. « Orexin-A, an Hypothalamic Peptide with Analgesic Properties ». *Pain* (2001).
- Boes T, Levy D. « Influence of Sex, Estrous Cycle, and Estrogen on Intracranial Dural Mast Cells ». *Cephalalgia* (2012).
- Bohár Z, Fejes-Szabó A, Tar L, Varga H, Tajti J, Párdutz A, Vécsei L. « Evaluation of C-Fos Immunoreactivity in the Rat Brainstem Nuclei Relevant in Migraine Pathogenesis after Electrical Stimulation of the Trigeminal Ganglion ». *Neurological Sciences* (2013).
- Bolay H, Ozge A, Saginc P, Orekici G, Uludüz D, Yalın O, Siva A, Bıçakçı Ş, Karakurum B, Öztürk M. « Gender influences headache characteristics with increasing age in migraine patients. » *Cephalalgia* (2015).
- Bonvento G, Lacombe P, MacKenzie E T, Rouquier L, Scatton B, Seylaz J. « Differential Effects of Electrical Stimulation of the Dorsal Raphe Nucleus and of Cervical Sympathectomy on Serotonin and Noradrenaline Concentrations in Major Cerebral Arteries and Pial Vessels in the Rat ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* (1990).
- Borbély A A. « Sleep in the Rat during Food Deprivation and Subsequent Restitution of Food ». *Brain Research* (avril 1977).
- Borsook D, DaSilva A F M, Ploghaus A, Becerra L. « Specific and Somatotopic Functional Magnetic Resonance Imaging Activation in the Trigeminal Ganglion by Brush and Noxious Heat ». *The Journal of Neuroscience* (2003).

- Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. « Prevalence of Chronic Pain with Neuropathic Characteristics in the General Population ». *Pain* (2008).
- Bouret S, Duvel A, Onat S, Sara S J. « Phasic Activation of Locus Coeruleus Neurons by the Central Nucleus of the Amygdala ». *The Journal of Neuroscience* (2003).
- Bourgin P, Huitrón-Réndiz S, Spier A D, Fabre V, Morte B, Criado J R, Sutcliffe J G, Henriksen S J, de Lecea L. « Hypocretin-1 modulates rapid eye movement sleep through activation of locus coeruleus neurons ». *Journal of Neuroscience* (2000).
- Boyer N, Dallel R, Artola A, Monconduit L. « General Trigemino-spinal Central Sensitization and Impaired Descending Pain Inhibitory Controls Contribute to Migraine Progression ». *Pain* (2014).
- Boyer N, Signoret-Genest J, Artola A, Dallel R, Monconduit L. « Propranolol Treatment Prevents Chronic Central Sensitization Induced by Repeated Dural Stimulation ». *Pain* (2017).
- Bradshaw H B, Temple J L, Wood E, Berkley K J. « Estrous Variations in Behavioral Responses to Vaginal and Uterine Distention in the Rat ». *Pain* (1999).
- Bragin E O, Yeliseeva Z V, Vasilenko G F, Meizerov E E, Chuvín B T, Durinyan R A. « Cortical Projections to the Periaqueductal Grey in the Cat: A Retrograde Horseradish Peroxidase Study ». *Neuroscience Letters* (1984).
- Brainstorm Consortium. « Analysis of shared heritability in common disorders of the brain ». *Science* (2018).
- Breton-Provencher V, Sur M. « Active Control of Arousal by a Locus Coeruleus GABAergic Circuit ». *Nature Neuroscience* (2019).
- Brewerton T D, Murphy D L, Mueller E A, Jimerson D C. « Induction of Migrainelike Headaches by the Serotonin Agonist M-Chlorophenylpiperazine ». *Clinical Pharmacology and Therapeutics* (1988).
- Brighinal F, Cosentino G, Vigneri S, Talamanca S, Palermo A, Giglia G, Fierro B. « Abnormal Facilitatory Mechanisms in Motor Cortex of Migraine with Aura ». *European Journal of Pain* (2011).
- Brightwell J J, Taylor B K. « Noradrenergic Neurons in the Locus Coeruleus Contribute to Neuropathic Pain ». *Neuroscience* (2009).
- Burch R, Rizzoli P, Loder E. « The Prevalence and Impact of Migraine and Severe Headache in the United States: Updated Age, Sex, and Socioeconomic-specific Estimates from Government Health Surveys ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2021).
- Buritova J, Besson J M. « Utilisation de l'expression de la protéine c-Fos dans la corne dorsale de la moelle épinière pour certaines études pharmacologiques des processus nociceptifs ». *Douleur et Analgésie* (1999).
- Burstein R, Yamamura H, Malick A, Strassman A M. « Chemical Stimulation of the Intracranial Dura Induces Enhanced Responses to Facial Stimulation in Brain Stem Trigeminal Neurons ». *Journal of Neurophysiology* (1998).
- Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil B J, Bajwa Z H. « An association between migraine and cutaneous allodynia ». *Annals of Neurology* (2000).
- Busch, C, Bohl J, Ohm T G. « Spatial, Temporal and Numeric Analysis of Alzheimer Changes in the Nucleus Coeruleus ». *Neurobiology of Aging* (1997).
- Buse D C, Silberstein S D, Manack A N, Papapetropoulos S, Lipton R B. « Psychiatric Comorbidities of Episodic and Chronic Migraine ». *Journal of Neurology* (2013).

Buse D C, Loder E W, Gorman J A, Stewart W F, Reed M L, Fanning K M, Serrano D, Lipton R B. « Sex Differences in the Prevalence, Symptoms, and Associated Features of Migraine, Probable Migraine and Other Severe Headache: Results of the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2013).

Buse D C, Greisman J D, Baigi K, Lipton R B. « Migraine Progression: A Systematic Review ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2019).

C

Cameron C, Kelly S, Hsieh S, Murphy M, Chen L, Kotb A, Peterson J. « Triptans in the Acute Treatment of Migraine: A Systematic Review and Network Meta-Analysis ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2015).

Cao Y, Welch K M, Aurora S, Vikingstad E M. « Functional MRI-BOLD of visually triggered headache in patients with migraine. » *Archives of Neurology* (1999).

Cao Y, Aurora S K, Nagesh V, Patel S C, Welch K M. « Functional MRI-BOLD of brainstem structures during visually triggered migraine. » *Neurology* (2002).

Carter M E, Yizhar O, Chikahisa S, Nguyen H, Adamantidis A, Nishino S, Deisseroth K, De Lecea L. « Tuning Arousal with Optogenetic Modulation of Locus Coeruleus Neurons ». *Nature Neuroscience* (2010).

Cedarbaum J M, Aghajanian G K. « Afferent Projections to the Rat Locus Coeruleus as Determined by a Retrograde Tracing Technique ». *The Journal of Comparative Neurology* (1978).

Cepeda M S, Carr D B. « Women Experience More Pain and Require More Morphine Than Men to Achieve a Similar Degree of Analgesia » *Anesthesia & Analgesia* (2003).

Cerpa J, Marchand A R, Coutureau E. « Distinct Regional Patterns in Noradrenergic Innervation of the Rat Prefrontal Cortex ». *Journal of Chemical Neuroanatomy* (2019).

Chamberlain S R, Müller U, Blackwell A D, Robbins T W, Sahakian B J. « Noradrenergic modulation of working memory and emotional memory in humans. » *Psychopharmacology* (2006).

Chandler D J, Gao W J, Waterhouse B D. « Heterogeneous Organization of the Locus Coeruleus Projections to Prefrontal and Motor Cortices ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2014).

Charbit A R, Akerman S, Holland P R, Goadsby P J. « Neurons of the Dopaminergic/Calcitonin Gene-Related Peptide A11 Cell Group Modulate Neuronal Firing in the Trigemino-cervical Complex: An Electrophysiological and Immunohistochemical Study ». *Journal of Neuroscience* (2009).

Charbit A R, Akerman S, Goadsby P J. « Trigemino-cervical Complex Responses after Lesioning Dopaminergic A11 Nucleus Are Modified by Dopamine and Serotonin Mechanisms ». *Pain* (2011).

Chasman D I, Schürks M, Anttila V, De Vries B, Schminke U, Launer L J, Terwindt G M. « Genome-Wide Association Study Reveals Three Susceptibility Loci for Common Migraine in the General Population ». *Nature Genetics* (2011).

Chen P K, Fuh J L, Chen S P, Wang S J. « Association between Restless Legs Syndrome and Migraine ». *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* (2010).

Chen S, Ay I, De Moraes A L, Qin T, Zheng Y, Sadeghian H, Oka F, Simon B, Eikermann-Haerter K, Ayata C. « Vagus Nerve Stimulation Inhibits Cortical Spreading Depression ». *Pain* (2016).

Chen Z, Chen X, Liu M, Liu S, Ma L, Yu S. « Disrupted Functional Connectivity of Periaqueductal Gray Subregions in Episodic Migraine ». *The Journal of Headache and Pain* (2017).

Chen Z, Chen X, Liu M, Dong Z, Ma L, Yu S. « Altered Functional Connectivity of Amygdala Underlying the Neuromechanism of Migraine Pathogenesis ». *The Journal of Headache and Pain* (2017).

- Chia Y Y, Chow L H, Hung C C, Liu K, Ger L P, Wang P N. « Gender and pain upon movement are associated with the requirements for postoperative patient-controlled iv analgesia: a prospective survey of 2,298 Chinese patients ». *Canadian Journal of Anaesthesia* (2002).
- Chiang C, Aston-Jones G. « Response of Locus Coeruleus Neurons to Footshock Stimulation Is Mediated by Neurons in the Rostral Ventral Medulla ». *Neuroscience* (1993).
- Choi I, Cho J, An C, Jung J, Hur Y, Choi J, Jang I. « 5-HT_{1B} Receptors Inhibit Glutamate Release from Primary Afferent Terminals in Rat Medullary Dorsal Horn Neurons: 5-HT_{1B} Receptors in Trigeminal Primary Afferents ». *British Journal of Pharmacology* (2012).
- Chou T C, Bjorkum A A, Gaus S E, Lu J, Scammell T E, Saper C B. « Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus ». *Journal of Neuroscience* (2002).
- Çilliler A E, Güven H, Çomoğlu S S. « Epilepsy and Headaches: Further Evidence of a Link ». *Epilepsy & Behavior* (2017).
- Clément O, Valencia G S, Libourel P A, Arthaud S, Fort P, Luppi P H. « The inhibition of the dorsal paragigantocellular reticular nucleus induces waking and the activation of all adrenergic and noradrenergic neurons: a combined pharmacological and functional neuroanatomical study ». *PLoS One* (2014).
- Clemente J T, Parada C A, Arruda Veiga M C, Gear R W, Tambeli C H. « Sexual Dimorphism in the Antinociception Mediated by Kappa Opioid Receptors in the Rat Temporomandibular Joint ». *Neuroscience Letters* (2004).
- Coppola G, Pierelli F, Schoenen J. « Is the Cerebral Cortex Hyperexcitable or Hyperresponsive in Migraine? ». *Headache Currents* (2007).
- Coppola G, Di Clemente L, Fumal A, Magis D, De Pasqua V, Pierelli F, Schoenen J. « Inhibition of the Nociceptive R2 Blink Reflex after Supraorbital or Index Finger Stimulation Is Normal in Migraine Without Aura Between Attacks ». *Cephalalgia* (2007).
- Coppola G, Parisi V, Fiermonte G, Restuccia R, Pierelli F. « Asymmetric Distribution of Visual Evoked Potentials in Patients with Migraine with Aura during the Interictal Phase ». *European Journal of Ophthalmology* (2007).
- Coppola G, Schoenen J. « Cortical Excitability in Chronic Migraine ». *Current Pain and Headache Reports* (2012).
- Costa-Pereira J T, Ribeiro J, Martins I, Tavares I. « Role of Spinal Cord α_2 -Adrenoreceptors in Noradrenergic Inhibition of Nociceptive Transmission During Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy ». *Frontiers in Neuroscience* (2020).
- Coulombe M A, Spooner M F, Gaumont I, Carrier J C, Marchand S. « Estrogen receptors beta and alpha have specific pro- and anti-nociceptive actions ». *Neuroscience* (2011).
- Couto L B, Moroni C R, Dos Reis Ferreira C M, Elias-Filho D H, Parada C A, Pelá I R, Coimbra N C. « Descriptive and Functional Neuroanatomy of Locus Coeruleus-Noradrenaline-Containing Neurons Involvement in Bradykinin-Induced Antinociception on Principal Sensory Trigeminal Nucleus ». *Journal of Chemical Neuroanatomy* (2006).
- Craft R M. « Sex Differences in Opioid Analgesia: "From Mouse to Man": ». *The Clinical Journal of Pain* (2003).
- Craig A D. « Spinal and Trigeminal Lamina I Input to the Locus Coeruleus Anterogradely Labeled with Phaseolus Vulgaris Leucoagglutinin (PHA-L) in the Cat and the Monkey ». *Brain Research* (1992).
- Craig A D. « Distribution of trigeminothalamic and spinothalamic lamina I terminations in the macaque monkey. ». *The Journal of comparative neurology* (2004).

- Curtis A L, Bello N T, Connolly K R, Valentino R J. « Corticotropin-Releasing Factor Neurones of the Central Nucleus of the Amygdala Mediate Locus Coeruleus Activation by Cardiovascular Stress: CRF Amygdalar Neurones Mediate Locus Coeruleus Activation ». *Journal of Neuroendocrinology* (2002).
- Curtis A L, Leiser S C, Snyder K, Valentino R J. « Predator Stress Engages Corticotropin-Releasing Factor and Opioid Systems to Alter the Operating Mode of Locus Coeruleus Norepinephrine Neurons ». *Neuropharmacology* (2012).
- D**
- Dahmen N, Kasten M, Wiczorek S, Gencik M, Epplen J, Ullrich B. « Increased Frequency of Migraine in Narcoleptic Patients: A Confirmatory Study ». *Cephalalgia* (2003).
- Dallel R, Villanueva L, Woda A, Voisin D. « Neurobiologie de la douleur trigéminal ». *Medecine/Sciences* (2003).
- Dallel R, Ricard O, Raboisson P. « Organization of parabrachial projections from the spinal trigeminal nucleus oralis: an anterograde tracing study in the rat ». *Journal of Comparative Neurology* (2004).
- Da Silva J T, Zhang Y, Asgar J, Ro J Y, Seminowicz D A. « Diffuse Noxious Inhibitory Controls and Brain Networks Are Modulated in a Testosterone-Dependent Manner in Sprague Dawley Rats ». *Behavioural Brain Research* (2018).
- Davis K D, Dostrovsky J O. « Responses of Feline Trigeminal Spinal Tract Nucleus Neurons to Stimulation of the Middle Meningeal Artery and Sagittal Sinus ». *Journal of Neurophysiology* (1988).
- De Chazeron I, Raboisson P, Dallel R. « Organization of diencephalic projections from the spinal trigeminal nucleus oralis: an anterograde tracing study in the rat ». *Neuroscience* (2004).
- De Felice M, Sanoja R, Wang R, Vera-Portocarrero L, Oyarzo J, King T, Ossipov M H. « Engagement of Descending Inhibition from the Rostral Ventromedial Medulla Protects against Chronic Neuropathic Pain ». *Pain* (2011).
- De Felice M, Eyde N, Dodick D, Dussor G O, Ossipov M H, Fields H L, Porreca F. « Capturing the Aversive State of Cephalic Pain Preclinically: Measurement of Cephalic Pain ». *Annals of Neurology* (2013).
- Delépine L, Aubineau P. « Plasma Protein Extravasation Induced in the Rat Dura Mater by Stimulation of the Parasympathetic Sphenopalatine Ganglion ». *Experimental Neurology* (1997).
- Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. « Hypothalamic Activation in Spontaneous Migraine Attacks ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2007).
- Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. « Posterior Cerebral Hypoperfusion in Migraine Without Aura ». *Cephalalgia* (2008).
- Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, Ferrari M D. « Mutation in the Neuronal Voltage-Gated Sodium Channel SCN1A in Familial Hemiplegic Migraine ». *The Lancet* (juillet 2005).
- Di Lorenzo C, Coppola G, Bracaglia M, Di Lenola D, Evangelista M, Sirianni G, Rossi P, Di Lorenzo G, Serrao M, Parisi V, Pierelli F. « Cortical functional correlates of responsiveness to short-lasting preventive intervention with ketogenic diet in migraine: a multimodal evoked potentials study ». *Journal of Headache and Pain* (2016).
- Dimitrov E L, Yanagawa Y, Usdin T B. « Forebrain GABAergic Projections to Locus Coeruleus in Mouse ». *Journal of Comparative Neurology* (2013).
- Dobson C F, Tohyama Y, Diksic M, Hamel E. « Effects of Acute or Chronic Administration of Anti-Migraine Drugs Sumatriptan and Zolmitriptan on Serotonin Synthesis in the Rat Brain ». *Cephalalgia* (2004).

- Dohmen C, Sakowitz O W, Fabricius M, Bosche B, Reithmeier T, Ernestus R, Brinker G. « Spreading Depolarizations Occur in Human Ischemic Stroke with High Incidence ». *Annals of Neurology* (2008).
- Domínguez C, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez-Osorio X, López A, Campos F, Martínez F, Castillo J, Leira R. « Role of Adipocytokines in the Pathophysiology of Migraine: A Cross-Sectional Study ». *Cephalalgia* (2018).
- Doyle H H, Eidson L N, Sinkiewicz D M, Murphy A Z. « Sex Differences in Microglia Activity within the Periaqueductal Gray of the Rat: A Potential Mechanism Driving the Dimorphic Effects of Morphine ». *The Journal of Neuroscience* (2017).
- Dreier J P, Kleeberg J, Petzold G, Priller J, Windmüller O, Orzechowski H D, Lindauer U, Heinemann U, Einhüpl K M, Dirnagl U. « Endothelin-1 potently induces Leão's cortical spreading depression in vivo in the rat: a model for an endothelial trigger of migrainous aura? » *Brain* (2002).
- Drolet G, Van Bockstaele E J, Aston-Jones G. « Robust enkephalin innervation of the locus coeruleus from the rostral medulla ». *Journal of Neuroscience* (1992).
- Drossman D A, Li A, Andruzzi E, Temple R D, Talley N J, Thompson W G, Whitehead W E. « U. S. Householder Survey of Functional Gastrointestinal Disorders: Prevalence, Sociodemography, and Health Impact ». *Digestive Diseases and Sciences* (1993).
- Drury R A, Gold R M. « Differential effects of ovarian hormones on reactivity to electric footshock in the rat ». *Physiology & behavior* (1978).
- Dubin A E, Patapoutian A. « Nociceptors: The Sensors of the Pain Pathway ». *Journal of Clinical Investigation* (2010).
- Dubner R. « Interaction of Peripheral and Central Input in the Main Sensory Trigeminal Nucleus of the Cat ». *Experimental Neurology* (1967).
- Ducros A, De Gaalon S, Roos C, Donnet A, Giraud P, Guégan-Massardier E, Lantéri-Minet M, Lucas C, Mawet J, Moisset X, Valade D, Demarquay G. « Revised Guidelines of the French Headache Society for the Diagnosis and Management of Migraine in Adults. Part 2: Pharmacological Treatment ». *Revue Neurologique* (2021).
- Dunckley P. « A Comparison of Visceral and Somatic Pain Processing in the Human Brainstem Using Functional Magnetic Resonance Imaging ». *Journal of Neuroscience* (2005).

E

- Ebersberger A, Takac H, Richter F, Schaible H G. « Effect of Sympathetic and Parasympathetic Mediators on the Release of Calcitonin Gene-Related Peptide and Prostaglandin E₂ from Rat Dura Mater, in Vitro ». *Cephalalgia* (2006).
- Edelmayer R M, Vanderah T W, Majuta L, Zhang E, Fioravanti B, De Felice M, Chichorro J G, et al. « Medullary Pain Facilitating Neurons Mediate Allodynia in Headache-Related Pain ». *Annals of Neurology* (2009).
- Edvinsson L, « Functional role of perivascular peptides in the control of cerebral circulation ». *Trends in Neurosciences* (1985).
- Edvinsson L, Hara H, Uddman R. « Retrograde Tracing of Nerve Fibers to the Rat Middle Cerebral Artery with True Blue: Colocalization with Different Peptides ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* (1989).
- Edvinsson L, Gulbenkian S, Barroso C P, Cunha e Sá M, Polak J M, Mortensen A, Jørgensen L, Jansen-Olesen I. « Innervation of the Human Middle Meningeal Artery: Immunohistochemistry, Ultrastructure, and Role of Endothelium for Vasomotility ». *Peptides* (1998).

- Edvinsson L, Tajti J, Szalárdy L, Vécsei L. « PACAP and Its Role in Primary Headaches ». *The Journal of Headache and Pain* (2018).
- Edvinsson L. « Role of CGRP in Migraine ». *Handbook of experimental pharmacology* (2019).
- Edwards S B, De Olmos J S. « Autoradiographic Studies of the Projections of the Midbrain Reticular Formation: Ascending Projections of Nucleus Cuneiformis ». *The Journal of Comparative Neurology* (1976).
- Edwards R M, Stack E J, Trizna W. « Calcitonin gene-related peptide stimulates adenylate cyclase and relaxes intracerebral arterioles ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (1991).
- Eftekhari S, Salvatore C A, Calamari A, Kane S A, Tajti J, Edvinsson L. « Differential Distribution of Calcitonin Gene-Related Peptide and Its Receptor Components in the Human Trigeminal Ganglion ». *Neuroscience* (2010).
- Ehnavall, A. « Lifetime Burden of Mood Swings and Activation of Brain Norepinephrine Turnover in Patients with Treatment-Refractory Depressive Illness ». *Journal of Affective Disorders* (2003).
- El Tumi H, Johnson M I, Dantas P B F, Maynard M J, Tashani O A. « Age-Related Changes in Pain Sensitivity in Healthy Humans: A Systematic Review with Meta-Analysis ». *European Journal of Pain* (2017).
- Ellrich J, Messlinger K, Chiang C Y, Hu J W. « Modulation of neuronal activity in the nucleus raphé magnus by the 5-HT(1)-receptor agonist naratriptan in rat ». *Pain* (2001).
- Engstrøm M, Hagen K, Bjørk M H, Stovner L J, Sand T. « Sleep Quality and Arousal in Migraine and Tension-Type Headache: The Headache-Sleep Study ». *Acta Neurologica Scandinavica* (2014).
- Ennis M, Aston-Jones G. « Two Physiologically Distinct Populations of Neurons in the Ventrolateral Medulla Innervate the Locus Coeruleus ». *Brain Research* (1987).
- Ennis M, Aston-Jones G. « Activation of locus coeruleus from nucleus paragigantocellularis: a new excitatory amino acid pathway in brain ». *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* (1988).
- Ennis M, Aston-Jones G. « Potent Inhibitory Input to Locus Coeruleus from the Nucleus Prepositus Hypoglossi ». *Brain Research Bulletin* (1989).
- Ennis M, Aston-Jones G, Shiekhhattar R. « Activation of Locus Coeruleus Neurons by Nucleus Paragigantocellularis or Noxious Sensory Stimulation Is Mediated by Intracoerulear Excitatory Amino Acid Neurotransmission ». *Brain Research* (1992).
- F**
- Falk S, Uldall M, Appel C, Ding M, Heegaard A M. « Influence of sex differences on the progression of cancer-induced bone pain ». *Anticancer Research* (2013).
- Farahani F, Azizi H, Janahmadi M, Seutin V, Semnanian S. « Formalin-Induced Inflammatory Pain Increases Excitability in Locus Coeruleus Neurons ». *Brain Research Bulletin* (2021).
- Fardin V, Oliveras J, Besson J. « A Reinvestigation of the Analgesic Effects Induced by Stimulation of the Periaqueductal Gray Matter in the Rat. II. Differential Characteristics of the Analgesia Induced by Ventral and Dorsal PAG Stimulation ». *Brain Research* (1984).
- Fast C D, McGann J P. « Amygdalar Gating of Early Sensory Processing through Interactions with Locus Coeruleus ». *The Journal of Neuroscience* (2017).
- Feindel W, Penfield W, McNaughton F. « The tentorial nerves and localization of intracranial pain in man ». *Neurology* (1960).
- Fernandez-Zafra T, Gao T, Jurczak A, Sandor K, Hore Z, Agalave N M, Su J. « Exploring the Transcriptome of Resident Spinal Microglia after Collagen Antibody-Induced Arthritis ». *Pain* (2019).

- Filligim R B, Ness T J. « Sex-Related Hormonal Influences on Pain and Analgesic Responses ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* (2000).
- Filligim R B, Gear R W. « Sex Differences in Opioid Analgesia: Clinical and Experimental Findings ». *European Journal of Pain* (2004).
- Flores C A, Shughrue P, Petersen S L, Mokha S S. « Sex-Related Differences in the Distribution of Opioid Receptor-like 1 Receptor mRNA and Colocalization with Estrogen Receptor mRNA in Neurons of the Spinal Trigeminal Nucleus Caudalis in the Rat ». *Neuroscience* (2003).
- Fontaine D, Almairac F, Santucci S, Fernandez C, Dallel R, Pallud J, Lanteri-Minet M. « Dural and Pial Pain-Sensitive Structures in Humans: New Inputs from Awake Craniotomies ». *Brain* (2018).
- Forsythe L P, Thorn B, Day M, Shelby G. « Race and Sex Differences in Primary Appraisals, Catastrophizing, and Experimental Pain Outcomes ». *The Journal of Pain* (2011).
- Fried N T, Maxwell C R, Elliott M B, Oshinsky M L. « Region-Specific Disruption of the Blood-Brain Barrier Following Repeated Inflammatory Dural Stimulation in a Rat Model of Chronic Trigeminal Allodynia ». *Cephalalgia* (2018).
- Fritschy J, Grzanna R. « Distribution of Locus Coeruleus Axons within the Rat Brainstem Demonstrated ByPhaseolus Vulgaris Leucoagglutinin Anterograde Tracing in Combination with Dopamine-?-Hydroxylase Immunofluorescence ». *The Journal of Comparative Neurology* (1990).
- Frye C A, Bock B C, Kanarek R B. « Hormonal Milieu Affects Tailflick Latency in Female Rats and May Be Attenuated by Access to Sucrose ». *Physiology & Behavior* (1992).
- Frye C A, Cuevas C A, Kanarek R B. « Diet and Estrous Cycle Influence Pain Sensitivity in Rats ». *Pharmacology Biochemistry and Behavior* (1993).
- Fukui M, Takishita A, Zhang N, Nakagawa T, Minami M, Satoh M. « Involvement of locus coeruleus noradrenergic neurons in supraspinal antinociception by alpha,beta-methylene-ATP in rats ». *Journal of Pharmacological Sciences* (2004).
- Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P, Casari G. « Haploinsufficiency of ATP1A2 Encoding the Na⁺/K⁺ Pump A2 Subunit Associated with Familial Hemiplegic Migraine Type 2 ». *Nature Genetics* (2003).
- Fuxe K, Dahlström A B, Jonsson G, Marcellino D, Guescini M, Dam M, Manger P, Agnati L. « The Discovery of Central Monoamine Neurons Gave Volume Transmission to the Wired Brain ». *Progress in Neurobiology* (2010).

G

- Ganley R P, Werder K, Wildner H, Zeilhofer H U. « Spinally Projecting Noradrenergic Neurons of the Locus Coeruleus Display Resistance to AAV2retro-Mediated Transduction ». *Molecular Pain* (2021).
- Gao V, Suzuki A, Magistretti P J, Lengacher S, Pollonini G, Steinman M Q, Alberini C M. « Astrocytic β -adrenergic receptors mediate hippocampal long-term memory consolidation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* (2016).
- Garcia-Falgueras A, Pinos H, Collado P, Pasaro E, Fernandez R, Jordan C L, Segovia S, Guillamon A. « The Role of the Androgen Receptor in CNS Masculinization ». *Brain Research* (2005).
- Garcia-Falgueras A, Pinos H, Fernández R, Collado P, Pasaro E, Segovia S, Guillamon A. « Sexual Dimorphism in Hybrids Rats ». *Brain Research* (2006).
- Gatter K C, Powell T P S. « The Projection of the Locus Coeruleus upon the Neocortex in the Macaque Monkey ». *Neuroscience* (1977).

- Gau R, Sévoz-Couche C, Hamon M, Bernard J. « Noxious Stimulation Excites Serotonergic Neurons: A Comparison between the Lateral Paragigantocellular Reticular and the Raphe Magnus Nuclei ». *Pain* (2013).
- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. « The Role of Sex Hormones on Formalin-Induced Nociceptive Responses ». *Brain Research* (2002).
- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. « Specificity of Female and Male Sex Hormones on Excitatory and Inhibitory Phases of Formalin-Induced Nociceptive Responses ». *Brain Research* (2005).
- Gauriau C, Bernard J. « Pain Pathways and Parabrachial Circuits in the Rat ». *Experimental Physiology* (2002).
- Gazerani P, Andersen O K, Arendt-Nielsen L. « A Human Experimental Capsaicin Model for Trigeminal Sensitization. Gender-Specific Differences ». *Pain* (2005).
- Geerling J C, Shin J W, Chimenti P C, Loewy A D. « Paraventricular hypothalamic nucleus: axonal projections to the brainstem ». *Journal of Comparative Neurology* (2010).
- Gelaye B, Sacco S, Brown W J, Nitchie H L, Ornello R, Peterlin B L. « Body Composition Status and the Risk of Migraine: A Meta-Analysis ». *Neurology* (2017).
- Gervasoni D, Darracq L, Fort P, Soulière F, Chouvet G, Luppi P H. « Electrophysiological evidence that noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus are tonically inhibited by GABA during sleep. » *European Journal of Neuroscience* (1998).
- Giamberardino M A, Affaitati G, Valente R, Iezzi S, Vecchiet L. « Changes in Visceral Pain Reactivity as a Function of Estrous Cycle in Female Rats with Artificial Ureteral Calculosis ». *Brain Research* (1997).
- Giorgi F S, Galgani A, Puglisi-Allegra S, Limanaqi F, Busceti C L, Fornai F. « Locus Coeruleus and neurovascular unit: From its role in physiology to its potential role in Alzheimer's disease pathogenesis ». *Journal of Neuroscience Research* (2020).
- Giustino T F, Ramanathan K R, Totty M S, Miles O W, Maren S. « Locus Coeruleus Norepinephrine Drives Stress-Induced Increases in Basolateral Amygdala Firing and Impairs Extinction Learning ». *The Journal of Neuroscience* (2020).
- Global Burden of Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. « Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 ». *Lancet* (2018).
- Goadsby P J, Lambert G A, Lance J W. « Differential effects on the internal and external carotid circulation of the monkey evoked by locus coeruleus stimulation ». *Brain Research* (1982).
- Goadsby P J, Lambert G A, Lance J W. « The peripheral pathway for extracranial vasodilatation in the cat ». *Journal of the Autonomic Nervous System* (1984).
- Goadsby P J, Lambert G A, Lance J W. « The mechanism of cerebrovascular vasoconstriction in response to locus coeruleus stimulation ». *Brain Research* (1985).
- Goadsby P J, Duckworth J W. « Low Frequency Stimulation of the Locus Coeruleus Reduces Regional Cerebral Blood Flow in the Spinalized Cat ». *Brain Research* (1989).
- Goadsby P J, Edvinsson L, Ekman R. « Vasoactive Peptide Release in the Extracerebral Circulation of Humans during Migraine Headache ». *Annals of Neurology* (1990).
- Goadsby P J, Lipton R B. « A review of paroxysmal hemicranias, SUNCT syndrome and other short-lasting headaches with autonomic feature, including new cases ». *Brain : a journal of neurology* (1997).
- Goadsby P J, Holland P R, Martins-Oliveira M, Hoffmann J, Schankin C, Akerman S. « Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing ». *Physiological Reviews* (2017).

- Goncharov N V, Nadeev A D, Jenkins R O, Avdonin P V. « Markers and Biomarkers of Endothelium: When Something Is Rotten in the State ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (2017).
- Gonzales R, Goldyne M E, Taiwo Y O, Levine J D. « Production of Hyperalgesic Prostaglandins by Sympathetic Postganglionic Neurons ». *Journal of Neurochemistry* (1989).
- Gormley P, Anttila V, Winsvold B S, Palta P, Esko T, Pers T H. « Meta-Analysis of 375,000 Individuals Identifies 38 Susceptibility Loci for Migraine ». *Nature Genetics* (2016).
- Gregory N S, Gibson-Corley K, Frey-Law L, Sluka K A. « Fatigue-Enhanced Hyperalgesia in Response to Muscle Insult: Induction and Development Occur in a Sex-Dependent Manner ». *Pain* (2013).
- Groves D A, Bowman E M, Brown V J. « Recordings from the Rat Locus Coeruleus during Acute Vagal Nerve Stimulation in the Anaesthetised Rat ». *Neuroscience Letters* (2005).
- Grzanna R, Molliver M E. « The locus coeruleus in the rat: an immunohistochemical delineation ». *Neuroscience* (1980).
- Guillamón A, De Blas M R, Segovia S. « Effects of sex steroids on the development of the locus coeruleus in the rat ». *Brain Research* (1988).
- Gunaydin S, Soysal A, Atay T, Arpacı B. « Motor and Occipital Cortex Excitability in Migraine Patients ». *The Canadian Journal of Neurological Sciences* (2006).
- Guo T Z, Jiang J Y, Buttermann A E, Maze M. « Dexmedetomidine injection into the locus ceruleus produces antinociception ». *Anesthesiology* (1996).
- Guo Z, Czerpaniak K, Zhang J, Cao Y. « Increase in Trigeminal Ganglion Neurons That Respond to Both Calcitonin Gene-Related Peptide and Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide in Mouse Models of Chronic Migraine and Posttraumatic Headache ». *Pain* (2021).
- Gursoy-Ozdemir Y, Qiu J, Matsuoka N, Bolay H, Berman D, Jin H, Wang X, Rosenberg G A, Lo E H, Moskowitz M A. « Cortical Spreading Depression Activates and Upregulates MMP-9 ». *Journal of Clinical Investigation* (2004).
- Guy N, Chalus M, Dallel R, Voisin D L. « Both oral and caudal parts of the spinal trigeminal nucleus project to the somatosensory thalamus in the rat ». *European Journal of Neuroscience* (2005).
- H**
- Hadjikhani N, Sanchez Del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong K K, Cutrer F M, Rosen B R, Tootell R B, Sorensen A G, Moskowitz M A. « Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* (2001).
- Hadjikhani N, Vincent M. « Neuroimaging Clues of Migraine Aura ». *The Journal of Headache and Pain* (2019).
- Hagan J J, Leslie R A, Patel S, Evans M L, Wattam T A, Holmes S, Benham C D. « Orexin A Activates Locus Coeruleus Cell Firing and Increases Arousal in the Rat ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* (1999).
- Hamann S R, Malik H, Sloan J W, Wala E P. « Interactions of “Ultra-Low” Doses of Naltrexone and Morphine in Mature and Young Male and Female Rats ». *Receptors and Channels* (2004).
- Hamba M, Muro M, Hiraide T, Ozawa H. « Expression of c-fos-like protein in the rat brain after injection of interleukin-1-beta into the gingiva. ». *Brain Research Bulletin* (1994).
- Hanken K, Manousi A, Klein J, Kastrup A, Eling P, Hildebrandt H. « On the Relation between Self-Reported Cognitive Fatigue and the Posterior Hypothalamic-brainstem Network ». *European Journal of Neurology* (2016).

- Hanken K, Bosse M, Möhrke K, Eling P, Kastrup A, Antal A, Hildebrandt H. « Counteracting Fatigue in Multiple Sclerosis with Right Parietal Anodal Transcranial Direct Current Stimulation ». *Frontiers in Neurology* (2016).
- Hansen J M, Levy D. « Pathophysiology of Migraine: Current Status and Future Directions ». In Pathophysiology of Headaches: From Molecule to Man, Ashina M, Geppetti P, Springer International Publishing (2015).
- Hassan S, Muere A, Einstein G. « Ovarian Hormones and Chronic Pain: A Comprehensive Review ». *Pain* (2014).
- Hathaway C B, Hu J W, Bereiter D A. « Distribution of Fos-like Immunoreactivity in the Caudal Brainstem of the Rat Following Noxious Chemical Stimulation of the Temporomandibular Joint ». *The Journal of Comparative Neurology* (1995).
- Haubrich J, Bernabo M, Nader K. « Noradrenergic projections from the locus coeruleus to the amygdala constrain fear memory reconsolidation ». *Elife* (2020).
- Haws C M, Heinricher M M, Fields H L. « Alpha-adrenergic receptor agonists, but not antagonists, alter the tail-flick latency when microinjected into the rostral ventromedial medulla of the lightly anesthetized rat. » *Brain Research* (1990).
- Hayashi H, Sumino R, Sessle B J. « Functional Organization of Trigeminal Subnucleus Interpolaris: Nociceptive and Innocuous Afferent Inputs, Projections to Thalamus, Cerebellum, and Spinal Cord, and Descending Modulation from Periaqueductal Gray ». *Journal of Neurophysiology* (1984).
- Hayashida K I, Clayton B A, Johnson J E, Eisenach J C. « Brain derived nerve growth factor induces spinal noradrenergic fiber sprouting and enhances clonidine analgesia following nerve injury in rats ». *Pain* (2008).
- Hayat H, Regev N, Matosevich N, Sales A, Paredes-Rodriguez E, Krom A J, Bergman L, Li Y, Lavigne M, Kremer E J, Yizhar O, Pickering A E, Nir Y. « Locus coeruleus norepinephrine activity mediates sensory-evoked awakenings from sleep ». *Science Advances* (2020).
- Hein L. « Adrenoceptors and Signal Transduction in Neurons ». *Cell and Tissue Research* (2006).
- Heinricher M M, Kaplan H J. « GABA-mediated inhibition in rostral ventromedial medulla: role in nociceptive modulation in the lightly anesthetized rat ». *Pain* (1991).
- Helena C V V, De Oliveira Poletini M, Sanvitto G L, Hayashi S, Franci, C R, Anselmo-Franci J A. « Changes in α -Estradiol Receptor and Progesterone Receptor Expression in the Locus Coeruleus and Preoptic Area throughout the Rat Estrous Cycle ». *Journal of Endocrinology* (2006).
- Hellström B, Anderberg U M. « Pain perception across the menstrual cycle phases in women with chronic pain ». *Perceptual and motor skills* (2003).
- Henssen D J, Kurt E, Kozicz T, van Dongen R, Bartels R H, van Walsum A M. « New Insights in Trigeminal Anatomy: A Double Orofacial Tract for Nociceptive Input ». *Frontiers in Neuroanatomy* (2016).
- Hernández C M A, Pinto M E, Montiel H L H. « Food Allergy Mediated by IgG Antibodies Associated with Migraine in Adults ». *Revista Alergia México* (2007).
- Herren R Y. « The Effect of High and Low Female Sex Hormone Concentration on the Two-Point Threshold of Pain and Touch and upon Tactile Sensitivity. » *Journal of Experimental Psychology* (1933).
- Hewitt S C, Korach K S. « Estrogen Receptors: New Directions in the New Millennium ». *Endocrine Reviews* (2018).
- Hickey L, Li Y, Fyson S J, Watson T C, Perrins R, Hewinson J, Teschemacher A G, Furue H, Lumb B M, Pickering A E. « Optoactivation of Locus Ceruleus Neurons Evokes Bidirectional Changes in Thermal Nociception in Rats ». *Journal of Neuroscience* (2014).

- Hindiyeh N A, Zhang N, Farrar M, Banerjee P, Lombard L, Aurora S K. « The Role of Diet and Nutrition in Migraine Triggers and Treatment: A Systematic Literature Review ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2020).
- Hitomi S, Kross K, Kurose M, Porreca F, Meng I D. « Activation of Dura-Sensitive Trigeminal Neurons and Increased c-Fos Protein Induced by Morphine Withdrawal in the Rostral Ventromedial Medulla ». *Cephalalgia* (2017).
- Hoffmann J, Suprinsinchai W, Akerman S, Andreou A P, Winrow C J, Renger J, Hargreaves R, Goadsby P J. « Evidence for Orexinergic Mechanisms in Migraine ». *Neurobiology of Disease* (2015).
- Hohmann A G. « A cannabinoid pharmacotherapy for chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathy ». *Pain* (2005).
- Holland P R, Akerman S, Goadsby P J. « Orexin 1 receptor activation attenuates neurogenic dural vasodilation in an animal model of trigeminovascular nociception ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (2005).
- Holland P R, Barloese M, Fahrenkrug J. « PACAP in Hypothalamic Regulation of Sleep and Circadian Rhythm: Importance for Headache ». *The Journal of Headache and Pain* (2018).
- Holroyd K A, Cottrell C K, O'Donnell F J, Cordingley G E, Drew J B, Carlson B W, Himawan L. « Effect of Preventive (Blocker) Treatment, Behavioural Migraine Management, or Their Combination on Outcomes of Optimised Acute Treatment in Frequent Migraine: Randomised Controlled Trial ». *British Medical Journal* (2010).
- Honda K, Takano Y. « New Topics in Vasopressin Receptors and Approach to Novel Drugs: Involvement of Vasopressin V1a and V1b Receptors in Nociceptive Responses and Morphine-Induced Effects ». *Journal of Pharmacological Sciences* (2009).
- Hoskin K L, Bulmer D C, Lasalandra M, Jonkman A, Goadsby P J. « Fos expression in the midbrain periaqueductal grey after trigeminovascular stimulation ». *Journal of Anatomy* (2001).
- Hosobuchi Y, Adams J, Linchitz R. « Pain Relief by Electrical Stimulation of the Central Gray Matter in Humans and Its Reversal by Naloxone ». *Science* (1977).
- Hougaard A, Amin F, Hauge A W, Ashina M, Olesen J. « Provocation of Migraine with Aura Using Natural Trigger Factors ». *Neurology* (2013).
- Houle T T, Butschek R A, Turner D P, Smitherman T A, Rains J A, Penzien D B. « Stress and Sleep Duration Predict Headache Severity in Chronic Headache Sufferers ». *Pain* (2012).
- Howorth P W, Teschemacher A G, Pickering A E. « Retrograde Adenoviral Vector Targeting of Nociceptive Pontospinal Noradrenergic Neurons in the Rat in Vivo ». *The Journal of Comparative Neurology* (2009).
- Huang H P, Zhu F P, Chen X W, Xu Z Q, Zhang C X, Zhou Z. « Physiology of quantal norepinephrine release from somatodendritic sites of neurons in locus coeruleus ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* (2012).
- Hughes S W, Hickey L, Hulse R P, Lumb B M, Pickering A E. « Endogenous Analgesic Action of the Pontospinal Noradrenergic System Spatially Restricts and Temporally Delays the Progression of Neuropathic Pain Following Tibial Nerve Injury ». *Pain* (2013).
- Humphrey P, Goadsby P J. « The Mode of Action of Sumatriptan Is Vascular? A Debate ». *Cephalalgia* (1994).
- Hunter T M, Boytsov N N, Zhang X, Schroeder K, Michaud K, Araujo A B. « Prevalence of Rheumatoid Arthritis in the United States Adult Population in Healthcare Claims Databases, 2004–2014 ». *Rheumatology International* (2017).

Hussain L S, Reddy V, Maani C V. « Physiology, Noradrenergic Synapse ». Treasure Island, StatPearls (2021).

I

Iacovides S, Avidon I, Baker F C. « Does Pain Vary across the Menstrual Cycle? A Review ». European Journal of Pain (2015).

Iijima K. « Chemocyttoarchitecture of the rat locus ceruleus ». Histology and histopathology (1993).

Imbe H, Okamoto K, Donishi T, Kawai S, Enoki K, Senba E, Kimura A. « Activation of ERK in the Locus Coeruleus Following Acute Noxious Stimulation ». Brain Research (2009).

Inoue M, Nakajima S, Nakajima Y. « Somatostatin induces an inward rectification in rat locus coeruleus neurones through a pertussis toxin-sensitive mechanism ». The Journal of Physiology (1988).

Ivanov A, Aston-Jones G. « Hypocretin/Orexin Depolarizes and Decreases Potassium Conductance in Locus Coeruleus Neurons ». NeuroReport (2000).

Iyengar S, Johnson K W, Ossipov M H, Aurora S K. « CGRP and the Trigeminal System in Migraine ». Headache (2019)

J

Jacobs B L, McGinty D J. « Amygdala unit activity during sleep and waking ». Experimental neurology (1971).

Janss A J, Gebhart G F. « Brainstem and Spinal Pathways Mediating Descending Inhibition from the Medullary Lateral Reticular Nucleus in the Rat ». Brain Research (1988).

Jasmin L, Boudah A, Ohara P T. « Long-Term Effects of Decreased Noradrenergic Central Nervous System Innervation on Pain Behavior and Opioid Antinociception ». The Journal of Comparative Neurology (2003).

Jensen T S, Finnerup N B. « Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms ». Lancet Neurology (2014).

Ji R, Befort K, Brenner G J, Woolf C J. « ERK MAP Kinase Activation in Superficial Spinal Cord Neurons Induces Prodynorphin and NK-1 Upregulation and Contributes to Persistent Inflammatory Pain Hypersensitivity ». The Journal of Neuroscience (2002).

Ji Y, Murphy A Z, Traub R J. « Estrogen Modulation of Morphine Analgesia of Visceral Pain in Female Rats Is Supraspinally and Peripherally Mediated ». The Journal of Pain (2007).

Jiang M, Griff E, Ennis M, Zimmer L A, Shipley M T. « Activation of Locus Coeruleus Enhances the Responses of Olfactory Bulb Mitral Cells to Weak Olfactory Nerve Input ». The Journal of Neuroscience (1996).

Jiang C, Fujita T, Kumamoto E. « Synaptic Modulation and Inward Current Produced by Oxytocin in Substantia Gelatinosa Neurons of Adult Rat Spinal Cord Slices ». Journal of Neurophysiology (2014).

Jin X, Li S, Bondy B, Zhong W, Oginsky M F, Wu Y, Johnson C M, Zhang S, Cui N, Jiang C. « Identification of a Group of GABAergic Neurons in the Dorsomedial Area of the Locus Coeruleus ». PLOS ONE (2016).

Jodo E, Chiang C, Aston-Jones G. « Potent excitatory influence of prefrontal cortex activity on noradrenergic locus coeruleus neurons ». Neuroscience (1998).

Jones B E, Moore R Y. « Ascending Projections of the Locus Coeruleus in the Rat. II. Autoradiographic Study ». Brain Research (1977).

Jones S L, Gebhart G F. « Characterization of coeruleospinal inhibition of the nociceptive tail-flick reflex in the rat: mediation by spinal alpha 2-adrenoceptors ». *Brain research* (1986).

Jones S L, Gebhart G F. « Quantitative Characterization of Ceruleospinal Inhibition of Nociceptive Transmission in the Rat ». *Journal of Neurophysiology* (1986).

Juhasz G, Zsombok T, Jakab B, Nemeth J, Szolcsanyi J, Bagdy G. « Sumatriptan Causes Parallel Decrease in Plasma Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Concentration and Migraine Headache During Nitroglycerin Induced Migraine Attack ». *Cephalalgia* (2005).

K

Kaergaard, A, Hansen Å M, Rasmussen K, Andersen J H. « Association between Plasma Testosterone and Work-Related Neck and Shoulder Disorders among Female Workers ». *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* (2000).

Kaiko R F, Wallenstein S L, Rogers A G, Houde R W. « Sources of Variation in Analgesic Responses in Cancer Patients with Chronic Pain Receiving Morphine ». *Pain* (1983).

Karatas H, Erdener S E, Gursoy-Ozdemir Y, Lule S, Eren-Kocak E, Sen Z D, Dalkara T. « Spreading Depression Triggers Headache by Activating Neuronal Panx1 Channels ». *Science* (2013).

Katayama Y, Ueno Y, Tsukiyama T, Tsubokawa T. « Long lasting suppression of firing of cortical neurons and decrease in cortical blood flow following train pulse stimulation of the locus coeruleus in the cat. » *Brain Research* (1981).

Kaur S, Saxena R N, Mallick B N. « GABAergic Neurons in Prepositus Hypoglossi Regulate REM Sleep by Its Action on Locus Coeruleus in Freely Moving Rats ». *Synapse* (2001).

Kaur S, Benton W L, Tongkhuya S A, Lopez C M C, Uphouse L, Averitt D L. « Sex Differences and Estrous Cycle Effects of Peripheral Serotonin-Evoked Rodent Pain Behaviors ». *Neuroscience* (2018).

Kaushal R, Taylor B K, Jamal A B, Zhang L, Ma F, Donahue R, Westlund K N. « GABA-A Receptor Activity in the Noradrenergic Locus Coeruleus Drives Trigeminal Neuropathic Pain in the Rat; Contribution of N α 1 Receptors in the Medial Prefrontal Cortex ». *Neuroscience* (2016).

Kawanabe R, Yoshihara K, Hatada I, Tsuda M. « Activation of Spinal Dorsal Horn Astrocytes by Noxious Stimuli Involves Descending Noradrenergic Signaling ». *Molecular Brain* (2021).

Kawasaki Y, Kumamoto E, Furue H, Yoshimura M. « Alpha 2 adrenoceptor-mediated presynaptic inhibition of primary afferent glutamatergic transmission in rat substantia gelatinosa neurons ». *Anesthesiology* (2003).

Kayser V, Berkley K J, Keita H, Gautron M, Guilbaud G. « Estrous and Sex Variations in Vocalization Thresholds to Hindpaw and Tail Pressure Stimulation in the Rat ». *Brain Research* (1996).

Keezer M R, Bauer P R, Ferrari M D, Sander J W. « The Comorbid Relationship between Migraine and Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *European Journal of Neurology* (2015).

Keller J T, Marfurt C F. « Peptidergic and Serotonergic Innervation of the Rat Dura Mater ». *The Journal of Comparative Neurology* (1991).

Kelly S J, Franklin K B. « An increase in tryptophan in brain may be a general mechanism for the effect of stress on sensitivity to pain ». *Neuropharmacology* (1985).

Kelman L. « The Triggers or Precipitants of the Acute Migraine Attack ». *Cephalalgia* (2007).

Kim S Y, Park S P. « Cutaneous Allodynia and Its Risk Factors in Korean Patients with Migraine: A Survey of Two Tertiary Care Hospitals ». *Journal of Oral & Facial Pain and Headache* (2016).

- Kim J, Cho S, Kim W, Yang K I, Yun C, Chu M K. « Impact of Migraine on the Clinical Presentation of Insomnia: A Population-Based Study ». *The Journal of Headache and Pain* (2018).
- Kim Y E, Kim M K, Suh S, Kim J H. « Altered Trigeminothalamic Spontaneous Low-Frequency Oscillations in Migraine without Aura: A Resting-State fMRI Study ». *BMC Neurology* (2021).
- Knight Y E, Goadsby P J. « The Periaqueductal Grey Matter Modulates Trigeminovascular Input: A Role in Migraine? » *Neuroscience* (2001).
- Kohro Y, Matsuda T, Yoshihara K, Kohno K, Koga K, Katsuragi R, Oka T, Tashima R, Muneta S, Yamane T, Okada S, Momokino K, Furusho A, Hamase K, Oti T, Sakamoto H, Hayashida K, Kobayashi R, Horii T, Hatada I, Tozaki-Saitoh H, Mikoshiba K, Taylor V, Inoue K, Tsuda M. « Spinal astrocytes in superficial laminae gate brainstem descending control of mechanosensory hypersensitivity ». *Nature Neuroscience* (2020).
- Korczyńska O A, Husain S, Khan J, Eliav E, Soteropoulos P, Benoliel R. « Differential Gene Expression in Trigeminal Ganglia of Male and Female Rats Following Chronic Constriction of the Infraorbital Nerve ». *European Journal of Pain* (2018).
- Kremer M, Yalcin I, Goumon Y, Wurtz X, Nexon L, Daniel D, Megat S, Ceredig R A, Ernst C, Turecki G, Chavant V, Thérault J F, Lacaud A, Joganah LE, Lelievre V, Massotte D, Lutz P E, Gilsbach R, Salvat E, Barrot M. « A Dual Noradrenergic Mechanism for the Relief of Neuropathic Allodynia by the Antidepressant Drugs Duloxetine and Amitriptyline ». *Journal of Neuroscience* (2018).
- Kristoffersen E S, Børte S, Hagen K, Zwart J, Winsvold B S. « Migraine, Obesity and Body Fat Distribution – a Population-Based Study ». *The Journal of Headache and Pain* (2020).
- Kruuse C, Thomsen L L, Birk S, Olesen J. « Migraine Can Be Induced by Sildenafil without Changes in Middle Cerebral Artery Diameter ». *Brain* (2003).
- Krymchantowski A, Jevoux C. « Memantine in the preventive treatment for migraine and refractory migraine ». *Headache* (2009).
- Kuba T, Quinones-Jenab V. « The Role of Female Gonadal Hormones in Behavioral Sex Differences in Persistent and Chronic Pain: Clinical versus Preclinical Studies ». *Brain Research Bulletin* (2005).
- Kubo A, Shinoda M, Katagiri A, Takeda M, Suzuki T, Asaka J, Yeomans D C, Iwata K. « Oxytocin Alleviates Orofacial Mechanical Hypersensitivity Associated with Infraorbital Nerve Injury through Vasopressin-1A Receptors of the Rat Trigeminal Ganglia ». *Pain* (2017).
- Kurth T, Gaziano J M, Cook N R, Bubes V, Logroscino G, Diener H, Buring J E. « Migraine and Risk of Cardiovascular Disease in Men ». *Archives of Internal Medicine* (2007).
- Kurth T, Winter A C, Eliassen A H, Dushkes R, Mukamal K J, Rimm E B, Willett W C, Manson J E, Rexrode K M. « Migraine and Risk of Cardiovascular Disease in Women: Prospective Cohort Study ». *British Medical Journal* (2016).
- Kuzawińska O, Lis K, Cudna A, Bałkowiec-Iskra E. « Gender differences in the neurochemical response of trigeminal ganglion neurons to peripheral inflammation in mice ». *Acta Neurobiologiae Experimentalis* (2014).
- Kwiat G C, Basbaum A I. « The Origin of Brainstem Noradrenergic and Serotonergic Projections to the Spinal Cord Dorsal Horn in the Rat ». *Somatosensory & Motor Research* (1992).

L

- La J, Mo C J. « Peripheral afferents and spinal inhibitory system in dynamic and static mechanical allodynia ». *Pain* (2017)

- LaGuardia J J, Cohrs R J, Gilden D H. « Numbers of Neurons and Non-Neuronal Cells in Human Trigeminal Ganglia ». *Neurological Research* (2000).
- Lamb Y N. « Lasmiditan: First Approval ». *Drugs* (2019).
- Lapirot O, Chebbi R, Monconduit L, Artola A, Dallel R, Luccarini P. « NK1 Receptor-Expressing Spinoparabrachial Neurons Trigger Diffuse Noxious Inhibitory Controls through Lateral Parabrachial Activation in the Male Rat ». *Pain* (2009).
- Lapirot O, Melin C, Modolo A, Nicolas C, Messaoudi Y, Monconduit L, Artola A, Luccarini P, Dallel R. « Tonic and Phasic Descending Dopaminergic Controls of Nociceptive Transmission in the Medullary Dorsal Horn ». *Pain* (2011).
- Laque A, Yu S, Qualls-Creekmore E, Gettys S, Schwartzburg C, Bui K, Rhodes C. « Leptin Modulates Nutrient Reward via Inhibitory Galanin Action on Orexin Neurons ». *Molecular Metabolism* (2015).
- Lardreau E. « La migraine : biographie d'une maladie ». *Les Belles Lettres* (2014)
- Lassen L, Haderslev P, Jacobsen V, Iversen H, Sperling B, Olesen J. « Cgrp May Play A Causative Role in Migraine ». *Cephalalgia* (2002).
- Laurell K, Artto V, Bendtsen L, Hagen K, Häggström J, Linde M, Söderström L. « Premonitory Symptoms in Migraine: A Cross-Sectional Study in 2714 Persons ». *Cephalalgia* (2016).
- Leão A A P. « SPREADING DEPRESSION OF ACTIVITY IN THE CEREBRAL CORTEX ». *Journal of Neurophysiology* (1944).
- Leão A A P, Morison R S. « PROPAGATION OF SPREADING CORTICAL DEPRESSION ». *Journal of Neurophysiology* (1945).
- Lee J Y, Choi H Y, Ju B, Yune T Y. « Estrogen Alleviates Neuropathic Pain Induced after Spinal Cord Injury by Inhibiting Microglia and Astrocyte Activation ». *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* (2018).
- Lerebours F, Boulanouar K, Barège M, Denuelle M, Bonneville F, Payoux P, Larrue V, Fabre N. « Functional Connectivity of Hypothalamus in Chronic Migraine with Medication Overuse ». *Cephalalgia* (2019).
- LeResche L, Mancl L, Sherman J J, Gandara B, Dworkin S F. « Changes in Temporomandibular Pain and Other Symptoms across the Menstrual Cycle ». *Pain* (2003).
- Levine F M, De Simone L L. « The Effects of Experimenter Gender on Pain Report in Male and Female Subjects ». *Pain* (1991).
- Lipton R B, Hamelsky S W, Kolodner K B, Steiner T J, Stewart W F. « Migraine, Quality of Life, and Depression: A Population-Based Case-Control Study ». *Neurology* (2000).
- Lipton R B, Scher A I, Kolodner K, Liberman J, Steiner T J, Stewart W F. « Migraine in the United States: epidemiology and patterns of health care use ». *Neurology* (2002).
- Lipton R B, Fanning K M, Serrano D, Reed M L, Cady R, Buse D C. « Ineffective Acute Treatment of Episodic Migraine Is Associated with New-Onset Chronic Migraine ». *Neurology* (2015).
- Liu R, Zhao Z. « Selective Blockade by Yohimbine of Descending Spinal Inhibition from Lateral Reticular Nucleus but Not from Locus Coeruleus in Rats ». *Neuroscience Letters* (1992).
- Liu K Y, Acosta-Cabronero J, Cardenas-Blanco A, Loane C, Berry A J, Betts M J, Kievit R A. « In Vivo Visualization of Age-Related Differences in the Locus Coeruleus ». *Neurobiology of Aging* (2019).
- Liu-Chen L, Han D H, Moskowitz M A. « Pia Arachnoid Contains Substance P Originating from Trigeminal Neurons ». *Neuroscience* (1983).
- Llorca-Torralba M, Borges G, Neto F, Mico J A, Berrocoso E. « Noradrenergic Locus Coeruleus Pathways in Pain Modulation ». *Neuroscience* (2016).

- Long H, Gao M, Zhu Y, Liu H, Zhou Y, Liao L, Lai W. « The Effects of Menstrual Phase on Orthodontic Pain Following Initial Archwire Engagement ». *Oral Diseases* (2017).
- Loughlin S E, Foote S L, Bloom F E. « Efferent Projections of Nucleus Locus Coeruleus: Topographic Organization of Cells of Origin Demonstrated by Three-Dimensional Reconstruction ». *Neuroscience* (1986).
- Loyd D R, Morgan M M, Murphy A Z. « Morphine Preferentially Activates the Periaqueductal Gray–Rostral Ventromedial Medullary Pathway in the Male Rat: A Potential Mechanism for Sex Differences in Antinociception ». *Neuroscience* (2007).
- Lu Y, Chen C, Wang S, Wu F. « 17 β -Estradiol Mediates the Sex Difference in Capsaicin-Induced Nociception in Rats ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (2009).
- Luppi P, Aston-Jones G, Akaoka H, Chouvet G, Jouvet M. « Afferent Projections to the Rat Locus Coeruleus Demonstrated by Retrograde and Anterograde Tracing with Cholera-Toxin B Subunit and Phaseolus Vulgaris Leucoagglutinin ». *Neuroscience* (1995).
- Luque J M, De Blas M R, Segovia S, Guillamón A. « Sexual dimorphism of the dopamine-beta-hydroxylase-immunoreactive neurons in the rat locus ceruleus ». *Developmental brain research* (1992).

M

- Ma W, Eisenach J C. « Chronic Constriction Injury of Sciatic Nerve Induces the Up-Regulation of Descending Inhibitory Noradrenergic Innervation to the Lumbar Dorsal Horn of Mice ». *Brain Research* (2003).
- MacGregor E A, Hackshaw A. « Prevalence of Migraine on Each Day of the Natural Menstrual Cycle ». *Neurology* (2004).
- Maeda M, Tsuruoka M, Hayashi B, Nagasawa I, Inoue T. « Descending Pathways from Activated Locus Coeruleus/Subcoeruleus Following Unilateral Hindpaw Inflammation in the Rat ». *Brain Research Bulletin* (2009).
- Maggioni F, Alessi C, Maggino T, Zanchin G. « Headache during pregnancy ». *Cephalalgia* (1997).
- Mainero C, Boshyan J, Hadjikhani N. « Altered Functional Magnetic Resonance Imaging Resting-State Connectivity in Periaqueductal Gray Networks in Migraine ». *Annals of Neurology* (2011).
- Maleki N, Szabo E, Becerra L, Moulton E, Scrivani S J, Burstein R, Borsook D. « Ictal and Interictal Brain Activation in Episodic Migraine: Neural Basis for Extent of Allodynia ». *PLOS ONE* (2021).
- Malick A, Strassman R M, Burstein R. « Trigeminohypothalamic and Reticulohypothalamic Tract Neurons in the Upper Cervical Spinal Cord and Caudal Medulla of the Rat ». *Journal of Neurophysiology* (2000).
- Manack A, Buse D C, Serrano D, Turkel C C, Lipton R B. « Rates, Predictors, and Consequences of Remission from Chronic Migraine to Episodic Migraine ». *Neurology* (2011).
- Maneyapanda S B. « Relationship Between Significant Perinatal Events and Migraine Severity ». *PEDIATRICS* (2005).
- Maniyar F H, Starr P, Goadsby P J. « Paroxysmal sneezing after hypothalamic deep brain stimulation for cluster headache ». *Cephalalgia* (2012).
- Maniyar F H, Sprenger T, Monteith T, Schankin C, Goadsby P J. « Brain Activations in the Premonitory Phase of Nitroglycerin-Triggered Migraine Attacks ». *Brain* (2014).
- Marieb E N, Hoehn K. « *anatomie et Physiologie Humaine (9^e édition)* ». Pearson (2014).
- Martin W J, Hohmann A G, Walker J M. « Suppression of Noxious Stimulus-Evoked Activity in the Ventral Posterolateral Nucleus of the Thalamus by a Cannabinoid Agonist: Correlation between Electrophysiological and Antinociceptive Effects ». *The Journal of Neuroscience* (1996).

- Martin V T, Lee J, Behbehani M M. « Sensitization of the Trigeminal Sensory System During Different Stages of the Rat Estrous Cycle: Implications for Menstrual Migraine ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2007).
- Martin V T. « Ovarian Hormones and Pain Response: A Review of Clinical and Basic Science Studies ». *Gender Medicine* (2009).
- Martínez-Gómez M, Cruz Y, Salas M, Hudson R, Pacheco P. « Assessing Pain Threshold in the Rat: Changes with Estrus and Time of Day ». *Physiology & Behavior* (1994).
- Martins-Oliveira M, Akerman S, Holland P R, Hoffmann J R, Tavares I, Goadsby P J. « Neuroendocrine Signaling Modulates Specific Neural Networks Relevant to Migraine ». *Neurobiology of Disease* (2017).
- Matharu M S. « Central Neuromodulation in Chronic Migraine Patients with Suboccipital Stimulators: A PET Study ». *Brain* (2004).
- Mathiau P, Ecurat M, Aubineau P. « Immunohistochemical Evidence for the Absence of Central Neuron Projection to Pial Blood Vessels and Dura Mater ». *Neuroscience* (1993).
- May A, Goadsby P J. « Substance P Receptor Antagonists in the Therapy of Migraine ». *Expert Opinion on Investigational Drugs* (2001).
- May A, Schulte L H. « Chronic Migraine: Risk Factors, Mechanisms and Treatment ». *Nature Reviews Neurology* (2016).
- Mayberg M R, Zervas N T, Moskowitz M A. « Trigeminal Projections to Supratentorial Pial and Dural Blood Vessels in Cats Demonstrated by Horseradish Peroxidase Histochemistry ». *The Journal of Comparative Neurology* (1984).
- McCall J G, Al-Hasani R, Siuda E R, Hong D Y, Norris A J, Ford C P, Bruchas M R. « CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety ». *Neuron* (2015).
- Mecklenburg J, Zou Y, Wangzhou A, Garcia D, Lai Z, Tumanov A V, Dussor G, Price T J, Akopian A N. « Transcriptomic Sex Differences in Sensory Neuronal Populations of Mice ». *Scientific Reports* (2020).
- Melo-Carrillo A, Lopez-Avila A. « A Chronic Animal Model of Migraine, Induced by Repeated Meningeal Nociception, Characterized by a Behavioral and Pharmacological Approach ». *Cephalalgia* (2013).
- Meng W, Adams M J, Hebert H L, Deary I J, McIntosh A M, Smith B H. « A Genome-Wide Association Study Finds Genetic Associations with Broadly-Defined Headache in UK Biobank (N = 223,773) ». *EBioMedicine* (2018).
- Merikangas K R, Cui L, Richardson A K, Isler H, Khoromi S, Nakamura E, Lamers F, Rössler W, Ajdacic-Gross V, Gamma A, Angst J. « Magnitude, impact, and stability of primary headache subtypes: 30 year prospective Swiss cohort study ». *British Medical Journal* (2011).
- Messina A, Bitetti I, Precenzano F, Iacono D, Messina G, Roccella M, Parisi L. « Non-Rapid Eye Movement Sleep Parasomnias and Migraine: A Role of Orexinergic Projections ». *Frontiers in Neurology* (2018).
- Messlinger K, Fischer M J, Lennerz J K. « Neuropeptide effects in the trigeminal system: pathophysiology and clinical relevance in migraine ». *The Keio Journal of Medicine* (2011).
- Messlinger K, Balczak L K, Russo A F. « Cross-Talk Signaling in the Trigeminal Ganglion: Role of Neuropeptides and Other Mediators ». *Journal of Neural Transmission* (2020).
- Mikhailov N, Mamontov O V, Kamshilin A A, Giniatullin R. « Parasympathetic Cholinergic and Neuropeptide Mechanisms of Migraine ». *Anesthesiology and Pain Medicine* (2016).
- Millan M J. « The induction of pain: an integrative review ». *Progress in neurobiology* (1999).

- Mills E P, Akhter R, Di Pietro F, Murray G M, Peck C C, Macey P M, Henderson L A. « Altered Brainstem Pain Modulating Circuitry Functional Connectivity in Chronic Painful Temporomandibular Disorder ». *The Journal of Pain* (2021).
- Milner P M. « Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leão ». *Electroencephalography and clinical neurophysiology* (1958).
- Minen M T, De Dhaem O B, Van Diest A K, Powers S, Schwedt T J, Lipton R, Silbersweig D. « Migraine and Its Psychiatric Comorbidities ». *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* (2016).
- Mínguez-Olaondo A, Martínez-Valbuena I, Romero S, Frühbeck G, Luquin M R, Martínez-Vila E, Irimia P. « Excess Abdominal Fat Is Associated with Cutaneous Allodynia in Individuals with Migraine: A Prospective Cohort Study ». *The Journal of Headache and Pain* (2020).
- Miraucourt L S, Peirs C, Dallel R, Voisin D L. « Glycine inhibitory dysfunction turns touch into pain through astrocyte-derived D-serine ». *Pain* (2011).
- Modirrousta M, Mainville L, Jones B E. « Gabaergic Neurons with A2-Adrenergic Receptors in Basal Forebrain and Preoptic Area Express c-Fos during Sleep ». *Neuroscience* (2004).
- Mogil J S, Chesler E J, Wilson S G, Juraska J M, Sternberg W F. « Sex Differences in Thermal Nociception and Morphine Antinociception in Rodents Depend on Genotype ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* (2000).
- Mogil J S. « Qualitative Sex Differences in Pain Processing: Emerging Evidence of a Biased Literature ». *Nature Reviews Neuroscience* (2020).
- Moisset X, Lanteri-Minet M, Fontaine D. « Neurostimulation Methods in the Treatment of Chronic Pain ». *Journal of Neural Transmission* (2020).
- Moloney R D, Sajjad J, Foley T, De Felice V, Dinan T G, Cryan J F, O'Mahony S M. « Estrous Cycle Influences Excitatory Amino Acid Transport and Visceral Pain Sensitivity in the Rat: Effects of Early-Life Stress ». *Biology of Sex Differences* (2016).
- Moore R Y, Bloom F E. « Central Catecholamine Neuron Systems: Anatomy and Physiology of the Norepinephrine and Epinephrine Systems ». *Annual Review of Neuroscience* (1979).
- Morales-Medina J C, Flores G, Vallelunga A, Griffiths N H, Iannitti T. « Cerebrolysin improves peripheral inflammatory pain: Sex differences in two models of acute and chronic mechanical hypersensitivity ». *Drug Development Research* (2019).
- Morelli N, Rota E, Gori S, Guidetti D, Michieletti E, De Simone R, Di Salle F. « Brainstem activation in cluster headache: an adaptive behavioural response? ». *Cephalalgia* (2013).
- Morgan M M, Whittier K L, Hegarty D M, Aicher S A. « Periaqueductal Gray Neurons Project to Spinally Projecting GABAergic Neurons in the Rostral Ventromedial Medulla ». *Pain* (2008).
- Morisset V, Nagy F. « Plateau Potential-Dependent Windup of the Response to Primary Afferent Stimuli in Rat Dorsal Horn Neurons: Plateau Potential-Dependent Windup in Rat DHNs ». *European Journal of Neuroscience* (2000).
- Moulton E A, Burstein R, Tully S, Hargreaves R, Becerra L, Borsook D. « Interictal dysfunction of a brainstem descending modulatory center in migraine patients. » *PLOS ONE* (2008).
- Moulton E A, Becerra L, Johnson A, Burstein R, Borsook D. « Altered Hypothalamic Functional Connectivity with Autonomic Circuits and the Locus Coeruleus in Migraine ». *PLOS ONE* (2014).
- Mulvey B, Bhatti D L, Gyawali S, Lake A M, Kriaucionis S, Ford C P, Bruchas M R, Heintz N, Dougherty J D. « Molecular and Functional Sex Differences of Noradrenergic Neurons in the Mouse Locus Coeruleus ». *Cell Reports* (2018).

Munksgaard S B, Ertsey C, Frandsen E, Bendtsen L, Tekes K, Jensen R H. « Circulating Nociceptin and CGRP in Medication-overuse Headache ». *Acta Neurologica Scandinavica* (2018).

N

Nemmani K V S, Grisel J E, Stowe J R, Smith-Carliss R, Mogil J S. « Modulation of Morphine Analgesia by Site-Specific N -Methyl-d-Aspartate Receptor Antagonists: Dependence on Sex, Site of Antagonism, Morphine Dose, and Time ». *Pain* (2004).

Nevitt S J, Sudell M, Weston J, Smith C T, Marson A G. « Antiepileptic Drug Monotherapy for Epilepsy: A Network Meta-Analysis of Individual Participant Data ». *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2017).

Ngo M, Tadi P. « Ergotamine/Caffeine. » *StatPearls Publishing* (2021).

Nicotra L, Tuke J, Grace P M, Rolan P E, Hutchinson M R. « Sex Differences in Mechanical Allodynia: How Can It Be Preclinically Quantified and Analyzed? » *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (2014).

Niesters M, Dahan A, Kest B, Zacny J, Stijnen T, Aarts L, Sarton E. « Do Sex Differences Exist in Opioid Analgesia? A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Experimental and Clinical Studies ». *Pain* (2010).

Nitz D, Siegel J M. « GABA release in the locus coeruleus as a function of sleep/wake state ». *Neuroscience* (1997).

Niu K, Saloman J L, Zhang Y, Ro J Y. « Sex Differences in the Contribution of ATP-Sensitive K⁺ Channels in Trigeminal Ganglia under an Acute Muscle Pain Condition ». *Neuroscience* (2011).

Nomura S, Yasui Y, Takada M, Konishi A, Mizuno N. « Trigeminal Nerve Branches Containing Primary Afferent Fibers to the Dorsal Division of the Principal Sensory Trigeminal Nucleus: A Transganglionic Horseradish Peroxidase Study in the Cat ». *Neuroscience Letters* (1986).

Noor S, Sun M S, Vanderwall A G, Havard M A, Sanchez J E, Harris N W, Nysus M V. « LFA-1 Antagonist (BIRT377) Similarly Reverses Peripheral Neuropathic Pain in Male and Female Mice with Underlying Sex Divergent Peripheral Immune Proinflammatory Phenotypes ». *Neuroimmunology and Neuroinflammation* (2019).

Nosedá R, Constandil L, Bourgeois L, Chalus M, Villanueva L. « Changes of Meningeal Excitability Mediated by Corticotrigeminal Networks: A Link for the Endogenous Modulation of Migraine Pain ». *Journal of Neuroscience* (2010).

Nosedá R, Jakubowski M, Kainz V, Borsook D, Burstein R. « Cortical Projections of Functionally Identified Thalamic Trigeminovascular Neurons: Implications for Migraine Headache and Its Associated Symptoms ». *Journal of Neuroscience* (2011).

O

Ober C, Loisel D A, Gilad Y. « Sex-Specific Genetic Architecture of Human Disease ». *Nature Reviews Genetics* (2008).

Ødegård S S, Sand T, Engstrøm M, Stovner L J, Zwart J, Hagen K. « The Long-Term Effect of Insomnia on Primary Headaches: A Prospective Population-Based Cohort Study (HUNT-2 and HUNT-3): April 2011 ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2011).

Ohm T G, Busch C, Bohl J. « Unbiased Estimation of Neuronal Numbers in the Human Nucleus Coeruleus during Aging ». *Neurobiology of Aging* (1997).

Ohta K, Cotoh F, Shimazu K, Amano T, Komatsumoto S, Hamada J, Takahashi S. « Locus Coeruleus Stimulation Exerts Different Influences on the Dynamic Changes of Cerebral Pial and Intraparenchymal Vessels ». *Neurological Research* (1991).

- Okamoto K, Hirata H, Takeshita S, Bereiter D A. « Response Properties of TMJ Units in Superficial Laminae at the Spinomedullary Junction of Female Rats Vary Over the Estrous Cycle ». *Journal of Neurophysiology* (2003).
- Olave M J, Maxwell D J. « An investigation of neurons that possess the alpha 2C-adrenergic receptor in the rat dorsal horn ». *Neuroscience* (2002).
- Olesen J, Larsen B, Lauritzen M. « Focal Hyperemia Followed by Spreading Oligemia and Impaired Activation of Rcbf in Classic Migraine ». *Annals of Neurology* (1981).
- Olesen J, Friberg L, Olsen T S, Iversen H K, Lassen N A, Andersen A R, Karle A. « Timing and Topography of Cerebral Blood Flow, Aura, and Headache during Migraine Attacks ». *Annals of Neurology* (1990).
- Oliveira R C, Oliveira R, Biagioni A F, Falconi-Sobrinho L L, Dos Anjos-Garcia T, Coimbra N C. « Nicotinic and Muscarinic Cholinergic Receptors Are Recruited by Acetylcholine-Mediated Neurotransmission within the Locus Coeruleus during the Organisation of Post-Ictal Antinociception ». *Brain Research Bulletin* (2016).
- Olpe H R, Steinmann M. « Responses of locus coeruleus neurons to neuropeptides ». *Progress in brain research* (1991).
- Omaer A, Aldosari F M, McGlamery E, Alrashed S, Wool S, Fazel M T. « Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Antagonists: A Comprehensive Review of Safety, Efficacy and Prescribing Information ». *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* (2021).
- Onderwater G L J, Oosterhout W P J, Schoonman G G, Ferrari M D, Terwindt G M. « Alcoholic Beverages as Trigger Factor and the Effect on Alcohol Consumption Behavior in Patients with Migraine ». *European Journal of Neurology* (2019).
- Ophoff R A, Terwindt G M, Vergouwe M N, van Eijk R, Oefner P J, Hoffman S M G, Lamerdin J E. « Familial Hemiplegic Migraine and Episodic Ataxia Type-2 Are Caused by Mutations in the Ca²⁺ Channel Gene CACNL1A4 ». *Cell* (1996).

P

- Page M E, Berridge C W, Foote S L, Valentino R J. « Corticotropin-Releasing Factor in the Locus Coeruleus Mediates EEG Activation Associated with Hypotensive Stress ». *Neuroscience Letters* (1993).
- Paspalas C D, Papadopoulos G C. « Ultrastructural relationships between noradrenergic nerve fibers and non-neuronal elements in the rat cerebral cortex ». *Glia* (1996).
- Pavlović J M, Allshouse A A, Santoro N F, Crawford S L, Thurston R C, Neal-Perry G S, Lipton R B, Derby C A. « Sex Hormones in Women with and without Migraine: Evidence of Migraine-Specific Hormone Profiles ». *Neurology* (2016).
- Pearse D D, Bushell G, Leah J D. « Jun, Fos and Krox in the Thalamus after C-Fiber Stimulation: Coincident-Input-Dependent Expression, Expression across Somatotopic Boundaries, and Nucleolar Translocation ». *Neuroscience* (2001).
- Pedrazzi M, Patrone M, Passalacqua M, Ranzato E, Colamassaro D, Sparatore B, Pontremoli S, Melloni E. « Selective Proinflammatory Activation of Astrocytes by High-Mobility Group Box 1 Protein Signaling ». *The Journal of Immunology* (2007).
- Pellegrino A B W, Davis-Martin R E, Houle T T, Turner D P, Smitherman T A. « Perceived Triggers of Primary Headache Disorders: A Meta-Analysis ». *Cephalalgia* (2018).
- Pendergast J S, Tuesta L M, Bethea J R. « Oestrogen Receptor β Contributes to the Transient Sex Difference in Tyrosine Hydroxylase Expression in the Mouse Locus Coeruleus ». *Journal of Neuroendocrinology* (2008).

- Penfield W. « A Contribution to the Mechanism of Intracranial Pain ». Williams & Wilkins (1934).
- Penfield W, McNaughton F. « DURAL HEADACHE AND INNERVATION OF THE DURA MATER ». Archives of Neurology & Psychiatry (1940).
- Peres M F, Zukerman E, Senne Soares C A, Alonso E O, Santos B F, Faulhaber M H. « Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine ». Cephalalgia (2004).
- Pertovaara A, Hämäläinen M M. « Spinal potentiation and supraspinal additivity in the antinociceptive interaction between systemically administered alpha 2-adrenoceptor agonist and cocaine in the rat ». Anesthesia and analgesia (1994).
- Pertovaara A, Wei H, Hämäläinen M M. « Lidocaine in the rostroventromedial medulla and the periaqueductal gray attenuates allodynia in neuropathic rats ». Neuroscience Letters (1996).
- Pertovaara A. « The Noradrenergic Pain Regulation System: A Potential Target for Pain Therapy ». European Journal of Pharmacology (2013).
- Peterlin B L, Rosso A L, Williams M A, Rosenberg J R, Haythornthwaite J A, Merikangas K R, Gottesman R F, Bond D S, He J, Zonderman A B. « Episodic Migraine and Obesity and the Influence of Age, Race, and Sex ». Neurology (2013).
- Petit J, Eren-Koçak E, Karatas H, Magistretti P, Dalkara T. « Brain Glycogen Metabolism: A Possible Link between Sleep Disturbances, Headache and Depression ». Sleep Medicine Reviews (2021).
- Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R, Li R, Hungs M, Pedrazzoli M, Padigaru M, Kucherlapati M, Fan J, Maki R, Lammers G J, Bouras C, Kucherlapati R, Nishino S, Mignot E. « A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains ». Nature Medicine (2000).
- Picavet H S J. « Prevalence of Self Reported Musculoskeletal Diseases Is High ». Annals of the Rheumatic Diseases (2003).
- Pieribone V A, Aston-Jones G. « Adrenergic innervation of the rat nucleus locus coeruleus arises predominantly from the C1 adrenergic cell group in the rostral medulla ». Neuroscience (1991).
- Pinos H, Collado P, Rodríguez-Zafra M, Rodríguez C, Segovia S, Guillamón A. « The Development of Sex Differences in the Locus Coeruleus of the Rat ». Brain Research Bulletin (2001).
- Popescu A, LeResche L, Truelove E L, Drangsholt M T. « Gender Differences in Pain Modulation by Diffuse Noxious Inhibitory Controls: A Systematic Review ». Pain (2010).
- Prontera P, Sarchielli P, Caproni S, Bedetti C, Cupini L, Calabresi P, Costa C. « Epilepsy in Hemiplegic Migraine: Genetic Mutations and Clinical Implications ». Cephalalgia (2018).
- Prossnitz E R, Hathaway H J. « What Have We Learned about GPER Function in Physiology and Disease from Knockout Mice? ». The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology (2015).
- Puskás N, Papp R S, Gallatz K, Palkovits M. « Interactions between orexin-immunoreactive fibers and adrenaline or noradrenaline-expressing neurons of the lower brainstem in rats and mice. ». Peptides (2010).

Q

- Quintela E, Castillo J, Muñoz P, Pascual J. « Premonitory and resolution symptoms in migraine: a prospective study in 100 unselected patients ». Cephalalgia (2006).
- Quiton R L, Greenspan J D. « Sex Differences in Endogenous Pain Modulation by Distracting and Painful Conditioning Stimulation ». Pain (2007).

R

- Racine M, Tousignant-Laflamme Y, Kloda L A, Dion D, Dupuis G, Choinière M. « A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception - part 1: are there really differences between women and men? » *Pain* (2012).
- Raggi A, Schiavolin S, Leonardi M, Giovannetti A M, Bussone G, Curone M, Di Fiore P, Grazi L, Usai S, D'Amico D. « Chronic Migraine with Medication Overuse: Association between Disability and Quality of Life Measures, and Impact of Disease on Patients' Lives ». *Journal of the Neurological Sciences* (2015).
- Rahman W, D'Mello R, Dickenson A H. « Peripheral Nerve Injury–Induced Changes in Spinal A2-Adrenoceptor–Mediated Modulation of Mechanically Evoked Dorsal Horn Neuronal Responses ». *The Journal of Pain* (2008).
- Rahn E J, Iannitti T, Donahue R R, Taylor B K. « Sex Differences in a Mouse Model of Multiple Sclerosis: Neuropathic Pain Behavior in Females but Not Males and Protection from Neurological Deficits during Proestrus ». *Biology of Sex Differences* (2014).
- Raichle M E, Hartman B K, Eichling J O, Sharpe L G. « Central Noradrenergic Regulation of Cerebral Blood Flow and Vascular Permeability. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* (1975).
- Rajkowski J, Kubiak P, Aston-Jones G. « Locus Coeruleus Activity in Monkey: Phasic and Tonic Changes Are Associated with Altered Vigilance ». *Brain Research Bulletin* (1994).
- Ramachandran R. « Neurogenic Inflammation and Its Role in Migraine ». *Seminars in Immunopathology* (2018).
- Rampon C, Peyron C, Gervasoni D, Pow D V, Luppi P, Fort P. « Origins of the Glycinergic Inputs to the Rat Locus Coeruleus and Dorsal Raphe Nuclei: A Study Combining Retrograde Tracing with Glycine Immunohistochemistry: Glycinergic Inputs to the Locus Coeruleus and Dorsal Raphe ». *European Journal of Neuroscience* (1999).
- Raskin N H, Hosobuchi Y, Lamb S. « Headache May Arise From Perturbation of Brain ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (1987).
- Ray B S, Wolff H G. « Experimental studies on headache: pain-sensitive structures of the head and their significance in headache ». *Archives of surgery* (1940).
- Reuter U, Chiarugi A, Bolay H, Moskowitz M A. « Nuclear Factor- κ B as a Molecular Target for Migraine Therapy ». *Annals of Neurology* (2002).
- Reuter U, Salomone S, Ickenstein G, Waeber C. « Effects of Chronic Sumatriptan and Zolmitriptan Treatment on 5-HT₁ Receptor Expression and Function in Rats ». *Cephalalgia* (2004).
- Reyes B A S, Valentino R J, Xu G, Van Bockstaele E J. « Hypothalamic Projections to Locus Coeruleus Neurons in Rat Brain ». *European Journal of Neuroscience* (2005).
- Riant F, Roze E, Barbance C, Méneret A, Guyant-Maréchal L, Lucas C, Sabouraud P, Trébuchon A, Depienne C, Tournier-Lasserre E. « PRRT2 mutations cause hemiplegic migraine ». *Neurology* (2012).
- Riley J L, Robinson M E, Wise E A, Myers C D, Fillingim R D. « Sex Differences in the Perception of Noxious Experimental Stimuli: A Meta-Analysis ». *Pain* (1998).
- Riley J L, Robinson M E, Wise E A, Price D. « A Meta-Analytic Review of Pain Perception across the Menstrual Cycle ». *Pain* (1999).
- Robbins M S, Lipton R B. « The epidemiology of primary headache disorders ». *Seminars in neurology* (2010).

- Robinson D A, Wei F, Wang G D, Li P, Kim S J, Vogt S K, Muglia L J, Zhuo M. « Oxytocin Mediates Stress-induced Analgesia in Adult Mice ». *The Journal of Physiology* (2002).
- Rockett F C, De Oliveira V R, Castro K, Chaves M L F, Da Perla A S, Perry I D S. « Dietary Aspects of Migraine Trigger Factors ». *Nutrition Reviews* (2012).
- Romanos J, Benke D, Pietrobon D, Zeilhofer H U, Santello M. « Astrocyte dysfunction increases cortical dendritic excitability and promotes cranial pain in familial migraine ». *Science Advances* (2020).
- Rovegno M, Sáez J C. « Role of astrocyte connexin hemichannels in cortical spreading depression ». *Biochimica et biophysica acta - Biomembranes* (2018).
- Rowbotham M C, Lowenstein D H. « Neurologic consequences of cocaine use ». *Annual review of medicine* (1990).
- Ruggiero D A, Ross C A, Reis D J. « Projections from the Spinal Trigeminal Nucleus to the Entire Length of the Spinal Cord in the Rat ». *Brain Research* (1981).

S

- Sacco S, Ricci S, Degan D, Carolei A. « Migraine in Women: The Role of Hormones and Their Impact on Vascular Diseases ». *The Journal of Headache and Pain* (2012).
- Safaai H, Neves R, Eschenko O, Logothetis N K, Panzeri S. « Modeling the Effect of Locus Coeruleus Firing on Cortical State Dynamics and Single-Trial Sensory Processing ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2015).
- Sagen J, Proudfit H K. « Evidence for Pain Modulation by Pre- and Postsynaptic Noradrenergic Receptors in the Medulla Oblongata ». *Brain Research* (1985).
- Sakai Y, Dobson C, Diksic M, Aube M, Hamel E. « Sumatriptan Normalizes the Migraine Attack-Related Increase in Brain Serotonin Synthesis ». *Neurology* (2008).
- Saleeon W, Jansri U, Srikiatkachorn A, Bongsebandhu-Phubhakdi S. « The estrous cycle modulates voltage-gated ion channels in trigeminal ganglion neurons ». *The Journal of Physiological Sciences* (2015).
- Sancisi E, Cevoli S, Vignatelli L, Nicodemo M, Pierangeli G, Zanigni S, Grimaldi D, Cortelli P, Montagna P. « Increased Prevalence of Sleep Disorders in Chronic Headache: A Case-Control Study ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2010).
- Sandor P, Gantenbein A, Pohl H, Fischer U. « Neurologie: Anticorps monoclonaux anti-CGRP: des «game changers» dans la prophylaxie de la migraine? ». *Forum Médical Suisse – Swiss Medical Forum* (2019).
- Santiago M D S, De Souza Carvalho D, Gabbai A A, Pinto M M P, Moutran A R C, Villa T R. « Amitriptyline and Aerobic Exercise or Amitriptyline Alone in the Treatment of Chronic Migraine: A Randomized Comparative Study ». *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* (2014).
- Saper C B, Swanson L W, Cowan W M. « The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat ». *Journal of Comparative Neurology* (1976).
- Saper C B. « The central autonomic nervous system: conscious visceral perception and autonomic pattern generation ». *Annual review of neuroscience* (2002).
- Sarmiento A, Borges N, Lima D. « Influence of Electrical Stimulation of Locus Coeruleus on the Rat Blood-Brain Barrier Permeability to Sodium Fluorescein ». *Acta Neurochirurgica* (1994).
- Schain A J., Melo-Carrillo A, Borsook D, Grutzendler J, Strassman A M, Burstein R. « Activation of pial and dural macrophages and dendritic cells by cortical spreading depression ». *Annals of neurology* (2018).

- Schoenen J, Jamart B, Delwaide P, « Cartographie électroencéphalographique dans les migraines en périodes critique et intercritique ». *Revue d'Électroencéphalographie et de Neurophysiologie Clinique* (1987).
- Schoonman G G, van der Grond J, Kortmann C, van der Geest R J, Terwindt G M, Ferrari M D. « Migraine Headache Is Not Associated with Cerebral or Meningeal Vasodilatation—a 3T Magnetic Resonance Angiography Study ». *Brain* (2008).
- Schueler M, Neuhuber W L, De Col R, Messlinger K. « Innervation of Rat and Human Dura Mater and Pericranial Tissues in the Parieto-Temporal Region by Meningeal Afferents ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2014).
- Schwarz L A, Miyamichi K, Gao X J, Beier K T, Weissbourd B, DeLoach K E, Ren J, Ibanes S, Malenka R C, Kremer E J, Luo L. « Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenaline circuit ». *Nature* (2015).
- Schwedt T J, Larson-Prior L, Coalson R S, Nolan T, Mar S, Ances B M, Benzinger T, Schlaggar B L. « Allodynia and Descending Pain Modulation in Migraine: A Resting State Functional Connectivity Analysis ». *Pain Medicine* (2014).
- Seibt F, Schlichter R. « Noradrenaline-mediated facilitation of inhibitory synaptic transmission in the dorsal horn of the rat spinal cord involves interlaminar communications ». *European Journal of Neuroscience* (2015).
- Serova L, Rivkin M, Nakashima A, Sabban E L. « Estradiol Stimulates Gene Expression of Norepinephrine Biosynthetic Enzymes in Rat Locus Coeruleus ». *Neuroendocrinology* (2002).
- Serova L I, Maharjan S, Huang A, Sun D, Kaley G, Sabban E L. « Response of Tyrosine Hydroxylase and GTP Cyclohydrolase I Gene Expression to Estrogen in Brain Catecholaminergic Regions Varies with Mode of Administration ». *Brain Research* (2004).
- Shankland W E. « The Trigeminal Nerve. Part I: An Over-View ». *CRANIO* (2000).
- Sherman K, Woyach V, Eisenach J C, Hopp F A, Cao F, Hogan Q H, Dean C. « Heterogeneity in Patterns of Pain Development after Nerve Injury in Rats and the Influence of Sex ». *Neurobiology of Pain* (2021).
- Sherrington C S. « Qualitative difference of spinal reflex corresponding with qualitative difference of cutaneous stimulus ». *The Journal of physiology* (1903).
- Shimizu T, Shibata M, Toriumi H, Iwashita T, Funakubo M, Sato H, Kuroi T, Ebine T, Koizumi K, Suzuki N. « Reduction of TRPV1 Expression in the Trigeminal System by Botulinum Neurotoxin Type-A ». *Neurobiology of Disease* (2012).
- Silberstein S D, Merriam G R. « Sex hormones and headache ». *Journal of pain and symptom management* (1993).
- Silberstein S D, Holland S, Freitag F, Dodick D W, Argoff C, Ashman E. « Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society. Evidence-based guideline update: pharmacologic treatment for episodic migraine prevention in adults: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society ». *Neurology* (2012).
- Silverman W R, De Rivero Vaccari J P, Locovei S, Qiu F, Carlsson S K, Scemes E, Keane R W, Dahl G. « The Pannexin 1 Channel Activates the Inflammasome in Neurons and Astrocytes ». *Journal of Biological Chemistry* (2009).
- Sirieix C, Gervasoni D, Luppi P, Léger L. « Role of the Lateral Paragigantocellular Nucleus in the Network of Paradoxical (REM) Sleep: An Electrophysiological and Anatomical Study in the Rat ». *PLOS ONE* (2012).

- Song Z, Ansah O B, Meyerson B A, Pertovaara A, Linderoth B. « Exploration of Supraspinal Mechanisms in Effects of Spinal Cord Stimulation: Role of the Locus Coeruleus ». *Neuroscience* (2013).
- Song T, Cho S, Kim W, Yang K I, Yun C, Chu M K. « Poor Sleep Quality in Migraine and Probable Migraine: A Population Study ». *The Journal of Headache and Pain* (2018).
- Sonohata M, Furue H, Katafuchi T, Yasaka T, Doi A, Kumamoto E, Yoshimura M. « Actions of Noradrenaline on Substantia Gelatinosa Neurons in the Rat Spinal Cord Revealed by in Vivo Patch Recording: Actions of Noradrenaline on Substantia Gelatinosa Neurons ». *The Journal of Physiology* (2004).
- Sorge R E, LaCroix-Fralish M L, Tuttle A H, Sotocinal S G, Austin J S, Ritchie J, Chanda M L. « Spinal Cord Toll-Like Receptor 4 Mediates Inflammatory and Neuropathic Hypersensitivity in Male But Not Female Mice ». *Journal of Neuroscience* (2011).
- Sorge R E, Mapplebeck J C S, Rosen S, Beggs S, Taves S, Alexander J, Martin L J. « Different Immune Cells Mediate Mechanical Pain Hypersensitivity in Male and Female Mice ». *Nature Neuroscience* (2015).
- Spierings E L H, Sorbi M, Haimowitz B, Tellegen B. « Changes in Daily Hassles, Mood, and Sleep in the 2 Days before a Migraine Headache ». *The Clinical Journal of Pain* (1996).
- Sprengrer T, Viana M, Tassorelli C. « Current Prophylactic Medications for Migraine and Their Potential Mechanisms of Action ». *Neurotherapeutics* (2018).
- Starke K. « Presynaptic Autoreceptors in the Third Decade: Focus on A2-Adrenoceptors: MINI REVIEW ». *Journal of Neurochemistry* (2001).
- Steeds C E. « The Anatomy and Physiology of Pain ». *Surgery* (2016).
- Steindler D A. « Locus coeruleus neurons have axons that branch to the forebrain and cerebellum ». *Brain research* (1981).
- Stephens K E, Zhou W, Ji Z, Chen Z, He S, Ji H, Guan Y, Taverna S D. « Sex Differences in Gene Regulation in the Dorsal Root Ganglion after Nerve Injury ». *BMC Genomics* (2019).
- Stewart W F, Linet M S, Celentano D D, Van Natta M, Ziegler D. « Age- and sex-specific incidence rates of migraine with and without visual aura ». *American Journal of Epidemiology* (1991).
- Stewart W F, Lipton R B, Chee E, Sawyer J, Silberstein S D. « Menstrual cycle and headache in a population sample of migraineurs ». *Neurology* (2000).
- Stoffel E C, Ulibarri C M, Craft R M. « Gonadal Steroid Hormone Modulation of Nociception, Morphine Antinociception and Reproductive Indices in Male and Female Rats ». *Pain* (2003).
- Stoffel E C, Ulibarri C M, Folk J, Rice K, Craft R M. « Gonadal Hormone Modulation of Mu, Kappa, and Delta Opioid Antinociception in Male and Female Rats ». *The Journal of Pain* (2005).
- Stokes M, Becker W J, Lipton R B, Sullivan S D, Wilcox T K, Wells L, Manack A. « Cost of Health Care Among Patients With Chronic and Episodic Migraine in Canada and the USA: Results From the International Burden of Migraine Study (IBMS): July/August 2011 ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2011).
- Stovner L J, Nichols E, Steiner T J, Abd-Allah F, Abdelalim A, Al-Raddadi R M, Ansha M G. « Global, Regional, and National Burden of Migraine and Tension-Type Headache, 1990–2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 ». *The Lancet Neurology* (2018).
- Strassman A, Mason P, Moskowitz M, Maciewicz R. « Response of brainstem trigeminal neurons to electrical stimulation of the dura ». *Brain Research* (1986).
- Strassman A M, Raymond S A, Burstein R. « Sensitization of Meningeal Sensory Neurons and the Origin of Headaches ». *Nature* (1996).
- Strassman A M, Weissner W, Williams M, Ali S, Levy D. « Axon diameters and intradural trajectories of the dural innervation in the rat ». *Journal of Comparative Neurology* (2004).

Stucky N L, Gregory E, Winter M K, He Y, Hamilton E S, McCarson K E, Berman N E J. « Sex Differences in Behavior and Expression of CGRP-Related Genes in a Rodent Model of Chronic Migraine: May 2011 ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2011).

Suzuki K, Miyamoto M, Miyamoto T, Inoue Y, Matsui K, Nishida S, Hayashida K. « The Prevalence and Characteristics of Primary Headache and Dream-Enacting Behaviour in Japanese Patients with Narcolepsy or Idiopathic Hypersomnia: A Multi-Centre Cross-Sectional Study ». *PLOS ONE* (2015).

Szabadi E. « Functional Neuroanatomy of the Central Noradrenergic System ». *Journal of Psychopharmacology* (2013).

Szawka R E, Rodovalho G V, Monteiro P M, Carrer H F, Anselmo-Franci J A. « Ovarian-Steroid Modulation of Locus Coeruleus Activity in Female Rats: Involvement in Luteinising Hormone Regulation ». *Journal of Neuroendocrinology* (2009).

Szymusiak R, McGinty D. « Hypothalamic Regulation of Sleep and Arousal ». *Annals of the New York Academy of Sciences* (2008).

T

Tajti J, Uddman R, Edvinsson L. « Neuropeptide localization in the "migraine generator" region of the human brainstem. » *Cephalalgia* (2001).

Tajti J, Szok D, Párdutz A, Tuka B, Csáti A, Kuris A, Toldi J, Vécsei L. « Where Does a Migraine Attack Originate? In the Brainstem ». *Journal of Neural Transmission* (2012).

Tajti J, Szok D, Majláth Z, Tuka B, Csáti A, Vécsei L. « Migraine and Neuropeptides ». *Neuropeptides* (2015).

Tall J M, Crisp T. « Effects of Gender and Gonadal Hormones on Nociceptive Responses to Intraplantar Carrageenan in the Rat ». *Neuroscience Letters* (2004).

Tanaka M, Matsumoto Y, Murakami T, Hisa Y, Iyata Y. « The origins of catecholaminergic innervation in the rostral ventromedial medulla oblongata of the rat ». *Neuroscience Letters* (1996).

Tassorelli C, Joseph S A. « Systemic Nitroglycerin Induces Fos Immunoreactivity in Brainstem and Forebrain Structures of the Rat ». *Brain Research* (1995).

Taves S, Berta T, Liu D, Gan S, Chen G, Kim Y H, Van de Ven T, Laufer S, Ji R. « Spinal Inhibition of P38 MAP Kinase Reduces Inflammatory and Neuropathic Pain in Male but Not Female Mice: Sex-Dependent Microglial Signaling in the Spinal Cord ». *Brain, Behavior, and Immunity* (2016).

Ter Horst G j, Meijler W, Korf J, Kemper R. « Trigeminal Nociception-Induced Cerebral Fos Expression in the Conscious Rat ». *Cephalalgia* (2001).

Turner J, Barrett A, Grossell E, Picker M. « Influence of Gonadectomy on the Antinociceptive Effects of Opioids in Male and Female Rats ». *Psychopharmacology* (2002).

Turner J M, Lomas L M, Picker M J. « Influence of Estrous Cycle and Gonadal Hormone Depletion on Nociception and Opioid Antinociception in Female Rats of Four Strains ». *The Journal of Pain* (2005).

Tfelt-Hansen P. « History of Migraine with Aura and Cortical Spreading Depression from 1941 and Onwards ». *Cephalalgia* (2010).

Thomsen L, Oestergaard E, Bjornsson A, Stefansson H, Fasquel A, Gulcher J, Stefansson K, Olesen J. « Screen for CACNA1A and ATP1A2 Mutations in Sporadic Hemiplegic Migraine Patients ». *Cephalalgia* (2008).

Torvik A. « The Ascending Fibers from the Main Trigeminal Sensory Nucleus. An Experimental Study in the Cat ». *American Journal of Anatomy* (1957).

Toussay X, Basu K, Lacoste B, Hamel E. « Locus coeruleus stimulation recruits a broad cortical neuronal network and increases cortical perfusion ». *Journal of Neuroscience* (2013).

Tsuruoka M, Maeda M, Inoue T. « Persistent Hindpaw Inflammation Produces Coeruleospinal Antinociception in the Non-Inflamed Forepaw of Rats ». *Neuroscience Letters* (2004).

U

Uddman R, Edvinsson L, Ekman R, Kingman T, McCulloch J. « Innervation of the Feline Cerebral Vasculature by Nerve Fibers Containing Calcitonin Gene-Related Peptide: Trigeminal Origin and Co-Existence with Substance P ». *Neuroscience Letters* (1985).

Uematsu A, Tan B Z, Ycu E A, Cuevas J S, Koivumaa J, Junyent F, Kremer E J, Witten I B, Deisseroth K, Johansen J P. « Modular Organization of the Brainstem Noradrenaline System Coordinates Opposing Learning States ». *Nature Neuroscience* (2017).

Uluduz D, Seydaoglu G, Okuyucu E, Melek I, Duman T, Dede O. « Sleep Changes during Prophylactic Treatment of Migraine ». *Annals of Indian Academy of Neurology* (2015).

V

Valentino R J, Van Bockstaele E. « Convergent Regulation of Locus Coeruleus Activity as an Adaptive Response to Stress ». *European Journal of Pharmacology* (2008).

Valfrè W, Rainero I, Bergui M, Pinessi L. « Voxel-Based Morphometry Reveals Gray Matter Abnormalities in Migraine: January 2008 ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2007).

Van Casteren D S, Verhagen I E, Onderwater G L, MaassenVanDenBrink A, Terwindt G M. « Sex Differences in Prevalence of Migraine Trigger Factors: A Cross-Sectional Study ». *Cephalalgia* (2021).

Van Bockstaele E, Pieribone V A, Aston-Jones G. « Diverse Afferents Converge on the Nucleus Paragigantocellularis in the Rat Ventrolateral Medulla: Retrograde and Anterograde Tracing Studies ». *The Journal of Comparative Neurology* (1989).

Van Bockstaele E, Akaoka H, Aston-Jones G. « Brainstem Afferents to the Rostral (Juxtafacial) Nucleus Paragigantocellularis: Integration of Exteroceptive and Interoceptive Sensory Inputs in the Ventral Tegmentum ». *Brain Research* (1993).

Van Bockstaele E, Colago E E, Valentino R J. « Amygdaloid corticotropin-releasing factor targets locus coeruleus dendrites: substrate for the co-ordination of emotional and cognitive limbs of the stress response. » *The Journal of Neuroendocrinology* (1998).

Van Bockstaele E, Bajic D, Proudfit H, Valentino R J. « Topographic Architecture of Stress-Related Pathways Targeting the Noradrenergic Locus Coeruleus ». *Physiology & Behavior* (2001).

Veloso F, Kumar K, Toth C. « Headache secondary to deep brain implantation ». *Headache* (1998).

Victor T, Hu X, Campbell J, Buse D, Lipton R B. « Migraine Prevalence by Age and Sex in the United States: A Life-Span Study ». *Cephalalgia* (2010).

Viisanen H, Pertovaara A. « Influence of Peripheral Nerve Injury on Response Properties of Locus Coeruleus Neurons and Coeruleospinal Antinociception in the Rat ». *Neuroscience* (2007).

Vila-Pueyo M. « Targeted 5-HT_{1F} Therapies for Migraine ». *Neurotherapeutics* (2018).

Vila-Pueyo M, Strother L C, Kefel M, Goadsby P J, Holland P R. « Divergent Influences of the Locus Coeruleus on Migraine Pathophysiology ». *Pain* (2019).

Villanueva L, Le Bars D. « The activation of bulbo-spinal controls by peripheral nociceptive inputs: diffuse noxious inhibitory controls ». *Biological research* (1995).

Villemure C, Bushnell C M. « Cognitive Modulation of Pain: How Do Attention and Emotion Influence Pain Processing? » *Pain* (2002).

- Vincent K, Warnaby C, Stagg C J, Moore J, Kennedy S, Tracey I. « Brain Imaging Reveals That Engagement of Descending Inhibitory Pain Pathways in Healthy Women in a Low Endogenous Estradiol State Varies with Testosterone ». *Pain* (2013).
- Vincenzo A, Beghetto M, Vettor R, Tana C, Rossato M, Bond DS, Pagano C. « Effects of Surgical and Non-surgical Weight Loss on Migraine Headache: a Systematic Review and Meta-Analysis ». *Obesity Surgery* (2020).
- Voisin D L, Guy N, Chalus M, Dallel R. « Nociceptive Stimulation Activates Locus Coeruleus Neurones Projecting to the Somatosensory Thalamus in the Rat: Nociceptive Activated Coeruleo-Thalamic Projections ». *The Journal of Physiology* (2005).
- W**
- Waite P M E, Ashwell K W S. « Chapter 31 - Trigeminal Sensory System ». *The Human Nervous System (Third Edition)* (2012).
- Wang N, May P J. « Peripheral Muscle Targets and Central Projections of the Mesencephalic Trigeminal Nucleus in Macaque Monkeys ». *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology* (2008).
- Warfvinge K, Krause D N, Maddahi A, Edvinsson J C A, Edvinsson L, Haanes K A. « Estrogen Receptors α , β and GPER in the CNS and Trigeminal System - Molecular and Functional Aspects ». *The Journal of Headache and Pain* (2020).
- Waterhouse B D, Lin C S, Burne R A, Woodward D J. « The Distribution of Neocortical Projection Neurons in the Locus Coeruleus ». *The Journal of Comparative Neurology* (1983).
- Watkins L R, Hutchinson M R, Johnston I N, Maier S F. « Glia: Novel Counter-Regulators of Opioid Analgesia ». *Trends in Neurosciences* (2005).
- Wei H, Pertovaara A. « Spinal and Pontine A2-Adrenoceptors Have Opposite Effects on Pain-Related Behavior in the Neuropathic Rat ». *European Journal of Pharmacology* (2006).
- Weiller C, May A, Limmroth V, Jüptner M, Kaube H, Schayck R V, Coenen H H, Dlener H C. « Brain Stem Activation in Spontaneous Human Migraine Attacks ». *Nature Medicine* (1995).
- Wells R E, O'Connell N, Pierce C R, Estave P, Penzien D B, Loder E, Zeidan F, Houle T T. « Effectiveness of Mindfulness Meditation vs Headache Education for Adults With Migraine: A Randomized Clinical Trial ». *JAMA Internal Medicine* (2021).
- West C H K, Ritchie J C, Boss-Williams K A, Weiss J M. « Antidepressant Drugs with Differing Pharmacological Actions Decrease Activity of Locus Coeruleus Neurons ». *The International Journal of Neuropsychopharmacology* (2009).
- Westlund K N, Coulter J D. « Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport studies and dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry ». *Brain research* (1980).
- White H S. « Molecular Pharmacology of Topiramate: Managing Seizures and Preventing Migraine ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2005).
- White B A, Porterfield S P. *Endocrine and reproductive physiology, fourth edition*. Mosby (2013).
- Wilcox S L, Veggeberg R, Lemme J, Hodgkinson D J, Scrivani S, Burstein R, Becerra L, Borsook D. « Increased Functional Activation of Limbic Brain Regions during Negative Emotional Processing in Migraine ». *Frontiers in Human Neuroscience* (2016).
- Willer J C, Bouhassira D, Le Bars D. « Bases neurophysiologiques du phénomène de contre-irritation: les contrôles inhibiteurs diffus induits par stimulations nociceptives ». *Neurophysiologie Clinique* (1999).

Winter A, Berger K, Buring J, Kurth T. « Body Mass Index, Migraine, Migraine Frequency and Migraine Features in Women ». *Cephalalgia* (2009).

Wong M, Kling M A, Munson P J, Listwak S, Licinio J, Prolo P, Karp B. « Pronounced and Sustained Central Hyprenoradrenergic Function in Major Depression with Melancholic Features: Relation to Hypercortisolism and Corticotropin-Releasing Hormone ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2000).

Woods R P, Iacoboni M, Mazziotta J C. « Brief report: bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache ». *The New England Journal of Medicine* (1994).

Woolf C J. « Central Sensitization: Implications for the Diagnosis and Treatment of Pain ». *Pain* (2011).

X

Xiao Y, Richter J A, Hurley J H. « Release of glutamate and CGRP from trigeminal ganglion neurons: Role of calcium channels and 5-HT₁ receptor signaling ». *Molecular Pain* (2008).

Y

Yamamoto T, Nozaki-Taguchi N, Chiba T. « Analgesic Effect of Intrathecally Administered Orexin-A in the Rat Formalin Test and in the Rat Hot Plate Test: Spinal Orexin-1 Receptor Activation and Analgesia ». *British Journal of Pharmacology* (2002).

Yamasaki M, Takeuchi T. « Locus Coeruleus and Dopamine-Dependent Memory Consolidation ». *Neural Plasticity* (2017).

Yang Y, Zhao H, Boomsma D I, Ligthart L, Belin A C, Smith G D, Esko T, Freiling T M, Hansen T F, Ikram M A, Kallela M, Kubisch C, Paraskevi C, Strachan D P, Wessman M. « Molecular genetic overlap between migraine and major depressive disorder ». *European Journal of Human Genetics* (2018).

Yang B, Sanches-Padilla J, Kondapalli J, Morison S L, Delpire E, Awatramani R, Surmeier D J. « Locus Coeruleus Anchors a Trisynaptic Circuit Controlling Fear-Induced Suppression of Feeding ». *Neuron* (2021).

Yao S T, Lawrence A J. « Purinergic Modulation of Cardiovascular Function in the Rat Locus Coeruleus: ATP-Mediated Cardiovascular Responses in Rat LC ». *British Journal of Pharmacology* (2005).

Yu W, Pati D, Pina M M, Schmidt K T, Boyt K M, Hunker A C, Zweifel L S, McElligott Z, Kash T L. « Periaqueductal Gray/Dorsal Raphe Dopamine Neurons Contribute to Sex Differences in Pain-Related Behaviors ». *Neuron* (2021).

Z

Zagami A S, Goadsby P J, Edvinsson L. « Stimulation of the Superior Sagittal Sinus in the Cat Causes Release of Vasoactive Peptides ». *Neuropeptides* (1990).

Zaitso M, Narita S, Lambert K C, Grady J J, Estes D M, Curran E M, Brooks E G, Watson C S, Goldblum R M, Midoro-Horiuti T. « Estradiol activates mast cells via a non-genomic estrogen receptor-alpha and calcium influx. » *Molecular Immunology* (2007).

Zammataro M, Merlo S, Barresi M, Parenti C, Hu H, Sortino M A, Chiechio S. « Chronic Treatment with Fluoxetine Induces Sex-Dependent Analgesic Effects and Modulates HDAC2 and MGlu2 Expression in Female Mice ». *Frontiers in Pharmacology* (2017).

Zemlan F P, Behbehani M M. « Nucleus Cuneiformis and Pain Modulation: Anatomy and Behavioral Pharmacology ». *Brain Research* (1988).

Zhang X, Levy D, Nosedá R, Kainz V, Jakubowski M, Burstein R. « Activation of Meningeal Nociceptors by Cortical Spreading Depression: Implications for Migraine with Aura ». *Journal of Neuroscience* (2010).

- Zhang X, Levy D, Kainz V, Nosedá R, Jakubowski M, Burstein R. « Activation of Central Trigeminovascular Neurons by Cortical Spreading Depression ». *Annals of Neurology* (2011).
- Zhang M, Liu Y, Zhao M, Tang W, Wang X, Dong Z, Yu S. « Depression and Anxiety Behaviour in a Rat Model of Chronic Migraine ». *The Journal of Headache and Pain* (2017).
- Zhang T T, Xue R, Fan S Y, Fan Q Y, An L, Li J, Zhu L, Ran Y H, Zhang L M, Zhong B H, Li Y F, Ye C Y, Zhang Y Z. « Amoxetine attenuates diabetic neuropathic pain through inhibiting microglial activation and neuroinflammation in the spinal cord ». *The Journal of Neuroinflammation* (2018).
- Zhang N, Houle T, Hindiyeh N, Aurora S K. « Systematic Review: Acupuncture vs Standard Pharmacological Therapy for Migraine Prevention ». *Headache: The Journal of Head and Face Pain* (2020).
- Zhang W, Wu H, Xu Q, Chen S, Sun L, Jiao C, Wang L. « Estrogen Modulation of Pain Perception with a Novel 17 β -Estradiol Pretreatment Regime in Ovariectomized Rats ». *Biology of Sex Differences* (2020).
- Zhao J, Blaeser A S, Levy D. « Astrocytes mediate migraine-related intracranial meningeal mechanical hypersensitivity ». *Pain* (2021).
- Zitnik G A. « Control of Arousal through Neuropeptide Afferents of the Locus Coeruleus ». *Brain Research* (2016).
- Zwart J, Dyb G, Hagen K, Ødegård K J, Dahl A A, Bovim G, Stovner L J. « Depression and Anxiety Disorders Associated with Headache Frequency. The Nord-Trøndelag Health Study: The Nord-Trøndelag Health Study (The HUNT Study) ». *European Journal of Neurology* (2003).