



HAL
open science

Impact antimigraineux de l'inhibiteur double des enképhalinases, PL37, chez le rat

Jeanne Rossignol

► **To cite this version:**

Jeanne Rossignol. Impact antimigraineux de l'inhibiteur double des enképhalinases, PL37, chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Clermont Auvergne, 2023. Français. NNT : 2023UCFA0090 . tel-04480239

HAL Id: tel-04480239

<https://theses.hal.science/tel-04480239>

Submitted on 27 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.

Université Clermont Auvergne
ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, SANTE, AGRONOMIE,
ENVIRONNEMENT

Année 2023

THÈSE

Présentée à Clermont-Ferrand, pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE

Spécialité : NEUROSCIENCES

Impact antimigraireux de l'inhibiteur double des enképhalinases, PL37, chez le rat

Par

Jeanne ROSSIGNOL

Directeur de Thèse – **Pr. Philippe LUCCARINI**

Convention Cifre n° 2019/0961 – Pharmaleads – Neuro-Dol (INSERM U1107)

Soutenue publiquement le 5 octobre 2023, devant le jury composé des membres suivants :

Dr. Annabelle REAUX-LE-GOAZIGO	Rapporteuse
Dr. Sophie PEZET	Rapporteuse
Pr. Yves BOUCHER	Rapporteur
Pr. Philippe LUCCARINI	Directeur de thèse
Dr. Hervé PORAS	Co-encadrant
Dr. Jérôme BUSSEROLLES	Invité

A Noé,

« L'absinthe apporte l'oubli, mais se fait payer en migraines. Le premier verre vous montre les choses comme vous voulez les voir, le second vous les montre comme elles ne sont pas ; après le troisième, vous les voyez comme elles sont vraiment. »

Oscar Wilde

« No pain, no saucisson »

Jeanne Rossignol

Remerciements

J'aimerais, tout d'abord, remercier les membres de mon jury de thèse, Annabelle REAUX-LE-GOAZIGO, Sophie PEZET et Yves BOUCHER, d'avoir accepté d'évaluer mon travail. C'est un honneur de vous compter parmi les rapporteurs de mon travail et afin que vous puissiez apporter votre expertise.

Annabelle, je souhaite particulièrement vous remercier d'avoir finalement accepté de faire partie de ce jury et d'avoir participé à mes deux comités de thèse. Ainsi, vous aurez suivi ce projet dans sa globalité, je vous en suis reconnaissante.

Jérôme, merci également d'avoir accepté notre invitation à ma soutenance de thèse et merci d'avoir participé aux deux comités de thèse qui m'ont permis d'arriver ici aujourd'hui.

Je tiens particulièrement à remercier le dernier membre du jury, et pas des moindres, Philippe. Quel chemin périlleux nous avons parcouru ! Nous nous sommes rencontrés au mois d'avril 2019 afin de parler de ce superbe projet de thèse. Ce fut pour moi, l'entretien le plus fluide que j'ai passé et dans lequel je me suis tout de suite sentie à l'aise. Après cette entrevue tu m'avais annoncé que malgré mon profil intéressant, mon classement n'était pas suffisant pour l'ED. Finalement, ce critère ne s'appliquait pas à ma candidature. En juillet 2019, le dossier de candidature à la bourse Cifre a été envoyé auprès de l'ARNT et s'en sont suivis des mois et des mois d'attente. C'est au début du mois de mars 2020 qu'il est enfin accepté. Mais le confinement et les restrictions sanitaires m'obligeront à patienter jusqu'au mois de septembre 2020 pour débiter ce doctorat, tant attendu. Je souhaite te remercier d'avoir eu confiance en moi et d'avoir patienté tout ce temps. Merci de m'avoir accompagné dans ce voyage en tant que directeur de thèse. Tu auras marqué ma vie. J'espère avoir été une étudiante dont tu te souviendras ! Je te souhaite beaucoup de bonheur pour la suite, à toi et ta famille.

Radhouane, je tiens à vous remercier de m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire pendant ces trois années. A vos côtés, j'ai appris à faire des figures « dignes d'un Nature ». J'ai énormément appris de vos remarques très constructives. J'ai également apprécié ces moments de complicité que l'on a pu partager. Chaque compliment que vous m'avez fait était une énorme fierté pour moi. Je vous souhaite beaucoup de bonheur.

Hervé, merci de m'avoir accueilli dans la famille Pharmaleads, de m'avoir accompagné au long de ce projet qui fut très intéressant. J'ai apprécié avoir ce suivi, malgré la distance. Merci pour toutes les corrections apportées au manuscrit et à l'article. J'espère que le PL37 aura une belle vie après toutes ces années d'études et de tests.

Tanja, merci d'avoir participé aux corrections des articles et d'avoir apporté vos connaissances et compétences à ce travail. Merci aux autres membres de Pharmaleads : Pierre, Mélanie, Michel et Thierry.

Anne-Marie, que serait Neuro-Dol sans toi ? Tu as été ma deuxième maman pendant ces trois années les plus importantes de ma vie. Tu es une personne en or, qui a su me rassurer quand j'avais des doutes et qui est toujours là dans les pires moments. Merci d'être si forte et si dynamique car Neuro-Dol repose sur toi. Tu vas me manquer, surtout les 1^{ers} Avril. Je te souhaite le meilleur.

Gisela, quelle aventure que d'avoir dû mettre au point cette technique de CSD ! Mais quelle joie avons-nous ressentie lorsque nous avons vu cette première CSD se dessiner ! La recherche c'est

beaucoup de jours de galère, de doutes et de pleurs. Mais le jour où l'on arrive à mettre un protocole en place, à avoir les résultats attendus, c'est une satisfaction intense. J'en profite aussi pour remercier Marta Vila-Pueyo qui nous a été d'une aide incroyable dans la mise en place de ce protocole et d'une extrême gentillesse. Gisela, je te remercie aussi pour ton sourire, ta bonne humeur et ton soutien. Merci aussi pour les quelques jours de week-end où tu as fait des injections pour moi et où j'ai pu profiter de ma famille et mes amis. Je te souhaite beaucoup de bonheur.

Karine, nous n'avons pas beaucoup travaillé ensemble mais merci pour les jours où tu as accepté de m'aider pour les prélèvements de mes échantillons pour les PCR. C'est peu, mais ton aide est arrivée au bon moment ! Tu es une personne en or, toujours prête à organiser des sorties.

Amélie, une chose est sûre c'est que même si j'étais déjà bien autonome avant le début de ma thèse, grâce à toi, j'ai pu améliorer cette compétence. Merci de m'avoir formé au comportement et aux différentes injections (il valait mieux y arriver du premier coup ! Haha). Merci d'avoir réalisé mes injections les jours de week-end où tu venais faire l'astreinte et où je n'avais pas de comportement.

Lénaïc, j'ai toujours aimé échanger avec toi. Grâce à toi et aux conversations qu'on a pu avoir, des idées ont souvent émergé dans ma tête. Ton caractère et ta personnalité sont une source de motivation. Tu es une personne entière, c'est ce que j'apprécie en toi, tu n'y vas pas par quatre chemins. Je te souhaite énormément de courage et de bonheur pour la suite de ta carrière et dans ta vie personnelle.

Cristina, je te remercie de l'aide que tu m'as apportée concernant la photophobie lorsque j'ai dû encadrer des étudiants sur ce projet qui, malheureusement, n'a pas abouti. Je me souviendrais aussi de notre virée dans ce bar dansant à Montpellier où j'ai passé un super moment.

François, tu as été un des premiers à m'accueillir, à poser toutes sortes de questions, à m'initier aux jeux de rôle. Je te remercie de l'aide que tu m'as apportée concernant la CSD et la mise en place du logiciel de quantification.

Merci aux autres membres du labo, je pense particulièrement à toi Sylviane, qui m'a fait découvrir les Panettones au citron, grâce à ton penchant pour la gourmandise. Christelle, tu es une belle personne, inspirante et bienveillante. Mickaël, le petit dernier du labo qui ne manque jamais une occasion pour aller boire un coup et parler politique ou religion. Céline avec qui j'ai peu discuté mais à qui je souhaite plein de bonheur avec la petite Iria. Isabelle, Anne, Myriam, Cédric et Ahmed, je n'ai pas travaillé avec vous mais merci de faire partie du labo.

Youssef, je te remercie d'avoir accepté cette collaboration et d'avoir pris le temps de me réexpliquer les bases de la PCR.

Je souhaite également remercier Mickaël et Yohann qui, sans le savoir, apportent un peu de soleil lorsqu'on les croise. Merci d'avoir pu égayer certaines journées sombres.

A mes acolytes du fond du couloir, Pauline, Yara et Manon. On en aura fait du chemin ensemble ! On aura beaucoup rigolé, pleuré, douté. C'est une chance d'avoir fait cette thèse à vos côtés. Pauline, je te revois encore devant cette porte d'entrée lors de ton arrivée. J'étais contente d'avoir une copine de bureau. Nous en avons eu des débats et j'en ai appris des choses avec toi, tant sur les différents types de sexualité qui pouvaient exister que sur la culture japonaise ou coréenne. Quel trio avons-nous formé avec Yara ! Nos petites sessions karaoké et « just dance » vont me manquer. Mais

finalement, Pauline, tu as décidé de continuer ce périple, nous laissant amarrer avant, Yara et moi. Habibi, I'm glad to share this boat from the beginning to the end with you. As a real French teacher, I am proud to teach you the word Chocolatine. We have gone through this journey together and I am honored of that. I wish you all the best for your future and for the engagement. Can't wait to see you in Lebanon, in your wedding dress. Je n'oublie évidemment pas la petite dernière à avoir rejoint le bateau, Manon. Merci d'avoir inopinément changé mes fonds d'écran, le dernier en date, et pas des moindres, était un réel bonheur. Je te souhaite beaucoup de courage pour finir ton projet de thèse et te souhaite beaucoup de bonheur. Aux anciennes doctorantes Jenny et Ornella, sans oublier la canadienne, Alice. Je suis heureuse d'avoir partagé tous ces beaux moments à vos côtés. Merci de m'avoir rassurée lorsque je doutais. J'ai trouvé en vous de réelles copines. Je vous souhaite bon courage et beaucoup de bonheur pour la suite.

Je tiens à remercier également les stagiaires de master 2 de la promo 2023, Iliass, Léa et Vido. On a partagé des moments très chouettes avec vous, notamment au début avec la fameuse boîte... Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Merci Cécile, Tatïe pour les intimes, sans qui cette thèse n'aurait certainement pas vu le jour. Merci d'avoir toujours eu les mots justes, encourageants et de m'avoir offert tant d'opportunités. Car Tatïe, c'est une amie, un peu comme ma tante mais aussi une animatrice radio. Grâce à toi, j'ai pu enregistrer trois émissions, sur RCF 63, et dépasser mon stress. Merci pour tous les beaux moments que l'on a partagés. Tu es une personne inspirante, pleine de vie et tellement élégante. Je te souhaite énormément de bonheur. On se revoit très vite pour boire des mojitos !

Merci à mes super copines Justine, Manon et Marion. Je ne vous remercierais jamais assez d'avoir été présentes depuis ces 10 dernières années. C'est sur le banc de la fac que je vous ai rencontré et je suis extrêmement chanceuse de vous avoir dans ma vie. Vous avez été à mes côtés dans les moments les plus difficiles de ma vie. Vous avez été une bouffée d'air et votre amitié m'est précieuse. Merci pour tous les moments de bonheur que l'on a partagés, nos soirées, nos vacances, nos discussions... Ma Juju, je te souhaite le meilleur à Angers, merci d'être le soutien et le rayon de soleil que tu es au quotidien, tu ne sais pas tout ce que cela représente pour moi. Manon, j'espère que ta nouvelle vie toulousaine sera incroyable, merci d'être présente et d'être fière de moi. Marion, je te souhaite le meilleur pour cette nouvelle vie à 3. Merci de m'accorder cette confiance et d'être témoin de tout ça. Je vous aime.

Maël, ma Biche, Lala, Vio, Meuline, Cicile et Mélanie merci de votre soutien. A Coco et Lolo qui sont toujours là pour m'embarquer dans des plans imprévus, que ce soit à Paris ou en Corrèze. Merci à tous d'être là depuis tant d'années. Votre amitié m'est très importante, restez comme vous êtes !

A mes castraises, Caro, Cynthia, Elodie R., Elodie M. et Estelle. Vous êtes à mes côtés depuis ma première année postbac. Même si l'IUT de chimie de Castres n'a pas fait de moi la meilleure des chimistes, j'ai rencontré des amies en or. Voilà 11 ans que l'on s'est rencontrées et qu'on ne s'est pas quittées. Merci de m'avoir soutenue dans mes choix, de m'avoir encouragée, et surtout merci pour tous ces beaux moments que l'on partage ensemble à chaque fois. Longue vie à nous les copines.

Une chose est sûre c'est que lorsque j'ai débuté ma thèse, je ne pensais jamais qu'elle se finirait ainsi. J'ai rencontré de superbes personnes, qui n'ont été de passage que lors d'une soirée par exemple, mais qui auront eu un mot gentil ou des étoiles dans les yeux lorsque je leur parlais de mon projet et de

cette thèse. Le fait de faire un doctorat émerveille souvent, et le sujet des migraines intéresse toujours, car on connaît forcément quelqu'un qui souffre de migraine. En revanche, je ne remercierais pas certaines personnes qui ont été présentes au début de ce voyage mais qui m'ont abandonné en cours de route. Cela a renforcé mon caractère et m'a permis d'économiser de la place dans ces remerciements...

Celui que je n'attendais pas dans ces remerciements en début de thèse, c'est bien toi Armand. Tu es arrivé dans ma vie au bon moment. Grâce à toi, j'ai pu appréhender cette dernière année de façon plus sereine. Tu as été un pilier important (c'est le cas de le dire). Tu as su me reconforter dans certains moments de faiblesse, mais avec toi j'ai surtout pu penser à autre chose qu'au travail, qui hantait toujours mes nuits. Merci de me faire rire, de me faire rêver et de m'apporter ton amour et ton soutien. Merci d'avoir été là et d'être là aujourd'hui, et demain je l'espère. Je nous souhaite un très bel avenir et de belles vacances, bien méritées, au Mexique. Je t'aime.

Les mots ne suffiront pas à le remercier, mais, merci Didier.

Enfin, je tiens à remercier ma famille touchée récemment par un drame. Cette épreuve montre à quel point nous sommes soudés et nous nous aimons. Merci de croire en moi et de me soutenir, dans mes choix et moralement. Maman, merci de me remonter le moral, à ta façon, lorsque ça ne va pas. Merci pour les corrections de ce travail, j'espère que ça ne t'a pas trop donné la migraine. Papa, merci pour ton écoute et ton soutien. Désolée de ne pas avoir pu planter les « patates » avec toi ces 2 dernières années. Je me rattraperai l'année prochaine ! Hugo et Emma, merci d'être là pour moi depuis toujours. J'ai énormément de chance d'avoir un grand frère et une grande sœur comme vous. Hugo, j'espère pouvoir rapidement venir vous voir avec Odile en Guyane. Merci à Emma et Max de m'avoir donné de super neveux, Noé et Nina, que j'aime et que j'aimerai toute ma vie. Je ne peux décrire la peine et le manque que nous ressentons actuellement. Je serai toujours là pour vous. Merci à ma Mémé, qui me demandera toujours si mon exposé avance et si je suis en vacances, mais qui au fond est fière de moi. Je tiens également à remercier ma chère cousine, Margot, qui fut la première à me laisser entrer dans un laboratoire. Tu m'as donné le goût de la recherche et des neurosciences. Merci au reste de la famille, pour leur soutien. Je vous aime.

A toi qui lis ces remerciements, parce qu'on sait très bien que le plus intéressant lorsque l'on est étudiant, c'est de lire les thèses des anciens. Alors merci d'avoir eu un minimum d'émotions en lisant ces remerciements. Je te promets, j'ai essayé d'être synthétique. Courage à toi, ne doute jamais de toi, tu viendras à bout de ce périple tumultueux.

A Noé, tu as fait de moi une tata, la plus heureuse qui soit. Je suis tellement fière d'avoir eu un neveu si beau, si gentil et si intelligent. Je garderai en mémoire tous ces beaux moments que nous avons partagés. Je n'oublierai jamais ce 6 Août 2023 qui a brisé nos vies. Je t'aimais, je t'aime et je t'aimerai.

Résumé

La migraine affecte environ 15% de la population mondiale. Il s'agit d'une pathologie caractérisée par la survenue de céphalées associées à des symptômes viscéraux, tels que les nausées et/ou les vomissements, et des symptômes sensoriels, tels que la photophobie, la phonophobie ou l'osmophobie. Dans une majorité de cas, les patients présentent le symptôme d'allodynie cutanée, définie comme une hypersensibilité, telle qu'une douleur ressentie à la suite d'une stimulation non-douloureuse. Les traitements pharmacologiques disponibles sont soit insuffisamment efficaces chez une majorité de patients, soit entraînent des effets secondaires importants. Récemment, il a été montré qu'inhiber la dégradation enzymatique des enképhalines par un inhibiteur double des enképhalinases (DENKI[®], le PL37) entraînait un effet anti-allodynique dans un modèle de migraine induite par un donneur de monoxyde d'azote, l'isosorbide dinitrate (ISDN), chez le rat mâle. Considérant la forte prévalence de cette pathologie chez la femme, nous avons, dans une première partie, étudié l'effet du PL37 chez les deux sexes dans différents modèles de migraine. La deuxième partie a été consacrée à l'identification des mécanismes et sites d'actions du PL37. Par la suite, dans le cadre de l'usage pharmacologique du PL37 pour le traitement de la migraine, nous avons étudié l'effet de la coadministration du PL37 et du sumatriptan, traitement couramment utilisé mais présentant des effets secondaires. Nous avons ainsi analysé les effets analgésiques de cette association PL37-sumatriptan *via* une étude isobologique permettant de montrer si une synergie était possible. Nous avons ensuite étudié si ce DENKI, lors d'injections répétées (traitement de fond), présentait, comme le sumatriptan, un risque de développement d'hypersensibilité et de sensibilisation latente.

En utilisant le test de von Frey, nous avons montré qu'une administration de PL37 inhibait l'hypersensibilité mécanique (HM) induite par l'ISDN, chez les femelles. Ensuite, nous avons montré qu'une administration intraveineuse de PL37 inhibait l'HM chronique induite par l'ISDN, chez les deux sexes, et qu'une administration orale de PL37 inhibait l'HM chronique induite par l'ISDN chez la femelle démontrant ainsi, dans notre modèle de migraine chronique, que le PL37 était plus efficace chez les femelles. Grâce à des enregistrements

électrophysiologiques *in vivo*, nous avons étudié l'effet du PL37 sur la dépression corticale envahissante (CSD) et montré que le PL37 diminuait le nombre d'événements de CSD, uniquement chez les mâles.

La présence d'une possible composante centrale a été montrée par l'administration intra-cisternale de PL37 inhibant l'allodynie induite par l'ISDN. De même, cet effet anti-allodynique était totalement bloqué par l'administration de naloxone et partiellement diminué par la naloxone-méthiodide, démontrant également une composante périphérique. Grâce à une analyse par RT-qPCR, nous avons montré que le PL37 diminuait la surexpression (induite par l'ISDN) des ARN messagers du CGRP.

Les administrations orales répétées de PL37 (une administration tous les 2 jours pendant 11 jours) n'ont pas modifié la sensibilité mécanique cutanée, contrairement au sumatriptan qui induisait une HM après 6 jours (réversible 20 jours après le début de l'expérience). Les animaux traités au sumatriptan étaient soumis le 21^{ème} jour à une injection d'ISDN et développaient une HM plus forte que les témoins (traités au véhicule), alors que ceux traités au PL37 présentaient des seuils de sensibilité comparables aux témoins. De plus, une administration intraveineuse de PL37 au jour 12 inversait l'HM induite par le sumatriptan administré de façon répétée.

Une autre partie de ce projet visait à évaluer l'effet de la coadministration du PL37 et du sumatriptan, dans le but de réduire les doses de sumatriptan et donc ses effets secondaires. Nos résultats montrent que l'administration de ces deux composés à différentes fractions ($ED_{50} \text{ PL37/4} + ED_{50} \text{ sumatriptan/4}$; $ED_{50} \text{ PL37/8} + ED_{50} \text{ sumatriptan/8}$; $ED_{50} \text{ PL37/16} + ED_{50} \text{ sumatriptan/16}$) entraîne une diminution de l'HM et que le PL37 agit de façon synergique avec le sumatriptan.

Ces données suggèrent que le PL37 est efficace dans différents modèles de migraine, chez les mâles et les femelles. De plus, le PL37 agit à la fois au niveau périphérique et du système nerveux central, *via* la voie du CGRP. Il n'induit pas de sensibilisation centrale lorsqu'il est administré de manière répétée, ni de sensibilisation latente après une injection d'ISDN. Enfin l'association PL37-sumatriptan s'avère être efficace dans notre modèle et pourrait constituer ainsi une option intéressante pour réduire les effets secondaires du sumatriptan.

Prises ensemble ces données suggèrent que le PL37 pourrait constituer un traitement de crise et/ou de prophylaxie dans le cas de migraines épisodiques et chroniques.

Abstract

Migraine is a debilitating disorder, affecting approximately 15% of the population worldwide. It is a chronic neurological disorder, characterized by the onset of headaches associated with visceral symptoms, such as nausea and/or vomiting, and sensory symptoms, such as photophobia, phonophobia, osmophobia or cutaneous allodynia, which is defined as a pain felt following non-painful stimulation. Improving the clinical management of migraine is considered as a high priority since available treatments are not effective in a high proportion of patients. One direction may be to enhance the efficacy of enkephalins that preferentially target the delta-opioid receptors. Indeed, it has been recently shown that the inhibition of their enzymatic degradation by a Dual ENKephalinase Inhibitor (DENKI®, PL37) provides an anti-allodynic effect in a rat model of migraine induced by a nitric oxide donor, isosorbide dinitrate (ISDN), in males. However, migraine is more prevalent in females (3:1). The first part of this study was to investigate the effect of PL37, in different migraine-like models of pain, in both sexes. Secondly, our study aimed to investigate the mechanical sensitivity induced by repetitive oral administrations of PL37 in comparison with sumatriptan, one of the specific antimigraine agents resulting on medication overuse headaches and latent sensitization. Subsequently, the effect of co-administration of PL37 and sumatriptan was studied. Finally, the sites and mechanisms of action of PL37 were investigated.

Using the facial von Frey test, we showed that an oral administration of PL37 inhibited ISDN-induced acute cephalic mechanical hypersensitivity (MH) (reflecting allodynia), in females, showing no sexual dimorphism. Then, we showed that an intravenous administration of PL37 inhibited ISDN-induced chronic cephalic MH, in both sexes, and that an oral administration of PL37 inhibited ISDN-induced chronic cephalic MH, in males but this effect was more efficient in females. Using electrophysiology *in vivo*, we investigated the potential effect of PL37 on cortical spreading depression, another migraine-like model of pain, and we showed that PL37 decreased the number of cortical spreading depression events, in males only.

We also showed that repetitive oral administrations of PL37 (one administration every 2 days over 11 days) did not modify the cutaneous mechanical sensitivity whereas repetitive administrations of sumatriptan (10 mg/kg) induced MH after 6 days that was recovered 20 days after the beginning of the experiment. To assess the latent sensitization, on day 21, ISDN was administered. Animals prior subjected to sumatriptan developed stronger allodynia than controls whereas those receiving PL37 were comparable to controls. Moreover, an intravenous administration of PL37 reversed sumatriptan-induced HM.

Another question raised the potential effect of the co-administration of PL37 and sumatriptan in order to reduce doses of sumatriptan. Our results showed that fractions co-administration of the two compounds ($ED_{50} \text{ PL37}/4 + ED_{50} \text{ sumatriptan}/4$; $ED_{50} \text{ PL37}/8 + ED_{50} \text{ sumatriptan}/8$; $ED_{50} \text{ PL37}/16 + ED_{50} \text{ sumatriptan}/16$) raised the MH and that PL37 presented a synergistic action with sumatriptan.

Finally, intracisternal administration of PL37 inhibited ISDN-induced cephalic MH, indicating a possible central action of PL37. Then, using the peripherally and centrally restricted opioid receptor antagonists, respectively naloxone-methiodide and naloxone, reversed partially and totally this anti-allodynic effect. Using RT-qPCR analysis, we showed that PL37 acts through CGRP pathway.

Altogether, these data suggest that PL37 is efficient in different migraine-like models, in males and females. In addition, PL37 acts both at the level of the peripheral and central nervous systems, *via* the CGRP pathway. It does not induce central sensitization when administered repeatedly, nor latent sensitization after a single ISDN injection. Finally, the PL37-sumatriptan combination proves to be effective in our model and could constitute an interesting option to reduce the side effects of sumatriptan. Taken together these data suggest that PL37 could constitute an abortive and/or prophylactic treatment in episodic and chronic migraines.

Liste des abréviations

– Nombre

5-HT – Sérotonine

α -MSH – Hormone stimulatrice des mélanocytes α

Ac – Anticorps

aCSF – Liquide céphalorachidien artificiel

ACC – Cortex cingulaire antérieur

ACE – Enzyme de conversion de l'angiotensine

ACTH – Hormone adrénocorticotrope

ADNc – Acide désoxyribonucléique combiné

AINS – Anti-inflammatoire non stéroïdiens

AMG – Amygdale

AMM – Autorisation de mise sur le marché

AOC – Aire sur la courbe

APA – Aminopeptidase A

APB – Aminopeptidase B

APN – Aminopeptidase N

ARNm – Acide ribonucléique messenger

ARRIVE – Animals in research: reporting *in vivo* experiments

BHE – Barrière hémato encéphalique

BOLD – Blood oxygenation level dependant ou dépendant du niveau d'oxygénation du sang

CAM – Céphalées par abus médicamenteux

CCL2 – Chimiokine ligand 2

CeA – Noyau central de l'AMG

CEEA – Comité d'éthique en expérimentation animale d'Auvergne

CeL – Noyau central de l'AMG latérale

CeM – Noyau central de l'AMG médiale

CGRP – Calcitonin gene related peptide

CIDN – Contrôles inhibiteurs diffus de la nociception

CLR – Calcitonin receptor-like receptor

Cox-2 – Cyclooxygénase-2

CRH – Hormone de libération de la corticotropine

CSD – Dépression corticale envahissante

CST – Complexe sensitif du trijumeau

CTC – Complexe trigémino-cervical

DA – Dopamine

DC – Direct Current ou courants continus

DENKI – Dual ENKephalinase Inhibitor ou inhibiteur double d'enképhalinases

DHE – Di-hydro ergotamine

DOR – Récepteur aux opioïdes δ

DRG – Ganglions de la racine dorsale

ECE – Enzyme de conversion de l'endothéline

ED₅₀ – Dose efficace à 50%

eNOS – NOS endothéliale

F – Femelles

FMH – Familial hemiplegic migraine

GIRK – Canaux potassique couplés aux protéines G

HM – Hypersensibilité mécanique

HPC – Hippocampe

HPT – Hot plate test

i.c. – Intracisternale

ICAM-1 - Molécule d'adhésion intercellulaire-1

IHCD-3 – International classification of headache disorder 3^{ème} édition

IL-1 β - Interleukine-1 β

IL-6 – Interleukine-6

Im – Îlot principal des cellules intercalées

IMC – Indice de masse corporel

IRMf – Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

ISDN – Isosorbide dinitrate

i.v. – Intraveineuse

KI – Knock in

KO – Knock out

KOR – Récepteur aux opioïdes κ

LC – Locus coeruleus

LCR – Liquide céphalo-rachidien

LTMR – Low threshold mechano-receptors

M – Mâles

MAPK – Protéine kinase activée par les mitogènes

MC – Migraines chroniques

ME – Migraines épisodiques

MESRI – Ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation

MN – Noyau mésencéphalique

MOR – Récepteur aux opioïdes μ

n – Nombre d'animaux

NA – Noradrénaline

NEP – Neprilysine

NHANES – Enquête nationale sur la santé et la nutrition

NKA – Neurokinine A

NMDA – N-Méthyl-D-Aspartate

nNOS – NO synthase neuronale

NO – Monoxyde d'azote

NOP – Récepteur à la nociceptine

NOS – NO synthase

NP – Noyau trigéminal principal

NRM – Noyau du raphé magnus

NTG – Nitroglycérine

NTS – Noyau du tractus solitaire

ORL – Récepteur à la nociceptine

PA – Potentiel d'action

PACAP – Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide

PAG – Substance grise périaqueducule

PB – Noyau para-brachial

PDYN – Pré-prodynorphine

PENK – Pré-proenképhaline

PFA – Paraformaldéhyde

PFC – Cortex préfrontal

PKA – Phospho kinase A

PNOC – Pré-pronociceptine

p.o. – Voie orale (*per os*)

POMC - Pro-opiomélanocortine

PRRT2 – Protéine transmembranaire riche en proline 2

PVN – Noyau paraventriculaire

RAMP1 – Receptor activity modifying protein 1

RCP – Receptor component protein

RCPG – Récepteurs membranaires couplés aux protéines G

RVM – Médulla ventro-médiane rostrale

S1 – Cortex somato-sensoriel primaire

s.c. – Sous-cutanée

SEM – Erreur standard des moyennes

SLYM – Subarachnoid lymphatic-like membrane

SN – Noyau trigéminal spinal

SNC – Système nerveux central

SNP – Sodium nitroprusside

SP – Substance P

SSN – Noyau salivaire supérieur

STV – Système trigémino-vasculaire

TC – Tronc cérébral

TFT – Tail flick test

TG – Ganglion trigéminal

TNF- α – Facteur de nécrose tumorale- α

VCAM-a – Molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1

Veh – Véhicule

vF – von Frey

VFT – Seuil de von Frey

VIP – Peptide intestinal vasoactif

vl-PAG - Substance grise périaqueducule ventrolatérale

VPM – Thalamus ventro-postéro-médial

VTA – Aire tegmentale ventrale

WDR – Wide dynamic range neuron

Liste des figures

FIGURE 1 – PREVALENCE PONCTUELLE MONDIALE DE LA MIGRAINE SELON L'AGE EN FONCTION DU SEXE.	4
FIGURE 2 – COURBES REPRESENTANT LA RELATION ENTRE STIMULUS CUTANE ET DOULEUR.	4
FIGURE 3 – SCHEMA REPRESENTANT LES DIFFERENTES PHASES DE MIGRAINE, ADDITIONNEES DE L'AURA (D'APRES FERRARI ET AL., 2022).....	5
FIGURE 4 – HISTOGRAMME REPRESENTANT LA VARIETE DES DECLENCHEURS DE MIGRAINE CONSIDERES COMME FREQUENTS (D'APRES BALDACCI ET AL., 2013).....	8
FIGURE 5 – REPRESENTATION DES QUATRE MENINGES ENVELOPPANT LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL.	16
FIGURE 6 – TERRITOIRES INNERVES PAR LE NERF TRIGEMINAL CHEZ L'HOMME ET LE RAT.	18
FIGURE 7 – SCHEMAS REPRESENTANT LA DISTRIBUTION ANATOMIQUE DES FIBRES DANS LE COMPLEXE TRIGEMINO-CERVICAL.	22
FIGURE 8 – LES AFFERENCES DU TRIJUMEAU.	24
FIGURE 9 - ORGANISATION SOMATOTOPIQUE ET LAMINAIRE DU SP5C.	25
FIGURE 10 – ORGANISATION SOMATOTOPIQUE DE LA FACE.....	26
FIGURE 11 – VOIES ASCENDANTES PRINCIPALES DE LA NOCICEPTION TRIGEMINALE DIRECTE ET INDIRECTE. ...	28
FIGURE 12 – LA THEORIE DU GATE CONTROL.....	33
FIGURE 13 - MECANISMES HYPOTHETIQUES CONDUISANT A LA PROGRESSION DE LA MIGRAINE VERS LE STADE CHRONIQUE.....	71
FIGURE 14 – MECANISMES DE PROGRESSION DE LA MIGRAINE.....	75
FIGURE 15 – SYNTHESE DES PEPTIDES OPIOÏDES ENDOGENES.....	81
FIGURE 16 – DISTRIBUTION DES PEPTIDES OPIOÏDES ET LEURS RECEPTEURS DANS LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL (D'APRES BENARROCH., 2012).....	84
FIGURE 17 - VOIE DE SIGNALISATION DES RECEPTEURS OPIOÏDES.	89
FIGURE 18 – DISTRIBUTION DES OPIOÏDES ENDOGENES ET LEURS RECEPTEURS DANS LE NOYAU MEDIAL DE L'AMYGDALE (CEM) LA PAG ET LA RVM CHEZ LE RAT (D'APRES BAGLEY & INGRAM, 2020).	92
FIGURE 19 – STRUCTURE CHIMIQUE DU PL37 (D'APRES RAFFA ET AL., 2018).	108
FIGURE 20 – MECANISME D'ACTION DU PL37 ET TEMPS DE DEMI-VIE.....	110
FIGURE 21 – EFFET DE L'ADMINISTRATION ORALE DE PL37 SUR L'HM INDUITE PAR UNE INJECTION D'ISDN, CHEZ LES FEMELLES ET LES MALES.	134
FIGURE 22 – EFFET DE L'ADMINISTRATION DE PL37 SUR L'HM CHRONIQUE INDUITE PAR DES INJECTIONS REPETEES D'ISDN, CHEZ LES FEMELLES ET LES MALES.	136
FIGURE 23 – EFFET DU PL37 SUR LE NOMBRE D'EVENEMENTS DE CSD, CHEZ LES FEMELLES ET LES MALES ...	140
FIGURE 24 – EFFET DE L'ADMINISTRATION CENTRALE (INTRACISTERNALE) DE PL37 SUR L'HM CEPHALIQUE CUTANEE INDUITE PAR UNE INJECTION D'ISDN, CHEZ LES FEMELLES.	143

FIGURE 25 – SELECTIVITE CENTRALE ET/OU PERIPHERIQUE DE L'ADMINISTRATION ORALE DE PL37 SUR L'HM INDUITE PAR UNE INJECTION D'ISDN, CHEZ LES MALES.	145
FIGURE 26 – EFFET DU PL37 SUR L'INTENSITE DE FLUORESCENCE DU CGRP DANS LE SP5C DANS LE MODELE D'ISDN CHRONIQUE, CHEZ LES MALES.	147
FIGURE 27 – EFFET DU PL37 SUR L'EXPRESSION DE L'ARNM DU CGRP, PACAP ET NNOS DANS LE SP5C DANS LE MODELE D'ISDN CHRONIQUE, CHEZ LES MALES.	148
FIGURE 28 – EFFET DE L'ADMINISTRATION REPETEE DE PL37 SUR LA SENSIBILITE MECANIQUE, CHEZ LES FEMELLES ET LES MALES.....	150
FIGURE 29 – EFFET DU PL37 SUR LA SENSIBILISATION LATENTE INDUITE PAR L'ISDN, CHEZ LES FEMELLES ET LES MALES.....	153
FIGURE 30 – EFFET DU PL37 SUR L'HM INDUITE PAR LA REPETITION DU SUMATRIPTAN, CHEZ LES MALES.	155

Liste des tableaux

TABLEAU 1 – CRITERES DE DIAGNOSTIC DE LA MIGRAINE SANS OU AVEC AURA, D'APRES L'INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF HEADACHE CRITERIA (ICHD-3).....	7
TABLEAU 2 – PHYSIOLOGIE DES AFFERENCES PRIMAIRES (D'APRES JULIUS & BASBAUM, 2001).	20
TABLEAU 3 – TRAITEMENTS DE CRISE NON SPECIFIQUES DES MIGRAINES (D'APRES DUCROS ET AL., 2021).....	60
TABLEAU 4 – TRAITEMENTS DE CRISE SPECIFIQUES DES MIGRAINES (D'APRES DUCROS ET AL., 2021).	62
TABLEAU 5 – TRAITEMENTS ORAUX DE PROPHYLAXIE (D'APRES DUCROS ET AL., 2021).....	65
TABLEAU 6 – TRAITEMENTS DE PROPHYLAXIE ADMINISTRES PAR VOIE INJECTABLE (D'APRES DUCROS ET AL., 2021).....	66
TABLEAU 7 – PEPTIDES OPIOÏDES ENDOGENES, SEQUENCES PEPTIDIQUES ET LEUR AFFINITE POUR LES RECEPTEURS AUX OPIOÏDES (D'APRES JANECKA ET AL., 2004)	82
TABLEAU 8 – RECEPTEURS AUX OPIOÏDES, LIGANDS, DISTRIBUTION ANATOMIQUE ET LEURS EFFETS.....	86

Table des matières

Chapitre I – Introduction	1
Partie 1 – Migraine	1
I. Généralités sur la migraine	1
1) Historique	1
2) Épidémiologie de la migraine	2
3) Tableau clinique	3
4) Critères de diagnostic.....	6
5) Facteurs déclencheurs de la crise de migraine	9
6) Facteurs de risques et comorbidités	10
a. Facteurs hormonaux.....	10
b. Prédispositions génétiques.....	11
c. Dépression et anxiété.....	13
d. Épilepsie.....	13
e. Obésité	14
f. Trouble du sommeil.....	14
II. Le système trigémino-vasculaire.....	15
1) Les méninges	15
2) Innervation trigéminal.....	17
3) Physiologie des afférences primaires	19
4) Le faisceau trigéminal.....	23
5) Le complexe trigémino-cervical	23
6) Relais d'intégrations des informations nociceptives.....	30
a. Intégration segmentaire au niveau du CTC	30
b. Projections ascendantes depuis le CTC	31
7) Les contrôles centraux de la douleur	32
a. Contrôles segmentaires : théorie du <i>gate control</i>	32
b. Contrôles supra-segmentaires.....	34
III. Physiopathologie de la migraine	40
1) Déclenchement de la crise de migraine	40
a. Théorie vasculaire.....	41
b. Théorie neuronale	42

2)	La Dépression Corticale Envahissante (CSD)	45
a.	Généralités	46
b.	Modèles expérimentaux d'induction de la CSD	47
c.	Conséquences de la CSD.....	48
3)	Mécanismes de la céphalée migraineuse.....	50
a.	Neuropeptides.....	51
b.	Monoxyde d'azote.....	56
c.	Implication du système parasympathique	57
4)	Photophobie et phonophobie	58
IV.	Traitements de la migraine	58
1)	Traitements de crise.....	59
a.	Analgésiques.....	59
b.	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	59
c.	Triptans.....	61
d.	Ditans.....	61
e.	Ergots.....	61
f.	Gépants	61
g.	Antiémétiques	63
2)	Traitements de fond.....	63
a.	Bétabloquants	63
b.	Antiépileptiques	64
c.	Antidépresseurs.....	64
d.	Toxine botulique.....	64
e.	Anticorps monoclonaux anti-CGRP et anti-récepteur au CGRP	67
3)	Les traitements non-médicamenteux	68
V.	De la migraine épisodique à la migraine chronique.....	69
1)	Les deux types de migraines	69
2)	La progression de la migraine vers le stade chronique	69
a.	La fréquence des crises	70
b.	L'abus médicamenteux.....	70
c.	Allodynie cutanée	72
d.	La sensibilisation centrale	73
e.	Hypothèses de progression de la migraine	74
VI.	Les modèles animaux de migraine.....	76
1)	Les modèles de CSD.....	76
2)	Les modèles de vasodilatation	77
3)	Les modèles d'inflammation	77

4)	Les modèles génétiques	78
Partie II – Le système opioïde endogène et DENKIs.....		79
I.	Les opioïdes endogènes	80
II.	Les récepteurs aux opioïdes.....	85
1)	Distribution anatomique des récepteurs aux opioïdes	85
2)	Activation des récepteurs aux opioïdes	87
a.	Mécanisme de transduction.....	87
b.	Interaction des récepteurs	88
c.	Désensibilisation.....	88
d.	Conséquences fonctionnelles de l'activation des récepteurs aux opioïdes	90
III.	Les opioïdes endogènes et leurs récepteurs dans la modulation de la douleur.....	90
1)	Mécanismes supra-spinaux	90
a.	Amygdale	90
b.	PAG.....	94
c.	RVM	96
2)	Mécanismes spinaux	97
3)	Mécanismes périphériques	97
4)	Rôle des opioïdes dans la migraine	98
IV.	Les enképhalines.....	101
1)	Nature séquence et conformation des enképhalines	101
2)	Métabolisme des enképhalines par les enképhalinasés	101
3)	Répartition anatomique des enképhalines	104
4)	Les enképhalines et la migraine	104
V.	Les DENKIs (Dual ENKéphalinase Inhibitors).....	105
1)	Historique des DENKIs	106
2)	PL37	109
3)	Efficacité du PL37 dans différents modèles de douleur	111
a.	Test du Hot Plate	111
b.	Test du Tail Flick	111
c.	Test au formol	111
d.	Ligature partielle du nerf sciatique.....	112
e.	Douleur cancéreuse osseuse	112
f.	Modèles de migraine.....	113
4)	Études cliniques (PL37).....	114
Partie III – Hypothèse de travail		117

Chapitre II – Matériel et Méthodes.....121

VI. Animaux	121
I. Tests comportementaux	122
1) Habituation au test de von Frey (vF)	122
2) Phase de test de la sensibilité mécanique cutanée céphalique	122
II. Substances administrées.....	123
III. Modèles expérimentaux	123
1) Modèles de migraine aiguë induite par l'ISDN.....	123
2) Modèle de migraine chronique induite par l'ISDN.....	124
3) Modèle de céphalées par abus médicamenteux (CAM)	124
4) Modèle de sensibilisation latente	125
5) Modèle de CSD.....	125
IV. Immunohistochimie	127
1) Injections et perfusions.....	127
2) Coupe des tissus.....	128
3) Marquage.....	128
4) Acquisition des images et quantification	128
V. RT-qPCR.....	129
VI. Analyses statistiques	130

Chapitre III – Résultats.....133

I. Le PL37 exerce-t-il son effet chez la femelle ?	133
1) Approche comportementale	133
a. Condition aiguë.....	133
b. Condition chronique.....	135
2) Approche électrophysiologique (modèle de CSD).....	139
II. Quels sont les sites et mécanismes d'action du PL37 ?	142
1) Détermination du site d'action du PL37 grâce à l'approche comportementale en condition aiguë 142	
2) Détermination du mécanisme d'action du PL37.....	146
a. Approche immunohistochimique.....	146
b. Approche de biologie moléculaire (RT-qPCR).....	146
III. Quel est l'effet de l'administration répétée de PL37 ?	149
1) Effet de l'administration répétée de PL37	149
2) Effet du PL37 sur la sensibilisation latente.....	151
3) Effet du PL37 sur l'HM induite par l'administration répétée de sumatriptan.....	154

Chapitre IV – Article	159
Chapitre V – Discussion	189
I. Effet antimigraineux du PL37, chez les femelles.....	190
II. Sites et mécanismes d’action	194
III. Effet de PL37 sur l’abus médicamenteux et la sensibilisation latente, chez les femelles et les mâles 197	
IV. Coadministration de PL37 et de sumatriptan	199
Chapitre VI – Conclusion et perspectives.....	205

Chapitre I – Introduction

Partie 1 – Migraine

I. Généralités sur la migraine

1) Historique

La migraine tire son étymologie du grec ancien ἡμικρανίον / *hēmikraníon* (de ἡμι- « à demi » et de κρανίον « crâne ») signifiant « douleur dans la moitié du crâne ».

Dans la mythologie grecque, la migraine est évoquée avec la naissance d'Athéna, « Zeus fut pris d'un violent mal de tête qui obligea Héphaïstos à lui ouvrir le crâne d'un coup de hache, en laissant ainsi naître Athéna ». Dans l'antiquité, la migraine était perçue comme étant la résultante du divin. Des registres égyptiens, datant de 1200 avant notre ère, recensent également des maux de tête soignés par des trépanations ou des saignées. C'est au V^{ème} siècle avant J.C. que la migraine a été distinguée des autres céphalées. Hippocrate (460-370 avant notre ère) fut le premier médecin à décrire cette pathologie, dont il souffrait lui-même. Il décrit une douleur sévère de l'hémi-crâne accompagnée de troubles visuels. Il évoque la notion de crise, l'unilatéralité des douleurs, les troubles visuels, l'aversion aux sons et aux lumières et les vomissements. « Dans certains cas, la tête tout entière est douloureuse. D'autres fois, la douleur siège à droite ou à gauche, parfois elle naît dans le front » détaillait le père de la médecine. Ce fut le premier à décrire le phénomène d'aura visuelle, précédant les violents maux de tête qui se « réparaient », selon lui, grâce aux vomissements. Au II^{ème} siècle, Arétée de Cappadoce précise un mal de tête unilatéral associé à des vomissements, et simultanément, Claude Galien commence à utiliser le terme « hemicrania » pour définir ces maux. A la renaissance, Ambroise Paré évoquait une explication sur la physiologie vasculaire de la migraine, bien que, dans les sociétés occidentales, elle soit toujours associée au divin. Dans le même temps, les médecins du monde arabe font le lien entre la migraine aux différents moments de la vie d'une femme, par exemple, la présence de maux de tête après l'accouchement ou pendant la période de dysménorrhée. Entre les X^{ème} et XIX^{ème} siècles, les

méthodes utilisées pour soigner les migraines étaient à base de saignées, de cataplasmes de plantes, de fer chaud, de trépanation, d'imprégnation de coca par le cuir chevelu, d'arsenic ou de cautérisation des artères temporales. Ce n'est qu'en 1938, que Graham et Wolff découvrent l'efficacité du tartare d'ergotamine.

Certaines personnalités historiques souffraient de migraine. C'est le cas de Blaise Pascal, célèbre mathématicien Clermontois, qui portait souvent son doigt à sa tempe car c'était pour lui le seul moyen de soulager les épouvantables maux de tête qui l'accablaient depuis son adolescence. Voltaire écrit dans le *Dictionnaire Philosophique*, « Rien qu'à voir mousser le champagne, déjà la migraine me gagne ». George Sand, quant à elle, souligne que « sa chambre sombre et parfumée m'a donné la migraine ».

Deux millénaires après la description de la migraine par Hippocrate, cette pathologie reste un sujet d'étude encore incompris. Malgré les effets délétères de la migraine chez les patients, leurs familles (Buse *et al.*, 2010) et sur l'économie (Olesen *et al.*, 2012), ce problème de santé publique reste sous-étudié et les thérapeutiques spécifiques à la migraine sont limitées (Ducros *et al.*, 2022). De plus, les patients sont souvent insatisfaits de leurs traitements (Lipton *et al.*, 2007; Hepp *et al.*, 2014). Ces raisons soulignent l'importance des études des mécanismes de déclenchement et de maintien de la migraine, et de développer des traitements spécifiques, sans effets indésirables.

2) Épidémiologie de la migraine

La migraine est le deuxième trouble neurologique le plus fréquent (après les céphalées de tension) (Ashina, 2020) et est considérée comme la plus invalidante. Elle touche environ 15% de la population mondiale (Steiner & Stovner, 2023), soit plus d'un milliard de personnes à travers le monde (Stovner *et al.*, 2018). Environ 5% de la population souffre d'au moins 18 jours de migraine par an (Stovner *et al.*, 2007). Cette prévalence semble stable dans le temps mais varie selon les régions du monde. La prévalence de la migraine est plus importante en Europe et en Amérique du Nord, suivie par l'Afrique et l'Amérique du Sud, puis l'Asie (Géraud, 2015). Ces différences s'expliqueraient par des facteurs génétiques, mais aussi culturels.

Au sein d'une même population, avant la puberté, la migraine touche 7% des enfants (Wöber *et al.*, 2018). A l'âge adulte, le ratio selon le sexe est de 3 femmes atteintes contre 1 homme (Stovner *et al.*, 2018). Le pic de prévalence se situe entre 35 et 39 ans. 75% des personnes affectées rapportent que le début des crises a commencé avant leur 35^{ème} anniversaire (Stewart *et al.*, 2008). La pathologie tend à diminuer avec l'âge, en particulier après la ménopause, chez les femmes (Vetvik & MacGregor, 2017; Steiner *et al.*, 2019) (**figure 1**).

L'impact de la migraine sur la qualité de vie des patients et le coût sociétal engendrés sont très importants. En Europe, le coût annuel est estimé à 27 milliard d'euros (Andlin-Sobocki *et al.*, 2005). Elle constitue un enjeu majeur de santé publique.

3) Tableau clinique

La migraine est une maladie chronique neurovasculaire complexe caractérisée par des céphalées, d'intensité modérée à sévère, unilatérales, pulsatiles, pouvant durer de 4 à 72 heures en l'absence de traitement, selon l'*International Classification of Headache Disorder* (il s'agit d'un manuel précieux pour le diagnostic des céphalées primaires et secondaires, qui est désormais à sa troisième édition, ICHD-3). Les crises de migraine peuvent être accompagnées de troubles végétatifs comme des nausées et/ou des vomissements, et d'hypersensibilités aux stimulations sensorielles comme la phonophobie (aversion aux sons), la photophobie (aversion à la lumière) ou encore l'osmophobie (aversion aux odeurs). On retrouve chez environ 80% des migraineux, une sensibilité cutanée anormale, présente aussi bien durant les crises de migraine, qu'entre les crises (Burstein *et al.*, 2000). Cette hypersensibilité est appelée allodynie (Dahlöf, 2006; Aguggia, 2012). Il s'agit d'un symptôme se traduisant par le ressenti d'une douleur à la suite d'un stimulus normalement non douloureux, comme une caresse sur la joue ou le contact du visage sur l'oreiller (**figure 2**). L'allodynie est considéré comme un facteur de risque de progression de la migraine vers le stade chronique (Louter *et al.*, 2013).

La durée de la crise de migraine est en fait plus longue si on prend en compte les symptômes prémonitoires et postdromaux (**figure 3**) (Ferrari *et al.*, 2022). Les prodromes sont des symptômes qui vont précéder la crise, pouvant durer de quelques jours à quelques heures. Ces symptômes apparaissent chez environ un tiers des patients. Ils peuvent être de nature

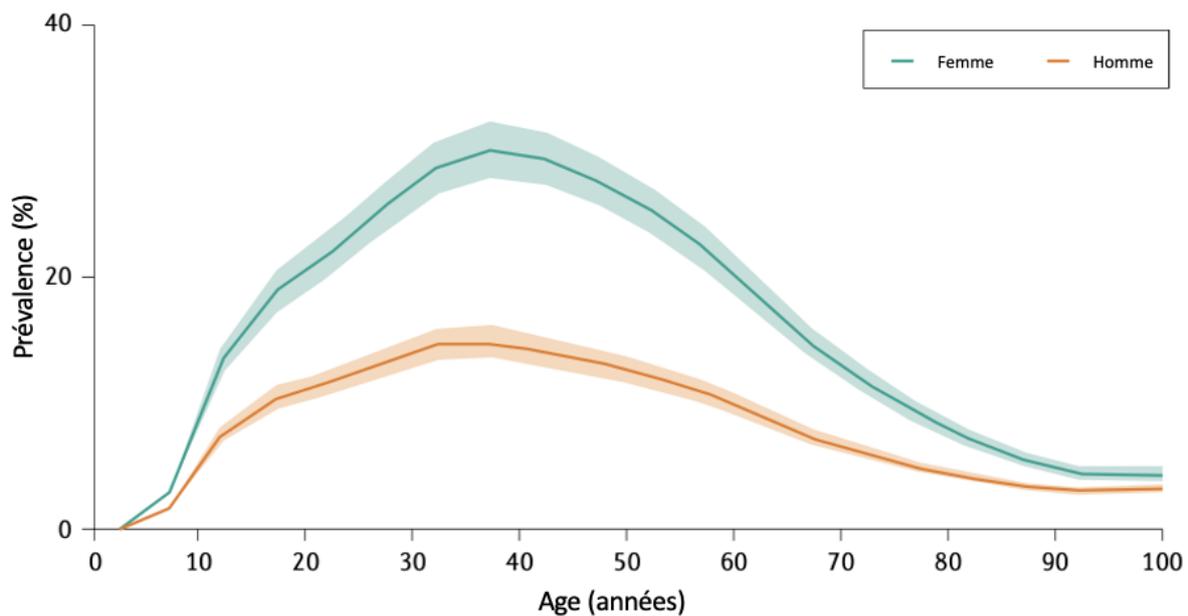


Figure 1 – Prévalence ponctuelle mondiale de la migraine selon l'âge en fonction du sexe. La prévalence est exprimée en pourcentage de la population (d'après Stovner, 2018).

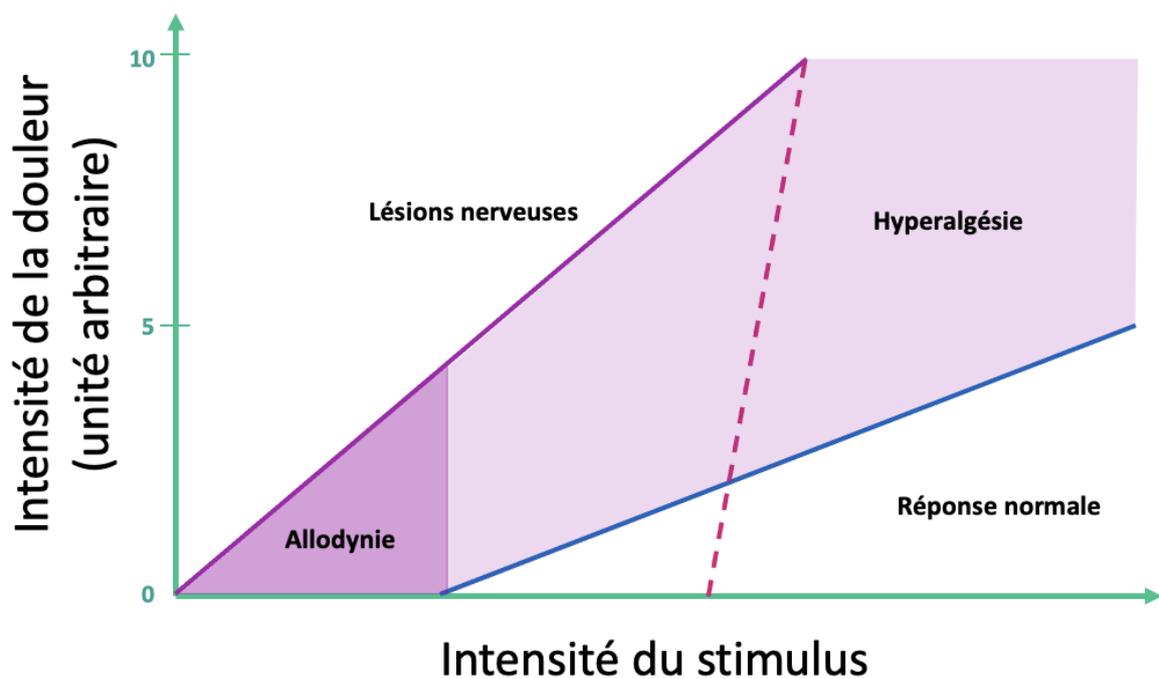


Figure 2 – Courbes représentant la relation entre stimulus cutané et douleur. Relation entre l'intensité du stimulus et la douleur chez un patient sain (ligne bleue), chez un patient neuropathique (ligne rose) et chez un patient ayant une perte de sensibilité (ligne rose pointillée). L'allodynie se situe hors de la ligne bleue, ce qui correspond à l'apparition d'une douleur ressentie à la suite d'un stimulus normalement non douloureux. L'hyperalgésie correspond à une hausse de la douleur ressentie à la suite d'un stimulus normalement douloureux (d'après Jensen and Finnerup, 2014).

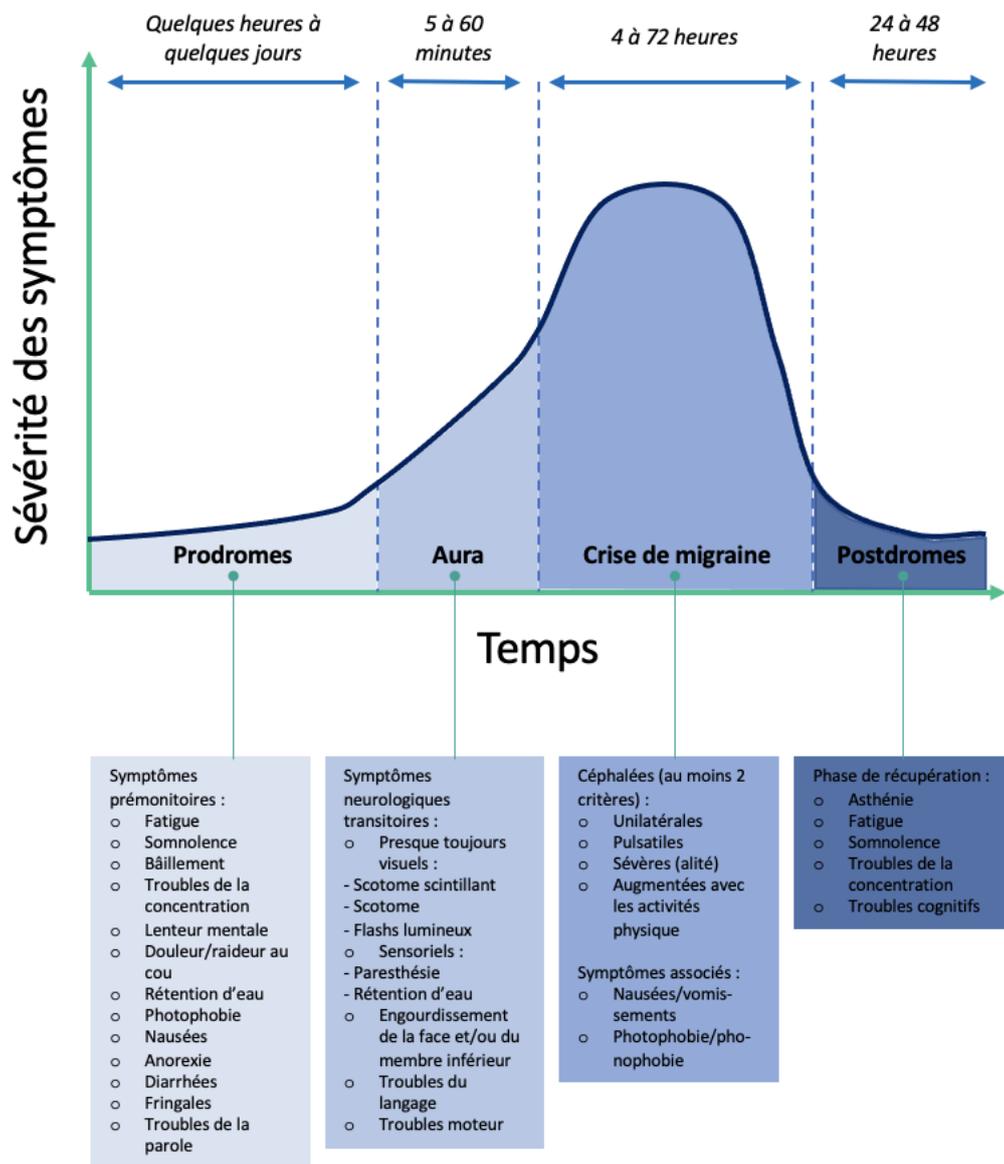


Figure 3 – Schéma représentant les différentes phases de migraine, additionnées de l'aura (d'après Ferrari et al., 2022).

variée : fatigue, somnolence, bâillement, perturbation de la concentration, douleur ou raideur au niveau du cou, rétention d'eau, photophobie, nausées, diarrhées ou encore des troubles de la parole (Schoonman *et al.*, 2006). Cette phase peut précéder la phase d'aura que l'on retrouve chez environ 31% des patients (Kim *et al.*, 2022), qui apparaît quelques minutes avant et/ou pendant la crise de migraine. Elle peut durer entre 5 minutes et 1 heure. Il s'agit d'une manifestation de symptômes neurologiques, la plupart du temps visuels, avec l'apparition de tâches lumineuses ou sombres dans le champ visuel, ou par exemple des déficits sensitifs ou moteurs (troubles de la parole). Nous reviendrons plus tard sur ce phénomène dans le chapitre concernant la dépression corticale envahissante. S'en suit la crise de migraine, qui peut elle-même être suivie de postdromes, considérés comme une phase de récupération pouvant durer jusqu'à deux jours. Les symptômes associés peuvent être de l'asthénie, des difficultés à se concentrer ou cognitives (Ferrari *et al.*, 2022).

4) Critères de diagnostic

Les critères de diagnostic de la migraine ont été définis par l'International Headache Society (IHS), pour la première fois en 1988, dans l'*International Classification of Headache Disorders*, actualisé une première fois en 2004 puis une seconde fois en 2018, sous le terme ICHD-3. Ces critères sont synthétisés dans le **Tableau 1**. Ils permettent de distinguer la migraine d'autres types de céphalées (comme les céphalées de tension ou les névralgies primaires). L'ICHD-3 décrit également les « migraines probables » comme des crises qui remplissent tous les critères sauf un de la « migraine sans aura » ou de la « migraine avec aura », qui ne remplissent pas tous les critères ou ne sont pas mieux expliqués par un autre critère de l'ICHD-3.

La fréquence des crises va également scinder les patients en deux catégories : les patients ayant des migraines dites épisodiques et ceux ayant des migraines chroniques. Dans l'ICHD-3, les migraines chroniques sont définies comme des céphalées (semblables à une crise de migraine ou à une céphalée de tension), répondant aux deux critères suivants pendant plus de 15 jours par mois, pendant au moins 3 mois et qui ne sont pas mieux décrites par un autre critère de l'ICHD-3 :

1.1 – Migraine sans aura
A – Au moins cinq crises répondant aux critères B à D
B – Crises de céphalées durant 4 à 72 heures (sans traitement)
C – Céphalées ayant au moins deux des caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> ○ Topographie unilatérale ○ Type pulsatile ○ Intensité modérée ou sévère ○ Aggravées par, ou entraînant l'évitement, une activité physique de routine (marcher ou monter les escaliers, par exemple)
D – Durant la céphalée, au moins l'un des critères suivants est présent : <ul style="list-style-type: none"> ○ Nausées et/ou vomissements ○ Photophobie ou phonophobie
E – N'est pas mieux décrite par un autre diagnostic de l'ICHD-3

1.1 – Migraine avec aura
A – Au moins deux crises répondant aux critères B et C
B – Aura, comprenant des troubles visuels, sensitifs et/ou de la parole ou du langage, tous entièrement réversibles, mais pas de symptômes moteur, basilaire ou rétinien
C – Au moins deux des quatre critères suivants : <ul style="list-style-type: none"> ○ Au moins un symptôme de l'aura se développe progressivement en ≥ 5 minutes et/ou les différents symptômes de l'aura surviennent successivement ○ Chaque symptôme de l'aura dure entre 5 et 60 minutes ○ Au moins un symptôme de l'aura est unilatéral ○ L'aura est accompagnée ou suivie, dans les 60 minutes, par une céphalée
D – N'est pas mieux décrite par un autre diagnostic de l'ICHD-3 et un accident ischémique transitoire a été exclu

Tableau 1 – Critères de diagnostic de la migraine sans ou avec aura, d'après l'International Classification of Headache Criteria (ICHD-3).

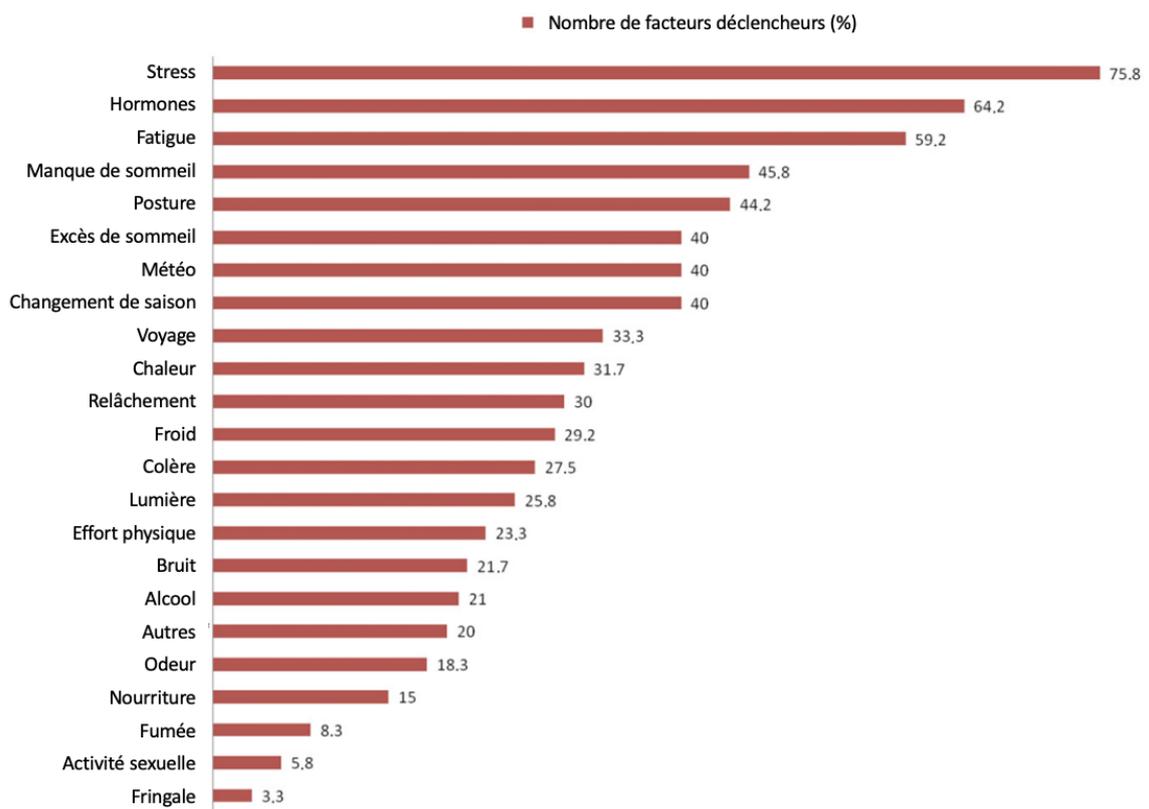


Figure 4 – Histogramme représentant la variété des déclencheurs de migraine considérés comme fréquents (d'après Baldacci et al., 2013).

- Céphalées survenant chez un patient qui a eu au moins cinq crises répondant aux critères de la « migraine sans aura » ou au moins deux crises remplissant les critères de la « migraine avec aura »
- Céphalées survenant au moins 8 jours par mois, pendant 3 mois consécutifs, répondant à l'un des critères suivants :
 - Critères de « migraine sans aura »
 - Critères de « migraine avec aura »
 - Céphalée considérée par le patient comme une migraine au début et soulagée par un triptan ou un dérivé de l'ergot

5) Facteurs déclencheurs de la crise de migraine

Il n'est pas forcément évident de faire la distinction entre les facteurs déclencheurs des crises de migraine et les facteurs de risque (Lipton & Bigal, 2005). Dans une étude menée par Baldacci en 2013, 72,5% des patients rapportaient spontanément au moins un facteur déclencheur de migraine mais 100% des patients rapportaient un facteur déclencheur lorsqu'une liste leur était suggérée. Notons que dans cette étude, 87% des sujets étaient des femmes, 73,3% des patients étaient diagnostiqués migraineux sans aura et 85,8% des patients présentaient des migraines épisodiques (Baldacci *et al.*, 2013).

Ces facteurs sont multiples et variés (**figure 4**), les principaux rapportés sont :

- Les émotions fortes comme le stress (rapporté dans 75,8% des cas, serait le facteur le plus fréquent, dans cette étude) ou encore l'anxiété,
- Le facteur hormonal est rapporté dans 64,2% des cas. Il faut noter que 87% des sujets sont des femmes ayant entre 18 et 64 ans, que les changements hormonaux jouent un rôle important dans le déclenchement des crises de migraine, notamment le premier jour de la période ménorrhée (Pavlovic *et al.*, 2017a). Nous reviendrons plus en détail sur ce point dans le chapitre concernant les facteurs de risque de la crise de migraine,
- Des changements de routine, notamment la fatigue, le manque de sommeil ou au contraire, l'excès de sommeil,

- La météo, la chaleur, le froid ou encore le changement de saison peuvent avoir un impact sur le déclenchement des crises de migraine,
- La prise de certains aliments ou de boissons comme l'alcool (Onderwater *et al.*, 2019), la caféine, les produits laitiers ou ceux riches en lipides (Rockett *et al.*, 2012),
- Des stimulations sensorielles comme une lumière de forte intensité, certaines odeurs ou le bruit.

6) Facteurs de risques et comorbidités

Des études épidémiologiques à grande échelle ont montré plusieurs facteurs de risque des crises de migraine (Amiri *et al.*, 2022). Une étude menée sur plus de 15 000 patients migraineux et 77 000 sujets sains a montré que les troubles du sommeil, la dépression, l'anxiété et certains troubles intestinaux étaient plus fréquents chez les patients migraineux que chez les patients sains. De plus, l'intensité et la fréquence de la douleur sont à la fois liées à des troubles biologiques et psychologiques mais seraient aussi dus à l'inflammation (Buse *et al.*, 2020). Du fait de la nature complexe des migraines, la distinction entre facteurs de risque et déclencheurs n'est pas évidente (Lipton & Bigal, 2005). Informer les patients des causes et des facteurs aggravants les crises pourrait réduire la fréquence et l'intensité des attaques.

a. Facteurs hormonaux

Au vu de la prévalence de la migraine chez la femme par rapport à l'homme, l'impact hormonal semble évident. Par ailleurs, notons qu'avant la puberté, les garçons sont autant touchés par la migraine que les filles (**figure 1**) (Lipton & Stewart, 1997). Les hormones contrôlent la libération de peptides dans le cerveau qui vont affecter la sensation de douleur, de façon à ce que tout déséquilibre hormonal peut avoir un impact sur les réseaux d'intégration de la douleur au niveau cérébral (Hipolito Rodrigues *et al.*, 2018).

La survenue des migraines peut être affectée par les menstruations, la grossesse et la ménopause (Faubion *et al.*, 2018), en plus de l'utilisation de contraceptifs et de traitements hormonaux substitutifs (Lay & Broner, 2009). Chez les femmes souffrant de migraine, les crises surviennent généralement autour du premier jour des règles, plus ou moins deux jours, ce qui correspond à une chute brutale du taux d'œstrogènes (Sacco *et al.*, 2012; Barth *et al.*, 2015).

Cette baisse pourrait avoir un impact sur les vaisseaux sanguins, les rendant plus perméables aux médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines (Calhoun, 2018). Il a également été montré que les œstrogènes sont associés à des changements de niveaux de sérotonine comme une diminution de son absorption, de sa dégradation, mais aussi une production accrue. Les taux fluctuants d'œstrogènes tout au long de la vie d'une femme ont donc probablement un impact sur la sérotonine, ce qui peut entraîner des conséquences physiologiques, notamment sur la migraine. Les œstrogènes augmentent le tonus sérotoninergique et la concentration de β -endorphines. Par conséquent, une chute des œstrogènes pendant le cycle peut réduire le tonus sérotoninergique et modifier celui des opioïdes, ce qui entraîne une plus grande sensibilité à la douleur (Sacco *et al.*, 2012; Todd *et al.*, 2018).

b. Prédispositions génétiques

L'existence de facteurs héréditaires dans la migraine a été démontrée par des études réalisées sur des jumeaux et leurs familles dans les années 1990 (Russell & Olesen, 1995). Des études plus récentes ont montré que la migraine était héréditaire dans 42% des cas et ont confirmé qu'il s'agissait d'une pathologie complexe résultant d'interactions entre les gènes et l'environnement, d'interaction de gènes entre eux et probablement de facteurs non connus (Polderman *et al.*, 2015). Notons que l'héritabilité est plus importante chez les patients avec aura que chez ceux ayant des migraines sans aura (Russell *et al.*, 2002). La migraine est principalement poly-génétique, en raison de multiples variantes génétiques ayant chacune un effet mineur s'accumulant pour conduire à la maladie (Cader, 2020). Dans les migraines monogéniques, beaucoup plus rares, la mutation d'un seul gène est suffisante pour entraîner la maladie. La principale forme de migraine monogénique est la Migraine Hémiplegique Familiale (Familial Hemiplegic Migraine, FHM) dont la transmission autosomique dominante. La prévalence est estimée à 0,01% de la population (Russell & Ducros, 2011). La FHM est divisée en 3 sous-groupes :

- FMH1 est due à une mutation du gène *CACNA1A*, codant pour la sous-unité α -1 du canal calcique voltage dépendant Ca_v 2.1 (Ophoff *et al.*, 1996). Ces canaux sont exprimés dans le cerveau et dans les terminaisons synaptiques cérébelleuses et jouent un rôle dans le contrôle de la libération de neurotransmetteurs. Plus de 25

mutations de *CACNA1A* ont été identifiées chez des patients FMH1. Il s'agit majoritairement de mutations faux-sens entraînant un gain de fonction du canal, ce qui entraîne l'augmentation des influx calciques, la neurotransmission glutamatergique et l'excitabilité neuronale (Anttila *et al.*, 2010).

- FHM2 est due à une mutation du gène *ATP1A2*, codant pour la sous-unité α -2 d'une pompe Na^+/K^+ astrocytaire (De Fusco *et al.*, 2003). Son rôle est d'assurer la clairance du potassium extracellulaire et de produire un gradient de sodium nécessaire à la recapture du glutamate de la fente synaptique. Plus de 80 mutations d'*ATP1A2* ont été identifiées chez des patients FHM2. Les mutations faux-sens sont les plus fréquentes, mais des mutations altérant le codon STOP et des duplications d'exons ont aussi été recensées. Ces mutations conduisent à une perte de la fonction de la sous-unité α -2 de l'ATPase Na^+/K^+ (Capuani *et al.*, 2016).
- FMH3 est due à une mutation du gène *SCN1A* codant pour la sous-unité α -1 du canal sodique voltage dépendant Nav 1.1 (Dichgans *et al.*, 2005). Ce canal est impliqué dans l'initiation et la propagation des potentiels d'action des neurones corticaux, en particulier des interneurones inhibiteurs GABAergiques (Martin *et al.*, 2010). Le gène *SCN1A* est également connu comme étant impliqué dans l'épilepsie. Plus de 100 mutations de ce gène ont été recensées notamment des mutations faux-sens et non-sens. La conséquence fonctionnelle de ces mutations est complexe et mal connue (Cestèle *et al.*, 2008).

Les crises liées aux FHM sont similaires quel que soit le type de mutation, ayant pour symptômes des auras prolongées avec confusion et pouvant être associés à des crises d'épilepsie. Notons que ces trois mutations identifiées dans les FHM concernent toutes des gènes impliqués dans la régulation ionique, ce qui suggère que la migraine, dans ces conditions, serait une canalopathie. Cependant, une quatrième sous-classe pourrait être ajoutée et classée comme FMH4. Cette dernière est due à une mutation du gène *PRRT2*. Il s'agit d'un gène codant pour une protéine jouant un rôle important dans le développement cérébral, la formation des synapses et sur la libération des neurotransmetteurs. *PRRT2* est exprimé au niveau des terminaisons présynaptiques et interagit avec les protéines de l'exocytose complexe. Cette mutation a été identifiée dans une douzaine de cas associés à

l'épilepsie, des retards mentaux ou une dyskinésie. Elle entrainerait une haplo-insuffisance (Ducros, 2021; Riant *et al.*, 2022).

c. Dépression et anxiété

La migraine est souvent associée à des comorbidités, ce qui d'une part, peut augmenter le handicap lié à la migraine et d'autre part, peut affecter les traitements. Les réponses inadaptées au stress, que sont l'anxiété et la dépression, sont les principales comorbidités associées à la migraine (Baskin *et al.*, 2006).

La migraine et la dépression sont deux pathologies couramment retrouvées dans la population générale (Breslau *et al.*, 2003; Modgill *et al.*, 2012). Il semblerait qu'il existe une corrélation bidirectionnelle entre la migraine et la dépression ; une analyse génétique a révélé qu'il existait un chevauchement génétique entre ces troubles (Brainstorm Consortium *et al.*, 2018). Dans des études de cohorte, le risque de migraine chez des personnes diagnostiquées dépressives est 3 fois plus important que chez des personnes ne montrant aucun trouble dépressif. D'autre part, le risque de dépression est 5 fois plus important chez des personnes ayant des crises de migraine comparé à la population générale (Breslau *et al.*, 2003; Modgill *et al.*, 2012). Les troubles de l'anxiété tels que l'anxiété généralisée, la panique, les troubles obsessionnels compulsifs et les phobies sont jusqu'à 5 fois plus fréquemment retrouvés chez les patients migraineux comparé à la population générale (Minen *et al.*, 2016). De plus, les patients souffrant d'un trouble dépressif majeur et de migraines comorbides présentent une anxiété et des symptômes physiques prononcés (Tietjen *et al.*, 2007).

Notons que ces comorbidités constituent un risque important de progression de la migraine vers le stade chronique (Tietjen *et al.*, 2007).

d. Épilepsie

Selon une étude, la prévalence de la migraine serait plus importante de 52%, chez des patients épileptiques par rapport à des patients sans épilepsie et les migraineux auraient 79% de risque en plus d'être épileptiques par rapport à des patients sains (Keezer *et al.*, 2015; Bauer *et al.*, 2021). En effet, les crises de migraine et d'épilepsie partagent des similitudes, des caractéristiques prémonitoires, ictales et postdromiques (telles que des céphalées, une aura, des symptômes cognitifs et autonomes) et répondent tous deux aux traitements

antiépileptiques que sont le valproate et le topiramate. Elles peuvent s'initier mutuellement ou se produire de façon rapprochée. De plus, la migraine et l'épilepsie ont une relation bidirectionnelle en raison des facteurs génétiques communs (Ottman & Lipton, 1996; Ferrari *et al.*, 2015; Bauer *et al.*, 2021).

e. Obésité

Bien que l'association entre l'obésité et la fréquence des migraines ait été systématiquement démontrée et que l'obésité soit considérée comme un facteur de risque de progression de la migraine épisodique à la migraine chronique, l'association entre l'obésité et la prévalence de la migraine est encore débattue et semble dépendre du sexe, de l'âge, avec des effets les plus importants observés chez les femmes blanches de moins de 55 ans (Peterlin *et al.*, 2010; Pavlovic *et al.*, 2017b).

Selon une étude, menée aux Etats-Unis, utilisant l'Indice de Masse Corporel (IMC) comme référence, les patients obèses ayant participé à l'Enquête Nationale sur la Santé et la Nutrition (NHANES), dont l'IMC est supérieur à 30%, avaient un risque 37% plus élevé d'avoir des migraines ou des céphalées sévères par rapport à ceux ayant un poids moyen (Ford *et al.*, 2008). Une étude plus récente, appuyant cela, a montré l'impact qu'avait l'obésité sur la sensibilisation douloureuse. En effet, les patients migraineux en surpoids sont plus affectés par l'allodynie cutanée (Mínguez-Olaondo *et al.*, 2020). Les tissus adipeux pourraient contribuer à cette sensibilisation *via* la sécrétion de molécules inflammatoires comme les adipocytes (Domínguez *et al.*, 2018). La perte de poids chez des patients migraineux et obèses diminuerait la fréquence, l'intensité et la durée des crises (Di Vincenzo *et al.*, 2020).

f. Trouble du sommeil

Il existe une relation forte et significative entre le sommeil et les migraines. Les troubles du sommeil sont associés au type et à la gravité des crises de migraine (Buse *et al.*, 2013, 2020). La migraine est associée à différents types de problèmes de sommeil, comme les insomnies, les troubles respiratoires liés au sommeil (apnée du sommeil), les troubles du mouvement liés au sommeil (syndrome des jambes sans repos), troubles d'hyper-somnolence (Tiseo *et al.*, 2020). De plus, les troubles du sommeil surviennent plus fréquemment chez les migraineux chroniques plutôt que chez les migraineux épisodiques (Kelman & Rains, 2005). A

l'inverse, les troubles du sommeil sont un des facteurs engendrant les migraines (8,3 à 64%) (Pavlovic *et al.*, 2014; Peroutka, 2014). Les changements de rythme ou les perturbations des rythmes circadiens sont parmi les déclencheurs de migraine les plus fréquemment cités (Peroutka, 2014; Gross *et al.*, 2019). Les résultats d'une méta-analyse ont montré que les personnes qui souffrent de migraine sont 3 fois plus susceptibles de souffrir d'insomnies que les personnes non migraineuses (Buse *et al.*, 2020). Cependant, la relation entre le sommeil et les maux de tête est une relation complexe et bidirectionnelle. Les troubles du sommeil peuvent entraîner des céphalées et inversement, ou encore, les troubles du sommeil et les maux de tête peuvent survenir simultanément, car les deux sont liés (Boardman *et al.*, 2005; Amiri *et al.*, 2022).

La migraine est un trouble handicapant dont la prise en charge est une priorité. Avant d'aborder la physiopathologie de la migraine, et puisque les douleurs céphaliques sont liées à la mise en jeu du nerf trigéminal, il est nécessaire de mieux comprendre le système trigémino-vasculaire.

II. Le système trigémino-vasculaire

Puisque la migraine touche la sphère céphalique, les messages sont véhiculés depuis les méninges par les fibres du nerf trijumeau (aussi appelé nerf crânien V), au niveau du Complexe Trigémino-Cervical (CTC), constituant le premier relais central de la sensibilité orofaciale. A partir de ce relais, les messages sont transmis *via* des voies ascendantes vers les relais supra-spinaux comme le thalamus, accédant ensuite aux régions corticales et limbiques pour intégrer les composantes sensori-discriminatives et cognitivo-affectives de la douleur. Ces informations seront modulées par les voies descendantes de la douleur.

1) Les méninges

L'encéphale et la moelle épinière, constituant le système nerveux central (SNC), sont enveloppés par 3 couches concentriques et membraneuses, appelées méninges, qui sont, de la plus externe à la plus interne, la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère. Récemment, une quatrième membrane, baptisée SLYM, (Subarachnoid Lymphatic-like Membrane) retrouvée entre l'arachnoïde et la pie-mère, a été identifiée (**figure 5**) (Møllgård *et al.*, 2023). La dure-

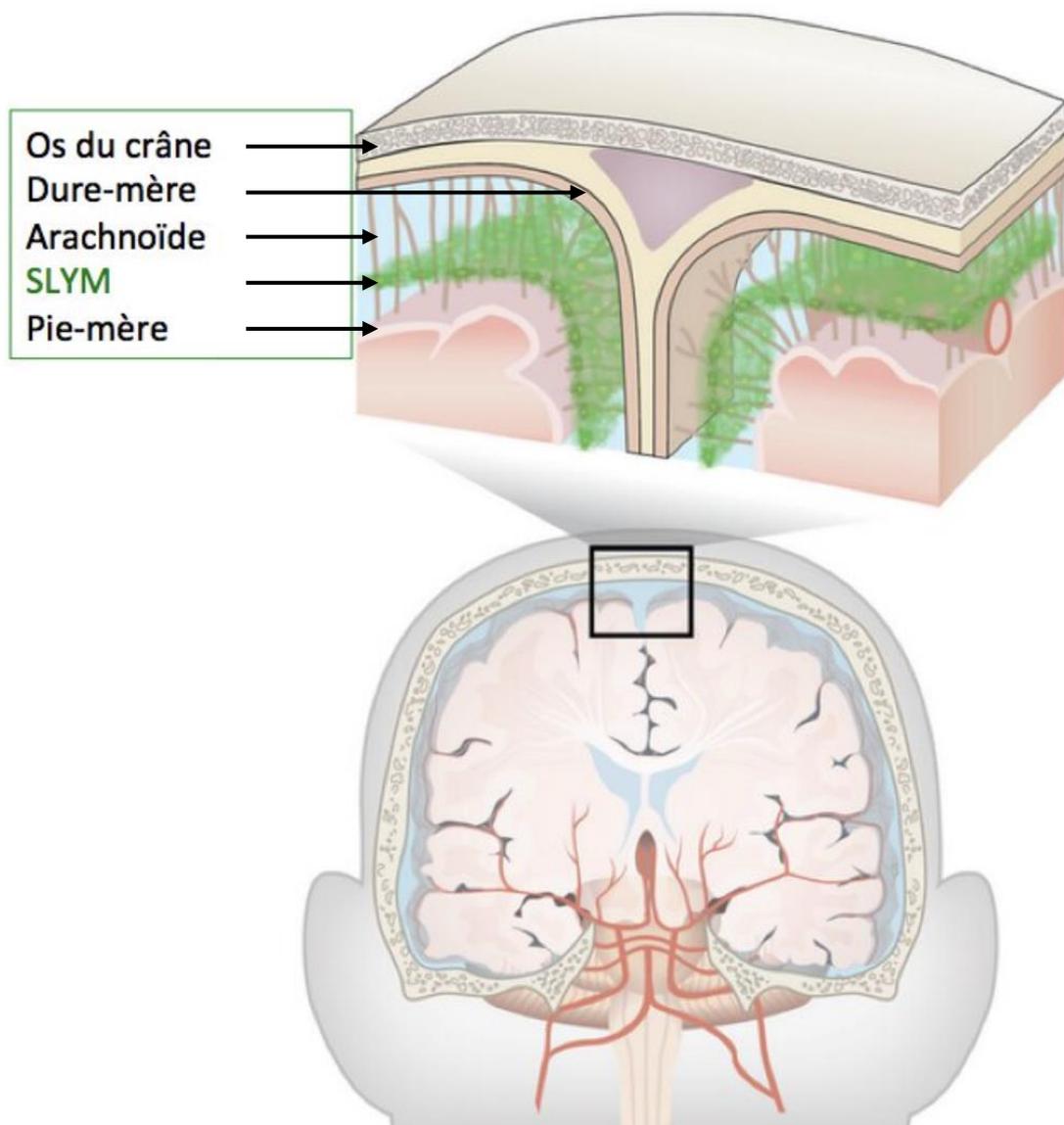


Figure 5 – Représentation des quatre méninges enveloppant le système nerveux central. Les méninges sont, de la plus externe à la plus interne, la dure-mère, l'arachnoïde, SLYM, (Subarachnoid Lymphatic-like Membrane) et la pie-mère (Møllgård et al., 2023).

mère est appelée pachyméninge tandis que l'arachnoïde et la pie-mère sont appelées leptoméniges (Adeeb *et al.*, 2013). Leurs principales fonctions sont de protéger le SNC des chocs, d'alimenter le SNC en nutriments et de jouer un rôle dans l'immunité.

Les méninges et leurs vaisseaux sont innervés par le système sympathique, parasympathique mais surtout par des nocicepteurs trigéminaux (Dallel *et al.*, 2003).

2) Innervation trigéminal

Les méninges ainsi que la sphère orofaciale sont innervées par le nerf trigéminal, également appelé nerf crânien V. Ce nerf est divisé en 3 branches (**figure 6**) (Marfurt, 1981; Edvinsson *et al.*, 2020; Terrier *et al.*, 2022) :

- La branche ophtalmique (V1) est la première branche du nerf trigéminal dans l'ordre rostro-caudal. Elle innerve la région péri-orbitale (ainsi que le globe oculaire et la cornée), la paupière, l'arête du nez et la muqueuse nasale, les sinus frontaux, les méninges (majoritairement les vaisseaux sanguins), la peau du front et le cuir chevelu,
- La branche maxillaire (V2) est la deuxième branche du nerf trigéminal. Elle innerve la paupière inférieure, les ailes du nez, la joue, les narines, le maxillaire supérieur, la lèvre supérieure, la bouche, le palais, les dents et les gencives supérieures, les sinus ethmoïde et sphénoïde, ainsi qu'une partie des méninges,
- La branche mandibulaire (V3) est la plus grande des trois branches du nerf trigéminal chez l'Homme. Elle innerve le reste de la sphère céphalique, à savoir, la lèvre inférieure, le menton, le maxillaire inférieur, une partie de la langue, les dents et les gencives inférieures.

Les méninges sont le seul tissu intracrânien innervé jouant un rôle, au niveau central, dans la migraine.

Les divisions du trijumeau contiennent des fibres pour le toucher, la proprioception, la pression, les vibrations et la nociception du visage, la nociception des méninges et des vaisseaux sanguins cérébraux (Joo *et al.*, 2014) sans distinction précise des fibres par modalités. Néanmoins, les fibres du STV (Système Trigémino-Vasculaire) innervant les

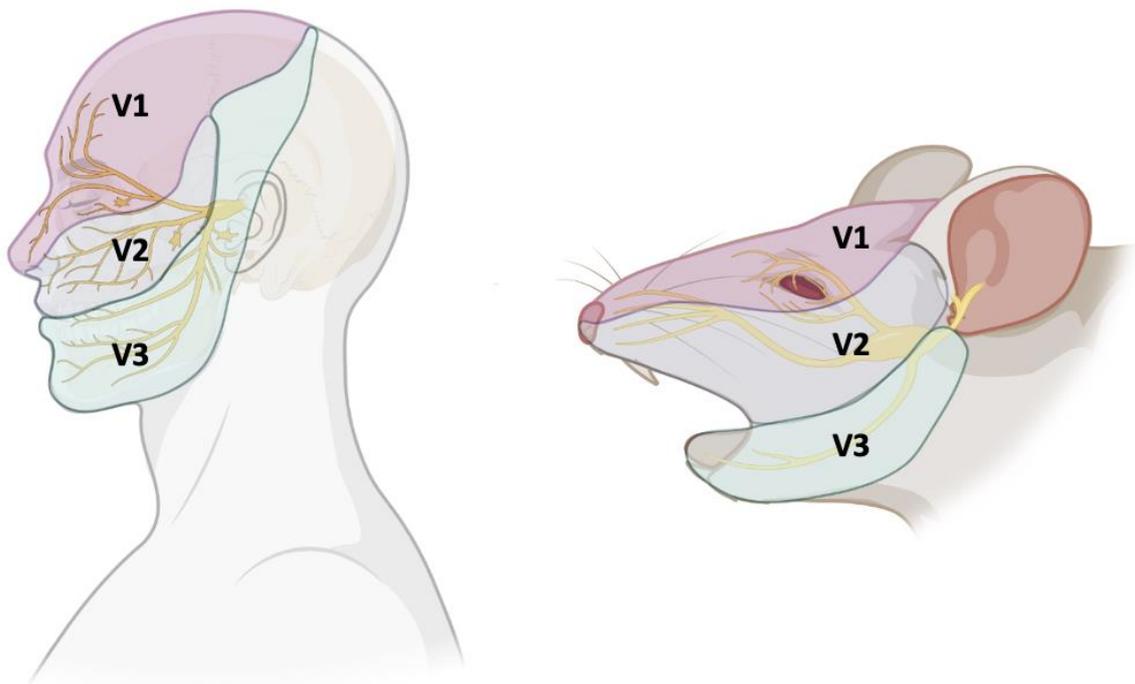


Figure 6 – Territoires innervés par le nerf trigéminal chez l'Homme et le rat. Les territoires innervés par la branche ophtalmique V1 sont représentés en rose, la branche maxillaire V2 en bleu et la branche mandibulaire V3 en vert (d'après Dallel et al., 2003).

vaisseaux cérébraux et les méninges sont exclusivement nociceptives et parcourent les branches du V1 (Fontaine *et al.*, 2018).

3) Physiologie des afférences primaires

Le nerf trigéminal est composé de fibres provenant de chaque partie de la sphère orofaciale et des méninges. Il est innervé par différentes catégories de récepteurs composés de terminaisons nerveuses complexes ou libres. Ces terminaisons sont celles des fibres qui constituent la branche périphérique de l'axone dit en T des neurones dont le corps cellulaire se trouve dans le ganglion de Gasser et dont la branche principale établit des contacts au niveau vers le CST (Complexe Sensitif du Trijumeau). Il existe différents types de fibres ayant la capacité de détecter les stimuli périphériques, au niveau des tissus, *via* des mécanorécepteurs, des thermorécepteurs ou des nocicepteurs. On retrouve trois grandes catégories de fibres (**Tableau 2**) (Smith & Lewin, 2009):

- Les fibres A β sont des fibres de large diamètre (5 à 15 μm), entourées d'une large gaine de myéline, ayant une vitesse de conduction rapide des informations tactiles et proprioceptives, 30 à 100 m/s (Sessle, 2000; Bereiter *et al.*, 2008; Abraira & Ginty, 2013),
- Les fibres A δ sont des fibres de diamètre plus fin (1 à 5 μm), faiblement myélinisées, ce qui leur confèrent une vitesse de conduction plus lente, 5 à 30 m/s (Abraira & Ginty, 2013). Elles sont responsables de la conduction d'informations nociceptives (Slugg *et al.*, 2000), de courte durée et non-inflammatoires. On distingue deux types de fibres A δ (Treede *et al.*, 1998):
 - o Les fibres A δ de type I répondent à des stimuli mécaniques intenses, à la chaleur à partir de 53°C et sont insensibles à la capsaïcine,
 - o Les fibres A δ de type II, moins nombreuses que les fibres de type I, sont présentes au niveau de la peau poilue des primates. Leur vitesse de conduction est plus faible, de l'ordre de 15 m/s. Elles sont activées par la chaleur, à partir de 45°C et sont sensibles à la capsaïcine,
- Les fibres C sont encore plus petites (0,4 à 1,2 μm) et non myélinisées (Almeida *et al.*, 2004). Elles sont plus nombreuses et représentent 40% des neurones sensoriels

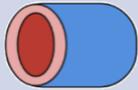
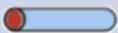
Fibres afférentes primaires	Représentation	Myélinisation	Diamètre	Vitesse	Informations
Fibres Aβ		Forte	Large 5 – 15 μm	Rapide 30 – 100 m/s	Proprioception, toucher léger
Fibres Aδ		Moyenne	Moyen 1 – 5 μm	Moyenne 5 – 30 m/s	Nociception (mécanique, thermique, chimique)
Fibres C		Non	Faible 0,4 – 1,2 μm	Lente 0,5 – 2 m/s	Nociception (mécanique, thermique, chimique)

Tableau 2 – Physiologie des afférences primaires (d'après Julius & Basbaum, 2001).

primaires trigéminaux (Cadden & Orchardson, 2001). Elles transmettent les informations nociceptives mais également les informations thermiques non douloureuses, à une faible vitesse de conduction, 0,5 à 2 m/s (Almeida *et al.*, 2004; Abraira & Ginty, 2013). Ces fibres seraient impliquées dans les douleurs inflammatoires de longue durée. Elles sont divisées en deux contingents en fonction de leur nature neurochimique : les fibres C peptidergiques contiennent certains peptides comme le CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide) ou la substance P et les fibres non peptidergiques, capables de se lier à l'isolectine B4 (Stucky & Lewin, 1999; Basbaum *et al.*, 2009).

Le terme de nocicepteur est utilisé pour désigner les neurones de premier ordre qui transmettent au SNC des stimulations nociceptives, aussi bien thermiques, mécaniques que chimiques. Les fibres A δ et C sont donc les deux types de fibres transportant la majorité des informations nociceptives (Burgess & Perl, 1967; Bessou & Perl, 1969). Du fait de leurs propriétés respectives, notamment *via* leur vitesse de conduction, ces fibres permettront la discrimination temporelle de la détection du stimulus douloureux. Les fibres A δ détecteront les stimuli nociceptifs rapides et aiguës, alors que les fibres C transmettront des messages différés, plus diffus (Bessou & Perl, 1969; Lewin & Moshourab, 2004). Les fibres A β ne participent à la nociception qu'en condition pathologique.

Ces fibres constituent les trois branches du nerf trigéminal qui se rejoignent au niveau du ganglion trigéminal (TG) (**figure 7**), contenant environ 20 000 à 150 000 corps cellulaires (Anon, 2011). Notons que l'ensemble du nerf trigéminal et les vaisseaux méningés constituent le STV. Son activation, par des stimuli mécaniques, électriques ou chimiques, entraîne des céphalées similaires à celles ressenties lors des crises de migraine (Ashina *et al.*, 2019). Les neurones du trijumeau sont des cellules pseudo-unipolaires à deux branches axonales, l'une s'étendant du côté distal vers l'une des branches du nerf trijumeau et l'autre, du côté proximal jusqu'au CTC. En raison de ces caractéristiques anatomiques, les neurones du trijumeau seraient capables de conduire les potentiels d'action (PA) vers le tronc cérébral (TC) mais aussi vers les branches du trijumeau. Cette conduction est responsable de la libération de neuropeptides inflammatoires par le STV

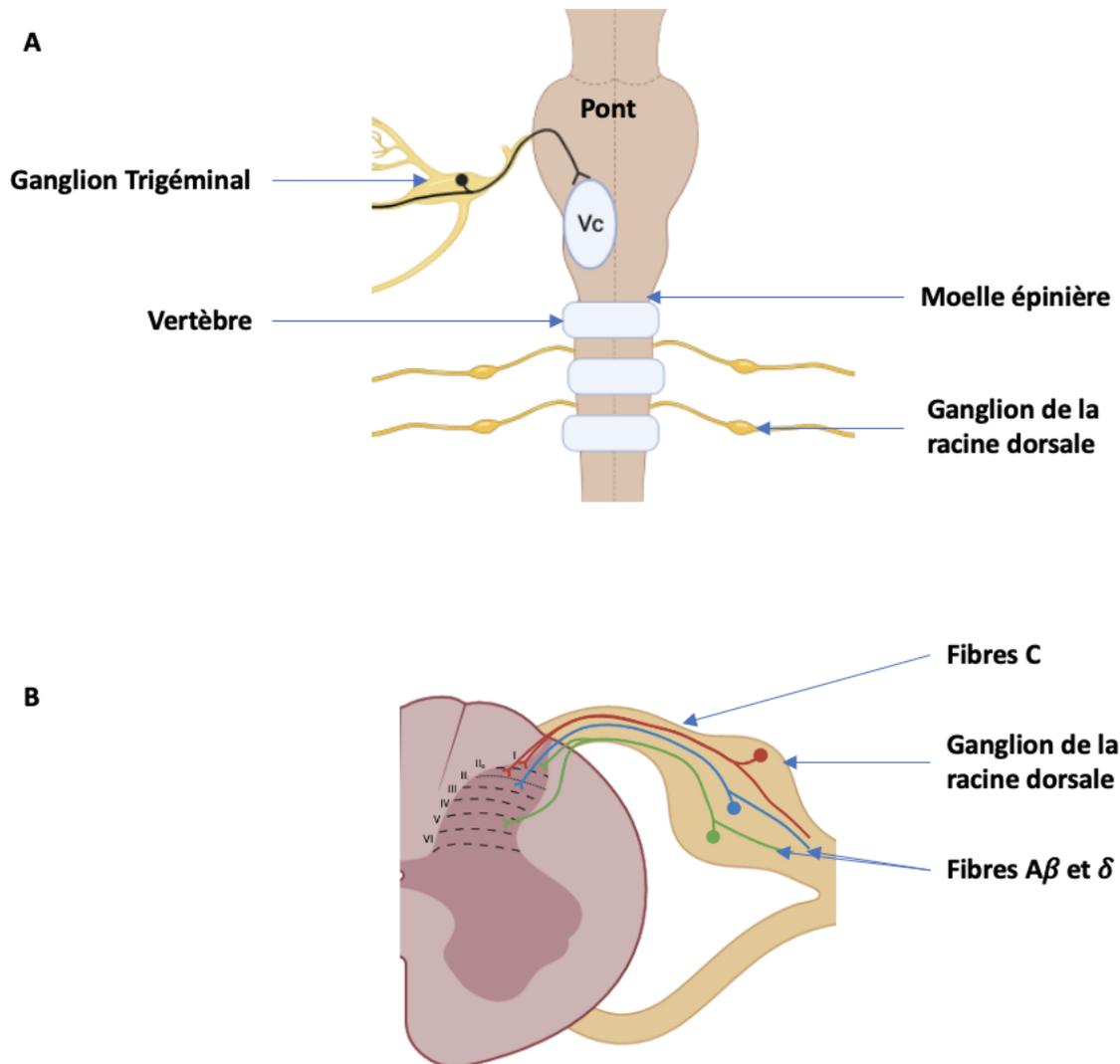


Figure 7 – Schémas représentant la distribution anatomique des fibres dans le complexe trigémino-cervical.

(A) Nociception céphalique – le corps cellulaire des nocicepteurs est localisé dans le ganglion trigéminal et la terminaison des fibres dans le Sp5C (Vc) situé dans le tronc cérébral. (B) Nociception extra-céphalique – le corps cellulaire des nocicepteurs est localisé dans les ganglions de la racine dorsale, on y retrouve les fibres A β , A δ et C.

au niveau périphérique, survenant lors de crises migraineuses (Olesen *et al.*, 2009; Ramachandran, 2018).

4) Le faisceau trigéminal

Les fibres du TG traversent la racine trigéminal motrice, ventrale au ganglion, puis suit la division V3 (Augustine, 2017). La racine sensorielle du trijumeau s'étend du TG à la face ventrolatérale du pont. Une fois le TC atteint, certaines fibres trigéminales bifurquent pour donner une courte branche ascendante atteignant le noyau trigéminal principal et une plus longue, descendant jusqu'en C2 ou C3 dans le tractus trigéminal (**figure 8**). Les fibres γ sont organisées de façon somatotopique sur toute l'étendue rostro-caudale : les fibres V1 sont ventrales, V2 intermédiaires et V3 dorsales (**figure 9**) (Terrier *et al.*, 2022).

5) Le complexe trigémino-cervical

Le CTC s'étend le long du TC depuis la limite caudale du mésencéphale, jusqu'aux premiers segments cervicaux (Dallel *et al.*, 2003). Il est composé de trois noyaux bilatéraux (**figure 8**) :

- Le noyau mésencéphalique (MN) s'étend le long du bord latéral du noyau gris central, du niveau du colliculus supérieur dans le mésencéphale jusqu'au pont moyen. Il se situe latéralement au 4^{ème} ventricule (Joo *et al.*, 2014),
- Le noyau trigéminal principal (NP) est un petit noyau situé dans le pont moyen, au niveau de l'entrée du nerf V et dorso-latéralement au noyau moteur du trijumeau (Henssen *et al.*, 2016). Il projette majoritairement vers le thalamus (Torvik, 1957),
- Le noyau trigéminal spinal (SN), le plus caudal mais aussi le plus dorsolatéral du TC, s'étend du noyau principal jusqu'aux segments cervicaux C2 à C4. Le SN est antéro-latéral au 4^{ème} ventricule et médial au faisceau rachidien du trijumeau (Joo *et al.*, 2014; Henssen *et al.*, 2016; Augustine, 2017). Ce noyau est lui-même divisé en trois parties cyto-architecturales et fonctionnellement définies, de la plus rostrale à la plus caudale (Peker & Sirin, 2017) (**figure 10**) :
 - Le sous-noyau oral (*pars oralis*, Sp5O) s'étend du pont moyen au tiers rostral de l'olive inférieure. Il joue un rôle dans la sensation intrabuccale et

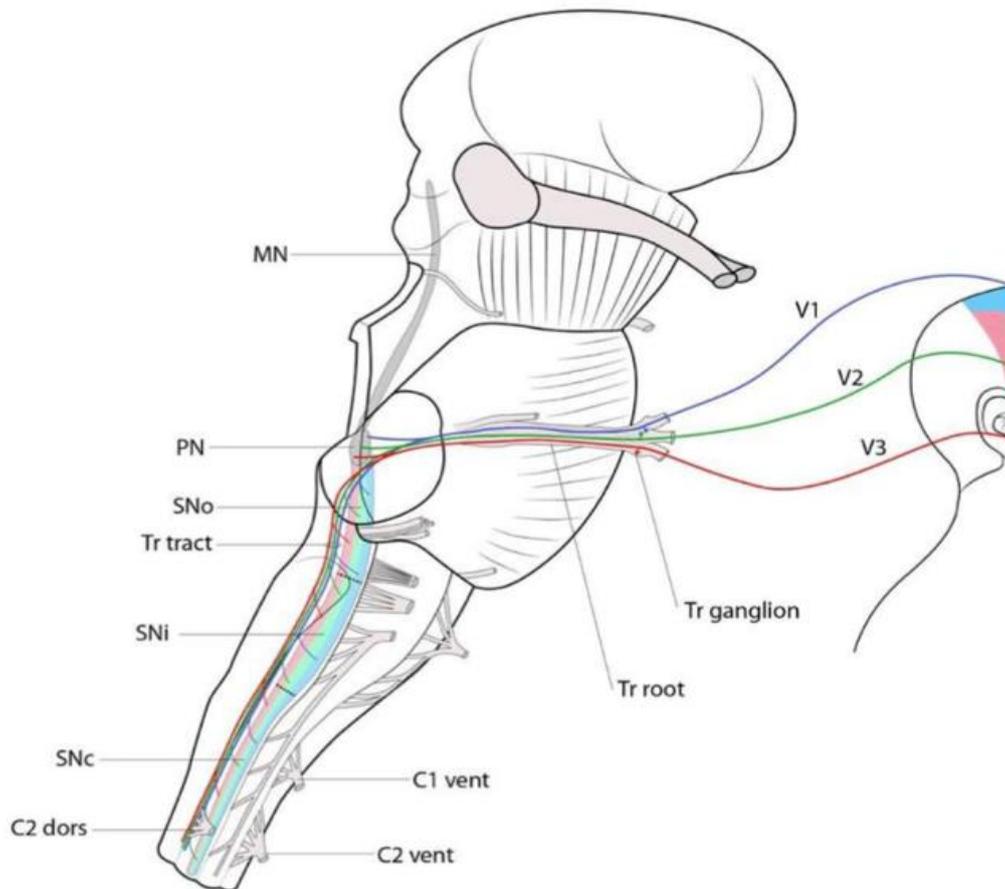


Figure 8 – Les afférences du trijumeau.

Les fibres afférentes empruntent les trois divisions du trijumeau, V1, V2 et V3, et se projettent vers le ganglion trigéminal (Tr gangl.) puis vers la racine du trijumeau (Tr root). Celle-ci converge vers le pont où les fibres bifurquent (les fibres du toucher atteignent le noyau principal (NP), les fibres proprioceptives pénètrent dans le noyau mésencéphalique (MN, non représenté) et les fibres nociceptives descendent jusqu'en C2 ou C3 au niveau du faisceau du trijumeau (Tr tract) pour atteindre le noyau trigéminal spinal (SN)) (Terrier et al., 2022).

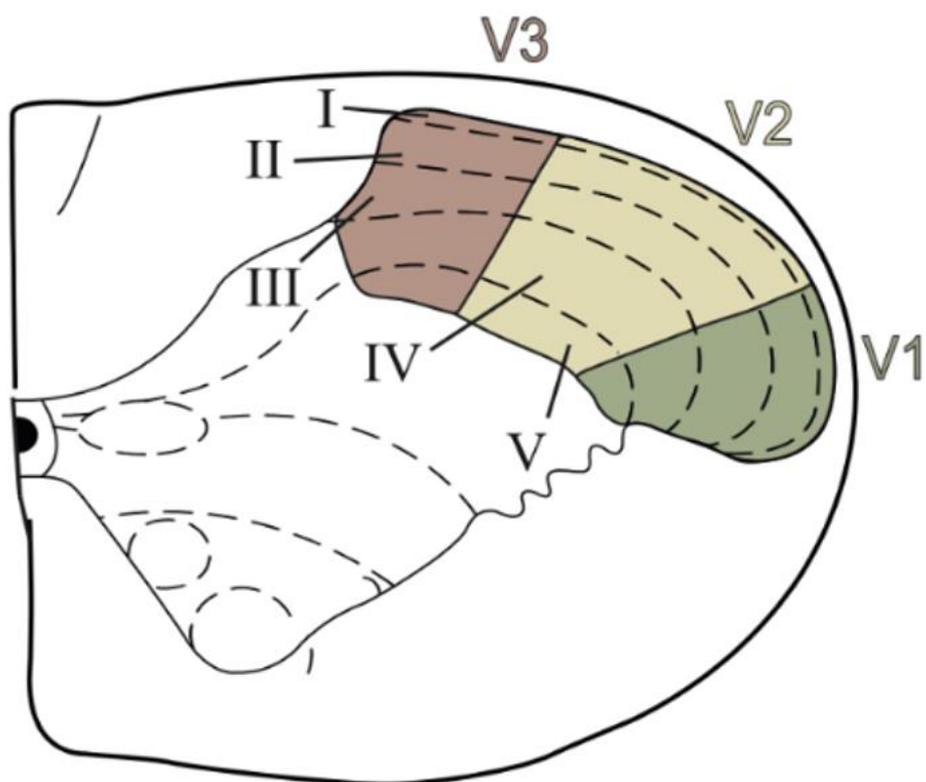


Figure 9 - Organisation somatotopique et laminaire du Sp5C.

Les fibres afférentes primaires du nerf trigéminal se terminent au niveau du Sp5C de façon somatotopique. Le Sp5C a une organisation laminaire similaire à celle de la corne dorsale de la moelle épinière (couches I à V). Les afférences ophtalmiques se terminent dans la zone V1 (ventro-latérale du Sp5C), les afférences maxillaires en zone V2 (dorso-latérale du Sp5C) et les afférences mandibulaires en zone V3 (dorso-médiane du Sp5C).

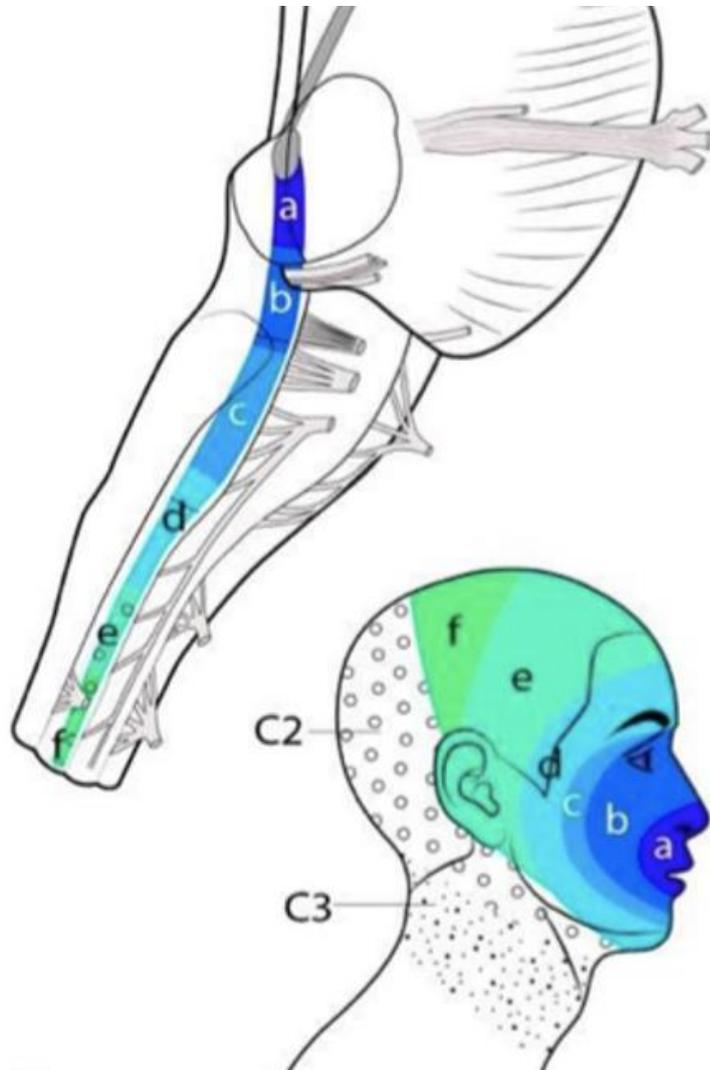


Figure 10 – Organisation somatotopique de la face

Dans cette représentation, le visage est divisé en anneaux concentriques allant des régions péri-buccales aux régions pré-auriculaires (a-f). Les nocicepteurs de la zone faciale centrale (a-b) projettent rostralement dans le SN, tandis que la zone faciale la plus périphérique est représentée dans le SN caudal (e-f) (Terrier et al., 2022).

dentaire, y compris dans la douleur intrabuccale et reçoit également des signaux épicritiques de la face (Jacquin *et al.*, 1982; Graham *et al.*, 1988; Peker & Sirin, 2017). Il reçoit les afférences orales et péri-orales nociceptives de courte durée (Dallel *et al.*, 1990, 1999, Anon, 2011).

- Le sous-noyau interpolaire (*pars interpolaris*, Sp5I) s'étend du tiers rostral de l'olive inférieure à l'obex du quatrième ventricule. Il reçoit les afférences des neurones cutanés nociceptifs ou mécanorécepteurs à bas seuil (Hayashi *et al.*, 1984). Cette structure est particulièrement développée chez les rongeurs, car elle reçoit les afférences provenant des vibrisses (leur permettant de percevoir l'environnement) et peut être impliquée dans la perception profonde de la douleur buccale (Ohya *et al.*, 1993). Il projette vers le NP et le Sp5c,
- Le sous-noyau caudal (*pars caudalis*, Sp5C ou caudalis) s'étend de l'obex jusqu'aux segments cervicaux C2-C4. Il s'agit du relais majeur des informations thermiques et nociceptives provenant de la face et du crâne (Joo *et al.*, 2014; Terrier *et al.*, 2018). Le caudalis a une organisation laminaire comparable à celle de la moelle épinière (Rexed, 1952) (**figure 11**). On retrouve :
 - La couche I ou zone marginale (semblable à la *lamina* 1 de Rexed) est très fine et la plus superficielle des couches du Sp5C (Olszewski, 1950). Elle comprend des interneurones (de petite taille) et des neurones de projection (de taille plus grande). Environ 60% des neurones de cette couche répondent à des stimuli nociceptifs dont 80% sont polymodaux et 20% mécano-sensibles spécifiques (Burstein *et al.*, 1998). Les neurones de la *lamina* 1 envoient leurs axones vers les régions cérébrales d'ordre supérieur (thalamus, hypothalamus et noyau para-brachial) (Kobayashi & Nakaya, 2020),
 - La couche II est assimilée à la *substantia gelatinosa* (*lamina* 2 de Rexed) (Gobel, 1975). Elle ne possède pas de terminaisons de fibres de gros diamètre, ce qui lui confère un aspect translucide sur des

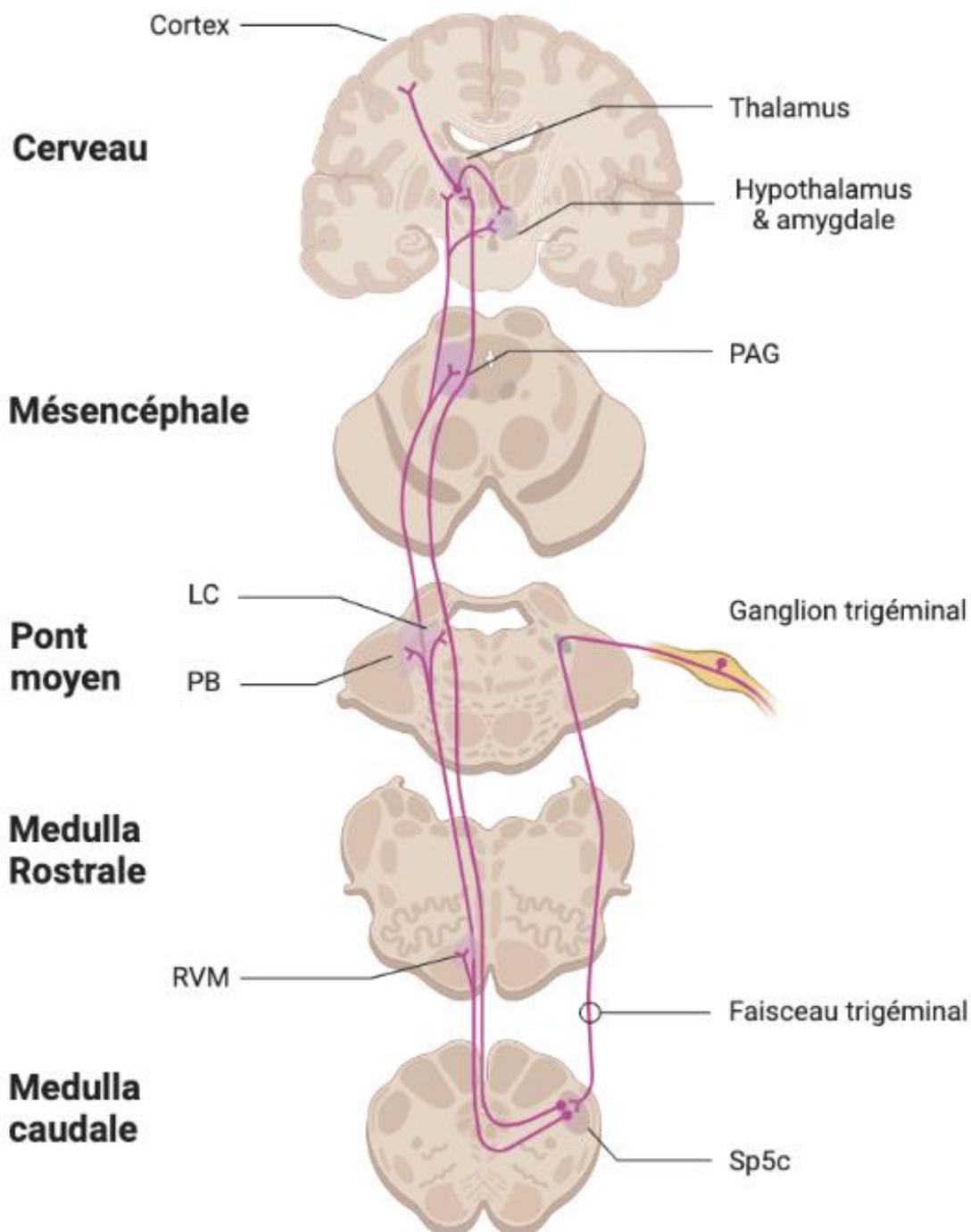


Figure 11 – Voies ascendantes principales de la nociception trigéminal directe et indirecte. LC : Locus Coeruleus, PB : noyau para-brachial, RVM : médulla ventro-médiale rostrale, PAG : substance grise périaqueducule. La voie trigémino-thalamique allant vers le cortex et la voie trigémino-mésencéphalique (avec relais parabrachial (PB)) allant vers les cortex et système limbique (fait sur Biorender.com).

coupes non colorées (Gobel, 1978). Elle n'est composée quasiment que d'interneurones (Todd *et al.*, 2003). La *lamina* II est divisée en 2 parties, interne et externe, ayant des rôles différents dans le traitement des informations. Les fibres A δ se terminent dans la couche II externe tandis que les fibres C se terminent dans les couches interne et externe (Li *et al.*, 2011),

- Les couches III et IV ou magnocellulaire (*laminae* 3 et 4) comportent une forte densité de neurones, dont la plupart sont des interneurones de taille plus importante que ceux de la couche II. Elles reçoivent les afférences de types A β et comportent des neurones de projection thalamique,
- La couche V est plus profonde, plus hétérogène, contient des neurones de tailles variées (Gobel & Purvis, 1972). La couche V est traversée par des faisceaux de fibres myélinisées. Elle contient des neurones à convergence appelés WDR (Wide Dynamic Range) répondant à des informations à la fois nociceptives et non nociceptives (Hu, 1990).

Parmi les afférences primaires du trijumeau, les fibres faiblement myélinisées A δ et les fibres non myélinisées C peptidergiques véhiculent les informations nociceptives. Les fibres A δ projettent principalement sur les *laminae* I et V et légèrement sur la II externe (Light & Perl, 1979; Hayashi *et al.*, 1984) et les fibres C se terminent dans les couches I et II (externe et interne) (Sugiura *et al.*, 1986). Notons que les fibres A β fortement myélinisées se terminent dans les couches V et les couches magnocellulaire (III et IV) (Hayashi *et al.*, 1984; Hayashi, 1985) (Terrier *et al.*, 2022).

Les limites anatomiques entre ces différentes sections ne sont pas clairement définies.

Les afférences des fibres du nerf V projettent selon une certaine somatotopie sur les noyaux cités ci-avant. Trois arrangements somatotopiques différents ont été décrits pour les noyaux du trijumeau. Tout d'abord, les afférences provenant des branches V1, V2 et V3

projettent respectivement sur l'aire ventrale, intermédiaire et dorsale dans le SN (Joo *et al.*, 2014; Henssen *et al.*, 2016) (**figure 9**). Deuxièmement, les différentes régions de la face sont représentées par de longues colonnes rostro-caudales. Chacune représente une partie distincte du visage, les régions médianes étant représentées médialement et la peau latérale est représentée latéralement. La dernière représentation est appelée « schéma en pelure d'oignon » de Déjerine, dans laquelle le visage est divisé en anneaux concentriques, partant de la région péri-orale allant jusqu'à la région pré-auriculaire (**figure 10**). La zone faciale centrale (nez et bouche) projette rostralement dans le SN, tandis que la zone faciale plus périphérique est représentée par le SN caudal (Peker & Sirin, 2017; Terrier *et al.*, 2022).

6) Relais d'intégrations des informations nociceptives

a. Intégration segmentaire au niveau du CTC

Les fibres nociceptives provenant du trijumeau innervent les vaisseaux sanguins des méninges, du sinus sagittal supérieur, de l'artère méningée moyenne ainsi que l'artère cérébrale large. L'activation de ces structures, notamment de la dure mère, que ce soit *via* une stimulation mécanique, chimique ou électrique, entraîne des céphalées similaires à la douleur provoquée par les migraines, ainsi que d'autres symptômes associés à la migraine, tels que des nausées ou la photophobie (Penfield, 1940; Ray, 1940). L'innervation nociceptive du système vasculaire intracrânien et des méninges comprend des projections axonales non-myélinisées (fibres C) et finement myélinisées (fibres A δ), principalement à travers la division ophtalmique du nerf du trijumeau (V1), mais aussi, dans une moindre mesure, par les divisions maxillaire (V2) et mandibulaire (V3) (Goadsby *et al.*, 2017). Il existe également une innervation neuronale de la dure-mère à partir des ganglions de la racine dorsale cervicale (Marfurt, 1981).

Les projections afférentes centrales du trijumeau pénètrent dans la moelle caudale du TC *via* le tractus du trijumeau, qui se termine dans le Sp5C, ainsi que dans la moelle épinière cervicale supérieure (C1-C2). Les fibres nociceptives A δ et C se terminent principalement dans les couches les plus superficielles, I et II externe, ainsi que dans la couche V du Sp5C et de l'extension cervicale, plus profonde, (Burstein *et al.*, 1998; Millan, 2002; Liu *et al.*, 2004, 2008; Holland *et al.*, 2006; Akerman *et al.*, 2007; Goadsby *et al.*, 2017).

b. Projections ascendantes depuis le CTC

Toutes les informations nociceptives des structures cranio-vasculaires sont relayées par le CTC et *via* des connexions ascendantes, vers d'autres zones du TC et du diencephale, impliquées dans le traitement de la douleur et d'autres informations sensorielles. Grâce à des études physiologiques fonctionnelles et de traçage, les connexions ascendantes ont pu être cartographiées. Ces études ont pour la majorité été réalisées chez le rat et le chat. L'activation de ces structures contribuerait à la perception de la douleur pendant la migraine, ainsi qu'aux symptômes autonomes, endocriniens, cognitifs et affectifs qui continuent pendant l'épisode migraineux (Goadsby *et al.*, 2017).

i. Le relai trigémino-ponto-mésencéphalique

Les axones des neurones de la couche I projettent majoritairement sur le noyau parabrachial (PB) (Feil & Herbert, 1995). Cette structure est un des sites majeurs d'intégration viscéro-sensorielle (Saper, 2002; Dallel *et al.*, 2004) projetant par la suite sur des structures impliquées dans la douleur comme l'amygdale (AMG) ou l'hypothalamus, chez le rat. Il existe également des connexions ascendantes depuis le Sp5C vers la médulla ventro-médiale rostrale (RVM), le noyau du raphé magnus (NRM), le locus coeruleus (LC) (Liu *et al.*, 2009; Robert *et al.*, 2013), la substance grise périaqueducule ventrolatérale (vl-PAG) et le noyau cunéiforme (Liu *et al.*, 2009). Les informations nociceptives somato-sensorielles et viscérales de la tête et des structures orofaciales, sont également transmises directement aux noyaux hypothalamiques *via* le CTC, le long du tractus trigémino-hypothalamique (Burstein *et al.*, 1987, 1990; Malick & Burstein, 1998; Malick *et al.*, 2000, 2001) et sont activées par la stimulation nociceptive durale (Benjamin *et al.*, 2004) (**figure 11**).

ii. Le relai trigémino-thalamique

Les entrées dures fonctionnelles sont relayées par le CST médullaire caudal, *via* le faisceau trigémino-thalamique vers le thalamus, comme son nom l'indique (Matsushita *et al.*, 1982; Shigenaga *et al.*, 1983; Williams *et al.*, 1994; Veinante *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2009). Les informations nociceptives sont traitées par le noyau ventro-postéro-médial du thalamus (VPM) et sa partie périphérique ventrale, le noyau médial du complexe postérieur, incluant le noyau thalamique postérieur et le thalamus intra-laminaire (Goadsby & Zagami, 1991;

Burstein *et al.*, 1998, 2010). Les intégrations somato-sensorielles des informations trigéminales se font dans le thalamus au niveau du VPM et du noyau postérieur (Guy *et al.*, 2005; Nosedá *et al.*, 2014). A partir du thalamus, les informations sont ensuite transmises aux différents cortex. Il est important de noter qu'il existe une somatotopie selon les projections, entre les noyaux thalamiques et les structures corticales (**figure 11**).

iii. Le cortex

La douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, influencée par l'expérience du sujet et par le contexte dans lequel la stimulation nociceptive se produit. Une fois que les informations sensorielles et/ou nociceptives sont arrivées au niveau du thalamus, elles vont être transmises aux différents cortex. Les informations tactiles et nociceptives arrivant au niveau du VPM vont être véhiculées vers les cortex somato-sensoriels primaire et secondaire et l'insula. Ces derniers permettront l'intégration de la composante sensori-discriminative, c'est-à-dire, qu'ils permettront de déterminer la localisation, l'intensité, la nature ou la durée de la douleur (Nosedá *et al.*, 2011). Les neurones du thalamus médian quant à eux, vont établir des connexions avec le cortex préfrontal, cingulaire antérieur et le système limbique, permettant ainsi l'intégration de la composante cognitivo-émotionnelle de la douleur (Le Bars, 2002; Lorenz *et al.*, 2003; Le Bars & Willer, 2004).

7) Les contrôles centraux de la douleur

La nociception ne peut pas être réduite seulement au système des voies ascendantes. Les informations nociceptives ascendantes seraient capables d'activer les contrôles descendants de la nociception. Ces contrôles exercent leurs actions sur différentes structures, notamment au niveau du CTC, dans le cas de la migraine.

a. Contrôles segmentaires : théorie du *gate control*

La théorie du *gate control* énoncée par Ronald Melzack et Patrick Wall en 1965, se base sur le fait que la douleur résulte d'un équilibre entre l'activité des fibres nociceptives et celle des fibres non-nociceptives (**figure 12**).

La corne dorsale de la moelle épinière et le CTC sont les sites où les fibres afférentes primaires font synapse avec les neurones de second ordre. Ce sont également des lieux où des

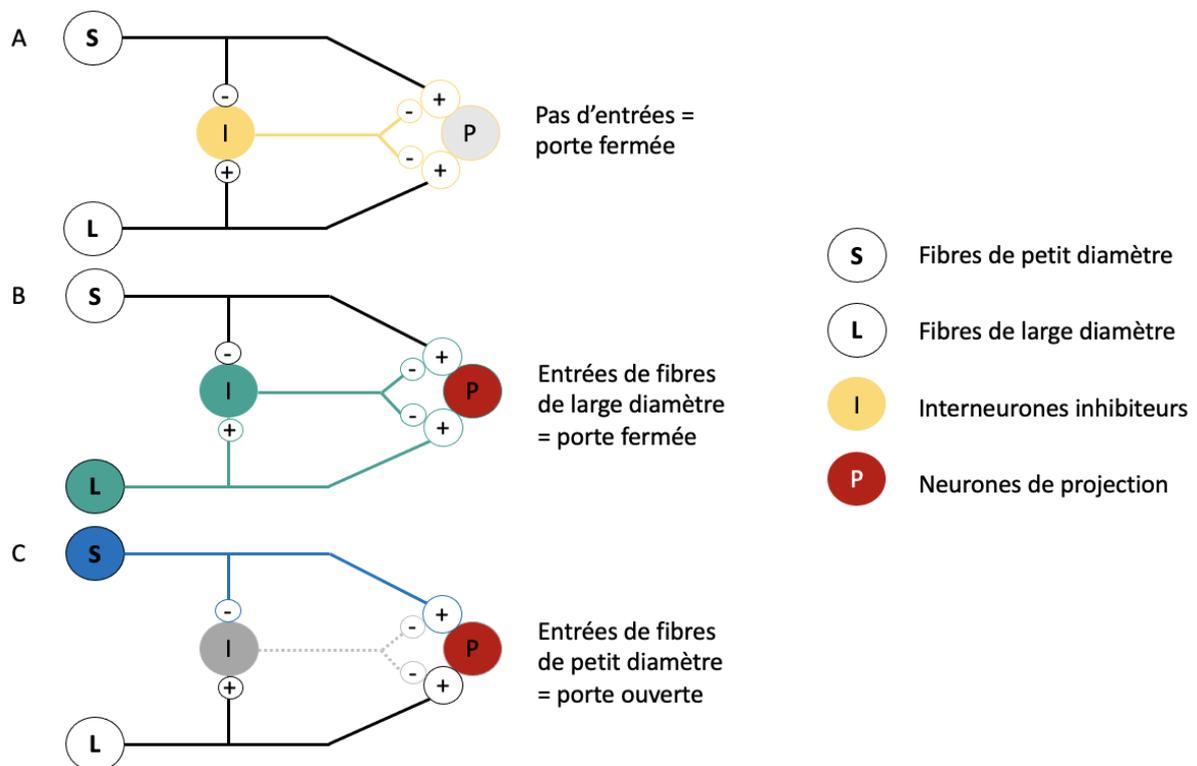


Figure 12 – La théorie du gate control.

(A) En l'absence de stimulation des afférences primaires, les neurones inhibiteurs (I) empêchent les neurones de projections (P) d'envoyer le message au cerveau, la porte est fermée. (B) Lors de l'envoi d'une information somatosensorielle de type tactile, les afférences primaires de large diamètre (AB) sont activées. Le neurone inhibiteur bloque les informations véhiculées par les fibres de petit diamètre, la porte est fermée. (C) Lors d'un stimulus nociceptif, les fibres afférentes nociceptives sont activées (fibres de petit diamètre : A δ et C) et bloquent les neurones inhibiteurs, activant ainsi les neurones de projection qui enverront les informations nociceptives au cerveau, la porte est ouverte (d'après Craig Freudenrich, 2007).

interactions complexes se produisent entre les interneurones excitateurs et inhibiteurs et où les voies inhibitrices descendantes exercent leur effet. Comme expliqué ci-avant, il existe différentes couches au niveau du CTC et de la corne dorsale. Dans la théorie du *gate control*, les neurones nociceptifs reçoivent des afférences non nociceptives des fibres A β et nociceptives des fibres A δ et C. Les fibres A β , de gros diamètres, sont capables d'inhiber les neurones nociceptifs de façon indirecte, en activant les interneurones inhibiteurs de la couche II. Les fibres A δ et C, de petits diamètres, vont exciter les neurones nociceptifs et inhiber simultanément les interneurones inhibiteurs. Ainsi, les afférences non nociceptives vont fermer la porte, tandis que les afférences nociceptives vont l'ouvrir et ainsi transmettre l'information au cerveau (**figure 12**) (Steeds, 2016).

L'analgésie résultante de cette théorie s'exerce sélectivement topographiquement. En effet, la douleur n'est soulagée que dans la région du corps correspondant aux métamères mis en jeu par la stimulation des fibres A β (les innervations nociceptive et non-nociceptive doivent converger au même niveau). Pour illustrer cela, frotter une zone douloureuse (en activant les fibres A β) soulagerait la douleur (engendrée par l'activation des fibres nociceptives A δ et C).

Cette théorie a inspiré la thérapie non-médicamenteuse non invasive qu'est la TENS (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation), la neurostimulation électrique transcutanée (Appenzeller & Atkinson, 1975).

b. Contrôles supra-segmentaires

La nociception trigéminala dépend de nombreux contrôles, inhibiteurs ou facilitateurs, provenant des relais supra-spinaux. Des dérèglements de ces contrôles pourraient jouer un rôle important dans l'apparition et le maintien de douleurs chroniques (Williams & Rhudy, 2009).

i. Contrôles provenant du tronc cérébral

a) PAG

La substance grise périaqueducale ou PAG est la première région cérébrale à avoir été explicitement démontrée comme activant un système endogène inhibiteur de la douleur. Elle

intègre les informations provenant des aires corticales et sous corticales pour moduler différents comportements, en particulier les réponses de défenses à la douleur (Bandler & Keay, 1996). Elle contient des neurones exprimant des enképhalines, des peptides et du GABA (Beitz, 1982*a*, 1982*b*). La PAG est divisée en 4 colonnes longitudinales : dorso-latérale, dorso-médiane, latérale et ventro-latérale.

Les premières études ont montré que des micro-injections d'opioïdes ou des stimulations électriques appliquées dans cette structure entraînaient un effet antinociceptif puissant chez l'animal (Tsou & Jang, 1964; Reynolds, 1969) et chez l'Homme (Richardson & Akil, 1977*b*, 1977*a*; Hosobuchi *et al.*, 1977). Il a d'ailleurs été montré que l'administration de naloxone renversait les effets antinociceptifs induits par les injections d'opioïdes (Lewis & Gebhart, 1977; Hosobuchi *et al.*, 1977; Yeung *et al.*, 1977).

La PAG reçoit les informations des sites corticaux, tels que le cortex cingulaire antérieur (ACC), et possède des connexions réciproques avec l'AMG (Helmstetter *et al.*, 1998; Gauriau & Bernard, 2002). Elle reçoit également des informations nociceptives en provenance des cornes dorsales de la moelle épinière transitant *via* les noyaux para-brachiaux (Gauriau & Bernard, 2002). C'est la partie ventrolatérale qui reçoit les afférences provenant du CTC (Menétrey *et al.*, 1982). Des études d'imagerie chez l'Homme sain ont révélé que l'ACC rostral médiait l'analgésie induite par le placebo *via* l'activation de la PAG (Petrovic *et al.*, 2002; Eippert *et al.*, 2009). La PAG influence la modulation de la douleur principalement à travers ses échanges avec la RVM (Fields, 1984). Par exemple, l'excitation des neurones de la PAG entraîne également l'activité des neurones de la RVM et est associée à une inhibition des réflexes nociceptifs chez le rat (Behbehani & Fields, 1979). La PAG est située à un endroit stratégique pour moduler les entrées nociceptives et la perception de la douleur, notamment, grâce à ses interactions avec les sites de projections ascendants et descendants (Ossipov *et al.*, 2014).

Nous reviendrons ultérieurement sur le rôle des opioïdes endogènes dans la modulation de la douleur dans la PAG dans le chapitre concernant les opioïdes endogènes (Bagley & Ingram, 2020).

b) RVM

La PAG est à l'origine de denses projections allant vers la médulla rostro-ventromédiale, ou RVM, qui est une structure cérébrale intégrant également les informations provenant des aires corticales et sous-corticales. La RVM est la porte de sortie majeure du circuit modulateur de la douleur descendant vers la moelle épinière (Willis, 1985). Elle est constituée des noyaux médians du raphé magnus (NRM) et de la formation réticulée adjacente. Les neurones de la RVM reçoivent les afférences de l'aire para-brachiale (Chen *et al.*, 2017). Il existe 3 classes de cellules différentes identifiées selon leurs réponses aux stimuli nociceptifs (Fields *et al.*, 1995) :

- Les cellules « OFF » sont inhibitrices de la douleur, elles sont donc activées lors de d'une stimulation nociceptive pour soulager la douleur. Elles projettent sur les couches I, II et V du Sp5C,
- Les cellules « ON » sont facilitatrices, elles sont pro-nociceptives et projettent sur les mêmes couches du Sp5C que les précédentes. Elles seraient majoritairement GABAergiques et inhiberaient les interneurones enképhalinerigiques (François *et al.*, 2017),
- Les cellules « neutres » ne répondent dans aucun cas, leur rôle n'est pas encore identifié. Elles libèreraient de la sérotonine au niveau de la moelle et du CTC (Kwiat & Basbaum, 1992).

Il a été montré que les opioïdes présents au niveau de la RVM seraient responsables de l'antinociception (Azami *et al.*, 1982; Heinricher *et al.*, 2001) en réduisant la pause des cellules « OFF » (Morgan *et al.*, 1992; Heinricher *et al.*, 1994). Le déclenchement des cellules « ON » est corrélé à l'hyperalgésie et il a été montré que l'administration systémique de morphine réduisait le déclenchement des cellules « ON » (Morgan *et al.*, 1992). Des fibres denses contenant des enképhalines communiquent avec les cellules « ON » de la RVM (Mason *et al.*, 1992), leur permettant la modulation des réponses nociceptives. Notons que, les cellules « OFF » seraient plus impliquées que les cellules « ON » dans les contrôles descendants de la nociceptions du Sp5C (Chebbi *et al.*, 2014).

Nous reviendrons ultérieurement sur le rôle des opioïdes endogènes dans la modulation de la douleur dans la RVM dans le chapitre concernant les opioïdes endogènes (Bagley & Ingram, 2020).

c) LC

Le locus cœruleus (LC) est situé dans le pont et est le principal site de synthèse de la noradrénaline (NA) dans le cerveau (Amaral & Sinnamon, 1977). Il reçoit les projections du noyau hypothalamique paraventriculaire (Robert *et al.*, 2013). Des études d'imagerie ont montré que les régions pontiques dorsales étaient activées avant mais aussi pendant la crise de migraine, ce qui inclurait le LC (Maniyar *et al.*, 2014). Sa stimulation provoque une réduction du flux sanguin intracrânien, indiquant une vasoconstriction (Goadsby *et al.*, 1982, 1983), entraînant une augmentation de la résistance de la carotide interne. Notons que le niveau maximal de débit sanguin cérébral au niveau du cortex occipital diminue après la stimulation du LC (Goadsby & Duckworth, 1989), et c'est également au niveau de ce cortex que débuteraient les changements de débit sanguin lors de l'aura migraineuse (Olesen *et al.*, 1981; Cutrer *et al.*, 1998). Cette vasoconstriction intracrânienne s'accompagne d'une augmentation de la fréquence du débit sanguin extra-crânien, indiquant une vasodilatation, entraînée par la diminution de la résistance vasculaire de la carotide externe (Goadsby *et al.*, 1982). Ces réponses indiquent que les noyaux du LC peuvent engendrer des changements vasculaires au niveau intra- et extra-cérébraux, qui apparaissent pendant la crise migraineuse (Lance *et al.*, 1983), ou plus particulièrement, peuvent entraîner des modifications de flux sanguin au niveau du cortex, similaires à ceux retrouvés durant la phase d'aura, qui pourraient donc être déclenchés suite à l'activation du TC (Goadsby *et al.*, 2017).

d) Les Contrôles Inhibiteurs Diffus de la Nociception

Afin de définir ce phénomène de Contrôles Inhibiteurs Diffus de la Nociception (CIDN), on pourrait se référer à l'aphorisme d'Hippocrate selon lequel : « Deux souffrances survenant en même temps, mais sur des points différents, la plus forte fait taire la plus faible » (Willer *et al.*, 1999). En d'autres termes, les CIDN peuvent être déclenchés par un stimulus nociceptif appliqué sur un autre territoire corporel, distinct du territoire douloureux, c'est pourquoi ils sont dits « diffus ». Ils mettent en jeu les neurones de convergence trigéminaux (Dallel *et al.*,

1999). Des voies ascendantes et descendantes sont impliquées dans les mécanismes des CIDN. Dans le sens ascendant, deux voies pourraient moduler les CIDN : une voie spino-parabrachiale issue des neurones de la *lamina I* exprimant la NK1 (Neurokinine de type 1) (Lapirot *et al.*, 2009) et une voie spinoréticulaire issue des neurones des couches profondes de la moelle (Le Bars, 2002). Le système descendant met en jeu une voie dopaminergique et une voie sérotoninergique, issues respectivement du noyau hypothalamique A11 (Lapirot *et al.*, 2011; Abdallah *et al.*, 2013, 2015) et du noyau du raphé magnus (NRM) (Chebbi *et al.*, 2014), ainsi qu'une voie réticulo-spinale issue du noyau sous réticulaire dorsal (Le Bars, 2002).

Contrairement à la théorie du *gate control*, les CIDN produisent une inhibition descendante qui n'est pas limitée à la région stimulée (Dickenson *et al.*, 1981; Talbot *et al.*, 1987, 1989). Un stimulus nociceptif intense active les neurones nociceptifs non spécifiques (WDR) correspondant au segment médullaire activé, tout en inhibant simultanément des neurones de même type situés ailleurs dans la ME ou dans le CTC. En réduisant l'activité des neurones WDR, les CIDN atténueraient le bruit de fond et l'activité des neurones spécifiques, sollicités par la stimulation nociceptive.

Une étude menée au laboratoire sur le modèle de migraine induit par la soupe inflammatoire à la surface des méninges (Boyer *et al.*, 2014) a montré que les neurones nociceptifs trigémino-vasculaires étaient sensibilisés de façon persistante et que les CIDN étaient altérés également. Cet affaiblissement des CIDN pourrait conduire à la chronicisation de la migraine. Ce phénomène d'altération des CIDN a été observé en clinique, chez des patients migraineux. Des dommages au niveau des systèmes endogènes supra-spinaux de la modulation de la douleur pourrait contribuer au développement ou au maintien d'une sensibilisation centrale des céphalées primaires, donc contribuer à leur chronicisation.

ii. Contrôles provenant de l'hypothalamus

L'hypothalamus est une structure importante pour l'homéostasie de certaines fonctions comme les cycles éveil/sommeil, la digestion et l'alimentation, la reproduction ou encore dans la gestion du stress. Du fait de ces rôles, il a été étudié dans le cadre de la migraine car son implication pourrait expliquer certains prodromes (Goadsby *et al.*, 2017). L'hypothalamus est impliqué dans la douleur notamment grâce à ses connexions réciproques

avec le CST mais aussi avec le noyau du tractus solitaire (NTS), la RVM, la PAG et le NRM. Il est composé de plusieurs sous-noyaux mais ceux impliqués dans la modulation de la douleur sont le noyau hypothalamique postérieur, le noyau hypothalamique paraventriculaire (PVN) et le noyau hypothalamique A11.

La région hypothalamique postérieure sécrète des neuropeptides, tels que l'Orexine A et B, impliqués dans la régulation du sommeil, de l'alimentation ou encore du système autonome (Uddman *et al.*, 1985; Sakurai, 2007; Holland & Goadsby, 2007). L'Orexine A a la capacité d'inhiber les réponses faciales cutanées évoquées, électriques et thermiques, dans le CTC, tandis que l'Orexine B facilite ces mêmes réponses (Bartsch *et al.*, 2004b). Compte tenu du rôle que jouent l'hypothalamus et le système orexinergique dans la modulation de la douleur, l'alimentation, l'éveil et la régulation du sommeil, ces données pourraient expliquer le lien entre l'origine du déclenchement de la migraine et les symptômes prémonitoires.

Concernant les neurones du PVN, ils projettent vers les couches I et II externe du Sp5C (Robert *et al.*, 2013). Dans la même étude, les auteurs ont montré, entre autres, que des administrations locales dans le PVN, de muscimol, un agoniste des récepteurs GABA_A, inhibaient l'activité neuronale basale et trigémino-vasculaire évoquée. Cette étude démontre l'effet puissant qu'a le PVN dans la modulation des réponses nociceptives trigémino-vasculaires (Goadsby *et al.*, 2017).

Le noyau hypothalamique A11 est localisé le long de l'axe rostro-caudal du noyau gris périventriculaire de l'hypothalamus caudal (Dahlstroem & Fuxe, 1964). Il projette directement vers la corne dorsale de la ME et sur le Sp5C grâce à ses projections dopaminergiques inhibitrices (Abdallah *et al.*, 2013). Chez le rongeur, une désinhibition GABAergique ou une lésion excitotoxique des neurones dopaminergiques de ce noyau provoque une analgésie trigéminal (Abdallah *et al.*, 2015), tandis qu'une activation de ce noyau inhibe la transmission nociceptive en provenance des méninges (Charbit *et al.*, 2009).

Les données concernant la modulation hypothalamique des voies trigémino-vasculaires montrent que plusieurs régions sont impliquées dans la modulation des entrées nociceptives trigéminales. Un dysfonctionnement de l'une de ces régions pourrait entraîner une altération du traitement des entrées nociceptives traitées et pourrait générer une douleur

migraineuse ou alors entrainer l'activation de neurones trigémino-vasculaires quiescents, ce qui serait perçue comme une activation nociceptive (Goadsby *et al.*, 2017).

iii. Contrôles corticaux

Le cortex somato-sensoriel primaire (S1) exerce un contrôle inhibiteur sur l'activité trigéminale. Cela a été mis en évidence chez le chat (Dubner, 1967), où 50% des cellules du noyau trigéminal principal étaient inhibées en réponse à une stimulation du S1. Une autre étude chez le rongeur a montré qu'il existait des projections directes issues du cortex somato-sensoriel et de l'insula se projetant, respectivement, au niveau des couches III-V et I-II du CTC (Nosedá *et al.*, 2010). Les projections provenant du cortex somato-sensoriel seraient inhibitrices, tandis que celles provenant de l'insula seraient excitatrices (Nosedá *et al.*, 2010; Haque *et al.*, 2012).

Ces structures ont donc pour rôle l'intégration de la douleur, mais participent également à sa modulation.

III. Physiopathologie de la migraine

Malgré les avancées réalisées depuis les dernières décennies, la physiopathologie de la migraine reste encore méconnue. Cependant, certaines théories permettraient d'expliquer les déclenchements et les mécanismes des crises de migraine.

1) Déclenchement de la crise de migraine

Les théories concernant le déclenchement des migraines ont subi de nombreuses évolutions au cours du temps. C'est à la fin des années 1970 que Moskowitz propose le STV comme site de la migraine. Ce système représente la relation anatomique et physiologique entre les méninges, le nerf trigéminal, le CST et les premiers segments cervicaux de la moelle épinière. Cependant, malgré les avancées de ces dernières décennies, la physiopathologie exacte de la migraine demeure encore inconnue, particulièrement en ce qui concerne les mécanismes de déclenchement de la crise de migraine ou encore ceux qui seraient à l'origine de la progression de la migraine vers le stade chronique. L'explication des déclenchements

des crises de migraines a longtemps reposé sur deux théories basées sur des données cliniques ou expérimentales.

a. Théorie vasculaire

La théorie vasculaire de la migraine a été énoncée par Wolff et ses collaborateurs dans les années 1940 (Ray & Wolff, 1940). La stimulation mécanique et la vasodilatation des vaisseaux sanguins crâniens entraînaient des céphalées chez des patients ayant subi une chirurgie du crâne. Cette théorie repose sur l'idée que la vasodilatation des artères extra-crâniennes ainsi que des vaisseaux sanguins intracrâniens produit une activation des fibres nociceptives périvasculaires qui innervent les vaisseaux et entraîne des maux de tête (Ray & Wolff, 1940; Schon, 1988). Cette théorie a été renforcée par le fait que la migraine est pulsatile, ainsi que par des études plus récentes montrant que le monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur, est capable de déclencher des céphalées et que l'administration de triptans, qui sont des molécules vasoconstrictrices, a un effet thérapeutique sur ces maux. Cependant, des données précliniques et cliniques montrent que ce concept reposait sur des interprétations erronées. Contrairement à cette hypothèse, les pulsations ressenties lors d'une crise de migraine ne sont pas synchronisées avec les contractions cardiaques car les pulsations ont une fréquence plus faible (Ahn, 2010; Mirza *et al.*, 2012). Par ailleurs, l'administration de nitroglycérine (NTG, un donneur de NO), une substance connue pour être vasodilatatrice, n'entraînerait qu'une vasodilatation temporaire, bien qu'une crise de migraine soit apparue chez 74% des participants (Schoonman *et al.*, 2008). Certaines études ont montré que la vasodilatation n'était ni nécessaire, ni suffisante pour déclencher une crise de migraine. En effet, une étude montre que le sildénafil (un inhibiteur de la phosphodiesterase 5) est capable de provoquer une crise de migraine sans pour autant déclencher de vasodilatation (Kruuse *et al.*, 2003). A l'inverse, la vasodilatation artérielle produite par le VIP (Peptide Intestinal Vasoactif) ne déclenche pas de céphalées migraineuses chez les patients (Rahmann *et al.*, 2008). Il a aussi été montré qu'un vasoconstricteur pouvait entraîner une crise de migraine (Rowbotham & Lowenstein, 1990). L'ensemble de ces études conteste la théorie vasculaire comme étant à l'origine de la migraine, mais serait plutôt un phénomène sous-jacent aux crises de migraine. Cette théorie a été opposée à la théorie neuronale.

b. Théorie neuronale

L'activation de certaines régions cérébrales lors des crises de migraine et/ou entre les crises de migraine a été identifiée grâce à des études d'imagerie et d'électrophysiologie réalisées sur des patients migraineux ou sur des modèles animaux.

i. Dysfonctionnement du TC

Le déclenchement des crises pourrait reposer sur un dysfonctionnement des noyaux du TC impliqués dans les contrôles descendants de la douleur (Matharu *et al.*, 2004; Afridi *et al.*, 2005; Moulton *et al.*, 2008; Tajti *et al.*, 2012; Morelli *et al.*, 2013). Les crises migraineuses s'accompagnent d'une augmentation du débit sanguin dans certaines régions du TC, telles que la PAG, la RVM ou encore le LC.

a) Implication de la PAG

Chez l'Homme, la stimulation de la PAG dans le cadre du traitement de céphalées chroniques déclenche des céphalées similaires à la migraine (Raskin *et al.*, 1987; Veloso *et al.*, 1998). D'autres données cliniques ont montré que les connexions entre la PAG et d'autres structures impliquées dans la modulation de la douleur, telles que le cortex préfrontal et cingulaire antérieur ou encore l'AMG, sont diminuées pendant mais aussi entre les crises (Mainero *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2017a). Au contraire, les connexions de la PAG avec d'autres structures du TC seraient renforcées (Schwedt *et al.*, 2014).

Chez l'animal, des études confortent le fait que la PAG ait une implication directe dans la migraine. Une stimulation électrique (Knight & Goadsby, 2001) ou une injection de triptan (Bartsch *et al.*, 2004a) dans la vl-PAG entraînerait l'inhibition de la nociception méningée. De plus, la stimulation du sinus sagittal supérieur entraînerait une surexpression de c-Fos dans la PAG (Hoskin *et al.*, 2001). Ces données prouvent que la PAG joue un rôle central dans la douleur migraineuse et dans son déclenchement.

b) Implication de la RVM

Chez l'Homme, l'activation anormale de la RVM chez des patients migraineux sans aura a été mise en évidence récemment (Kim *et al.*, 2021).

Chez l'animal, l'activation de la voie facilitatrice descendante de la RVM serait impliquée dans les mécanismes de sensibilisation des neurones du CST. Comme expliqué ci-avant, la RVM contient des cellules « ON » et « OFF ». Selon des données électrophysiologiques, l'application de médiateurs inflammatoires à la surface des méninges entraînerait l'activation des cellules « ON » et une inhibition transitoire des cellules « OFF » (Edelmayer *et al.*, 2009). Notons que la RVM est impliquée dans le relargage de sérotonine (5-HT). Les triptans, des agonistes des récepteurs 5-HT_{1B/1D} et les ditans, des récepteurs 5-HT_{1F}, vont avoir un effet antalgique tandis que l'administration orale de m-chlorophénylpiperazine, un agoniste des récepteurs 5-HT_{2B/C}, suffit à déclencher des migraines (Brewerton *et al.*, 1988). Selon la nature du récepteur concerné, la sérotonine synthétisée par la RVM pourrait soit contrer la crise migraineuse, soit la déclencher.

c) Implication du LC

Le rôle du LC dans la physiopathologie de la migraine est peu détaillé dans la littérature, mais au laboratoire, cette structure est étudiée (Signoret-Genest J., thèse 2020) et les résultats rapportent que le propranolol injecté dans le LC altère les propriétés intrinsèques du noyau en réduisant sa capacité à faciliter le Sp5C. Les auteurs suggèrent que le LC pourrait faciliter les mécanismes de déclenchement des céphalées migraineuses.

Chez l'Homme, il a été montré que lors de l'administration de NTG, la région du tegmentum pontique contenant le LC est suractivée, aussi bien avant la crise (Maniyar *et al.*, 2014) que pendant la crise (Afridi *et al.*, 2005). Grâce à l'étude du phénotype des neurones noradrénergiques du LC, des neuropeptides impliqués dans la physiopathologie de la migraine, le CGRP et le PACAP, ont été retrouvés, aussi bien dans les corps cellulaires que dans les vésicules des neurones contenant la noradrénaline (NA) (Tajti *et al.*, 2001). De plus, une étude menée par Marta Vila-Pueyo en 2019, révèle que le rôle du LC dans la migraine serait complexe. Une lésion du LC chez le rat diminuerait l'activité évoquée des neurones du CTC, induite par une stimulation méningée et augmenterait la susceptibilité du cortex à déclencher des événements de dépression corticale envahissante (CSD) (Vila-Pueyo *et al.*, 2019). L'innervation noradrénergique du LC limiterait l'hyperexcitabilité corticale, ce qui serait une source de déclenchement de la CSD.

Le LC joue un rôle important dans l'éveil et la vigilance. Une hypothèse a été émise concernant le fait que le LC serait impliqué dans la migraine puisque la fatigue est à la fois un facteur déclencheur de crise et un prodrome, et que le sommeil la soulagerait (Kelman, 2007). L'activité du LC est au repos pendant le sommeil (Hayat *et al.*, 2020). Cette théorie suggère que la fatigue serait due à une baisse d'activité du LC, afin de contrebalancer sa suractivation pendant la migraine.

ii. Dysfonctionnement de l'hypothalamus

Selon une étude, 80% des patients migraineux développent des symptômes prémonitoires tels que la faim, la soif, la fatigue, les bâillements, l'oppression ou l'envie d'uriner, suggérant une origine hypothalamique puisque cette structure est impliquée dans ces comportements (Quintela *et al.*, 2006). Chez des patients migraineux chroniques, des études d'imagerie ont montré une activation de l'hypothalamus aussi bien pendant les crises (Denuelle *et al.*, 2007), qu'entre les crises (Lerebours *et al.*, 2019). Notons que malgré l'administration de traitement comme le sumatriptan, l'activation de l'hypothalamus persiste, ce qui pourrait expliquer la réapparition de la céphalée lorsque le traitement a cessé d'agir (Denuelle *et al.*, 2007). Chez l'animal, la stimulation de la dure-mère, chez le rat, entraîne une expression de la protéine c-Fos (un marqueur de la plasticité neuronale activé lors d'une douleur répétée ou intense), dans les noyaux ventro-médian, dorso-médian et paraventriculaires de l'hypothalamus. Chez le chat, la stimulation du sinus longitudinal supérieur entraîne l'expression de c-Fos dans les noyaux supra-optique et postérieur de l'hypothalamus (Alstadhaug, 2009). Notons que ces noyaux sont connectés à la PAG, la RVM et aux structures cortico-limbiques impliquées dans les composantes cognitives et affectives de la douleur (Millan, 1999). D'autres parts, la dopamine (DA) pourrait agir sur les fibres afférentes primaires et ainsi moduler l'activité du STV, contenant des récepteurs de la DA de type D1 et D2 (Charbit *et al.*, 2011). Le noyau A11 de l'hypothalamus contient des neurones DA projetant sur les neurones du CST (Abdallah *et al.*, 2013, 2015), inhibant ainsi la transmission nociceptive du CTC (Charbit *et al.*, 2009).

iii. Hyperexcitabilité corticale

Chez les patients migraineux, des stimulations sensorielles intenses, à la lumière ou aux sons, ou le stress peuvent déclencher des crises. De façon générale, le cortex somatosensoriel de ces patients répond de manière excessive aux stimuli répétés et cette sensibilité peut persister (Coppola *et al.*, 2007). Notons que lors d'une stimulation magnétique transcrânienne du cortex visuel, primaire et secondaire, le seuil d'induction des phosphènes (apparitions de tâches lumineuses dans le champs visuel) est significativement plus bas chez les migraineux comparé aux témoins (Aurora *et al.*, 2003). Récemment, des données indirectes ont suggéré que la région préfrontale était impliquée dans le développement de la crise de migraine. En effet, la courbe de prévalence de la migraine augmente à la puberté (**figure 1**) puis diminue lors de la vieillesse, ce qui correspondrait à des périodes de maturation et de déclin du cortex préfrontal (Barbanti *et al.*, 2019).

Les mécanismes à l'origine de l'altération de l'excitabilité corticale sont peu connus et multifactoriels.

En conclusion, il faut garder à l'esprit qu'aucune de ces deux théories n'est suffisante. La migraine est considérée comme étant le résultat de la synthèse de ces deux théories. A l'heure actuelle, nous parlons de maladie neurovasculaire. Il est nécessaire de distinguer les régions nerveuses et/ou vasculaires qui pourraient être impliquées dans le déclenchement de la crise de migraine et celles responsables de douleurs liées à la migraine ou à la céphalée.

2) La Dépression Corticale Envahissante (CSD)

Les études d'imagerie (Woods *et al.*, 1994; Hadjikhani *et al.*, 2001), chez l'Homme, et la recherche basée sur des modèles animaux (Leão, 1944, 1947; Brennan *et al.*, 2007; Eikermann-Haerter *et al.*, 2015) ont révélé des changements d'activités corticales durant la phase d'aura migraineuse, regroupés sous le terme de dépression corticale envahissante (CSD – Cortical Spreading Depression) (Hoffmann *et al.*, 2019). Cette partie vise à décrire ce phénomène.

a. Généralités

La CSD a été décrite par Leão en 1944 chez le lapin (Leão, 1944). Au même moment, au début des années 1940, Lashley décrit une onde de scotome se propageant lentement avec une bordure scintillante et a calculé la vitesse de progression de cette onde dans le cortex visuel qui était d'environ 3 mm/min (Lashley, 1941). C'est en 1958 que le lien entre ces deux études a été fait grâce à Milner (Milner, 1958).

La CSD est une onde de propagation lente (2-5 mm/min) de dépolarisation presque complète des neurones et de la glie, provoquant une dépression des signaux électro-corticaux (Ayata & Lauritzen, 2015). Chez les migraineux, on pense que la CSD débute principalement dans le lobe occipital où se trouve le cortex visuel, entraînant des scintillations visuelles ou un scotome, et progresse rostralement (Leão & Morison, 1945). Dans la littérature, les termes « dépression envahissante » ou « dépolarisation envahissante » sont retrouvés, ce qui peut porter à confusion. La « dépression envahissante » serait un terme utilisé auparavant et progressivement remplacé par « dépolarisation envahissante », plus couramment employé désormais. En effet, la « dépolarisation envahissante » désigne l'onde de dépolarisation elle-même, mais la « dépression envahissante » fait référence à la « dépression » des activités électro-corticales dans le cerveau ischémique où l'activité électro-corticale basale a déjà été réduite. Pendant la CSD, le K^+ et le glutamate extracellulaire, et le Na^+ et le Ca^{2+} intracellulaires, augmentent. L'eau pénètre également dans l'espace intracellulaire, entraînant un gonflement des cellules. L'augmentation du K^+ extracellulaire pourrait être le principal événement qui diffuse et dépolarise les cellules adjacentes, plutôt que la diffusion du glutamate, (Enger *et al.*, 2015).

Des études d'imagerie réalisées chez l'Homme par Hadjikhani et ses collaborateurs en 2001 (Hadjikhani *et al.*, 2001) ont permis de capturer une onde de type CSD chez des migraineux. Les patients souffrant de migraine avec aura ont été soumis à des IRMf (imagerie par résonance magnétique fonctionnelle) pendant la phase d'aura. Le changement du signal dépendant du niveau d'oxygénation du sang (BOLD), dans le cortex occipital controlatéral à l'aura visuelle, ressemblait à la CSD observée dans le modèle animal. Cette étude a permis de renforcer l'hypothèse selon laquelle la CSD serait un phénomène sous-jacent de l'aura migraineuse. De plus, la CSD pourrait contribuer au développement de céphalées en activant

les structures du STV impliquées dans la migraine (Bolay *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2010, 2011; Karatas *et al.*, 2013; Zhao & Levy, 2016). Cependant, les patients souffrant de migraine sans aura pourraient avoir des CSD asymptomatiques. Une étude publiée en 2013 suggère que la perception visuelle de l'aura pourrait disparaître pendant quelques minutes avant de réapparaître dans un endroit éloigné, suggérant que l'aura pourrait être cliniquement silencieuse, c'est-à-dire que les patients ne présenteront pas de signe clinique de l'aura (Hansen *et al.*, 2013). En d'autres termes, certains patients migraineux, sans aura perçue, pourraient avoir des activités de CSD se propageant à travers le cortex (Takizawa *et al.*, 2020a).

b. Modèles expérimentaux d'induction de la CSD

Dans les modèles expérimentaux, la CSD peut être provoquée par une stimulation mécanique (e.g. trauma), chimique (e.g. KCl, agonistes des récepteurs au glutamate, activateurs de canaux Na⁺ ou Ca²⁺) ou électrique, directement sur un tissu cérébral normalement perfusé et oxygéné (Chen *et al.*, 2017c).

L'induction mécanique ou avec une piqûre à l'aide d'une aiguille (pin prick) du cortex cérébral peuvent être utilisées pour évoquer la CSD ; cependant, il est difficile de déterminer le seuil de CSD induit mécaniquement, et la reproductibilité varie selon les opérateurs et les paramètres (Harriott *et al.*, 2019). En revanche, l'exposition continue, au-dessus du seuil des stimuli dépolarisants (par exemple lorsque le KCl est concentré), ou l'application de stimulations électriques d'intensités croissantes sont couramment utilisées pour induire la CSD expérimentalement, et sont plus fiables que les précédentes. La technique de stimulation lumineuse d'optogénétique, mise au point récemment, est utilisée pour induire des CSD, permettant de garder des propriétés électrophysiologiques identiques à celles induites par les méthodes traditionnelles. Grâce à des souris transgéniques exprimant le canal à la rhodopsine-2 dans les neurones, la CSD peut être provoquée par l'exposition à la lumière bleue. L'avantage de cette méthode est le fait qu'elle ne soit pas irréversible, sélective d'une population de neurones et qu'elle peut être réalisée sur animal vigile (Chung *et al.*, 2018; Harriott *et al.*, 2021).

Il existe différentes façons d'enregistrer les CSD. Il s'agit notamment de capturer les changements de potentiel de champs locaux liés à la CSD *via* des enregistrements

électrophysiologiques, d'observer les changements de flux sanguin associés par laser Doppler, d'enregistrer les changements de diffusion/perfusion grâce aux IRM ou de mesurer les changements de réflectance corticale dus à la réponse hémodynamique en utilisant le signal d'imagerie optique intrinsèque (Chen *et al.*, 2017c; Chung *et al.*, 2018). Plusieurs paramètres peuvent être utilisés pour mesurer la sensibilité des tissus cérébraux aux CSD, tels que l'intensité du seuil de déclenchement du stimulus, la fréquence, la vitesse, la durée et l'amplitude des CSD (Ayata *et al.*, 2006; Peeters *et al.*, 2007; Hoffmann *et al.*, 2010; Tozzi *et al.*, 2012). Les seuils de déclenchement de la CSD peuvent être déterminés par l'application de concentrations incrémentielles de solutions chimiques ou d'intensités croissantes de stimuli électriques. La fréquence des CSD peut être mesurée en appliquant du KCl supra-seuil (c'est-à-dire plus concentré que son seuil de déclenchement de CSD) de façon continue et en comptant le nombre de CSD induites pour une durée déterminée. La vitesse de propagation peut être définie en utilisant deux électrodes (une proximale et l'autre distale par rapport au site d'induction des CSD) et en mesurant le temps nécessaire à la CSD pour parcourir la distance entre les deux électrodes. Pourtant, il existe une hétérogénéité importante parmi les données publiées, et la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives des différents modèles expérimentaux restent à examiner systématiquement (Ayata, 2013; Chen & Ayata, 2017).

c. Conséquences de la CSD

Les données actuelles ne permettent pas encore de déterminer si la CSD est la cause ou la conséquence d'autres cascades physiologiques et son initiation ainsi que la fin de son induction sont inconnus. Cependant, certaines études ont permis d'identifier les conséquences engendrées à la suite du déclenchement d'une CSD (Takizawa *et al.*, 2020a).

i. Activation trigéminale

Après le déclenchement de la CSD, le système trigémino-vasculaire est activé. Ceci a été démontré notamment par la vasodilatation méningée, l'extravasation de protéines plasmatiques, l'activation de cellules immunitaires méningées et l'activation de neurones trigéminaux aux niveaux périphérique et central (Bolay *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2010, 2011; Karatas *et al.*, 2013; Schain *et al.*, 2018). Chez les rongeurs, le débit sanguin artériel méningé

augmente 5 à 45 minutes après le déclenchement de la CSD (Bolay *et al.*, 2002), et cette dilatation de l'artère méningée moyenne est considérée comme étant un indicateur plutôt qu'une cause directe de l'activation trigémino-vasculaire. L'activation des nocicepteurs méningés du trijumeau peut être due à la libération de neuropeptides pro-inflammatoires ou de cytokines, telles que le CGRP, la substance P ou la neurokinine A, par les nocicepteurs du trijumeau (Bolay *et al.*, 2002; Melo-Carrillo *et al.*, 2017), des mastocytes durs dégranulés (Levy, 2012; Karatas *et al.*, 2013), des protéines plasmatiques extravasées (Bolay *et al.*, 2002) ou encore des macrophages piaux et durs et des cellules dendritiques (Schain *et al.*, 2018). De plus, la CSD entraîne l'expression de c-Fos au niveau du Sp5C ipsilatéral (Moskowitz *et al.*, 1993; Bolay *et al.*, 2002), ce qui fournit une preuve de l'activation trigémino-vasculaire. Ceci a été renforcé par des études montrant une activation neuronale retardée évoquée par la CSD dans les TG et le CTC, lors d'enregistrements unicellulaires (Zhang *et al.*, 2010, 2011). Notons que l'activation des nocicepteurs pourrait être de deux types : soit une activation biphasique, c'est-à-dire une brève activation autour du site d'induction de la CSD, suivie d'une activation retardée et persistante, principalement dans la population de fibres A δ , soit une activation persistante avec une apparition retardée, dans la population de fibres C (Zhao & Levy, 2016). La mécano-sensibilisation afférente méningée retardée pourrait expliquer les processus nociceptifs qui entraînent l'aggravation de la migraine dans certains cas, telle que l'augmentation transitoire de la pression intracrânienne (Zhao & Levy, 2016).

ii. Inflammation corticale

De nombreuses études *in vivo* rapportent que les marqueurs inflammatoires augmentent dans le cortex cérébral après la CSD (Caggiano & Kraig, 1996; Choudhuri *et al.*, 2002; Urbach *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2008; Karatas *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2017b; Takizawa *et al.*, 2020b), bien que d'autres rapportent le contraire (Choudhuri *et al.*, 2002). Dans une étude récente, les auteurs ont mesuré des marqueurs inflammatoires, tels que l'interleukine-1 β (IL-1 β), le ligand chimiokine 2 (CCL2), le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), l'interleukine-6 (IL-6), la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1), la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) et la cyclooxygénase-2 (Cox-2), après six CSD induites par du KCl topique sur la surface du crâne aminci ou induites de manière non invasive à l'aide d'optogénétique. Ils ont révélé que l'IL-1 β cortical, l'expression de l'ARNm de Cox-2,

CCL2 et TNF- α étaient à leurs pics d'expression autour de 1, 1, 2 et 4 h, respectivement. L'IL-6 et l'ICAM-1 n'étaient que modérément élevés, avec un pic autour de 1 et 4 h, respectivement, tandis que le changement de VCAM-1 était insignifiant (Takizawa *et al.*, 2020b). Après une induction hebdomadaire de CSD pendant 4 semaines, une surrégulation de l'IL-1 β , du TNF- α et de l'IL-6 a été observé dans le cortex (Ghaemi *et al.*, 2018). A noter que la réponse inflammatoire corticale après les CSD chez des souris KO (knock-out) pour le récepteur 1 à l'IL-1 pourrait être atténuée (Takizawa *et al.*, 2020b). Chez les patients migraineux, l'augmentation du taux de cytokine dans le sang est très controversée. Certaines études ont rapporté que les marqueurs inflammatoires augmenteraient pendant la crise de migraine mais aussi entre les crises, cependant, d'autres études n'ont montré aucun changement lors de ces mêmes phases de migraine (van Hilten *et al.*, 1991; Empl *et al.*, 2003; Fidan *et al.*, 2006; Koçer *et al.*, 2009; Tanure *et al.*, 2010; He *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2015; Yücel *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017; Martami *et al.*, 2018; Han, 2019). Ces données suggèrent qu'il n'existe pas encore assez de preuves pour établir un lien de causalité entre l'aura migraineuse et l'expression de biomarqueurs inflammatoires (pour revue (Takizawa *et al.*, 2020a)).

iii. Altération de la barrière hémato-encéphalique

La CSD entrainerait la modification de la barrière hémato-encéphalique (BHE) en activant des métalloprotéases de la matrice dans le cortex (Gursoy-Ozdemir *et al.*, 2004). Récemment, il a été montré que l'induction de CSD entraînait des perturbations de la BHE et de la perméabilité endothéliale (Sadeghian *et al.*, 2018). Reste à explorer si la dégradation de la BHE pourrait avoir une relation causale avec la neuro-inflammation évoquée par la CSD. Il serait également intéressant de savoir si la perméabilité de la BHE pourrait être « réparée » grâce à des traitements médicamenteux pendant les crises. Notons tout de même que les preuves cliniques concernant les perturbations de l'intégrité de la BHE sont encore limitées (Kim *et al.*, 2021).

3) Mécanismes de la céphalée migraineuse

Les données obtenues en recherche clinique et en expérimentation animale suggèrent que les céphalées migraineuses et les symptômes associés sont la conséquence d'une activation des neurones du STV.

Un premier argument en faveur de cette théorie a été montré, en 1934 par Penfield, chez des patients ayant subi une craniotomie sous anesthésie locale. En effet, des stimulations méningées et des structures vasculaires associées déclenchaient des douleurs pulsatiles, alors que les mêmes stimulations au niveau du parenchyme cérébral, n'appartenant pas au CTC, n'entraînaient pas de douleur (Penfield, 1934). Un second argument en cette faveur est l'augmentation du taux de CGRP dans la veine jugulaire interne pendant la crise de migraine qui tend à se normaliser après l'administration de sumatriptan (Juhasz *et al.*, 2005). Notons que dans cette même étude, lorsque le sumatriptan n'avait pas d'effet chez les patients, le taux de CGRP restait élevé (Juhasz *et al.*, 2005). D'autres preuves appuient cette théorie, notamment chez le chat où la stimulation du sinus sagittal supérieur entraîne une augmentation du débit sanguin cérébral, dans la zone alentour, et une augmentation du taux de CGRP dans les veines jugulaires externe et interne (Zagami *et al.*, 1990). Chez le rat, la stimulation du TG entraîne une augmentation du débit sanguin cérébral et extra-cérébral, ainsi qu'une inflammation neurogène de la dure-mère, associée à une vasodilatation, une extravasation de protéines plasmatiques et une dégranulation des mastocytes (Moskowitz, 1993). Cette inflammation conduirait à l'activation et à la sensibilisation des afférences méningées trigéminales.

Bien que les mécanismes de la céphalée migraineuse ne soient pas encore bien connus, plusieurs acteurs ont été identifiés. En effet, lors des crises de migraine, au niveau des afférences méningées, certains composés, tels que le NO, ou certains neuropeptides sont libérés (pour revue (Hoffmann *et al.*, 2019)). De plus, l'activation du système parasympathique jouerait un rôle important sur les symptômes liés à la migraine.

a. Neuropeptides

Les neuropeptides jouent un rôle essentiel dans la physiopathologie de la migraine. Les études marquantes de Goadsby et ses collaborateurs à la fin des années 1980 et au début des années 1990 (Goadsby *et al.*, 1988, 1990; Goadsby & Edvinsson, 1993, 1994) ont remarquablement élargi notre compréhension de l'importance des neuropeptides dans la physiopathologie de la migraine et pour certains ont été une réussite de la recherche translationnelle car ces neuropeptides et leurs récepteurs sont actuellement à l'étude en tant que cibles thérapeutiques potentielles. L'activation du CTC implique l'activation du nerf

trigéminal et la libération des principaux neuropeptides tels que le CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide), la substance P (SP), la neurokinine A (NKA) et le PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide). L'activation trigémino-vasculaire implique également l'innervation vasculaire crânienne du système nerveux parasympathique, avec la libération de neuropeptides comme le VIP, le PACAP, le neuropeptide Y (NPY) et l'acétylcholine (ACh), ainsi que du système nerveux sympathique, avec la libération de neuropeptides tels que la noradrénaline, NPY et l'adénosine triphosphate (ATP). Certains de ces neurotransmetteurs sont libérés pendant la migraine et certains d'entre eux peuvent même déclencher des crises de migraine. La base physiopathologique de cet effet déclencheur n'a pas été entièrement élucidée car leurs effets vasoactifs, ainsi que leurs propriétés pro-inflammatoires, ont été réfutés en tant que mécanismes déclencheurs potentiels de crises. Cependant, certaines de ces substances peuvent moduler directement l'activité neuronale nociceptive, pouvant expliquer leur rôle dans la physiopathologie de la migraine (pour revue (Hoffmann *et al.*, 2019)).

i. CGRP

Le CGRP est un neuropeptide de 37 acides aminés, synthétisé à partir du gène *CALC1*. Il est localisé dans les fibres C et en plus faible quantité dans les fibres A δ du STV et est présent au niveau des afférences méningées, du TG, du CTC, de la PAG, de l'hypothalamus et du thalamus (Edvinsson, 2004; Edvinsson *et al.*, 1998; Edvinsson & Ho, 2010; Eftekhari *et al.*, 2010; Eftekhari & Edvinsson, 2011, 2010; Hökfelt *et al.*, 1992; Tajti *et al.*, 1999; van Rossum *et al.*, 1997). Au-delà du STV, le CGRP a été identifié dans plusieurs zones des systèmes nerveux périphérique et central, ainsi que dans un certain nombre de régions extra-crâniennes, notamment au niveau des vaisseaux sanguins, du cœur, des reins, des poumons et des tissus intestinaux (Russell *et al.*, 2014). Le CGRP est stocké dans des vésicules à noyau dense, dans les terminaisons nerveuses sensorielles (Matteoli *et al.*, 1988). Au cours de l'activation neuronale, le CGRP est libéré par exocytose. Lors de sa libération au niveau des fibres nerveuses sensorielles, le CGRP se lie à son récepteur, composé de trois protéines : CLR (calcitonin receptor-like receptor) (Aiyar *et al.*, 1996), RAMP1 (receptor activity modifying protein 1) (McLatchie *et al.*, 1998) et RCP (receptor component protein) (Ma *et al.*, 2003). Dans les voies de la douleur liées à la migraine, le récepteur au CGRP peut être retrouvé à la fois à

la périphérie des muscles lisses des artères méningées mais aussi aux niveaux pré- et post-synaptiques au niveau du TG (Oliver *et al.*, 2002; Lennerz *et al.*, 2008; Eftekhari *et al.*, 2010; Eftekhari & Edvinsson, 2010). Notons que le CGRP n'a pas été identifié dans les afférences méningées (Lennerz *et al.*, 2008), ce qui pourrait expliquer pourquoi l'application de CGRP au niveau des méninges n'entraîne pas l'activation de la voie du trijumeau (Levy *et al.*, 2005). Au niveau central, les récepteurs au CGRP sont situés au niveau du CTC et du tractus trigéminal spinal.

Le CGRP est le neuropeptide ayant une fonction importante dans la régulation du flux sanguin (Brain *et al.*, 1985). La vasodilatation induite par le CGRP est médiée par des voies dépendantes, mais aussi indépendantes du NO. Dans la voie dépendante du NO, le CGRP se lie aux récepteurs situés sur les cellules endothéliales, déclenchant une cascade médiée par la phosphokinase A (PKA), conduisant à l'activation de la NOS endothéliale (eNOS) et améliore ainsi la production de NO. Le NO diffuse vers les muscles lisses vasculaires adjacents induisant une vasodilatation. Dans la voie indépendante du NO, le CGRP se lie directement aux récepteurs situés sur le muscle lisse vasculaire, induisant sa relaxation et donc sa vasodilatation (Russell *et al.*, 2014).

Le CGRP jouerait un rôle dans les processus inflammatoires car il pourrait réduire le taux de cytokines pro-inflammatoires (Wang *et al.*, 2002; Gomes *et al.*, 2005) mais aussi car ses concentrations plasmatiques sont élevées dans plusieurs conditions inflammatoires (Joyce *et al.*, 1990; Alstergren *et al.*, 1995; Hernanz *et al.*, 2003). D'après une étude, la capacité du CGRP à moduler l'activité neuronale nociceptive dans plusieurs régions du système nerveux, y compris au niveau du CTC, se ferait *via* une neurotransmission glutamatergique (Storer *et al.*, 2004).

Au niveau clinique, l'importance du CGRP dans la migraine a été relevée suite à une observation dans la circulation extra-cérébrale pendant l'activation du trijumeau (Goadsby *et al.*, 1988), mais aussi pendant les crises spontanées de migraine (Goadsby *et al.*, 1990; Goadsby & Edvinsson, 1994). Notons qu'après un traitement au sumatriptan, le taux plasmatique élevé de CGRP est normalisé (Goadsby & Edvinsson, 1993). Étant donné l'efficacité des antagonistes aux récepteurs du CGRP (cf. partie sur les traitements de la migraine) dans les traitements de crise et que les anticorps (Ac) dirigés contre le neuropeptide

ou son récepteur sont efficaces dans le traitement préventif de la migraine (Goadsby & Edvinsson, 1994; Ho *et al.*, 2008; Dodick *et al.*, 2014c, 2014a; Bigal *et al.*, 2015, 2016; Sun *et al.*, 2016), il est suggéré que le CGRP est impliqué dans le déclenchement et le maintien des crises de migraine et des céphalées associées.

Des études précliniques se sont intéressées aux mécanismes conduisant à la libération de CGRP et les conséquences fonctionnelles engendrées. Malgré les données concernant la localisation du CGRP, de ses récepteurs dans le STV et les voies centrales de traitement de la douleur, les sites d'action qui seraient pertinents pour la génération et le maintien d'une crise de migraine n'ont pas été entièrement identifiés. Cette pathologie serait initiée dans le cerveau, très probablement dans des processus impliquant l'hypothalamus, un site d'action central semble probable. Cette hypothèse a été alimentée par le fait que le CGRP et son récepteur sont localisés dans le CTC (Lennerz *et al.*, 2008) et que l'application locale de CGRP facilite l'activité neuronale dans ce relais central (Storer *et al.*, 2004). Conformément à ces résultats, les antagonistes des récepteurs peptidergiques et non peptidergiques du CGRP, le CGRP₈₋₃₇ et l'olcépéant (BIBN4096BS), respectivement, inhibent l'activité neuronale induite dans le CTC suite à une stimulation des méninges (Fischer *et al.*, 2005), du sinus sagittal supérieur (Storer *et al.*, 2004), l'application locale de glutamate (Storer *et al.*, 2004) ou par l'infusion systémique de NO (Koulchitsky *et al.*, 2009). Enfin, l'application locale de CGRP ou de l'antagoniste des récepteurs au CGRP, l'olcépéant sur les méninges (Fischer *et al.*, 2005; Levy *et al.*, 2005) ou sur le TG (Covasala *et al.*, 2012) ne modifie pas l'activité neuronale dans le CTC. De plus, l'administration systémique de CGRP a eu peu d'effet sur les réponses trigéminales afférentes primaires périphériques sur 60 minutes (Levy *et al.*, 2005). Ensemble, ces données suggèrent plutôt un site d'action central du CGRP dans ces modèles de céphalées. L'observation faite dans le TG est particulièrement intéressante car le CGRP, ainsi que son récepteur, ont été identifiés dans le TG bien qu'ils ne semblent pas être colocalisés, indiquant que le CGRP est présent dans un groupe de neurones influençant un autre groupe de neurones lors de sa libération (Eftekhari *et al.*, 2010). Fait important, paradoxalement, les nouvelles thérapeutiques à base d'anticorps monoclonaux dirigés contre le CGRP ou contre son récepteur ont une efficacité chez les patients migraineux mais ne passent pas la BHE, ils ont donc une action seulement périphérique (Edvinsson & Warfvinge, 2019).

ii. VIP et PACAP

VIP et PACAP sont deux neuropeptides pharmacologiquement similaires jouant un rôle majeur dans la communication parasympathique. VIP est un neuropeptide de 28 acides aminés, tandis que PACAP existe sous plusieurs isoformes mais la plus rencontrée associée à la douleur est PACAP₃₈, contenant, comme son nom l'indique, 38 acides aminés. Il est intéressant de noter que ces deux neuropeptides, VIP et PACAP₃₈, se lient à une série de récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPG), connus sous les dénominations : VPAC₁, VPAC₂ et PAC₁. L'affinité de VIP et PACAP₃₈ pour VPAC₁ et VPAC₂ est similaire, mais l'affinité de PACAP₃₈ pour PAC₁ est 100 fois plus élevée (Harmar *et al.*, 2012). Leur interaction fonctionnelle s'étend au-delà de leur action sur les mêmes récepteurs puisqu'il a été montré que les fibres PACAP₃₈-positives innervent les neurones VIP-positifs (Sanggaard *et al.*, 2003; Falktoft *et al.*, 2009) et PACAP₃₈ induit l'expression du gène VIP (Georg & Fahrenkrug, 2000; Falktoft *et al.*, 2009) ainsi que sa libération (Guo *et al.*, 2017).

VIP et PACAP₃₈ jouent un rôle dans la vasodilatation : en effet, dans des modèles précliniques *in vivo* d'activation trigéminal, ces neuropeptides induisent une vasodilatation méningée transitoire. Seul PACAP₃₈ facilite l'activation et la sensibilisation neuronales dans le CTC, qui seraient accompagnées d'une hypersensibilité neuronale à la stimulation crânienne somato-sensorielle, probablement *via* l'activation de PAC₁ (Boni *et al.*, 2009; Akerman & Goadsby, 2015). Notons que des études ont montré que l'application locale de PACAP₃₈ sur les méninges entraîne la libération de CGRP au niveau du CTC (*via* le récepteur PAC₁) et non du TG, alors que l'exposition au VIP n'a aucun effet sur la libération du CGRP (Jansen-Olesen *et al.*, 2014). Chez l'Homme, des études montrent que les crises de migraine sans aura sont induites par PACAP₃₈ mais pas par VIP (Rahmann *et al.*, 2008; Schytz *et al.*, 2009; Amin *et al.*, 2014). En clinique, l'induction de crise par le PACAP₃₈ n'entraîne pas d'augmentation du taux de CGRP plasmatique, contrairement aux données précliniques. Par ailleurs, lors de crises de migraines spontanées, sans symptômes autonomes, une augmentation du taux de PACAP₃₈ mais pas de VIP est relevée dans la circulation crânienne (Goadsby *et al.*, 1990; Tuka *et al.*, 2013; Zagami *et al.*, 2014). Cependant, quand les crises sont accompagnées de symptômes autonomes, le taux plasmatique de VIP est augmenté (Goadsby *et al.*, 1990). Ceci suggère que le PACAP₃₈ aurait la capacité d'activer le système trigéminal et parasympathique, tandis que

le VIP semble être réduit aux neurones parasympathiques (pour revue (Hoffmann *et al.*, 2019)).

iii. Substance P

La substance P (SP) est un neuropeptide appartenant à la famille des tachykinines (comme la NKA), exprimée au niveau central et périphérique (May & Goadsby, 2001). Chez l'animal mais également chez l'Homme, l'activation du trijumeau *via* la stimulation du TG, entraîne la libération de la SP (Goadsby *et al.*, 1988). Elle se lie au récepteur NK1 et entraîne une vasodilatation ainsi qu'une extravasation de protéines plasmatiques (Williamson *et al.*, 1997). La libération de la SP peut être inhibée par le sumatriptan (Buzzi & Moskowitz, 1990; Arvieu *et al.*, 1996). En clinique, plusieurs antagonistes du récepteur NK1 auquel se lie la SP ont été développés et testés pour le traitement de la migraine. Malheureusement, aucun n'a dépassé la phase 2 d'essais clinique, n'ayant démontré aucune efficacité thérapeutique (Goldstein *et al.*, 1997, 2001; Diener, 2003).

b. Monoxyde d'azote

Le NO a une action vasodilatatrice importante. Il peut moduler l'activité neuronale nociceptive dans plusieurs régions du système nerveux telles que le TG, le CTC et la PAG (Tassorelli & Joseph, 1995; De Col *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2013). Dans les modèles animaux, le NO peut potentialiser les réponses neuronales aux stimuli faciaux (Jones *et al.*, 2001), alors que l'administration locale d'un inhibiteur de la NO synthase (NOS) inhibe la réponse à la stimulation périphérique (Hoskin *et al.*, 1999; De Col *et al.*, 2003; Lambert *et al.*, 2004). En plus de son rôle dans l'activation du trijumeau, le NO est impliqué dans la sensibilisation trigéminal centrale (Lin *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2013), le corrélat physiopathologique de l'allodynie cutanée et constitue un élément important dans la chronicisation de la migraine. L'effet facilitateur du NO est lié à son interaction fonctionnelle avec le CGRP. En effet, l'administration de NO entraîne la libération locale de CGRP et induit une activation et une sensibilisation neuronales (Strecker *et al.*, 2002; Akerman *et al.*, 2002; Bellamy *et al.*, 2006; Koulchitsky *et al.*, 2009; Miyamoto *et al.*, 2009; Eberhardt *et al.*, 2009). Le NO pourrait activer les canaux TRPV1, augmentant ainsi la libération de CGRP (Miyamoto *et al.*, 2009). Notons que la relation entre NO et CGRP peut être bidirectionnelle car le CGRP peut aussi induire une

vasodilatation par la synthèse et la libération de NO (Russell *et al.*, 2014). Il existe deux isoformes de la NOS, la nNOS pour NOS neuronale et la eNOS, pour NOS endothéliale. La nNOS augmenterait la production de NO au niveau neuronal, entraînant la libération de CGRP à partir des fibres trigéminales peptidergiques, et la production de NO médiée par la eNOS serait activée par le CGRP.

Chez les patients atteints de migraine, les donneurs de NO ont la capacité de déclencher des crises de migraine (Ekbohm, 1968; Dahl *et al.*, 1990; Olesen *et al.*, 1993, 1994). Ils auraient même la capacité de déclencher des symptômes prémonitoires d'une crise de migraine (Afridi *et al.*, 2004). Cependant, les mécanismes sous-jacents restent incertains (Hoffmann *et al.*, 2019).

c. Implication du système parasympathique

Le système parasympathique est supposé être à l'origine des symptômes végétatifs crâniens tels que les larmoiements, les rhinorrhées, la congestion nasale, la transpiration ou encore les rougissements pouvant être observés pendant les crises de migraine (Lai *et al.*, 2009). Selon une étude menée par Barbanti en 2016, lorsque des migraineux présentaient ces symptômes, les céphalées étaient plus douloureuses, ce qui suggère que le système parasympathique pourrait aggraver la sensibilisation du STV (Barbanti *et al.*, 2016). De plus, le stress est connu comme étant un déclencheur de migraine. Lorsque des patients sont stressés, certaines structures seraient activées comme l'hypothalamus, les aires limbiques ou corticales. Ces structures projettent sur les neurones parasympathiques du noyau salivaire supérieur (SSN) (Burstein & Jakubowski, 2009). Le SSN établit à son tour des contacts avec les neurones parasympathiques du ganglion sphéno-palatin (situé derrière la cavité nasale), qui envoie des projections au niveau des vaisseaux méningés. Une étude a d'ailleurs montré que la stimulation électrique du ganglion sphéno-palatin suffisait à déclencher une extravasation de protéines dans l'espace subarachnoïdien (Delépine & Aubineau, 1997). A l'inverse, bloquer l'activité du ganglion sphéno-palatin, avec de la lidocaïne, aurait un effet dans le traitement des céphalées migraineuses, en diminuant les flux parasympathiques (Yarnitsky *et al.*, 2003).

4) Photophobie et phonophobie

La façon dont les migraineux gèrent leur douleur donne une indication claire concernant leur hypersensibilité aux stimulations sensorielles. En effet, certains patients iront se coucher lors d'une crise, éteindront les lumières et éviteront tout type de stimulation sensorielle par la lumière, le son, le toucher ou même certaines odeurs.

Les études sur les mécanismes neuronaux impliqués dans la physiopathologie de la photophobie liée à la migraine ont montré que l'exacerbation de la crise nécessitait un nerf optique intact, quelle que soit la capacité visuelle de la personne (Nosedá *et al.*, 2010b). De plus, chez des rats, il a été montré que la lumière était capable d'activer spécifiquement certains neurones thalamiques sur lesquels convergeaient des afférences trigémino-durales et rétiniennes, et que cette activation augmentait avec l'intensité lumineuse. Ces neurones thalamiques projetaient également des efférences vers les cortex somato-sensoriel, visuel et associatifs (Nosedá *et al.*, 2010b). Sur le plan neurochimique, certaines données suggèrent que le CGRP serait un élément du mécanisme de photophobie migraineuse (Russo *et al.*, 2009; Russell *et al.*, 2014).

Les mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la phonophobie ne sont pas clairement établis. L'hypothèse avancée serait qu'une hyperexcitabilité du cortex auditif recevant des projections de neurones nociceptifs thalamiques relayerait des messages trigémino-vasculaires (pour revue (Goadsby *et al.*, 2017)).

Enfin, le dysfonctionnement de certaines structures, telles que l'hypothalamus, peuvent déclencher des céphalées mais aussi des troubles végétatifs associés comme les nausées et les vomissements. Chez le rongeur, la sensibilisation trigémino-vasculaire (*via* l'inflammation durale) entraînerait l'activation de neurones para-brachiaux et hypothalamiques (ventro et dorso-médians) à l'origine de trouble végétatifs (pour revue (Goadsby *et al.*, 2017)).

Dans l'optique de diminuer l'intensité et la fréquence des crises et des symptômes associés, des traitements ont été développés.

IV. Traitements de la migraine

Les traitements de la migraine peuvent se résumer en deux catégories : les traitements de crise, qui, pour être efficaces, doivent être pris dès le début des symptômes et les traitements de fond ayant pour objectif de diminuer la fréquence et l'intensité des crises.

Notons que l'éducation du patient est importante dans la prise en charge des migraines, notamment de limiter l'abus médicamenteux, qui est un facteur important dans la chronicisation de migraine.

1) Traitements de crise

Les objectifs du traitement de la migraine aiguë sont d'obtenir la disparition de la douleur dans les deux heures suivant la prise du médicament, jusqu'à 24 heures et sans (ou avec un minimum) d'effets indésirables. Le soulagement des symptômes associés, tels que les troubles digestifs ou les hypersensibilités sensorielles et la capacité à reprendre des activités, doivent être pris en considération. Lors de migraine avec aura, le but du traitement de crise est de diminuer la durée de l'aura, mais à l'heure actuelle, aucun traitement pharmacologique de ce type n'est efficace (Ducros *et al.*, 2021) (**tableau 3**).

a. Analgésiques

Le paracétamol (acétaminophène) est largement utilisé, surtout en automédication, et est efficace car il permet de réduire la douleur de la migraine mais seulement lors d'attaques d'intensité moyenne à modérée (Derry & Moore, 2013) (**tableau 3**). Son efficacité en association avec la codéine, la caféine ou l'aspirine a également été montrée (Derry & Moore, 2013; Moore *et al.*, 2015). Dans certains cas, des opioïdes, tels que le tramadol ou la codéine, peuvent être prescrits (Lipton *et al.*, 2020), même si leur prescription est largement réduite depuis la crise des opioïdes qui sévit aux Etats-Unis depuis plusieurs années.

b. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

L'aspirine, le kétoprofène, l'ibuprofène, le naproxène... sont les traitements les plus couramment utilisés, avec le paracétamol, pour le traitement des crises aiguës de migraine (Pardutz & Schoenen, 2010) (**tableau 3**). Notons que, l'utilisation répétée d'aspirine et de

Traitements non-spécifiques de la crise de migraine					
Analgésiques	Niveau d'efficacité	Recommandation	Dose, voie d'administration	Effets secondaires	Contre-indications
Acide acétylsalicylique, aspirine	Haute	Forte	1000 mg (comprimé, comprimé effervescent, poudre), maximum 3000 mg/jour	Acide acétylsalicylique : trouble digestif, hémorragie, allergie, Syndrome de Reye	Acide acétylsalicylique : ulcère gastro-duodénal, risques d'hémorragie, déconseillé pendant la grossesse, hépatique, insuffisance cardiaque ou rénal, asthme, hypersensibilité
Acide acétylsalicylique + métoclopramide	Haute	Forte	900 mg + 10 mg (poudre), maximum 3 /jour	Métoclopramide : syndrome dyskinétique, trouble psychiatrique de l'agitation, troubles endocriniens	Métoclopramide : hémorragie gastro-intestinale, perforation digestive, dyskynésie, syndrome extrapyramidal, déconseillé chez l'enfant
Paracétamol	Haute (pendant les crises d'intensité modérée)	Haute pendant les crises d'intensité modérée, modérée pendant les crises d'intensité modérée et non recommandé pendant les attaques	500, 1000 mg (comprimé), maximum 4 g/jour	Paracétamol : toxicité hépatique et hématologique	Insuffisante hépatique sévère
Paracétamol + caféine	Haute	Faible	500 mg + 50 mg (comprimé), maximum 6 comprimés /jour	Cafféine : palpitation, insomnie	
Anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS)	Niveau d'efficacité	Recommandation	Dose, voie d'administration	Effets secondaires	Contre-indications
Diclofénaç	Haute	Forte	25, 50, 100 mg (comprimé), maximum 150 mg/jour	Hémorragie, troubles digestifs, dyspepsie, nausées, diarrhées, constipation, Vertiges, asthénie	Ulcère gastro-duodénal hypersensible aux AINS, risques d'hémorragies (cérébral, digestif, autres), insuffisance rénale ou hépatique, déconseillé pendant la grossesse après le 5ème mois
Flurbiprofène	Haute	Forte	8,75 mg (comprimé), maximum 5 comprimés /jour		
Ibuprofène	Haute	Forte	200 mg, 400 mg (comprimé), maximum 1200 mg /jour		
Indométacine	Moyenne	Modérée	25 mg, 75 mg (comprimé), 100 mg (suppositoire), maximum 300 mg/jour		
Kétoprofène	Haute	Forte	100 mg, 150 mg (comprimé), 100 mg (suppositoire), maximum 200 mg/jour		
Naproxène	Haute	Forte	550 mg, 1000 mg (comprimé), maximum 1100		

Tableau 3 – Traitements de crise non spécifiques des migraines (d'après Ducros et al., 2021).

AINS, au-delà de 14 jours dans le mois, peut contribuer à des céphalées par abus médicamenteux (CAM) chez les patients migraineux.

c. Triptans

Les triptans ont été les premiers médicaments spécifiques développés pour le traitement de la migraine. Ce sont des agonistes récepteurs 5-HT_{1B}/5-HT_{1D}. Les triptans inhibent la libération de neuropeptides vasoactifs et pro-inflammatoires (dont le CGRP) et provoquent la vasoconstriction des vaisseaux. Sept triptans sont disponibles en France (**tableau 4**), dont le sumatriptan, molécule étudiée dans ce projet de thèse. Cependant, environ 30 à 40% des migraineux épisodiques rapportent que les triptans sont insuffisamment efficaces ou peu tolérés (Ferrari *et al.*, 2002; Lipton *et al.*, 2013; Viana *et al.*, 2013). Les triptans peuvent avoir des effets cardiovasculaires indésirables *via* leur liaison au récepteur 5-HT_{1B}, ce qui peut limiter leur prescription. En raison du risque de potentiel de CAM, l'utilisation des triptans ne doit pas dépasser régulièrement huit jours par mois (Diener *et al.*, 2019; Krymchantowski *et al.*, 2020).

d. Ditans

Les ditans sont des agonistes hautement spécifiques des récepteurs 5-HT_{1F}, n'ayant pas de propriétés vasoconstrictrices, ce qui limite leurs effets indésirables, notamment au niveau vasculaire. Le lasmiditan appartient à cette classe et s'est révélé être efficace pour soulager la migraine (Kuca *et al.*, 2018; Goadsby *et al.*, 2019; Kniewel *et al.*, 2020) (**tableau 4**).

e. Ergots

L'ergotamine (souvent combiné à la caféine) est un ancien traitement utilisé contre la migraine aiguë qui est parfois encore prescrit. Les ergots sont associés à un risque accru d'effets indésirables graves (Steiner *et al.*, 2019) et sont contre-indiqués chez les patients à risque cardiovasculaire accru. Notons que la dihydroergotamine (DHE) est la mieux tolérée de cette classe, mais a toujours plus d'effets indésirables que les AINS et les triptans.

f. Gépants

Les gépants sont des antagonistes du récepteur au CGRP. L'ubrogé pant et le rimégé pant, administrés par voie orale (p.o), ont montré leur efficacité dans la migraine aiguë

Traitements non-spécifiques de la crise de migraine					
Triptans	Niveau d'efficacité	Recommandation	Dose, voie d'administration	Effets secondaires	Contre-indications
Almotriptan	Haute	Forte	12.5 mg (comprimé), maximum 25 mg/jour	Paresthésie des extrémités, nausées,	Maladies cardiaques coronarienne, syndrome de Wolff Parkinson White, infarctus du myocarde,
Eletriptan	Haute	Forte	20 ou 40 mg (comprimé), maximum 80 mg/jour	frissons, vertiges, asthénie, syndrome	maladie artérielle périphérique, maladie de Raynaud, attaque ischémique transitoire,
Frovatriptan	Haute	Forte	2.5 mg (comprimé), maximum 5 mg/jour	thoracique (sensation de constriction de la nuque et de la poitrine), flush	hypertension non contrôlée, insuffisance rénale ou hépatique, traitement concomitant avec un inhibiteur de de monoamine oxydase, allergie
Naratriptan	Haute	Forte	2.5 mg (comprimé), maximum 5 mg/jour	cutané, somnolence, cas de spasmes coronariens,	croisée avec des sulfonamides (sauf pour le rizatriptan et le zolmitriptan)
Rizatriptan	Haute	Forte	5, 10 mg (comprimé), 10 mg (comprimé effervescent) maximum 20 mg/jour	hypertension sévère, syndrome	
Sumatriptan	Haute	Forte	50 mg (comprimé), maximum 300 mg/jour, 10/20 mg (spray nasal), maximum 40 mg/jour, 6 mg (injection sous cutanée), maximum 12 mg/jour	serotoninergique	
Zolmitriptan	Haute	Forte	2.5 mg (comprimé ou comprimé effervescent), maximum 10 mg/jour, 5 mg (spray nasal, indisponible en France)		
Gépants	Niveau d'efficacité	Recommandation	Dose, voie d'administration	Effets secondaires	Contre-indications
Rimegépant (indisponible en France)	Haute	Forte	75 mg (comprimé), maximum 75 mg/jour	Nausées, réaction allergique	Réaction d'hypersensibilité
Ubrogépant (indisponible en France)	Haute	Forte	50, 100 mg (comprimé), maximum 200 mg/jour		
Ditans	Niveau d'efficacité	Recommandation	Dose, voie d'administration	Effets secondaires	Contre-indications
Lasmiditan (indisponible en France)	Haute	Modérée	50, 100 mg (comprimé), maximum 200 mg/jour, pas plus d'une dose ne doit être prise dans les 24h	Vertige, fatigue, paresthésie, sédation, nausées et/ou vomissements, faiblesse musculaire, dépression du SNC (vertige, sédation), hallucination, euphorie, risque d'abus ou de mésusage, rares cas de syndrome sérotoninergique	En association avec alcool, cannabis ou autre déprimeurs du système nerveux central

Tableau 4 – Traitements de crise spécifiques des migraines (d'après Ducros et al., 2021).

(Croop *et al.*, 2019, 2019; Lipton *et al.*, 2019) (**tableau 4**). Les gépants semblent causer moins d'effets secondaires que les triptans, mais pourraient potentiellement comporter un risque cardiovasculaire (van Hoogstraten & MaassenVanDenBrink, 2019; Moreno-Ajona *et al.*, 2022). L'utilisation des gépants, p.o, dans les traitements de prophylaxie sont en cours d'étude. Ils pourraient potentiellement réduire le risque de CAM.

g. Antiémétiques

Les données de la littératures montrent que des antagonistes dopaminergiques comme le métoclopramide, administré par voie orale ou en intraveineuse, et le dompéridone, administré par voie orale, sont efficaces dans le traitement des nausées associées aux crises de migraine et peuvent améliorer l'absorption d'autres traitements oraux de la migraine aiguë (Derry & Moore, 2013; Kirthi *et al.*, 2013; Eken, 2015; Golikhatir *et al.*, 2019) (**tableau 3**).

2) Traitements de fond

Les traitements de fond ou traitements préventifs, visent à réduire la fréquence des migraines épisodiques d'au moins 50%, et d'au moins 30% dans le cas des migraines chroniques. Les traitements prophylactiques visent également à réduire la consommation de traitements aigus, l'intensité et la durée des crises et surtout, d'améliorer la qualité de vie des patients. Les patients sous prophylaxie continueront d'avoir des crises et doivent être informés de la manière de les traiter. Dans le cas des patients avec aura, le but du traitement sera de réduire la fréquence, la durée et la sévérité des auras (**tableau 5**).

a. Bétabloquants

Les bêtabloquants sont le traitement de premier choix lors de la mise en place d'un traitement de fond. Le propranolol est le plus étudié de cette catégorie et s'est révélé être efficace dans le traitement de la migraine épisodique et chronique (Jackson *et al.*, 2019) (**tableau 5**). L'efficacité anti-migraineuse des bêtabloquants est inopinée puisque c'est en voulant traiter un angor chez un patient migraineux qu'elle fut constatée (Wykes, 1968). Les bêtabloquants agissent sur la contraction des vaisseaux sanguin et sont des molécules lipophiles, passant la BHE, ayant ainsi une action centrale. Au laboratoire, il a été montré que l'efficacité du propranolol en traitement de fond dans le modèle de migraine induite par l'ISDN

réduisait l'hypersensibilité mécanique céphalique (Dallel *et al.*, 2018; Descheemaeker *et al.*, 2022). Une autre étude, réalisée sur le modèle de soupe inflammatoire, a permis de mettre en évidence qu'un traitement de fond au propranolol permettait d'éviter la sensibilisation des neurones du CST et de diminuer l'expression de c-Fos dans la RVM et dans le LC (Boyer *et al.*, 2017).

b. Antiépileptiques

Les antiépileptiques sont utilisés lorsque la prescription de bêtabloquant est contre-indiquée ou lorsqu'il est inefficace. Le topiramate et l'acide valproïque sont les plus couramment prescrits en prophylaxie et efficaces sur des patients atteints de migraine épisodique (Jackson *et al.*, 2015) (**tableau 5**). Ils peuvent agir soit en modifiant la conductance ionique des canaux calciques ou sodiques soit en bloquant l'hyperexcitabilité neuronale en limitant la libération de neurotransmetteurs excitateurs, comme le glutamate, soit en augmentant l'activité inhibitrice, en libérant du GABA.

c. Antidépresseurs

Certains antidépresseurs ont fait leur preuve en tant que traitements prophylactiques dans la migraine, mais sont des molécules de second choix, du fait de leurs effets indésirables. Ils vont agir en inhibant les systèmes de recapture de la sérotonine ou de la noradrénaline, par exemple. L'amitriptyline et la venlafaxine sont les plus couramment utilisés et ont montré leur efficacité en traitements préventifs (Jackson *et al.*, 2010, 2015; Silberstein, 2015) (**tableau 5**).

d. Toxine botulique

L'onobotulinumtoxin A, ou toxine botulinique A (inhibiteur de la libération d'acétylcholine), a une efficacité établie dans la prévention de la migraine chronique avec ou sans abus médicamenteux, mais n'est pas supérieure à l'effet du placebo pour le traitement de la migraine épisodique (Herd *et al.*, 2018) (**tableau 6**). Une étude clinique PREEMPT-2 a montré qu'une injection trimestrielle de toxine botulinique A réduisait significativement le nombre de jours de céphalées (Diener *et al.*, 2010). Le mécanisme d'action n'est pas encore bien connu, mais il semblerait que son efficacité périphérique serait limitée au site d'injection, mais pourrait également être centrale, notamment *via* un transport axonal. Les mécanismes

Traitements prophylactique oraux					
Traitements (approuvés ou non par la France)	Niveau d'efficacité	Recommandation par la société française d'étude et traitements de la douleur	Dose quotidienne, dose minimale-maximale (moyenne quotidienne)	Effets secondaires	Contre-indications
Amitriptyline (oui)	Haute en ME / Passable en MC	Forte en ME / Modérée en MC	10 - 100 mg (25 mg) / Une prise avant le dîner	Bouche sèche, somnolence, gain de poids	Absolue : glaucome, adénome prostatique / Modérée : obésité
Propranolol (oui)	Haute en ME / Passable en MC	Forte en ME / Faible en MC	20 - 240 mg (80 mg) deux fois par jour ou une fois le matin (libération prolongée)	Communs : asthénie, faible tolérance à l'effort / Rare : dépression	Absolue : asthme, insuffisance cardiaque, blocs atrio-ventriculaire, bradycardie / Modérée : dépression
Métoprolol (oui)	Haute en ME / Non testé en MC	Forte en ME / Non recommandée en MC	50 - 200 mg (100 mg), une fois le matin		
Nebivolol (non)	Moyenne en ME / Non testé en MC	Modérée en ME / Non recommandée en MC	5 - 10 mg (10 mg), une fois le matin		
Atenolol (non)	Haute en ME / Passable en MC	Modérée en ME / Faible en MC	50 - 200 mg (100 mg), une fois le matin		
Timolol (non)	Haute en ME / Non testé en MC	Modérée en ME / Non recommandée en MC	10 - 60 mg (20 mg), deux fois par jour		
Candesartan (non)	Moyenne en ME / Passable en MC	Forte en ME / Faible en MC	8 - 32 mg (16 mg), une à deux fois par jour	Hypotension	Absolue : insuffisance cardiaque, sténose de l'artère rénale, insuffisance rénale, grossesse / Modérée : hypotension
Flunarizine (oui)	Haute en ME / Passable en MC	Modérée en ME / Faible en MC	5 - 10 mg (5 mg), une fois le matin mais pas plus de 6 mois	Communs : somnolence prise de poids, dépression / Rare : parkinsonisme	Dépression, obésité, maladie de Parkinson, grossesse
Lisinopril (non)	Passable en ME / Non testé en MC	Modérée en ME / Non recommandée en MC	5 - 40 mg (20 mg), une fois par jour	Hypotension, toux sèche, exanthème, déficit des fonctions rénales	Angio-oedème, sténose de l'artère rénale, déficit rénaux, hyperkalémie, grossesse
Lamotrigine (non)	Passable en migraine avec aura	Faible en migraine avec aura / Non recommandée en MC	25 - 300 mg (100 mg), une à deux fois par jour	Communs : vertiges, insomnie / Rare : réactions hypersensibles, dépression, idées suicidaires	Absolue : hypersensibilité au lamotigine, allaitement / Modérée : précédentes allergies à un autre anti-épileptique
Lévétiracetam (non)	Moyenne en ME / Passable en MC	Faible en ME / Faible en MC	500 - 3000 mg, deux fois par jours	Irritabilité, dépression	Modérée : insuffisance rénale
Oxetorone (oui)	Passable en ME / Non testé en MC	Modérée en ME / Non recommandée en MC	60 - 180 mg (120 mg), une fois le matin	Communs : somnolence / Rare : diarrhées, parkinsonisme	Maladie de Parkinson, parkinsonisme, grossesse
Pizotifène (oui)	Moyenne en ME / Non testé en MC	Modérée en ME / Non recommandée en MC	50 - 300 mg (150 mg), deux fois par jour	Communs : sédation, gain de poids	Obésité, glaucome, adénome protatique, grossesse
Topiramate (oui)	Haute en ME / Haute en MC	Forte en ME / Forte en MC	50 - 200 mg (100 mg), une fois le matin	Communs : paresthésie, perte de poids, déficits cognitifs, dépression / Rare : calculs rénaux, myopie aiguë avec glaucome secondaire à angle fermé	Absolue : hypersensibilité au topiramate, grossesse, glaucome, maladie pulmonaire sévère, prise de métformine, maladie hépatique, néphrolithase, déficit rénaux / Modérée : dépression, idées suicidaires
Valproate (non)	Haute en ME / Moyenne en MC	Forte en ME / Modérée en MC / Ne jamais utilisé chez la femme enceinte	250 - 2000 mg (750 mg), une fois le matin ou deux fois par jour	Communs : nausées, prise de poids, somnolence, tremblement, alopecie, augmentation de l'ASAT et ALAT, hépatite	Absolue : maladie du foie, grossesse, maladie mitochondriale / Modérée : obésité / Ne jamais prescrire chez la femme enceinte
Venlafaxine (non)	Passable en MC / Non testé en MC	Faible en migraine avec aura / Non recommandée en MC	37.5 - 300 mg (75 - 150 mg), une fois par jour	Communs : nausées, bouche sèche, hyperhydrose	Hypersensibilité au venlafaxine

Tableau 5 – Traitements oraux de prophylaxie (d'après Ducros et al., 2021).

Traitements prophylactique oraux					
Composé actif (approuvés ou non par la France)	Niveau d'efficacité	Recommandation par la société française d'étude et traitements de la douleur	Dose quotidienne, dose minimale-maximale (moyenne quotidienne)	Effets secondaires	Contre-indications
Toxine botulique A (oui)	Haute en MC, inefficace en ME	Forte en MC, non recommandée en ME	31 - 39 injections de 155 - 195 UI (195UI) dans 7 groupes musculaires, tous les 4 mois	Injection au site de la douleur	Absolue : myasthénie auto-immune, sclérose amyotrophique latérale
Anticorps anti-CGRP ou anti-récepteur au CGRP	Niveau d'efficacité	Recommandation par la société française d'étude et traitements de la douleur	Dose quotidienne, dose minimale-maximale (moyenne quotidienne)	Effets secondaires	Contre-indications
Erenumab (oui)	Haute en ME et MC	Forte en EM et MC	70 - 140 mg, s.c., tous les mois	Injection au site de la douleur, rougeurs, constipation, allergies	Infarctus du myocarde, AVC, accident ischémique transitoire, facteurs de risque cardiovasculaire non contrôlé, grossesse
Eptinezumab (non)	Haute en ME et MC	Forte en EM et MC	100 - 300 mg, i.v., tous les 4 mois		
Fremanezumab (oui)	Haute en ME et MC	Forte en EM et MC	225 mg, s.c., tous les mois / 675 mg, s.c., tous les 4 mois		
Galcanezumab (oui)	Haute en ME et MC	Forte en EM et MC	240 mg, s.c., pour la première injection puis 120 mg, s.c., tous les mois		

Tableau 6 – Traitements de prophylaxie administrés par voie injectable (d'après Ducros et al., 2021).

sous-jacents pourraient inclure une modulation dans la libération de neurotransmetteurs ou agir au niveau de l'expression des récepteurs à la membrane synaptique, au niveau central (Do *et al.*, 2018).

e. Anticorps monoclonaux anti-CGRP et anti-récepteur au CGRP

Le CGRP est le principal neuropeptide libéré par le STV et responsable des migraines. Les Ac monoclonaux ciblant la voie du CGRP appartiennent à une nouvelle classe thérapeutique, spécifique. On retrouve l'erenumab, le fremanezumab, l'eptinezumab et le galcanezumab ; le premier bloque le récepteur du CGRP et les trois autres bloquent le CGRP lui-même (**tableau 6**). Les Ac anti-CGRP ont démontré leur efficacité dans la prévention des migraines épisodiques et chroniques, avec ou sans abus médicamenteux (Edvinsson *et al.*, 2018; Han *et al.*, 2019; Charles & Pozo-Rosich, 2019). L'Europe et les Etats-Unis ont autorisé la commercialisation de l'erenumab. En revanche, en Europe, il reste réservé aux patients en échec thérapeutique et souffrant d'au moins 4 crises de migraines par mois (Markham, 2018). Notons que la voie d'administration de l'erenumab se fait par voie sous-cutanée, tous les mois et que son coût est important. En France, à l'heure actuelle, seuls les patients ayant des migraines sévères pendant au moins 8 jours par mois, en échec thérapeutique d'au moins deux traitements prophylactiques et sans problème cardiovasculaire, peuvent bénéficier d'un remboursement de ce traitement par la sécurité sociale (source HAS).

Les Ac anti-CGRP sont des molécules de taille importante, ne pouvant pas passer la BHE (Edvinsson & Warfvinge, 2019), ils agissent donc seulement en périphérie, notamment au niveau du TG. Or, leur efficacité dans les migraines chroniques a été montrée, ce qui est intéressant puisque jusqu'alors, cette pathologie était considérée comme étant centrale. L'efficacité de l'erenumab chez les patients migraineux chroniques indique que même à un stade avancé de la pathologie, l'aspect périphérique est important et joue un rôle dans le déclenchement des crises.

3) Les traitements non-médicamenteux

Certains patients tolèrent peu les traitements médicamenteux, qui peuvent avoir de nombreux effets secondaires ou être peu efficaces (Goadsby & Sprenger, 2010; Hepp *et al.*, 2015). C'est alors qu'entrent en jeu les autres approches, non pharmacologiques, pour soulager les crises ou les diminuer.

Le premier traitement non pharmaceutique de choix est appelé nutraceutique. Il s'agit d'adapter son alimentation en enrichissant ou en appauvrissant son régime alimentaire en fonction des bénéfices que cela peut apporter à sa propre santé. Chez les patients migraineux, des compléments alimentaires tels que la vitamine B2 (riboflavine) (Schoenen *et al.*, 1998), la coenzyme Q10 (Sándor *et al.*, 2005), le magnésium (Pfaffenrath *et al.*, 1996), des extraits de racines de betterave (Lipton *et al.*, 2004) ou de grande camomille (Pfaffenrath *et al.*, 2002) ont montré leur efficacité sur la prévention des crises de migraine. Il s'agit d'une option intéressante pour les patients ayant des comorbidités, peu chère et facile à se procurer.

D'autres patients trouveront satisfaction dans des activités telles que la relaxation, des thérapies cognitivo-comportementales (gestion du stress) ou l'acupuncture (Goslin *et al.*, 1999; Diener *et al.*, 2006; Penzien *et al.*, 2015).

Des thérapies émergentes comme la neuromodulation sont à considérer. Il existe deux types de neuromodulation : non invasive et invasive. La première vise à stimuler le système nerveux central ou périphérique, à travers la peau, soit avec un courant électrique, soit grâce à un champ magnétique : c'est le cas, par exemple, de la stimulation transcutanée des nerfs crâniens (Schoenen *et al.*, 2013) ou de la stimulation magnétique transcrânienne (Kalita *et al.*, 2016). Notons que la neuromodulation non invasive n'est disponible que dans des centres spécialisés. Concernant les neuromodulations invasives, cette fois, la stimulation électrique stimule directement le nerf (occipital, par exemple) afin de moduler la transmission centrale de la douleur (Bartsch & Goadsby, 2002).

L'utilisation de traitements non pharmacologiques pour la migraine représente une pratique clinique en expansion et tous les praticiens devraient envisager ces options en complément du traitement pharmacologique classique (Puledda & Shields, 2018).

V. De la migraine épisodique à la migraine chronique

1) Les deux types de migraines

La migraine est une pathologie affectant environ 15 % de la population générale (Steiner & Stovner, 2023). Il est communément considéré que la migraine est un trouble épisodique, de céphalées sévères, mais cela sous-estime à la fois sa complexité physiopathologique et son impact. Par définition, les migraines épisodiques (ME) sont caractérisées comme étant des céphalées qui apparaissent moins de 15 fois par mois. On distingue deux catégories de ME : les ME à basse fréquence (<10 jours de céphalées dans le mois) et les ME à haute fréquence (10-14 jours de céphalées dans le mois) (Lipton *et al.*, 2014). Les migraines chroniques (MC) sont caractérisées par des céphalées qui apparaissent au moins 15 jours dans le mois, pendant au moins 3 mois consécutifs. Les céphalées doivent avoir les caractéristiques des migraines au moins 8 jours par mois (IHS, 2013) (**Tableau 1**). Il est important de noter que les MC ont un impact sociétal et personnel considérablement plus important, associées à des comorbidités plus fréquentes et des perturbations cérébrales persistantes et progressives (Aurora *et al.*, 2011). L'évolution du stade de ME à MC peut évoluer sur plusieurs mois ou plusieurs années et est bidirectionnelle. En effet, la chronicisation est réversible puisqu'environ 26% des patients souffrant de migraines chroniques entrent en rémission dans les deux années suivant leur chronicisation (Manack *et al.*, 2011).

La MC touche environ 2% de la population mondiale (May & Schulte, 2016) et 8% chez les migraineux, avec une prévalence entre 18 et 29 ans et entre 40 et 50 ans (Buse *et al.*, 2012). Chaque année, environ 3% des patients souffrant de ME va progresser vers le stade chronique (Bigal & Lipton, 2008).

2) La progression de la migraine vers le stade chronique

Les caractéristiques cliniques que sont l'augmentation de la sensibilité sensorielle, l'allodynie cutanée et les signes neurophysiologiques tels que l'accoutumance, identifient l'hyperexcitabilité neuronale comme étant le mécanisme physiologique sous-tendant la progression de la migraine vers le stade chronique. Deux principaux mécanismes pourraient

conduire à cette excitabilité. Le premier est dû à une augmentation de l'excitabilité intrinsèque des neurones dans les zones cérébrales responsables de la pathogenèse de la migraine, phénomène connu sous le nom de sensibilisation, qui peut être dû à une activation nociceptive répétée. Le second mécanisme serait dû à la diminution des contrôles inhibiteurs endogènes du TC, ce qui entraîne une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs du STV et du cortex (Rattanawong *et al.*, 2022) (**figure 13**).

a. La fréquence des crises

Le premier facteur de chronicisation de la migraine est l'augmentation de la fréquence des céphalées mesurée en nombre de jours par mois (Bigal & Lipton, 2008; Rattanawong *et al.*, 2022). La fréquence des crises serait donc un marqueur de l'évolution de la migraine.

La répétition des crises et donc l'activation répétée des différentes structures cérébrales activées lors des crises de migraine, vont entraîner la sensibilisation des voies et des relais nociceptifs comme la PAG et ainsi, entraîner une altération des contrôles descendants (Knight & Goadsby, 2001; Solstrand Dahlberg *et al.*, 2018). Mainero et ses collaborateurs ont montré, chez des migraineux, une forte connectivité entre la PAG et d'autres aires cérébrales impliquées dans la nociception et les processus somato-sensoriels (cortex préfrontal, ACC et AMG) (Mainero *et al.*, 2011).

b. L'abus médicamenteux

La surconsommation de médicaments utilisés dans les traitements de crises est un problème courant chez les patients souffrant de migraine. En plus d'autres effets indésirables, cela peut entraîner des CAM. Plusieurs études épidémiologiques ont confirmé que la surconsommation de médicaments était un facteur de risque de progression de la migraine ; la progression des ME vers le stade chronique serait de 2,5% par an (Bigal *et al.*, 2008).

De plus, des études animales ont démontré qu'une surconsommation de médicaments utilisés dans les traitements de crise, qu'il s'agisse d'analgésiques simples, d'opiacés ou d'agents spécifiques à la migraine, tels que les triptans et les ergots, peut altérer les processus de modulations endogènes, entraînant une facilitation nociceptive du trijumeau. L'administration chronique de morphine chez les rats a augmenté de manière significative l'amplitude du courant post-synaptique exciteur monosynaptique (EPSC) évoqué dans les

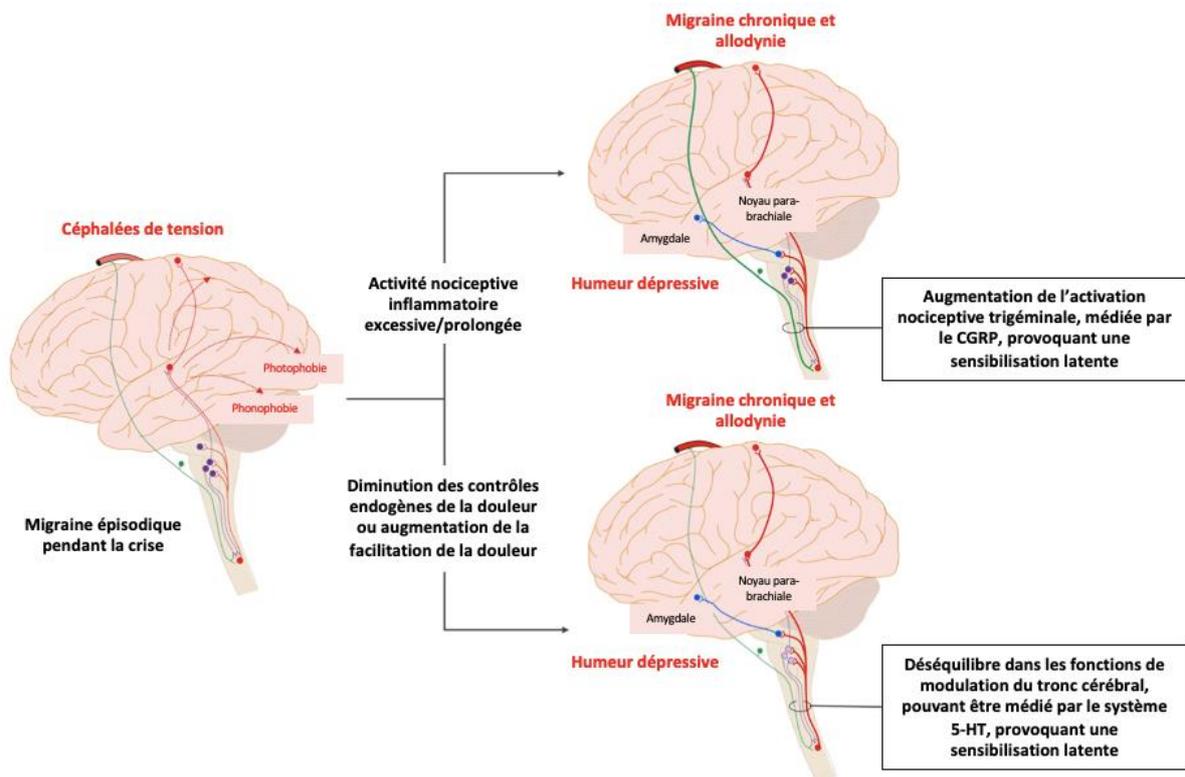


Figure 13 - Mécanismes hypothétiques conduisant à la progression de la migraine vers le stade chronique.

L'hyperexcitabilité des neurones de la voie du trijumeau et d'autres zones cérébrales liées à la pathogenèse de la migraine jouent un rôle important dans la progression de la migraine. Deux mécanismes principaux : hyperexcitabilité des réseaux provoquée par une activation nociceptive répétée et prolongée et une altération des contrôles descendants (d'après Rattanawong et al., 2022).

neurones de la corne dorsale à partir de la racine dorsale et la fréquence des EPSC spontanés dans le modèle de tranche de moelle épinière. Au contraire, le traitement à la morphine a diminué les EPSC et les courants N-méthyl-D-aspartate (NMDA) évoqués par l'application directe de NMDA. Ces résultats indiquent que le traitement chronique aux opioïdes potentialise l'activité présynaptique, mais altère l'activité postsynaptique des récepteurs à la NMDA dans la moelle épinière (Zhao *et al.*, 2012). Une expansion des champs récepteurs cutanés et des seuils inférieurs de neurones médullaires de la corne dorsale sensibles à la dure-mère ont été observés chez des rats recevant une perfusion soutenue de morphine, indiquant la présence d'une sensibilisation (Okada-Ogawa *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'exposition chronique aux triptans entraîne également une sensibilisation centrale. Chez les rats, l'administration répétée de triptans entraîne une allodynie cutanée dépendante du temps et réversible, ainsi qu'une expression accrue de CGRP dans les afférences dures du trijumeau. Fait intéressant, deux semaines après l'exposition au triptan lorsque les animaux recouvraient leur seuil basal, l'administration d'un donneur de NO entraînait une allodynie cutanée accrue chez les rats et une augmentation du CGRP dans le sang, indiquant la présence d'une sensibilisation latente (De Felice *et al.*, 2010). Le mécanisme sous-jacent à la sensibilisation des nocicepteurs induite par les triptans pourrait être dû à un déficit de l'inhibition médiée par la PKA du couplage oxyde nitrique-Nav1.9, entraînant l'hyperactivité des nocicepteurs méningés et l'inflammation des méninges (Bonnet *et al.*, 2019).

c. Allodynie cutanée

L'allodynie cutanée est définie comme la perception anormale d'une douleur ressentie à la suite d'une stimulation non nociceptive. Pour donner un exemple, une caresse peut vite être ressentie comme douloureuse chez les patients migraineux. Cette caractéristique est retrouvée chez 63,2% des patients migraineux (Lipton *et al.*, 2008). La prévalence de l'allodynie cutanée chez les patients atteints de MC est plus élevée que les estimations pour les populations épisodiques, allant de 40 à 90% (Ashkenazi *et al.*, 2007; Mathew *et al.*, 2016). Il s'agit d'un prédicteur indépendant de l'augmentation du nombre de jours de migraine et un facteur de la transformation de la migraine vers le stade chronique (Buse *et al.*, 2012; Louter *et al.*, 2013).

L'apparition de l'allodynie cutanée céphalique résulte de la sensibilisation centrale du STV. Elle est prédominante du côté de la face où la douleur est la plus sévère mais peut s'étendre aux territoires extra-céphaliques, ce qui suggère une sensibilisation des structures cérébrales, comme le thalamus (Nosedá & Burstein, 2013). L'activation de ces structures peut entraîner une aggravation de l'allodynie céphalique qui peut se prolonger entre les crises de migraine (Dahlöf, 2006). Chez les animaux le terme d'hypersensibilité mécanique sera préféré.

d. La sensibilisation centrale

Une stimulation nociceptive intense, en plus de son effet sur le STV périphérique, répétée et soutenue des afférences trigéminales, peut conduire à l'état d'hyperexcitabilité des neurones centraux du trijumeau, entraînant une sensibilisation centrale. Dans cet état, les neurones centraux vont augmenter leur activité spontanée, réduire leur seuil d'activation et élargir leurs champs récepteurs des neurones nociceptifs (Latremolière & Woolf, 2009). L'allodynie résulterait de ces changements (Rattanawong *et al.*, 2022).

L'activation des récepteurs NMDA joue un rôle crucial dans le développement et le maintien de la sensibilisation centrale, éventuellement par le processus de phosphorylation. La voie proposée implique une libération soutenue de CGRP à partir des axones centraux des neurones ganglionnaires du trijumeau pouvant déclencher l'activation de la cascade de signalisation de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK). La kinase activée favorise la phosphorylation de la sous-unité NR1 du récepteur NMDA, provoquant des changements dans la transduction des canaux et l'excitabilité des neurones postsynaptiques. Ce processus induit par le CGRP facilite la transmission nociceptive et contribue au développement et au maintien d'un état sensibilisé et hypersensible des neurones de transmission de la douleur de second ordre dans le système nerveux central, contribuant ainsi à la sensibilisation centrale (Iyengar *et al.*, 2017).

L'activation de la cascade de signalisation MAPK modifie également le facteur de transcription contrôlant le processus de transcription génétique dans les cellules postsynaptiques. Ce processus conduit à la sensibilisation centrale et pourrait entraîner la progression de la ME vers la MC (Iyengar *et al.*, 2019). La sensibilisation des neurones

trigémino-thalamiques est susceptible d'expliquer l'allodynie cutanée généralisée impliquant les régions extra-céphaliques.

e. Hypothèses de progression de la migraine

i. Problème de seuil

Concernant la physiopathologie de la chronicisation de la migraine, une hypothèse propose qu'elle pourrait être due à un problème de seuil. Pendant la période inter-ictale, c'est-à-dire entre deux crises de migraine, le seuil sensoriel est normal et la probabilité que des stimuli induisent des attaques est faible. Des changements provenant probablement du système limbique (Stankewitz *et al.*, 2011) entraîneraient une diminution des seuils sensoriels qui augmenteraient la sensibilité aux stimuli, entraînant des crises de céphalées. Ainsi, les facteurs de risque, cités ci-avant, pourraient entraîner la diminution du seuil de déclenchement des crises et ainsi augmenter la probabilité des crises de migraine. De plus, l'augmentation de la fréquence des attaques raccourcit la période intercrise de sorte que le seuil ne puisse pas revenir au niveau de base. Cette théorie est étayée par le fait qu'une fréquence d'attaque élevée est elle-même un facteur de risque de chronicisation (Scher *et al.*, 2003; Katsarava *et al.*, 2004). De plus, le processus de sensibilisation centrale pourrait augmenter la susceptibilité des facteurs déclencheurs de migraine et abaisser davantage le seuil.

ii. Inflammation neurogène

La nociception trigéminale, induite notamment *via* l'inflammation neurogène du CGRP, est nécessaire à la progression de la migraine. Edvinsson et ses collaborateurs suggèrent que la stimulation des fibres C lors des crises de migraine répétées, et l'activation des fibres A δ et des cellules ganglionnaires satellites qui en résulte, entraînent une neuroinflammation neurogène dans le STV, favorisant le processus de chronicisation (Edvinsson *et al.*, 2019). Une inflammation répétée et prolongée conduirait à une sensibilisation périphérique puis centrale, entraînant des changements de plusieurs réseaux cérébraux liés à la fois aux comportements douloureux et non douloureux. Le processus de nociception lié à l'inflammation due au CGRP est renforcé lorsque les systèmes endogènes de modulation du TC, en particulier ceux dépendant de la sérotonine, sont altérés (**figure 14**). Notons que les traitements utilisés de

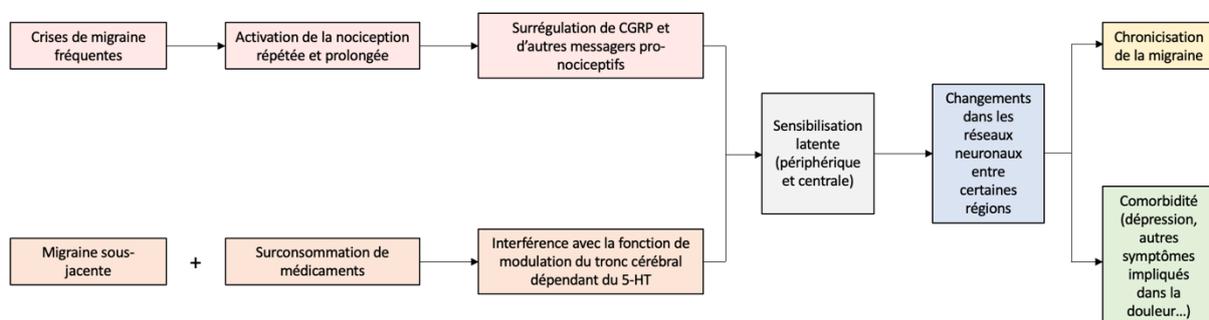


Figure 14 – Mécanismes de progression de la migraine.

Les crises fréquentes de migraine entraînent une nociception inflammatoire répétée et prolongée (induite par le CGRP) et induisent une sensibilisation périphérique puis centrale. L'augmentation de la sensibilité nociceptive du trijumeau entraîne des changements adaptatifs dans les réseaux cérébraux liés aux comportements douloureux ou non. La consommation répétée de médicaments peut altérer les systèmes endogènes de modulation du tronc cérébral, en particulier la dépendance à la sérotonine, pouvant entraîner la chronicisation de la migraine (d'après Rattanawong et al., 2022).

façon chronique peuvent altérer la modulation du système sérotoninergique (comme c'est le cas du sumatriptan, par exemple) et entraîner une augmentation du taux de CGRP, ce qui peut provoquer une sensibilisation de longue durée dans la voie nociceptive du trijumeau. Le dérèglement des voies descendantes de la modulation de la douleur se traduit par une facilitation des voies descendantes, un manque d'accoutumance et favorise la chronicisation de la douleur. Par conséquent, l'association entre l'inflammation répétée et la diminution de la modulation du TC est un mécanisme possible contribuant à la progression de la migraine vers le stade chronique (Rattanawong *et al.*, 2022).

La prévention de la chronicisation est essentielle et nécessite un traitement adéquat des crises individuelles de migraine, l'initiation précoce d'un traitement préventif et la prévention de la surconsommation d'analgésique (May & Schulte, 2016).

VI. Les modèles animaux de migraine

L'étude de la migraine chez l'animal oblige une approche indirecte car il n'existe pas de modèle de migraine à proprement parler. Les modèles existants vont tenter de reproduire un événement de la physiopathologie de la migraine. On retrouve des modèles de CSD, d'inflammation ou de vasodilatation. Le choix du modèle dépend de l'hypothèse de travail et des techniques expérimentales. Dans le cas de l'étude de la FMH, des modèles génétiques ont été développés.

Il reste impossible de prouver qu'un animal souffre de céphalées. Cependant, grâce à des études comportementales, il est possible d'évaluer des symptômes, tels que l'hypersensibilité mécanique cutanée ou allodynie (marqueur de la sensibilisation centrale), la photophobie (aversion à la lumière) ou encore les comportements spontanés de l'animal (rat grimace scale). D'autres techniques comme l'électrophysiologie ou l'immunohistochimie, par exemple, vont plutôt se focaliser sur des marqueurs de la sensibilisation centrale, qui est le reflet de la douleur ressentie par l'animal.

1) Les modèles de CSD

La CSD est considérée comme étant le substrat électrophysiologique de l'aura migraineuse. Elle peut être provoquée expérimentalement par une stimulation mécanique

(e.g. trauma, pin prick), chimique (e.g. KCl, agonistes des récepteurs au glutamate, activateurs de canaux Na^+ ou Ca^{2+}) ou électrique, directement dans un tissu cérébral normalement perfusé et oxygéné (Chen *et al.*, 2017c). Les modèles expérimentaux utilisés pour étudier la CSD sont détaillés dans la partie III-2)b. (s'y référer pour plus de détails).

2) Les modèles de vasodilatation

Les modèles animaux de vasodilatation se rapprochent de la théorie vasculaire puisqu'ils ont pour but de reproduire la vasodilatation des vaisseaux méningés, retrouvée lors d'une crise de migraine. Ce sont essentiellement des donneurs de NO tels que la NTG (Bates *et al.*, 2010), l'isosorbide dinitrate (ISDN) (Dallel *et al.*, 2018), sodium nitropruside (SNP) (Bonnet *et al.*, 2019), administrés par voie intrapéritonéale. L'inconvénient de ce modèle est que ces molécules agissent sur l'ensemble du corps et sont peu spécifiques des méninges. De plus, le NO est soluble et peut avoir des effets délétères sur la BHE, notamment en augmentant sa perméabilité (Thiel & Audus, 2004). Notons que la NTG et l'ISDN sont des molécules administrées chez l'Homme dans le but d'étudier les mécanismes sous-jacents de la migraine (Sicuteri *et al.*, 1987; Bellantonio *et al.*, 1997; Castellano *et al.*, 1998; Sances *et al.*, 2004; Juhász *et al.*, 2004).

Récemment, des modèles utilisant le CGRP administré par voie systémique ont été développés (Wattiez *et al.*, 2019). L'avantage de ce modèle est qu'il est à la fois un modèle de vasodilatation et d'inflammation.

3) Les modèles d'inflammation

L'administration de substances inflammatoires à la surface des méninges est une méthode drastique mais qui a l'avantage d'activer spécifiquement les nocicepteurs méningés (Strassman *et al.*, 1996). Le modèle de « soupe inflammatoire » chez le rongeur (Burstein *et al.*, 1998) est réalisé en appliquant sur les méninges une solution d'histamine, de sérotonine, de prostaglandine et de bradykinine. L'inflammation provoquée va entraîner la libération de substances pro-inflammatoires comme des cytokines, des interleukines ou encore le $\text{TNF-}\alpha$ qui participent au recrutement des macrophages. Cette inflammation active les fibres

nociceptives du STV qui libèrent des neuropeptides comme le CGRP ou la substance P, ce qui favorise une inflammation neurogène (pour revue (Goadsby *et al.*, 2017)).

Un autre modèle d'inflammation, non invasif cette fois, se base sur la dégranulation mastocytaire provoquant la libération massive d'histamine, de protéases et d'autres marqueurs de l'inflammation (Levy *et al.*, 2007). L'administration par voie intrapéritonéale de composé 48/80 (un agent permettant la sécrétion de mastocytes) entraîne la dégranulation de mastocytes durs, une activation des nocicepteurs méningés et une augmentation de l'expression de la protéine c-Fos dans le CTC (Levy *et al.*, 2007; Erdener & Dalkara, 2014).

4) Les modèles génétiques

Les études génétiques de la migraine se basent sur la compréhension du caractère génétique de la FMH. Il existe des modèles de mutations monogéniques de la migraine sur des souris knock-in (KI). Ces mutations vont affecter majoritairement des canaux ioniques ou leurs transporteurs, modifiant ainsi l'équilibre entre l'activité excitatrice et inhibitrice dans le cortex, le rendant plus susceptible de générer des CSD (Pietrobon & Brennan, 2019).

Tout modèle animal possède ses avantages et ses inconvénients. Le but de la recherche étant de se rapprocher au mieux de ce que l'on retrouve chez l'Homme. Notons tout de même que le choix du modèle dépend de l'hypothèse de recherche. Une solution intéressante serait de combiner plusieurs de ces modèles afin de se rapprocher au mieux de la physiopathologie migraineuse.

La migraine est un trouble dont l'origine et les mécanismes d'action sont encore non élucidés et dont l'amélioration de la prise en charge est une priorité. Une nouvelle piste de recherche viserait à améliorer l'efficacité du système opioïde endogène.

Partie II – Le système opioïde endogène et DENKIs

Depuis toujours, les opioïdes sont utilisés en médecine comme analgésiques et euphorisants. Dans les années 70, l'efficacité des opioïdes a été considérablement améliorée grâce aux progrès de la chimie et des neurosciences. La découverte des peptides endogènes et des récepteurs, la synthèse d'opioïdes hyper-sélectifs et puissants tels que le fentanyl et l'héroïne, ont eu à la fois des effets bénéfiques mais aussi néfastes sur la médecine et la société. A l'heure actuelle, les opioïdes restent des analgésiques couramment utilisés dans le traitement des douleurs aiguës sévères, péri-opératoires et chroniques. Au cours des deux dernières décennies, l'utilisation des opioïdes exogènes pour la gestion de la douleur a largement augmentée, notamment aux Etats-Unis, avec la crise des opioïdes. Malheureusement, les opioïdes possèdent de nombreux effets néfastes, incluant la tolérance aux analgésiques, l'hyperalgésie paradoxale, les nausées, les vomissements, la constipation, la dépression respiratoire et la dépendance (Inturrisi, 2002; Volkow & McLellan, 2016; Streicher & Bilsky, 2018).

Le système opioïde endogène est composé de quatre familles de peptides opioïdes, les endorphines, les enképhalines, les dynorphines et la nociceptine, et de quatre familles de récepteurs, le récepteur aux opioïdes μ (MOR), le récepteur aux opioïdes δ (DOR), le récepteur aux opioïdes κ (KOR) et le récepteur à la nociceptine (NOP ou ORL). Les peptides opioïdes et leurs récepteurs ont une distribution étendue mais sélective dans le SNC et en périphérie, en particulier dans les circuits de modulation de la douleur, de récompense, les réponses liées au stress et le contrôle autonome. Alors que l'activation des récepteurs aux opioïdes provoque une inhibition présynaptique et post-synaptique, l'expression différentielle et la localisation stratégique des différents sous-types de récepteurs aux opioïdes, dans les neurones de projection et les interneurons inhibiteurs locaux, offrent un large éventail d'effets comportementaux induits par les opioïdes. Le système opioïde jouerait un rôle important dans les mécanismes d'analgésie supra-spinale, spinale et périphérique, sur les systèmes de récompense liés à l'alimentation, l'addiction et la modulation des émotions et des réponses liées au stress.

I. Les opioïdes endogènes

Les opioïdes endogènes sont des neuromodulateurs qui agissent en modifiant les propriétés électriques d'autres neurones cibles, rendant ainsi ces neurones difficiles à exciter (Winters *et al.*, 2017). Contrairement à d'autres peptides, les peptides opioïdes ont un certain nombre de précurseurs différents. Chaque peptide opioïde a des formes prépro- et pro- qui sont clivées séquentiellement. En fonction des besoins biologiques cellulaires, ils sont modifiés par des événements post-traductionnels, notamment l'acétylation, la glycosylation, la phosphorylation et la méthylation. Ce type de modifications est une étape critique dans la régulation régionale du système opioïde car il modifie leur puissance, leur profil pharmacologique, leur affinité pour les récepteurs ou leur sélectivité. Les peptides opioïdes partagent une séquence amino-terminale commune appelée motif opioïde, qui est Tyr-Gly-Gly-Phe (Abrimian *et al.*, 2021) et qui interagit avec les 3 types de récepteurs opioïdes (Benarroch, 2012).

Il existe quatre familles de ligands opioïdes endogènes : les β -endorphines, les enképhalines, les dynorphines et la nociceptine/orphanine FQ. Ces ligands sont largement distribués dans le SNC, en particulier dans les voies de la douleur. Ces peptides opioïdes sont conditionnés dans le soma des vésicules à noyau dense et transportés vers les terminaisons axonales. Au cours de ce processus, l'épissage enzymatique des pré-propeptides aboutit à la formation de divers transmetteurs peptidiques spécifiques aux récepteurs. La β -endorphine est dérivée de la molécule mère appelée pro-opiomélanocortine (POMC), fortement exprimée dans le noyau arqué et dans le NTS (Lazarus *et al.*, 1976; Bloom *et al.*, 1978). La POMC est clivée en deux molécules, la pro-opiocorticotropine ou l'adréno-corticotropine (ACTH), qui sont ensuite de nouveau décomposées en β -endorphine, en hormone stimulatrice des mélanocytes α (α -MSH) et en hormone de libération de la corticotropine (**figure 15**). Ces peptides vont agir respectivement sur les récepteurs aux opioïdes μ (MOR), à la mélanocortine et à la corticotropine. De plus, la β -endorphine peut être clivée en met-enképhaline ayant une

Précurseur	Opiïde endogène	Séquence peptidique	Affinité pour les récepteurs opioïdiques
Pro-enképhaline	[Met]enképhaline [Leu]enképhaline	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Arg-Phe Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Arg-Gly-Leu	δ, μ ($\delta >> \mu$)
Pro-opiomélanocortine	β -endorphine	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu	δ, μ ($\delta = \mu$)
Pro-dynorphine	Dynorphine A Dynorphine A(1-8) Dynorphine B α -néo-endorphine β -néo-endorphine [Leu]enképhaline	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Gln-Phe-Lys-Val-Val-Thr Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Pro-Lys Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Pro Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu	δ, μ, κ ($\kappa >> \mu$ et δ)
Pro-nociceptine	Nociceptine	Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln	ORL
Inconnu	Endorphine-1 Endorphine-2	Tyr-Pro-Trp-Phe-NH ₂ Tyr-Pro-Phe-Phe-NH ₂	μ

Tableau 7 – Peptides opioïdes endogènes, séquences peptidiques et leur affinité pour les récepteurs aux opioïdes (d'après Janecka et al., 2004)

affinité pour les DOR et les MOR (**tableau 7**). Similaires à la β -endorphine, les enképhalines et les dynorphines proviennent de molécules plus grosses. La pré-pro-enképhaline (PENK) est clivée en met- ou leu-enképhaline (**figure 15**) (Bower *et al.*, 1976). La pré-prodynorphine (PDYN) quant à elle, peut être clivée en plusieurs ligands sélectifs des KOR, notamment en dynorphine-A(1-17), dynorphine-B(1-13) et l' α -néo-endorphine (**figure 15**). La dynorphine peut aussi être clivée en leu-enképhaline et en dynorphine A, capable de se lier aux MOR, DOR et KOR (Goldstein *et al.*, 1979; Chavkin, 2013) (**tableau 7**). La nociceptine est dérivée de la pré-pronociceptine (PNOC) et a une affinité plus élevée pour le NOP comparé aux autres récepteurs opioïdes (Meunier *et al.*, 1995). Contrairement à la transmission synaptique des petites molécules comme le glutamate ou la dopamine, les opioïdes dépendraient d'une libération volumétrique dans les espaces synaptiques et extra-synaptiques et diffuseraient vers leurs récepteurs (Duggan, 2000; Banghart & Sabatini, 2012).

Il existe une organisation différentielle des voies opioïdes endogènes dans le SNC (**figure 16**) (Maldonado, 2010; Nandhu *et al.*, 2010). Les neurones POMC, synthétisant la β -endorphine sont localisés au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus et dans le NTS et projettent sur le SNC. En revanche, PENK, PDYN et PNOC sont exprimés dans des neurones locaux répartis à plusieurs niveaux du SNC (hippocampe (HPC), le thalamus, ganglions de la base, l'hypothalamus, PAG, l'aire tegmentale ventrale (VTA), RVM et les couches superficielles de la corne dorsale et du Sp5C. Ces neurones opioïdes locaux ont une distribution hétérogène ; par exemple, PENK est abondamment exprimé dans le thalamus et PDYN dans l'HPC, l'hypothalamus et le noyau accumbens. Dans de nombreuses régions, les opioïdes sont coexprimés avec d'autres neurotransmetteurs. PENK et PDYN sont exprimés dans 2 sous-populations différentes de neurones GABAergiques dans le striatum et les enképhalines sont coexprimées avec des marqueurs de neurones GABAergiques ou glutamatergiques dans les couches superficielles de la corne dorsale (Samadi *et al.*, 2006; Marvizón *et al.*, 2009; Blomeley & Bracci, 2011; Benarroch, 2012).

Neurones synthétiseurs d'opioïdes

Récepteurs aux opioïdes

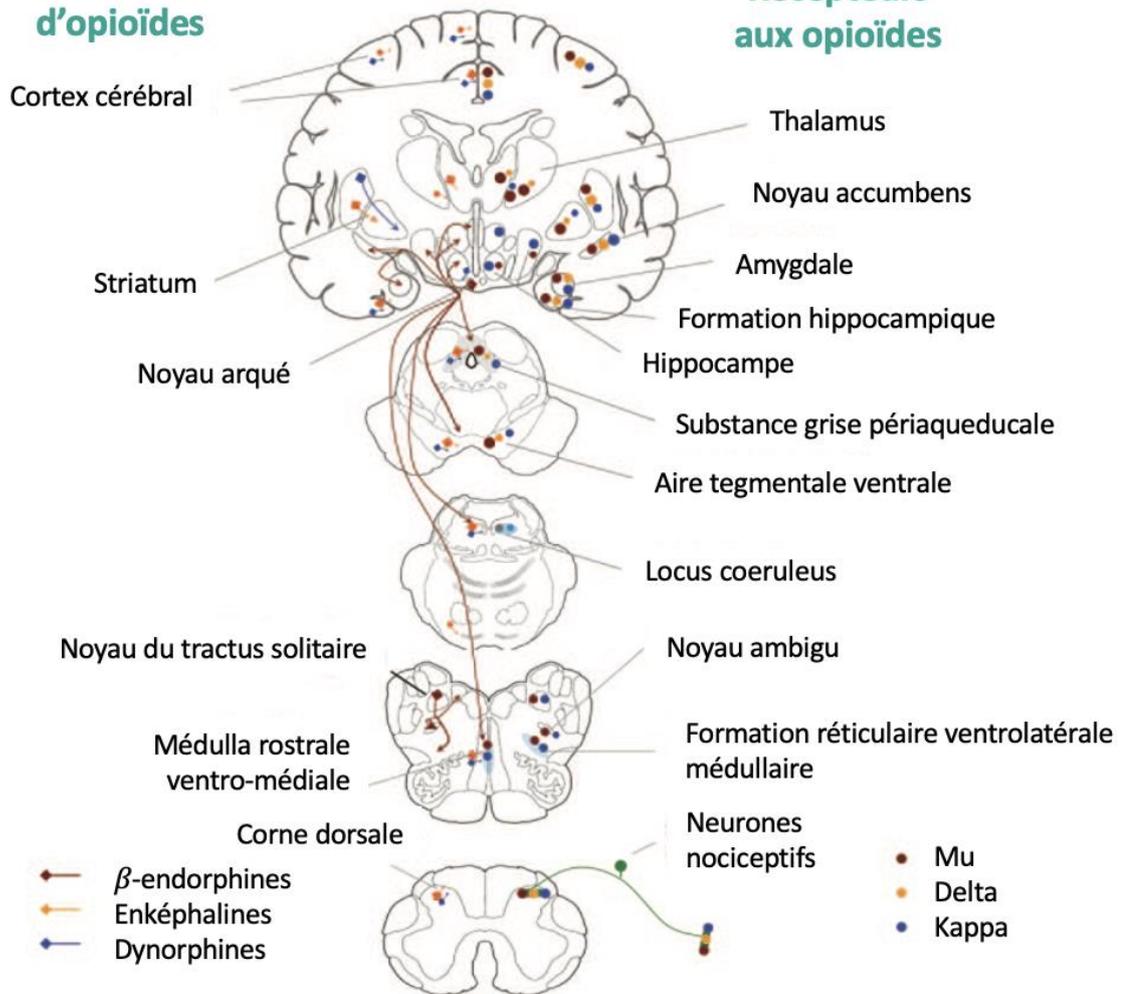


Figure 16 – Distribution des peptides opioïdes et leurs récepteurs dans le système nerveux central (d'après Benarroch., 2012).

II. Les récepteurs aux opioïdes

Le système opioïde endogène comprend quatre récepteurs couplés aux protéines G transmembranaires : le récepteur aux opioïdes μ (MOR), codé par le gène *OPRM1* ; le récepteur aux opioïdes δ (DOR), codé par le gène *OPRD1*, le récepteur aux opioïdes κ (KOR), codé par le gène *OPRK1* (**tableau 8**) et le récepteur à la nociceptine (NOP), codé par le gène *OPRL1* (Al-Hasani & Bruchas, 2011; Toll *et al.*, 2016). Les trois premiers types de récepteurs sont pharmacologiquement bloqués par la naloxone. Cependant, il existe des sous-types pour ces récepteurs, définis par leur affinité pour une variété d'agonistes et d'antagonistes. Par exemple, les MOR comprennent les récepteurs μ_1 , responsables de l'analgésie supra-spinale, et les récepteurs μ_2 , intervenant dans le déclenchement de la dépression respiratoire et des myosis (rétrécissement de la pupille). Des études pharmacologiques montrent que les β -endorphines agissent principalement *via* les MOR et les DOR, les enképhalines agissent majoritairement *via* les DOR et les dynorphines *via* les KOR. La nociceptine se lie aux NOP, qui ont une faible affinité pour les agonistes et antagonistes sélectifs des opioïdes (Mika *et al.*, 2011) (**tableau 7**).

1) Distribution anatomique des récepteurs aux opioïdes

Les récepteurs aux opioïdes sont largement mais différemment exprimés dans le SNC, y compris dans le cortex cérébral, le système limbique, les ganglions de la base, le TC, la corne dorsale de la moelle épinière, ainsi que dans les ganglions de la racine dorsale et le système nerveux entérique (**figure 16**). Le récepteur μ est le plus abondant dans l'AMG, le thalamus et le tronc cérébral. Le récepteur δ est plus exprimé au niveau du cortex cérébral, du système olfactif, du striatum et du cortex limbique et le récepteur κ est retrouvé dans le claustrum, le striatum et l'HYPOTHALAMUS. Ces trois sous-types sont retrouvés dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière et au niveau du Sp5C (Benarroch, 2012). La distribution anatomique globale des peptides et des récepteurs suggère qu'il existe deux systèmes ligand/récepteurs opioïdes fonctionnellement distincts, un système β -endorphines-enképhaline/ μ - δ et un système dynorphines/ κ et nociceptine/NOP ; ces deux systèmes ayant

	μ	δ	κ
Nomenclatures retrouvées	MOR, MOP, OP3	DOR, DOP, OP1	KOR, KOP, OP2
Gène	OPRM1	OPRD1	OPRK1
Distribution	Cortex cérébral Tronc cérébral Corne dorsale de la moelle épinière Neurones des ganglions de la racine dorsale	Cortex cérébral Thalamus Striatum Corne dorsale de la moelle épinière Neurones des ganglions de la racine dorsale	Hippocampe Striatum Hypothalamus Tronc cérébral Corne dorsale de la moelle épinière
Agoniste endogène principal	β -endorphine Met-enképhaline	Enképhalines	Dynorphine A
Effets dans l'analgésie	Analgésie spinale et supra-spinale	Analgésie spinale et supra-spinale	Analgésie spinale
Effets sur les mécanismes de récompense et d'addiction	Facilitateur	Facilitateur	Inhibiteur
Effets sur les comportements	Sédation Euphorie	Sédation Anti-dépresseur	Psychomimétique Sédation Dysphorie
Autres effets	Dépression respiratoire Myosis Vomissements Rétention urinaire Constipation	Neuroprotection	Protection contre les convulsions

Tableau 8 – Récepteurs aux opioïdes, ligands, distribution anatomique et leurs effets.

des effets différents sur la modulation nociceptive et comportementale (**tableau 7**) (Benarroch, 2012).

Les récepteurs aux opioïdes sont principalement situés au niveau présynaptique (Baldi *et al.*, 1982).

Les MOR et les DOR ont des propriétés analgésiques importantes et sont fortement exprimés dans les ganglions de la racine dorsale (DRG). Chez l'Homme, les DOR spinaux sont presque exclusivement localisés sur les terminaisons centrales des neurones DRG, au niveau des couches superficielles (Mennicken *et al.*, 2003), alors que chez les rongeurs, ils sont exprimés à la fois sur les terminaisons présynaptiques et sur les neurones spinaux (Quirion *et al.*, 2022). Les DOR sont majoritairement exprimés dans les neurones myélinisés (fibres A β et A δ), même si on en retrouve, en faible quantité dans les fibres C, tandis que les MOR sont retrouvés au niveau des fibres de petits diamètres peptidergiques et non peptidergiques (fibres C) (Quirion *et al.*, 2022).

Notons que peu d'études jusqu'alors se sont intéressées à l'expression des DOR dans le CTC. Cependant, le groupe de Pradhan a montré que les DOR étaient présents au niveau du TG et du CTC (Moye *et al.*, 2021). Les MOR sont également présents au niveau du CTC (Aicher *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2020).

2) Activation des récepteurs aux opioïdes

a. Mécanisme de transduction

Les récepteurs aux opioïdes appartiennent à la superfamille des RCPG et produisent leurs effets cellulaires *via* leur couplage avec les sous-unités G_i/G_o, entraînant des cascades de transduction. L'activation des récepteurs opioïdes conduit à l'inhibition de l'adénylate cyclase (et donc de l'AMPc), de canaux calciques voltage dépendant et l'activation de canaux potassiques rectifiant vers l'intérieur. Au niveau cellulaire, toutes les actions provoquent une inhibition présynaptique de la libération de neurotransmetteurs, une hyperpolarisation post-synaptique et une diminution de l'excitabilité neuronale. Les récepteurs aux opioïdes activent également la voie des MAPK ainsi qu'une signalisation intracellulaire *via* des voies indépendantes de la protéine G (Trescot *et al.*, 2008; Benarroch, 2012).

b. Interaction des récepteurs

Il existe des interactions complexes entre les différents types de récepteurs opioïdes. En général, les DOR ont des similitudes fonctionnelles, une synergie et une coopération avec les MOR. Les MOR peuvent former des hétérodimères avec les DOR et les KOR (Cahill *et al.*, 2007; Vanderah, 2010; van Rijn *et al.*, 2010). Ces interactions peuvent affecter le trafic des récepteurs, leurs expressions à la surface des cellules et leurs effets en aval. L'inflammation et des traitements prolongés d'agonistes des MOR peuvent conduire à la translocation des DOR à la membrane et peuvent favoriser la dimérisation de ces deux récepteurs (Cahill *et al.*, 2007; Vanderah, 2010). Les KOR peuvent potentialiser les MOR (Chakrabarti *et al.*, 2010), mais ils peuvent également s'opposer fonctionnellement à d'autres effets médiés par les MOR et avoir des effets synergiques avec les NOP (Mika *et al.*, 2011). Notons que les récepteurs aux opioïdes peuvent coopérer avec d'autres RCPG tels que les récepteurs α -2 adrénergiques (Stone & Wilcox, 2004; Overland *et al.*, 2009) et récepteurs cannabinoïdes (CB1) (López-Moreno *et al.*, 2010; Parolaro *et al.*, 2010; Benarroch, 2012).

c. Désensibilisation

L'activité des récepteurs opioïdes, par les opioïdes exogènes, est limitée par la désensibilisation (**figure 17**). Il s'agit d'un processus complexe de régulation par rétroaction, comprenant la phosphorylation des récepteurs, le découplage de la protéine $G_{i/o}$ et l'internalisation par endocytose. Plusieurs kinases, telle que la kinase RCPG, peuvent phosphoryler les récepteurs aux opioïdes, conduisant à une affinité accrue pour les molécules d'arrestine intracellulaire, la formation de complexes récepteurs arrestine-opioïdes empêchant le couplage de la protéine G et favorisant l'internalisation des récepteurs *via* des voies dépendantes de la clathrine. Les MOR sont rapidement recyclés à la surface de la cellule, tandis que les DOR sont ciblés pour la dégradation lysosomale. La perturbation de la formation des hétérodimères MOR/DOR atténue significativement la tolérance aux effets antinociceptifs de la morphine. Notons que différents agonistes des récepteurs aux opioïdes peuvent déclencher différents degrés de couplage de l'arrestine, d'internalisation des récepteurs et de désensibilisation. Cette sélectivité fonctionnelle est nommée agonisme biaisé (Frölich *et al.*, 2011) et serait un mécanisme important de tolérance aux effets analgésiques,

Signalisation *via* la protéine G

Signalisation *via* l'arrestine

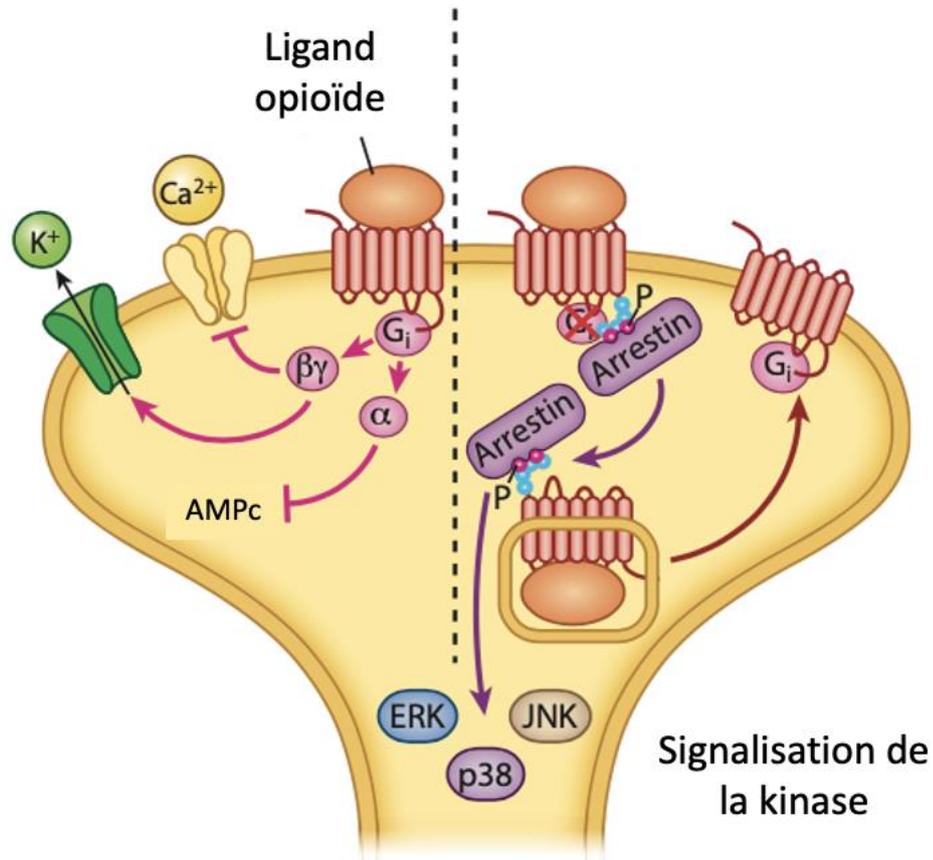


Figure 17 - Voie de signalisation des récepteurs opioïdes.

La liaison des ligands aux récepteurs opioïdes provoque des changements conformationnels favorisant le recrutement de la protéine G et l'hyperpolarisation de la cellule liée à l'ouverture des canaux K⁺ et la fermeture de canaux Ca²⁺. La désensibilisation des récepteurs s'effectue par l'internalisation via l'arrestine (d'après Corder *et al.*, 2018).

comportementaux et autres effets de ces médicaments (Pradhan *et al.*, 2010; Benarroch, 2012).

d. Conséquences fonctionnelles de l'activation des récepteurs aux opioïdes

Les opioïdes exercent divers effets selon la distribution pré- ou post-synaptique de leurs récepteurs dans les neurones de projection ou locaux. Par exemple, dans la corne dorsale et à la périphérie, les MOR et DOR présynaptiques inhibent la libération de glutamate, de substance P et de CGRP dans les afférences nociceptives primaires (Benarroch, 2012). Au niveau du cortex cérébral, tous les récepteurs opioïdes inhibent de manière pré-synaptique la libération de glutamate. Dans la PAG ou la VTA, l'activation des MOR et DOR provoque un effet facilitateur des neurones descendants en inhibant la libération de GABA par les neurones inhibiteurs locaux (Benarroch, 2012).

III. Les opioïdes endogènes et leurs récepteurs dans la modulation de la douleur

Une des fonctions principales des peptides opioïdes endogènes est de moduler les réponses à la douleur. Cette partie est consacrée aux circuits modulateurs descendants de la douleur, composés principalement des projections allant de la PAG vers la RVM. Les projections de la RVM modulent les afférences nociceptives entrantes au niveau de la ME et du CTC (Bagley & Ingram, 2020).

1) Mécanismes supra-spinaux

Les opioïdes endogènes tels que la met- et la leu-enképhalines, les dynorphines et les β -endorphines sont largement exprimés dans le cerveau (Bodnar, 2013; Gu *et al.*, 2017) et dans le circuit modulateur descendant de la douleur (Finley *et al.*, 1981; Moss *et al.*, 1983; Del Río *et al.*, 1983).

a. Amygdale

Le noyau central de l'AMG (CeA) joue un rôle dans la modulation descendante de la douleur, notamment grâce à ses projections vers la PAG. Cette dernière envoie des projections

aux sous-régions latérale (CeL) et médiale du CeA (CeM) (Li & Sheets, 2018) et réciproquement (Oka *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2019), plus particulièrement vers la vl-PAG.

La stimulation électrique du CeA entraîne une analgésie (Oliveira & Prado, 2001). De plus, l'analgésie induite par les opioïdes nécessite un CeA intact chez les rongeurs et les primates (Manning, 1998; Manning *et al.*, 2001) et l'injection d'agonistes aux MOR et aux DOR dans le CeA, comme la morphine (Helmstetter *et al.*, 1993; Pavlovic *et al.*, 1996), produit une analgésie. Les opioïdes endogènes agissant dans le CeA produisent une analgésie modérée (Valverde *et al.*, 1996). L'analgésie résultant de la stimulation électrique du CeA résulte de l'action des neurones de sortie du CeA stimulant la libération d'opioïdes dans la PAG (Pavlovic *et al.*, 1996; Oliveira & Prado, 2001).

Le niveau d'activité des neurones du CeA, projetant vers la PAG, est déterminé à la fois par leur activation *via* les entrées synaptiques glutamatergiques et par leur inhibition *via* les entrées synaptiques GABAergiques. L'activation des MOR inhiberait la libération de GABA sur environ 60% des neurones du CeA se projetant vers la PAG tout en laissant la libération de glutamate pratiquement incontrôlée, avec des effets inhibiteurs observés dans seulement 23% des cellules (Finnegan *et al.*, 2005). Ceci suggère que, comme dans la PAG (Vaughan & Christie, 1997), les agonistes des MOR activent la voie modulatrice descendante de la douleur par désinhibition des neurones du CeA allant vers la PAG.

Les enképhalines et la β -endorphine sont exprimées dans l'AMG (**figure 18**). Des niveaux très modestes de fibres β -endorphines positives, provenant probablement d'entrées hypothalamiques, sont trouvés dans toute l'AMG (Gray *et al.*, 1984). Les enképhalines sont exprimées à des niveaux élevés dans le CeA, avec une expression plus élevée dans le CeL, (Gray *et al.*, 1984; Poulin *et al.*, 2006) et dans l'une de ses principales zones d'entrée, les cellules intercalées de l'AMG (Jacobsen *et al.*, 2006). Il est possible que l'un ou l'autre des opioïdes endogènes puisse participer à l'activation de la voie descendante. Cependant, les enképhalines joueraient un rôle plus important dans l'activation des projections médiées par

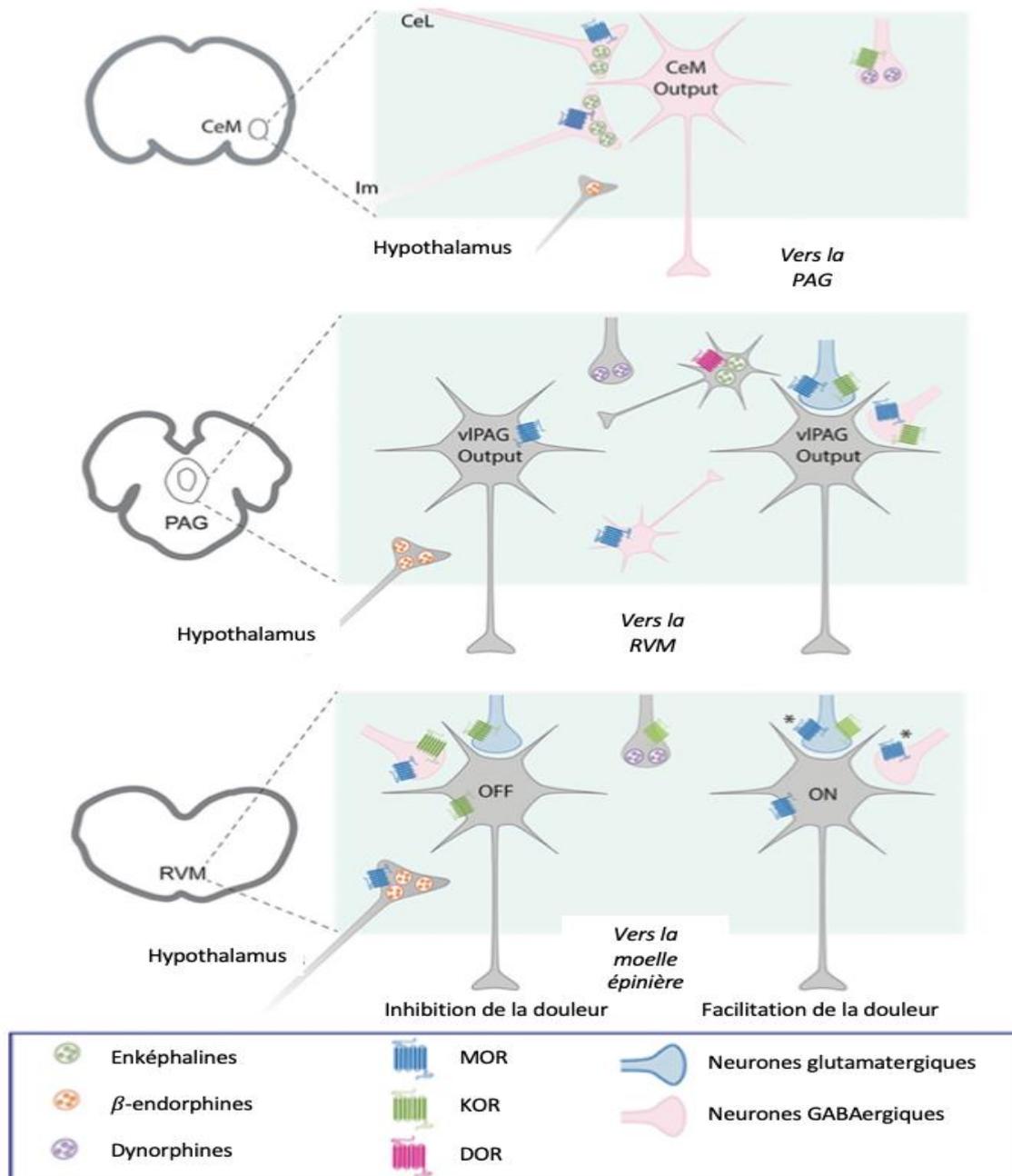


Figure 18 – Distribution des opioïdes endogènes et leurs récepteurs dans le noyau médial de l'amygdale (CEM) la PAG et la RVM chez le rat (d'après Bagley & Ingram, 2020).

*Figure 18 (suite) – **AMG** (amygdale) (encadré du haut) : les peptides opioïdes endogènes sont libérés dans le noyau centro-médian (CeM). Les enképhalines sont probablement libérées par des neurones centro-latéraux (CeL) et de l'îlot principal des cellules intercalées (Im), alors que la β -endorphine est libérée par les terminaisons hypothalamiques, la source de dynorphine n'est pas définie. Le récepteur opioïde prédominant exprimé dans le CeM est le MOR dont l'activation inhibe la libération de GABA dans le CeM. Les KOR sont également exprimés sur les neurones GABA.*

***PAG** (encadré du milieu) : les peptides opioïdes endogènes sont libérés dans la PAG à partir des terminaisons issues de l'AMG et de l'HT. Les MOR hyperpolarisent les neurones via l'activation des canaux potassiques couplés aux protéines G (GIRK). Les MOR sont également exprimés sur les terminaisons présynaptiques glutamatergiques et GABAergiques provenant de l'extérieur de la PAG et inhibent la libération de neurotransmetteurs. Les KOR sont également exprimés sur les terminaisons présynaptiques.*

***RVM** (encadré du bas) : les cellules OFF sont insensibles aux opioïdes et cellules ON sont directement hyperpolarisées par les agonistes MOR. Une partie des cellules OFF sont inhibées par les agonistes KOR. Les récepteurs MOR et KOR inhibent la libération présynaptique de glutamate et de GABA sur les deux types de cellules (d'après Bagley and Ingram, 2020).*

le CeA allant vers la PAG. En effet, l'expression d'enképhalines dans le CeA et dans les cellules intercalées est significativement plus élevée (Gray *et al.*, 1984; Poulin *et al.*, 2006). La dynorphine, empêcherait l'inhibition GABAergique sur les neurones du CeM par leurs actions au niveau des KOR (Gilpin *et al.*, 2014) bien que l'on ne sache pas si ces neurones du CeM projettent vers la PAG (Finnegan *et al.*, 2005).

Les opioïdes endogènes qui produisent une analgésie dans le CeA pourraient être libérés soit par des cellules du CeA elles-mêmes, soit par des neurones intercalés (Poulin *et al.*, 2006; Jacobsen *et al.*, 2006; Bagley & Ingram, 2020).

b. PAG

i. Les opioïdes endogènes dans la PAG

Les terminaisons contenant des enképhalines sont présentes dans toute la PAG mais plus particulièrement dans la vl-PAG. Ces terminaisons sont concomitantes à la fois aux terminaisons des neurones GABAergiques mais aussi non-GABAergiques, ainsi qu'aux neurones de projection allant de la PAG vers la RVM (Williams & Beitz, 1990). Une partie des neurones de projection PAG-RVM exprime des MOR et DOR (Osborne *et al.*, 1996; Wang & Wessendorf, 2002) indiquant que les opioïdes endogènes inhibent directement certains neurones de sortie du circuit PAG-RVM. L'origine des terminaisons des enképhalines n'est pas complètement caractérisée mais les neurones exprimant les enképhalines sont répartis dans la PAG (Moss *et al.*, 1983; Williams & Dockray, 1983). Des études de coloration par immunohistochimie des enképhalines, menées chez le singe et le rat, montrent de nombreuses similitudes (Haber & Elde, 1982a, 1982b). Fait intéressant, certains neurones contenant des enképhalines dans la PAG envoient des projections à l'AMG (Li *et al.*, 1990a) et au noyau accumbens (Li *et al.*, 1990b), indiquant que la libération d'opioïdes dans ces zones pourrait aider à coordonner les réponses à la douleur dans les structures supérieures.

Les fibres provenant du noyau arqué de l'hypothalamus, contenant de la β -endorphine, se projettent fortement vers la PAG (Finley *et al.*, 1981; Ibata *et al.*, 1985; Sim & Joseph, 1991). La stimulation du noyau arqué augmente la libération de β -endorphine dans la PAG (Bach & Yaksh, 1995; Sun *et al.*, 2007), mais la stimulation de la PAG augmente principalement la libération de met-enképhaline (Bach & Yaksh, 1995). La met-enképhaline et

la β -endorphine sont des agonistes complets des MOR (Alt *et al.*, 1998). La stimulation nociceptive augmente la libération de peptides opioïdes dans la vl-PAG (Del Río *et al.*, 1983; Williams *et al.*, 1995). La libération de β -endorphine dans la PAG est associée à une analgésie induite par le stress (Külling *et al.*, 1989), ainsi qu'à des lésions périphériques (Nakamura *et al.*, 2013). Le système opioïde endogène répond aux situations douloureuses en activant les récepteurs opioïdes dans la PAG, mais les rôles physiologiques des différents peptides ne sont pas clairement établis.

ii. Les récepteurs aux opioïdes dans la vl-PAG

En plus des niveaux élevés de MOR, les neurones de la PAG expriment également des DOR et des KOR (**figure 18**), ainsi que les NOP (Mansour *et al.*, 1995; Kalyuzhny & Wessendorf, 1998; Chiou *et al.*, 2002; Bobeck *et al.*, 2016). Les DOR sont localisés au niveau des terminaisons contenant des enképhalines (Commons *et al.*, 2001) et peuvent agir comme autorécepteurs. Des marquages au niveau des terminaisons des neurones non-GABA exprimant les DOR font synapse sur les neurones GABAergiques dans la vl-PAG, ce qui suggère qu'ils inhiberaient les entrées de glutamate sur les neurones GABAergiques (Commons *et al.*, 2001). Ainsi, ils pourraient contribuer à l'analgésie en diminuant l'excitation des neurones GABAergiques intrinsèques à la PAG.

La colocalisation des ARNm et des protéines MOR et KOR est observée à la fois dans la PAG et la RVM (Gutstein *et al.*, 1998), bien que des micro-injections d'opioïdes exogènes (tels que la morphine) dans la PAG produisent une antinociception robuste (Cheng *et al.*, 1986; Morgan *et al.*, 2006) principalement *via* les MOR (Bodnar *et al.*, 1988; Smith *et al.*, 1988; Fang *et al.*, 1989; Ossipov *et al.*, 1995). Notons qu'à ce jour, les rôles physiologiques des KOR dans la PAG sont méconnus.

Les MOR sont exprimés à la fois aux niveaux pré- et post-synaptiques dans la vl-PAG. La liaison des opioïdes aux MOR post-synaptiques active les canaux GIRK qui hyperpolarisent une sous-population de neurones de la PAG (Chieng & Christie, 1994; Vaughan *et al.*, 2003; Ingram *et al.*, 2007), y compris certains neurones de sortie allant de la PAG vers la RVM (Osborne *et al.*, 1996). Les MOR post-synaptiques se couplent également aux canaux calciques et inhibent leur activation (Connor & Christie, 1998; Bagley & Ingram, 2020).

c. RVM

La PAG envoie de denses projections à la RVM qui va par la suite intégrer des informations provenant des zones corticales et sous-corticales. La RVM constitue la sortie prédominante du circuit modulateur descendant de la douleur vers la ME (Heinricher & Ingram, 2008). Les opioïdes présents au niveau de la RVM vont provoquer une antinociception (Dickenson *et al.*, 1979; Azami *et al.*, 1982) en réduisant la pause des cellules OFF de la RVM (Heinricher *et al.*, 1992, 1994). Le déclenchement des cellules ON est corrélé à l'hyperalgésie et l'injection systémique de morphine réduit le déclenchement des cellules ON (Barbaro *et al.*, 1986; Heinricher *et al.*, 1992). Des fibres denses contenant des enképhalines communiquent avec les cellules ON de la RVM (Mason *et al.*, 1992), fournissant un substrat anatomique pour la modulation des cellules ON par des peptides opioïdes endogènes (**figure 18**).

Les enképhalines sont également répandues dans la RVM (Guthrie & Basbaum, 1984; Khachaturian *et al.*, 1983; Williams & Dockray, 1983). Les neurones de la RVM expriment les MOR, les DOR et les KOR à des niveaux inférieurs à ceux de la PAG (Kalyuzhny *et al.*, 1996; Gutstein *et al.*, 1998; Wang & Wessendorf, 1999; Drake *et al.*, 2007). L'activation de ces récepteurs entraîne des actions pré- et post-synaptiques dans la RVM (Pan *et al.*, 1990; Pan & Fields, 1996) entraînant l'inhibition directe des cellules ON et l'activation indirecte des cellules OFF (Cheng *et al.*, 1986; Heinricher *et al.*, 1987, 1989).

Les MOR et les DOR pourraient interagir dans la RVM (Marinelli *et al.*, 2005), en particulier dans les états de douleur chronique, *via* la contribution des enképhalines (Hurley & Hammond, 2001).

Les entrées descendantes de la RVM vers la ME ont été étudiées grâce à des travaux utilisant un traçage rétrograde dans des lignées de souris transgéniques (Cai *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; François *et al.*, 2017). L'expression sélective de marqueurs dans les neurones de la RVM exprimant les enképhalines se trouve au niveau de la RVM, dans des circuits descendants impliqués dans la modulation des réponses aux stimuli nociceptifs. Certains des neurones de la RVM coexpriment le GABA et les enképhalines, et l'élimination de ces neurones pourrait augmenter l'hypersensibilité aux stimuli nociceptifs chez les souris (Zhang *et al.*, 2015). Les MOR et les DOR sont exprimés dans une sous-population de neurones

de la RVM qui projette vers la ME chez le rat (Kalyuzhny *et al.*, 1996; Wang & Wessendorf, 1999), mais on ne sait pas quelles contributions ces neurones ont dans le contrôle de la douleur descendante.

Ensemble, ces résultats suggèrent que les opioïdes endogènes permettent des réponses réduites à la douleur attendue (Eippert & Tracey, 2014).

2) Mécanismes spinaux

Les enképhalines et les dynorphines sont présentes dans différentes populations de neurones de la corne dorsale, mais aucune preuve claire ne permet de confirmer l'expression de l'endorphine dans la corne dorsale (Marvizón *et al.*, 2009). De plus, la dynorphine est présente dans certaines fibres C. Les enképhalines peuvent être colocalisées avec le GABA ou le glutamate dans les interneurons de la corne dorsale (Marvizón *et al.*, 2009). Les MOR, DOR, KOR et NOP sont exprimés dans la corne dorsale de la ME et dans les afférences nociceptives primaires des neurones DRG. Les MOR et DOR sont également exprimés au niveau du CTC (Aicher *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2020; Moye *et al.*, 2021). Ces 2 récepteurs produisent une analgésie à la fois par des mécanismes présynaptiques et postsynaptiques. Ils peuvent également interagir dans la ME (Benarroch, 2012).

3) Mécanismes périphériques

Plusieurs études indiquent que les récepteurs opioïdes situés à la périphérie contribuent aux effets analgésiques des opioïdes administrés par voie systémique (Rachinger-Adam *et al.*, 2011). Ils sont exprimés dans les afférences nociceptives primaires mais sont fonctionnellement inactifs en conditions basales. Cependant, les récepteurs opioïdes périphériques sont surexprimés et induisent des effets antinociceptifs dans le cadre de l'inflammation. L'inflammation déclenche la synthèse et le transport axonal des MOR dans les neurones des DRG ; ce processus dépend à la fois de l'activité neuronale et de la production de cytokines pro-inflammatoires, de facteur de croissance nerveuse et de bradykinine. L'inflammation des tissus périphériques favorise également la migration des leucocytes contenant des peptides opioïdes tels que la β -endorphine et les enképhalines. Les chimiokines, les cytokines, le facteur de libération de la corticotropine et les catécholamines

libérées par les terminaisons sympathiques facilitent la libération d'opioïdes par les leucocytes, ce qui favorise les effets analgésiques et immunomodulateurs *via* les récepteurs opioïdes situés à la périphérie. Notons que les MOR et les DOR sont également retrouvés au niveau des ganglions trigéminaux (Zhang *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2016; Bagues *et al.*, 2017; Moye *et al.*, 2021).

4) Rôle des opioïdes dans la migraine

La compréhension des mécanismes sous-jacents de la migraine est encore limitée et, comme pour d'autres affections douloureuses, les récepteurs opioïdes semblent jouer un rôle important dans la régulation de la céphalée.

Les opioïdes exogènes comme la morphine sont souvent prescrits aux USA dans le traitement de la migraine (Bigal & Lipton, 2009) et ces analgésiques agissent principalement par le biais des MOR (Borsodoni *et al.*, 2019). Cependant, la consommation d'opioïdes peut entraîner une augmentation paradoxale de la douleur, soit l'hyperalgésie induite par les opioïdes (Hayhurst & Durieux, 2016), classée comme CAM (Anon, 2018). Dans ce cas, les opioïdes entraînent initialement un soulagement des crises, mais à long terme, ils peuvent entraîner une augmentation de la fréquence et de l'intensité des céphalées (Bigal & Lipton, 2009; Buse *et al.*, 2012). Les CAM sont difficiles à traiter et peuvent entraîner une dépendance et un abus d'opioïdes, ce qui a contribué à la crise sanitaire des opioïdes aux USA (Reid *et al.*, 2002; Colás *et al.*, 2004; Diener *et al.*, 2016)

Sur le plan épidémiologique, les preuves montrent que l'utilisation excessive d'opioïdes peut faciliter la transition de la migraine épisodique vers la migraine chronique (Bigal & Lipton, 2009) et augmenter l'incapacité associée (Buse *et al.*, 2012).

Les DOR ont été identifiés comme une nouvelle cible thérapeutique pour les troubles de la céphalée (Charles & Pradhan, 2016).

Bien que les agonistes DOR ne soient pas très efficaces dans les modèles de douleur aiguë, des résultats ont montré que trois agonistes DOR sélectifs différents, SNC80, ARM390 et JNJ20788560, inhiberaient l'allodynie mécanique associée à la migraine induite par la NTG (Pradhan *et al.*, 2014). Un autre groupe a confirmé que le SNC80 pouvait bloquer les effets de

la NTG, sur l'hyperalgésie thermique (Dripps *et al.*, 2018). Il est important de noter que les agonistes qui favorisent à la fois l'internalisation élevée (SNC80) et faible (ARM390) des DOR étaient actifs dans ce modèle de migraine, ce qui indique qu'il ne s'agit pas d'un effet biaisé par le ligand (Vicente-Sanchez & Pradhan, 2018). Ces études indiquent que les agonistes DOR peuvent être efficaces comme agents thérapeutiques contre la migraine aiguë.

Les agonistes DOR se sont révélés aussi être efficace dans un certain nombre de modèles de douleur chronique, y compris dans des modèles de douleur inflammatoire et neuropathique (Martin *et al.*, 2003; Vicente-Sanchez *et al.*, 2016). De plus en plus de preuves indiquent que les DOR sont fonctionnellement régulés positivement pendant les états de douleur chronique (Nadal *et al.*, 2006; Cahill *et al.*, 2007; Pradhan *et al.*, 2013; Gendron *et al.*, 2016).

Les agonistes des DOR seraient également une voie prometteuse pour le traitement de la migraine chronique (Dripps *et al.*, 2020). Il a été démontré que le SNC80 inhibait l'allodynie céphalique induite par la NTG, dans un modèle de douleur chronique associée à la migraine (Moye *et al.*, 2019b). L'injection aiguë de SNC80 a également été efficace dans un modèle de migraine chronique induite par une lésion cérébrale traumatique légère, connue sous le nom de migraine post-traumatique (Moye & Pradhan, 2017; Moye *et al.*, 2019b). Il est important de noter que le traitement à long terme avec le SNC80 a également empêché le développement de la migraine chronique dans ce même modèle de céphalée post-traumatique (Moye *et al.*, 2019a). Les DOR pourraient être efficaces à la fois pour les céphalées épisodiques et pourraient également protéger de l'induction de la chronicité des céphalées. Ces résultats suggèrent que les MOR et les DOR régulent distinctement le traitement des céphalées. En effet, dans un modèle de douleur induite par l'administration chronique de morphine, l'activation du DOR, par le SNC80, bloquait l'allodynie induite (Moye *et al.*, 2019b). De plus, l'allodynie reflétant les CAM induites par les triptans a également été inhibée par le traitement au SNC80 (Moye *et al.*, 2019b). Ces études suggèrent que les DOR peuvent être une cible efficace non seulement pour la migraine, mais pour les troubles de la céphalée plus largement.

De plus, l'activation du DOR s'est également avérée bénéfique sur les symptômes liés à l'aura migraineuse. Il a été démontré que le SNC80 a considérablement réduit le nombre

d'événements des CSD évoqués par le KCI (Pradhan *et al.*, 2014), démontrant que les DOR peuvent réguler l'excitabilité corticale associée à la migraine, ce qui suggère à nouveau que les agonistes DOR pourraient également s'avérer être efficaces dans le traitement préventif de la migraine. Notons tout de même que l'activation des DOR par le SNC80 entraînerait des effets indésirables chez l'animal, tels que des convulsions (Hong *et al.*, 1998; Chu Sin Chung *et al.*, 2015; Bertels *et al.*, 2021).

Les KOR pourraient également représenter une cible thérapeutique pour les troubles de la céphalée, et dans ce cas, une stratégie antagoniste est proposée. La régulation à la hausse du ligand endogène des KOR, la dynorphine, a été identifiée comme un marqueur de stress (Bruchas *et al.*, 2010; Carlezon & Krystal, 2016), et cela pourrait expliquer une façon dont le stress entraîne mécaniquement la migraine. Le stress est communément identifié comme un déclencheur de la migraine (Maleki *et al.*, 2012), et à l'appui de cette idée, les antagonistes de KOR se sont récemment révélés être efficaces dans un modèle de céphalées induites par le stress (Xie *et al.*, 2017). L'administration répétée de sumatriptan chez le rat entraînait une hypersensibilité, similaire aux CAM, et simultanément une hypersensibilité à un signal de stress lumineux. Une surexpression de CGRP plasmatique, ainsi qu'une induction d'allodynie céphalique et périphérique, ont été montrées dans ce modèle. Les injections systémiques d'antagonistes aux KOR, à action longue (norbinaltorphimine) ou courte (CYM51317), ont bloqué à la fois la surexpression de CGRP et l'allodynie. De plus, le traitement chronique avec le sumatriptan a augmenté les concentrations de dynorphine et des KOR phosphorylés dans l'AMG, et l'injection de norbinaltorphimine directement dans l'AMG entraînait une diminution de l'allodynie. Ces résultats ouvrent la possibilité de cibler les antagonistes des KOR pour le traitement de la migraine, en particulier chez les patients présentant une sensibilité accrue au stress.

Enfin, le NOP a également été impliqué dans la physiopathologie des céphalées. La nociceptine est fortement exprimée dans les ganglions trigéminaux humains (Hou *et al.*, 2003), jusqu'à 70 % des neurones étant positifs pour la nociceptine. De plus, dans un modèle électrophysiologique de migraine, la nociceptine inhibe significativement la vasodilatation durale neurogène. Les niveaux de nociceptine ont également été identifiés dans une population de patients souffrant de migraine. Notons qu'entre les crises, les niveaux du ligand

endogène de NOP, sont significativement plus faibles dans le plasma des patients souffrant de migraine par rapport aux témoins sains, et ces concentrations chutent d'autant plus lors d'une crise de migraine (Ertsey *et al.*, 2005). Ensemble, ces études suggèrent une recherche plus approfondie sur le rôle de la nociceptine et de son récepteur dans les troubles de la céphalée (Parker *et al.*, 2020).

La compréhension de la régulation complexe des opioïdes endogènes aiderait à prendre des décisions rationnelles concernant l'utilisation des opioïdes contre la douleur ou d'innover sur de nouveaux traitements ciblant indirectement les récepteurs opioïdes.

IV. Les enképhalines

Les enképhalines furent les premiers des opioïdes endogènes à avoir été découverts, en 1975 (Hughes *et al.*, 1975). Ce sont des pentapeptides cérébraux endogènes ayant des activités de type opiacé. Elles ont été décrites par Hughes comme étant des « neuromodulateurs à action hautement transitoire et à inactivation rapide » et ayant des activités médiées par des peptidases « désactivantes » spécifiques et non spécifiques (Hughes *et al.*, 1975; Lukiw, 2006).

1) Nature séquence et conformation des enképhalines

Depuis leur identification, les enképhalines n'ont cessé d'être manipulées et la modification de la séquence du pentapeptide a produit des euphorisants, des sédatifs, des hypnotiques, des antitussifs et de nouveaux analgésiques (Snyder, 2004). Les enképhalines sont constituées de cinq acides aminés selon la structure suivante : Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4(-Leu5 ou -Met5). L'acide aminé en position 5 détermine s'il s'agit de la met- ou de la leu-enképhaline. Tyr1 ne peut être remplacé par aucun autre résidu d'acide aminé, et une modification chimique ou une réorientation stéréochimique à cette position entraîne une perte importante d'activité (Simantov & Snyder, 1976).

2) Métabolisme des enképhalines par les enképhalinases

Les enképhalines sont libérées par l'organisme en cas de stimuli nociceptifs, par des mécanismes dépendants du calcium, afin de diminuer la nociception (Roques *et al.*, 2012). Ces

opioïdes endogènes ont généralement un taux de renouvellement mesuré en secondes ou en minutes, à la fois *in vivo* et *in vitro* (Hughes *et al.*, 1975; Simantov & Snyder, 1976), et cette stabilité est liée à l'âge du système cellulaire étudié (McGeer & McGeer, 1978). Le temps de demi-vie de la met-enképhaline est estimé à moins de 2 minutes (Hartvig *et al.*, 1986) et celle de la leu-enképhaline à moins de 10 minutes (Cassell *et al.*, 2019). Presque simultanément à la découverte des enképhalines, plusieurs enzymes capables de les hydrolyser ont été identifiées (Ramírez-Sánchez *et al.*, 2019) :

- Leucyl aminopeptidase ou LAP (EC 3.4.11.1) (Gibson *et al.*, 1991) a une activité optimale de dégradation pour la leu-enképhaline,
- Alanyl aminopeptidase, APN ou APM (EC 3.4.11.2) (Hersh, 1985) a une activité optimale de dégradation pour les enképhalines (Bauvois & Dauzonne, 2006). Elle libère la Tyr1 de la partie N-terminale du pentapeptide (Roques *et al.*, 1993),
- Placentale leucyl aminopeptidase ou PLAP (EC 3.4.11.3) (Matsumoto *et al.*, 2001) a une activité optimale de dégradation pour la leu-enképhaline,
- Puromycin sensitive aminopeptidase ou PSAP (EC 3.4.11.14) (Johnson, 2001; Thompson & Hersh, 2004) a une activité optimale de dégradation pour la leu-enképhaline,
- Neurones specific aminopeptidases ou NSAP (EC 3.4.11.-) (Hui *et al.*, 1998) a une activité optimale de dégradation pour la leu-enképhaline,
- Dipeptidyl peptidase III ou DPPIII (EC 3.4.14.4) (Lee & Snyder, 1982; Inaoka & Tamaoki, 1987) hydrolyse efficacement la met- et la leu-enképhaline,
- Carboxypeptidase A6 ou CA6 (EC 3.4.17.1) (Lyons *et al.*, 2008) a une activité optimale de dégradation pour la met-enképhaline,
- Neutral endopeptidase, dipeptidyl carboxypeptidase, neprilysin ou NEP (EC 3.4.24.11) (Li *et al.*, 1996) a une activité optimale de dégradation pour les enképhalines. Elle clive la liaison Gly3-Phe4 du pentapeptide (Roques *et al.*, 1993).

Fait intéressant, bien qu'ayant des affinités pour l'hydrolyse d'une enképhaline, toutes les enképhalinases ont des affinités élevées similaires pour le substrat, il semble donc hautement probable que chacune des quatre liaisons peptidiques de l'enképhaline ait une sensibilité à peu près égale à une dégradation rapide en son acide aminé constitutif.

Cependant, *in vivo*, les deux principales enzymes de la dégradation des enképhalines sont la NEP et l'APN.

Les aminopeptidases non spécifiques et la carboxypeptidase éliminent les terminaux amino et carboxyle de l'enképhaline tandis que d'autres endopeptidases endogènes telles que la cathepsine C et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) peuvent cliver les liaisons peptidiques les plus internes. Prises ensemble, ces données montrent que la dégradation de l'enképhaline est rapide, spécifique et qu'au site du catabolisme et de la terminaison de l'enképhaline, des acides aminés libres sont libérés. On peut donc s'attendre à ce que le rôle précis et le mode d'action du système enzymatique responsable de ces clivages aient un effet majeur sur la pharmacologie et la biochimie des enképhalines. Notons que les résidus les plus essentiels au fonctionnement des enképhalines sont aussi soit des neurotransmetteurs eux-mêmes (glycine) soit des précurseurs immédiats de la L-Dopa, de la dopamine et de la noradrénaline (tyrosine et phénylalanine). Le cinquième acide aminé variable leucine (-leu5) ou méthionine (-met5) n'a pas encore reçu de candidature de neurotransmetteur. Cela suggère que l'enképhaline est polyfonctionnelle dans son état intact, se lie aux mêmes sites dans le cerveau que la morphine et d'autres opiacés, et ses produits de dégradation peuvent agir comme des entités de signalisation ou comme des précurseurs de neurotransmetteurs inhibiteurs ou métabotropes (Lukiw, 2006; Ramírez-Sánchez *et al.*, 2019).

Le temps de demi-vie de la NEP est estimé à 3.7 jours (Lorkowski *et al.*, 1987) et de 3.5-6h pour l'APN (Wex *et al.*, 1997).

Notons que l'APN est présent dans le SNC et dans une variété de tissus humains tels que les cellules endothéliales, épithéliales, les fibroblastes et les leucocytes (Bauvois & Dauzonne, 2006). La NEP est fortement exprimée dans le SNC et dans les tissus périphériques tels que les cellules épithéliales et endocrines, les fibroblastes et neutrophiles (Roques *et al.*, 1993). Il existe une colocalisation de la NEP et l'APN dans les régions cérébrales où les peptides opioïdes et leurs récepteurs sont situés (Waksman *et al.*, 1986; Mansour & Watson, 1993; Noble *et al.*, 2001, 2008).

3) Répartition anatomique des enképhalines

Différentes structures cérébrales contiennent des neurones synthétiseurs de peptides opioïdes. Les enképhalines sont impliquées dans la régulation de plusieurs processus biologiques dans différents organes, notamment le système cardiovasculaire, le tractus gastro-intestinal, le système respiratoire et dans la perception de la douleur (Henry *et al.*, 2017). Les neurones enképhalinerigiques sont présents dans les *laminae* I, II et V de la moelle épinière (Sumal *et al.*, 1982; Lima *et al.*, 1993) et dans la PAG, à travers lesquels ils interviennent dans la perception de la douleur (Holden *et al.*, 2005; Shenoy & Lui, 2023). Les enképhalines sont également présentes dans le STV. En effet, au niveau du TG et du CTC, les enképhalines (Fiacco & Cuello, 1980; Quartu & Del Fiacco, 1994; Hokfelt *et al.*, n.d.) seraient colocalisées à la substance P. Une étude a montré que la surproduction locale de peptides dérivés de la pro-enképhaline, dans les neurones sensoriels du TG, entraîne un puissant effet anti-allodymique par la stimulation des récepteurs opioïdes principalement situés en périphérie et suggère que la libération ciblée d'opioïdes endogènes serait une cible intéressante pour le traitement de la douleur (Meunier *et al.*, 2005). En stimulant électriquement le TG, les niveaux d'enképhalines libérés dans le CTC sont diminués. Cette étude suggère que la met-enképhaline agirait comme antinocicepteur dans le CTC suite à la stimulation du TG, relevant bien la connexion qui existe entre ces deux structures (Samsam *et al.*, 2002).

Notons qu'en fonction des régions cérébrales, le ratio met-/leu-enképhaline peut varier jusqu'à 8 : 1 (Hughes *et al.*, 1977). La plus haute proportion de Leu-enképhaline est retrouvée dans le cortex et dans l'hippocampe (Hughes *et al.*, 1977). Dans la région du CTC, la proportion de met-enképhaline est plus importante que la leu-enképhaline (Hughes *et al.*, 1997).

4) Les enképhalines et la migraine

En 1979, Sicuteri fut le premier à émettre l'hypothèse d'un dysfonctionnement du système opioïdérique lors des crises de migraine (Sicuteri *et al.*, 1979). Quelques années plus tard, le rôle de la met-enképhaline dans la modulation de la douleur chez l'Homme a été

étayée par des études longitudinales montrant que les niveaux de met-enképhaline sont beaucoup plus élevés dans le plasma et les plaquettes de migraineux, que chez les patients sains (Mosnaim *et al.*, 1986; Ferrari *et al.*, 1990). Ces niveaux, dans la plupart des cas reviennent à des valeurs normales après plusieurs jours ou jusqu'à 3 semaines (Mosnaim *et al.*, 1986). En revanche, il semblerait qu'aucune modification de concentration de leu-enképhaline ne soit corrélée aux épisodes de migraine. Notons que pour mieux comprendre le rôle des opioïdes endogènes dans la migraine, davantage d'études visant à analyser les biomarqueurs présents dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et dans le sang de patients migraineux seraient nécessaires (Ashina, 2022).

D'après la littérature (Samsam *et al.*, 2002; Meunier *et al.*, 2005), nous savons que les enképhalines sont présentes au niveau du STV. Nous savons également que le déclenchement des migraines est corrélé avec des dysfonctionnements du STV. Partant de ce postulat, une étude menée au laboratoire s'est intéressée à une potentielle nouvelle cible thérapeutique passant par la protection des enképhalines, contre leurs enzymes de dégradation, les DENKIs (Dual ENKephalinase Inhibitors) (Descheemaeker *et al.*, 2022).

V. Les DENKIs (Dual ENKephalinase Inhibitors)

Bien que la douleur soit l'une des affections médicales les plus courantes, elle est trop souvent mal gérée car les options analgésiques disponibles sont relativement limitées en raison d'une efficacité insuffisante, d'effets indésirables, de risques de mésusages ou d'abus. Dans le cas de la migraine, les DOR ont récemment été identifiés comme nouvelle cible thérapeutique (Pradhan *et al.*, 2014). De nombreux laboratoires tentent alors de mettre au point de nouveaux traitements ciblant ces récepteurs, basés sur le développement d'agonistes DOR (Moye *et al.*, 2019b; Fossler *et al.*, 2020; Bertels *et al.*, 2021). Malheureusement, il semblerait que les effets de ces agonistes exogènes produisent des effets secondaires néfastes, tels que des convulsions (Bertels *et al.*, 2021). Il serait donc intéressant de trouver une alternative innovante, notamment en ciblant indirectement les voies endogènes de la douleur. C'est l'objectif des inhibiteurs doubles d'enképhalinasés appelés DENKIs (Roques BP, Fournié-Zaluski MC, 2007; Poras *et al.*, 2014; Bonnard *et al.*, 2015). Des études préliminaires prometteuses ont montré l'efficacité du PL37, appartenant à la nouvelle classe d'analgésique

des DENKIs, dans le modèle de migraine induite par l'ISDN (Descheemaeker *et al.*, 2022) et dans un modèle de migraine induite par le stress (Mei *et al.*, 2023).

1) Historique des DENKIs

Le contrôle physiologique de la douleur repose sur la présence concomitante de trois composantes du système enképhalinergique, à savoir : deux des récepteurs aux opioïdes, les MOR et les DOR (Terenius, 1973; Pert & Snyder, 1973; Simon *et al.*, 1973); leurs ligands, la met- et la leu-enképhalines (Hughes *et al.*, 1975) ; et un système d'enzymes de dégradation, impliquant l'APN et la NEP (Roques *et al.*, 1993). Ce contrôle de la douleur par le système enképhalinergique a été mis en évidence par l'observation de la modification de la concentration en enképhalines et en récepteurs opioïdes situés au niveau des terminaisons nerveuses après des stimuli nociceptifs (Yaksh & Elde, 1981; Roques *et al.*, 2012). Ainsi, les trois composants du système enképhalinergique ont été successivement étudiés comme cibles potentielles pour le développement d'analgésiques.

L'approche la plus ancienne fut de développer des opiacés, tels que la morphine, comme agonistes des récepteurs aux opioïdes. La deuxième approche consistait à concevoir des analogues d'enképhalines résistants aux enzymes, à l'aide d'introduction d'acide aminés de configuration D, (composé nommé FK 33-824) (Roemer *et al.*, 1977). Ces stratégies ont conduit à des composés antinociceptifs puissants mais leur utilisation en traitement chronique était associée à des effets secondaires importants, dus à leur administration ubiquitaire, tels que la constipation, la sédation, la dépression respiratoire et la tolérance, limitant largement leur utilisation (Stacher *et al.*, 1979; Poras *et al.*, 2015). La dernière approche était donc de développer des inhibiteurs efficaces à la fois de la NEP et de l'APN, car l'inhibition d'une seule de ces deux peptidases est insuffisante pour entraîner l'analgésie (Bourgoin *et al.*, 1986; Willer *et al.*, 1986; Noble *et al.*, 1992). En effet, l'inhibition de la NEP par le thiorphan (Roques *et al.*, 1980) ou de l'APN par la bestatine (Umezawa *et al.*, 1976) n'était pas suffisante pour protéger complètement les enképhalines de leur dégradation (Fournie-Zaluski *et al.*, 1984; Bourgoin *et al.*, 1986) et donc incapable d'entraîner de réponses analgésiques, ni chez le rongeur (Noble *et al.*, 1992), ni chez l'Homme (Willer *et al.*, 1986; Meynadier *et al.*, 1988). Cependant, l'inhibition sélective et puissante des deux métallo-peptidases a entraîné des effets

analgésiques. Ces études indiquent que la concentration d'enképhalines augmente au niveau des nocicepteurs, favorisant ainsi l'antinociception (Yaksh & Elde, 1981; Bourgoin *et al.*, 1986). Ces réponses se produisent aussi bien au niveau périphérique que central et sans aucune modification de la sécrétion d'enképhalines, si ce n'est celle liée aux stimuli douloureux. Ceci a été confirmé grâce à des expériences de micro-dialyse (Bourgoin *et al.*, 1986) et l'utilisation d'Ac pour la mesure des enképhalines dans les tissus lésés (Schreiter *et al.*, 2012). Notons que l'intensité des effets analgésiques des DENKIs dépend de la douleur et donc de la sécrétion d'enképhalines endogènes (Poras *et al.*, 2015).

La première famille de DENKIs synthétisés, benzyl N-(3-[[2S]-2-amino-4-(methylthio)butyl]dithio]-2-benzylpropanoyl)-L-phenylalaninate, nommé également RB 101 (Noble *et al.*, 1992) et N-((S)-2-benzyl-3[[S]-2-amino-4-methylthio)butyl]dithio-]-1-oxopropyl)-L-alanine benzyl ester, nommé également RB 120 (Noble *et al.*, 1997), étaient des composés constitués de prodrogues esters, liés par des ponts disulfures, associant des inhibiteurs d'APN et de NEP tout comme le PL37 (Menéndez *et al.*, 2008; Poras *et al.*, 2014; Alvarez-Perez *et al.*, 2021). Après l'hydrolyse *in vivo* de l'ester et le clivage de la liaison disulfure, chaque inhibiteur se lie à sa propre enzyme. La présence d'un groupe thiol libre va interagir fortement avec l'atome de zinc, présent au niveau des sites catalytiques de ces métallo-peptidases à zinc, étape cruciale pour pouvoir inhiber à la fois la NEP et l'APN. Il est intéressant de noter que les DENKIs ont été conçus de telle façon que leur sélectivité pour la NEP et l'APN soit élevée et qu'ils ne se lient pas à d'autres métallo-peptidases à zinc retrouvées dans l'organisme, comme l'ACE, l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE), l'aminopeptidase A (APA) et l'aminopeptidase B (APB), et n'aient aucune affinité pour les récepteurs aux opioïdes (Roques, 2000). Ces DENKIs se sont révélés être efficaces dans des modèles animaux de douleur après administration par voie intraveineuse (i.v.) (Noble *et al.*, 1992). Les premiers inhibiteurs étaient non solubles et donc non utilisables chez l'homme

(Noble *et al.*, 1992, 1997; Fournie-Zaluski *et al.*, 1992) ainsi chaque composé a été conçu afin d'améliorer, sa biodisponibilité en diminuant sa lipophilie, son efficacité et sa toxicité (Poras *et al.*, 2014).

Le travail de cette thèse s'est concentré sur ce composé, appelé PL37. Or, un autre DENKI puissant de la famille des aminophosphiniques, a été synthétisé, le PL265. Il s'est révélé être efficace lorsqu'il était administré par voies orale et i.v. dans des modèles de douleurs inflammatoires, neuropathiques (Bonnard *et al.*, 2015, 2016), cancéreuses osseuses (González-Rodríguez *et al.*, 2017) et de douleur oculaire (Reaux-Le Goazigo *et al.*, 2019). Cependant, ce composé fut inefficace lorsqu'il a été testé au laboratoire dans le modèle de migraine induite par l'ISDN.

2) PL37

Le PL37 ou ((2S)-3-[[[(2S)-2-amino-4-(methylthio)butyl]dithio]-2-(phenylmethyl)propanoyl]amino]acetic acid [(ethoxy-carbonyl)oxy]ethyl ester est reconnu comme étant le premier DENKI actif par voie orale (Roques BP, Fournié-Zaluski MC, 2007) (**figure 19**).

Le PL37 est composé de PL40 et d'une prodrogue. Cette prodrogue s'hydrolyse rapidement dans le plasma ou lors du 1^{er} passage hépatique dans le foie pour donner PL40. PL37 et PL40 ne sont pas actifs pour l'inhibition des enképhalinases. PL40 est constitué de PL800 et PL804, liés par un pont disulfure, ce sont les métabolites actifs. Cette liaison est clivée lors du passage du composé dans le foie, donnant PL800 et PL804 inhibant respectivement l'APN et la NEP. Au niveau central, PL37 s'hydrolysera en PL40, au niveau de la BHE, puis sera clivé en PL800 et PL804 lors du passage de la BHE, libérant ainsi les inhibiteurs actifs respectifs.

La biodisponibilité par voie orale du PL37 est de 50 à 60%.

Notons que la durée de demi-vie par voie orale chez l'Homme du PL40 est de 0.9 h, celle de PL800 est de 2.7 h et celle de PL804 est de 1.9 h (**figure 20**).

L'ensemble de ces données ont été obtenues lors d'une bioanalyse ADME, à la suite du marquage au carbone 14 du PL37, administré par voie i.v., chez le rat mâle et d'étude clinique chez l'Homme.

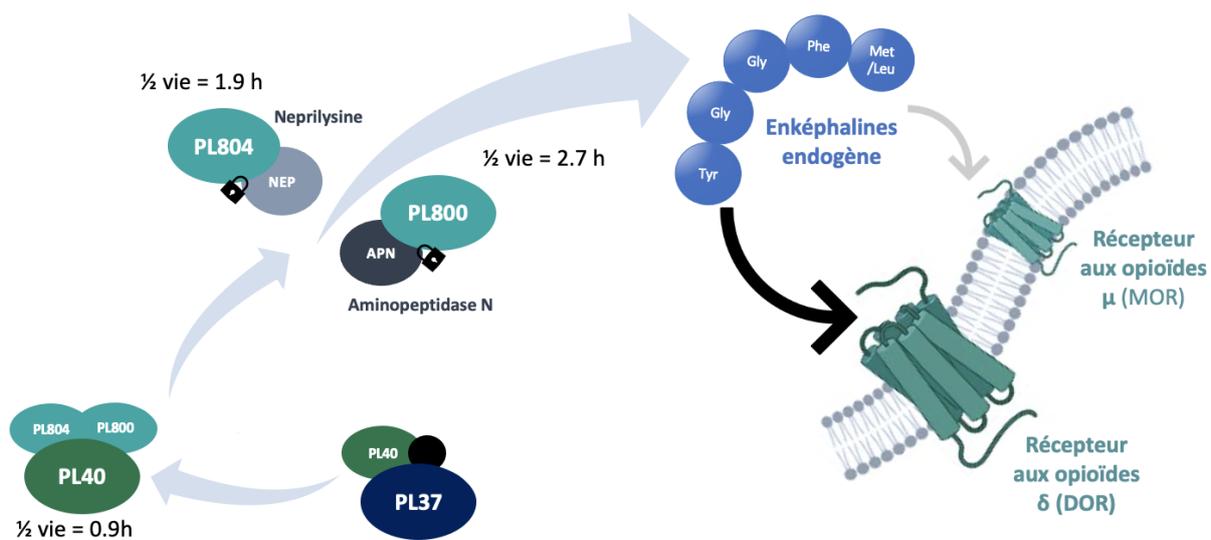


Figure 20 – Mécanisme d'action du PL37 et temps de demi-vie.

Le PL37 est composé d'une prodrogue et de PL40. Cette prodrogue s'hydrolyse, lors du premier passage hépatique, pour donner PL40, lui-même constitué de PL800 et PL804, liés par un pont disulfure. Lors du passage dans le foie, la liaison s'hydrolyse, PL800 et PL804 seront actifs et inhiberont respectivement l'APN et la NEP. Ainsi, les enképhalines seront protégées de leur dégradation par les enképhalinases (APN et NEP) et pourront exercer leurs effets analgésiques via leur liaison aux récepteurs opioïdes. Le temps de demi-vie, par voie orale chez l'Homme, de PL40 est 0,9 heures, PL800, 2,7 heures et PL804, 1,9 heures.

3) Efficacité du PL37 dans différents modèles de douleur

Les effets analgésiques du PL37 ont été montrés dans différents modèles de douleurs.

a. Test du Hot Plate

Le test du Hot Plate (HPT) est un test comportemental utilisé chez les rongeurs afin d'évaluer les réponses à la douleur aiguë centrale. Dans ce modèle, l'animal est positionné sur une plaque métallique chauffée à 52°C. Lorsque l'animal ressent un inconfort, il lève la patte, arrêtant ainsi l'expérience. Le temps de latence de retrait de la patte de l'animal est le paramètre clé de ce test. L'efficacité de l'effet analgésique du PL37 administré soit par voie i.v., soit p.o., a été étudiée chez des souris mâles. L'administration i.v. de PL37 à 40 mg/kg entraîne une analgésie de $97 \pm 2\%$ (Poras *et al.*, 2014) tandis que l'administration p.o. de PL37 dans le même test à 150 mg/kg entraîne une analgésie de $58 \pm 5\%$, 20 min après l'administration (Poras *et al.*, 2014). Dans cette même étude, la dose efficace p.o. à 50% (ED₅₀) du PL37 est de 133 mg/kg. La dose efficace à 50% correspond à la dose pour laquelle 50% de la réponse maximale est atteinte.

b. Test du Tail Flick

Comme le HPT, le test du Tail Flick (TFT) est un modèle de douleur aiguë centrale, couramment utilisé chez le rat. Dans ce modèle, la queue de l'animal est soumise à une source de chaleur. Lorsque l'animal ressent un inconfort voire une douleur, il retire sa queue. Le temps de latence de retrait de la queue de l'animal est le paramètre clé de ce test. L'administration i.v. de PL37 à 5, 10 et 20 mg/kg, chez le rat mâle, produit un effet antinociceptif dose-dépendant à 10 et 20 min. L'effet analgésique maximal est de 40% à 20 mg/kg, 10 min après l'administration i.v, et est toujours significativement différent du groupe véhicule 40 min après l'injection. Notons que par voie orale, le PL37 (100 mg/kg) dans ce modèle est peu efficace (10% d'analgésie, 20 min après l'injection) (Poras *et al.*, 2014).

c. Test au formol

Une solution de formol est administrée en sous-cutanée (s.c) au niveau de la patte de l'animal, entraînant une lésion tissulaire associée à une douleur persistante. L'animal pour soulager cette douleur exercera l'action de lécher cette patte. Ce test est composé de deux

phases, appelées phase 1, caractéristique du phénomène douloureux et phase 2, caractéristique du phénomène inflammatoire. Le temps que passe l'animal à se lécher la patte est le paramètre clé de ce test. Le PL37 (50 mg/kg, p.o.) entraîne une analgésie de 41% en phase 1 du test au formol (Poras *et al.*, 2014).

d. Ligature partielle du nerf sciatique

Dans ce modèle, le nerf sciatique est ligaturé, entraînant une allodynie profonde et prolongée ainsi qu'une hyperalgésie thermique, caractérisées respectivement par un seuil de retrait de la patte plus bas que le seuil de base, ce paramètre est mesuré grâce au test de von Frey au niveau de la patte ayant subi la chirurgie, et par un seuil de retrait thermique plus faible que le seuil de base, mesuré grâce à un test similaire au HPT (Poras *et al.*, 2014). Dans ce modèle, l'administration de PL37 (25 mg/Kg, p.o) entraîne une augmentation du seuil de retrait de la patte de 51%, et une augmentation de la latence de retrait de la patte, 20 min après l'administration (Poras *et al.*, 2014).

e. Douleur cancéreuse osseuse

Dans ce modèle de douleur, les animaux ont reçu l'inoculation intra-tibiale de cellules d'ostéosarcome. La latence de retrait de la patte de l'animal est mesurée grâce à un test unilatéral de la plaque chaude. Dans une étude menée par González-Rodríguez, chez la souris mâle, l'effet anti-hyperalgésique du PL37 à différentes concentrations, 0, 12.5, 18.7 et 25 mg/kg, p.o, fut mesuré. L'effet du PL37 est significatif à partir de 18.7 mg/kg. L'ED₅₀ calculée dans ce modèle est de 16.52 ± 0.51 mg/kg. L'étude révèle également un effet synergique du PL37 avec un inhibiteur des récepteurs P2X₃ périphériques (site d'action de l'ATP, modulant les réponses nociceptives). La combinaison des ED₅₀ de ces composés à différentes fractions permet de déterminer l'ED₅₀ mix expérimentale à 2.51 ± 0.04 mg/kg et l'indice d'interaction à 0.28 ± 0.02 . Notons que l'indice d'interaction correspond à la fraction entre l'ED₅₀ mix expérimentale et l'ED₅₀ mix théorique (8.32 ± 0.44 mg/kg) (González-Rodríguez *et al.*, 2009).

Dans une étude similaire, utilisant le même modèle de douleur, chez la souris, l'effet anti-hyperalgésique du PL37 à 0, 12.5, 25 et 50 mg/kg, p.o., fut mesuré. L'effet du PL37 est significatif à partir de 25 mg/kg. L'ED₅₀ calculée dans ce modèle est de 13.4 ± 0.9 mg/kg. L'étude révèle également un effet synergique du PL37 avec la gabapentine, un antiépileptique

utilisé également en traitement de douleurs neuropathiques. L'ED₅₀ mix expérimentale est de 7.03 ± 1.1 mg/kg et l'indice d'interaction 0.55 ± 0.03 (Menéndez *et al.*, 2008).

f. Modèles de migraine

Dans une étude précédente réalisée au laboratoire, l'efficacité du PL37 a été testée dans le modèle d'hypersensibilité mécanique (HM) faciale induite par l'ISDN (10 mg/kg, i.p.), aussi bien en condition aiguë que chronique (Dallel *et al.*, 2018; Descheemaeker *et al.*, 2022). Ici, le test de von Frey fut utilisé pour mesurer le seuil de retrait de la face, exprimé en gramme. Dans cette étude (Descheemaeker *et al.*, 2022), l'administration orale de PL37 à 50 et 100 mg/kg, renverse l'HM induite par l'ISDN. En revanche, en condition chronique (5 injections d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) par jour pendant 5 jours), l'administration orale de PL37 (50 et 100 mg/kg) le 5^{ème} jour, avant la 5^{ème} administration d'ISDN, n'a pas d'effet sur l'HM, tandis que l'administration i.v. de PL37 (20 mg/kg) le 5^{ème} jour, renverse l'HM. Notons que l'administration répétée de PL37 (50 et 100 mg/kg, p.o), tous les jours avant l'injection d'ISDN (10 mg/kg, i.p.), renverse l'HM. Enfin, l'administration répétée PL37 (100 mg/kg, p.o.) avant l'administration d'ISDN, en condition chronique, montre que l'expression de c-Fos, induite par la stimulation mécanique non nociceptive d'un filament de VF 6g au niveau de la région péri-orbitale, est réduite dans le Sp5C (Descheemaeker *et al.*, 2022).

Récemment, une seconde étude s'est intéressée à l'effet du PL37 dans un autre modèle de douleur induite par le stress, chez la souris (Mei *et al.*, 2023). En effet, le stress est le premier facteur déclencheur de migraine (Kelman, 2007; Andress-Rothrock *et al.*, 2010). Dans cette étude, les animaux sont contentionnés de façon répétée 2 heures par jour pendant 3 jours. Ce modèle de stress induit par la contention entraîne une diminution du seuil de retrait de la face qui perdure 14 jours. Une fois revenu à leur seuil de base, les animaux reçoivent une administration de SNP (0.1 mg/kg, i.p.), qui, chez des animaux naïfs n'entraîne pas d'allodynie contrairement aux animaux ayant subi un stress. Cette étude a montré l'efficacité du PL37 (20 mg/kg, p.o et 10 mg/kg, i.v.) sur l'allodynie induite par le stress, pendant 5 heures chez la souris mâle et 3 heures chez la souris femelle (i.v.). En revanche, une seule injection de PL37 au jour 2 de l'expérience, ne change pas l'allodynie induite par le SNP. L'administration de PL37 (p.o. et i.v.) 1h avant l'injection de SNP, au 14^{ème} jour, renverse l'allodynie induite par le SNP, pendant 3h, chez le mâle et la femelle. Enfin, les résultats ont

montré que le PL37 n'agissait qu'au niveau périphérique et uniquement en interagissant avec les DOR (Mei *et al.*, 2023).

4) Études cliniques (PL37)

Des études pharmacologiques réalisées chez l'animal se sont intéressées à la pharmacovigilance et à l'intérêt thérapeutique potentiel des DENKIs dans le traitement de la douleur. Ces données ont été renforcées par les premières études menées chez l'Homme.

De plus, plusieurs essais cliniques ont maintenant été conduits en utilisant le DENKI le plus avancé en termes de recherche, à savoir, le PL37. Ces études démontrent la pharmacovigilance de cette nouvelle approche thérapeutique. En effet, l'innocuité, la tolérance et la pharmacocinétique du PL37 ont été étudiées dans le cadre d'un premier essai clinique (PL37-2008-C01/EudraCT n° 2008-000863-41 ; Debio0827-102/ EudraCT n° 2010-018271- 18). 80 volontaires sains (comprenant des hommes et des femmes) ont été exposés à des doses orales uniques croissantes de PL37. Les sujets ont été randomisés selon un ratio 6 : 2 pour recevoir un traitement actif de PL37 ou un placebo. Des doses uniques de PL37, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 et 800 mg ou d'un placebo correspondant ont été administrées. Deux doses (50 et 200 mg) ont été testées chez des sujets féminins présentant de faibles différences dans les profils d'évolution pharmacocinétique dans le temps. Les métabolites ont également été mesurés dans le plasma et l'urine. Les événements indésirables les plus fréquemment rapportés dans les études de phase 1 (EudraCT n° 2008-000863-41 ; EudraCT n° 2010-018271-18) étaient des troubles du SNC, principalement des céphalées d'intensité légère ou modérée et une intolérance orthostatique d'intensité modérée ou sévère. Un certain nombre d'épisodes d'hypotension orthostatique sont également survenus dans l'étude à dose unique, la plupart asymptomatiques, mais pas à des doses plus élevées dans l'étude à doses multiples. Toutes les doses ont été bien tolérées et aucun effet indésirable grave n'a été observé dans les études clinique de phase 1, ce qui confirme l'innocuité de cette approche thérapeutique.

Lors de la phase 1, des échantillons de plasma des sujets sains ont été analysés, afin d'évaluer les activités de la NEP et de l'APN endogènes et les effets inhibiteurs de doses croissantes de PL37. L'inhibition maximale de la NEP était similaire pour les sujets ayant reçu

des doses allant de 100 à 800 mg de PL37, avec une inhibition presque complète les premières heures. Le temps nécessaire pour revenir à l'activité basale avait tendance à être plus long pour les sujets ayant reçu des doses de 400 et de 800 mg de PL37. Les résultats moyens de l'inhibition de l'APN révèlent un effet dose-dépendant sur l'inhibition enzymatique pour les sujets ayant reçu des doses allant de 100 à 400 mg de PL37, alors que pour les doses de 400 et de 800 mg de PL37 les profils d'inhibition étaient similaires, avec une inhibition presque complète pendant les premières heures (EudraCT n° 2008- 000863-41).

L'efficacité et l'innocuité analgésiques du PL37, administré p.o., ont été évaluées lors d'une étude de phase 2a, de 4 semaines, multicentrique, randomisée, en double aveugle, dont une étude complémentaire fut contrôlée par placebo (PL37-C03-2013/EudraCT n° 2013-004876-37) chez des sujets diabétiques souffrant de douleurs neuropathiques avec un soulagement insuffisant de la douleur malgré des traitements à doses stables de prégabaline ou de gabapentine. Les sujets ont été randomisés et ont reçu, en plus de leur traitement, soit du PL37 p.o. (200 mg, trois fois par jour) soit un placebo correspondant, trois fois par jour, pendant 28 jours. Les sujets ont été assignés à un groupe de traitement (PL37 ou placebo) selon un ratio 1 : 1. Dans le groupe ayant reçu la prégabaline, la diminution de la douleur ressentie (critère principal) a été améliorée dans le groupe PL37 par rapport au groupe placebo, mais cet effet n'était pas significatif, certainement à cause d'un métabolisme trop rapide du PL37 et à une durée de l'étude trop courte. Il est important de noter qu'aucun changement des signes biologiques ou vitaux, ni d'événements indésirables graves n'a été signalé, ce qui sous-tend l'innocuité de cette nouvelle approche thérapeutique.

La pharmacovigilance cardiovasculaire du PL37 a également été rapportée dans l'essai clinique de phase 2a. Aucune modification cliniquement significative de l'ECG n'a été signalée. Aucun changement de pression artérielle n'a été observé entre le début et la fin de l'étude (changement de la pression artérielle systolique du début à la fin du traitement de PL37 : 1.2 ± 13.1 mmHg ; changement de la pression artérielle systolique du placebo entre le début et la fin du traitement : 0.0 ± 15.98 mmHg), et aucune différence entre le groupe placebo (135.0 ± 17.85 mmHg) et le groupe traité au PL37 (132.6 ± 17.32 mmHg) (Alvarez-Perez *et al.*, 2021).

En résumé, les études cliniques de phase 1 et de phase 2 révèlent que le PL37 est bien toléré chez l'homme par voie orale. Dans l'ensemble, ces études montrent que les DENKI pourraient être un traitement innovant pour les douleurs.

Partie III – Hypothèse de travail

Les migraines aiguës et chroniques sont des troubles invalidants, dont l'amélioration de la prise en charge est une priorité (Ashina *et al.*, 2021). En effet, malgré la disponibilité d'une variété de médicaments (**Tableaux 3, 4, 5 et 6**), y compris ceux développés dernièrement (Dodick *et al.*, 2014c, 2014b; Bigal *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2016), les traitements de crise ou utilisés en prophylaxie continuent d'être limités en terme d'efficacité (Bigal *et al.*, 2007). De plus, la majorité des thérapeutiques actuelles sont non spécifiques et/ou entraînent des effets secondaires tels que les céphalées par abus médicamenteux (CAM) (Ashina *et al.*, 2021). Récemment, une nouvelle classe d'analgésique, visant à améliorer la durée d'action des enképhalines, a été mise au point : les inhibiteurs doubles d'enképhalines (DENKIs). Les enképhalines sont des peptides endogènes contribuant à la physiologie des contrôles de la douleur (Roques *et al.*, 2012; Alvarez-Perez *et al.*, 2021). Elles interagissent avec les DOR et les MOR situés stratégiquement dans l'organisme, au niveau des voies de la nociception (Roques *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2020; Alvarez-Perez *et al.*, 2021). Cependant, leur durée d'action et donc leur effet analgésique sont de courte durée puisque les enképhalines sont rapidement dégradées par deux enzymes, la NEP et l'APN, nommées enképhalines. Le but de cette nouvelle cible thérapeutique, les inhibiteurs double d'enképhalines (DENKIs), est, comme son nom l'indique, d'inhiber les enképhalines, permettant ainsi indirectement d'augmenter la durée d'action analgésique des enképhalines (pour revues (Roques *et al.*, 2012; Raffa *et al.*, 2018; Busserolles *et al.*, 2020; Southerland *et al.*, 2021). Le PL37 appartient à cette nouvelle classe des DENKIs et a montré son efficacité dans une variété de modèles de douleur (Poras *et al.*, 2014) et, plus récemment, dans des modèles de migraine (Descheemaeker *et al.*, 2022; Mei *et al.*, 2023).

Ce travail de thèse s'inscrit dans la continuité d'une étude visant à analyser l'effet du PL37, dans un modèle de migraine induite par le donneur de NO, l'ISDN, chez le rat mâle (Descheemaeker *et al.*, 2022). Plusieurs objectifs ont rythmé ce travail, cherchant à répondre aux quatre questions suivantes.

1 – Le PL37 est-il efficace dans différents modèles de migraine chez la femelle ?

L'étude précédente (Descheemaeker *et al.*, 2022) s'était focalisée sur l'effet du PL37 chez le mâle, or la prévalence de la migraine est plus importante chez la femme (Stovner *et al.*, 2018). Ainsi, grâce à une approche comportementale, nous avons analysé chez le rat femelle l'effet du PL37, administré *via* différentes voies d'administration (orale ou intraveineuse), sur la progression de l'hypersensibilité mécanique, au niveau céphalique, induite par l'administration d'ISDN, dans des modèles de migraines aiguë (1 injection) puis chronique (5 injections).

De plus, l'effet du PL37 a été étudié *via* une approche électrophysiologique chez le rat mâle et femelle, dans un modèle de dépression corticale envahissante (CSD), considéré comme étant un modèle de migraine avec aura (Charles & Baca, 2013).

2 – Quels sont les sites et mécanismes d'action du PL37 ?

Dans un premier temps, nous avons recherché si l'effet analgésique du PL37 passait par un mécanisme situé au niveau central et/ou périphérique. Pour cela, grâce à une approche comportementale, la composante centrale de l'effet du PL37 a été étudiée à la suite d'injections intracisternales. Puis, les hypothèses concernant les sites centraux ou périphériques du PL37 ont été testées pharmacologiquement en bloquant soit les récepteurs opioïdes périphériques (*via* la naloxone-méthiodide), soit les récepteurs périphériques et centraux (*via* la naloxone), dans un modèle de migraine aiguë induite par l'ISDN.

Dans un deuxième temps, utilisant des techniques d'immunohistochimie et d'imagerie, puis de biochimie, nous nous sommes intéressés aux mécanismes d'action de l'ISDN et du PL37, dans un modèle de migraines chroniques induites par l'ISDN. En effet, lors des crises de migraine, des neuropeptides vasoactifs tels que le CGRP et le PACAP et des enzymes comme la nNOS sont libérés dans le CTC (Goadsby *et al.*, 2017; Ramachandran, 2018; Moye *et al.*, 2021; Greco *et al.*, 2022). Dans un premier temps, nous avons souhaité caractériser, *via* une approche immunohistochimique, si les niveaux d'expression de CGRP dans le CTC étaient affectés à la suite des administrations d'ISDN et de PL37. Dans un second temps, grâce à la technique de RT-qPCR, nous avons étudié l'expression de l'ARNm de CGRP, PACAP et nNOS dans le CTC à la suite des administrations d'ISDN et de PL37.

3 – L'administration répétée de PL37 entraîne-t-elle des effets secondaires ?

Dans le cadre de la migraine, avec les risques inhérents de progression de la douleur et d'utilisation chronique du traitement antalgique, il était essentiel de se poser la question du risque de développement de douleurs par abus médicamenteux. En effet, certains traitements utilisés de façon répétée, comme le sumatriptan (antimigraineux de crise), peuvent entraîner des céphalées et/ou une sensibilisation latente (De Felice *et al.*, 2010; Bonnet *et al.*, 2019; Navratilova *et al.*, 2020). Grâce à une approche comportementale, nous avons testé l'effet des administrations répétées de PL37 (par voie orale) sur le possible développement d'une HM céphalique, dans les deux sexes. Ensuite, nous avons testé l'effet de l'administration d'ISDN sur des animaux ayant reçu des administrations répétées de PL37, chez le mâle et la femelle, afin de tester l'apparition d'une sensibilisation latente. Enfin, nous avons testé l'effet de l'administration par voie i.v. du PL37 dans le modèle de CAM induites par le sumatriptan, chez le mâle uniquement.

4 – Quel est l'effet de la combinaison du PL37 et du sumatriptan ?

La combinaison de traitements est fréquemment utilisée pour améliorer l'efficacité thérapeutique des médicaments. En effet, la coadministration de deux traitements peut entraîner une efficacité à des doses plus faibles que celles nécessaires, minimisant ainsi les effets secondaires. Nous souhaitons étudier l'effet de la coadministration du sumatriptan avec le PL37, dans le modèle de migraine aiguë induite par l'ISDN. L'objectif était dans un premier temps de déterminer les doses-efficaces à 50% (ED₅₀) de chacun des composés, administrés oralement avant l'injection d'ISDN. Puis, l'effet de la coadministration du PL37 avec le sumatriptan a également été étudié afin de savoir si ces deux composés produisaient des effets additifs ou synergiques, dans ce même modèle, chez les mâles. Cette partie est présentée sous forme d'article scientifique.

Chapitre II – Matériel et Méthodes

VI. Animaux

Les animaux utilisés dans le cadre de ce projet étaient des rats de souche Sprague-Dawley CD, mâles et femelles provenant de l'établissement-fournisseur Charles River (l'Abresle, France). Concernant les rats mâles, leur poids était compris entre 220 g et 400 g, tandis que les femelles pesaient entre 220 g et 290 g. Les animaux étaient hébergés, au nombre de 3 rats par cage, dans des cages standards (Tecniplast) type 3 (426 x 266 x 185 mm). Les cages contenaient de la litière composée de copeaux de bois. Des tubes en carton rigide (7 cm de diamètre et 15 cm de longueur) constituaient l'enrichissement des cages. Les salles de stabulation étaient maintenues et contrôlées à une température de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ et à un taux d'humidité de $55 \pm 5\%$. La salle de stabulation était soumise à une intensité d'environ 500 lux selon un cycle jour-nuit de 12h, la lumière étant allumée de 19h à 7h afin que les animaux soient dans leur phase d'éveil lors des expériences. Les animaux bénéficiaient d'un accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum* pendant au moins une semaine avant le début et durant toute la durée des expériences, elles-mêmes réalisées en aveugle. Les animaux étaient répartis de façon aléatoire dans les différents groupes expérimentaux. Le nombre d'animaux utilisés dans cette étude a été minimisé suivant la règle des 3R (remplacer, réduire, raffiner). Les procédures réalisées sur les animaux ont été effectuées conformément aux directives éthiques de l'association internationale pour l'étude de la douleur et à la directive 2010/63/UE du Parlement Européen et du Conseil sur la Protection des Animaux utilisés à des fins scientifiques. L'ensemble des projets et procédures expérimentales de cette étude a été validé par le Comité d'Éthique en Expérimentation Animale Auvergne (CEEA-02) et autorisées par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI) sous les N° #26470, #26284, #38866). Toutes les expérimentations, analyses et rapports étaient conformes aux règles ARRIVE (Animals in Research : Reporting *In Vivo* Experiments).

I. Tests comportementaux

1) Habituation au test de von Frey (vF)

Les animaux âgés de 5 semaines étaient réceptionnés le mercredi. Les sessions d'habituation et de tests comportementaux ont été réalisées tous les jours à la même heure (entre 7h30 et 17h00) dans des salles dédiées à cet effet, soumises à une faible luminosité (environ 50 lux) et à faible bruit, séparées des salles de stabulation. Le premier jour, les animaux étaient habitués à l'expérimentateur, à la salle d'expérimentation et aux boîtes de comportement (0.3 x 0.3 m²) adaptées à l'étude de la sensibilité faciale, où se déroulaient toutes les expériences. Une fois la phase d'habituation terminée (environ 30 minutes pour les mâles, 45 minutes pour les femelles), les animaux retournaient dans la cage de stabulation. Le deuxième jour d'habituation, l'expérimentateur approchait un filament de von Frey (vF) (Bioseb, France) près de la région périorbitaire, sans toucher l'animal. Le troisième jour, l'expérimentateur appuyait un filament non nociceptif (2g) au niveau de la région périorbitaire de l'animal, de façon à obtenir une réaction d'orientation de l'animal vis-à-vis du stimulus et non une réaction de fuite. Le quatrième jour, les animaux étaient habitués à la stimulation de filaments d'intensité plus forte (4g et 6g) mais toujours non nociceptive, toujours au niveau de la région orbitaire puisqu'il s'agit de la région testée.

2) Phase de test de la sensibilité mécanique cutanée céphalique

Les seuils de retrait de base aux filaments de vF ont été déterminés après les quatre jours d'habituation. La sensibilité mécanique cutanée céphalique basale, ou seuil nociceptif, a été évaluée à l'aide de filaments de vF (0,6, 1, 1,4, 2, 4, 6, 8 et 10g) appliqués perpendiculairement à la région périorbitaire de la face du rat pendant 3 secondes (à intervalles de 10 secondes), *via* la méthode ascendante-descendante à partir du filament 6g (Alba-Delgado et al., 2018). Le seuil de retrait aux filaments de vF (VFT) (exprimé en grammes) était égal au filament évoquant une réponse de retrait de la tête ou de la patte ou évoquant une réponse de fuite dans trois essais sur cinq. Le seuil de base d'un animal était de 8g et constituait un critère d'exclusion. Lors des expériences, le seuil de retrait des animaux était évalué toutes les 30 minutes ou tous les 2 jours, selon l'expérience.

II. Substances administrées

L'isosorbide dinitrate (ISDN, 10 mg/10 mL, risordan®, Sanofi-Aventis) sous sa forme injectable fut administré par voie intrapéritonéale (10 mg/kg). La nitroglycérine (NTG), dont la concentration initiale est 9,91%, a été préparée dans 30% d'éthanol anhydre, 30% de propylène glycol, QSP H₂O et rediluée les jours d'expériences dans du NaCl 0,9% pour une concentration finale de 1 mg/mL pour une dose de 10 mg/kg, et administrée par voie intrapéritonéale. Le PL37, ((2S)-3-[[[(2S)-2-amino-4-(methylthio)butyl]dithio]-2-(phenylmethyl)-propanoyl] amino]-acetic acid 1-[(ethoxy- carbonyl) oxy]ethyl ester), en provenance de Pharmaleads sous forme solide, fut dissout dans 20% d'éthanol anhydre et 80% de solution saline (NaCl 0,9%) (constituant notre solution véhicule) et administré par voie orale à des concentrations de 50 ou 100 mg/kg et par voie intraveineuse à une dose de 20 mg/kg ou par voie intracisternale (i.c.) à raison de 80 µg/5 µL (dans ce cas le véhicule était composé de 20% d'éthanol anhydre et de 80% de liquide céphalo-rachidien artificiel (aCSF)). Le sumatriptan succinate, un agoniste des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1B/1D}, dilué dans du NaCl 0,9%, fut administré par voie orale (10 mg/kg), la naloxone hydrochloride (Nlx) (2 mg/kg), un antagoniste des récepteurs opioïdes et la naloxone-méthiodide (NM) (5 mg/kg), un antagoniste restrictif des récepteurs opioïdes périphériques, furent administrés par voie sous-cutanée (s.c.) et préparées dans des solutions de NaCl 0,9% (Sigma-Aldrich). Enfin, du KCl 1M (Merck), fut appliqué de façon topique à la surface des méninges, lors des expériences d'électrophysiologie *in vivo*.

III. Modèles expérimentaux

1) Modèles de migraine aiguë induite par l'ISDN

Des rats mâles et femelles ont reçu soit du PL37 (100 mg/kg, p.o.), soit une solution véhicule, 5 minutes avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p). Les administrations orales ont été réalisées sous anesthésie brève (≤ 3 minutes) à l'aide d'un masque à 2% d'isoflurane. Le jour du test, le VFT basal a été mesuré avant l'administration orale, puis toutes les 30 minutes pendant 120 minutes (**figure 21A**).

Une autre partie de ces expériences consistait à administrer le PL37 (80 µg/5 µL, i.c.) ou la solution véhicule à base d'aCSF, 5 minutes avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p), chez des rats femelles. Les injections intracisternales ont été réalisées à l'aide d'une seringue Hamilton (modèle 701 rn, volume x L 10 µL x 51 mm, calibre d'aiguille 26s, Sigma Aldrich), sous anesthésie brève (≤ 3 minutes) à l'aide d'un masque à 2% d'isoflurane. Le jour du test, le seuil de sensibilité mécanique cutanée céphalique basal a été mesuré avant l'administration orale, puis toutes les 30 minutes pendant 120 minutes (**figure 24A**).

Dans l'expérience suivante, les solutions de Nlx, NM ou NaCl ont été administrées par voie sous-cutanée, 15 minutes avant l'administration de PL37 (100 mg/kg, p.o.), lui-même administré 5 minutes avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p), chez des rats mâles. Le jour du test, le VFT basal a été mesuré avant l'administration orale, puis toutes les 30 minutes pendant 120 minutes (**figure 25A**).

2) Modèle de migraine chronique induite par l'ISDN

Des rats mâles et femelles ont reçu une administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) tous les jours pendant 5 jours consécutifs (jours 1, 2, 3, 4 et 5) (Dallel *et al.*, 2018; Descheemaeker *et al.*, 2022). Le seuil de base a été mesuré avant la première administration d'ISDN, afin de confirmer que le seuil de base des animaux était de 8g, ce qui était un critère d'exclusion (données non présentées). Avant la 5^{ème} administration d'ISDN, le seuil de base a été mesuré, afin de confirmer que le VFT était inférieur à celui mesuré avant la 1^{ère} injection d'ISDN, ainsi les animaux présentaient tous une hypersensibilité mécanique (HM) chronique, ce qui était également un critère d'exclusion. Ensuite, dans la première expérience, les animaux ont reçu soit du PL37 (20 mg/kg, i.v.) ou une solution véhicule (**figure 22A-B**), et dans la seconde expérience, les femelles ont reçu du PL37 (100 mg/kg, p.o.) ou une solution de véhicule (**figure 22A-C**), 5 minutes avant la dernière administration d'ISDN. Le jour du test, les VFT ont été mesurés toutes les 30 minutes pendant 180 minutes (**figure 22A**).

3) Modèle de céphalées par abus médicamenteux (CAM)

Dans ce modèle, les rats mâles et femelles ont reçu par voie orale des administrations répétées de sumatriptan (10 mg/kg), de PL37 (50 mg/kg) ou de solution

véhicule, tous les deux jours pendant onze jours, pour un total de six injections (jours 1, 3, 5, 7, 9 et 11). Le VFT basal a été mesuré avant la première injection (jour 0), puis tous les deux jours jusqu'à ce que le VFT des animaux soit revenu au niveau basal (jours 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 et 20) (**figure 28A**).

Une partie de cette expérience consistait à étudier l'effet du PL37 sur les CAM induites par le sumatriptan. Ainsi, selon le paradigme précédent, des rats mâles ont reçu des administrations répétées de sumatriptan par voie orale tous les 2 jours pendant onze jours (tels que décrites ci-avant) (données de VFT non présentées) et au 12^{ème} jour, les animaux ont reçu un traitement de PL37 (20 mg/kg, i.v.) ou de solution véhicule. Le VFT basal a été mesuré avant l'administration de PL37, puis toutes les 30 minutes pendant 120 minutes (**figure 30A**).

4) Modèle de sensibilisation latente

Selon le paradigme précédent (**figure 28A**), au jour 21, des rats mâles et femelles ont reçu une administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.). Le VFT basal a été mesuré avant l'administration d'ISDN, puis toutes les 30 minutes pendant 120 minutes (**figure 29A**).

5) Modèle de CSD

Des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* ont été réalisés sur des rats mâles ou femelles naïfs, répartis au hasard selon le traitement reçu de PL37 (20 mg/kg, i.v.) ou de véhicule (i.v.) (0,3 mL/volume de rat). Un mélange gazeux d'oxygène O₂ et de protoxyde d'azote (N₂O ; 1 : 2) a été utilisé tout au long de l'expérience. L'anesthésie a été induite avec 5% d'isoflurane (Isoflurin[®], Axience, France) puis diminuée à 2% pour la chirurgie. Ensuite, la trachée a été canulée et l'artère carotide gauche, ainsi que la veine jugulaire externe gauche, ont été cathétérisées. Un système de monitoring gazeux (Dragër, Vamos, Germany) était relié à la canule trachéale permettant un suivi de la pression partielle en CO₂, du niveau d'anesthésique et du mélange O₂/N₂O. La canule de la carotide gauche était reliée à un capteur de pression artérielle (IFO, Morro Bay, CA, USA) connecté à un amplificateur (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) permettant une surveillance continue de la pression artérielle moyenne (90 à 110 mmHg). La sortie analogique de l'amplificateur de pression artérielle a été connectée à un système d'échantillonnage de données informatiques (interface Cambridge

Electronic Design 1401plus ; Cambridge, Royaume-Uni). La canulation de la veine jugulaire permettait la perfusion de solution de curare (bromure de vécuronium, Sigma-Aldrich). C'est également *via* cette canule que les traitements ont été administrés. Les animaux ont ensuite été placés dans un cadre stéréotaxique avec la tête fixée en position ventro-fléchie. La peau du crâne a été ouverte à l'aide d'une lame de scalpel et deux craniotomies d'environ 2 x 2 mm ont été réalisées sur l'os pariétal droit : l'une était antérieure au lambda (pour les administrations de KCl) et une postérieure au bregma (pour l'électrode d'enregistrement ; **figure 23A**). Lors des craniotomies, une solution de NaCl fut appliquée afin de ne pas surchauffer la surface du crâne durant le fraisage, afin de préserver au mieux les tissus. La dure-mère a été retirée avec précautions pour éviter des lésions corticales ou des saignements, au niveau des deux craniotomies. Après la chirurgie, l'isoflurane a été maintenu en dessous de 1 % et l'animal a été perfusé par voie intraveineuse avec du bromure de vécuronium (0,8 mL/heure, Sigma-Aldrich). A la fin de la chirurgie, l'animal reposait durant 1 heure environ afin que ses constantes soient stables. Pour éviter le dessèchement, la dure-mère a été recouverte d'une gaze de coton douce imbibée de solution saline jusqu'au début de l'enregistrement. Le niveau d'anesthésie et plusieurs paramètres ont été contrôlés durant toute l'expérience. Les rats ont été ventilés artificiellement avec une pompe à volume contrôlé (54 – 56 tours/min), et les niveaux d'isoflurane, O₂, N₂O et CO₂ de fin d'expiration (3,5 – 4,5%) ont été mesurés par un analyseur de gaz anesthésique (Dragër, Vamos, Germany). Ces paramètres étaient affichés numériquement et les valeurs anormales étaient signalées par des alarmes sonores. La température a été contrôlée à l'aide d'une sonde rectale maintenue à 37 ± 1°C. Au moins une heure après la fin de la préparation du rat, une micropipette en verre borosilicaté (diamètre interne/externe : 0,69 x 1,2 mm ; longueur : 150 mm, Harvard Apparatus), préparée à l'aide d'une étireuse (étireuse PE-2, Narishige Instrument), remplie de NaCl 1M, ayant une pointe de 10 µm, a été insérée à 500 µm sous la surface corticale permettant l'enregistrement des courants continus (direct currents, DC). Cette électrode était montée sur un portoir associé à un descendeur connecté *via* un fil d'argent recouvert de téflon (Wire, silver, teflon, .005 BARE, .007 coated). L'électrode de référence Ag/AgCl a été placée sous la peau du cou. Le signal a été amplifié (Iso-DAM8A, World Precision Instruments, USA) grâce à un amplificateur connecté à une interface de convertisseur numérique CED 1401plus®

(Cambridge Electronic Design) et à un ordinateur PC (logiciel Spike 2.06, CED, Cambridge, UK), ce qui a permis l'échantillonnage et l'analyse des DC shifts. Pour l'enregistrement, les paramètres d'acquisition étaient réglés avec un filtre coupe bande de 50 Hz, un filtre passe-haut 0.1 KHz, filtre passe-bas réglé sur DC et un gain de 10^2 . Après 15 minutes d'enregistrement stable, les animaux ont reçu par voie intraveineuse le traitement de PL37 ou de solution véhicule et 15 minutes après cela, les CSD ont été induites en appliquant 5 μ L de KCl 1M dans la craniotomie la plus caudale. La solution de KCl a été renouvelée toutes les 30 min à raison de 5 μ L. Le nombre de CSD induites par le KCl a été comptabilisé pendant 2 heures. Les données physiologiques de toutes les expériences ont été affichées et enregistrées sur un ordinateur personnel à l'aide d'un système d'analyse de données en ligne (logiciel Spike2.06 ; CED, Cambridge, Royaume-Uni) et du logiciel Matlab (R2014a, MathWorks Inc.).

IV. Immunohistochimie

1) Injections et perfusions

Les animaux ont reçu une administration orale quotidienne de véhicule ou de PL37 (20 mg/kg) (volume de 0,3 mL/rat), 5 minutes avant l'administration intrapéritonéale d'ISDN (10 mg/kg), de NaCl ou de NTG (10 mg/kg). Le cinquième jour, 60 minutes après la dernière administration d'ISDN, de NaCl ou de NTG, les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'une administration d'uréthane 25% (1 mL/100 g) (**figure 26A**). Une fois l'animal endormi (aucun réflexe), la cage thoracique de l'animal était ouverte, laissant accès au cœur permettant la perfusion d'une solution de sérum physiologique héparinée (NaCl 0.9%, héparine 25 000 UI/5 (Heparine Choay, Cheplapharm, Arzneimittel), 100 mL/rat) puis une solution de fixation (paraformaldéhyde (PFA) 4%, ANTIGENFIX, DiaPath S.p.A., Italie) froide (10°C, 350 mL/rat).

Une fois les tissus fixés, le cerveau, les premiers segments cervicaux de la moelle épinière et les ganglions trigéminaux ont été prélevés et post-fixés dans le PFA durant 2 heures. Par la suite, les tissus ont été placés dans une solution de TBS-Sucrose (30%)-Azoture de Sodium (0,05%) et conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation. Le sucrose permet la cryo-protection des tissus et l'azoture de sodium, est un biocide empêchant la croissance des bactéries, permettant la conservation des tissus.

2) Coupe des tissus

La partie du TC contenant le Sp5C fut isolée, placée sur la plateforme du microtome à congélation (MICROM HM450, Microm) et fixée grâce à du Tissue Freezing Medium (General Data Healthcare, USA). Des coupes transversales de 30 μm d'épaisseur ont été réalisées et récupérées à l'aide d'un pinceau, puis placées dans 4 flacons contenant du TBS-Sucrose (30%)-Azoture de Sodium (0,05%), de façon à disposer de 4 séries de tissu. Les flacons ont ensuite été stockés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

3) Marquage

Pour chaque animal, une série de coupes fut utilisée. Les coupes ont été récupérées soigneusement à l'aide d'un pinceau et placées dans des puits, dans lesquels se déroulent la suite de l'expérience. Par la suite, les coupes ont été rincées 3 fois dans du TBS 1X, puis incubées avec la solution de saturation composée de TBS 1X et de sérum d'âne (Normal Donkey Serum, 10%), 2h à température ambiante sous faible agitation (80 tours par minutes). La solution de saturation permet de diminuer la fixation aspécifique des anticorps. Ensuite, l'anticorps primaire (Mouse, Anti-CGRP, dilué au 1/500^{ème}) était incubé pendant une nuit à 4°C. Le lendemain, après 3 rinçages au TBS, l'anticorps secondaire (Cy3-Donkey anti-mouse, dilué au 1/250^{ème}) était incubé à température ambiante pendant 2 heures. Les coupes étaient ensuite montées précautionneusement à l'aide d'un pinceau sur lame gélatinées. Une fois rincées dans de l'eau, afin de retirer le maximum d'impuretés, et séchées, une solution de Fluoromount G® + DAPI (permettant de visualiser les noyaux des cellules) était déposée sur les lames, permettant la fixation de la lamelle et la conservation au frais à 4°C.

4) Acquisition des images et quantification

Dans un premier temps, les lames ont été placées sous un microscope à épifluorescence (Axioplan 2, ZEISS) afin de repérer les niveaux 0, -400, -800, -1200, -1600, -2000 et -2400 du Sp5C. Par la suite, les coupes ont été analysées à l'aide d'un microscope à balayage laser confocal ZEISS® LSM 800. Les séries ont été balayées au grossissement x20 avec

un pas Z de 2µm pour les laser DAPI et DsRed (Cy3). Les images générées étaient sous format « .CZI ».

Les analyses ont ensuite été réalisées à l'aide d'un script Matlab développé au sein du laboratoire. Les images étaient chargées puis projetées selon l'axe Z, avant d'être filtrées à l'aide d'un filtre médian 2D de taille (11,11), et étaient ensuite affichées sur l'écran. L'interface permettait de placer un gabarit sur l'image numérisée, constitué d'un rectangle, que l'opérateur pouvait repositionner, redimensionner et pivoter selon l'image et la zone à quantifier. Les côtés du rectangle devaient être alignés avec les bords latéral, dorsal et ventral de la couche II du Sp5C. Le côté médial du gabarit était alors coupé en deux segments égaux, et son milieu était relié aux deux sommets opposés, pour former deux diagonales. La diagonale ventrale servait de support pour l'ajout d'un dernier rectangle, qui servait pour le calcul de la fluorescence : ce rectangle était aligné sur cette diagonale et son sommet touchait le côté latéral du gabarit. L'opérateur pouvait librement déplacer le rectangle, dont la hauteur s'adaptait automatiquement, et régler sa largeur (prenant en considération la partie V1 du Sp5C). Le gabarit s'accompagnait d'un carré de la même surface que le rectangle, et dont la taille s'alignait automatiquement, que l'opérateur plaçait librement sur la zone de l'image qui servait de référence pour la fluorescence (**données supplémentaires 2**). Une fois les positions des deux zones validées par l'opérateur, le script extrait automatiquement les valeurs moyenne et médiane des pixels sur ces deux zones et sont exportées vers un tableau Excel.

V. RT-qPCR

Les animaux ont reçu une administration intraveineuse quotidienne de solution véhicule ou de PL37 (20 mg/kg) (volume de 0,3 mL/rat), 5 minutes avant l'administration intrapéritonéale d'ISDN (10 mg/kg) ou de NaCl (**figure 27A**). Le cinquième jour, 60 minutes après la dernière administration d'ISDN ou de NaCl, les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'une administration d'uréthane 25% (1 mL/100 g) avant d'être sacrifiés par décapitation, la section du TC contenant le Sp5C (de l'obex au premier segment cervical, en retirant la partie la plus ventrale) a été rapidement prélevée et stockée dans un congélateur à -80°C jusqu'à l'extraction de l'ARN.

L'ARN total a été extrait du Sp5C à l'aide du kit Quick-RNA MiniPrep (Qiagen, GmbH) selon le protocole du fabricant. La concentration d'ARN a été quantifiée à l'aide de la plaque de quantification d'acide nucléique Take3 (Epoch, BioTek, France). Des quantités égales (500 ng) d'ARN de chaque échantillon ont été rétro-transcrites dans un volume de 20 µL pour produire de l'ADN combiné (ADNc) à l'aide du kit de transcription inverse d'ADNc haute capacité (Applied Biosystems-Thermo Fisher Scientific) conformément aux recommandations du fabricant. La qPCR à base de SYBR Green a été réalisée avec le SsoAdvanced Univ SYBR Grn Supermix (Bio-Rad, États-Unis) dans Bio-Rad CFX-96 (Bio-Rad, États-Unis), avec pour paramètres : température de 98°C pendant 3 minutes, suivie de 50 cycles (95°C pendant 10 secondes, 60°C pendant 10 secondes). Dans chaque expérience, les échantillons ont été dosés trois fois (triplicata).

Les données de qPCR ont été analysées à l'aide de la méthode de quantification relative du cycle de seuil (Ct). Les quantités relatives (RQ) ont été déterminées à l'aide de l'équation : $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$. GAPDH a été utilisé comme gène de ménage. Les amorces sens et antisens suivantes utilisées dans cette étude sont : (5' -GTCCCTCCTCCTTTCCAGTT-3, 5'-AGATTCCAGATACCATCCTTTGCC-3'), nNOS (5'-CGCTACGCGGGCTACAAGCA-3', 5'GCACGTGCGAAGCGGCCTCTT-3'), PACAP (5'-CATGTGTAGCGGAGCAAGGTT-3', 5'-GTCTTGCAGCGGGTTTCC-3') et GAPDH (5'-CTGAGGGTGCCAGGTCTAG-3', 5'-AGCCCCTTTCAGGTCAGCTT-3').

VI. Analyses statistiques

Les données générées tout au long de l'étude ont été analysées à l'aide de la version GraphPad Prism 9.00 (GraphPad Software Inc., CA, USA). La normalité des données a été déterminée à l'aide du test de Shapiro-Wilk, afin de savoir si le test statistique utilisé serait paramétrique ou non paramétrique. La comparaison entre deux groupes a été effectuée à l'aide d'un test t de Student dans le cas de données paramétriques ou du test de Mann-Whitney dans le cas où les données étaient non paramétriques c'est-à-dire qu'elles ne suivaient pas de distributions normales. Pour comparer l'effet de plusieurs traitements entre eux, une ANOVA à une voie à mesure répétée suivie du test *post hoc* de Tukey a été réalisée, lorsque les données étaient paramétriques. Dans le cas inverse, le test de Kruskal-Wallis suivi

du test *post hoc* de Dunn's étaient utilisés. Dans le cas où deux paramètres étaient comparés, Traitement x Temps, Sexe x Traitement ou Peptide x Traitement, une ANOVA à deux voies suivie du test *post hoc* de Tukey ou de Bonferroni (en comparaison au groupe contrôle) ont été réalisées. Enfin, dans le cas où trois paramètres étaient comparés, Traitement x Temps x Sexe, une ANOVA à trois voies suivie du test *post hoc* de Tukey a été utilisée. Le seuil de significativité a été fixé à $P \leq 0,05^*$, $P \leq 0,001^{**}$ et $P \leq 0,0001^{***}$. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm erreur standard des moyennes (SEM) et n représente le nombre d'animaux. Les détails statistiques sont disponibles dans les **données supplémentaires 2**.

Les aires sur la courbe ont été obtenues grâce aux courbes de décours temporel correspondantes. Ces courbes ont été obtenues en prenant en compte la valeur basale de l'expérience comme référence, de telle façon qu'une ligne imaginaire était tracée à partir de ce point et que l'aire sur la courbe correspond à l'aire entre la courbe représentant le seuil de retrait de la face de l'animal et cette ligne imaginaire.

Chapitre III – Résultats

I. Le PL37 exerce-t-il son effet chez la femelle ?

L'effet analgésique du PL37 a été étudié dans différents modèles de migraine, tout d'abord *via* une approche comportementale grâce au test de vF, en condition aiguë puis chronique, puis *via* une approche électrophysiologique, dans le modèle de CSD, considéré comme modèle électrophysiologique des migraines avec aura.

1) Approche comportementale

a. Condition aiguë

L'effet antimigraineux du PL37, en condition aiguë, a précédemment été démontré chez le mâle (Descheemaeker *et al.*, 2022). Or, la prévalence de la migraine est plus importante chez la femme que chez l'homme (3 : 1) (Stovner *et al.*, 2018). Le but de cette étude était de tester l'effet analgésique du PL37 en condition aiguë chez la femelle et ainsi, d'étudier l'effet du sexe. Dans cette expérience, le PL37 (100 mg/kg, p.o.) a été administré 5 minutes avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) (**figure 21A**). Tout d'abord, nos résultats montrent qu'une seule injection d'ISDN entraîne une HM cutanée céphalique réversible chez les femelles (symboles remplis roses) et les mâles (symboles remplis bleus), traduite par une diminution du VFT de l'animal à partir de 30 minutes post-injection (*femelles : 8,0 ± 0,0 g avant ISDN vs 4,5 ± 0,5 g, 30 minutes après ISDN ; mâles : 8,0 ± 0,0 g avant ISDN vs 5,0 ± 0,5 g, 30 minutes après ISDN*), maximale à 60 minutes après l'injection (*femelles : 3,8 ± 0,5 g ; mâles : 2,8 ± 0,4 g*) et durant 120 minutes (*femelles : 8,0 ± 0,0 g ; mâles : 7,8 ± 0,3 g*) (**figure 21B**). De plus, l'administration préventive de PL37 inhibe l'HM induite par l'ISDN chez la femelle (symboles vides roses), comme chez le mâle (symboles vides bleus). En effet, l'analyse *post hoc* révèle que 30, 60 et 90 minutes après l'administration d'ISDN, les VFT étaient significativement plus élevés chez les femelles traitées au PL37 que chez les femelles du groupe véhicule (*30 minutes : veh 4,5 ± 0,5 g vs PL37 7,8 ± 0,3 g ; 60 minutes : veh 3,8 ± 0,5 g vs PL37 7,3 ± 0,4 g et 90 minutes : veh 6,5 ± 0,5 g vs PL37 8,0 ± 0,0 g*)

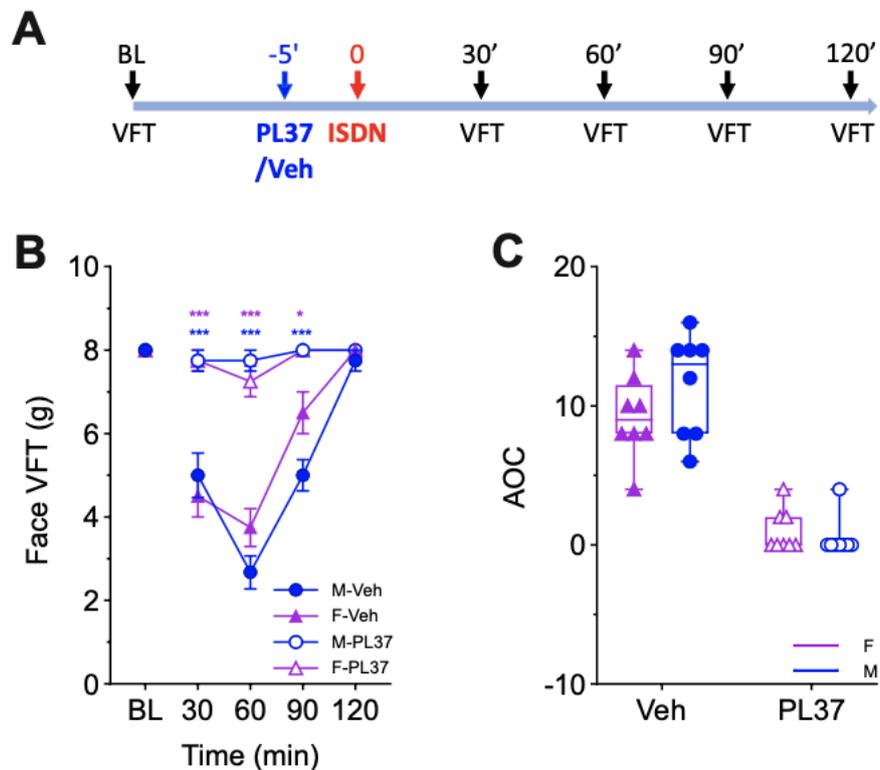


Figure 21 – Effet de l’administration orale de PL37 sur l’HM induite par une injection d’ISDN. (A) Frise temporelle, représentant les administrations de PL37 (100 mg/kg, p.o) et de solution véhicule, 5 minutes avant l’injection d’ISDN (10 mg/kg, i.p.), ainsi que les mesures des seuils de retrait de la face (VFT – von Frey Threshold). (B) Évolution temporelle des VFT de la face, exprimés en gramme, chez les femelles ayant reçu la solution véhicule (F-Veh) (n=8) ou traitées au PL37 (F-PL37) (n=8) et chez des mâles ayant reçu la solution véhicule (M-Veh) (n=8) ou traités au PL37 (M-PL37) (n=8), avant une injection d’ISDN. Le PL37 renverse l’HM induite par l’ISDN, aussi bien chez les femelles que chez les mâles. Analyse ANOVA à trois voies suivie du test post hoc de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives par rapport au groupe véhicule, chez femelles (étoiles violettes) et les mâles (étoiles bleues) (données supplémentaires 2). (C) Effet du sexe sur l’HM céphalique, exprimé en aire sur la courbe (AOC) obtenue à partir des courbes temporelles des VFT. Aucune différence de sexe n’est observée, ni pour les animaux traités avec la solution véhicule, ni au PL37. Les AOC sont représentées avec les valeurs et les moyennes individuelles \pm SEM. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de comparaison multiple de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (données supplémentaires 2).

(étoiles roses). De même chez les mâles traités au PL37, les VFT étaient significativement plus élevés que chez les mâles du groupe véhicule (30 minutes : veh $5,0 \pm 0,5$ g vs PL37 $7,8 \pm 0,3$; 60 minutes : veh $2,8 \pm 0,4$ g vs PL37 $7,8 \pm 0,3$ et 90 minutes : veh $5,0 \pm 0,4$ g vs PL37 $8,0 \pm 0,0$ g) (étoiles bleus) (**figure 21B**).

L'étude des aires sur la courbe (Area Over the Curve, AOC) a permis de déterminer l'effet sexe et d'observer la distribution des animaux en fonction des groupes. Aucune différence significative entre les femelles et les mâles du groupe véhicule n'est observée (femelles : $3,0 \pm 1,1$; mâles : $3,7 \pm 1,3$) (symboles remplis), ni entre les femelles et les mâles du groupe PL37 (femelles : $1,5 \pm 0,5$; mâles : $0,5 \pm 0,5$) (symboles vides) (**figure 21C**).

Ces résultats montrent qu'une administration orale de PL37 inhibe de façon efficace l'HM céphalique induite par une injection aiguë d'ISDN, chez les femelles et chez les mâles.

b. Condition chronique

Une étude réalisée au laboratoire a montré l'effet de PL37 administré par voie intraveineuse, puis par voie orale, chez le mâle, en condition chronique (Descheemaeker *et al.*, 2022). L'objectif était de réaliser ces mêmes expériences chez la femelle.

Tout d'abord, l'administration chronique d'ISDN, tous les jours durant 5 jours consécutifs entraîne une HM céphalique cutanée persistante, chez le mâle (Dallel *et al.*, 2018) et chez la femelle (Megemont M., thèse 2019).

L'effet du PL37 administré par voie intraveineuse au 5^{ème} jour avant la 5^{ème} injection d'ISDN fut étudié. Notons qu'avant la 5^{ème} administration d'ISDN tous les animaux, femelles et mâles inclus, présentaient un VFT basal équivalent (femelles : veh $2,3 \pm 0,3$ g vs PL37 $3,0 \pm 0,4$ g ; mâles : veh $2,1 \pm 0,3$ g vs PL37 $2,8 \pm 0,4$ g). Chez les animaux du groupe véhicule, la 5^{ème} administration d'ISDN entraîne une nouvelle crise se traduisant par la diminution du seuil de retrait de la face (femelles : $2,3 \pm 0,3$ g avant ISDN vs $1,4 \pm 0,1$ g, 30 minutes après ISDN ; mâles : $2,1 \pm 0,3$ g avant ISDN vs $1,2 \pm 0,1$ g, 30 minutes après ISDN), aussi bien chez les femelles que chez les mâles (symboles remplis) (**figure 22B**), cet effet dure 120 minutes. Grâce à l'étude des AOC, les résultats montrent qu'il n'existe aucune différence entre les sexes (symboles remplis) (**figure 22C**).

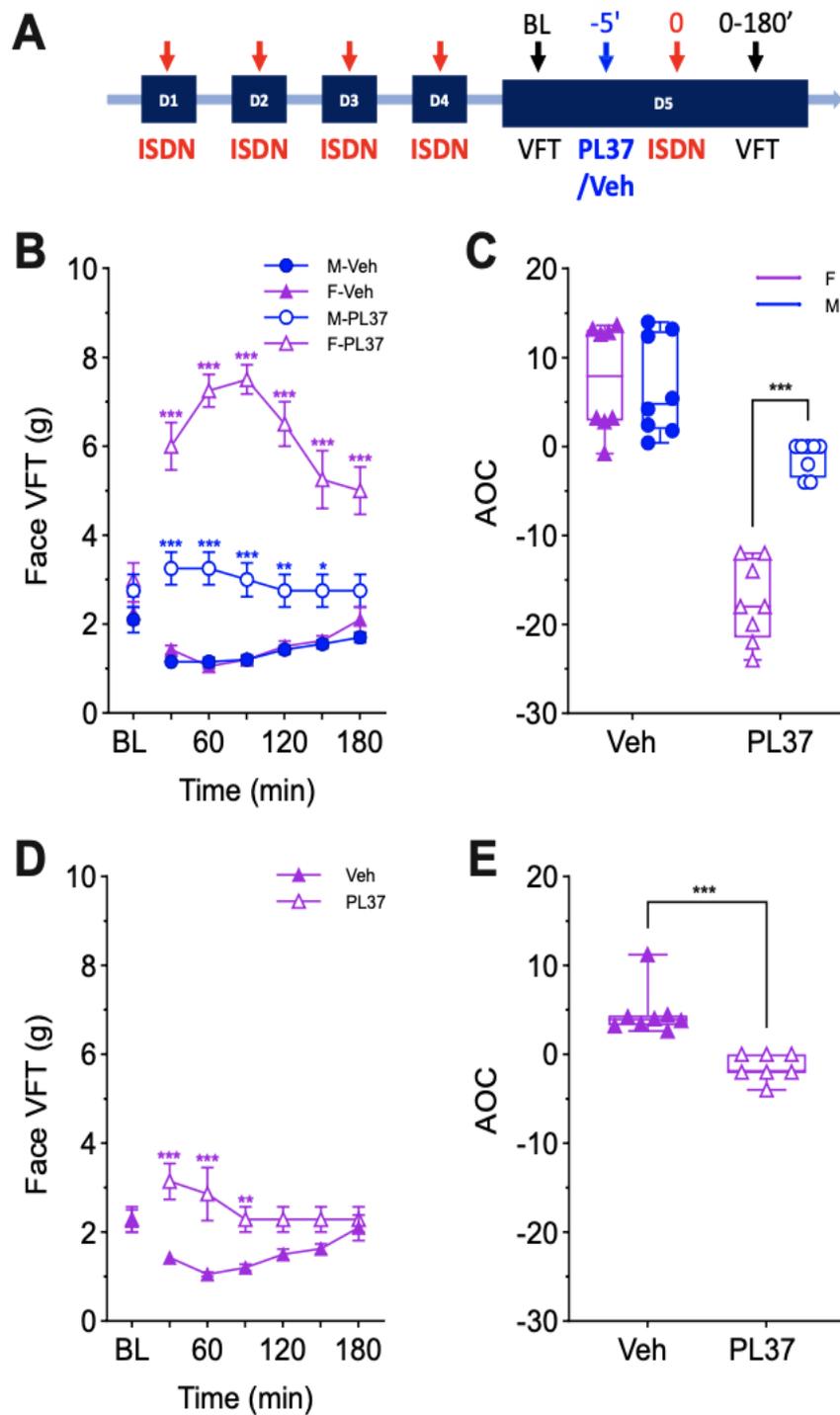


Figure 22 – Effet de l'administration de PL37 sur l'HM chronique induite par des injections répétées d'ISDN, chez les femelles et les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration quotidienne d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) pendant 4 jours, puis le 5^{ème} jour, les animaux ont reçu un traitement de PL37 ou de solution véhicule avant la 5^{ème} injection d'ISDN, les VFT sont mesurés pendant 180

Figure 22 (suite) – **(B)** Évolution temporelle des VFT, chez les femelles ayant reçu par voie intraveineuse la solution véhicule (F-Veh) (n=8) ou le PL37 (20 mg/kg) (F-PL37) (n=8) et chez des mâles ayant reçu par voie intraveineuse la solution véhicule (M-Veh) (n=8) ou le PL37 (20 mg/kg) (M-PL37) (n=8), avant la 5^{ème} injection d'ISDN. Le PL37 renverse significativement l'HM induite par la 5^{ème} injection d'ISDN, chez les femelles et chez les mâles. Analyse ANOVA à trois voies suivie du test post hoc de Tukey, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, indique des différences significatives entre les rats ayant reçu le PL37, par rapport au groupe véhicule, chez les femelles (étoiles violettes) et les mâles (étoiles bleues) (**données supplémentaires 2**). **(C)** Effet du sexe sur l'HM, exprimé en AOC. Aucune différence de sexe n'est observée, pour les animaux traités avec la solution véhicule, cependant, l'AOC des femelles traitées au PL37 est significativement plus faible que celles des mâles ayant reçu le même traitement. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de comparaison multiple de Bonferroni, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 (**données supplémentaires 2**). **(D)** Évolution temporelle des VFT, chez les femelles ayant reçu par voie orale la solution véhicule (n=8) ou traitées au PL37 (100 mg/kg) (n=7), avant la 5^{ème} injection d'ISDN. Le PL37 renverse significativement l'HM induite par la 5^{ème} injection d'ISDN. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de Bonferroni, *p < 0,05, (**données supplémentaires 2**). **(E)** Effet du traitement oral sur l'HM, exprimé en AOC. L'AOC du groupe traité au PL37 est significativement inférieure à celle du groupe véhicule. Test non paramétrique de Mann-Whitney, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 (**données supplémentaires 2**).

Chez les mâles, l'administration de PL37 (20 mg/kg, i.v.) le 5^{ème} jour avant la 5^{ème} administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) empêche la crise induite par la 5^{ème} injection d'ISDN. En effet, l'analyse *post hoc* révèle que 30, 60, 90, 120 et 150 minutes après l'injection d'ISDN, les VFT du groupe traité au PL37 sont significativement supérieurs comparés au groupe véhicule (30 minutes : veh $1,2 \pm 0,1$ g vs PL37 $3,3 \pm 0,4$ g ; 60 minutes : veh $1,2 \pm 0,1$ g vs PL37 $3,3 \pm 0,4$ g ; 90 minutes : veh $1,2 \pm 0,1$ g vs PL37 $3,0 \pm 0,4$ g ; 120 minutes : veh $1,4 \pm 0,5$ g vs PL37 $2,8 \pm 0,4$ g et 150 minutes : veh $1,6 \pm 0,1$ g vs PL37 $2,8 \pm 0,4$ g) (**figure 22B**). Chez les femelles, l'administration de PL37 (20 mg/kg, i.v.) le 5^{ème} jour avant la 5^{ème} administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) renverse la crise induite par la 5^{ème} injection d'ISDN. En effet, l'analyse *post hoc* révèle que 30, 60, 90, 120, 150 et 180 minutes après l'injection d'ISDN, les VFT du groupe traité au PL37 sont significativement supérieurs comparés au groupe véhicule (30 minutes : veh $1,4 \pm 0,1$ g vs PL37 $6,0 \pm 0,5$ g ; 60 minutes : veh $1,1 \pm 0,1$ g vs PL37 $7,3 \pm 0,4$ g ; 90 minutes : veh $1,2 \pm 0,1$ g vs PL37 $7,5 \pm 0,3$ g ; 120 minutes : veh $1,5 \pm 0,1$ g vs PL37 $6,5 \pm 0,5$ g et 150 minutes : veh $1,6 \pm 0,1$ g vs PL37 $5,8 \pm 0,7$ g) (**figure 22B**). En effet, les VFT augmentent progressivement à 30, 60 et 90 minutes, atteignant leur pic d'efficacité à 90 minutes puis diminuent progressivement à 120, 150 et 180 minutes sans revenir au seuil de base du début de l'expérience. L'analyse des AOC montre qu'il existe une différence significative entre les femelles et les mâles des groupes traités au PL37 (symboles vides) (**figure 22C**). L'AOC du groupe des femelles traitées au PL37 est significativement inférieure à celle des animaux du groupe mâle ayant reçu le même traitement (femelles : $-17,5 \pm 1,6$; mâles : $-1,3 \pm 0,7$). **Ces données montrent que l'administration par voie intraveineuse de PL37, chez les mâles, empêche la crise induite par l'ISDN pendant 150 minutes et renverse l'HM, chez la femelle, au-delà de 180 minutes. Ces données suggèrent que l'efficacité du PL37 serait supérieur chez la femelle.**

Dans l'étude précédente (Descheemaeker *et al.*, 2022), l'administration de PL37 (100 mg/kg, p.o.) chez le mâle n'avait pas d'effet sur l'HM induite par l'administration chronique d'ISDN (10 mg/kg, i.p.). Au vu des résultats précédents et de l'efficacité chez la femelle, l'effet du PL37 administré par voie orale a été testé chez la femelle. Ces résultats montrent que le PL37 renverse l'HM induite par la 5^{ème} injection d'ISDN après 30, 60 et 90 minutes (30 minutes : veh $1,4 \pm 0,3$ g vs PL37 $3,1 \pm 0,4$ g ; 60 minutes : veh $1,1 \pm 0,1$ g vs PL37 $2,9 \pm 0,6$ g

et 90 minutes : veh $1,2 \pm 0,1$ g vs PL37 $2,3 \pm 0,3$ g) (**figure 22D**). L'analyse des AOC montre qu'il existe une différence significative entre les femelles traitées au PL37, présentant une AOC plus élevée que les femelles du groupe véhicule (veh $4,6 \pm 1,0$ vs PL37 $1,4 \pm 0,6$) (**figure 22E**). **Ces résultats suggèrent qu'en condition chronique, l'administration orale de PL37 est efficace chez la femelle avec un effet durant 90 minutes, mais pas chez le mâle.**

Ces résultats montrent qu'en condition chronique, le PL37 est plus efficace chez la femelle.

2) Approche électrophysiologique (modèle de CSD)

Dans cette expérience, l'effet du PL37 a été étudié dans le modèle d'aura migraineuse *via* une approche électrophysiologique de CSD. Chez des animaux naïfs, l'administration par voie intraveineuse de PL37 ou de solution véhicule était réalisée 15 minutes avant le déclenchement des CSD par l'application topique de KCl à la surface des méninges. Le nombre d'évènements de CSD a été comptabilisé sur une durée d'enregistrement de 120 minutes. Dans un premier temps, nous n'avons constaté aucune différence significative entre les animaux femelles ayant reçu l'administration de solution véhicule ou de PL37 (veh $13,4 \pm 0,6$ vs PL37 $11,4 \pm 1,8$) (symboles roses) (**figure 23B**). En revanche, chez les mâles, le traitement au PL37 diminue le nombre d'évènements de CSD par rapport aux animaux du groupe contrôle (veh $18,0 \pm 0,7$ vs PL37 $-13,1 \pm 1,3$) (symboles bleus) (**figure 23B**). Notons que le test *post hoc* révèle qu'il n'existe pas de différence entre les mâles et les femelles ayant reçu le véhicule, ni entre ceux ayant reçu le PL37. **Ces résultats montrent que le PL37 diminue le nombre d'évènements de CSD chez le mâle seulement.**

D'autres paramètres, tels que l'amplitude, la durée de l'onde et le temps de latence entre l'application de KCl et le premier évènement, ont été mesurés et aucune différence significative entre les animaux véhicule et ceux traités au PL37 n'a été observée, aussi bien chez les mâles que chez les femelles (données non présentées).

Ces données révèlent l'effet antimigraineux du PL37 sur plusieurs modèles, induit par l'ISDN en conditions aiguë et chronique et sur un modèle de CSD induit par l'application de KCl.

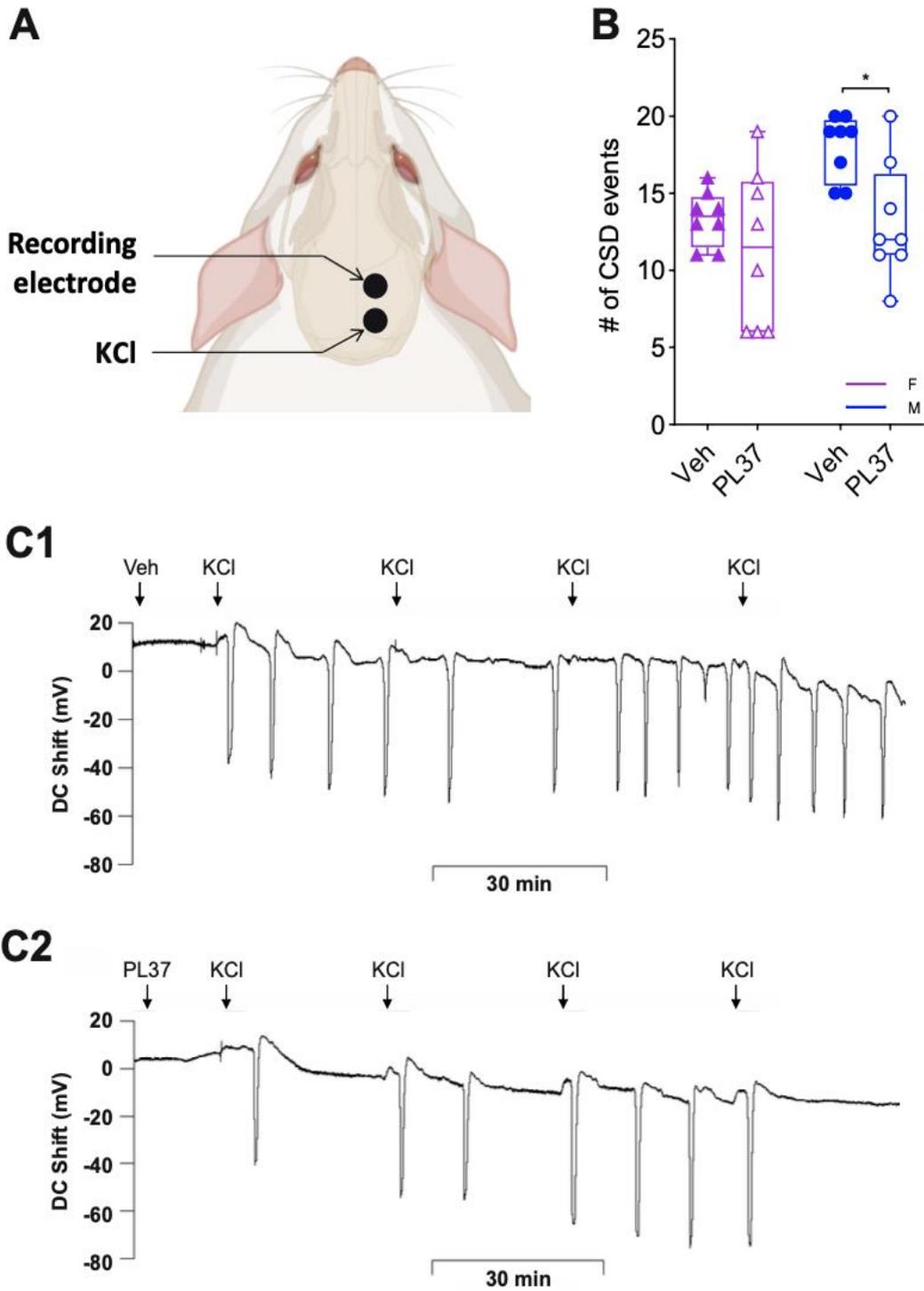


Figure 23 – Effet du PL37 sur le nombre d'événements de CSD, chez les femelles et les mâles
(A) Schéma des sites d'administration de KCl (1M) et de l'enregistrement des courants continus (DC).

Figure 23 (suite) – **(B)** Nombre d'événements de CSD, chez des femelles (symboles violets) ayant reçu le véhicule (Veh) (n = 8) ou le PL37 (20 mg/kg, i.v.) (n = 8) et chez des mâles (symboles bleus) ayant reçu le véhicule (Veh) (n = 8) ou le PL37 (20 mg/kg, i.v.) (n = 8), avant l'induction de KCl. Les traitements ont été administrés par voie intraveineuse 15 min avant la première application de KCl, rafraîchie toutes les 30 minutes sur deux heures d'enregistrement. Le PL37 (20 mg/kg, i.v.) diminue le nombre d'événements de CSD induites par le KCl chez les mâles mais pas chez les femelles. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de Tukey, *p < 0,05 (**données supplémentaires 2**). **(C1-C2)** Exemples représentatifs d'enregistrements des courants continus sur les deux heures d'enregistrement chez un animal ayant reçu le véhicule (Veh, i.v.) **(C1)** ou le PL37 (20 mg/kg, i.v.) **(C2)**, comme traitement.

II. Quels sont les sites et mécanismes d'action du PL37 ?

Les données précédentes permettent de confirmer que le PL37 serait un traitement antimigraineux efficace, mais n'indiquent pas quels sont les sites et mécanismes d'action de cette potentielle nouvelle thérapie. Grâce à l'approche comportementale, des études d'imagerie et de biochimie, nous avons mis en lumière les sites et mécanisme d'action du PL37.

1) Détermination du site d'action du PL37 grâce à l'approche comportementale en condition aiguë

Les données ci-dessus montrent le pouvoir analgésique du PL37, sans différence significative entre les deux sexes mais sans donner d'indications concernant son site d'action. Dans cette étude, l'effet d'une administration centrale de PL37 (80 µg/ 5 µL) a été étudié, dans le modèle de migraine aiguë induite par une injection d'ISDN, chez la femelle. Les résultats montrent que l'administration par voie intracisternale d'aCSF, 5 minutes avant l'injection d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) entraîne une HM, dont le VFT atteint son minimum 60 minutes après l'injection d'ISDN et retourne à son seuil de base 120 minutes après. En revanche, aucune HM n'est constatée chez les animaux ayant reçu le PL37. L'analyse *post hoc* révèle des différences significatives entre les animaux ayant reçu la solution véhicule et les animaux ayant reçu le PL37 à 30, 60 et 90 minutes après l'injection d'ISDN (30 minutes : aCSF $4,3 \pm 0,5$ g vs PL37 $7,8 \pm 0,3$ g ; 60 minutes : aCSF $3,0 \pm 0,5$ g vs PL37 $7,8 \pm 0,3$ g et 90 minutes : aCSF $6,3 \pm 0,5$ g vs PL37 $8,0 \pm 0,0$ g) (**figure 24B**). L'AOC des animaux traités au PL37 est plus faible que celle des animaux du groupe véhicule (aCSF $10,5 \pm 1,6$ vs PL37 $0,5 \pm 0,3$) (**figure 24C**). Ces données montrent que l'administration centrale de PL37 inhibe totalement l'HM induite par l'ISDN. Cependant, ces données ne donnent pas d'indications sur le site d'action du PL37 par voie orale.

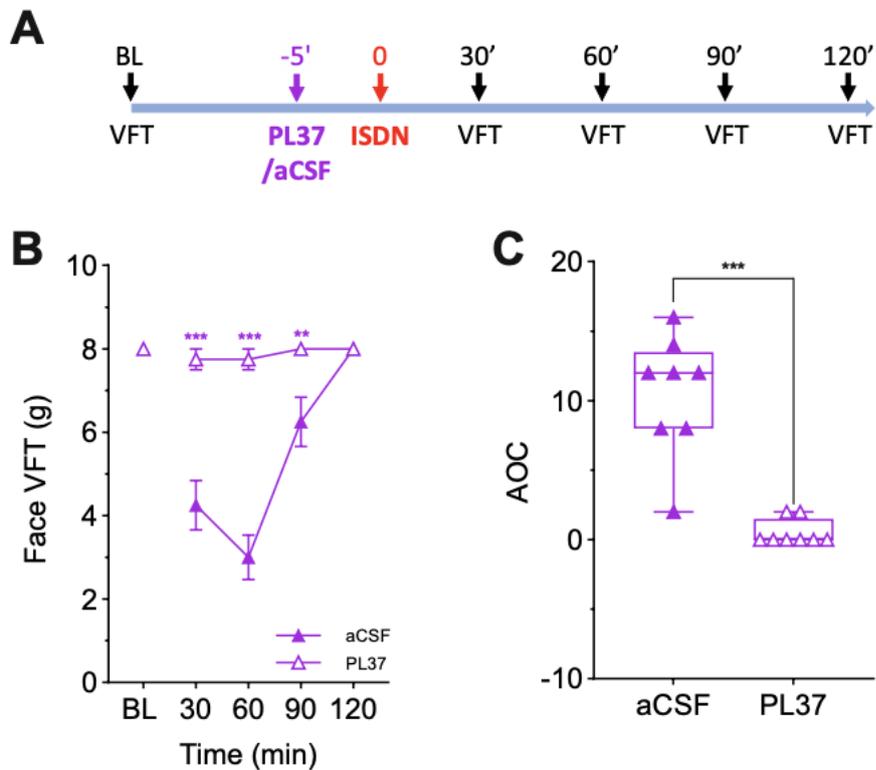


Figure 24 – Effet de l'administration centrale (intracisternale) de PL37 sur l'HM céphalique cutanée induite par une injection d'ISDN, chez les femelles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration de PL37 (80 μ g/5 μ L, i.c.) ou de solution d'aCSF (liquide cérébrospinal artificiel), 5 minutes avant l'injection d'ISDN (10 mg/kg, i.p.), ainsi que les mesures des VFT, pendant 120 minutes. (B) Évolution temporelle des VFT, chez les femelles ayant reçu la solution véhicule d'aCSF (aCSF) (n=8) ou de PL37 (80 μ g/5 μ L) (PL37) (n=8), avant une injection d'ISDN. Le PL37 réduit significativement l'HM induite par l'ISDN. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Bonferroni, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu PL37, par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (C) Effet du traitement central sur l'HM induite par une administration d'ISDN, exprimé en AOC. L'AOC du groupe traité au PL37 est significativement inférieure à celle du groupe véhicule. Test non paramétrique de Mann-Whitney, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 (**données supplémentaires 2**).

C'est pourquoi, par la suite, le site d'action, périphérique ou central, lors de l'administration orale de PL37, fut étudié dans le modèle de migraine aiguë induite par une injection d'ISDN, chez le mâle. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet du PL37 au niveau du système nerveux périphérique. Pour étudier cela, la NM (Milne *et al.*, 1990; Maslov *et al.*, 2014), un antagoniste des récepteurs opioïdes non sélectif à restriction périphérique, a été administrée par voie sous-cutanée 15 minutes avant l'administration orale de PL37 (100 mg/ kg), lui-même administré 5 minutes avant l'injection d'ISDN. **Les résultats montrent que la NM inhibe partiellement l'effet analgésique induit par l'administration orale de PL37.** L'analyse *post hoc* a montré que 30, 60 et 90 minutes après l'administration, les VFT étaient plus faibles dans les groupes traités au véhicule (S-Veh) que chez les rats ayant reçu les traitements NM-PL37 (étoiles orange) (30 minutes : S-Veh $4,3 \pm 0,3$ g vs NM-PL37 $5,5 \pm 0,7$ g ; 60 minutes : S-Veh $2,3 \pm 0,4$ g vs NM-PL37 $5,5 \pm 0,7$ g et 90 minutes : S-Veh $5,0 \pm 0,4$ g vs NM-PL37 $6,5 \pm 0,6$ g) (figure 25B). **Ces résultats suggèrent donc que l'effet du PL37 administré par voie orale serait partiellement médié par les récepteurs opioïdes périphériques.** Afin de savoir si l'effet complémentaire du PL37 serait médié par les récepteurs aux opioïdes situés au niveau du système nerveux central, la Nlx (Sawynok *et al.*, 1979; Broccardo *et al.*, 1998), un antagoniste non sélectif des récepteurs opioïdes traversant la BHE, a été administrée par voie sous-cutanée avant l'administration orale de PL37, lui-même administré 5 minutes avant l'injection d'ISDN. En effet, les résultats montrent que la Nlx a complètement renversé l'effet analgésique induit par l'administration orale de PL37. L'analyse *post hoc* a montré qu'il n'y avait pas de différence entre le groupe traité par le véhicule (S-Veh) et le groupe ayant reçu les traitements Nlx-PL37 (figure 25B). L'étude des AOC, nous a permis de montrer la répartition des animaux en fonction des différents groupes. L'analyse *post hoc* indique que l'AOC du groupe S-Veh n'était pas différente du groupe Nlx-PL37, cependant, les AOC des groupes S-PL37 et NM-PL37 étaient inférieures à celles des animaux témoins S-Veh (S-Veh $12,5 \pm 0,8$ vs S-PL37 $1,0 \pm 0,5$ vs NM-PL37 $7,0 \pm 1,8$) (figure 25C).

Ces données montrent que l'administration par voie orale de PL37 à 100 mg/kg, agit totalement par l'intermédiaire des récepteurs opioïdes situés au niveau du système nerveux périphérique et central, dans le modèle d'HM céphalique cutanée induite par l'ISDN et que

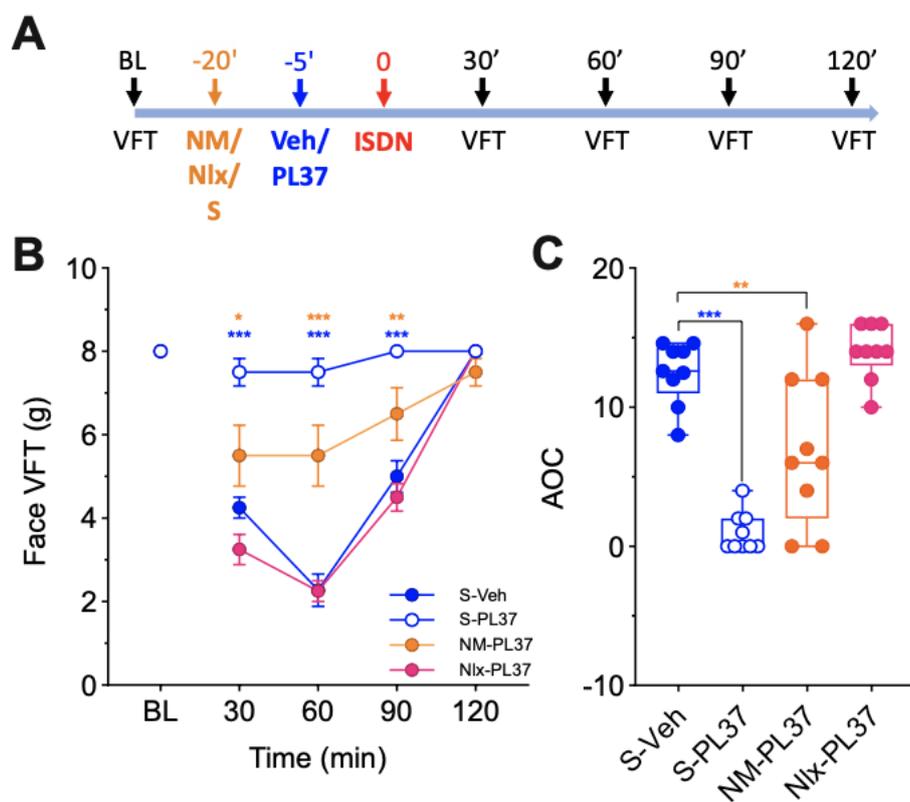


Figure 25 – Sélectivité centrale et/ou périphérique de l'administration orale de PL37 sur l'HM induite par une injection d'ISDN, chez les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration de naloxone-méthiodide (NM) (5 mg/kg, s.c.), naloxone (Nlx) (2 mg/kg, s.c.) ou de solution de NaCl (S, s.c.) 15 minutes avant l'administration de PL37 (100, mg/kg, p.o.) ou de solution véhicule, 5 minutes avant l'injection d'ISDN (10 mg/kg, i.p.), ainsi que les mesures des VFT, pendant 120 minutes. (B) Évolution temporelle des VFT chez les mâles ayant reçu la solution saline et le véhicule (S-Veh) (n=8), la solution saline et le PL37 (S-PL37) (n=8), la NM et le PL37 (NM-PL37) (n=8) ou la Nlx et le PL37 (Nlx-PL37) (n=8) avant une injection d'ISDN. Le PL37 réduit significativement l'HM induite par l'ISDN. La NM entraîne une inhibition partielle et la Nlx entraîne une inhibition complète de l'effet analgésique du PL37. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Tukey, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, indiquant des différences significatives par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (C) Effet du traitement sur l'HM induite par une administration d'ISDN, exprimé en AOC. L'AOC du groupe S-Veh est significativement supérieure à celle du groupe S-PL37 et NM-PL37, et non différente du groupe NM-PL37. Analyse ANOVA à un facteur suivie du test post hoc de Tukey, *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, indiquant des différences significatives par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**).

l'administration centrale du PL37 suffit à renverser l'HM induite par une administration d'ISDN.

2) Détermination du mécanisme d'action du PL37

a. Approche immunohistochimique

L'étude précédemment menée au laboratoire (Descheemaeker *et al.*, 2022) a montré qu'un traitement quotidien de PL37 par voie orale empêche le développement de l'HM et diminue l'expression de c-Fos induites par l'administration répétée d'ISDN, dans le Sp5C. En revanche, cela ne donne pas d'indication sur le mécanisme d'action du PL37. Dans cette optique, l'effet de l'ISDN et par la suite du PL37 sur le CGRP, un neuropeptide connu comme jouant un rôle important dans l'inflammation de la migraine, furent étudiés. Pour ce faire, grâce à une approche immunohistochimique puis d'imagerie, l'intensité de fluorescence du CGRP fut quantifiée dans le Sp5C d'animaux ayant reçu les traitements quotidiens suivant : solution véhicule + NaCl (Veh-S), véhicule + ISDN (Veh-ISDN), PL37 + ISDN (PL37-ISDN) ou véhicule + NTG (Veh-NTG). **Les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative entre les groupes précédemment cités, comparés aux animaux du groupe Veh-S (figure 26B).**

b. Approche de biologie moléculaire (RT-qPCR)

Cette étude s'intéresse à l'expression de différents peptides et enzyme jouant un rôle dans la physiopathologie et l'inflammation de la migraine, décrits dans l'introduction, à savoir le CGRP, PACAP et la NO synthase neuronale (nNOS). L'expression de l'ARN messager (ARNm) de ces molécules a été étudiée, dans différents groupes ayant reçu des traitements chroniques quotidiens par voie intraveineuse de solution véhicule ou de PL37 (20 mg/kg), 5 minutes avant l'injection quotidienne intrapéritonéale de NaCl ou d'ISDN. Les résultats montrent une surexpression de l'ARNm du CGRP chez les animaux Veh-ISDN par rapport aux animaux du groupe contrôle Veh-S (*Veh-S*: $1,8 \pm 0,6$ vs *Veh-ISDN*: $3,0 \pm 0,8$) (**figure 27B**). Cette surexpression tend à diminuer chez les animaux traités au PL37 (PL37-ISDN) par rapport aux animaux Veh-ISDN (*Veh-ISDN*: $3,0 \pm 0,8$ vs *PL37-ISDN*: $1,9 \pm 0,4$), notons qu'il n'existe pas de différence significative entre les animaux du groupe Veh-S et PL37-ISDN. De plus, il

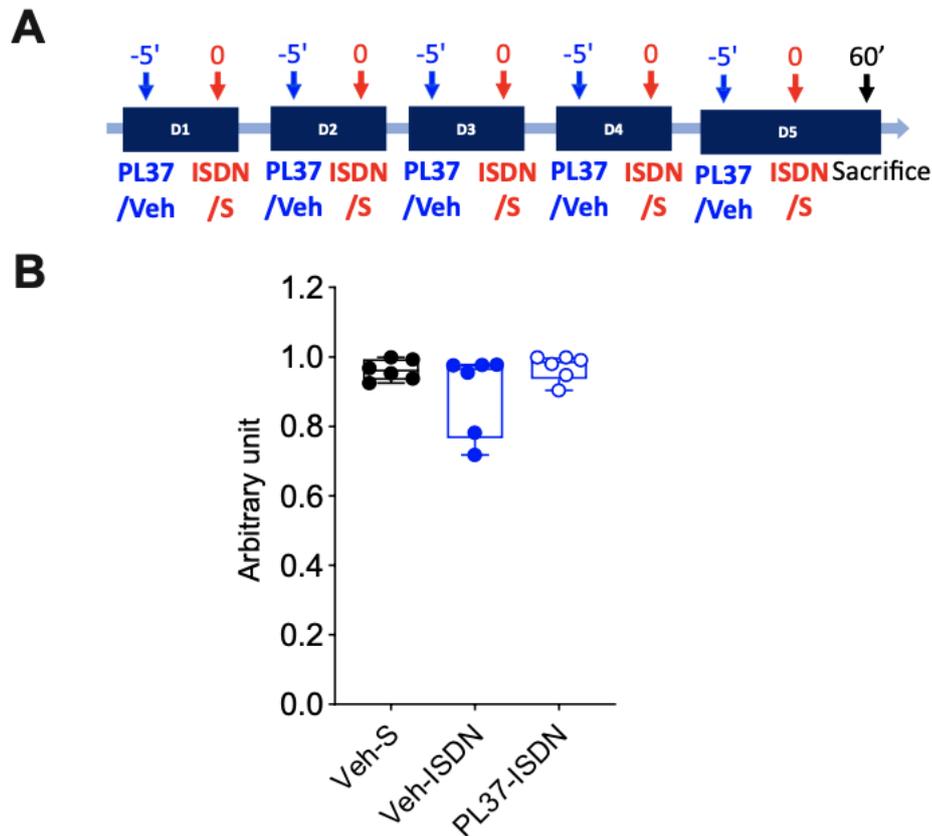


Figure 26 – Effet du PL37 sur l'intensité de fluorescence du CGRP dans le Sp5C dans le modèle d'ISDN chronique, chez les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration quotidienne orale de PL37 (100 mg/kg) ou de solution véhicule avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) ou de solution saline (S) pendant 5 jours. Au 5^{ème} jour, les prélèvements des tissus sont réalisés 60 minutes après la dernière injection d'ISDN. (B) Intensité de fluorescence de CGRP, exprimée en unité arbitraire, chez des animaux traités au véhicule + NaCl (Veh-S) (n=6), véhicule + ISDN (Veh-ISDN) (n=6) et PL37 + ISDN (PL37-ISDN) (n=6), chez des mâles. Analyse ANOVA à une voie non paramétrique de Kruskal-Wallis suivie du test post hoc de Dunn's (**données supplémentaires 2**).

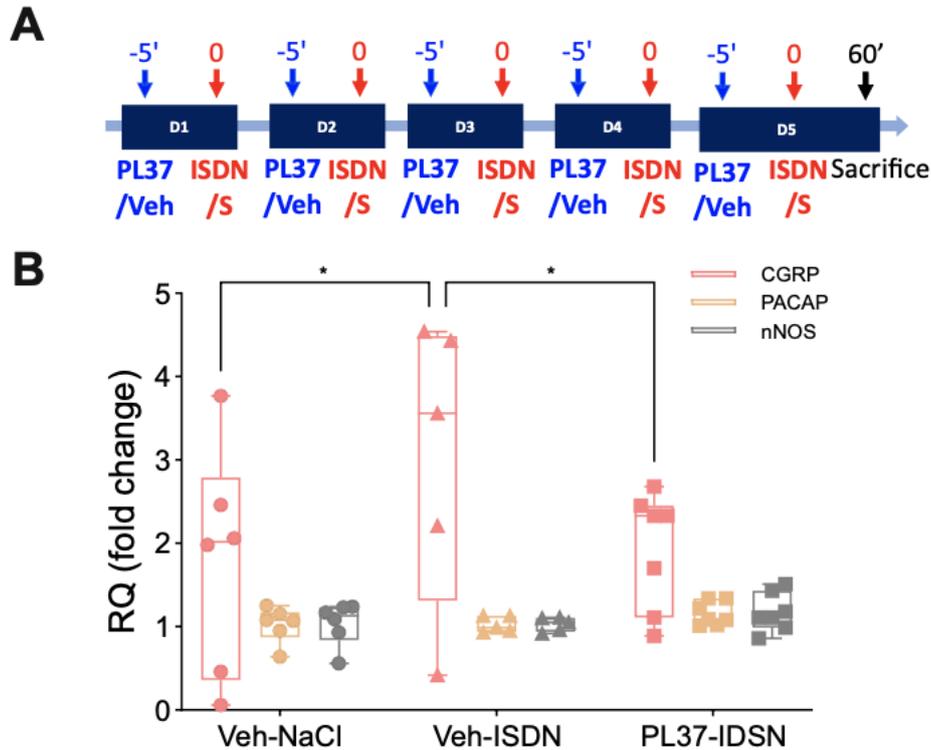


Figure 27 – Effet du PL37 sur l'expression de l'ARNm du CGRP, PACAP et nNOS dans le Sp5C dans le modèle d'ISDN chronique, chez les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration quotidienne intraveineuse de PL37 (20 mg/kg) ou de solution véhicule avant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) ou de solution saline (S) pendant 5 jours. Au 5^{ème} jour, les prélèvements des tissus sont réalisés 60 minutes après la dernière injection d'ISDN. (B) Expression de l'ARN messager (ARNm) du CGRP, du PACAP et du nNOS, exprimé en RQ (fold change), chez des animaux traités au véhicule + NaCl (Veh-S) (n=6), véhicule + ISDN (Veh-ISDN) (n=5) et PL37 + ISDN (PL37-ISDN) (n=7), chez des mâles. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de Tukey, *p < 0,05, indiquant une augmentation de l'expression de l'ARNm du CGRP du groupe Veh-ISDN, par rapport au groupe Veh-S, et une diminution de cette expression chez les animaux du groupe PL37-ISDN par rapport au groupe Veh-ISDN. En revanche, aucune différence significative n'est constatée dans l'expression de PACAP et de nNOS entre les 3 groupes (données supplémentaires 2).

n'existe aucune différence significative des niveaux d'expression de PACAP et nNOS dans les groupes Veh-S, Veh-ISDN et PL37-ISDN (figure 27B).

Ces données suggèrent que l'administration chronique d'ISDN augmente le niveau d'expression de l'ARNm de CGRP et qu'un pré-traitement quotidien de PL37 diminue cette surexpression induite par l'administration chronique d'ISDN, revenant à des niveaux de base. En revanche, ni un traitement chronique d'ISDN, ni de PL37 ne semble avoir d'effet sur les niveaux d'expression de PACAP et de nNOS.

Prises ensemble, ces données montrent que le PL37 agirait à la fois au niveau des récepteurs aux opioïdes périphériques et centraux, en condition aiguë. De plus, l'ISDN entraîne une surexpression de l'expression de l'ARNm du CGRP, en condition chronique et l'administration quotidienne de PL37 par voie intraveineuse, diminue cette surexpression.

III. Quel est l'effet de l'administration répétée de PL37 ?

Dans le but d'utiliser le PL37 en traitement de prophylaxie, au vu des résultats encourageants obtenus sur le modèle de migraine chronique induite par l'ISDN, l'effet de l'administration répétée de PL37 fut étudié afin de voir s'il n'entraînait pas d'HM ou de sensibilisation latente, comme pourrait entraîner l'administration répétée de sumatriptan (De Felice *et al.*, 2010; Bonnet *et al.*, 2019; Navratilova *et al.*, 2020). De plus, l'effet analgésique du PL37 sur un modèle de CAM induite par le sumatriptan fut également étudié.

1) Effet de l'administration répétée de PL37

L'effet d'administrations répétées de PL37 fut étudié, chez les mâles et les femelles. Les animaux avaient reçu l'administration orale soit de PL37 (50 mg/kg), soit de sumatriptan (10 mg/kg) soit de solution véhicule, tous les 2 jours, pendant onze jours, pour un total de 6 administrations (jours 1, 3, 5, 7, 9 et 11). L'HM fut évaluée les autres jours grâce à la mesure des VFT (jours 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 et 20) (figure 28A). Tout d'abord, les résultats montrent que l'administration répétée de solution véhicule n'entraîne pas de diminution du VFT, chez les femelles (figure 28B). De plus, l'administration répétée de PL37, chez la femelle n'entraîne pas de diminution de l'HM, par rapport aux animaux ayant reçu le véhicule (figure

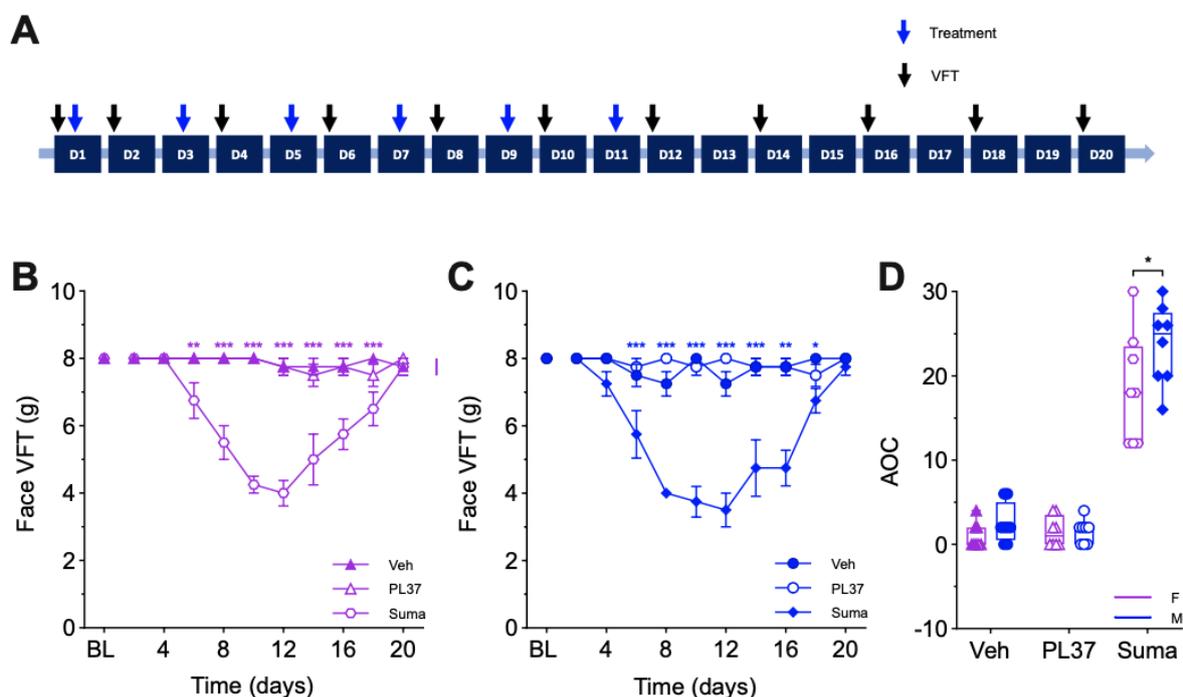


Figure 28 – Effet de l'administration répétée de PL37 sur la sensibilité mécanique, chez les femelles et les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant les administrations orales répétées de PL37 (50 mg/kg), sumatriptan (10 mg/kg) ou véhicule, tous les 2 jours, pendant onze jours, pour un total de 6 administrations (jours 1, 3, 5, 7, 9 et 11) et les mesures des VFT tous les autres jours pendant 20 jours (jours 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 et 20). (B) Évolution temporelle des VFT, chez les femelles ayant reçu par voie orale le PL37, sumatriptan ou la solution véhicule. Les administrations répétées de PL37 et de véhicule n'entraînent pas d'HM, contrairement au sumatriptan. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu un traitement, par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (C) Évolution temporelle des VFT, chez les mâles ayant reçu par voie orale le PL37, sumatriptan ou la solution véhicule. Les administrations répétées de PL37 et de véhicule n'entraînent pas d'HM, contrairement au sumatriptan. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu un traitement, par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (D) Effet du sexe sur l'HM induite par l'administration répétée de sumatriptan, PL37 ou de véhicule, exprimé en AOC. Aucune différence de sexe n'est observée, ni pour les animaux traités avec la solution véhicule, ni au PL37. En revanche, pour les animaux ayant reçu le sumatriptan, l'AOC des femelles est plus faible que celle des mâles. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de comparaison multiple de Bonferroni, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (**données supplémentaires 2**).

28B). En revanche, l'administration répétée de sumatriptan entraîne une diminution du VFT dès la 3^{ème} administration (au jour 6 de comportement) (*seuil de base veh 8,0 ± 0,0 g vs suma 8,0 ± 0,0 g ; jour 6 veh 8,0 ± 0,0 g vs suma 6,8 ± 0,5g*), atteignant son pic d'HM après les 6 administrations de sumatriptan (au jour 12 de comportement) (*veh 7,8 ± 0,3 g vs suma 4,0 ± 0,4 g*). Ce seuil revient progressivement au niveau basal au jour 20 de comportement (*veh 7,8 ± 0,3 g vs suma 7,8 ± 0,3 g*) (symboles de forme hexagonale) (**figure 29B**).

De même, chez le mâle, l'administration répétée de solution véhicule et de PL37 n'entraînent pas de diminution du VFT (**figure 28B**). En revanche, l'administration répétée de sumatriptan entraîne une diminution des VFT dès la 3^{ème} administration (au jour 6 de comportement) (*seuil de base veh 8,0 ± 0,0 g vs suma 8,0 ± 0,0 g ; jour 6 veh 7,5 ± 0,3 g vs suma 5,8 ± 0,7g*), atteignant son pic d'HM après les 6 administrations de sumatriptan (au jour 12 de comportement) (*veh 7,3 ± 0,4 g vs suma 3,5 ± 0,5 g*). Ce seuil revient progressivement au niveau basal au jour 20 de comportement (*veh 8,0 ± 0,0 g vs suma 7,8 ± 0,3 g*) (symboles de forme carrée) (**figure 28B**).

L'étude des AOC révèlent qu'il n'existe aucune différence significative entre les mâles et les femelles des groupes véhicule et PL37, en revanche l'AOC du groupe des femelles ayant reçu le sumatriptan est inférieure à celle du groupe des mâles ayant reçu le même traitement (*femelles : 18,5 ± 2,3 ; mâles : 23,8 ± 1,7*) (**figure 28C**).

Ces résultats montrent que l'administration répétée de sumatriptan entraîne une HM chez les femelles et les mâles. Cet effet est plus fort chez le mâle que chez la femelle. En revanche, l'administration répétée de PL37 n'entraîne aucun changement du VFT, ni chez les femelles, ni chez les mâles.

2) Effet du PL37 sur la sensibilisation latente

A la suite de l'expérience précédente, lorsque tous les animaux sont revenus à leur seuil de base 8g (au jour 21), les rats femelles et mâles avaient reçu une injection intrapéritonéale d'ISDN (10 mg/kg) (**figure 29A**). Tout d'abord, chez les femelles du groupe véhicule, les résultats montrent que l'administration d'ISDN, entraîne une HM atteignant son pic 30 minutes après l'administration d'ISDN et dure environ 90 minutes (**figure 29B**). De

même, chez les femelles du groupe PL37, l'ISDN entraîne une HM atteignant son pic 30 minutes après l'administration d'ISDN et dure environ 90 minutes, il n'existe aucune différence significative avec le groupe véhicule (**figure 29B**). L'administration d'ISDN, chez les animaux ayant reçu préalablement le traitement au sumatriptan, entraîne une HM atteignant son pic 60 minutes après l'administration d'ISDN et dure environ 120 minutes (**figure 29B**). L'analyse *post hoc* montre que ces résultats sont significativement différents de ceux obtenus chez les animaux du groupe véhicule 30 et 60 minutes après l'administration d'ISDN (30 minutes : *veh* $5,3 \pm 0,4$ g vs *suma* $4,0 \pm 0,5$ g ; 60 minutes : *veh* $5,3 \pm 0,4$ g vs *suma* $3,5 \pm 0,3$ g).

De même, chez les mâles ayant reçu le véhicule, l'administration d'ISDN entraîne une HM (**figure 29C**). Chez les mâles traités au PL37, l'administration d'ISDN entraîne une HM, il n'existe aucune différence significative avec le groupe véhicule (**figure 29C**). L'administration d'ISDN, chez les animaux ayant reçu préalablement le traitement au sumatriptan, entraîne une HM atteignant son minimum 60 minutes après l'administration d'ISDN et dont l'effet dure environ 120 minutes (**figure 29C**). Ces résultats sont significativement différents de ceux obtenus chez les animaux du groupe véhicule 60 et 90 minutes après l'administration d'ISDN (60 minutes : *veh* $5,0 \pm 0,4$ g vs *suma* $3,8 \pm 0,6$ g ; 90 minutes : *veh* $7,5 \pm 0,3$ g vs *suma* $6,3 \pm 0,5$ g).

L'étude des AOC révèle qu'il n'existe aucune différence significative entre les mâles et les femelles que ce soit pour les groupes ayant reçu un prétraitement au véhicule, au PL37 ou au sumatriptan (**figure 29C**).

Ces données montrent que l'administration d'ISDN 21 jours après un prétraitement au PL37 ou à la solution véhicule entraîne une HM mais qu'un prétraitement au sumatriptan entraîne une aggravation de la crise induite par l'ISDN, aussi bien chez la femelle que chez le mâle.

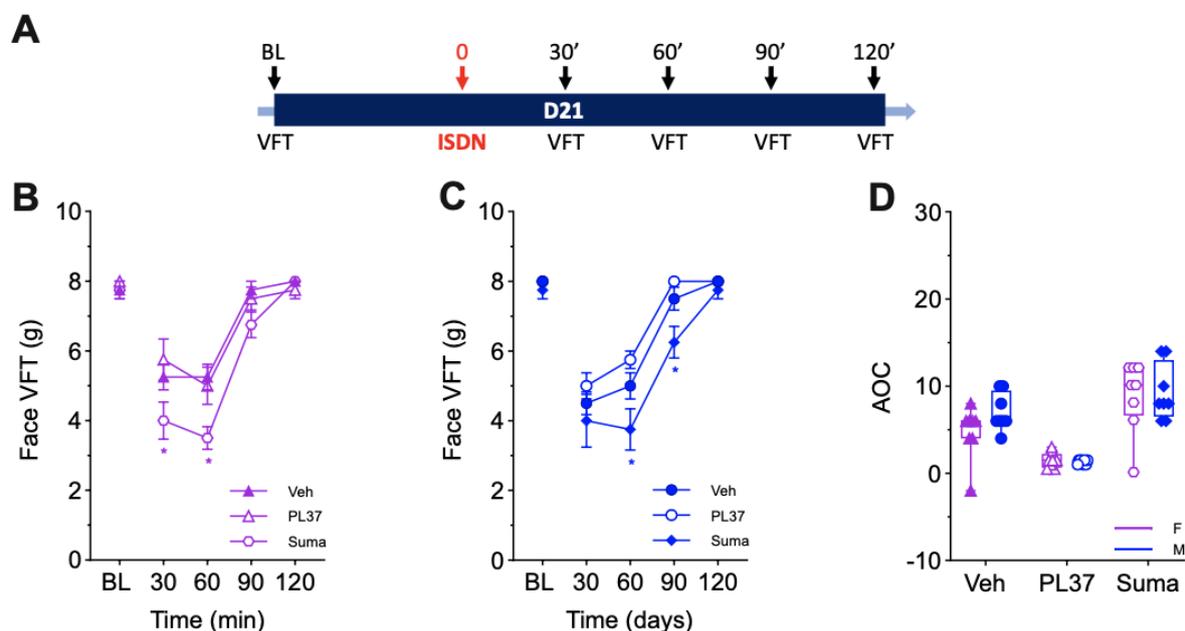


Figure 29 – Effet du PL37 sur la sensibilisation latente induite par l'ISDN, chez les femelles et les mâles.

(A) Frise temporelle, représentant l'administration d'ISDN (10 mg/kg, i.p.) le 21^{ème} jour de l'expérience, après des pré-traitements oraux répétés de PL37 (50 mg/kg), sumatriptan (10 mg/kg) ou véhicule (jours 1, 3, 5, 7, 9 et 11), et mesure des VFT pendant 120 minutes. (B) Évolution temporelle des VFT, chez les femelles ayant reçu l'ISDN et prétraitées avec le PL37, sumatriptan ou véhicule. Un prétraitement avec le véhicule et PL37 n'entraîne pas de sensibilisation latente, contrairement au sumatriptan. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu un traitement par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (C) Évolution temporelle des VFT, chez les mâles ayant reçu l'ISDN et prétraités avec le PL37, sumatriptan et la solution véhicule. Un prétraitement avec le véhicule et PL37 n'entraîne pas de sensibilisation latente, contrairement au sumatriptan. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu un traitement, par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (D) Effet du sexe sur l'HM céphalique induite par l'administration d'ISDN, exprimé en AOC. Aucune différence de sexe n'est observée, ni pour les animaux traités avec la solution véhicule, ni au PL37, ni au sumatriptan. Analyse ANOVA à deux voies suivie du test post hoc de comparaison multiple de Bonferroni, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (**données supplémentaires 2**).

3) Effet du PL37 sur l'HM induite par l'administration répétée de sumatriptan

Les résultats présentés ci-dessus, montrent que l'administration répétée de sumatriptan entraîne une HM dont le seuil minimal est atteint au jour 12 et cet effet est plus important chez le mâle que chez la femelle. Ici, l'effet du PL37 fut étudié dans le modèle d'HM induite par le sumatriptan. Les données présentées ont été obtenues chez le mâle. Les animaux avaient reçu l'administration intraveineuse de PL37 (20 mg/kg) ou de solution véhicule au 12^{ème} jour après la première injection de sumatriptan. Les résultats montrent que l'administration de solution véhicule n'entraîne pas de changement des VFT. En revanche, l'administration de PL37 renverse l'HM induite par le sumatriptan. En effet, 30 minutes après le début de l'injection, le VFT est significativement plus élevé que chez les animaux du groupe véhicule (*veh* $1,9 \pm 0,1$ g vs *PL37* $5,3 \pm 0,4$ g), atteint son pic 60 minutes après l'injection (*veh* $2,0 \pm 0,0$ g vs *PL37* $7,8 \pm 0,3$ g) puis diminue progressivement, jusqu'à ne plus être significativement différent du groupe véhicule à partir de 150 minutes après l'injection (*veh* $2,0 \pm 0,0$ g vs *PL37* $2,8 \pm 0,4$ g) (**figure 30B**). L'AOC des animaux du groupe traité au PL37 est plus faible que celle des animaux du groupe véhicule (*veh* $0,2 \pm 0,1$ vs *PL37* $-17,1 \pm 1,4$) (**figure 30C**).

Ces données montrent que le PL37 administré par voie intraveineuse renverse l'HM induite par le sumatriptan, chez les mâles et donne une indication sur la durée d'action du PL37 qui serait, dans ce modèle, de 120 minutes.

Prises ensemble, ces données montrent que l'administration répétée de PL37 n'entraîne pas de sensibilisation centrale ni de sensibilisation latente, contrairement au sumatriptan. De plus, le PL37 renverse l'HM induite par l'administration répétée de sumatriptan.

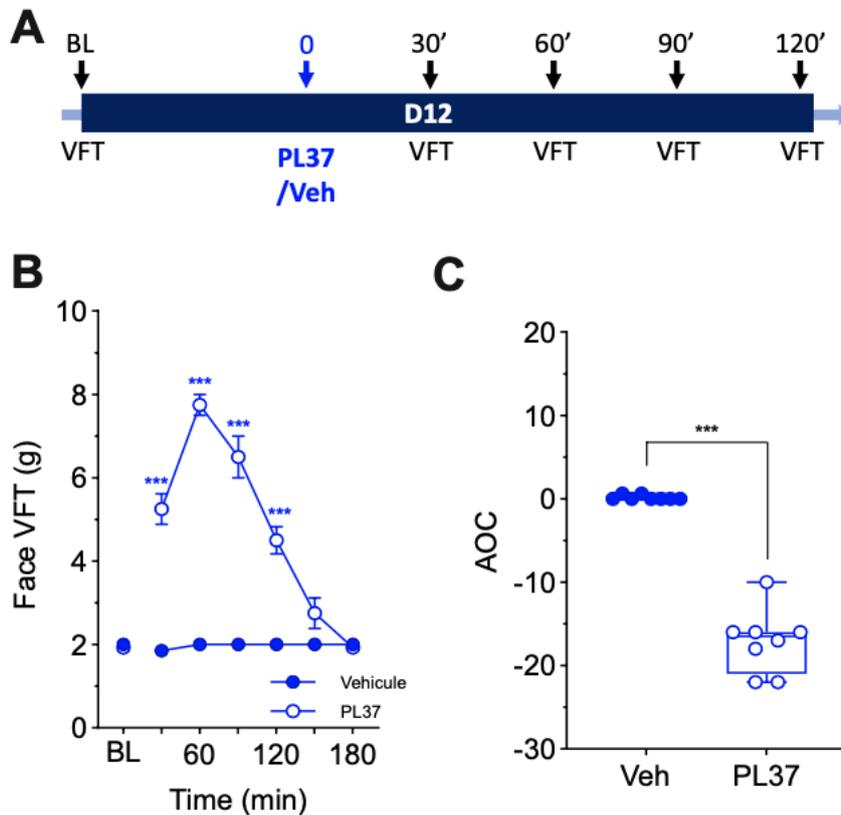
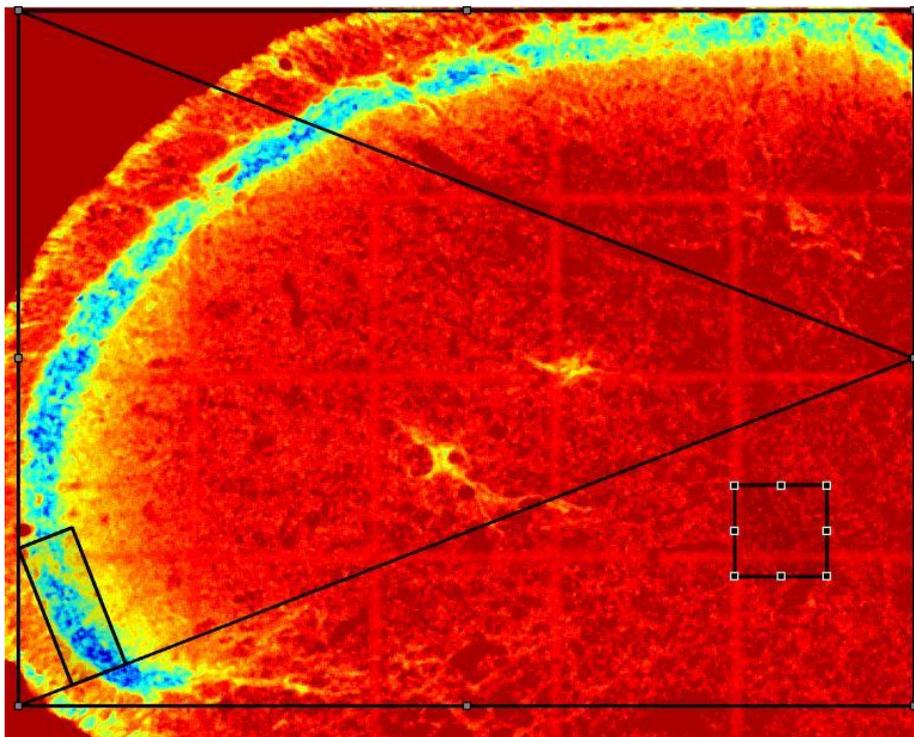


Figure 30 – Effet du PL37 sur l’HM induite par la répétition du sumatriptan, chez les mâles. (A) Frise temporelle, représentant les administrations de PL37 (20 mg/kg, i.v.) ou de véhicule, le 12^{ème} jour, après l’administration répétée de sumatriptan (10 mg/kg, p.o) aux jours 1, 3, 5, 7, 9 et 11. (B) Évolution temporelle des VFT, chez les mâles ayant reçu le PL37 ou la solution véhicule. Le PL37 renverse l’HM induite par l’administration répétée de sumatriptan pendant 90 minutes. Analyse ANOVA à deux facteurs suivie du test post hoc de Bonferroni, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, indiquant des différences significatives entre les rats ayant reçu un traitement, par rapport au groupe véhicule (**données supplémentaires 2**). (C) Effet du traitement sur l’HM induite par des administrations répétées de sumatriptan, exprimé en AOC. L’AOC du groupe Veh est significativement supérieure à celle du groupe traité au PL37. Test non paramétrique de Mann-Whitney, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (**données supplémentaires 2**).



Données supplémentaires 1 – Exemple du gabarit utilisé pour la quantification de CGRP dans le Sp5C (V1) établi à l'aide du logiciel Matlab.

Figures	N/group	Analysis (post-hoc test)	Factors analyzed	Normality	F-ratios	P Values
21B	8	3 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment x Sex	Yes	Time F (4, 70) = 61.70	P < 0.0001
					Treatment F (1, 70) = 226.30	P < 0.0001
					Sex F (1, 70) = 1.96	P = 0.17
					Time x Treatment F (4, 70) = 41.78	P < 0.0001
					Time x Sex F (4, 70) = 1.64	P = 0.17
					Treatment x Sex F (1, 70) = 4.70	P = 0.034
					Time x Treatment x Sex F (4, 70) = 2.54	P = 0.047
21C	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Sex x Treatment	Yes	Interaction F (1, 28) = 2.26	P = 0.14
					Treatment F (1, 28) = 110.70	P < 0.0001
					Sex F (1, 28) = 0.92	P = 0.35
					Time F (6, 98) = 2.20	P = 0.05
22B	8	3 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment x Sex	Yes	Treatment F (1, 98) = 541.10	P < 0.0001
					Sex F (1, 98) = 149.10	P < 0.0001
					Time x Treatment F (6, 98) = 14.58	P < 0.0001
					Time x Sex F (6, 98) = 4.31	P = 0.0007
					Treatment x Sex F (1, 98) = 126.40	P < 0.0001
					Time x Treatment x Sex F (6, 98) = 5.54	P < 0.0001
22C	8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Sex x Treatment	Yes	Sex x Treatment F (1, 28) = 25.77	P < 0.0001
					Treatment F (1, 28) = 96.27	P < 0.0001
					Sex F (1, 28) = 20.90	P < 0.0001
22D	7-8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (6, 78) = 8.85	P < 0.0001
					Time F (6, 78) = 3.22	P = 0.0071
					Treatment F (1, 13) = 8.09	P = 0.14
22E	8	unpaired t-test (Mann-Whitney)	Treatment	No		P < 0.001
23B	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Sex x Treatment	Yes	Sex x Treatment F (1, 28) = 1.38	P = 0.25
					Sex F (1, 28) = 6.76	P = 0.009
					Treatment F (1, 28) = 7.86	P = 0.015
24B	8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (4, 56) = 29.44	P < 0.0001
					Time F (4, 56) = 36.94	P < 0.0001
					Treatment F (1, 14) = 40.00	P < 0.0001
24C	8	unpaired t-test (Mann-Whitney)	Treatment	No		P < 0.001

Données supplémentaires 2 – Tableau récapitulatif des données statistiques.

Figures	N/group	Analysis (post-hoc test)	Factors analyzed	Normality	F-ratios	P Values
25B	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (12, 112) = 17.59	P <0.0001
				Yes	Time F (4, 112) = 132.10	P <0.0001
				Yes	Treatment F (3, 28) = 23.78	P <0.0001
25C	8	1 way-ANOVA (Tukey)	Treatment	Yes	Treatment F (3, 32) = 3.99	P = 0.02
26B	6	1-way ANOVA (Dunn's)	Treatment	No		
27B	5-7	2 way-ANOVA (Tukey)	Peptide x Treatment	Yes	Peptide x Treatment F (4, 45) = 1.65	P = 0.18
				Yes	Treatment F (2, 45) = 14.57	P <0.0001
28B	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (20, 210) = 11.63	P <0.0001
				Yes	Time F (10, 210) = 15.01	P <0.0001
				Yes	Treatment F (2, 21) = 49.04	P <0.0001
28C	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (20, 210) = 10.21	P <0.0001
				Yes	Time F (10, 210) = 14.82	P <0.0001
				Yes	Treatment F (2, 21) = 127.90	P <0.0001
28D	8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Sex x Treatment	Yes	Sex x Treatment F (2, 42) = 2.24	P = 0.12
				Yes	Sex F (1, 42) = 4.66	P = 0.037
				Yes	Treatment F (2, 42) = 155.6	P <0.0001
29B	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (8, 84) = 2.20	P = 0.035
				Yes	Time F (4, 84) = 71.98	P <0.0001
				Yes	Treatment F (2, 21) = 6.59	P = 0.0060
29C	8	2 way-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (8, 84) = 1.75	P = 0.099
				Yes	Time F (4, 84) = 85.66	P <0.0001
				Yes	Treatment F (2, 21) = 6.92	P = 0.0049
29D	8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Sex x Treatment	Yes	Sex x Treatment F (2, 42) = 0.91	P = 0.4114
				Yes	Sex F (1, 42) = 1.26	P = 0.2685
				Yes	Treatment F (2, 42) = 33.47	P <0.0001
30B	8	2 way-ANOVA (Bonferroni)	Time x Treatment	Yes	Time x Treatment F (6, 84) = 78.54	P <0.0001
				Yes	Time F (6, 84) = 77.23	P <0.0001
				Yes	Treatment F (1, 14) = 131.0	P <0.0001
30C	8	unpaired t-test (Mann-Whitney)	Treatment	No		P <0.001

Données supplémentaires 2 (suite) – Tableau récapitulatif des données statistiques.

Chapitre IV – Article

Synergistic effect of combining dual enkephalinase inhibitor PL37 and sumatriptan in a preclinical model of migraine

Jeanne ROSSIGNOL^{1,2}, Tanja OUIMET², Hervé PORAS², Radhouane DALLEL¹, Philippe
LUCCARINI¹

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

² Pharmaleads SA, 11 rue Watt, 75013 Paris, France

Correspondence:

Philippe Luccarini: philippe.luccarini@uca.fr, Radhouane Dallel: radhouane.dallel@uca.fr

Neuro-Dol Inserm/UCA U1107: Douleur Trigéminal et Migraine

Faculté de Chirurgie Dentaire, 2 rue de Braga,

63000 Clermont-Ferrand, France

Manuscript information:

Abstract word count: 255 words, Total word count: 3152 words

Figures: 3; Table: 1 supplementary table 1; References: 38

To be submitted to **The Journal of Headache and Pain**

ABSTRACT

Background Combination treatment is frequently used to improve the therapeutic efficacy of drugs. The co-administration of two drugs may result in efficacy at lower doses than those needed for either drug alone, thus minimizing side effects. Here, we tested the effect of the co-administration of two drugs on cutaneous mechanical hypersensitivity (MH) affecting cephalic regions in migraineurs: dual enkephalinase inhibitor PL37, a small molecule that protects enkephalins from rapid degradation, and sumatriptan, a serotonin 5-HT_{1B/1D} receptor agonist.

Methods We investigated the effects of oral administrations of sumatriptan, PL37, or their combination, on changes in cutaneous mechanical sensitivity induced by a single intraperitoneal administration of the nitric oxide donor, isosorbide dinitrate (ISDN) in male rats. Mechanical sensitivity was tested using von Frey filaments applied to the face of animals to determine the threshold that elicits a painful response. Isobolographic analysis was performed to determine the nature of the interaction between sumatriptan and PL37.

Results Sumatriptan as well as PL37 each produced a dose-dependent inhibition of ISDN-induced cephalic MH. ED₅₀ values were 0.3 mg/kg and 1.1 mg/kg for sumatriptan and PL37, respectively. An isobolographic analysis of the effect of combined doses of sumatriptan and PL37 and based on their calculated ED₅₀ values demonstrated a synergistic effect of the combination on cephalic MH, with an interaction index of 0.14 ± 0.04 .

Conclusion These results suggest that PL37 acts synergistically with sumatriptan to produce an anti-allodynic effect in a rat model of migraine. Thus, combining PL37 and sumatriptan may be a useful therapeutic strategy in the management of migraine.

Keywords Migraine, Enkephalin, Opioid, Sumatriptan, Mechanical hypersensitivity, Nitric oxide, Synergy

BACKGROUND

Migraine is a typical debilitating primary headache disorder characterized by moderate to severe, pulsating, unilateral pain, that is worsened by physical activity and often accompanied by nausea and/or vomiting, photophobia, and phonophobia [1]. Although a range of migraine treatments, including newly developed ones, is currently available, considerable dissatisfaction remains with acute and prophylactic therapies [2]. Moreover, most current acute headache treatments have been linked to medication overuse headache [3], further highlighting the need for new medications. Combining medications with different targets in migraine could provide better therapeutic outcomes than using one medication alone, and the drugs in the combination could have a synergistic therapeutic effect which would allow for better outcomes at lower doses [4–6].

Sumatriptan, a serotonin 5-HT_{1B/1D} receptor agonist, is the pioneer member of a class of drugs developed for the acute treatment of migraine and it remains widely used for this indication [7]. Clinical trials showed an average sumatriptan (100 mg per oral) response rate of 59% for any headache response, 29% for pain freedom and 20% for sustained pain freedom [7], showing that sumatriptan often results in pain reduction and not pain freedom [8].

Enkephalins are pentapeptides produced in the CNS and peripheral tissues, and are the most abundant endogenous opioids acting on both μ - and δ -opioid receptors, providing the body with its own pain management system [9]. Enkephalins, once released, are naturally degraded by two enzymes, called enkephalinases: APN (aminopeptidase N) and NEP (neprilysin). Concomitant inhibition of NEP and APN by dual enkephalinase inhibitors like PL37 was shown to increase enkephalin half-life and induce analgesia in a wide range of rodent preclinical pain models. Recently, the efficacy of PL37 was demonstrated in two preclinical migraine models. PL37 treatment effectively inhibited isosorbide dinitrate-induced cephalic mechanical hypersensitivity (MH) in rats [10] and attenuated stress-induced cephalic MH and facial grimace responses in mice [11]. These findings support the approach of inhibiting enkephalinases as a migraine therapeutic strategy.

As sumatriptan and PL37 have different mechanisms of action, here we tested the hypothesis that a combination of these drugs would result in an additive or a synergistic effect. To test

this hypothesis, we used the rat isosorbide dinitrate (ISDN) model of migraine as both sumatriptan and PL37 reduce cephalic MH in this model [10, 12]. If increased effect could be demonstrated, this would strongly support future human studies using combinations.

METHODS

Animals

Male Sprague-Dawley rats weighing 235–275 g (Charles River, L'Arbresle, France) were housed at $22 \pm 1^\circ\text{C}$ in plastic cages (size: 425 × 266 × 185 mm; three to four rats per cage) on soft bedding with *ad libitum* access to water and food under a 12 h/12 h light/dark cycle for at least 1 week before the beginning of the experiments. This study was performed exclusively using male rats as the ISDN model used herein has yet to be validated in females. Every effort was made to minimize the number of animals used. The number of animals used in each experiment was selected based on previous experiments [10, 12]. All experimenters were blind to the treatment conditions. Randomization was performed within individual home cages to avoid any cage effects and balanced to have approximately equal numbers of each treatment group represented in each home cage.

Animal protocols were approved by the Committee of Animal Research at the University of Clermont Auvergne, France, and authorized by the French Superior Education and Research Ministry (#26304). They were in accordance with the International Association for the Study of Pain (<https://www.iasp-pain.org/resources/guidelines/iasp-guidelines-for-the-use-of-animals-in-research/>) and the European Directive 2010/ 63/EU as ARRIVE guidelines.

Behavioral sensory testing

Behavioral sensory testing was performed as previously described [10, 13]. Briefly, rats were first allowed to acclimatize to the 0.3×0.3 m² glass chambers used for behavioral testing as well as to innocuous mechanical stimulation for 4 days before the start of the behavioral sensory testing. Test sessions took place during the light phase, between 11 a.m. and 7 p.m., in a quiet, temperature-controlled (21–23°C) room.

Cephalic cutaneous mechanical sensitivity was assessed using von Frey filaments (0.6, 1, 1.4, 2, 4, 6, 8, 10 and 15 g, Bioseb) applied perpendicularly to the periorbital region of the rat's

face for 3 seconds (at 10 second intervals), *via* the ascending-descending method starting from the 6-g filament [10, 13]. After the injection of ISDN, the VFT were recorded at 30-minutes intervals for 90-minutes.

The rats had no access to food or water during the tests. Each animal was used only once. At the end of the experiment, the rats were sacrificed with a lethal dose of pentobarbital sodium (150 mg/kg, i.p., Centravet, Lapalisse, France). Death was confirmed by permanent cessation of cardio-respiratory functions.

Drugs

Treatments were administered *per os* [PL37 (0.25 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2 mg/kg or 6.25 mg/kg, 1 mL/rat volume), sumatriptan succinate (0.2 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.6 mg/kg, 2.5 mg/kg or 5 mg/kg, 1 mL/rat volume, Sigma Aldrich) or vehicle. Sumatriptan was dissolved in 0.9% NaCl solution and PL37 was prepared in 80% of 0.9% NaCl solution and 20% of anhydrous ethanol. The vehicle group received *per os* a solution containing 80% of 0.9% NaCl and 20% of anhydrous ethanol. For the interaction study, drugs were pooled and administered simultaneously. PL37 and sumatriptan succinate, or combination of the two drugs, were administered 5 minutes before intraperitoneal injection of ISDN (10 mg/kg in 0.9% NaCl solution, Sanofi). Oral administrations were performed under brief anesthesia (≤ 3 minutes) using a mask with 2% isoflurane.

Isobolographic analysis of drug interactions

Isobolographic analysis was used to determine the nature of the drug interaction between sumatriptan and PL37. The method is based on a comparison of dose combinations made of doses of each of the two drugs. Thus, from the dose-response curves of two drugs alone, the respective ED₅₀ values (effective dose resulting in a 50% reduction of control ISDN response) were determined. Subsequently, a dose-response curve was obtained by concurrent administration of the two drugs in a constant dose ratio based on the ED₅₀ values of the single agent. Therefore, separate groups received ED_{50/4}Suma-PL37, ED_{50/8}Suma-PL37 or ED_{50/16}Suma-PL37. From the dose-response curves of the combined drugs, the ED₅₀ value of the combination was calculated, and these dose combinations were used to plot the

isobologram. In this experiment, the ED₅₀ values were determined from the data of cephalic cutaneous mechanical sensitivity.

The isobologram was constructed as previously described [15]. The ED₅₀ values of the single agents were plotted on the x- and y-axes, respectively for sumatriptan and PL37. The theoretically additive dose combination was calculated. From the variance of the total dose, individual variances for the drugs in the mixture were obtained. To further describe the magnitude of the interaction, a total dose fraction value was calculated according to the following formula:

$$\text{Total Fraction value} = \frac{\text{ED50 of Drug 1 with Drug 2}}{\text{ED50 for Drug 1 Given alone}} + \frac{\text{ED50 of Drug 2 with Drug 1}}{\text{ED50 for Drug 2 Given alone}}$$

While a total fraction value near 1 indicates an additive interaction, a value below 1 indicates a synergistic interaction, and a value greater than 1 indicates an antagonistic interaction.

Data analysis

All data generated throughout the study were analyzed using GraphPad Prism 9.00 version (GraphPad Software Inc., CA, USA). Normality and homogeneity of variance were determined using the Shapiro-Wilk test and Brown-Forsythe's test, respectively. Comparison between groups were made using a one-way ANOVA or two-way repeated-measures ANOVA analyses followed by Tukey's *post hoc* test for multiple comparisons. Data are presented as median and interquartile range (IQR) or mean \pm standard errors of the means (SEM) and *n* represents the number of animals. The level of significance was set to $P < 0.05$.

Effectiveness of drug treatment was also estimated from the area over the curve (AOC) of the withdrawal threshold time course. AOC was calculated for each rat as an area of negative peaks below the 8 g cut-off thresholds between the 90 time points. Percent effect was calculated using the formula $100 * [\text{AOC}(0) - \text{AOC}(X)] / \text{AOC}(0)$, where AOC(0) = average AOC in vehicle-treated group and AOC(X) = AOC of animals that received treatment X. The statistical details for each quantitative experiment are illustrated in supplementary table 1.

RESULTS

Effects of sumatriptan on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity

A single ISDN injection induced a reversible cephalic MH that peaked at 30 min and lasted 90 min in control animals (n = 9) but not in sumatriptan-treated animals (n = 6-10/group, Fig. 1a). Thirty-minutes post-administration, VFT were lower in control [median (IQR): 4 (2.0-4.0 g)] and sumatriptan-0.2 mg/kg [median (IQR): 6 (2.0-6.0 g)] animals than in sumatriptan-0.4 mg/kg [median (IQR): 7 (5.5-8.0 g)], 0.6 mg/kg [median (IQR): 8 (6.0-8.5 g)], 2.5 mg/kg [median (IQR): 8 (6.0-8.0 g)] and 5 mg/kg [median (IQR): 6 (6.0-8.0 g)]-treated animals (Fig. 1a). The area over the curves (AOC) of the cephalic MH (Fig. 1b) were reduced by $64.4 \pm 14.5 \%$ ($P < 0.014$, n = 6), $69.8 \pm 12.7 \%$ ($P < 0.002$, n = 10), $67.0 \pm 20.3 \%$ ($P < 0.007$, n = 7), and $77.8 \pm 12.32 \%$ ($P < 0.001$, n = 8) after administrations of sumatriptan 0.4, 0.6, 2.5, and 5 mg/kg, respectively (Fig. 1c). The lower dose of sumatriptan (0.2 mg/kg, n = 10) had no effect on ISDN-induced cephalic MH. At the dose of 0.6 mg/kg of sumatriptan, the effect reached a plateau, as no further significant reduction on ISDN-induced cephalic MH was reported at higher doses of sumatriptan (2.5 and 5.0 mg/kg). Sumatriptan inhibited ISDN-induced cephalic MH with an ED₅₀ value of 0.3 mg/kg (95% confidence interval, 0-0.92).

Effects of PL37 on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity

Oral administration of PL37 induced a dose-dependent inhibition of ISDN-induced cephalic MH (n = 6-11/group, Fig. 2a). Thirty minutes post-administration, VFT were not different between the control group [median (IQR): 4 (2.0-4.0g)] and PL37-0.25 mg/kg [median (IQR): 4 (2.0-4.0g)]-treated animals (Fig. 2a). In contrast, VFT were lower in control animals than in PL37-1.0 mg/kg [median (IQR): 5 (4.0-8.0 g)], PL37-1.5 mg/kg [median (IQR): 7 (6.0-8.0 g)], PL37-2.0 mg/kg [median (IQR): 6 (4.0-8.0 g)] and PL37-6.25 mg/kg [median (IQR): 6 (6.0-8.0 g)]-treated animals (Fig. 2a).

The AOC of the cephalic MH (Fig. 2b) were reduced by $76.3 \pm 10.9 \%$ ($P = 0.003$, n = 6), $69.3 \pm 10.8 \%$ ($P = 0.002$, n = 11), and $75.1 \pm 5.4 \%$ ($P < 0.001$, n = 10) after administrations of PL37 1.5, 2.0, or 6.25 mg/kg, respectively (Fig. 2c). The lowest dose of PL37 (0.25 mg/kg, n = 9; 1.0 mg/kg n = 6) had no effect on ISDN-induced cephalic MH. At the dose of 1.5 mg/kg of PL37, the effect reached a plateau, as no further significant reduction in ISDN-induced cephalic MH was observed at higher doses of PL37 (2.0 and 6.25 mg/kg). PL37 inhibited the ISDN-induced cephalic MH with an ED₅₀ value of 1.1 mg/kg (95% confidence interval, 0.61-1.80).

Drug interaction study

Oral administration of sumatriptan and PL37 induced a dose-dependent inhibition of ISDN-induced cephalic MH. Thirty minutes post-administration, VFT were not different between the control group [median (IQR): 4 (2.0-4.0g)] and ED_{50/16}Suma-PL37 [median (IQR): 4 (4.0-6.0 g)] animals than in ED_{50/8}Suma-PL37 [median (IQR): 8 (6.0-8.0 g)], and ED_{50/4}Suma-PL37 [median (IQR): 8 (8.0-8.0 g)]-treated animals (n = 8-11/group, Fig. 3a).

The AOC of the cephalic MH (Fig. 3b) were reduced by $35.5 \pm 8.2 \%$ ($P = 0.039$), $77.4 \pm 9.6 \%$ ($P < 0.004$) and $98.4 \pm 2.9 \%$ ($P < 0.001$) after the combination of sumatriptan and PL37, respectively, ED_{50/16}Suma-PL37, ED_{50/8}Suma-PL37 and ED_{50/4}Suma-PL37 (Fig. 3c). Combination of fixed increments of ED₅₀ values for the two drugs exhibited a synergistic effect of the drugs on cephalic MH (Fig. 3d). This was verified by an isobolographic analysis, with a significant difference between the theoretical ED₅₀ (0.71 ± 0.17 mg/kg) and experimental ED₅₀ (0.10 ± 0.01 mg/kg). Corresponding to this synergistic interaction, the dose fraction was calculated to be 0.14 ± 0.04 (corresponding to the ratio between the experimental ED₅₀ and the theoretical ED₅₀).

DISCUSSION

This study reveals that sumatriptan, as well as PL37, each produced a dose-dependent inhibition of ISDN-induced cephalic MH. Combination of increasing fractional increments of sumatriptan and PL37 doses produced a synergistic effect against cephalic MH, as revealed by isobolographic analysis.

We used ISDN as an animal model of migraine because it reliably produces headache in migraineurs, though less often in healthy subjects [16, 17], and results in cephalic MH associated with sensitization of the trigeminal cervical complex (TCC) in rats [10, 12, 18]. Moreover, sumatriptan and olcegepant, two specific acute antimigraine drugs, block ISDN-induced cephalic MH, while propranolol, the most common and one of the most effective first-line medications used for migraine prophylaxis, prevents ISDN-induced chronic cephalic MH [12].

Effects of sumatriptan on cephalic mechanical hypersensitivity

Acute administration of sumatriptan has demonstrated efficacy in various preclinical model of migraine [19]. In most cases, the lowest effective dose was approximately 0.3 mg/kg whether administered intraperitoneally [8, 12] or subcutaneously [20]. In addition, intravenous administration of sumatriptan (0.3 mg/kg) effectively prevented the induction of sensitization of central trigeminovascular neurons [21]. Surprisingly, no preclinical study had evaluated the efficacy of oral administration of sumatriptan yet, and the ED₅₀ of sumatriptan in preclinical models of migraine was not established. Our current work provides thus new evidence that oral administration of sumatriptan dose-dependently inhibits ISDN-induced cephalic MH in rats, with a maximal efficacy reached at 0.6 mg/kg and a 0.3 mg/kg ED₅₀ value. By comparison, in a previous study using the facial formalin test, oral sumatriptan was found to inhibit the first and the second phases of the formalin test dose-dependently, with 1.49 ± 0.29 mg/kg and 1.67 ± 0.38 mg/kg ED₅₀ values respectively [22].

Effect of PL37 on cephalic mechanical hypersensitivity

The analgesic effect of PL37 has been demonstrated in various preclinical rodent models of pain, since oral administration of PL37 produced antinociception in the hot plate test [23] and in a murine model of bone cancer pain [24, 25]. More recently, PL37 was found to be effective in two preclinical models of migraine [10, 11]. Accordingly, we show that oral administration of PL37 dose-dependently inhibited ISDN-induced cephalic MH in rats.

The effective dose of PL37 on ISDN-induced cephalic MH was much lower than the effective doses found in the hot plate test [23] or the bone cancer pain model [24, 25], with a PL37 ED₅₀ value lower by more than 100-fold and 10-fold respectively. This suggests that PL37 was more effective in the preclinical model of migraine. Consistent with this suggestion, PL37 displayed a prolonged action span on ISDN-induced cephalic MH and short-lasting analgesic effects in the other types of pain [23, 26].

Since PL37 analgesic effect depends on extracellular concentrations of enkephalins, such differences suggest that migraine headache might be associated with high levels of extracellular enkephalins. Several studies have accordingly shown that acute migraine episodes are accompanied by significant increases in plasma Met-enkephalin levels, which return to normal levels after a pain-free period of several days up to 3 weeks [27, 28]. Changes

in circulating enkephalin levels could be viewed as an endogenous pain modulation mechanism alleviating the severity of migraine attacks [27]. In this context, the effect of PL37, by enhancing the endogenous mechanism of pain modulation, may provide a more physiological tool to reduce pain. Interestingly, increased levels of enkephalins induce complete analgesia in patients suffering from congenital insensitivity to pain, without any opioid-like side effects. Taken together, these data support the idea that leveraging the physiological effects of endogenous enkephalins may provide an effective and safe way of activating the endogenous opioid system [29].

Effect of coadministration of sumatriptan and PL37 on cephalic mechanical hypersensitivity

In the present study, we report for the first time that a synergistic interaction between the inhibitor of enkephalin catabolism PL37 and sumatriptan can be obtained. Indeed, the results obtained after coadministration of PL37 and sumatriptan show that the analgesic effects induced by each drug are strongly potentiated after coadministration, in a way that doses of both drugs, ineffective when administered alone, completely abolish ISDN-induced cephalic MH when associated. The isobolographic analysis further shows that the experimentally obtained ED₅₀ value is significantly lower than the calculated theoretical ED₅₀ value, which indicates a synergistic interaction [30]. Of note, while a ceiling effect (~ 75% inhibition) was achieved when sumatriptan or PL37 were administered alone, complete inhibition was reached after coadministration of both drugs.

This result fits well with the potentiation between PL37 and gabapentin [25] or PL37 and a P2X3 antagonist [24] that has been described in a cancer pain model. However, few preclinical and clinical studies have investigated whether combining sumatriptan with other molecules would have an additive or synergistic effect. In a preclinical study using the glyceryl trinitrate mouse model of migraine, combining sumatriptan and olcegepant did not have an additive effect compared to single-drug treatment [8]. This lack of additive effect could be explained by the common pathway targeted by the two drugs. In another study using the face formalin test, combining sumatriptan with levetiracetam resulted in an additive antinociceptive interaction [22]. In clinical studies, the combination of sumatriptan with naproxen was found to be more effective than monotherapy [31, 32]. However, the additional therapeutic effects

were not substantial, and the side effect rates were higher in combined therapy than in monotherapy [33].

We did not establish the mechanism(s) of the synergistic interactions in this study. Both compounds act through two different mechanisms of action. Sumatriptan is a 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} receptor agonist that promotes the constriction of cranial blood vessels and inhibits the release of pro-inflammatory neuropeptides [34]. PL37 acts in part by increasing enkephalin levels at the periphery, which results in activation of peripheral opioid receptors located in the dura. Indeed, previous studies using other pain models have reported that pretreatment with the peripherally acting opioid receptor antagonist naloxone methiodide reduced, albeit partially, the antinociceptive effect of PL37 [35]. PL37 could also exert its effects through the activation of central opioid receptors directly at the TCC level. Supporting this hypothesis, immunohistochemical studies have demonstrated the presence of enkephalinergic neurons and terminals in the TCC [36], as well as a high density of μ - and δ -opioid receptors [37]. Direct measurements of endogenous opioid release from the TCC have further shown that trigeminal nociception is associated with changes in TCC Met-enkephalin outflow [38]. Finally, PL37 may also act centrally but outside the TCC, through brainstem structures providing descending inhibitory controls of pain signal processing in the TCC. Several brainstem nuclei, such as the periaqueductal gray and the nucleus raphe magnus, are known to contain enkephalinergic neurons, project to the TCC [36] and have been implicated in the modulation of trigeminal pain [34].

CONCLUSION

In summary, although the experiments described here were exclusively performed in male animals and will require to be extended in females, this study shows that PL37 acts synergistically with sumatriptan to produce an anti-allodynic effect in a rat model of migraine. Thus, combining PL37 and sumatriptan may be a useful strategy for the management of migraine.

Acknowledgments

Abbreviations

AOC: area over the curve, APN: aminopeptidase N, BL: baseline, ED₅₀: median effective dose, i.p.: intra-peritoneal injection, ISDN: isosorbide dinitrate, MH: mechanical hypersensitivity, NEP: neutral endopeptidase, p.o.: *per os*, TCC: trigeminocervical complex, VFT: von Frey filament threshold.

Authors' contributions

JR, HP, RD and PL contributed to the conception and design of experiments. JR contributed to the acquisition of the data. JR, RD and PL contributed to the analysis of the data. JR, HP, RD and PL contributed to the interpretation of the data. JR drafted the initial version of the manuscript. JR, TO, HP, RD and PL revised the manuscript for intellectual content and approved the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by funding from Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), Université Clermont Auvergne (France), CHU Clermont-Ferrand and by a grant from Pharmaleads SA. Jeanne Rossignol was supported by a CIFRE PhD studentship (No. 2019/0961) which was jointly funded by Pharmaleads SA and the French National Association of Technical Research (ANRT).

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

Experiments received approvals from the Committee of Animal Research at the University of Clermont Auvergne, France, and authorized by the French Superior Education and Research Ministry (#26304). They were in accordance with the International Association for the Study of Pain (<https://www.iasp-pain.org/resources/guidelines/iasp-guidelines-for-the-use-of-animals-in-research/>) and the European Directive 2010/ 63/EU as ARRIVE guidelines.

Competing interests

J Rossignol, H. Poras, and T. Ouimet are employees of Pharmaleads SA. All other authors report no competing interests.

Author details

¹Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Inserm, Neuro-Dol, F-63000 Clermont-Ferrand, France, ²Pharmaleads SA, 11 rue Watt, 75013 Paris, France.

References

1. IHS (2013) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia Int J Headache* 33:629–808.
<https://doi.org/10.1177/0333102413485658>
2. Bigal, Rapoport A, Aurora S, et al (2007) Satisfaction with current migraine therapy: experience from 3 centers in US and Sweden. *Headache* 47:475–479.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2007.00752.x>
3. Ashina M, Buse DC, Ashina H, et al (2021) Migraine: integrated approaches to clinical management and emerging treatments. *Lancet Lond Engl* 397:1505–1518.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32342-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32342-4)
4. Blumenfeld A, Gennings C, Cady R (2012) Pharmacological Synergy: The Next Frontier on Therapeutic Advancement for Migraine. *Headache J Head Face Pain* 52:636–647.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2011.02058.x>
5. Krymchantowski AV, Jevoux C da C (2007) The experience of combining agents, specially triptans and non steroidal anti-inflammatory drugs, for the acute treatment of migraine - a review. *Recent Patents CNS Drug Discov* 2:141–144.
<https://doi.org/10.2174/157488907780832733>
6. Smith TR, Sunshine A, Stark SR, et al (2005) Sumatriptan and Naproxen Sodium for the Acute Treatment of Migraine. *Headache J Head Face Pain* 45:983–991.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2005.05178.x>

7. Ferrari (2002) Triptans (Serotonin, 5-HT_{1B/1D} Agonists) in Migraine: Detailed Results and Methods of A Meta-Analysis of 53 Trials - MD Ferrari, PJ Goadsby, KI Roon, RB Lipton, 2002. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1046/j.1468-2982.2002.00404.x>. Accessed 14 Apr 2023
8. Ernstsen C, Christensen SL, Olesen J, Kristensen DM (2021) No additive effect of combining sumatriptan and olcegepant in the GTN mouse model of migraine. *Cephalalgia* 41:329–339. <https://doi.org/10.1177/0333102420963857>
9. Alvarez-Perez B, Poras H, Maldonado R (2021) The inhibition of enkephalin catabolism by dual enkephalinase inhibitor: A novel possible therapeutic approach for opioid use disorders. *Br J Pharmacol* n/a: <https://doi.org/10.1111/bph.15656>
10. Descheemaeker A, Poras H, Wurm M, et al (2022) Dual enkephalinase inhibitor PL37 as a potential novel treatment of migraine: evidence from a rat model. *Brain J Neurol* awac139. <https://doi.org/10.1093/brain/awac139>
11. Mei H-R, Hu Y-Y, Kapadia S, et al (2023) Efficacy of dual enkephalinase inhibition in a preclinical migraine model is mediated by activation of peripheral delta opioid receptors. *Headache* 63:621–633. <https://doi.org/10.1111/head.14517>
12. Dallel R, Descheemaeker A, Luccarini P (2018) Recurrent administration of the nitric oxide donor, isosorbide dinitrate, induces a persistent cephalic cutaneous hypersensitivity: A model for migraine progression. *Cephalalgia Int J Headache* 38:776–785. <https://doi.org/10.1177/0333102417714032>

13. Alba-Delgado C, Mountadem S, Mermet-Joret N, et al (2018) 5-HT_{2A} Receptor-Induced Morphological Reorganization of PKC γ -Expressing Interneurons Gates Inflammatory Mechanical Allodynia in Rat. *J Neurosci* 38:10489–10504. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1294-18.2018>
14. Boyer N, Dallel R, Artola A, Monconduit L (2014) General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain* 155:1196–1205. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.03.001>
15. Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A (1989) Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci* 45:947–961. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(89\)90148-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(89)90148-3)
16. Bellantonio P, Micieli G, Buzzi M, et al (1997) Haemodynamic correlates of early and delayed responses to sublingual administration of isosorbide dinitrate in migraine patients: a transcranial Doppler study. *Cephalalgia* 17:183–187. <https://doi.org/10.1046/j.1468-2982.1997.1703183.x>
17. Castellano AE, Micieli G, Bellantonio P, et al (1998) Indomethacin increases the effect of isosorbide dinitrate on cerebral hemodynamic in migraine patients: pathogenetic and therapeutic implications. *Cephalalgia Int J Headache* 18:622–630. <https://doi.org/10.1046/j.1468-2982.1998.1809622.x>
18. Flores Ramos JM, Devoize L, Descheemaeker A, et al (2017) The nitric oxide donor, isosorbide dinitrate, induces a cephalic cutaneous hypersensitivity, associated with

- sensitization of the medullary dorsal horn. *Neuroscience* 344:157–166.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.12.028>
19. Tfelt-Hansen PC (2010) Does sumatriptan cross the blood-brain barrier in animals and man? *J Headache Pain* 11:5–12. <https://doi.org/10.1007/s10194-009-0170-y>
 20. Farkas S, Bölcskei K, Markovics A, et al (2016) Utility of different outcome measures for the nitroglycerin model of migraine in mice. *J Pharmacol Toxicol Methods* 77:33–44. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.09.006>
 21. Levy D, Jakubowski M, Burstein R (2004) Disruption of communication between peripheral and central trigeminovascular neurons mediates the antimigraine action of 5HT1B/1D receptor agonists. *Proc Natl Acad Sci* 101:4274–4279.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0306147101>
 22. Tomić MA, Pecikoza UB, Micov AM, et al (2015) The Effects of Levetiracetam, Sumatriptan, and Caffeine in a Rat Model of Trigeminal Pain: Interactions in 2-Component Combinations. *Anesth Analg* 120:1385–1393.
<https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000000640>
 23. Poras H, Bonnard E, Dangé E, et al (2014) New orally active dual enkephalinase inhibitors (DENKIs) for central and peripheral pain treatment. *J Med Chem* 57:5748–5763. <https://doi.org/10.1021/jm500602h>
 24. González-Rodríguez S, Pevida M, Roques BP, et al (2009) Involvement of enkephalins in the inhibition of osteosarcoma-induced thermal hyperalgesia evoked by the

- blockade of peripheral P2X3 receptors. *Neurosci Lett* 465:285–289.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.09.015>
25. Menéndez L, Hidalgo A, Meana Á, et al (2008) Inhibition of osteosarcoma-induced thermal hyperalgesia in mice by the orally active dual enkephalinase inhibitor PL37. Potentiation by gabapentin. *Eur J Pharmacol* 596:50–55.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.07.043>
26. Thibault K, Elisabeth B, Sophie D, et al (2008) Antinociceptive and anti-allodynic effects of oral PL37, a complete inhibitor of enkephalin-catabolizing enzymes, in a rat model of peripheral neuropathic pain induced by vincristine. *Eur J Pharmacol* 600:71–77.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.004>
27. Mosnaim AD, Diamond S, Wolf ME, et al (1989) Endogenous opioid-like peptides in headache. An overview. *Headache* 29:368–372. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.1989.hed2906368.x>
28. Ferrari MD, Odink J, Frölich M, et al (1990) Methionine-enkephalin in migraine and tension headache. Differences between classic migraine, common migraine and tension headache, and changes during attacks. *Headache* 30:160–164.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.1990.hed3003160.x>
29. Minett MS, Pereira V, Sikandar S, et al (2015) Endogenous opioids contribute to insensitivity to pain in humans and mice lacking sodium channel Nav1.7. *Nat Commun* 6:8967. <https://doi.org/10.1038/ncomms9967>

30. Tallarida RJ (2002) The interaction index: a measure of drug synergism. *Pain* 98:163–168. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00041-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00041-6)
31. Krymchantowski AV (2000) Naproxen sodium decreases migraine recurrence when administered with sumatriptan. *Arq Neuropsiquiatr* 58:428–430. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2000000300006>
32. Syed YY (2016) Sumatriptan/Naproxen Sodium: A Review in Migraine. *Drugs* 76:111–121. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0521-8>
33. Diener H-C, Dodick D, Evers S, et al (2019) Pathophysiology, prevention, and treatment of medication overuse headache. *Lancet Neurol* 18:891–902. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30146-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30146-2)
34. Goadsby PJ, Holland PR, Martins-Oliveira M, et al (2017) Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing. *Physiol Rev* 97:553–622. <https://doi.org/10.1152/physrev.00034.2015>
35. Roques BP, Fournié-Zaluski M-C, Wurm M (2012) Inhibiting the breakdown of endogenous opioids and cannabinoids to alleviate pain. *Nat Rev Drug Discov* 11:292–310. <https://doi.org/10.1038/nrd3673>
36. Beitz AJ, Clements JR, Ecklund LJ, Mullett MM (1987) The nuclei of origin of brainstem enkephalin and cholecystokinin projections to the spinal trigeminal nucleus of the rat. *Neuroscience* 20:409–425. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90101-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90101-1)

37. Mansour A, Fox CA, Burke S, et al (1995) Immunohistochemical localization of the cloned mu opioid receptor in the rat CNS. *J Chem Neuroanat* 8:283–305.
[https://doi.org/10.1016/0891-0618\(95\)00055-c](https://doi.org/10.1016/0891-0618(95)00055-c)

38. Yonehara N, Shibutani T, Tsai HY, Inoki R (1986) Effects of opioids and opioid peptide on the release of substance P-like material induced by tooth pulp stimulation in the trigeminal nucleus caudalis of the rabbit. *Eur J Pharmacol* 129:209–216.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(86\)90430-9](https://doi.org/10.1016/0014-2999(86)90430-9)

Figure legends

Fig 1. Effects of sumatriptan on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity. **(a)** Time course of von Frey filament threshold (VFT) for withdrawal of the face expressed in grams, in vehicle-treated (n = 9) or sumatriptan-treated (0.2 mg/kg, n = 10; 0.4 mg/kg, n = 6; 0.6 mg/kg, n = 10; 2.5 mg/kg, n = 7, or 5 mg/kg, n = 8) rats after a single intraperitoneal injection of ISDN. Drugs were administered *per os* 5 min before ISDN injection. ISDN produced cephalic mechanical hypersensitivity (MH) which was significantly attenuated by sumatriptan 0.4, 0.6, 2.5 and 5 mg/kg (two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test, $P < 0.001$ for time, treatment, and time x treatment). * $P < 0.05$ compared with vehicle using two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test. Data are represented as box-and-whisker plots depicting median, IQR, minimum and maximum. **(b)** Total effect on face VFT represented by the area over the curve (AOC) during 90 minutes after *per os* treatment for each animal. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** P indicate level of significance between vehicle and active treatment groups with one-way ANOVA followed by Dunnett's *post-hoc* test. **(c)** Dose-response of sumatriptan on cephalic MH. Values are means \pm SEM.

Fig 2. Effects of PL37 on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity. **(a)** Time course of von Frey filament threshold (VFT) for withdrawal of the face expressed in grams, in vehicle-treated (n = 9) or PL37-treated (0.25 mg/kg, n = 9; 1 mg/kg, n = 6; 1.5 mg/kg, n = 6; 2 mg/kg, n = 11, or 6.25 mg/kg, n = 10) rats after a single intraperitoneal injection of ISDN. Drugs were administered *per os* 5 min before ISDN injection. ISDN produced cephalic mechanical hypersensitivity (MH) which was significantly attenuated by PL37 1, 1.5, 2 and 6.25 mg/kg

(two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test, $P < 0.001$ for time, $P < 0.001$ for treatment, and $P = 0.021$ for time x treatment). * $P < 0.05$ compared with vehicle using two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test. Data are represented as box-and-whisker plots depicting median, IQR, minimum and maximum. **(b)** Total effect on face VFT represented by the area over the curve (AOC) during 90 minutes after *per os* treatment for each animal. ** P , *** P indicate level of significance between vehicle and active treatment groups with one-way ANOVA followed by Dunnett's *post-hoc* test. **(c)** Dose-response of PL37 on cephalic MH. Values are means \pm SEM.

Fig 3. Drug interaction study. **(a)** Time course of von Frey filament thresholds (VFT) for withdrawal of the face expressed in grams, in rats treated with either vehicle ($n = 9$), ED_{50/16}Suma-PL37 ($n = 9$), ED_{50/8}Suma-PL37 ($n = 11$) or ED_{50/4}Suma-PL37 ($n = 11$), after a single intraperitoneal injection of ISDN. Drugs were administered *per os* 5 min before ISDN injection. ISDN produced cephalic mechanical hypersensitivity (MH) which was significantly attenuated by ED_{50/16}Suma-PL37, ED_{50/8}Suma-PL37 or ED_{50/4}Suma-PL37 (two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test, *** $P < 0.001$ for time, treatment, and time x treatment). * $P < 0.05$ compared with vehicle using two-way repeated measures ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test. Data are represented as box-and-whisker plots depicting median, IQR, minimum and maximum. **(b)** Total effect on face VFT represented by the area over the curve (AOC) during 90 minutes after *per os* treatment for each animal. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ indicate level of significance between vehicle and active treatment groups with one-way ANOVA followed by Dunnett's *post-hoc* test. **(c)** Dose-response of combination (PL37 plus sumatriptan) on cephalic MH. **(d)** Isobologram for drug interaction between PL37 and

sumatriptan on the ISDN-induced cephalic MH. The ED₅₀ values for single agents are plotted on the x- and y-axes. The oblique line between the x- and y-axes is the theoretical additive line. The purple point in the middle of this line is the theoretical additive point calculated from separate ED₅₀ values. The ED₅₀ for combination lies below the additive line, indicating a significant synergy ($P < 0.001$). BL, baseline. Values are means \pm SEM.

Key findings

- Oral administration of the dual enkephalinase inhibitor PL37 (a small molecule that protects enkephalins from rapid degradation), as well as sumatriptan (a serotonin 5-HT_{1B/1D} receptor agonist) each produced a dose-dependent inhibition of nitric oxide-induced-cephalic MH.
- Combination of increasing fractional increments of sumatriptan and PL37 doses produced a synergistic effect against cephalic MH, as revealed by isobolographic analysis.
- Combining PL37 and sumatriptan may be a useful strategy for the management of migraine.

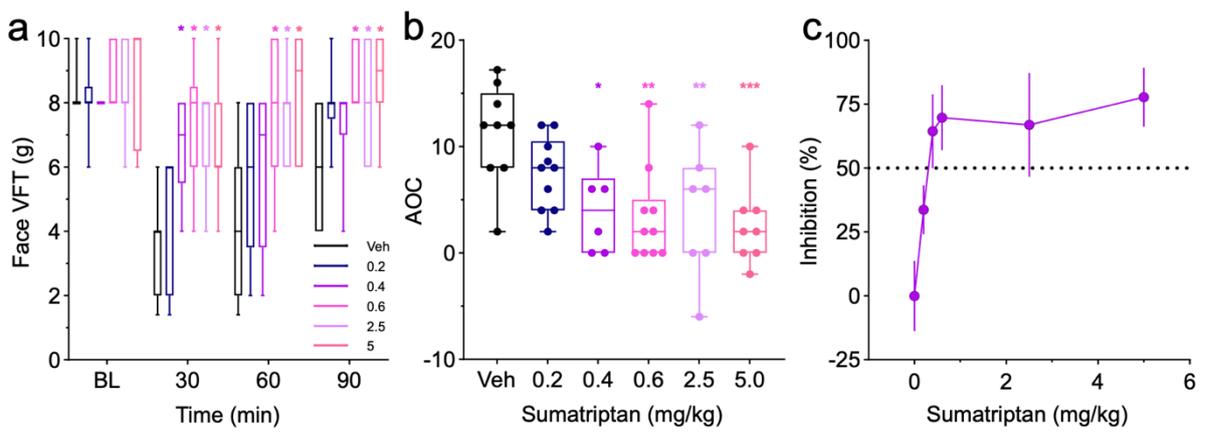


Fig 1. Effects of sumatriptan on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity.

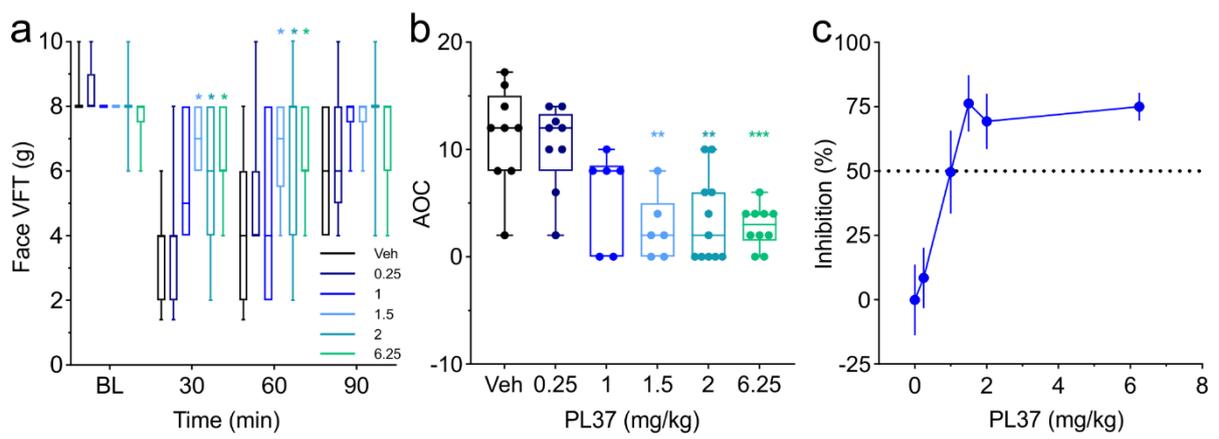


Fig 2. Effects of PL37 on cephalic cutaneous mechanical hypersensitivity.

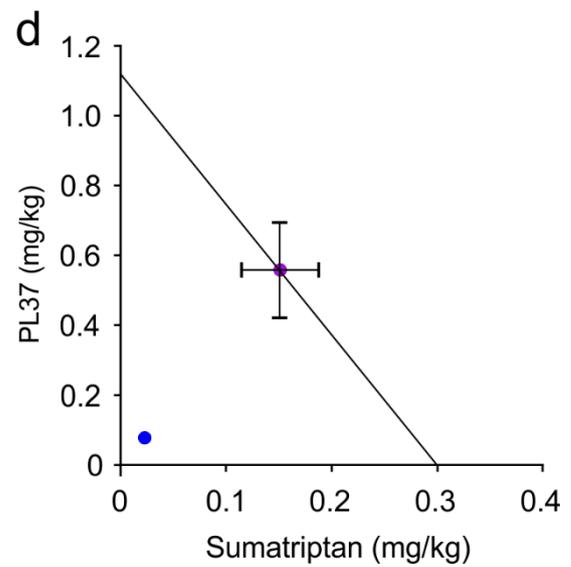
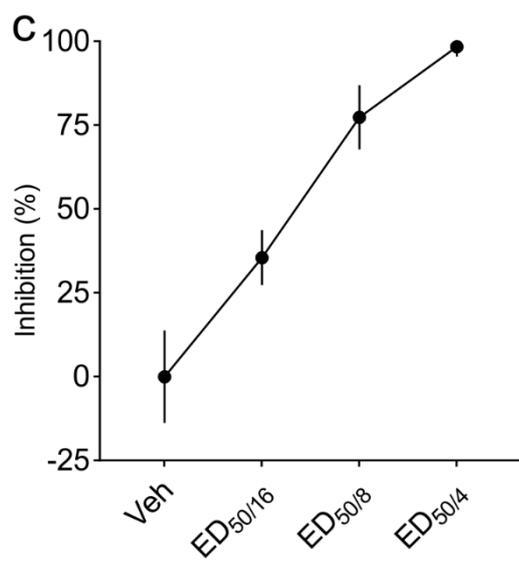
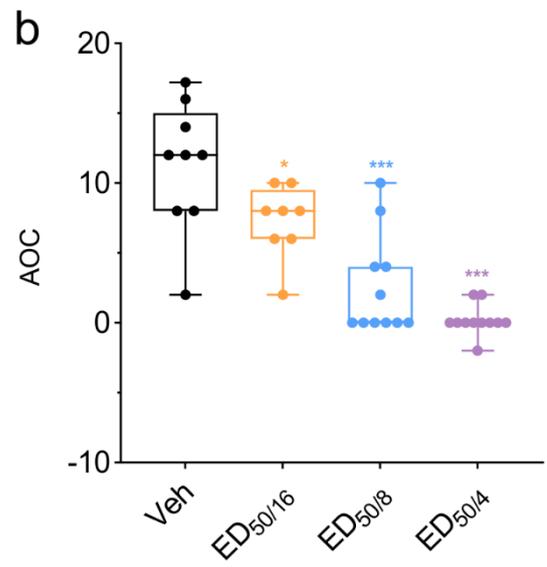
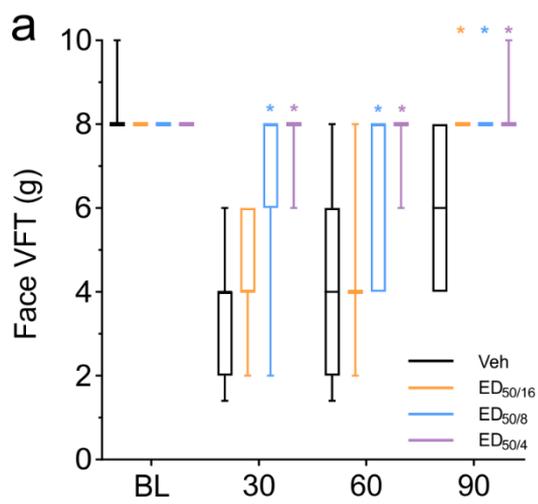


Fig 3. Drug interaction study.

Supplementary Table 1. Summary of statistical analysis

Figure	Conditions	N animals	Normality test	Analysis (post-hoc test)	Factors analyzed	F-ratio	P Values
Fig 1.							
Fig. 1a	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs sumatriptan)	6-10	Yes	2 way-RM-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Interaction F (15, 130) = 3.113 Time F (3, 130) = 42.48 Treatment F (5, 44) = 5.453	P < 0.001 P < 0.001 P < 0.001
Fig. 1b	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs sumatriptan)	6-10	Yes	1 way-ANOVA (Dunnnett's)		Vehicle vs Suma-0.2 Vehicle vs Suma-0.4 Vehicle vs Suma-0.6 Vehicle vs Suma-2.5 Vehicle vs P Suma-5.0	P = 0.242 P = 0.014 P = 0.002 P = 0.007 P < 0.001
Fig 2.							
Fig. 2a	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs PL37)	6-11	Yes	2 way-RM-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Interaction F (15, 135) = 4.608 Time F (3, 135) = 65.78 Treatment F (5, 45) = 2.967	P < 0.001 P < 0.001 P = 0.021
Fig. 2b	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs PL37)	6-11	Yes	1 way-ANOVA (Dunnnett's)		Vehicle vs PL37-0.25 Vehicle vs PL37-1.0 Vehicle vs PL37-1.5 Vehicle vs PL37-2.0 Vehicle vs PL37-6.25	P = 0.999 P = 0.139 P = 0.003 P = 0.002 P < 0.001
Fig 3.							
Fig. 3a	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs coadministration PL37+ sumatriptan)	8-10	Yes	2 way-RM-ANOVA (Tukey)	Time x Treatment	Interaction F (9, 105) = 10.81 Time F (3, 105) = 60.21 Treatment F (3, 35) = 17.66	P < 0.001 P < 0.001 P < 0.001
Fig. 3b	Cephalic mechanical sensitivity (vehicle vs coadministration PL37+ sumatriptan)	8-10	Yes	1 way-ANOVA (Dunnnett's)	Treatment	Vehicle vs ED50/16-Suma-PL37 Vehicle vs ED50/8-Suma-PL37 Vehicle vs ED50/4-Suma-PL37	P = 0.039 P < 0.001 P < 0.001

Supplementary data 1. Table Summary of statistical analysis

Chapitre V – Discussion

Dans une étude réalisée au laboratoire et publiée récemment (Descheemaeker *et al.*, 2022), l'efficacité thérapeutique du PL37 en conditions de migraines aiguës et chroniques a été mise en évidence, dans un modèle induit par l'administration d'ISDN, chez des rats mâles.

Le premier objectif était de compléter et enrichir l'étude précédente réalisée chez le mâle (Descheemaeker *et al.*, 2022). L'efficacité du PL37 a été ainsi évaluée dans deux modèles de migraine, chez le mâle et chez la femelle. Ainsi, *via* une étude comportementale, nous avons montré que le PL37 pouvait inhiber, chez la femelle aussi, l'HM induite par des injections uniques (aiguë) ou répétées (chronique) d'ISDN. De plus, *via* une étude électrophysiologique, nous avons montré que le PL37 diminuait le nombre d'événements de CSD induits par l'application topique de KCl à la surface des méninges, un modèle de migraine avec aura, chez les mâles mais pas chez les femelles.

Le deuxième objectif était d'étudier les sites et mécanismes d'action du PL37. Grâce à l'étude comportementale, nous avons montré que le PL37 agissait, par la protection des enképhalines, uniquement sur les récepteurs opioïdes situés à la fois aux niveaux périphérique et central, dans le modèle de migraine aiguë induite par l'ISDN. Grâce à une étude biochimique, de RT-qPCR, nous avons étudié le mécanisme d'action du PL37 et nous avons montré que des administrations répétées de PL37 en condition chronique réduisaient la surexpression d'ARNm de CGRP induite par des injections d'ISDN, dans le Sp5C.

Le troisième objectif était de tester l'effet d'administrations répétées de PL37, dans le but de l'utiliser en traitement prophylactique. Nous avons prouvé que des administrations orales répétées de PL37 n'induisaient pas d'hypersensibilité due à un abus médicamenteux, ni de sensibilisation latente induite par l'ISDN, contrairement à l'administration répétée de sumatriptan. De plus, l'administration intraveineuse de PL37 a renversé l'hypersensibilité induite par le sumatriptan.

Enfin, le quatrième objectif était d'investiguer l'effet de la coadministration du PL37 et du sumatriptan. Grâce à l'étude comportementale, en condition aiguë, nous avons montré

que l'association de PL37 et de sumatriptan était efficace et que la relation était de type synergique.

I. Effet antimigraineux du PL37, chez les femelles

L'effet analgésique du PL37 a été étudié dans différents modèles de migraine, tout d'abord *via* une approche comportementale grâce au test de von Frey, en condition aiguë puis chronique, puis *via* une approche électrophysiologique, dans le modèle de CSD, considéré comme modèle de migraine avec aura (Costa *et al.*, 2013).

Dans un premier temps, l'effet du PL37 a été testé dans un modèle de migraine aiguë, induite par l'ISDN (Dallel *et al.*, 2018). Les donneurs de NO, comme l'ISDN ou la NTG ont l'avantage d'être utilisables chez l'Homme et permettent de faire le lien entre la recherche fondamentale et clinique (Akerman *et al.*, 2019). Une seule administration orale de PL37 (100 mg/kg) permet d'inhiber l'hypersensibilité aiguë induite par l'ISDN, chez les femelles et les mâles, sans différence d'efficacité entre les deux sexes. Les effets ont été immédiats, puissants et comparables à ceux précédemment obtenus avec des traitements antimigraineux couramment utilisés comme le rizatriptan, le sumatriptan et l'olcégéant (Pradhan *et al.*, 2014; Dallel *et al.*, 2018; Christensen *et al.*, 2019; Descheemaeker *et al.*, 2022). Dans notre étude, le PL37 a une longue durée d'action contre l'HM céphalique induite par l'ISDN, contrairement à ses effets analgésiques transitoires rapportés dans d'autres modèles de douleur non céphalique (Roques *et al.*, 2012; Poras *et al.*, 2014) (de l'ordre d'une vingtaine de minutes contre 90 minutes dans notre modèle). Nos résultats sont cohérents avec les études précédentes menées dans des modèles de migraine, montrant un effet durable du PL37 sur ce type de douleur (Descheemaeker *et al.*, 2022; Mei *et al.*, 2023). Une première hypothèse est que la céphalée entraîne une augmentation des niveaux extracellulaires d'enképhalines, puisque l'effet analgésique des DENKIs dépend de la concentration extracellulaire des enképhalines secrétées. En effet, des études menées chez l'Homme ont montré que les taux plasmatiques de met-enképhaline étaient largement augmentés, lors d'une crise de migraine aiguë. Cette surexpression revenait à un niveau basal après une période sans douleur (Mosnaim *et al.*, 1989; Ferrari *et al.*, 1990). Les modifications des taux d'enképhalines circulantes pourraient être identifiées comme un mécanisme endogène de modulation de la

douleur qui atténue la gravité des crises de migraine (Mosnaim *et al.*, 1989; Anapindi *et al.*, 2019). Une autre hypothèse pourrait être que la forte protection des enképhalines par le PL37 lors de crises de migraines déclencherait un effet cascade secondaire à définir. Dans notre étude, l'administration orale de PL37 est efficace en condition de migraine aiguë, chez les femelles et chez les mâles.

Dans une étude précédente menée au laboratoire (Descheemaeker *et al.*, 2022), en condition chronique après quatre injections d'ISDN, une administration par voie intraveineuse de PL37, avant la 5^{ème} injection d'ISDN, chez le rat mâle, empêche la crise induite par le donneur de NO. En revanche, dans le même modèle, une administration orale de PL37 avant la 5^{ème} injection d'ISDN, n'a pas eu d'effet sur l'HM, chez le mâle (Descheemaeker *et al.*, 2022). Or, la prévalence de la migraine est plus importante chez la femme que chez l'homme (3 : 1). Le but de cette expérience était donc d'évaluer l'effet du PL37 chez la femelle, en condition chronique, lorsque le PL37 était administré par voie intraveineuse, puis par voie orale. Dans cette étude, nous avons montré qu'une seule administration intraveineuse de PL37 (20 mg/kg), avant la 5^{ème} injection d'ISDN, inhibait l'HM céphalique chronique induite par l'ISDN, chez les femelles et les mâles. Cependant, l'effet était plus important chez les femelles. En effet, chez les mâles, le PL37 prévenait la crise induite par l'ISDN alors que chez les femelles, le PL37 inversait complètement l'HM induite par les administrations chroniques d'ISDN, pendant au moins 180 minutes. De manière intéressante et allant dans le même sens, une étude menée par notre groupe (Descheemaeker *et al.*, 2022) a montré qu'une seule administration orale de PL37 (100 mg/kg) n'inhibait pas l'HM céphalique chronique lorsqu'elle était délivrée avant la cinquième injection d'ISDN, chez les rats mâles. Au contraire, dans notre étude, nous avons montré qu'une seule administration orale de PL37 (100 mg/kg) inhibait l'HM céphalique chronique lorsqu'il était délivré avant la cinquième injection d'ISDN, chez les femelles. Il est important de noter qu'il existe un dimorphisme sexuel de l'efficacité de PL37, dans notre modèle de migraine chronique, et qu'il serait plus puissant chez les rats femelles, lorsqu'il est administré par voie intraveineuse ou orale. De plus, ces données montrent que le PL37 administré par voie intraveineuse serait plus efficace qu'administré par voie orale.

Premièrement, il a déjà été discuté du fait que la différence d'efficacité dépendrait de la voie d'administration (Descheemaeker *et al.*, 2022). En effet, l'efficacité analgésique du

PL37 administré par voie intraveineuse ou orale pourrait s'expliquer par les propriétés pharmacocinétiques variées des fractions des prodrogues. Une étude précédente (Poras *et al.*, 2014) a montré qu'après l'hydrolyse rapide de la prodrogue, le PL37 administré par voie orale (25 mg/kg) était efficace sur les mécanismes périphériques, par exemple dans des modèles de douleur neuropathique ou de douleurs inflammatoires, mais n'avait aucun effet sur les mécanismes centraux dans des modèles de douleurs centrales, comme dans le test de la plaque chaude chez la souris (Poras *et al.*, 2014). Cependant, grâce au test du tail flick, un test de nociception aiguë mettant en jeu des mécanismes centraux, l'administration par voie intraveineuse du PL37 (5 mg/kg) entraînait une réponse analgésique ce qui n'était pas le cas par voie orale. Ces données suggèrent que la voie d'administration et l'hydrolyse du médicament, et donc sa biodisponibilité relative, affectent sa capacité à induire une analgésie périphérique ou centrale (Poras *et al.*, 2014).

De plus, nous avons montré que dans ce modèle, il existe un dimorphisme sexuel. Dans la littérature, d'autres études s'intéressant à des modèles de migraines chroniques ont rapportées des différences comportementales entre les mâles et les femelles (Paige *et al.*, 2022; Mei *et al.*, 2023), où l'effet du traitement chez la femelle était plus fort que chez le mâle. En revanche, peu d'études se sont intéressées aux différences des taux d'enképhalines, dans le plasma ou les tissus corticaux, entre les femmes et les hommes. Une étude a montré qu'il existait un dimorphisme sexuel dans l'analgésie à la morphine. En effet, chez les femmes, l'analgésie induite par la morphine est plus puissante mais plus lente en efficacité d'action et entraîne une dépression respiratoire, ce qui expliquerait les surconsommations postopératoires plus élevée chez les hommes par rapport aux femmes (Sarton *et al.*, 2000). La morphine est un opioïde exogène se liant préférentiellement aux MOR. Ces différences pourraient s'expliquer par des différences sexuelles dans l'expression de MOR (Loyd *et al.*, 2008). Mais, récemment, il a été montré que le PL37 agirait préférentiellement *via* les DOR (Mei *et al.*, 2023), dans un modèle de migraine lié au stress et que ce dimorphisme sexuel existait également chez la souris, dans ce modèle. Cependant, il n'est toujours pas prouvé qu'il existe une différence d'expression des DOR selon le sexe. Une hypothèse pourrait être que l'expression de DOR serait plus importante chez les femelles que chez les mâles ayant reçu l'administration chronique d'ISDN, ainsi les enképhalines protégées pourraient induire leur

effet analgésique *via* les DOR de manière plus puissante. Une autre hypothèse serait que les hormones exerceraient une influence sur la libération des enképhalines. Ces hypothèses seraient des pistes de recherche intéressantes à suivre. Les résultats de cette étude montrent que le PL37, en condition chronique, serait plus efficace chez la femelle que chez le mâle.

Toujours afin de tester le pouvoir antimigraineux du PL37, nous nous sommes intéressés à son efficacité sur la CSD considérée comme support physiologique de l'aura migraineuse. En effet, environ un tiers des patients migraineux ressentent une aura avant la céphalée (IHS, 2013), qui serait due à un phénomène électrophysiologique, la CSD. Il s'agit d'une vague lente de dépolarisation, suivie d'une inhibition de l'activité cérébrale, initiée dans le lobe occipital et se propageant vers l'avant à une vitesse de 2 à 5 mm/min (Leão, 1944, 1947). Chez l'Homme, des modèles précliniques de CSD ont été utilisés pour prédire les effets de thérapies potentielles contre la migraine, car de nombreux médicaments préventifs contre la migraine réduisent le nombre d'événements de CSD (Costa *et al.*, 2013). Nos résultats ont démontré que le PL37 réduit le nombre d'événements de CSD chez les mâles, mais pas chez les femelles. L'efficacité du PL37 dans la réduction du nombre de CSD, chez les mâles est conforme à d'autres études portant sur l'efficacité des agonistes DOR à réduire les CSD (Pradhan *et al.*, 2014; Bertels *et al.*, 2021). Ces résultats obtenus chez la femelle sont étonnants par rapport à ceux précédemment obtenus, dans le modèle de migraine chronique induite par l'ISDN, où le PL37 semblait avoir un effet plus puissant chez la femelle que chez le mâle. Cependant, ici, il s'agit d'un modèle différent ne relevant pas des mêmes mécanismes. Par ailleurs, nos résultats montrent que le nombre d'événements de CSD n'est pas significativement différent entre les femelles et les mâles des groupes ayant reçu le véhicule. La majorité des études sur les CSD chez le rat ont été réalisées chez des mâles (Ayata *et al.*, 2006; Ghaemi *et al.*, 2018; Vila-Pueyo *et al.*, 2019; Bourgeois-Rambur *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023), cependant, dans les études menées chez la souris, les deux sexes sont combinés (Chung *et al.*, 2018; Bertels *et al.*, 2022) ou sont seulement réalisées chez le mâle (Bogdanov *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2023). De plus, il a été récemment montré que chez les rats femelles, la fréquence des CSD était plus élevée que les rats mâles et les femelles ovariectomisés (Chauvel *et al.*, 2018; Kudo *et al.*, 2023). Or, ces résultats ne sont pas reproduits dans notre étude, bien que la souche d'animaux utilisés soit la même. Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces

différences pourraient être dues à l'ensemble de la configuration expérimentale. En effet, ces différences pourraient être la cause des anesthésiques (Kudo *et al.*, 2008), des électrodes d'enregistrement utilisés (Adámek & Vyskočil, 2011), des protocoles d'administration de KCl et la durée des enregistrements (Chauvel *et al.*, 2018). Par ailleurs, d'autres paramètres, tels que l'amplitude, la durée et la latence des CSD ont été mesurées (données non présentées) et sont inchangées entre nos groupes traités au PL37 et au véhicule, aussi bien chez les mâles que les femelles, ce qui est en accord avec d'autres études (Ayata *et al.*, 2006; Ayata, 2009). Ces résultats montrent que dans nos conditions expérimentales, le PL37 diminue le nombre d'événements de CSD chez le mâle seulement.

Ces données révèlent l'effet antimigraineux de PL37 sur plusieurs modèles, induits par l'ISDN en conditions aiguë et chronique et sur un modèle de migraine avec aura induit par l'application de KCl.

II. Sites et mécanismes d'action

Les données précédentes permettent de confirmer que le PL37 serait un traitement antimigraineux efficace, mais n'indiquent pas quels sont les sites et mécanismes d'action de cette potentielle nouvelle thérapeutique.

Nous nous sommes intéressés au site d'action du PL37 dans le modèle de migraine aiguë, induite par l'ISDN. D'après nos résultats précédents, il n'existe pas de dimorphisme sexuel dans ce modèle. Dans un premier temps, nous avons étudié la composante centrale en montrant que l'administration intracisternale de PL37 (80 µg/5 µL) inhibait complètement l'HM céphalique aiguë induite par l'ISDN, chez les femelles, suggérant une possible action centrale de PL37. Ainsi, pour tester cette hypothèse, les animaux avaient reçu une administration sous-cutanée d'antagonistes des récepteurs opioïdes restreints périphériques ou centraux, respectivement la NM (5 mg/kg) ou la Nlx (2 mg/kg). Les résultats obtenus ont montré que la NM a inhibé partiellement et la Nlx a inversé totalement, l'effet induit par l'administration orale de PL37 (100 mg/kg), dans l'HM céphalique aiguë induite par l'ISDN, chez les mâles. Ces données montrent donc que l'administration orale de PL37 (100 mg/kg) agit à la fois directement par la protection des enképhalines sur les récepteurs opioïdes situés

au niveau du système nerveux central et périphérique. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus récemment par Mei, dans un modèle de migraine induite par le stress. En effet, les auteurs ont montré que la NM antagonisait complètement l'effet de PL37 dans ce modèle (Mei *et al.*, 2023). Il est important de noter que la dose, les animaux et la voie d'administration du PL37, la solution dans laquelle le PL37 est dilué (NaCl), les animaux utilisés (souris) et le modèle de douleur migraineux sont différents et pourraient expliquer ces différences obtenues. Dans notre étude, le PL37 est dilué dans 20 % d'éthanol, qui est connu pour affecter la perméabilité de la BHE et pourrait expliquer pourquoi nous avons un effet central du PL37 (Borisenko *et al.*, 1986). Cependant, ceci semble peu probable en une seule administration à cette concentration (Phillips, 1981; Gulati *et al.*, 1985) et par voie orale. Nous pouvons donc supposer que cela serait dû à la forte concentration de PL37 utilisée dans notre étude qui aurait plus de facilité à passer la BHE. En effet, il a été montré lors d'études ADME réalisées, que le PL37 (marqué au carbone 14 administrés chez des rats mâles et femelles adultes) administré par voie orale (100 mg/kg), était retrouvé, très légèrement, dans la ME, suggérant un passage de la BHE du composé dans ces conditions. Notons également que les donneurs de NO sont solubles et peuvent avoir des effets délétères sur la BHE, notamment en augmentant sa perméabilité (Thiel & Audus, 2004). L'effet central pourrait donc également être dû à l'ISDN et donc plus spécifique au modèle étudié.

Par la suite, nous avons souhaité nous intéresser au mécanisme d'action du PL37 et indirectement à celui de l'ISDN. Lors des crises de migraine, des neuropeptides vasoactifs tels que le CGRP et le PACAP et des enzymes comme la nNOS sont libérés dans le CTC (Goadsby *et al.*, 2017; Ramachandran, 2018; Moye *et al.*, 2021; Greco *et al.*, 2022), et de nos jours, ces peptides sont la cible de thérapeutiques pour traiter la migraine (Pradhan *et al.*, 2018; De Matteis *et al.*, 2020; Ashina, 2022). De plus, certaines études ont montré qu'il existait une coexpression entre les DOR et le CGRP (Moye *et al.*, 2021) et entre les DOR et le PACAP (Anapindi *et al.*, 2019; Mangutov *et al.*, 2023). Dans un premier temps, nous avons souhaité caractériser *via* une approche immunohistochimique, si l'ISDN et le PL37 affectaient les niveaux d'expression de CGRP. Nos résultats n'ont pas montré de différence d'intensité de fluorescence du CGRP dans le Sp5C d'animaux ayant reçu les traitements quotidiens suivants : solution véhicule + NaCl, véhicule + ISDN, PL37 + ISDN ou véhicule + NTG. Or, ces résultats ne

vont pas dans le sens d'études précédentes réalisées sur la NTG (Ramachandran, 2018; Moye *et al.*, 2021), qui constituait notre contrôle positif. Nous avons émis plusieurs hypothèses concernant ces différences. Il est possible qu'elles proviennent de la souche d'animaux, des anticorps, de la méthode d'imagerie ou de quantifications utilisés. Notons que tous les animaux n'ont pas été sacrifiés le même jour, de même que les immunohistochimies n'ont pas été réalisées au même moment (les variations de température d'un jour à l'autre pourraient constituer un biais expérimental). Cependant, toutes ces expériences ont été réalisées par le même expérimentateur.

Par la suite, nous avons souhaité poursuivre cette enquête grâce à une autre technique. À l'aide de la RT-qPCR, nous avons étudié l'expression de l'ARNm de CGRP, PACAP et nNOS dans le Sp5C. En effet, l'expérience précédente n'ayant pas donné les résultats escomptés, nous avons souhaité prendre en compte d'autres peptides impliqués dans la migraine. Premièrement, nous avons montré que l'administration chronique d'ISDN induisait une augmentation de l'expression de l'ARNm du CGRP, sans pour autant n'avoir d'impact sur l'expression de l'ARNm du PACAP ni de la nNOS. Peu d'études se sont intéressées à l'expression des ARNm de ces peptides. Il a été montré que les niveaux d'ARNm du CGRP augmentaient après une seule injection de NTG dans le modèle de douleur au formol (Greco *et al.*, 2022). Cependant, ce modèle est assez éloigné du notre. De plus, contrairement à cette même étude (Greco *et al.*, 2022), nos résultats ne montrent pas de différences d'expression de la nNOS. Ceci est étonnant puisque l'ISDN est un donneur de NO mais n'aurait pas d'impact sur l'expression de l'ARNm de la nNOS. Nous pouvons émettre l'hypothèse que, comme le modèle de douleur utilisé est différent, les niveaux d'ARNm le sont aussi. Il pourrait être intéressant de confirmer cela dans un modèle de migraine chronique induite par la NTG. De plus, nous n'observons aucun changement dans l'expression de l'ARNm de PACAP. Par ailleurs, il est connu que la voie du PACAP est indépendante du CGRP (Ernstsen *et al.*, 2022). Par conséquent, nous pouvons émettre l'hypothèse que, comme nous avons montré qu'il existait une augmentation de l'expression de l'ARNm du CGRP, l'ISDN pourrait agir *via* cette voie et non pas par celle du PACAP. D'autre part, nous avons montré que la pré-administration chronique de PL37 (20 mg/kg, i.v) avant chaque administration d'ISDN empêche l'augmentation de l'expression de l'ARNm induite par l'injection chronique d'ISDN et n'a aucun

effet sur l'expression de l'ARNm de PACAP et nNOS, indiquant que probablement, PL37 agit, dans ce modèle, par la voie CGRP mais pas par celles dépendant du PACAP ou de la nNOS.

III. Effet de PL37 sur l'abus médicamenteux et la sensibilisation latente, chez les femelles et les mâles

Au vu des résultats encourageants obtenus sur le modèle de migraines chroniques induites par l'ISDN et dans le but d'utiliser le PL37 en traitement de prophylaxie, l'effet d'administrations répétées de PL37 fut étudié afin de voir s'il n'entraînait pas d'hypersensibilité ou de sensibilisation latente dues à un abus médicamenteux, comme c'est le cas pour des administrations répétées de sumatriptan (De Felice *et al.*, 2010; Bonnet *et al.*, 2019; Navratilova *et al.*, 2020). De plus, l'effet analgésique du PL37 sur un modèle de CAM induite par le sumatriptan fut étudié.

Des études antérieures ont rapporté que, contrairement aux opiacés exogènes, de très fortes doses de DENKI ou de PL37, chez les rongeurs ou les humains, n'entraînent pas de tolérance ou de dépendance (Alvarez-Perez *et al.*, 2021). Ici, le traitement oral répété de PL37, n'a eu aucun effet sur la sensibilité mécanique céphalique, chez les rats mâles et femelles. En revanche, les administrations chroniques de sumatriptan entraînent *per se* une diminution du seuil basal de retrait de la face, dès la 3^{ème} administration, atteignant son pic au jour 12, puis les seuils d'HM reviennent progressivement à leur seuil de base. Ces données sont cohérentes avec d'autres études menées sur l'effet de l'administration répétée de sumatriptan, traduisant un abus médicamenteux du triptan (De Felice *et al.*, 2010; Moye *et al.*, 2019a; Bonnet *et al.*, 2019). Ces résultats suggèrent qu'un faible risque de CAM est associé à l'utilisation des DENKIs, par rapport au sumatriptan. Il est intéressant de montrer qu'une étude rapporte que l'administration quotidienne de l'agoniste DOR, le SNC80, produit des CAM moins sévères que le sumatriptan sur l'HM céphalique (Moye *et al.*, 2019a). Ces données sont donc en faveur de l'utilisation du PL37 dans le traitement prophylactique de la migraine.

Par ailleurs, plusieurs études indiquent que les traitements contre la migraine, tels que les opioïdes ou les triptans, induisent une sensibilisation des voies périphériques et centrales de la douleur (De Felice *et al.*, 2010; Moye *et al.*, 2019a; Bonnet *et al.*, 2019). Les animaux développent ainsi ce qui est appelé une sensibilisation latente à des stimuli

déclencheurs comme le stress ou des donneurs de NO. Dans le but d'étudier l'effet du PL37 sur cette sensibilisation latente, à la suite de l'expérience précédente basée sur le modèle de CAM, des rats femelles et mâles avaient reçu, au jour 21, l'administration d'ISDN, après soit un prétraitement au PL37, au sumatriptan ou au véhicule. Dans les groupes ayant reçu le véhicule ou prétraités au PL37, les animaux développent une HM induite par l'ISDN, comme dans le modèle de migraine aiguë. Ici, l'HM atteint son pic 60 minutes après l'administration de l'ISDN et revient à son seuil de base 90 minutes plus tard, sans aucune différence entre les sexes. Notons, que l'effet de l'ISDN est plus court que dans le modèle classique (retour au seuil de base à 120 min contre 90 min dans cette expérience). Cependant, dans le groupe prétraité au sumatriptan, l'HM est plus forte, chez les mâles et les femelles, ce qui indique que les animaux prétraités au sumatriptan ont développé une sensibilisation latente, ce qui n'est pas le cas des animaux prétraités au PL37. Ces données sont cohérentes avec d'autres études, même si les espèces, les doses et les voies d'administration utilisées étaient différentes (De Felice *et al.*, 2010; Moye *et al.*, 2019a; Bonnet *et al.*, 2019). Le PL37 administré de façon répétée, par voie orale, n'entraîne pas de sensibilisation latente, chez le mâle ni la femelle, contrairement au sumatriptan.

Il est important de noter que chez l'Homme les CAM sont difficiles à traiter même si le sevrage s'avère efficace. Il était donc intéressant d'étudier l'effet du PL37 administré par voie intraveineuse sur le modèle de CAM. D'après les résultats précédents, l'administration répétée de sumatriptan entraîne une HM céphalique dont le seuil minimal est atteint au jour 12 et cet effet est plus important chez le mâle que chez la femelle. Ici, le PL37 fut administré au jour 12 chez des mâles ayant reçu préalablement un traitement au sumatriptan. Ces résultats montrent que le PL37, administré par voie intraveineuse, renverse totalement l'HM induite par le sumatriptan pendant 120 minutes, avec un effet maximal après une heure d'administration. Notons qu'une étude, allant dans le même sens que nos résultats, montre que l'administration de l'agoniste DOR, SNC80, renverse les CAM induites par le sumatriptan (Moye *et al.*, 2019a). Ces résultats montrent que le PL37 serait un traitement de choix pour pallier aux céphalées par abus médicamenteux.

IV. Coadministration de PL37 et de sumatriptan

Cette section de la discussion est une adaptation de la version de la discussion de l'article.

La dernière partie de ce projet visait à évaluer l'effet de la coadministration du PL37 et du sumatriptan, dans le but de réduire les doses de sumatriptan et donc ses effets secondaires. En effet, le sumatriptan est peu toléré chez environ 40% des migraineux épisodiques, peut entraîner des risques cardiovasculaires, de CAM et de sensibilisation latente (Ferrari *et al.*, 2002; Lipton *et al.*, 2013; Diener *et al.*, 2016; Krymchantowski *et al.*, 2020). Afin de réaliser une étude isoblographique, nous avons, tout d'abord, déterminé les ED₅₀ du PL37 et du sumatriptan administrés par voie orale, dans le modèle de migraine aiguë induite par une injection d'ISDN. Par la suite, dans ce même modèle, l'effet de la coadministration de ces deux composés à différentes fractions (ED₅₀ PL37/4 + ED₅₀ sumatriptan/4 ; ED₅₀ PL37/8 + ED₅₀ sumatriptan/8 ; ED₅₀ PL37/16 + ED₅₀ sumatriptan/16) a été testé. L'étude isoblographique a ensuite permis de déterminer la nature de l'interaction de ces deux composés.

L'étude dose-réponse de l'administration orale de PL37 sur l'inhibition de l'HM céphalique montre un effet maximal à la dose de 1.5 mg/kg et une ED₅₀ mesurée à 1.1 mg/kg. Dans une étude précédente (Descheemaeker *et al.*, 2022), les administrations orales préventives de PL37 à 50 et 100 mg/kg ont permis de renverser l'HM induite par l'administration aiguë d'ISDN, sans qu'aucun effet dose n'ait été observé. Dans notre étude, cet effet dose-dépendant est observé pour de plus faibles valeurs. Il semblerait donc que les doses administrées, dans le travail mené par Descheemaeker, étaient déjà bien au-delà de l'effet maximal observable. Il est à noter que les doses utilisées dans ce projet avaient été choisies en fonction des données de la littérature, sur d'autres modèles. En effet, les études antérieures réalisées sur le PL37, par voie orale chez le rat, ont rapporté des doses efficaces plus élevées, par rapport à la voie intra-veineuse. Ces différences peuvent en partie s'expliquer aussi par les différents solvants/diluants utilisés, les différentes espèces animales différentes (souris vs rat) et aux tests nociceptifs utilisés (hot plate, tail flick, douleur spontanée ou vF) (Menéndez *et al.*, 2008; González-Rodríguez *et al.*, 2009; Poras *et al.*, 2014). Mais surtout, la différence majeure reste le type de modèle de douleur : en effet, notre étude

concerne la migraine et donc la sphère trigéminal, par opposition aux modèles de douleur « spinale », qui pourrait présenter une sensibilité et des mécanismes d'intégration différents. Dans ce sens, il est à noter également que la durée d'action est différente dans l'HM céphalique induite par l'ISDN comparés à d'autres modèles de douleur non céphalique (Roques *et al.*, 2012; Poras *et al.*, 2014) (de l'ordre d'une vingtaine de minutes contre 90 minutes dans notre modèle).

Dans un second temps, l'étude montre que le sumatriptan administré par voie orale inhibe de manière dose-dépendante l'HM induite par une injection d'ISDN. L'efficacité maximale du sumatriptan est atteinte dès la dose de 0,6 mg/kg, et son ED₅₀ est 0,3 mg/kg. Le sumatriptan est un agoniste des récepteurs à la sérotonine de type 5-HT_{1B/1D}, utilisé dans les traitements de crise de la migraine (Shivanand *et al.*, 2011). Des études antérieures ont montré que l'administration de sumatriptan par voie systémique entraîne un effet antimigraineux chez les animaux (Suwattanasophon *et al.*, 2003; Bates *et al.*, 2010; Pradhan *et al.*, 2014; Farkas *et al.*, 2016; Dallel *et al.*, 2018; Tzeng *et al.*, 2021; Ernstsens *et al.*, 2021). La gamme des doses administrées par voie intra-péritonéale était de 0,1 à 0,6 mg/kg (Bates *et al.*, 2010; Dallel *et al.*, 2018; Ernstsens *et al.*, 2021), de 0,06 µg/5 µL administré par voie intrathécale (Bates *et al.*, 2010; Pradhan *et al.*, 2014), de 0,3-3 mg/kg administré par voie sous-cutanée (Kayser *et al.*, 2002; Farkas *et al.*, 2011) ou 0,4 mg/kg administré par voie intraveineuse (Suwattanasophon *et al.*, 2003), démontrant l'impact de la voie d'administration. De plus, l'efficacité du sumatriptan dans un modèle de migraine aiguë induite par l'ISDN a déjà été montrée lorsqu'il était administré par voie intrapéritonéale à 0,3 mg/kg (Dallel *et al.*, 2018). L'effet dose-réponse du sumatriptan administré par voie orale sur l'HM dans un modèle de migraine a été démontré pour la première fois dans notre étude. Dans autre étude de douleur au formol, le sumatriptan a été administré par voie orale chez le rat, démontrant un effet dose-réponse du sumatriptan et dont la valeur de l'ED₅₀ était de 1,49 ± 0,29 mg/kg, dans la première phase du test au formol et de 1,67 ± 0,38 mg/kg, dans la deuxième phase du test au formol (Tomić *et al.*, 2015). Notre étude a montré l'efficacité du sumatriptan administré par voie orale à faibles doses, sur l'HM induite par l'ISDN dans un modèle de migraine, avec une valeur d'ED₅₀ de 0,3 mg/kg. L'effet de cette faible dose démontre l'impact du modèle et de la voie d'administration. Les différences de doses rapportées pourraient être dues aux espèces

animales (souris vs rat), à la voie d'administration et aux modèles de douleur. Cette étude est la première à étudier l'effet du sumatriptan et à déterminer sa valeur d'ED₅₀ administré par voie orale, dans un modèle animal de douleur de type migraine.

Enfin, l'étude montre que le PL37 agit de façon synergique en combinaison avec le sumatriptan. En effet, la coadministration de ces composés entraîne une analgésie potentialisée de telle sorte que, les doses des deux traitements prises séparément sont inefficaces, mais combinées, elles renversent l'HM induite par l'ISDN. Les données obtenues par l'analyse isobologique montrent que les valeurs expérimentales des ED₅₀ de chaque composé sont significativement inférieures à la valeur de l'ED₅₀ théorique calculée, indiquant ainsi une interaction synergique (Tallarida, 2002).

Deux autres études se sont intéressées à l'efficacité synergique du PL37, sur l'hyperalgésie thermique induite par l'ostéosarcome chez la souris, dans un modèle de douleur induite par le cancer (Menéndez *et al.*, 2008; González-Rodríguez *et al.*, 2009). La première étude s'est intéressée à l'effet de la coadministration du PL37 et de la gabapentine, un anticonvulsivant ayant des propriétés antalgiques (Menéndez *et al.*, 2008) et a montré que l'indice d'interaction de ces composés était de $0,55 \pm 0,03$. La deuxième étude s'est intéressée à l'effet synergique du PL37 administré avec un antagoniste des récepteurs périphériques P2X3 (modulant la nociception), dont l'indice d'interaction était de $0,28 \pm 0,02$ (González-Rodríguez *et al.*, 2009). Dans notre étude, l'indice d'interaction est plus fort, $0,14 \pm 0,04$, puisque plus l'indice d'interaction est faible, plus la réponse est importante, ce qui signifie que la combinaison entre le PL37 et l'agoniste de la sérotonine est plus forte dans le modèle de migraine MH induit par l'ISDN. Ceci indique que PL37 a des propriétés synergiques dans différents modèles de douleur avec un indice d'interaction variant en fonction des modèles et/ou des médicaments avec lesquels il est combiné.

Chez l'Homme, le sumatriptan est actuellement prescrit, dans le traitement de la migraine, en association avec le naproxène (Krymchantowski, 2000; Syed, 2016), un anti-inflammatoire non stéroïdien. L'association de ces deux composés, est le seul traitement à ce jour pour lequel une synergie significative a été démontrée dans le traitement de la migraine. Cependant, d'autres études se sont concentrées sur la combinaison du sumatriptan avec l'olcegepant, un antagoniste des récepteurs du CGRP, administré par voie intrapéritonéale

dans le modèle NTG de souris (Ernstsen *et al.*, 2021) et avec le lévétiracétam, un médicament anticonvulsivant, dans un test au formol (Tomić *et al.*, 2015) et n'ont montré aucun effet additif. Dans notre étude, la potentialisation entre PL37 et le sumatriptan pourrait représenter un nouvel axe de développement pour le traitement médicamenteux de la migraine.

Cette étude ne permet pas de comprendre quels sont les mécanismes d'action mis en jeu dans la synergie. Cependant, il est intéressant de noter que, le PL37 et le sumatriptan atteignent leur maximum d'efficacité (environ 75%) pour des doses de 1,5 mg/kg et 0,4 mg/kg, respectivement. Cependant, lorsque ces composés sont coadministrés, $ED_{50} \text{ PL37/4} + ED_{50} \text{ sumatriptan/4}$, une inhibition complète (100%) est atteinte. Ceci suggère donc que les composés agissent selon deux mécanismes différents, complémentaires. Le sumatriptan est un agoniste des récepteurs 5-HT_{1B/1D}. Ce composé entraîne une constriction des vaisseaux sanguins crâniens et inhibe la libération de neuropeptides pro-inflammatoires. Ces récepteurs sont exprimés dans différents neurones afférents primaires (Bouchelet *et al.*, 1996; Longmore *et al.*, 1997; Potrebic *et al.*, 2003), sur les fibres peptidergiques exprimant le CGRP (Hou *et al.*, 2001; Rice *et al.*, 2017). L'activation de ces récepteurs pourrait entraîner l'inhibition de la libération de CGRP *via* l'activation des récepteurs 5-HT_{1B/1D} (Buzzi & Moskowitz, 1990; Amrutkar *et al.*, 2012; Rubio-Beltrán *et al.*, 2018). D'autre part, le PL37 agit de façon à protéger la dégradation des enképhalines libérées au niveau du site douloureux. Dans notre modèle, en raison des faibles doses orales administrées, PL37 agit certainement seulement au niveau périphérique, activant ainsi les récepteurs opioïdes au niveau de la dure-mère et du TG. De plus, une étude récente a montré que le PL37 agissait au niveau des DOR (Mei *et al.*, 2023), exprimés principalement par des fibres myélinisées (Moye *et al.*, 2021; Quirion *et al.*, 2022). Cependant, les mécanismes d'action du déclenchement des DOR et sous-jacent ne sont pas bien connus et laissent la porte ouverte à toutes sortes d'interprétations. Enfin, PL37 pourrait agir indirectement *via* les structures de TC et renforcer les contrôles inhibiteurs descendants qui agissent sur le CTC. Plusieurs noyaux du TC, dont la PAG et le NRM, connus pour contenir des neurones enképhalinergiques et projetant vers le CTC (Beitz *et al.*, 1987), ont été impliqués dans la modulation de la douleur du trijumeau (pour revue (Goadsby *et al.*, 2017)).

Cette étude a montré les efficacités dose-dépendantes du PL37 et du sumatriptan administrés par voie orale en traitement préventif dans un modèle de migraine induite par

l'ISDN, ainsi que leur synergie d'action lorsque ces composés étaient coadministrés, dans le même modèle.

Chapitre VI – Conclusion et perspectives

Ce travail s'inscrit à la suite d'une première étude ayant montré que le PL37 possédait un pouvoir analgésique dans le modèle de migraine induite par l'ISDN chez le rat mâle (Descheemaeker *et al*, 2022). Nous avons donc complété l'étude en enrichissant les données avec la femelle afin de faire une comparaison entre les deux sexes.

Ainsi chez les femelles, le PL37 est également capable de renverser l'HM induite par une injection d'ISDN. De plus, cette étude montre que le PL37 inhibe l'HM induite à la suite de 5 injections d'ISDN, chez les deux sexes, mais avec une meilleure efficacité chez la femelle. Enfin, le PL37 est capable aussi de diminuer le nombre d'événements de CSD induite par l'application corticale de KCl, un modèle de migraine avec aura, chez le mâle uniquement.

Pour répondre à la question concernant les sites d'action du PL37, l'administration intracisternale de PL37 entraîne une inhibition de l'HM induite par l'ISDN, indiquant ainsi une possible composante centrale du PL37. De plus, les administrations (s.c.) de naloxone-méthiodide et de naloxone, respectivement, inhibent partiellement et totalement, en condition de migraine aiguë (1 injection d'ISDN), l'effet du PL37 indiquant une action centrale et périphérique. Enfin, grâce à une analyse par RT-qPCR, nous avons démontré que le PL37 diminue la surexpression d'ARNm du CGRP dans le CTC, induite par l'ISDN en condition chronique (5 injections).

En ce qui concerne les risques d'effets secondaires liés à l'utilisation du PL37, cette étude montre que les administrations orales répétées ne modifient pas la sensibilité mécanique cutanée basale, contrairement au sumatriptan qui entraîne une HM, réversible 10 jours après la fin du traitement. De plus, l'administration répétée de PL37 n'engendre pas de sensibilité latente contrairement aux animaux traités au sumatriptan ce qui entraîne une exacerbation de l'HM induite par une injection d'ISDN.

Dans le but de réduire les doses de sumatriptan et donc ses effets secondaires, la co-administration du PL37 et du sumatriptan à faibles doses (fractions d'ED₅₀), entraîne un effet anti-HM puissant et prouve que PL37 agit de façon synergique avec le sumatriptan.

En résumé le PL37 :

- Est efficace dans différents modèles de migraine, chez les mâles et les femelles, dont notamment les migraines aiguës par voie orale,
- Agit de façon indirecte, par protection des enképhalines, sur les récepteurs opioïdes situés au niveau des systèmes nerveux périphérique et central, *via* la voie du CGRP,
- N'induit pas de sensibilisation centrale lorsqu'il est administré, par voie orale, de manière répétée, ni de sensibilisation latente,
- Associé au sumatriptan pourrait constituer une option intéressante pour le traitement de crise de la migraine.

Afin de compléter ce travail, plusieurs travaux devront être entrepris. Tout d'abord, il serait intéressant de quantifier, par analyse ELISA, le taux plasmatique de met- et leu-enképhaline, en conditions aiguë et chronique, chez le mâle et la femelle, avec ou sans traitement au PL37. Ceci pourrait éclairer nos résultats concernant le dimorphisme sexuel dans le modèle de migraine chronique qui n'existe pas en condition de migraine aiguë.

Par ailleurs, au vu des résultats précédents obtenus par Mei *et al.*, concernant l'action des enképhalines protégées par le PL37 *via* les DOR, il serait intéressant de vérifier l'impact qu'aurait le PL37 après le blocage des MOR et des DOR par d'antagonistes spécifiques.

Ensuite, nous avons montré que le PL37 pourrait être un traitement de choix contre les céphalées par abus médicamenteux. Cependant, cet effet n'a été étudié que chez le mâle or, la prévalence des CAM est, comme la migraine, de 3 femmes pour 1 homme (Kristoffersen & Lundqvist, 2014). De plus, dans notre modèle de CAM, nous avons constaté une différence entre les mâles traités de façon répétée au sumatriptan, dont l'HM était plus forte que celles des femelles (**figure 28D**). Il serait donc intéressant de voir quel serait l'effet du PL37 sur ce modèle de CAM, chez la femelle.

Dans le cas de la coadministration de PL37 et de sumatriptan, il serait intéressant de tester l'effet de la combinaison de ces composés, administrés par voie orale, de façon répétée afin de voir si la combinaison n'entraînerait pas de CAM, ni de sensibilisation latente à la suite de l'administration d'ISDN.

L'hypersensibilité mécanique ne représente pas à elle seule la crise de migraine et par conséquent, il sera essentiel d'étudier l'impact du PL37 sur d'autres critères comme la photophobie dont un modèle a été développé et est maîtrisé au laboratoire (Raquin *et al.*, en cours de publication).

A plus long terme, si les résultats précliniques se confirment, des études cliniques pourront être entreprises afin de tester l'effet du PL37 sur des patients atteints de migraines aiguës ou chroniques, en échec thérapeutique ou atteints de CAM. Le modèle ISDN pourrait aussi permettre, au même titre que la NTG, d'entreprendre une étude translationnelle.

Chapitre VI – Références bibliographiques

A

- Abdallah K, Artola A, Monconduit L, Dallel R & Luccarini P (2013). Bilateral Descending Hypothalamic Projections to the Spinal Trigeminal Nucleus Caudalis in Rats ed. Sugihara I. *PLoS ONE* **8**, e73022.
- Abdallah K, Monconduit L, Artola A, Luccarini P & Dallel R (2015). GABAergic inhibition or dopamine denervation of the A11 hypothalamic nucleus induces trigeminal analgesia. *Pain* **156**, 644–655.
- Abraira VE & Ginty DD (2013). The Sensory Neurons of Touch. *Neuron* **79**, 618–639.
- Abrimian A, Kraft T & Pan Y-X (2021). Endogenous Opioid Peptides and Alternatively Spliced Mu Opioid Receptor Seven Transmembrane Carboxyl-Terminal Variants. *Int J Mol Sci* **22**, 3779.
- Adámek S & Vyskočil F (2011). Potassium-selective microelectrode revealed difference in threshold potassium concentration for cortical spreading depression in female and male rat brain. *Brain Res* **1370**, 215–219.
- Adeeb N, Deep A, Griessenauer CJ, Mortazavi MM, Watanabe K, Loukas M, Tubbs RS & Cohen-Gadol AA (2013). The intracranial arachnoid mater : a comprehensive review of its history, anatomy, imaging, and pathology. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* **29**, 17–33.
- Afridi KS, Kaube H & Goadsby JP (2004). Glyceryl trinitrate triggers premonitory symptoms in migraineurs. *Pain* **110**, 675–680.
- Afridi SK, Matharu MS, Lee L, Kaube H, Friston KJ, Frackowiak RSJ & Goadsby PJ (2005). A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate. *Brain* **128**, 932–939.
- Aguggia M (2012). Allodynia and migraine. *Neurol Sci* **33**, 9–11.
- Ahn AH (2010). On the temporal relationship between throbbing migraine pain and arterial pulse. *Headache* **50**, 1507–1510.
- Aicher SA, Mitchell JL, Swanson KC & Zadina JE (2003). Endomorphin-2 axon terminals contact mu-opioid receptor-containing dendrites in trigeminal dorsal horn. *Brain Res* **977**, 190–198.

- Aiyar N, Rand K, Elshourbagy NA, Zeng Z, Adamou JE, Bergsma DJ & Li Y (1996). A cDNA encoding the calcitonin gene-related peptide type 1 receptor. *J Biol Chem* **271**, 11325–11329.
- Akerman S & Goadsby PJ (2015). Neuronal PAC1 receptors mediate delayed activation and sensitization of trigeminocervical neurons: Relevance to migraine. *Sci Transl Med* **7**, 308ra157.
- Akerman S, Holland PR & Goadsby PJ (2007). Cannabinoid (CB1) receptor activation inhibits trigeminovascular neurons. *J Pharmacol Exp Ther* **320**, 64–71.
- Akerman S, Karsan N, Bose P, Hoffmann JR, Holland PR, Romero-Reyes M & Goadsby PJ (2019). Nitroglycerine triggers triptan-responsive cranial allodynia and trigeminal neuronal hypersensitivity. *Brain J Neurol* **142**, 103–119.
- Akerman S, Williamson DJ, Kaube H & Goadsby PJ (2002). Nitric oxide synthase inhibitors can antagonize neurogenic and calcitonin gene-related peptide induced dilation of dural meningeal vessels. *Br J Pharmacol* **137**, 62–68.
- Al-Hasani R & Bruchas MR (2011). Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *Anesthesiology* **115**, 1363–1381.
- Almeida TF, Roizenblatt S & Tufik S (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* **1000**, 40–56.
- Alstadhaug KB (2009). Migraine and the hypothalamus. *Cephalalgia Int J Headache* **29**, 809–817.
- Alstergren P, Appelgren A, Appelgren B, Kopp S, Lundeberg T & Theodorsson E (1995). Co-variation of neuropeptide Y, calcitonin gene-related peptide, substance P and neurokinin A in joint fluid from patients with temporomandibular joint arthritis. *Arch Oral Biol* **40**, 127–135.
- Alt A, Mansour A, Akil H, Medzihradsky F, Traynor JR & Woods JH (1998). Stimulation of guanosine-5'-O-(3-[35S]thio)triphosphate binding by endogenous opioids acting at a cloned mu receptor. *J Pharmacol Exp Ther* **286**, 282–288.
- Alvarez-Perez B, Poras H & Maldonado R (2021). The inhibition of enkephalin catabolism by dual enkephalinase inhibitor: A novel possible therapeutic approach for opioid use disorders. *Br J Pharmacol*; DOI: 10.1111/bph.15656.
- Amaral DG & Sinnamon HM (1977). The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Prog Neurobiol* **9**, 147–196.
- Amin FM, Hougaard A, Schytz HW, Asghar MS, Lundholm E, Parvaiz AI, de Koning PJH, Andersen MR, Larsson HBW, Fahrenkrug J, Olesen J & Ashina M (2014). Investigation of the pathophysiological mechanisms of migraine attacks induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38. *Brain* **137**, 779–794.

- Amiri P, Kazeminasab S, Nejadghaderi SA, Mohammadinasab R, Pourfathi H, Araj-Khodaei M, Sullman MJM, Kolahi A-A & Safiri S (2022). Migraine: A Review on Its History, Global Epidemiology, Risk Factors, and Comorbidities. *Front Neurol* **12**, 800605.
- Amrutkar DV, Ploug KB, Hay-Schmidt A, Porreca F, Olesen J & Jansen-Olesen I (2012). mRNA expression of 5-hydroxytryptamine 1B, 1D, and 1F receptors and their role in controlling the release of calcitonin gene-related peptide in the rat trigeminovascular system. *Pain* **153**, 830–838.
- Anapindi KDB, Yang N, Romanova EV, Rubakhin SS, Tipton A, Dripps I, Sheets Z, Sweedler JV & Pradhan AA (2019). PACAP and Other Neuropeptide Targets Link Chronic Migraine and Opioid-induced Hyperalgesia in Mouse Models*. *Mol Cell Proteomics MCP* **18**, 2447–2458.
- Andlin-Sobocki P, Jönsson B, Wittchen H-U & Olesen J (2005). Cost of disorders of the brain in Europe. *Eur J Neurol* **12 Suppl 1**, 1–27.
- Andress-Rothrock D, King W & Rothrock J (2010). An analysis of migraine triggers in a clinic-based population. *Headache* **50**, 1366–1370.
- Anon (2011). The Human Nervous System - 3rd Edition. Available at: <https://www.elsevier.com/books/the-human-nervous-system/mai/978-0-12-374236-0> [Accessed February 22, 2023].
- Anon (2018). Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia Int J Headache* **38**, 1–211.
- Anttila V et al. (2010). Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. *Nat Genet* **42**, 869–873.
- Appenzeller O & Atkinson R (1975). [Transcutaneous nerve stimulation for the treatment of migraine and other head pain (author's transl)]. *MMW Munch Med Wochenschr* **117**, 1953–1954.
- Arvieu L, Mauborgne A, Bourgoin S, Oliver C, Feltz P, Hamon M & Cesselin F (1996). Sumatriptan inhibits the release of CGRP and substance P from the rat spinal cord. *Neuroreport* **7**, 1973–1976.
- Ashina M (2020). Migraine. *N Engl J Med* **383**, 1866–1876.
- Ashina M (2022). Targeting enkephalins and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in migraine. *Brain* **145**, 2619–2620.
- Ashina M, Buse DC, Ashina H, Pozo-Rosich P, Peres MFP, Lee MJ, Terwindt GM, Halker Singh R, Tassorelli C, Do TP, Mitsikostas DD & Dodick DW (2021). Migraine: integrated approaches to clinical management and emerging treatments. *Lancet Lond Engl* **397**, 1505–1518.

- Ashina M, Hansen JM, Do TP, Melo-Carrillo A, Burstein R & Moskowitz MA (2019). Migraine and the trigeminovascular system-40 years and counting. *Lancet Neurol* **18**, 795–804.
- Ashkenazi A, Sholtzow M, Shaw J, Burstein R & Young W (2007). Identifying Cutaneous Allodynia in Chronic Migraine Using a Practical Clinical Method. *Cephalalgia* **27**, 111–117.
- Augustine (2017). Human Neuroanatomy, 2nd Edition | Wiley. Available at: <https://www.wiley.com/en-us/Human+Neuroanatomy,+2nd+Edition-p-9780470961612> [Accessed February 22, 2023].
- Aurora S, Welch K & Al-Sayed F (2003). The Threshold for Phosphenes is Lower in Migraine. *Cephalalgia* **23**, 258–263.
- Aurora SK, Kulthia A & Barrodale PM (2011). Mechanism of chronic migraine. *Curr Pain Headache Rep* **15**, 57–63.
- Ayata C (2009). Spreading depression: from serendipity to targeted therapy in migraine prophylaxis. *Cephalalgia Int J Headache* **29**, 1095–1114.
- Ayata C (2013). Spreading depression and neurovascular coupling. *Stroke* **44**, S87-89.
- Ayata C, Jin H, Kudo C, Dalkara T & Moskowitz MA (2006). Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis. *Ann Neurol* **59**, 652–661.
- Ayata C & Lauritzen M (2015). Spreading Depression, Spreading Depolarizations, and the Cerebral Vasculature. *Physiol Rev* **95**, 953–993.
- Azami J, Llewelyn MB & Roberts MHT (1982). The contribution of nucleus reticularis paragigantocellularis and nucleus raphe magnus to the analgesia produced by systemically administered morphine, investigated with the microinjection technique. *Pain* **12**, 229–246.

B

- Bach FW & Yaksh TL (1995). Release into ventriculo-cisternal perfusate of beta-endorphin- and Met-enkephalin-immunoreactivity: effects of electrical stimulation in the arcuate nucleus and periaqueductal gray of the rat. *Brain Res* **690**, 167–176.
- Bagley EE & Ingram SL (2020). Endogenous opioid peptides in the descending pain modulatory circuit. *Neuropharmacology* **173**, 108131.
- Bagues A, Martín Fontelles M, Higuera-Matas A, Esteban Hernández J, Ambrosio E & Sánchez E (2017). Mu-Opioid Receptors in Ganglia, But Not in Muscle, Mediate Peripheral Analgesia in Rat Muscle Pain. *Anesth Analg* **126**, 1.

- Bai X, Wang C, Zhang X, Feng Y & Zhang X (2020). The role of testosterone in mu-opioid receptor expression in the trigeminal ganglia of opioid-tolerant rats. *Neurosci Lett* **723**, 134868.
- Baldacci F, Vedovello M, Ulivi M, Vergallo A, Poletti M, Borelli P, Cipriani G, Nuti A & Bonuccelli U (2013). Triggers in allodynic and non-allodynic migraineurs. A clinic setting study. *Headache* **53**, 152–160.
- Baldi E, Salmon S, Anselmi B, Spillantini MG, Cappelli G, Brocchi A & Sicuteri F (1982). Intermittent Hypoendorphinaemia in Migraine Attack. *Cephalalgia* **2**, 77–81.
- Bandler R & Keay KA (1996). Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray and the integration of emotional expression. *Prog Brain Res* **107**, 285–300.
- Banghart MR & Sabatini BL (2012). Photoactivatable Neuropeptides for Spatiotemporally Precise Delivery of Opioids in Neural Tissue. *Neuron* **73**, 249–259.
- Barbanti P, Aurilia C, Dall’Armi V, Egeo G, Fofi L & Bonassi S (2016). The phenotype of migraine with unilateral cranial autonomic symptoms documents increased peripheral and central trigeminal sensitization. A case series of 757 patients. *Cephalalgia* **36**, 1334–1340.
- Barbanti P, Fofi L, Aurilia C & Egeo G (2019). Does the migraine attack start in the cortex and is the cortex critical in the migraine process? *Neurol Sci* **40**, 31–37.
- Barbaro NM, Heinricher MM & Fields HL (1986). Putative pain modulating neurons in the rostral ventral medulla: reflex-related activity predicts effects of morphine. *Brain Res* **366**, 203–210.
- Barth C, Villringer A & Sacher J (2015). Sex hormones affect neurotransmitters and shape the adult female brain during hormonal transition periods. *Front Neurosci* **9**, 37.
- Bartsch T & Goadsby PJ (2002). Stimulation of the greater occipital nerve induces increased central excitability of dural afferent input. *Brain J Neurol* **125**, 1496–1509.
- Bartsch T, Knight YE & Goadsby PJ (2004a). Activation of 5-HT_{1B/1D} receptor in the periaqueductal gray inhibits nociception. *Ann Neurol* **56**, 371–381.
- Bartsch T, Levy MJ, Knight YE & Goadsby PJ (2004b). Differential modulation of nociceptive dural input to [hypocretin] orexin A and B receptor activation in the posterior hypothalamic area. *Pain* **109**, 367–378.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G & Julius D (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell* **139**, 267–284.
- Baskin SM, Lipchik GL & Smitherman TA (2006). Mood and anxiety disorders in chronic headache. *Headache* **46 Suppl 3**, S76-87.

- Bates EA, Nikai T, Brennan KC, Fu Y-H, Charles AC, Basbaum AI, Ptáček LJ & Ahn AH (2010). Sumatriptan alleviates nitroglycerin-induced mechanical and thermal allodynia in mice. *Cephalalgia Int J Headache* **30**, 170–178.
- Bauer PR, Tolner EA, Keezer MR, Ferrari MD & Sander JW (2021). Headache in people with epilepsy. *Nat Rev Neurol* **17**, 529–544.
- Bauvois B & Dauzonne D (2006). Aminopeptidase-N/CD13 (EC 3.4.11.2) inhibitors: Chemistry, biological evaluations, and therapeutic prospects. *Med Res Rev* **26**, 88–130.
- Behbehani MM & Fields HL (1979). Evidence that an excitatory connection between the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus mediates stimulation produced analgesia. *Brain Res* **170**, 85–93.
- Beitz AJ (1982a). The organization of afferent projections to the midbrain periaqueductal gray of the rat. *Neuroscience* **7**, 133–159.
- Beitz AJ (1982b). The nuclei of origin of brainstem serotonergic projections to the rodent spinal trigeminal nucleus. *Neurosci Lett* **32**, 223–228.
- Bellamy J, Bowen EJ, Russo AF & Durham PL (2006). Nitric oxide regulation of calcitonin gene-related peptide gene expression in rat trigeminal ganglia neurons. *Eur J Neurosci* **23**, 2057–2066.
- Bellantonio P, Micieli G, Buzzi M, Marcheselli S, Castellano A, Rossi F & Nappi G (1997). Haemodynamic correlates of early and delayed responses to sublingual administration of isosorbide dinitrate in migraine patients: a transcranial Doppler study. *Cephalalgia* **17**, 183–187.
- Benarroch EE (2012). Endogenous opioid systems: current concepts and clinical correlations. *Neurology* **79**, 807–814.
- Benjamin L, Levy MJ, Lasalandra MP, Knight YE, Akerman S, Classey JD & Goadsby PJ (2004). Hypothalamic activation after stimulation of the superior sagittal sinus in the cat: a Fos study. *Neurobiol Dis* **16**, 500–505.
- Bereiter DA, Hargreaves KM & Hu JW (2008). 5.32 Trigeminal Mechanisms of Nociception: Peripheral and Brainstem Organization.
- Bertels Z, Dripps IJ, Shah P, Moye LS, Tipton AF, Siegersma K & Pradhan AA (2022). Delta opioid receptors in Nav1.8 expressing peripheral neurons partially regulate the effect of delta agonist in models of migraine and opioid-induced hyperalgesia. *Neurobiol Pain* **12**, 100099.
- Bertels Z, Witkowski WD, Asif S, Siegersma K, van Rijn RM & Pradhan AA (2021). A non-convulsant delta-opioid receptor agonist, KNT-127, reduces cortical spreading depression and nitroglycerin-induced allodynia. *Headache* **61**, 170–178.

- Bessou P & Perl ER (1969). Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J Neurophysiol* **32**, 1025–1043.
- Bigal ME, Dodick DW, Krymchantowski AV, VanderPluym JH, Tepper SJ, Aycardi E, Loupe PS, Ma Y & Goadsby PJ (2016). TEV-48125 for the preventive treatment of chronic migraine: Efficacy at early time points. *Neurology* **87**, 41–48.
- Bigal ME, Dodick DW, Rapoport AM, Silberstein SD, Ma Y, Yang R, Loupe PS, Burstein R, Newman LC & Lipton RB (2015). Safety, tolerability, and efficacy of TEV-48125 for preventive treatment of high-frequency episodic migraine: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b study. *Lancet Neurol* **14**, 1081–1090.
- Bigal ME & Lipton RB (2008). Concepts and mechanisms of migraine chronification. *Headache* **48**, 7–15.
- Bigal ME & Lipton RB (2009). Excessive opioid use and the development of chronic migraine. *Pain* **142**, 179–182.
- Bigal ME, Serrano D, Buse D, Scher A, Stewart WF & Lipton RB (2008). Acute migraine medications and evolution from episodic to chronic migraine: a longitudinal population-based study. *Headache* **48**, 1157–1168.
- Bigal, Rapoport A, Aurora S, Sheftell F, Tepper S & Dahlof C (2007). Satisfaction with current migraine therapy: experience from 3 centers in US and Sweden. *Headache* **47**, 475–479.
- Blomeley CP & Bracci E (2011). Opioidergic Interactions between Striatal Projection Neurons. *J Neurosci* **31**, 13346–13356.
- Bloom FE, Rossier J, Battenberg EL, Bayon A, French E, Henriksen SJ, Siggins GR, Segal D, Browne R, Ling N & Guillemin R (1978). beta-endorphin: cellular localization, electrophysiological and behavioral effects. *Adv Biochem Psychopharmacol* **18**, 89–109.
- Boardman HF, Thomas E, Millson DS & Croft PR (2005). Psychological, sleep, lifestyle, and comorbid associations with headache. *Headache* **45**, 657–669.
- Bobeck EN, Ingram SL, Hermes SM, Aicher SA & Morgan MM (2016). Ligand-biased activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 leads to differences in opioid induced antinociception and tolerance. *Behav Brain Res* **298**, 17–24.
- Bodnar RJ (2013). Endogenous opiates and behavior: 2012. *Peptides* **50**, 55–95.
- Bodnar RJ, Williams CL, Lee SJ & Pasternak GW (1988). Role of mu 1-opiate receptors in supraspinal opiate analgesia: a microinjection study. *Brain Res* **447**, 25–34.

- Bogdanov VB, Middleton NA, Theriot JJ, Parker PD, Abdullah OM, Ju YS, Hartings JA & Brennan KC (2016). Susceptibility of Primary Sensory Cortex to Spreading Depolarizations. *J Neurosci* **36**, 4733–4743.
- Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA & Moskowitz MA (2002). Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med* **8**, 136–142.
- Boni LJ, Ploug KB, Olesen J, Jansen-Olesen I & Gupta S (2009). The in vivo effect of VIP, PACAP-38 and PACAP-27 and mRNA expression of their receptors in rat middle meningeal artery. *Cephalalgia Int J Headache* **29**, 837–847.
- Bonnard E, Poras H, Fournié-Zaluski M-C & Roques BP (2016). Preventive and alleviative effects of the dual enkephalinase inhibitor (Denki) PL265 in a murine model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* **788**, 176–182.
- Bonnard E, Poras H, Nadal X, Maldonado R, Fournié-Zaluski M-C & Roques BP (2015). Long-lasting oral analgesic effects of N-protected aminophosphinic dual ENkephalinase inhibitors (DENKIs) in peripherally controlled pain. *Pharmacol Res Perspect* **3**, e00116.
- Bonnet C, Hao J, Osorio N, Donnet A, Penalba V, Ruel J & Delmas P (2019). Maladaptive activation of Nav1.9 channels by nitric oxide causes triptan-induced medication overuse headache. *Nat Commun* **10**, 4253.
- Borisenko SA, Kiianmaa K, Lekhtosalo I, Mannisto P & Burov IV (1986). [Effect of chronic administration of ethanol on the blood-brain barrier permeability of ¹⁴C-tyrosine and horseradish peroxidase in rats]. *Biull Eksp Biol Med* **102**, 313–315.
- Borsodoni, Bruchas MR, Chavkin C, Christie MJ, Civelli O, Connor M, Cox BM, Devi & Evans (2019). Opioid receptors (version 2019.4) in the IUPHAR/ BPS Guide to Pharmacology Database. *Guide to Pharmacology*.
- Bouchelet I, Cohen Z, Case B, Séguéla P & Hamel E (1996). Differential expression of sumatriptan-sensitive 5-hydroxytryptamine receptors in human trigeminal ganglia and cerebral blood vessels. *Mol Pharmacol* **50**, 219–223.
- Bourgeois-Rambur L, Beynac L, Mariani J-C, Tanter M, Deffieux T, Lenkei Z & Villanueva L (2022). Altered Cortical Trigeminal Fields Excitability by Spreading Depolarization Revealed with in Vivo Functional Ultrasound Imaging Combined with Electrophysiology. *J Neurosci* **42**, 6295–6308.
- Bourgoin S, Le Bars D, Artaud F, Clot AM, Bouboutou R, Fournie-Zaluski MC, Roques BP, Hamon M & Cesselin F (1986). Effects of ketatorphan and other peptidase inhibitors on the in vitro and in vivo release of methionine-enkephalin-like material from the rat spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* **238**, 360–366.

- Bower J, P. Guest K & A. Morgan B (1976). Enkephalin. Synthesis of two pentapeptides isolated from porcine brain with receptor-mediated opiate agonist activity. *J Chem Soc Perkin 1* **0**, 2488–2492.
- Boyer N, Dallel R, Artola A & Monconduit L (2014). General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain* **155**, 1196–1205.
- Boyer N, Signoret-Genest J, Artola A, Dallel R & Monconduit L (2017). Propranolol treatment prevents chronic central sensitization induced by repeated dural stimulation. *PAIN* **158**, 2025.
- Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR & MacIntyre I (1985). Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature* **313**, 54–56.
- Brainstorm Consortium et al. (2018). Analysis of shared heritability in common disorders of the brain. *Science* **360**, eaap8757.
- Brennan KC, Beltrán-Parrazal L, López-Valdés HE, Theriot J, Toga AW & Charles AC (2007). Distinct Vascular Conduction With Cortical Spreading Depression. *J Neurophysiol* **97**, 4143–4151.
- Breslau N, Lipton RB, Stewart WF, Schultz LR & Welch KMA (2003). Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis. *Neurology* **60**, 1308–1312.
- Brewerton TD, Murphy DL, Mueller EA & Jimerson DC (1988). Induction of migrainelike headaches by the serotonin agonist m-chlorophenylpiperazine. *Clin Pharmacol Ther* **43**, 605–609.
- Broccardo M, Improta G & Tabacco A (1998). Central effect of SNC 80, a selective and systemically active delta-opioid receptor agonist, on gastrointestinal propulsion in the mouse. *Eur J Pharmacol* **342**, 247–251.
- Bruchas MR, Land BB & Chavkin C (2010). The dynorphin/kappa opioid system as a modulator of stress-induced and pro-addictive behaviors. *Brain Res* **1314**, 44–55.
- Burgess PR & Perl ER (1967). Myelinated afferent fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin. *J Physiol* **190**, 541–562.
- Burstein R, Cliffer KD & Giesler GJ (1987). Direct somatosensory projections from the spinal cord to the hypothalamus and telencephalon. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **7**, 4159–4164.
- Burstein R, Dado RJ & Giesler GJ (1990). The cells of origin of the spinothalamic tract of the rat: a quantitative reexamination. *Brain Res* **511**, 329–337.

- Burstein R & Jakubowski M (2009). Neural substrate of depression during migraine. *Neurol Sci* **30**, 27–31.
- Burstein R, Jakubowski M, Garcia-Nicas E, Kainz V, Bajwa Z, Hargreaves R, Becerra L & Borsook D (2010). Thalamic sensitization transforms localized pain into widespread allodynia. *Ann Neurol* **68**, 81–91.
- Burstein R, Yamamura H, Malick A & Strassman AM (1998). Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *J Neurophysiol* **79**, 964–982.
- Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ & Bajwa ZH (2000). An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol* **47**, 614–624.
- Buse DC, Manack A, Serrano D, Turkel C & Lipton RB (2010). Sociodemographic and comorbidity profiles of chronic migraine and episodic migraine sufferers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **81**, 428–432.
- Buse DC, Manack AN, Fanning KM, Serrano D, Reed ML, Turkel CC & Lipton RB (2012). Chronic migraine prevalence, disability, and sociodemographic factors: results from the American Migraine Prevalence and Prevention Study. *Headache* **52**, 1456–1470.
- Buse DC, Reed ML, Fanning KM, Bostic R, Dodick DW, Schwedt TJ, Munjal S, Singh P & Lipton RB (2020). Comorbid and co-occurring conditions in migraine and associated risk of increasing headache pain intensity and headache frequency: results of the migraine in America symptoms and treatment (MAST) study. *J Headache Pain* **21**, 23.
- Buse DC, Silberstein SD, Manack AN, Papapetropoulos S & Lipton RB (2013). Psychiatric comorbidities of episodic and chronic migraine. *J Neurol* **260**, 1960–1969.
- Busserolles J, Lolignier S, Kerckhove N, Bertin C, Authier N & Eschalier A (2020). Replacement of current opioid drugs focusing on MOR-related strategies. *Pharmacol Ther* **210**, 107519.
- Buzzi MG & Moskowitz MA (1990). The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol* **99**, 202.

C

- Cadden SW & Orchardson R (2001). The Neural Mechanisms of Oral and Facial Pain. *Dent Update* **28**, 359–367.
- Cader MZ (2020). The genetics of migraine and the path to precision medicine. *Prog Brain Res* **255**, 403–418.

- Caggiano AO & Kraig RP (1996). Eicosanoids and nitric oxide influence induction of reactive gliosis from spreading depression in microglia but not astrocytes. *J Comp Neurol* **369**, 93–108.
- Cahill CM, Holdridge SV & Morinville A (2007). Trafficking of delta-opioid receptors and other G-protein-coupled receptors: implications for pain and analgesia. *Trends Pharmacol Sci* **28**, 23–31.
- Cai Y-Q, Wang W, Hou Y-Y & Pan ZZ (2014). Optogenetic activation of brainstem serotonergic neurons induces persistent pain sensitization. *Mol Pain* **10**, 70.
- Calhoun AH (2018). Understanding Menstrual Migraine. *Headache* **58**, 626–630.
- Capuani C, Melone M, Tottene A, Bragina L, Crivellaro G, Santello M, Casari G, Conti F & Pietrobon D (2016). Defective glutamate and K⁺ clearance by cortical astrocytes in familial hemiplegic migraine type 2. *EMBO Mol Med* **8**, 967–986.
- Carlezon WA & Krystal AD (2016). Kappa-Opioid Antagonists for Psychiatric Disorders: From Bench to Clinical Trials. *Depress Anxiety* **33**, 895–906.
- Cassell RJ, Sharma KK, Su H, Cummins BR, Cui H, Mores KL, Blaine AT, Altman RA & van Rijn RM (2019). The Meta-Position of Phe4 in Leu-Enkephalin Regulates Potency, Selectivity, Functional Activity, and Signaling Bias at the Delta and Mu Opioid Receptors. *Molecules* **24**, 4542.
- Castellano AE, Micieli G, Bellantonio P, Buzzi MG, Marcheselli S, Pompeo F, Rossi F & Nappi G (1998). Indomethacin increases the effect of isosorbide dinitrate on cerebral hemodynamic in migraine patients: pathogenetic and therapeutic implications. *Cephalalgia Int J Headache* **18**, 622–630.
- Cestèle S, Scalmani P, Rusconi R, Terragni B, Franceschetti S & Mantegazza M (2008). Self-limited hyperexcitability: functional effect of a familial hemiplegic migraine mutation of the Nav1.1 (SCN1A) Na⁺ channel. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **28**, 7273–7283.
- Chakrabarti S, Liu N-J & Gintzler AR (2010). Formation of mu-/kappa-opioid receptor heterodimer is sex-dependent and mediates female-specific opioid analgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 20115–20119.
- Charbit AR, Akerman S & Goadsby PJ (2011). Trigemino-cervical complex responses after lesioning dopaminergic A11 nucleus are modified by dopamine and serotonin mechanisms. *PAIN®* **152**, 2365–2376.
- Charbit AR, Akerman S, Holland PR & Goadsby PJ (2009). Neurons of the dopaminergic/caltonin gene-related peptide A11 cell group modulate neuronal firing in the trigemino-cervical complex: an electrophysiological and immunohistochemical study. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **29**, 12532–12541.

- Charles A & Pozo-Rosich P (2019). Targeting calcitonin gene-related peptide: a new era in migraine therapy. *The Lancet* **394**, 1765–1774.
- Charles A & Pradhan AA (2016). Delta-opioid receptors as targets for migraine therapy. *Curr Opin Neurol* **29**, 314–319.
- Charles AC & Baca SM (2013). Cortical spreading depression and migraine. *Nat Rev Neurol* **9**, 637–644.
- Chauvel V, Multon S & Schoenen J (2018). Estrogen-dependent effects of 5-hydroxytryptophan on cortical spreading depression in rat: Modelling the serotonin-ovarian hormone interaction in migraine aura. *Cephalalgia Int J Headache* **38**, 427–436.
- Chavkin C (2013). Dynorphin—Still an Extraordinarily Potent Opioid Peptide. *Mol Pharmacol* **83**, 729–736.
- Chebbi R, Boyer N, Monconduit L, Artola A, Luccarini P & Dallel R (2014). The nucleus raphe magnus OFF-cells are involved in diffuse noxious inhibitory controls. *Exp Neurol* **256**, 39–45.
- Chen P-Y, Yen J-C, Liu T-T, Chen S-T, Wang S-J & Chen S-P (2023). Neuronal NLRP3 inflammasome mediates spreading depolarization-evoked trigeminovascular activation. *Brain* **awad045**.
- Chen Q, Roeder Z, Li M-H, Zhang Y, Ingram SL & Heinricher MM (2017a). Optogenetic Evidence for a Direct Circuit Linking Nociceptive Transmission through the Parabrachial Complex with Pain-Modulating Neurons of the Rostral Ventromedial Medulla (RVM). *eNeuro* **4**, ENEURO.0202-17.2017.
- Chen S-P & Ayata C (2017). Novel Therapeutic Targets Against Spreading Depression. *Headache* **57**, 1340–1358.
- Chen S-P, Qin T, Seidel JL, Zheng Y, Eikermann M, Ferrari MD, van den Maagdenberg AMJM, Moskowitz MA, Ayata C & Eikermann-Haerter K (2017b). Inhibition of the P2X7–PANX1 complex suppresses spreading depolarization and neuroinflammation. *Brain* **140**, 1643–1656.
- Chen, Theriot J, Ayata C & Brennan K (2017c). Animal Models of Migraine Aura. In *Neurobiological Basis of Migraine*, pp. 321–345. John Wiley & Sons, Ltd. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118967225.ch19> [Accessed April 7, 2023].
- Cheng ZF, Fields HL & Heinricher MM (1986). Morphine microinjected into the periaqueductal gray has differential effects on 3 classes of medullary neurons. *Brain Res* **375**, 57–65.
- Chieng B & Christie MJ (1994). Hyperpolarization by opioids acting on mu-receptors of a sub-population of rat periaqueductal gray neurones in vitro. *Br J Pharmacol* **113**, 121–128.

- Chiou L-C, Fan S-H, Guerrini R & Caló G (2002). [Nphe(1)N/OFQ-(1-13)-NH(2)] is a competitive and selective antagonist at nociceptin/orphanin FQ receptors mediating K(+) channel activation in rat periaqueductal gray slices. *Neuropharmacology* **42**, 246–252.
- Choudhuri R, Cui MD L, Yong C, Bowyer S, Klein RM, Welch MD KMA & Berman NEJ (2002). Cortical spreading depression and gene regulation: Relevance to migraine. *Ann Neurol* **51**, 499–506.
- Christensen SL, Petersen S, Kristensen DM, Olesen J & Munro G (2019). Targeting CGRP via receptor antagonism and antibody neutralisation in two distinct rodent models of migraine-like pain. *Cephalalgia Int J Headache* **39**, 1827–1837.
- Chu Sin Chung P, Boehrer A, Stephan A, Matifas A, Scherrer G, Darcq E, Befort K & Kieffer BL (2015). Delta opioid receptors expressed in forebrain GABAergic neurons are responsible for SNC80-induced seizures. *Behav Brain Res* **278**, 429–434.
- Chung DY, Sugimoto K, Fischer P, Böhm M, Takizawa T, Sadeghian H, Morais A, Harriott A, Oka F, Qin T, Henninger N, Yaseen MA, Sakadžić S & Ayata C (2018). Real-time non-invasive in vivo visible light detection of cortical spreading depolarizations in mice. *J Neurosci Methods* **309**, 143–146.
- Colás R, Muñoz P, Temprano R, Gómez C & Pascual J (2004). Chronic daily headache with analgesic overuse: epidemiology and impact on quality of life. *Neurology* **62**, 1338–1342.
- Commons KG, Beck SG, Rudoy C & Van Bockstaele EJ (2001). Anatomical evidence for presynaptic modulation by the delta opioid receptor in the ventrolateral periaqueductal gray of the rat. *J Comp Neurol* **430**, 200–208.
- Connor M & Christie MJ (1998). Modulation of Ca²⁺ channel currents of acutely dissociated rat periaqueductal grey neurons. *J Physiol* **509**, 47–58.
- Coppola G, Pierelli F & Schoenen J (2007). Is The Cerebral Cortex Hyperexcitable or Hyperresponsive in Migraine? *Cephalalgia* **27**, 1427–1439.
- Costa C, Tozzi A, Rainero I, Cupini LM, Calabresi P, Ayata C & Sarchielli P (2013). Cortical spreading depression as a target for anti-migraine agents. *J Headache Pain* **14**, 62.
- Covasala O, Stirn SL, Albrecht S, De Col R & Messlinger K (2012). Calcitonin gene-related peptide receptors in rat trigeminal ganglion do not control spinal trigeminal activity. *J Neurophysiol* **108**, 431–440.
- Croop R, Goadsby PJ, Stock DA, Conway CM, Forshaw M, Stock EG, Coric V & Lipton RB (2019). Efficacy, safety, and tolerability of rimegepant orally disintegrating tablet for the acute treatment of migraine: a randomised, phase 3, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* **394**, 737–745.

Cui Y, Kataoka Y, Inui T, Mochizuki T, Onoe H, Matsumura K, Urade Y, Yamada H & Watanabe Y (2008). Up-regulated neuronal COX-2 expression after cortical spreading depression is involved in non-REM sleep induction in rats. *J Neurosci Res* **86**, 929–936.

Cutrer FM, Sorensen AG, Weisskoff RM, Ostergaard L, Sanchez del Rio M, Lee EJ, Rosen BR & Moskowitz MA (1998). Perfusion-weighted imaging defects during spontaneous migrainous aura. *Ann Neurol* **43**, 25–31.

D

Dahl A, Russell D, Nyberg-Hansen R & Rootwelt K (1990). Cluster headache: transcranial Doppler ultrasound and rCBF studies. *Cephalalgia Int J Headache* **10**, 87–94.

Dahlöf C (2006). Cutaneous allodynia and migraine: Another view. *Curr Pain Headache Rep* **10**, 231–238.

Dahlstroem A & Fuxe K (1964). EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MONOAMINE-CONTAINING NEURONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. I. DEMONSTRATION OF MONOAMINES IN THE CELL BODIES OF BRAIN STEM NEURONS. *Acta Physiol Scand Suppl* **SUPPL 232**:1-55.

Dallel R, Descheemaeker A & Luccarini P (2018). Recurrent administration of the nitric oxide donor, isosorbide dinitrate, induces a persistent cephalic cutaneous hypersensitivity: A model for migraine progression. *Cephalalgia Int J Headache* **38**, 776–785.

Dallel R, Duale C, Luccarini P & Molat J-L (1999). Stimulus-function, wind-up and modulation by diffuse noxious inhibitory controls of responses of convergent neurons of the spinal trigeminal nucleus oralis: Spinal trigeminal nucleus oralis and nociception. *Eur J Neurosci* **11**, 31–40.

Dallel R, Raboisson P, Woda A & Sessle BJ (1990). Properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in trigeminal subnucleus oralis of the rat. *Brain Res* **521**, 95–106.

Dallel R, Ricard O & Raboisson P (2004). Organization of parabrachial projections from the spinal trigeminal nucleus oralis: An anterograde tracing study in the rat. *J Comp Neurol* **470**, 181–191.

Dallel R, Villanueva L, Woda A & Voisin D (2003). Neurobiologie de la douleur trigéminal. *médecine/sciences* **19**, 567–574.

De Col R, Koulchitsky SV & Messlinger KB (2003). Nitric oxide synthase inhibition lowers activity of neurons with meningeal input in the rat spinal trigeminal nucleus. *NeuroReport* **14**, 229.

De Felice M, Ossipov MH, Wang R, Dussor G, Lai J, Meng ID, Chichorro J, Andrews JS, Rakhit S, Maddaford S, Dodick D & Porreca F (2010). Triptan-induced enhancement of neuronal

- nitric oxide synthase in trigeminal ganglion dural afferents underlies increased responsiveness to potential migraine triggers. *Brain J Neurol* **133**, 2475–2488.
- De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P & Casari G (2003). Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* **33**, 192–196.
- De Matteis E, Guglielmetti M, Ornello R, Spuntarelli V, Martelletti P & Sacco S (2020). Targeting CGRP for migraine treatment: mechanisms, antibodies, small molecules, perspectives. *Expert Rev Neurother* **20**, 627–641.
- Del Río J, Naranjo JR, Yang HY & Costa E (1983). Substance P-induced release of Met5-enkephalin from striatal and periaqueductal gray slices. *Brain Res* **279**, 121–126.
- Delépine L & Aubineau P (1997). Plasma protein extravasation induced in the rat dura mater by stimulation of the parasympathetic sphenopalatine ganglion. *Exp Neurol* **147**, 389–400.
- Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F & Geraud G (2007). Hypothalamic Activation in Spontaneous Migraine Attacks. *Headache J Head Face Pain* **47**, 1418–1426.
- Derry S & Moore RA (2013). Paracetamol (acetaminophen) with or without an antiemetic for acute migraine headaches in adults. *Cochrane Database Syst Rev*; DOI: 10.1002/14651858.CD008040.pub3.
- Descheemaeker A, Poras H, Wurm M, Luccarini P, Ouimet T & Dallel R (2022). Dual enkephalinase inhibitor PL37 as a potential novel treatment of migraine: evidence from a rat model. *Brain J Neurol* awac139.
- Di Vincenzo A, Beghetto M, Vettor R, Tana C, Rossato M, Bond DS & Pagano C (2020). Effects of Surgical and Non-surgical Weight Loss on Migraine Headache: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Obes Surg* **30**, 2173–2185.
- Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, Ferrari MD, Herzog J, van den Maagdenberg AMJM, Pusch M & Strom TM (2005). Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet Lond Engl* **366**, 371–377.
- Dickenson AH, Oliveras JL & Besson JM (1979). Role of the nucleus raphe magnus in opiate analgesia as studied by the microinjection technique in the rat. *Brain Res* **170**, 95–111.
- Dickenson AH, Rivot JP, Chaouch A, Besson JM & Le Bars D (1981). Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in the rat with or without pCPA pretreatment. *Brain Res* **216**, 313–321.
- Diener H, Dodick D, Aurora S, Turkel C, DeGryse R, Lipton R, Silberstein S & Brin M (2010). OnabotulinumtoxinA for treatment of chronic migraine: Results from the double-blind, randomized, placebo-controlled phase of the PREEMPT 2 trial. *Cephalalgia* **30**, 804–814.

- Diener H-C (2003). Rpr100893, A Substance-P Antagonist, is Not Effective in the Treatment of Migraine Attacks. *Cephalalgia* **23**, 183–185.
- Diener H-C, Dodick D, Evers S, Holle D, Jensen RH, Lipton RB, Porreca F, Silberstein S & Schwedt T (2019). Pathophysiology, prevention, and treatment of medication overuse headache. *Lancet Neurol* **18**, 891–902.
- Diener H-C, Holle D, Solbach K & Gaul C (2016). Medication-overuse headache: risk factors, pathophysiology and management. *Nat Rev Neurol* **12**, 575–583.
- Diener H-C, Kronfeld K, Boewing G, Lungenhausen M, Maier C, Molsberger A, Tegenthoff M, Trampisch H-J, Zenz M, Meinert R, & GERAC Migraine Study Group (2006). Efficacy of acupuncture for the prophylaxis of migraine: a multicentre randomised controlled clinical trial. *Lancet Neurol* **5**, 310–316.
- Do TP, Hvedstrup J & Schytz HW (2018). Botulinum toxin: A review of the mode of action in migraine. *Acta Neurol Scand* **137**, 442–451.
- Dodick DW, Goadsby PJ, Silberstein SD, Lipton RB, Olesen J, Ashina M, Wilks K, Kudrow D, Kroll R, Kohrman B, Bargar R, Hirman J, Smith J, & ALD403 study investigators (2014a). Safety and efficacy of ALD403, an antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of frequent episodic migraine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, exploratory phase 2 trial. *Lancet Neurol* **13**, 1100–1107.
- Dodick DW, Goadsby PJ, Silberstein SD, Lipton RB, Olesen J, Ashina M, Wilks K, Kudrow D, Kroll R, Kohrman B, Bargar R, Hirman J, Smith J, & ALD403 study investigators (2014b). Safety and efficacy of ALD403, an antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of frequent episodic migraine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, exploratory phase 2 trial. *Lancet Neurol* **13**, 1100–1107.
- Dodick DW, Goadsby PJ, Spierings ELH, Scherer JC, Sweeney SP & Grayzel DS (2014c). Safety and efficacy of LY2951742, a monoclonal antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of migraine: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Neurol* **13**, 885–892.
- Domínguez C, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez-Osorio X, López A, Campos F, Martínez F, Castillo J & Leira R (2018). Role of adipocytokines in the pathophysiology of migraine: A cross-sectional study. *Cephalalgia Int J Headache* **38**, 904–911.
- Drake CT, De Oliveira AX, Harris JA, Connor DM, Winkler CW & Aicher SA (2007). Kappa opioid receptors in the rostral ventromedial medulla of male and female rats. *J Comp Neurol* **500**, 465–476.
- Dripps IJ, Bertels Z, Moye LS, Tipton AF, Siegersma K, Baca SM, Kieffer BL & Pradhan AA (2020). Forebrain delta opioid receptors regulate the response of delta agonist in models of migraine and opioid-induced hyperalgesia. *Sci Rep*; DOI: 10.1038/s41598-020-74605-9.

- Dripps IJ, Boyer BT, Neubig RR, Rice KC, Traynor JR & Jutkiewicz EM (2018). Role of signalling molecules in behaviours mediated by the δ opioid receptor agonist SNC80. *Br J Pharmacol* **175**, 891–901.
- Duarte H, Teixeira AL, Rocha NP & Domingues RB (2015). Increased interictal serum levels of CXCL8/IL-8 and CCL3/MIP-1 α in migraine. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* **36**, 203–208.
- Dubner R (1967). Interaction of peripheral and central input in the main sensory trigeminal nucleus of the cat. *Exp Neurol* **17**, 186–202.
- Ducros A (2021). Genetics of migraine. *Rev Neurol (Paris)* **177**, 801–808.
- Ducros A, Demarquay G & Donnet E (2022). Recommandations pour le diagnostic et la prise en charge de la migraine chez l'adulte : traitement préventif. *Presse Médicale Form* **3**, 412–420.
- 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 (2021). Revised guidelines of the French headache society for the diagnosis and management of migraine in adults. Part 2: Pharmacological treatment. *Rev Neurol (Paris)* **177**, 734–752.
- Duggan AW (2000). Neuropeptide spread in the brain and spinal cord. In *Progress in Brain Research*, Volume Transmission Revisited, pp. 369–380. Elsevier. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612300250267> [Accessed April 28, 2023].

E

- Eberhardt M, Neeb L, Vogel E-M, Tiegs G, Reuter U, Messlinger K & Fischer MJM (2009). Glyceroltrinitrate facilitates stimulated CGRP release but not gene expression of CGRP or its receptor components in rat trigeminal ganglia. *Neuropeptides* **43**, 483–489.
- 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 (2009). Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in headache-related pain. *Ann Neurol* **65**, 184–193.
- Edvinsson JCA et al. (2020). The fifth cranial nerve in headaches. *J Headache Pain* **21**, 1–17.
- Edvinsson L (2004). Blockade of CGRP receptors in the intracranial vasculature: a new target in the treatment of headache. *Cephalalgia Int J Headache* **24**, 611–622.
- Edvinsson L, Gulbenkian S, Barroso CP, Cunha e Sá M, Polak JM, Mortensen A, Jørgensen L & Jansen-Olesen I (1998). Innervation of the human middle meningeal artery: immunohistochemistry, ultrastructure, and role of endothelium for vasomotility. *Peptides* **19**, 1213–1225.

- Edvinsson L, Haanes KA & Warfvinge K (2019). Does inflammation have a role in migraine? *Nat Rev Neurol* **15**, 483–490.
- Edvinsson L, Haanes KA, Warfvinge K & Krause DN (2018). CGRP as the target of new migraine therapies — successful translation from bench to clinic. *Nat Rev Neurol* **14**, 338–350.
- Edvinsson L & Ho TW (2010). CGRP receptor antagonism and migraine. *Neurother J Am Soc Exp Neurother* **7**, 164–175.
- Edvinsson L & Warfvinge K (2019). Recognizing the role of CGRP and CGRP receptors in migraine and its treatment. *Cephalalgia* **39**, 366–373.
- Eftekhari S & Edvinsson L (2010). Possible sites of action of the new calcitonin gene-related peptide receptor antagonists. *Ther Adv Neurol Disord* **3**, 369–378.
- Eftekhari S & Edvinsson L (2011). Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its receptor components in human and rat spinal trigeminal nucleus and spinal cord at C1-level. *BMC Neurosci* **12**, 112.
- Eftekhari S, Salvatore CA, Calamari A, Kane SA, Tajti J & Edvinsson L (2010). Differential distribution of calcitonin gene-related peptide and its receptor components in the human trigeminal ganglion. *Neuroscience* **169**, 683–696.
- Eikermann-Haerter K, Lee JH, Yalcin N, Yu ES, Daneshmand A, Wei Y, Zheng Y, Can A, Sengul B, Ferrari MD, van den Maagdenberg AMJM & Ayata C (2015). Migraine Prophylaxis, Ischemic Depolarizations, and Stroke Outcomes in Mice. *Stroke* **46**, 229–236.
- Eippert F, Bingel U, Schoell ED, Yacubian J, Klinger R, Lorenz J & Büchel C (2009). Activation of the opioidergic descending pain control system underlies placebo analgesia. *Neuron* **63**, 533–543.
- Eippert F & Tracey I (2014). Pain and the PAG: learning from painful mistakes. *Nat Neurosci* **17**, 1438–1439.
- Ekbom K (1968). Nitroglycerin as a provocative agent in cluster headache. *Arch Neurol* **19**, 487–493.
- Eken C (2015). Critical reappraisal of intravenous metoclopramide in migraine attack: a systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med* **33**, 331–337.
- Empl M, Sostak P, Riedel M, Schwarz M, Müller N, Förderreuther S & Straube A (2003). Decreased sTNF-R1 in migraine patients? *Cephalalgia Int J Headache* **23**, 55–58.
- Enger R, Tang W, Vindedal GF, Jensen V, Johannes Helm P, Sprengel R, Looger LL & Nagelhus EA (2015). Dynamics of Ionic Shifts in Cortical Spreading Depression. *Cereb Cortex* **25**, 4469–4476.

Erdener SE & Dalkara T (2014). Modelling headache and migraine and its pharmacological manipulation. *Br J Pharmacol* **171**, 4575–4594.

Ernstsen C, Christensen SL, Olesen J & Kristensen DM (2021). No additive effect of combining sumatriptan and olcegepant in the GTN mouse model of migraine. *Cephalalgia* **41**, 329–339.

Ernstsen C, Christensen SL, Rasmussen RH, Nielsen BS, Jansen-Olesen I, Olesen J & Kristensen DM (2022). The PACAP pathway is independent of CGRP in mouse models of migraine: possible new drug target? *Brain* **145**, 2450–2460.

Ertsey C, Hantos M, Bozsik G & Tekes K (2005). Plasma nociceptin levels are reduced in migraine without aura. *Cephalalgia Int J Headache* **25**, 261–266.

F

Falktoft B, Georg B & Fahrenkrug J (2009). Signaling pathways in PACAP regulation of VIP gene expression in human neuroblastoma cells. *Neuropeptides* **43**, 387–396.

Fang FG, Haws CM, Drasner K, Williamson A & Fields HL (1989). Opioid peptides (DAGO-enkephalin, dynorphin A(1-13), BAM 22P) microinjected into the rat brainstem: comparison of their antinociceptive effect and their effect on neuronal firing in the rostral ventromedial medulla. *Brain Res* **501**, 116–128.

Farkas E, Obrenovitch TP, Institóris Á & Bari F (2011). Effects of early aging and cerebral hypoperfusion on spreading depression in rats. *Neurobiol Aging* **32**, 1707–1715.

Farkas S, Bölcskei K, Markovics A, Varga A, Kis-Varga Á, Kormos V, Gaszner B, Horváth C, Tuka B, Tajti J & Helyes Z (2016). Utility of different outcome measures for the nitroglycerin model of migraine in mice. *J Pharmacol Toxicol Methods* **77**, 33–44.

Faubion SS, Batur P & Calhoun AH (2018). Migraine Throughout the Female Reproductive Life Cycle. *Mayo Clin Proc* **93**, 639–645.

Feil K & Herbert H (1995). Topographic organization of spinal and trigeminal somatosensory pathways to the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei. *J Comp Neurol* **353**, 506–528.

Ferrari M, Goadsby P, Roon K & Lipton R (2002). Triptans (Serotonin, 5-HT_{1B/1D} Agonists) in Migraine: Detailed Results and Methods of A Meta-Analysis of 53 Trials. *Cephalalgia* **22**, 633–658.

Ferrari MD, Goadsby PJ, Burstein R, Kurth T, Ayata C, Charles A, Ashina M, van den Maagdenberg AMJM & Dodick DW (2022). Migraine. *Nat Rev Dis Primer* **8**, 2.

- Ferrari MD, Klever RR, Terwindt GM, Ayata C & van den Maagdenberg AMJM (2015). Migraine pathophysiology: lessons from mouse models and human genetics. *Lancet Neurol* **14**, 65–80.
- Ferrari MD, Odink J, Frölich M, Portielje JE & Bruyn GW (1990). Methionine-enkephalin in migraine and tension headache. Differences between classic migraine, common migraine and tension headache, and changes during attacks. *Headache* **30**, 160–164.
- Fiacco MD & Cuello AC (1980). Substance P- and enkephalin-containing neurones in the rat trigeminal system. *Neuroscience* **5**, 803–815.
- Fidan I, Yüksel S, Ymir T, Irkeç C & Aksakal FN (2006). The importance of cytokines, chemokines and nitric oxide in pathophysiology of migraine. *J Neuroimmunol* **171**, 184–188.
- Fields HL (1984). Neurophysiology of pain and pain modulation. *Am J Med* **77**, 2–8.
- Fields HL, Malick A & Burstein R (1995). Dorsal horn projection targets of ON and OFF cells in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* **74**, 1742–1759.
- Finley JC, Lindström P & Petrusz P (1981). Immunocytochemical localization of beta-endorphin-containing neurons in the rat brain. *Neuroendocrinology* **33**, 28–42.
- Finnegan TF, Chen S-R & Pan H-L (2005). Effect of the μ opioid on excitatory and inhibitory synaptic inputs to periaqueductal gray-projecting neurons in the amygdala. *J Pharmacol Exp Ther* **312**, 441–448.
- Fischer MJM, Koulchitsky S & Messlinger K (2005). The nonpeptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN4096BS lowers the activity of neurons with meningeal input in the rat spinal trigeminal nucleus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **25**, 5877–5883.
- Fontaine D, Almairac F, Santucci S, Fernandez C, Dallel R, Pallud J & Lanteri-Minet M (2018). Dural and pial pain-sensitive structures in humans: new inputs from awake craniotomies. *Brain* **141**, 1040–1048.
- Ford ES, Li C, Pearson WS, Zhao G, Strine TW & Mokdad AH (2008). Body mass index and headaches: findings from a national sample of US adults. *Cephalalgia Int J Headache* **28**, 1270–1276.
- Fossler MJ, Schmith V, Greene SA, Lohmer L, Kramer MS, Arscott K, James IE & Demitrack MA (2020). A Phase I, Randomized, Single-Blind, Placebo-Controlled, Single Ascending Dose Study of the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Subcutaneous and Oral TRV250, a G Protein-Selective Delta Receptor Agonist, in Healthy Subjects. *CNS Drugs* **34**, 853–865.
- Fournie-Zaluski MC, Chaillet P, Bouboutou R, Coulaud A, Cherot P, Waksman G, Costentin J & Roques BP (1984). Analgesic effects of ketatorphan, a new highly potent inhibitor of multiple enkephalin degrading enzymes. *Eur J Pharmacol* **102**, 525–528.

- Fournie-Zaluski MC, Coric P, Turcaud S, Lucas E, Noble F, Maldonado R & Roques BP (1992). Mixed-inhibitor-prodrug as a new approach toward systemically active inhibitors of enkephalin-degrading enzymes. *J Med Chem* **35**, 2473–2481.
- François A, Low SA, Sypek EI, Christensen AJ, Sotoudeh C, Beier KT, Ramakrishnan C, Ritola KD, Sharif-Naeini R, Deisseroth K, Delp SL, Malenka RC, Luo L, Hantman AW & Scherrer G (2017). A Brainstem-Spinal Cord Inhibitory Circuit for Mechanical Pain Modulation by GABA and Enkephalins. *Neuron* **93**, 822-839.e6.
- Frölich N, Dees C, Paetz C, Ren X, Lohse MJ, Nikolaev VO & Zenk MH (2011). Distinct pharmacological properties of morphine metabolites at G(i)-protein and β -arrestin signaling pathways activated by the human μ -opioid receptor. *Biochem Pharmacol* **81**, 1248–1254.

G

- Gauriau C & Bernard J-F (2002). Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Exp Physiol* **87**, 251–258.
- Gendron L, Cahill CM, von Zastrow M, Schiller PW & Pineyro G (2016). Molecular Pharmacology of δ -Opioid Receptors ed. Macdonald CJ. *Pharmacol Rev* **68**, 631–700.
- Georg B & Fahrenkrug J (2000). Pituitary adenylyl cyclase-activating peptide is an activator of vasoactive intestinal polypeptide gene transcription in human neuroblastoma cells. *Brain Res Mol Brain Res* **79**, 67–76.
- Ghaemi A, Alizadeh L, Babaei S, Jafarian M, Khaleghi Ghadiri M, Meuth SG, Kovac S & Gorji A (2018). Astrocyte-mediated inflammation in cortical spreading depression. *Cephalalgia* **38**, 626–638.
- Gibson AM, Biggins JA, Lauffart B, Mantle D & McDermott JR (1991). Human brain leucyl aminopeptidase: isolation, characterization and specificity against some neuropeptides. *Neuropeptides* **19**, 163–168.
- Gilpin NW, Roberto M, Koob GF & Schweitzer P (2014). Kappa opioid receptor activation decreases inhibitory transmission and antagonizes alcohol effects in rat central amygdala. *Neuropharmacology* **77**, 294–302.
- Goadsby PJ & Duckworth JW (1989). Low frequency stimulation of the locus coeruleus reduces regional cerebral blood flow in the spinalized cat. *Brain Res* **476**, 71–77.
- Goadsby PJ & Edvinsson L (1993). The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol* **33**, 48–56.

- Goadsby PJ & Edvinsson L (1994). Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attacks therapies. *Brain J Neurol* **117 (Pt 3)**, 427–434.
- Goadsby PJ, Edvinsson L & Ekman R (1988). Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol* **23**, 193–196.
- Goadsby PJ, Edvinsson L & Ekman R (1990). Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* **28**, 183–187.
- Goadsby PJ, Holland PR, Martins-Oliveira M, Hoffmann J, Schankin C & Akerman S (2017). Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing. *Physiol Rev* **97**, 553–622.
- Goadsby PJ, Lambert GA & Lance JW (1982). Differential effects on the internal and external carotid circulation of the monkey evoked by locus coeruleus stimulation. *Brain Res* **249**, 247–254.
- Goadsby PJ, Lambert GA & Lance JW (1983). Effects of locus coeruleus stimulation on carotid vascular resistance in the cat. *Brain Res* **278**, 175–183.
- Goadsby PJ & Sprenger T (2010). Current practice and future directions in the prevention and acute management of migraine. *Lancet Neurol* **9**, 285–298.
- Goadsby PJ, Wietecha LA, Dennehy EB, Kuca B, Case MG, Aurora SK & Gaul C (2019). Phase 3 randomized, placebo-controlled, double-blind study of lasmiditan for acute treatment of migraine. *Brain* **142**, 1894–1904.
- Goadsby PJ & Zagami AS (1991). Stimulation of the superior sagittal sinus increases metabolic activity and blood flow in certain regions of the brainstem and upper cervical spinal cord of the cat. *Brain J Neurol* **114 (Pt 2)**, 1001–1011.
- Gobel S (1975). Golgi studies of the substantia gelatinosa neurons in the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol* **162**, 397–415.
- Gobel S (1978). Golgi studies of the neurons in layer II of the dorsal horn of the medulla (trigeminal nucleus caudalis). *J Comp Neurol* **180**, 395–413.
- Gobel S & Purvis MB (1972). Anatomical studies of the organization of the spinal V nucleus: The deep bundles and the spinal V tract. *Brain Res* **48**, 27–44.
- Goldstein A, Tachibana S, Lowney LI, Hunkapiller M & Hood L (1979). Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* **76**, 6666–6670.
- Goldstein D, Offen W, Klein E, Phebus L, Hipskind P, Johnson K & Ryan R (2001). Lanepitant, an NK-1 Antagonist, in Migraine Prevention. *Cephalalgia* **21**, 102–106.

- Goldstein D, Wang O, Saper J, Stoltz R, Silberstein S & Mathew N (1997). Ineffectiveness of Neurokinin-1 Antagonist in Acute Migraine: A Crossover Study. *Cephalalgia* **17**, 785–790.
- Golikhatir I, Cheraghmakani H, Bozorgi F, Jahanian F, Sazgar M & Montazer SH (2019). The Efficacy and Safety of Prochlorperazine in Patients With Acute Migraine: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Headache J Head Face Pain* **59**, 682–700.
- Gomes I, Sierra S, Lueptow L, Gupta A, Gouty S, Margolis EB, Cox BM & Devi LA (2020). Biased signaling by endogenous opioid peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**, 11820–11828.
- Gomes RN, Castro-Faria-Neto HC, Bozza PT, Soares MBP, Shoemaker CB, David JR & Bozza MT (2005). Calcitonin gene-related peptide inhibits local acute inflammation and protects mice against lethal endotoxemia. *Shock Augusta Ga* **24**, 590–594.
- González-Rodríguez S, Pevida M, Roques BP, Fournié-Zaluski M-C, Hidalgo A, Menéndez L & Baamonde A (2009). Involvement of enkephalins in the inhibition of osteosarcoma-induced thermal hyperalgesia evoked by the blockade of peripheral P2X3 receptors. *Neurosci Lett* **465**, 285–289.
- González-Rodríguez S, Poras H, Menéndez L, Lastra A, Ouimet T, Fournié-Zaluski M-C, Roques BP & Baamonde A (2017). Synergistic combinations of the dual enkephalinase inhibitor PL265 given orally with various analgesic compounds acting on different targets, in a murine model of cancer-induced bone pain. *Scand J Pain* **14**, 25–38.
- Goslin RE, Gray RN, McCrory DC, Penzien D, Rains J & Hasselblad V (1999). *Behavioral and Physical Treatments for Migraine Headache*. Agency for Health Care Policy and Research (US), Rockville (MD). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45267/> [Accessed April 14, 2023].
- Graham SH, Sharp FR & Dillon W (1988). Intraoral sensation in patients with brainstem lesions: Role of the rostral spinal trigeminal nuclei in pons. *Neurology* **38**, 1529–1529.
- Gray TS, Cassell MD & Kiss JZ (1984). Distribution of pro-opiomelanocortin-derived peptides and enkephalins in the rat central nucleus of the amygdala. *Brain Res* **306**, 354–358.
- Greco R, Demartini C, Zanaboni AM, Francavilla M, Reggiani A, Realini N, Scarpelli R, Piomelli D & Tassorelli C (2022). Potentiation of endocannabinoids and other lipid amides prevents hyperalgesia and inflammation in a pre-clinical model of migraine. *J Headache Pain* **23**, 79.
- Gross EC, Lisicki M, Fischer D, Sándor PS & Schoenen J (2019). The metabolic face of migraine - from pathophysiology to treatment. *Nat Rev Neurol* **15**, 627–643.
- Gu Z-H, Wang B, Kou Z-Z, Bai Y, Chen T, Dong Y-L, Li H & Li Y-Q (2017). Endomorphins: Promising Endogenous Opioid Peptides for the Development of Novel Analgesics. *Neurosignals* **25**, 98–116.

- Gulati A, Chandishwar N, Shanker K, Srimal RC, Dhawan KN & Bhargava KP (1985). Effect of alcohols on the permeability of blood-brain barrier. *Pharmacol Res Commun* **17**, 85–93.
- Guo S, Vollesen ALH, Hansen YBL, Frandsen E, Andersen MR, Amin FM, Fahrenkrug J, Olesen J & Ashina M (2017). Part II: Biochemical changes after pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38 infusion in migraine patients. *Cephalalgia Int J Headache* **37**, 136–147.
- Gursoy-Ozdemir Y, Qiu J, Matsuoka N, Bolay H, Berman D, Jin H, Wang X, Rosenberg GA, Lo EH & Moskowitz MA (2004). Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. *J Clin Invest* **113**, 1447–1455.
- Gutstein HB, Mansour A, Watson SJ, Akil H & Fields HL (1998). Mu and kappa opioid receptors in periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Neuroreport* **9**, 1777–1781.
- Guy N, Chalus M, Dalle R & Voisin DL (2005). Both oral and caudal parts of the spinal trigeminal nucleus project to the somatosensory thalamus in the rat: Trigemino-thalamic projections. *Eur J Neurosci* **21**, 741–754.

H

- Haber S & Elde R (1982a). The distribution of enkephalin immunoreactive fibers and terminals in the monkey central nervous system: an immunohistochemical study. *Neuroscience* **7**, 1049–1095.
- Haber S & Elde R (1982b). The distribution of enkephalin immunoreactive neuronal cell bodies in the monkey brain: preliminary observations. *Neurosci Lett* **32**, 247–252.
- Hadjikhani N, Sanchez del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong KK, Cutrer FM, Rosen BR, Tootell RBH, Sorensen AG & Moskowitz MA (2001). Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 4687–4692.
- Han D (2019). Association of Serum Levels of Calcitonin Gene-related Peptide and Cytokines during Migraine Attacks. *Ann Indian Acad Neurol* **22**, 277–281.
- Han L, Liu Y, Xiong H & Hong P (2019). CGRP monoclonal antibody for preventive treatment of chronic migraine: An update of meta-analysis. *Brain Behav* **9**, e01215.
- Hansen JM, Baca SM, VanValkenburgh P & Charles A (2013). Distinctive anatomical and physiological features of migraine aura revealed by 18 years of recording. *Brain* **136**, 3589–3595.
- Haque T, Akhter F, Kato T, Sato F, Takeda R, Higashiyama K, Moritani M, Bae Y-C, Sessle BJ & Yoshida A (2012). Somatotopic direct projections from orofacial areas of secondary

- somatosensory cortex to trigeminal sensory nuclear complex in rats. *Neuroscience* **219**, 214–233.
- Harmar AJ, Fahrenkrug J, Gozes I, Laburthe M, May V, Pisegna JR, Vaudry D, Vaudry H, Waschek JA & Said SI (2012). Pharmacology and functions of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: IUPHAR Review 1. *Br J Pharmacol* **166**, 4–17.
- Harriott AM, Chung DY, Uner A, Bozdayi RO, Morais A, Takizawa T, Qin T & Ayata C (2021). Optogenetic Spreading Depression Elicits Trigeminal Pain and Anxiety Behavior. *Ann Neurol* **89**, 99–110.
- Harriott AM, Takizawa T, Chung DY & Chen S-P (2019). Spreading depression as a preclinical model of migraine. *J Headache Pain* **20**, 1–12.
- Hartvig P, Någren K, Lundberg PO, Muhr C, Terenius L, Lundqvist H, Lärkfors L & Långström B (1986). Kinetics of four ¹¹C-labelled enkephalin peptides in the brain, pituitary and plasma of rhesus monkeys. *Regul Pept* **16**, 1–13.
- Hayashi H (1985). Morphology of central terminations of intra-axonally stained, large, myelinated primary afferent fibers from facial skin in the rat. *J Comp Neurol* **237**, 195–215.
- Hayashi H, Sumino R & Sessle BJ (1984). Functional organization of trigeminal subnucleus interpolaris: nociceptive and innocuous afferent inputs, projections to thalamus, cerebellum, and spinal cord, and descending modulation from periaqueductal gray. *J Neurophysiol* **51**, 890–905.
- Hayat H, Regev N, Matosevich N, Sales A, Paredes-Rodriguez E, Krom AJ, Bergman L, Li Y, Lavigne M, Kremer EJ, Yizhar O, Pickering AE & Nir Y (2020). Locus coeruleus norepinephrine activity mediates sensory-evoked awakenings from sleep. *Sci Adv* **6**, eaaz4232.
- Hayhurst CJ & Durieux ME (2016). Differential Opioid Tolerance and Opioid-induced Hyperalgesia: A Clinical Reality. *Anesthesiology* **124**, 483–488.
- He Q, Lin X, Wang F, Xu J, Ren Z, Chen W & Xing X (2014). Associations of a polymorphism in the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM1) gene and ICAM1 serum levels with migraine in a Chinese Han population. *J Neurol Sci* **345**, 148–153.
- Heinricher MM, Barbaro NM & Fields HL (1989). Putative nociceptive modulating neurons in the rostral ventromedial medulla of the rat: firing of on- and off-cells is related to nociceptive responsiveness. *Somatosens Mot Res* **6**, 427–439.
- Heinricher MM, Cheng ZF & Fields HL (1987). Evidence for two classes of nociceptive modulating neurons in the periaqueductal gray. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **7**, 271–278.

- Heinricher MM & Ingram SL (2008). The Brainstem and Nociceptive Modulation. In *Pain*, pp. 593–626. Elsevier Inc. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=84882489794&partnerID=8YFLogxK> [Accessed May 10, 2023].
- Heinricher MM, Morgan MM & Fields HL (1992). Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* **48**, 533–543.
- Heinricher MM, Morgan MM, Tortorici V & Fields HL (1994). Disinhibition of off-cells and antinociception produced by an opioid action within the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* **63**, 279–288.
- Heinricher MM, Schouten JC & Jobst EE (2001). Activation of brainstem N-methyl-d-aspartate receptors is required for the analgesic actions of morphine given systemically. *Pain* **92**, 129–138.
- Helmstetter FJ, Bellgowan PS & Tershner SA (1993). Inhibition of the tail flick reflex following microinjection of morphine into the amygdala. *Neuroreport* **4**, 471–474.
- Helmstetter FJ, Tershner SA, Poore LH & Bellgowan PS (1998). Antinociception following opioid stimulation of the basolateral amygdala is expressed through the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Brain Res* **779**, 104–118.
- Henry MS, Gendron L, Tremblay M-E & Drolet G (2017). Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience. *Neural Plast* **2017**, e1546125.
- Henssen DJHA, Kurt E, Kozicz T, van Dongen R, Bartels RHMA & van Cappellen van Walsum A-M (2016). New Insights in Trigeminal Anatomy: A Double Orofacial Tract for Nociceptive Input. *Front Neuroanat*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2016.00053> [Accessed February 22, 2023].
- Hepp Z, Bloudek LM & Varon SF (2014). Systematic review of migraine prophylaxis adherence and persistence. *J Manag Care Pharm JMCP* **20**, 22–33.
- Hepp Z, Dodick DW, Varon SF, Gillard P, Hansen RN & Devine EB (2015). Adherence to oral migraine-preventive medications among patients with chronic migraine. *Cephalgia Int J Headache* **35**, 478–488.
- Herd CP, Tomlinson CL, Rick C, Scotton WJ, Edwards J, Ives N, Clarke CE & Sinclair A (2018). Botulinum toxins for the prevention of migraine in adults. *Cochrane Database Syst Rev*; DOI: 10.1002/14651858.CD011616.pub2.
- Hernanz A, Medina S, de Miguel E & Martín-Mola E (2003). Effect of calcitonin gene-related peptide, neuropeptide Y, substance P, and vasoactive intestinal peptide on interleukin-1beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production by peripheral whole

- blood cells from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Regul Pept* **115**, 19–24.
- Hersh LB (1985). Characterization of membrane-bound aminopeptidases from rat brain: identification of the enkephalin-degrading aminopeptidase. *J Neurochem* **44**, 1427–1435.
- van Hilten JJ, Ferrari MD, Van der Meer JW, Gijsman HJ & Looij BJ (1991). Plasma interleukin-1, tumour necrosis factor and hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses during migraine attacks. *Cephalalgia Int J Headache* **11**, 65–67.
- Hipolito Rodrigues MA, Maitrot-Mantelet L, Plu-Bureau G & Gompel A (2018). Migraine, hormones and the menopausal transition. *Climacteric J Int Menopause Soc* **21**, 256–266.
- Ho TW, Ferrari MD, Dodick DW, Galet V, Kost J, Fan X, Leibensperger H, Froman S, Assaid C, Lines C, Koppen H & Winner PK (2008). Efficacy and tolerability of MK-0974 (telcagepant), a new oral antagonist of calcitonin gene-related peptide receptor, compared with zolmitriptan for acute migraine: a randomised, placebo-controlled, parallel-treatment trial. *Lancet Lond Engl* **372**, 2115–2123.
- Hoffmann J, Baca SM & Akerman S (2019). Neurovascular mechanisms of migraine and cluster headache. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* **39**, 573–594.
- Hoffmann U, Dileköz E, Kudo C & Ayata C (2010). Gabapentin Suppresses Cortical Spreading Depression Susceptibility. *J Cereb Blood Flow Metab* **30**, 1588–1592.
- Hökfelt T, Arvidsson U, Ceccatelli S, Cortés R, Cullheim S, Dagerlind A, Johnson H, Orazzo C, Piehl F & Pieribone V (1992). Calcitonin gene-related peptide in the brain, spinal cord, and some peripheral systems. *Ann N Y Acad Sci* **657**, 119–134.
- Hökfelt T, Ljungdahl A, TERENIUS L, Elde R & Nilsson G (n.d.). Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly related to pain and analgesia: Enkephalin and substance P.
- Holden JE, Jeong Y & Forrest JM (2005). The endogenous opioid system and clinical pain management. *AACN Clin Issues* **16**, 291–301.
- Holland P & Goadsby PJ (2007). The hypothalamic orexinergic system: pain and primary headaches. *Headache* **47**, 951–962.
- Holland PR, Akerman S & Goadsby PJ (2006). Modulation of nociceptive dural input to the trigeminal nucleus caudalis via activation of the orexin 1 receptor in the rat. *Eur J Neurosci* **24**, 2825–2833.

- Hong EJ, Rice KC, Calderon S, Woods JH & Traynor JR (1998). Convulsive Behavior of Nonpeptide δ -Opioid Ligands: Comparison of SNC80 and BW373U86 in Mice. *Analgesia* **3**, 269–276.
- van Hoogstraten WS & MaassenVanDenBrink A (2019). The need for new acutely acting antimigraine drugs: moving safely outside acute medication overuse. *J Headache Pain* **20**, 1–7.
- Hoskin KL, Bulmer DC & Goadsby PJ (1999). Fos expression in the trigeminocervical complex of the cat after stimulation of the superior sagittal sinus is reduced by L-NAME. *Neurosci Lett* **266**, 173–176.
- Hoskin KL, Bulmer DC, Lasalandra M, Jonkman A & Goadsby PJ (2001). Fos expression in the midbrain periaqueductal grey after trigeminovascular stimulation. *J Anat* **198**, 29–35.
- Hosobuchi Y, Adams JE & Linchitz R (1977). Pain relief by electrical stimulation of the central gray matter in humans and its reversal by naloxone. *Science* **197**, 183–186.
- Hou M, Kanje M, Longmore J, Tajti J, Uddman R & Edvinsson L (2001). 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} receptors in the human trigeminal ganglion: co-localization with calcitonin gene-related peptide, substance P and nitric oxide synthase. *Brain Res* **909**, 112–120.
- Hu JW (1990). Response properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in the rat's trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) related to cutaneous and deep craniofacial afferent stimulation and modulation by diffuse noxious inhibitory controls. *Pain* **41**, 331–345.
- Hughes DI, Scott DT, Todd AJ & Riddell JS (1977). Lack of Evidence for Sprouting of A δ Afferents into the Superficial Laminas of the Spinal Cord Dorsal Horn after Nerve Section.
- Hughes J, Kosterlitz HW & Smith TW (1997). THE DISTRIBUTION OF METHIONINE-ENKEPHALIN AND LEUCINE-ENKEPHALIN IN THE BRAIN AND PERIPHERAL TISSUES. *Br J Pharmacol* **120**, 428–436.
- Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA & Morris HR (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* **258**, 577–580.
- Hui K-S, Saito M & Hui M (1998). A Novel Neuron-specific Aminopeptidase in Rat Brain Synaptosomes: ITS IDENTIFICATION, PURIFICATION, AND CHARACTERIZATION *. *J Biol Chem* **273**, 31053–31060.
- Hurley RW & Hammond DL (2001). Contribution of endogenous enkephalins to the enhanced analgesic effects of supraspinal mu opioid receptor agonists after inflammatory injury. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**, 2536–2545.

I

- Ibata Y, Kawakami F, Okamura H, Obata-Tsuto HL, Morimoto N & Zimmerman EA (1985). Light and electron microscopic immunocytochemistry of beta-endorphin/beta-LPH-like immunoreactive neurons in the arcuate nucleus and surrounding areas of the rat hypothalamus. *Brain Res* **341**, 233–242.
- IHS (2013). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia Int J Headache* **33**, 629–808.
- Inaoka Y & Tamaoki H (1987). Purification and characterization of enkephalinase B from rat brain membrane. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj* **925**, 27–35.
- Ingram SL, Fossum EN & Morgan MM (2007). Behavioral and electrophysiological evidence for opioid tolerance in adolescent rats. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **32**, 600–606.
- Inturrisi CE (2002). Clinical Pharmacology of Opioids for Pain. *Clin J Pain* **18**, S3.
- Iyengar S, Johnson KW, Ossipov MH & Aurora SK (2019). CGRP and the Trigeminal System in Migraine. *Headache J Head Face Pain* **59**, 659–681.
- Iyengar S, Ossipov MH & Johnson KW (2017). The role of calcitonin gene-related peptide in peripheral and central pain mechanisms including migraine. *PAIN* **158**, 543.

J

- Jackson JL, Cogbill E, Santana-Davila R, Eldredge C, Collier W, Gradall A, Sehgal N & Kuester J (2015). A Comparative Effectiveness Meta-Analysis of Drugs for the Prophylaxis of Migraine Headache. *PLOS ONE* **10**, e0130733.
- Jackson JL, Kuriyama A, Kuwatsuka Y, Nickoloff S, Storch D, Jackson W, Zhang Z-J & Hayashino Y (2019). Beta-blockers for the prevention of headache in adults, a systematic review and meta-analysis. *PloS One* **14**, e0212785.
- Jackson JL, Shimeall W, Sessums L, DeZee KJ, Becher D, Diemer M, Berbano E & O'Malley PG (2010). Tricyclic antidepressants and headaches: systematic review and meta-analysis. *BMJ* **341**, c5222.
- Jacobsen KX, Höistad M, Staines WA & Fuxe K (2006). The distribution of dopamine D1 receptor and mu-opioid receptor 1 receptor immunoreactivities in the amygdala and interstitial nucleus of the posterior limb of the anterior commissure: relationships to tyrosine hydroxylase and opioid peptide terminal systems. *Neuroscience* **141**, 2007–2018.

- Jacquin MF, Semba K, Rhoades RW & Egger MD (1982). Trigeminal primary afferents project bilaterally to dorsal horn and ipsilaterally to cerebellum, reticular formation, and cuneate, solitary, supratrigeminal and vagal nuclei. *Brain Res* **246**, 285–291.
- Jansen-Olesen I, Baun M, Amrutkar DV, Ramachandran R, Christophersen DV & Olesen J (2014). PACAP-38 but not VIP induces release of CGRP from trigeminal nucleus caudalis via a receptor distinct from the PAC1 receptor. *Neuropeptides* **48**, 53–64.
- Johnson K (2001). The roles and functions of cutaneous mechanoreceptors. *Curr Opin Neurobiol* **11**, 455–461.
- Jones MG, Lever I, Bingham S, Read S, McMahon SB & Parsons A (2001). Nitric oxide potentiates response of trigeminal neurones to dural or facial stimulation in the rat. *Cephalalgia Int J Headache* **21**, 643–655.
- Joo W, Yoshioka F, Funaki T, Mizokami K & Rhoton AL (2014). Microsurgical anatomy of the trigeminal nerve. *Clin Anat N Y N* **27**, 61–88.
- Joyce CD, Fiscus RR, Wang X, Dries DJ, Morris RC & Prinz RA (1990). Calcitonin gene-related peptide levels are elevated in patients with sepsis. *Surgery* **108**, 1097–1101.
- Juhász G, Zsombók T, Gonda X & Bagdy G (2004). [Nitroglycerin-induced headaches]. *Orv Hetil* **145**, 2323–2328.
- Juhász G, Zsombok T, Jakab B, Nemeth J, Szolcsányi J & Bagdy G (2005). Sumatriptan Causes Parallel Decrease in Plasma Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Concentration and Migraine Headache During Nitroglycerin Induced Migraine Attack. *Cephalalgia* **25**, 179–183.

K

- Kalita J, Laskar S, Bhoi SK & Misra UK (2016). Efficacy of single versus three sessions of high rate repetitive transcranial magnetic stimulation in chronic migraine and tension-type headache. *J Neurol* **263**, 2238–2246.
- Kalyuzhny AE, Arvidsson U, Wu W & Wessendorf MW (1996). μ -Opioid and delta-opioid receptors are expressed in brainstem antinociceptive circuits: studies using immunocytochemistry and retrograde tract-tracing. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **16**, 6490–6503.
- Kalyuzhny AE & Wessendorf MW (1998). Relationship of μ - and delta-opioid receptors to GABAergic neurons in the central nervous system, including antinociceptive brainstem circuits. *J Comp Neurol* **392**, 528–547.
- Karatas H, Erdener SE, Gursoy-Ozdemir Y, Lule S, Eren-Koçak E, Sen ZD & Dalkara T (2013). Spreading Depression Triggers Headache by Activating Neuronal Panx1 Channels. *Science* **339**, 1092–1095.

- Katsarava Z, Schneeweiss S, Kurth T, Kroener U, Fritsche G, Eikermann A, Diener H-C & Limmroth V (2004). Incidence and predictors for chronicity of headache in patients with episodic migraine. *Neurology* **62**, 788–790.
- Kayser V, Aibel B, Hamon M & Bourgoin S (2002). The antimigraine 5-HT_{1B/1D} receptor agonists, sumatriptan, zolmitriptan and dihydroergotamine, attenuate pain-related behaviour in a rat model of trigeminal neuropathic pain: 5-HT_{1B/1D} agonists and trigeminal neuropathic pain. *Br J Pharmacol* **137**, 1287–1297.
- Keezer MR, Bauer PR, Ferrari MD & Sander JW (2015). The comorbid relationship between migraine and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol* **22**, 1038–1047.
- Kelman L (2007). The triggers or precipitants of the acute migraine attack. *Cephalalgia Int J Headache* **27**, 394–402.
- Kelman L & Rains JC (2005). Headache and sleep: examination of sleep patterns and complaints in a large clinical sample of migraineurs. *Headache* **45**, 904–910.
- Kim KM, Kim B-K, Lee W, Hwang H, Heo K & Chu MK (2022). Prevalence and impact of visual aura in migraine and probable migraine: a population study. *Sci Rep* **12**, 426.
- Kim YE, Kim MK, Suh S & Kim JH (2021). Altered trigeminothalamic spontaneous low-frequency oscillations in migraine without aura: a resting-state fMRI study. *BMC Neurol* **21**, 342.
- Kirithi V, Derry S & Moore RA (2013). Aspirin with or without an antiemetic for acute migraine headaches in adults. *Cochrane Database Syst Rev*; DOI: 10.1002/14651858.CD008041.pub3.
- Kniewel K, Buchanan AS, Lombard L, Baygani S, Raskin J, Krege JH, Loo LS, Komori M & Tobin J (2020). Lasmiditan for the acute treatment of migraine: Subgroup analyses by prior response to triptans. *Cephalalgia* **40**, 19–27.
- Knight YE & Goadsby PJ (2001). The periaqueductal grey matter modulates trigeminovascular input: a role in migraine? *Neuroscience* **106**, 793–800.
- Kobayashi M & Nakaya Y (2020). Anatomical aspects of corticotrigeminal projections to the medullary dorsal horn. *J Oral Sci* **62**, 144–146.
- Koçer A, Memişoğulları R, Domaç FM, İlhan A, Koçer E, Okuyucu S, Özdemir B & Yüksel H (2009). IL-6 levels in migraine patients receiving topiramate. *Pain Pract Off J World Inst Pain* **9**, 375–379.
- Koulchitsky S, Fischer MJM & Messlinger K (2009). Calcitonin gene-related peptide receptor inhibition reduces neuronal activity induced by prolonged increase in nitric oxide in the rat spinal trigeminal nucleus. *Cephalalgia Int J Headache* **29**, 408–417.

- Kristoffersen ES & Lundqvist C (2014). Medication-overuse headache: a review. *J Pain Res* **7**, 367–378.
- Kruuse C, Thomsen LL, Birk S & Olesen J (2003). Migraine can be induced by sildenafil without changes in middle cerebral artery diameter. *Brain* **126**, 241–247.
- Krymchantowski AV (2000). Naproxen sodium decreases migraine recurrence when administered with sumatriptan. *Arq Neuropsiquiatr* **58**, 428–430.
- Krymchantowski AV, Jevoux CC, Krymchantowski AG, Vivas RS & Silva-Néto R (2020). Medication overuse headache: an overview of clinical aspects, mechanisms, and treatments. *Expert Rev Neurother* **20**, 591–600.
- Kuca B, Silberstein SD, Wietecha L, Berg PH, Dozier G, Lipton RB & Group on behalf of the CM-301 S (2018). Lasmiditan is an effective acute treatment for migraine: A phase 3 randomized study. *Neurology* **91**, e2222–e2232.
- Kudo C, Harriott AM, Moskowitz MA, Waeber C & Ayata C (2023). Estrogen modulation of cortical spreading depression. *J Headache Pain* **24**, 62.
- Kudo C, Nozari A, Moskowitz MA & Ayata C (2008). The impact of anesthetics and hyperoxia on cortical spreading depression. *Exp Neurol* **212**, 201–206.
- Külling P, Siegfried B, Frischknecht HR, Messiha FS & Pasi A (1989). Beta-endorphin-like immunoreactivity levels in the hypothalamus, the periaqueductal grey and the pituitary of the DBA mouse: determination by ELISA and relationship to nociception. *Physiol Behav* **46**, 25–28.
- Kwiat GC & Basbaum AI (1992). The origin of brainstem noradrenergic and serotonergic projections to the spinal cord dorsal horn in the rat. *Somatosens Mot Res* **9**, 157–173.
- L**
- Lai T-H, Fuh J-L & Wang S-J (2009). Cranial autonomic symptoms in migraine: characteristics and comparison with cluster headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **80**, 1116–1119.
- Lambert GA, Hoskin KL & Zagami AS (2004). Nitroergic and glutamatergic neuronal mechanisms at the trigeminovascular first-order synapse. *Neuropharmacology* **47**, 92–105.
- Lance J w., Lambert G a., Goadsby P j. & Duckworth J w. (1983). Brainstem Influences on the Cephalic Circulation: Experimental Data From Cat and Monkey of Relevance to the Mechanism of Migraine. *Headache J Head Face Pain* **23**, 258–265.
- Lapirot O, Chebbi R, Monconduit L, Artola A, Dallel R & Luccarini P (2009). NK1 receptor-expressing spinoparabrachial neurons trigger diffuse noxious inhibitory controls through lateral parabrachial activation in the male rat. *Pain* **142**, 245–254.

- Lapirot O, Melin C, Modolo A, Nicolas C, Messaoudi Y, Monconduit L, Artola A, Luccarini P & Dallel R (2011). Tonic and phasic descending dopaminergic controls of nociceptive transmission in the medullary dorsal horn. *Pain* **152**, 1821–1831.
- Lashley KS (1941). Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. *Arch Neurol Psychiatry* **46**, 331–339.
- Latremoliere A & Woolf CJ (2009). Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity. *J Pain* **10**, 895–926.
- Lay CL & Broner SW (2009). Migraine in women. *Neurol Clin* **27**, 503–511.
- Lazarus LH, Ling N & Guillemin R (1976). beta-Lipotropin as a prohormone for the morphinomimetic peptides endorphins and enkephalins. *Proc Natl Acad Sci* **73**, 2156–2159.
- Le Bars D (2002). The whole body receptive field of dorsal horn multireceptive neurones. *Brain Res Rev* **40**, 29–44.
- Le Bars D & Willer J-C (2004). Physiologie de la douleur. *EMC - Anesth-Réanimation* **1**, 227–266.
- Leão A a. P (1947). Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol* **10**, 409–414.
- Leão A a. P & Morison RS (1945). Propagation of spreading cortical depression. *J Neurophysiol* **8**, 33–45.
- Leão AAP (1944). Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol* **7**, 359–390.
- Lee CM & Snyder SH (1982). Dipeptidyl-aminopeptidase III of rat brain. Selective affinity for enkephalin and angiotensin. *J Biol Chem* **257**, 12043–12050.
- Lee KS, Zhang Y, Asgar J, Auh Q-S, Chung M-K & Ro JY (2016). Androgen receptor transcriptionally regulates μ -opioid receptor expression in rat trigeminal ganglia. *Neuroscience* **331**, 52–61.
- Lennerz JK, Rühle V, Ceppa EP, Neuhuber WL, Bunnett NW, Grady EF & Messlinger K (2008). Calcitonin receptor-like receptor (CLR), receptor activity-modifying protein 1 (RAMP1), and calcitonin gene-related peptide (CGRP) immunoreactivity in the rat trigeminovascular system: differences between peripheral and central CGRP receptor distribution. *J Comp Neurol* **507**, 1277–1299.
- Lerebours F, Boulanouar K, Barège M, Denuelle M, Bonneville F, Payoux P, Larrue V & Fabre N (2019). Functional connectivity of hypothalamus in chronic migraine with medication overuse. *Cephalalgia* **39**, 892–899.

- Levy D (2012). Endogenous Mechanisms Underlying the Activation and Sensitization of Meningeal Nociceptors: The Role of Immuno-Vascular Interactions and Cortical Spreading Depression. *Curr Pain Headache Rep* **16**, 270–277.
- Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M & Strassman AM (2007). Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *PAIN* **130**, 166–176.
- Levy D, Burstein R & Strassman AM (2005). Calcitonin gene-related peptide does not excite or sensitize meningeal nociceptors: implications for the pathophysiology of migraine. *Ann Neurol* **58**, 698–705.
- Lewin GR & Moshourab R (2004). Mechanosensation and pain. *J Neurobiol* **61**, 30–44.
- Lewis VA & Gebhart GF (1977). Evaluation of the periaqueductal central gray (PAG) as a morphine-specific locus of action and examination of morphine-induced and stimulation-produced analgesia at coincident PAG loci. *Brain Res* **124**, 283–303.
- Li C, Booze RM & Hersh LB (1996). Tissue-specific Expression of Rat Neutral Endopeptidase mRNAs. *Ann N Y Acad Sci* **780**, 145–155.
- Li J-N & Sheets PL (2018). The central amygdala to periaqueductal gray pathway comprises intrinsically distinct neurons differentially affected in a model of inflammatory pain. *J Physiol* **596**, 6289–6305.
- Li L, Rutlin M, Abaira VE, Cassidy C, Kus L, Gong S, Jankowski MP, Luo W, Heintz N, Koerber HR, Woodbury CJ & Ginty DD (2011). The functional organization of cutaneous low-threshold mechanosensory neurons. *Cell* **147**, 1615–1627.
- Li YQ, Jia HG, Rao ZR & Shi JW (1990a). Serotonin-, substance P- or leucine-enkephalin-containing neurons in the midbrain periaqueductal gray and nucleus raphe dorsalis send projection fibers to the central amygdaloid nucleus in the rat. *Neurosci Lett* **120**, 124–127.
- Li YQ, Rao ZR & Shi JW (1990b). Midbrain periaqueductal gray neurons with substance P- or enkephalin-like immunoreactivity send projection fibers to the nucleus accumbens in the rat. *Neurosci Lett* **119**, 269–271.
- Light AR & Perl ER (1979). Spinal termination of functionally identified primary afferent neurons with slowly conducting myelinated fibers. *J Comp Neurol* **186**, 133–150.
- Lima D, Avelino A & Coimbra A (1993). Morphological characterization of marginal (Lamina I) neurons immunoreactive for substance P, enkephalin, dynorphin and gamma-aminobutyric acid in the rat spinal cord. *J Chem Neuroanat* **6**, 43–52.
- Lin Q, Palecek J, Palecková V, Peng YB, Wu J, Cui M & Willis WD (1999). Nitric oxide mediates the central sensitization of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol* **81**, 1075–1085.

- Lipton RB & Bigal ME (2005). Migraine: epidemiology, impact, and risk factors for progression. *Headache* **45 Suppl 1**, S3–S13.
- Lipton RB, Bigal ME, Ashina S, Burstein R, Silberstein S, Reed ML, Serrano D, Stewart WF, & American Migraine Prevalence Prevention Advisory Group (2008). Cutaneous allodynia in the migraine population. *Ann Neurol* **63**, 148–158.
- Lipton RB, Bigal ME, Diamond M, Freitag F, Reed ML, Stewart WF, & AMPP Advisory Group (2007). Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology* **68**, 343–349.
- Lipton RB, Buse DC, Friedman BW, Feder L, Adams AM, Fanning KM, Reed ML & Schwedt TJ (2020). Characterizing opioid use in a US population with migraine: Results from the CaMEO study. *Neurology* **95**, e457–e468.
- Lipton RB, Buse DC, Serrano D, Holland S & Reed ML (2013). Examination of Unmet Treatment Needs Among Persons With Episodic Migraine: Results of the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study. *Headache J Head Face Pain* **53**, 1300–1311.
- Lipton RB, Dodick DW, Ailani J, Lu K, Finnegan M, Szegedi A & Trugman JM (2019). Effect of Ubrogepant vs Placebo on Pain and the Most Bothersome Associated Symptom in the Acute Treatment of Migraine: The ACHIEVE II Randomized Clinical Trial. *JAMA* **322**, 1887–1898.
- Lipton RB, Göbel H, Einhüpl KM, Wilks K & Mauskop A (2004). Petasites hybridus root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology* **63**, 2240–2244.
- Lipton RB, Serrano D, Pavlovic JM, Manack AN, Reed ML, Turkel CC & Buse DC (2014). Improving the Classification of Migraine Subtypes: An Empirical Approach Based on Factor Mixture Models in the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study. *Headache J Head Face Pain* **54**, 830–849.
- Lipton RB & Stewart WF (1997). Prevalence and impact of migraine. *Neurol Clin* **15**, 1–13.
- Liu Y, Broman J & Edvinsson L (2004). Central projections of sensory innervation of the rat superior sagittal sinus. *Neuroscience* **129**, 431–437.
- Liu Y, Broman J & Edvinsson L (2008). Central projections of the sensory innervation of the rat middle meningeal artery. *Brain Res* **1208**, 103–110.
- Liu Y, Broman J, Zhang M & Edvinsson L (2009). Brainstem and thalamic projections from a craniovascular sensory nervous centre in the rostral cervical spinal dorsal horn of rats. *Cephalalgia Int J Headache* **29**, 935–948.
- Longmore J, Shaw D, Smith D, Hopkins R, McAllister G, Pickard JD, Sirinathsinghji DJ, Butler AJ & Hill RG (1997). Differential distribution of 5HT1D- and 5HT1B-immunoreactivity

within the human trigemino-cerebrovascular system: implications for the discovery of new antimigraine drugs. *Cephalalgia Int J Headache* **17**, 833–842.

López-Moreno JA, López-Jiménez A, Gorriti MA & de Fonseca FR (2010). Functional interactions between endogenous cannabinoid and opioid systems: focus on alcohol, genetics and drug-addicted behaviors. *Curr Drug Targets* **11**, 406–428.

Lorenz J, Minoshima S & Casey KL (2003). Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain* **126**, 1079–1091.

Lorkowski G, Zijderhand-Bleekemolen JE, Erdös EG, von Figura K & Hasilik A (1987). Neutral endopeptidase-24.11 (enkephalinase). Biosynthesis and localization in human fibroblasts. *Biochem J* **248**, 345–350.

Louter MA, Bosker JE, van Oosterhout WPJ, van Zwet EW, Zitman FG, Ferrari MD & Terwindt GM (2013). Cutaneous allodynia as a predictor of migraine chronification. *Brain J Neurol* **136**, 3489–3496.

Loyd DR, Wang X & Murphy AZ (2008). Sex Differences in μ -Opioid Receptor Expression in the Rat Midbrain Periaqueductal Gray Are Essential for Eliciting Sex Differences in Morphine Analgesia. *J Neurosci* **28**, 14007–14017.

Lukiw WJ (2006). Endogenous signaling complexity in neuropeptides- leucine- and methionine-enkephalin. *Cell Mol Neurobiol* **26**, 1003–1010.

Lyons PJ, Callaway MB & Fricker LD (2008). Characterization of Carboxypeptidase A6, an Extracellular Matrix Peptidase *. *J Biol Chem* **283**, 7054–7063.

M

Ma W, Chabot J-G, Powell KJ, Jhamandas K, Dickerson IM & Quirion R (2003). Localization and modulation of calcitonin gene-related peptide-receptor component protein-immunoreactive cells in the rat central and peripheral nervous systems. *Neuroscience* **120**, 677–694.

Mainero C, Boshyan J & Hadjikhani N (2011). Altered functional magnetic resonance imaging resting-state connectivity in periaqueductal gray networks in migraine. *Ann Neurol* **70**, 838–845.

Maldonado R (2010). [The endogenous opioid system and drug addiction]. *Ann Pharm Fr* **68**, 3–11.

Maleki N, Becerra L & Borsook D (2012). Migraine: Maladaptive Brain Responses to Stress. *Headache* **52**, 102–106.

Malick A & Burstein R (1998). Cells of origin of the trigeminohypothalamic tract in the rat. *J Comp Neurol* **400**, 125–144.

- Malick A, Jakubowski M, Elmquist JK, Saper CB & Burstein R (2001). A neurohistochemical blueprint for pain-induced loss of appetite. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 9930–9935.
- Malick A, Strassman RM & Burstein R (2000). Trigeminothalamic and Reticulohypothalamic Tract Neurons in the Upper Cervical Spinal Cord and Caudal Medulla of the Rat. *J Neurophysiol* **84**, 2078–2112.
- Manack A, Buse DC, Serrano D, Turkel CC & Lipton RB (2011). Rates, predictors, and consequences of remission from chronic migraine to episodic migraine. *Neurology* **76**, 711–718.
- Mangutov E, Dripps I, Siegersma K, Bocian R, Asif S, Witkowski W & Pradhan A (2023). Delta Opioid Receptor Activation Blocks Allodynia in a Model of PACAP-induced Headache. *J Pharmacol Exp Ther*; DOI: 10.1124/jpet.122.166870.
- Maniyar FH, Sprenger T, Monteith T, Schankin C & Goadsby PJ (2014). Brain activations in the premonitory phase of nitroglycerin-triggered migraine attacks. *Brain J Neurol* **137**, 232–241.
- Manning BH (1998). A Lateralized Deficit in Morphine Antinociception after Unilateral Inactivation of the Central Amygdala. *J Neurosci* **18**, 9453–9470.
- Manning BH, Merin NM, Meng ID & Amaral DG (2001). Reduction in opioid- and cannabinoid-induced antinociception in rhesus monkeys after bilateral lesions of the amygdaloid complex. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**, 8238–8246.
- Mansour A, Fox CA, Burke S, Akil H & Watson SJ (1995). Immunohistochemical localization of the cloned mu opioid receptor in the rat CNS. *J Chem Neuroanat* **8**, 283–305.
- Mansour A & Watson SJ (1993). Anatomical Distribution of Opioid Receptors in Mammals: An Overview. In *Opioids*, ed. Herz A, Akil H & Simon EJ, Handbook of Experimental Pharmacology, pp. 79–105. Springer, Berlin, Heidelberg. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-642-77460-7_5 [Accessed June 28, 2023].
- Marfurt CF (1981). The central projections of trigeminal primary afferent neurons in the cat as determined by the transganglionic transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* **203**, 785–798.
- Marinelli S, Connor M, Schnell SA, Christie MJ, Wessendorf MW & Vaughan CW (2005). delta-opioid receptor-mediated actions on rostral ventromedial medulla neurons. *Neuroscience* **132**, 239–244.
- Markham A (2018). Erenumab: First Global Approval. *Drugs* **78**, 1157–1161.
- Martami F, Razeghi Jahromi S, Togha M, Ghorbani Z, Seifishahpar M & Saidpour A (2018). The serum level of inflammatory markers in chronic and episodic migraine: a case-control study. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* **39**, 1741–1749.

- Martin M, Matifas A, Maldonado R & Kieffer BL (2003). Acute antinociceptive responses in single and combinatorial opioid receptor knockout mice: distinct mu, delta and kappa tones. *Eur J Neurosci* **17**, 701–708.
- Martin MS, Dutt K, Papale LA, Dubé CM, Dutton SB, de Haan G, Shankar A, Tufik S, Meisler MH, Baram TZ, Goldin AL & Escayg A (2010). Altered function of the SCN1A voltage-gated sodium channel leads to gamma-aminobutyric acid-ergic (GABAergic) interneuron abnormalities. *J Biol Chem* **285**, 9823–9834.
- Marvizón JCG, Chen W & Murphy N (2009). Enkephalins, dynorphins and β -endorphin in the rat dorsal horn: an immunofluorescence colocalization study. *J Comp Neurol* **517**, 51–68.
- Maslov LN, Oeltgen PR, Lishmanov YB, Brown SA, Barzakh EI, Krylatov AV & Pei J-M (2014). Activation of peripheral delta opioid receptors increases cardiac tolerance to arrhythmogenic effect of ischemia/reperfusion. *Acad Emerg Med Off J Soc Acad Emerg Med* **21**, 31–39.
- Mason P, Back SA & Fields HL (1992). A confocal laser microscopic study of enkephalin-immunoreactive appositions onto physiologically identified neurons in the rostral ventromedial medulla. *J Neurosci* **12**, 4023–4036.
- Matharu MS, Bartsch T, Ward N, Frackowiak RSJ, Weiner R & Goadsby PJ (2004). Central neuromodulation in chronic migraine patients with suboccipital stimulators: a PET study. *Brain J Neurol* **127**, 220–230.
- Mathew PG, Cutrer FM & Garza I (2016). A touchy subject: an assessment of cutaneous allodynia in a chronic migraine population. *J Pain Res* **9**, 101–104.
- Matsumoto H, Nagasaka T, Hattori A, Rogi T, Tsuruoka N, Mizutani S & Tsujimoto M (2001). Expression of placental leucine aminopeptidase/oxytocinase in neuronal cells and its action on neuronal peptides. *Eur J Biochem* **268**, 3259–3266.
- Matsushita M, Ikeda M & Okado N (1982). The cells of origin of the trigeminothalamic, trigeminospinal and trigeminocerebellar projections in the cat. *Neuroscience* **7**, 1439–1454.
- Matteoli M, Haimann C, Torri-Tarelli F, Polak JM, Ceccarelli B & De Camilli P (1988). Differential effect of alpha-latrotoxin on exocytosis from small synaptic vesicles and from large dense-core vesicles containing calcitonin gene-related peptide at the frog neuromuscular junction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**, 7366–7370.
- May A & Goadsby PJ (2001). Substance P receptor antagonists in the therapy of migraine. *Expert Opin Investig Drugs* **10**, 673–678.
- May A & Schulte LH (2016). Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol* **12**, 455–464.

- McGeer PL & McGeer EG (1978). Aging and Neurotransmitter Systems. In *Parkinson's Disease—II: Aging and Neuroendocrine Relationships*, ed. Finch CE, Potter DE & Kenny AD, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, pp. 41–57. Springer US, Boston, MA. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8893-7_3 [Accessed May 16, 2023].
- McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, Solari R, Lee MG & Foord SM (1998). RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* **393**, 333–339.
- Mei H-R, Hu Y-Y, Kapadia S, Ouimet T, Poras H & Dussor G (2023). Efficacy of dual enkephalinase inhibition in a preclinical migraine model is mediated by activation of peripheral delta opioid receptors. *Headache* **63**, 621–633.
- Melo-Carrillo A, Strassman AM, Nir R-R, Schain AJ, Nosedá R, Stratton J & Burstein R (2017). Fremanezumab—A Humanized Monoclonal Anti-CGRP Antibody—Inhibits Thinly Myelinated (A δ) But Not Unmyelinated (C) Meningeal Nociceptors. *J Neurosci* **37**, 10587–10596.
- Menéndez L, Hidalgo A, Meana Á, Poras H, Fournié-Zaluski M-C, Roques BP & Baamonde A (2008). Inhibition of osteosarcoma-induced thermal hyperalgesia in mice by the orally active dual enkephalinase inhibitor PL37. Potentiation by gabapentin. *Eur J Pharmacol* **596**, 50–55.
- Menétrey D, Chaouch A, Binder D & Besson JM (1982). The origin of the spinomesencephalic tract in the rat: an anatomical study using the retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* **206**, 193–207.
- Mennicken F, Zhang J, Hoffert C, Ahmad S, Beaudet A & O'Donnell D (2003). Phylogenetic changes in the expression of delta opioid receptors in spinal cord and dorsal root ganglia. *J Comp Neurol* **465**, 349–360.
- Meunier A, Latrémolière A, Mauborgne A, Bourgoïn S, Kayser V, Cesselin F, Hamon M & Pohl M (2005). Attenuation of pain-related behavior in a rat model of trigeminal neuropathic pain by viral-driven enkephalin overproduction in trigeminal ganglion neurons. *Mol Ther* **11**, 608–616.
- Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P & Monsarrat B (1995). Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature* **377**, 532–535.
- Meynadier J, Dalmas S, Lecomte JM, Gros Ci, & et al (1988). Potent analgesic effects of inhibitors of enkephalin metabolism administered intrathecally to cancer patients. *Pain Clin* **2**, 201–205.
- Mika J, Obara I & Przewlocka B (2011). The role of nociceptin and dynorphin in chronic pain: implications of neuro-glial interaction. *Neuropeptides* **45**, 247–261.

- Millan MJ (1999). The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* **57**, 1–164.
- Millan MJ (2002). Descending control of pain. *Prog Neurobiol* **66**, 355–474.
- Milne RJ, Coddington JM & Gamble GD (1990). Quaternary naloxone blocks morphine analgesia in spinal but not intact rats. *Neurosci Lett* **114**, 259–264.
- Milner PM (1958). Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leão. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **10**, 705.
- Minen MT, Begasse De Dhaem O, Kroon Van Diest A, Powers S, Schwedt TJ, Lipton R & Silbersweig D (2016). Migraine and its psychiatric comorbidities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **87**, 741–749.
- Mínguez-Olaondo A, Martínez-Valbuena I, Romero S, Frühbeck G, Luquin MR, Martínez-Vila E & Irimia P (2020). Excess abdominal fat is associated with cutaneous allodynia in individuals with migraine: a prospective cohort study. *J Headache Pain* **21**, 9.
- Mirza AF, Mo J, Holt JL, Kairalla JA, Heft MW, Ding M & Ahn AH (2012). Is there a relationship between throbbing pain and arterial pulsations? *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **32**, 7572–7576.
- Mitchell JL, Silverman MB & Aicher SA (2004). Rat trigeminal lamina I neurons that project to thalamic or parabrachial nuclei contain the μ -opioid receptor. *Neuroscience* **128**, 571–582.
- Miyamoto T, Dubin AE, Petrus MJ & Patapoutian A (2009). TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One* **4**, e7596.
- Modgill G, Jette N, Wang JL, Becker WJ & Patten SB (2012). A population-based longitudinal community study of major depression and migraine. *Headache* **52**, 422–432.
- Møllgård K, Beinlich FRM, Kusk P, Miyakoshi LM, Delle C, Plá V, Hauglund NL, Esmail T, Rasmussen MK, Gomolka RS, Mori Y & Nedergaard M (2023). A mesothelium divides the subarachnoid space into functional compartments. *Science* **379**, 84–88.
- Moore R a., Derry S, Wiffen P j., Straube S & Aldington D j. (2015). Overview review: Comparative efficacy of oral ibuprofen and paracetamol (acetaminophen) across acute and chronic pain conditions. *Eur J Pain* **19**, 1213–1223.
- Morelli N, Rota E, Gori S, Guidetti D, Michieletti E, De Simone R & Di Salle F (2013). Brainstem activation in cluster headache: An adaptive behavioural response? *Cephalalgia* **33**, 416–420.
- Moreno-Ajona D, Villar-Martínez MD & Goadsby PJ (2022). New Generation Gepants: Migraine Acute and Preventive Medications. *J Clin Med* **11**, 1656.

- Morgan MM, Fossum EN, Levine CS & Ingram SL (2006). Antinociceptive tolerance revealed by cumulative intracranial microinjections of morphine into the periaqueductal gray in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* **85**, 214–219.
- Morgan MM, Heinricher MM & Fields HL (1992). Circuitry linking opioid-sensitive nociceptive modulatory systems in periaqueductal gray and spinal cord with rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* **47**, 863–871.
- Moskowitz M (1993). Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology* **43**, S16-20.
- Moskowitz MA, Nozaki K & Kraig RP (1993). Neocortical spreading depression provokes the expression of c-fos protein-like immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis via trigeminovascular mechanisms. *J Neurosci* **13**, 1167–1177.
- Mosnaim AD, Chevesich J, Wolf ME, Freitag FG & Diamond S (1986). Plasma methionine enkephalin. Increased levels during a migraine episode. *Headache* **26**, 278–281.
- Mosnaim AD, Diamond S, Wolf ME, Puente J & Freitag FG (1989). Endogenous opioid-like peptides in headache. An overview. *Headache* **29**, 368–372.
- Moss MS, Glazer EJ & Basbaum AI (1983). The peptidergic organization of the cat periaqueductal gray. I. The distribution of immunoreactive enkephalin-containing neurons and terminals. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **3**, 603–616.
- Moulton EA, Burstein R, Tully S, Hargreaves R, Becerra L & Borsook D (2008). Interictal Dysfunction of a Brainstem Descending Modulatory Center in Migraine Patients. *PLOS ONE* **3**, e3799.
- Moye LS, Novack ML, Tipton AF, Krishnan H, Pandey SC & Pradhan AA (2019a). The development of a mouse model of mTBI-induced post-traumatic migraine, and identification of the delta opioid receptor as a novel therapeutic target. *Cephalalgia Int J Headache* **39**, 77–90.
- Moye LS & Pradhan AA (2017). From blast to bench: a translational mini-review of post-traumatic headache. *J Neurosci Res* **95**, 1347–1354.
- Moye LS, Siegersma K, Dripps I, Witkowski W, Mangutov E, Wang D, Scherrer G & Pradhan AA (2021). Delta opioid receptor regulation of CGRP dynamics in the trigeminal complex. *Pain*; DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002235.
- Moye LS, Tipton AF, Dripps I, Sheets Z, Crombie A, Violin JD & Pradhan AA (2019b). Delta opioid receptor agonists are effective for multiple types of headache disorders. *Neuropharmacology* **148**, 77–86.

N

- Nadal X, Baños J-E, Kieffer BL & Maldonado R (2006). Neuropathic pain is enhanced in delta-opioid receptor knockout mice. *Eur J Neurosci* **23**, 830–834.
- Nakamura T, Tomida M, Yamamoto T, Ando H, Takamata T, Kondo E, Kurasawa I & Asanuma N (2013). The Endogenous Opioids Related with Antinociceptive Effects Induced by Electrical Stimulation into the Amygdala. *Open Dent J* **7**, 27–35.
- Nandhu MS, Naijil G, Smijin S, Jayanarayanan S & Paulose CS (2010). Opioid system functional regulation in neurological disease management. *J Neurosci Res* **88**, 3215–3221.
- Navratilova E, Behraves S, Oyarzo J, Dodick DW, Banerjee P & Porreca F (2020). Ubrogepant does not induce latent sensitization in a preclinical model of medication overuse headache. *Cephalalgia Int J Headache* **40**, 892–902.
- Noble F, Banisadr G, Jardinaud F, Popovici T, Lai-Kuen R, Chen H, Bischoff L, Parsadaniantz SM, Fournie-Zaluski M-C & Roques BP (2001). First discrete autoradiographic distribution of aminopeptidase N in various structures of rat brain and spinal cord using the selective iodinated inhibitor [125I]RB 129. *Neuroscience* **105**, 479–488.
- Noble F, Benturquia N, Bilkei-Gorzo A, Zimmer A & Roques BP (2008). Use of preproenkephalin knockout mice and selective inhibitors of enkephalinases to investigate the role of enkephalins in various behaviours. *Psychopharmacology (Berl)* **196**, 327–335.
- Noble F, Smadja C, Valverde O, Maldonado R, Coric P, Turcaud S, Fournié-Zaluski M-C & Roques BP (1997). Pain-suppressive effects on various nociceptive stimuli (thermal, chemical, electrical and inflammatory) of the first orally active enkephalin-metabolizing enzyme inhibitor RB 120. *Pain* **73**, 383–391.
- Noble F, Soleilhac JM, Soroça-Lucas E, Turcaud S, Fournie-Zaluski MC & Roques BP (1992). Inhibition of the enkephalin-metabolizing enzymes by the first systemically active mixed inhibitor prodrug RB 101 induces potent analgesic responses in mice and rats. *J Pharmacol Exp Ther* **261**, 181–190.
- Nosedá R & Burstein R (2013). Migraine pathophysiology: Anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *PAIN®* **154**, S44–S53.
- Nosedá R, Constandil L, Bourgeois L, Chalus M & Villanueva L (2010). Changes of Meningeal Excitability Mediated by Corticotrigeminal Networks: A Link for the Endogenous Modulation of Migraine Pain. *J Neurosci* **30**, 14420–14429.
- Nosedá R, Jakubowski M, Kainz V, Borsook D & Burstein R (2011). Cortical Projections of Functionally Identified Thalamic Trigemino-vascular Neurons: Implications for Migraine Headache and Its Associated Symptoms. *J Neurosci* **31**, 14204–14217.

Nosedá R, Kainz V, Borsook D & Burstein R (2014). Neurochemical Pathways That Converge on Thalamic Trigeminovascular Neurons: Potential Substrate for Modulation of Migraine by Sleep, Food Intake, Stress and Anxiety. *PLOS ONE* **9**, e103929.

O

Ohya A, Tsuruoka M, Imai E, Fukunaga H, Shinya A, Furuya R, Kawawa T & Matsui Y (1993). Thalamic- and cerebellar-projecting intercalated neuron responses to afferent inputs. *Brain Res Bull* **32**, 615–621.

Oka T, Tsumori T, Yokota S & Yasui Y (2008). Neuroanatomical and neurochemical organization of projections from the central amygdaloid nucleus to the nucleus reticulatus via the periaqueductal gray in the rat. *Neurosci Res* **62**, 286–298.

Okada-Ogawa A, Porreca F & Meng ID (2009). Sustained Morphine-Induced Sensitization and Loss of Diffuse Noxious Inhibitory Controls in Dura-Sensitive Medullary Dorsal Horn Neurons. *J Neurosci* **29**, 15828–15835.

Olesen J, Burstein R, Ashina M & Tfelt-Hansen P (2009). Origin of pain in migraine: evidence for peripheral sensitization. *Lancet Neurol* **8**, 679–690.

Olesen J, Gustavsson A, Svensson M, Wittchen H-U, Jönsson B, CDBE2010 study group, & European Brain Council (2012). The economic cost of brain disorders in Europe. *Eur J Neurol* **19**, 155–162.

Olesen J, Iversen HK & Thomsen LL (1993). Nitric oxide supersensitivity: a possible molecular mechanism of migraine pain. *Neuroreport* **4**, 1027–1030.

Olesen J, Larsen B & Lauritzen M (1981). Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine. *Ann Neurol* **9**, 344–352.

Olesen J, Thomsen LL & Iversen H (1994). Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci* **15**, 149–153.

Oliveira AB, Bachi ALL, Ribeiro RT, Mello MT, Tufik S & Peres MFP (2017). Unbalanced plasma TNF- α and IL-12/IL-10 profile in women with migraine is associated with psychological and physiological outcomes. *J Neuroimmunol* **313**, 138–144.

Oliveira MA & Prado WA (2001). Role of PAG in the antinociception evoked from the medial or central amygdala in rats. *Brain Res Bull* **54**, 55–63.

Oliver KR, Wainwright A, Edvinsson L, Pickard JD & Hill RG (2002). Immunohistochemical localization of calcitonin receptor-like receptor and receptor activity-modifying proteins in the human cerebral vasculature. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* **22**, 620–629.

Olszewski J (1950). On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol* **92**, 401–413.

- Onderwater GLJ, van Oosterhout WPJ, Schoonman GG, Ferrari MD & Terwindt GM (2019). Alcoholic beverages as trigger factor and the effect on alcohol consumption behavior in patients with migraine. *Eur J Neurol* **26**, 588–595.
- Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mhrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD & Frants RR (1996). Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* **87**, 543–552.
- Osborne PB, Vaughan CW, Wilson HI & Christie MJ (1996). Opioid inhibition of rat periaqueductal grey neurones with identified projections to rostral ventromedial medulla in vitro. *J Physiol* **490**, 383–389.
- Ossipov MH, Kovelowski CJ, Nichols ML, Hruby VJ & Porreca F (1995). Characterization of supraspinal antinociceptive actions of opioid delta agonists in the rat. *Pain* **62**, 287–293.
- Ossipov MH, Morimura K & Porreca F (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Curr Opin Support Palliat Care* **8**, 143.
- Ottman R & Lipton RB (1996). Is the comorbidity of epilepsy and migraine due to a shared genetic susceptibility? *Neurology* **47**, 918–924.
- Overland AC, Kitto KF, Chabot-Doré A-J, Rothwell PE, Fairbanks CA, Stone LS & Wilcox GL (2009). Protein kinase C mediates the synergistic interaction between agonists acting at alpha2-adrenergic and delta-opioid receptors in spinal cord. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **29**, 13264–13273.

P

- Paige C, Plasencia-Fernandez I, Kume M, Papalampropoulou-Tsiridou M, Lorenzo L-E, David ET, He L, Mejia GL, Driskill C, Ferrini F, Feldhaus AL, Garcia-Martinez LF, Akopian AN, Koninck YD, Dussor G & Price TJ (2022). A Female-Specific Role for Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) in Rodent Pain Models. *J Neurosci* **42**, 1930–1944.
- Pan ZZ & Fields HL (1996). Endogenous opioid-mediated inhibition of putative pain-modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* **74**, 855–862.
- Pan ZZ, Williams JT & Osborne PB (1990). Opioid actions on single nucleus raphe magnus neurons from rat and guinea-pig in vitro. *J Physiol* **427**, 519–532.
- Pardutz A & Schoenen J (2010). NSAIDs in the Acute Treatment of Migraine: A Review of Clinical and Experimental Data. *Pharm Basel Switz* **3**, 1966–1987.
- Parker KE, Sugiarto E, Taylor AMW, Pradhan AA & Al-Hasani R (2020). Pain, Motivation, Migraine, and the Microbiome: New Frontiers for Opioid Systems and Disease. *Mol Pharmacol* **98**, 433–444.

- Parolaro D, Rubino T, Viganò D, Massi P, Guidali C & Realini N (2010). Cellular mechanisms underlying the interaction between cannabinoid and opioid system. *Curr Drug Targets* **11**, 393–405.
- Pavlovic JM, Akcali D, Bolay H, Bernstein C & Maleki N (2017a). Sex-related influences in migraine. *J Neurosci Res* **95**, 587–593.
- Pavlovic JM, Buse DC, Sollars CM, Haut S & Lipton RB (2014). Trigger factors and premonitory features of migraine attacks: summary of studies. *Headache* **54**, 1670–1679.
- Pavlovic JM, Vieira JR, Lipton RB & Bond DS (2017b). Association Between Obesity and Migraine in Women. *Curr Pain Headache Rep* **21**, 41.
- Pavlovic ZW, Cooper ML & Bodnar RJ (1996). Opioid antagonists in the periaqueductal gray inhibit morphine and beta-endorphin analgesia elicited from the amygdala of rats. *Brain Res* **741**, 13–26.
- Peeters M, Gunthorpe MJ, Strijbos PJLM, Goldsmith P, Upton N & James MF (2007). Effects of Pan- and Subtype-Selective N-Methyl-d-aspartate Receptor Antagonists on Cortical Spreading Depression in the Rat: Therapeutic Potential for Migraine. *J Pharmacol Exp Ther* **321**, 564–572.
- Peker S & Sirin A (2017). Primary trigeminal neuralgia and the role of pars oralis of the spinal trigeminal nucleus. *Med Hypotheses* **100**, 15–18.
- Penfield (1934). "A contribution to the mechanism of intracranial pain," Research Publications of the Association for Research in Nervous and Mental Disease, 15: 399-415 [proceedings, 1934] / Wilder Graves Penfield.
- Penfield W (1940). DURAL HEADACHE AND INNERVATION OF THE DURA MATER. *Arch Neurol Psychiatry* **44**, 43.
- Penzien DB, Irby MB, Smitherman TA, Rains JC & Houle TT (2015). Well-Established and Empirically Supported Behavioral Treatments for Migraine. *Curr Pain Headache Rep* **19**, 34.
- Peroutka SJ (2014). What turns on a migraine? A systematic review of migraine precipitating factors. *Curr Pain Headache Rep* **18**, 454.
- Pert CB & Snyder SH (1973). Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* **179**, 1011–1014.
- Peterlin BL, Rosso AL, Rapoport AM & Scher AI (2010). Obesity and migraine: the effect of age, gender and adipose tissue distribution. *Headache* **50**, 52–62.
- Petrovic P, Kalso E, Petersson KM & Ingvar M (2002). Placebo and opioid analgesia-- imaging a shared neuronal network. *Science* **295**, 1737–1740.

- Pfaffenrath V, Diener HC, Fischer M, Friede M, Henneicke-von Zepelin HH, & Investigators (2002). The efficacy and safety of Tanacetum parthenium (feverfew) in migraine prophylaxis--a double-blind, multicentre, randomized placebo-controlled dose-response study. *Cephalalgia Int J Headache* **22**, 523–532.
- Pfaffenrath V, Wessely P, Meyer C, Isler HR, Evers S, Grotemeyer KH, Taneri Z, Soyka D, Göbel H & Fischer M (1996). Magnesium in the prophylaxis of migraine--a double-blind placebo-controlled study. *Cephalalgia Int J Headache* **16**, 436–440.
- Phillips SC (1981). Does ethanol damage the blood-brain barrier? *J Neurol Sci* **50**, 81–87.
- Pietrobon D & Brennan KC (2019). Genetic mouse models of migraine. *J Headache Pain* **20**, 79.
- Polderman TJC, Benyamin B, de Leeuw CA, Sullivan PF, van Bochoven A, Visscher PM & Posthuma D (2015). Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. *Nat Genet* **47**, 702–709.
- Poras H, Bonnard E, Dangé E, Fournié-Zaluski M-C & Roques BP (2014). New orally active dual enkephalinase inhibitors (DENKIs) for central and peripheral pain treatment. *J Med Chem* **57**, 5748–5763.
- Poras H, Bonnard E, Fournié-Zaluski M-C & Roques BP (2015). Modulation of disulfide dual ENKephalinase inhibitors (DENKIs) activity by a transient N-protection for pain alleviation by oral route. *Eur J Med Chem* **102**, 58–67.
- Potrebic S, Ahn AH, Skinner K, Fields HL & Basbaum AI (2003). Peptidergic nociceptors of both trigeminal and dorsal root ganglia express serotonin 1D receptors: implications for the selective antimigraine action of triptans. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **23**, 10988–10997.
- Poulin J-F, Chevalier B, Laforest S & Drolet G (2006). Enkephalinergic afferents of the centromedial amygdala in the rat. *J Comp Neurol* **496**, 859–876.
- Pradhan A, Smith M, McGuire B, Evans C & Walwyn W (2013). Chronic inflammatory injury results in increased coupling of delta opioid receptors to voltage-gated Ca²⁺ channels. *Mol Pain* **9**, 8.
- Pradhan AA, Bertels Z & Akerman S (2018). Targeted Nitric Oxide Synthase Inhibitors for Migraine. *Neurotherapeutics* **15**, 391–401.
- Pradhan AA, Smith ML, Zyuzin J & Charles A (2014). δ -Opioid receptor agonists inhibit migraine-related hyperalgesia, aversive state and cortical spreading depression in mice. *Br J Pharmacol* **171**, 2375–2384.
- Pradhan AAA, Walwyn W, Nozaki C, Filliol D, Erbs E, Matifas A, Evans C & Kieffer BL (2010). Ligand-directed trafficking of the δ -opioid receptor in vivo: two paths toward analgesic tolerance. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**, 16459–16468.

Puledda F & Shields K (2018). Non-Pharmacological Approaches for Migraine. *Neurotherapeutics* **15**, 336–345.

Q

Quartu M & Del Fiacco M (1994). Enkephalins occur and colocalize with substance P in human trigeminal ganglion neurones: *NeuroReport* **5**, 465–468.

Quintela E, Castillo J, Muñoz P & Pascual J (2006). Premonitory and Resolution Symptoms in Migraine: A Prospective Study in 100 Unselected Patients. *Cephalalgia* **26**, 1051–1060.

Quirion B, Beaulieu C, Côté L, Parent J & Gendron L (2022). Distribution of delta and mu opioid receptor mRNA in rodent dorsal root ganglia neurons. *Eur J Neurosci* **56**, 4031–4044.

R

Rachinger-Adam B, Conzen P & Azad SC (2011). Pharmacology of peripheral opioid receptors. *Curr Opin Anaesthesiol* **24**, 408–413.

Raffa RB, Pergolizzi JV, LeQuang JA, Taylor R, NEMA Research Group, Colucci S & Annabi MH (2018). The fentanyl family: A distinguished medical history tainted by abuse. *J Clin Pharm Ther* **43**, 154–158.

Rahmann A, Wienecke T, Hansen J, Fahrenkrug J, Olesen J & Ashina M (2008). Vasoactive Intestinal Peptide Causes Marked Cephalic Vasodilation, but does not Induce Migraine. *Cephalalgia* **28**, 226–236.

Ramachandran R (2018). Neurogenic inflammation and its role in migraine. *Semin Immunopathol* **40**, 301–314.

Ramírez-Sánchez M, Prieto I, Segarra A-B, Martínez-Cañamero M, Banegas I & de Gasparo M (2019). Chapter Five - Enkephalinase regulation. In *Vitamins and Hormones*, ed. Litwack G, Opioid Hormones, pp. 105–129. Academic Press. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0083672919300433> [Accessed April 3, 2022].

Raskin NH, Hosobuchi Y & Lamb S (1987). Headache May Arise From Perturbation of Brain. *Headache J Head Face Pain* **27**, 416–420.

Rattanawong W, Rapoport A & Srikiatkachorn A (2022). Neurobiology of migraine progression. *Neurobiol Pain Camb Mass* **12**, 100094.

Ray BS (1940). EXPERIMENTAL STUDIES ON HEADACHE: PAIN-SENSITIVE STRUCTURES OF THE HEAD AND THEIR SIGNIFICANCE IN HEADACHE. *Arch Surg* **41**, 813.

- Ray BS & Wolff HG (1940). EXPERIMENTAL STUDIES ON HEADACHE: PAIN-SENSITIVE STRUCTURES OF THE HEAD AND THEIR SIGNIFICANCE IN HEADACHE. *Arch Surg* **41**, 813–856.
- Reaux-Le Goazigo A, Poras H, Ben-Dhaou C, Ouimet T, Baudouin C, Wurm M & Melik Parsadaniantz S (2019). Dual enkephalinase inhibitor PL265: a novel topical treatment to alleviate corneal pain and inflammation. *Pain* **160**, 307–321.
- Reid MC, Engles-Horton LL, Weber MB, Kerns RD, Rogers EL & O'Connor PG (2002). Use of Opioid Medications for Chronic Noncancer Pain Syndromes in Primary Care. *J Gen Intern Med* **17**, 173–179.
- Rexed B (1952). The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* **96**, 415–495.
- Reynolds DV (1969). Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science* **164**, 444–445.
- Riant F et al. (2022). Hemiplegic Migraine Associated With PRRT2 Variations: A Clinical and Genetic Study. *Neurology* **98**, e51–e61.
- Rice FL, Xie JY, Albrecht PJ, Acker E, Bourgeois J, Navratilova E, Dodick DW & Porreca F (2017). Anatomy and immunochemical characterization of the non-arterial peptidergic diffuse dural innervation of the rat and Rhesus monkey: Implications for functional regulation and treatment in migraine. *Cephalalgia Int J Headache* **37**, 1350–1372.
- Richardson DE & Akil H (1977a). Pain reduction by electrical brain stimulation in man. Part 1: Acute administration in periaqueductal and periventricular sites. *J Neurosurg* **47**, 178–183.
- Richardson DE & Akil H (1977b). Long term results of periventricular gray self-stimulation. *Neurosurgery* **1**, 199–202.
- van Rijn RM, Whistler JL & Waldhoer M (2010). Opioid-receptor-heteromer-specific trafficking and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol* **10**, 73–79.
- Robert C, Bourgeois L, Arreto C-D, Condes-Lara M, Nosedá R, Jay T & Villanueva L (2013). Paraventricular hypothalamic regulation of trigeminovascular mechanisms involved in headaches. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **33**, 8827–8840.
- Rockett FC, de Oliveira VR, Castro K, Chaves MLF, Perla A da S & Perry IDS (2012). Dietary aspects of migraine trigger factors. *Nutr Rev* **70**, 337–356.
- Roemer D, Buescher HH, Hill RC, Pless J, Bauer W, Cardinaux F, Clossé A, Hauser D & Huguenin R (1977). A synthetic enkephalin analogue with prolonged parenteral and oral analgesic activity. *Nature* **268**, 547–549.

- Roques BP (2000). Novel approaches to targeting neuropeptide systems. *Trends Pharmacol Sci* **21**, 475–483.
- Roques BP, Fournié-Zaluski MC (2007). Amino acid derivatives containing a disulfanyl group in the form of mixed neprilysin and aminopeptidase N inhibitors.
- Roques BP, Fournié-Zaluski MC, Soroca E, Lecomte JM, Malfroy B, Llorens C & Schwartz JC (1980). The enkephalinase inhibitor thiorphan shows antinociceptive activity in mice. *Nature* **288**, 286–288.
- Roques BP, Fournié-Zaluski M-C & Wurm M (2012). Inhibiting the breakdown of endogenous opioids and cannabinoids to alleviate pain. *Nat Rev Drug Discov* **11**, 292–310.
- Roques BP, Noble F, Daugé V, Fournié-Zaluski MC & Beaumont A (1993). Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* **45**, 87–146.
- van Rossum D, Hanisch UK & Quirion R (1997). Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors. *Neurosci Biobehav Rev* **21**, 649–678.
- Rowbotham MC & Lowenstein DH (1990). Neurologic Consequences of Cocaine Use. *Annu Rev Med* **41**, 417–422.
- Rubio-Beltrán E, Labastida-Ramírez A, Villalón CM & MaassenVanDenBrink A (2018). Is selective 5-HT_{1F} receptor agonism an entity apart from that of the triptans in antimigraine therapy? *Pharmacol Ther* **186**, 88–97.
- Russell FA, King R, Smillie S-J, Kodji X & Brain SD (2014). Calcitonin Gene-Related Peptide: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev* **94**, 1099–1142.
- Russell MB & Ducros A (2011). Sporadic and familial hemiplegic migraine: pathophysiological mechanisms, clinical characteristics, diagnosis, and management. *Lancet Neurol* **10**, 457–470.
- Russell MB & Olesen J (1995). Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* **311**, 541–544.
- Russell MB, Ulrich V, Gervil M & Olesen J (2002). Migraine without aura and migraine with aura are distinct disorders. A population-based twin survey. *Headache* **42**, 332–336.

S

- Sacco S, Ricci S, Degan D & Carolei A (2012). Migraine in women: the role of hormones and their impact on vascular diseases. *J Headache Pain* **13**, 177–189.

- Sadeghian H, Lacoste B, Qin T, Toussay X, Rosa R, Oka F, Chung DY, Takizawa T, Gu C & Ayata C (2018). Spreading depolarizations trigger caveolin-1-dependent endothelial transcytosis. *Ann Neurol* **84**, 409–423.
- Sakurai T (2007). The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat Rev Neurosci* **8**, 171–181.
- Samadi P, Bédard PJ & Rouillard C (2006). Opioids and motor complications in Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci* **27**, 512–517.
- Samsam M, Coveñas R, Yajeya J, Ahangari R, Narváez JA, Montes-Gonzalo MC & González-Barón S (2002). [Implication of the neuropeptides methionine enkephalin, neurotensin and somatostatin of the caudal trigeminal nucleus in the experimental migraine. *Rev Neurol* **34**, 724–729.
- Sances G, Tassorelli C, Pucci E, Ghiotto N, Sandrini G & Nappi G (2004). Reliability of the Nitroglycerin Provocative Test in the Diagnosis of Neurovascular Headaches. *Cephalalgia* **24**, 110–119.
- Sándor PS, Di Clemente L, Coppola G, Saenger U, Fumal A, Magis D, Seidel L, Agosti RM & Schoenen J (2005). Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: a randomized controlled trial. *Neurology* **64**, 713–715.
- Sanggaard KM, Hannibal J & Fahrenkrug J (2003). Serotonin inhibits glutamate- but not PACAP-induced per gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus at night. *Eur J Neurosci* **17**, 1245–1252.
- Saper CB (2002). The Central Autonomic Nervous System: Conscious Visceral Perception and Autonomic Pattern Generation. *Annu Rev Neurosci* **25**, 433–469.
- Sarton E, Olofsen E, Romberg R, den Hartigh J, Kest B, Nieuwenhuijs D, Burm A, Teppema L & Dahan A (2000). Sex differences in morphine analgesia: an experimental study in healthy volunteers. *Anesthesiology* **93**, 1245–1254; discussion 6A.
- Sawynok J, Pinsky C & LaBella FS (1979). On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sci* **25**, 1621–1632.
- Schain AJ, Melo-Carrillo A, Borsook D, Grutzendler J, Strassman AM & Burstein R (2018). Activation of pial and dural macrophages and dendritic cells by cortical spreading depression. *Ann Neurol* **83**, 508–521.
- Scher AI, Stewart WF, Ricci JA & Lipton RB (2003). Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain* **106**, 81–89.
- Schoenen J, Jacquy J & Lenaerts M (1998). Effectiveness of high-dose riboflavin in migraine prophylaxis. A randomized controlled trial. *Neurology* **50**, 466–470.

- Schoenen J, Vandersmissen B, Jeangette S, Herroelen L, Vandenheede M, Gerard P & Magis D (2013). Prevention of migraine by supraorbital transcutaneous neurostimulation using the Cefaly® device (PREMICE): a multi-centre, randomized, sham-controlled trial. *J Headache Pain* **14**, P184.
- Schon F (1988). Wolff's Headache and Other Head Pain 5th ed. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **51**, 1369–1370.
- Schoonman GG, Evers DJ, Terwindt GM, van Dijk JG & Ferrari MD (2006). The prevalence of premonitory symptoms in migraine: a questionnaire study in 461 patients. *Cephalalgia Int J Headache* **26**, 1209–1213.
- Schoonman GG, van der Grond J, Kortmann C, van der Geest RJ, Terwindt GM & Ferrari MD (2008). Migraine headache is not associated with cerebral or meningeal vasodilatation—a 3T magnetic resonance angiography study. *Brain J Neurol* **131**, 2192–2200.
- Schreiter A, Gore C, Labuz D, Fournie-Zaluski M-C, Roques BP, Stein C & Machelska H (2012). Pain inhibition by blocking leukocytic and neuronal opioid peptidases in peripheral inflamed tissue. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* **26**, 5161–5171.
- Schwedt TJ, Larson-Prior L, Coalson RS, Nolan T, Mar S, Ances BM, Benzinger T & Schlaggar BL (2014). Allodynia and Descending Pain Modulation in Migraine: A Resting State Functional Connectivity Analysis. *Pain Med* **15**, 154–165.
- Schytz HW, Birk S, Wienecke T, Kruuse C, Olesen J & Ashina M (2009). PACAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura. *Brain* **132**, 16–25.
- Sessle BJ (2000). Acute and Chronic Craniofacial Pain: Brainstem Mechanisms of Nociceptive Transmission and Neuroplasticity, and Their Clinical Correlates. *Crit Rev Oral Biol Med* **11**, 57–91.
- Shenoy SS & Lui F (2023). Biochemistry, Endogenous Opioids. In *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532899/> [Accessed May 17, 2023].
- Shigenaga Y, Nakatani Z, Nishimori T, Suemune S, Kuroda R & Matano S (1983). The cells of origin of cat trigeminothalamic projections: especially in the caudal medulla. *Brain Res* **277**, 201–222.
- Shivanand K, Raju S, Nizamuddin S & Jayakar B (2011). In vivo bioavailability studies of sumatriptan succinate buccal tablets. *DARU J Fac Pharm Tehran Univ Med Sci* **19**, 224–230.
- Sicuteri F, Del Bene E, Poggioni M & Bonazzi A (1987). Unmasking latent dysnociception in healthy subjects. *Headache* **27**, 180–185.

- Sicuteri F, Del Bianco PL & Anselmi B (1979). Morphine abstinence and serotonin supersensitivity in man: analogies with the mechanism of migraine? *Psychopharmacology (Berl)* **65**, 205–209.
- Silberstein SD (2015). Preventive Migraine Treatment. *Contin Lifelong Learn Neurol* **21**, 973–989.
- Sim LJ & Joseph SA (1991). Arcuate nucleus projections to brainstem regions which modulate nociception. *J Chem Neuroanat* **4**, 97–109.
- Simantov R & Snyder SH (1976). Morphine-like peptides in mammalian brain: isolation, structure elucidation, and interactions with the opiate receptor. *Proc Natl Acad Sci* **73**, 2515–2519.
- Simon EJ, Hiller JM & Edelman I (1973). Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci U S A* **70**, 1947–1949.
- Slugg RM, Meyer RA & Campbell JN (2000). Response of Cutaneous A- and C-Fiber Nociceptors in the Monkey to Controlled-Force Stimuli. *J Neurophysiol* **83**, 2179–2191.
- Smith DJ, Perrotti JM, Crisp T, Cabral ME, Long JT & Scalzitti JM (1988). The mu opiate receptor is responsible for descending pain inhibition originating in the periaqueductal gray region of the rat brain. *Eur J Pharmacol* **156**, 47–54.
- Smith ESJ & Lewin GR (2009). Nociceptors: a phylogenetic view. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* **195**, 1089–1106.
- Snyder SH (2004). Opiate receptors and beyond: 30 years of neural signaling research. *Neuropharmacology* **47**, 274–285.
- Solstrand Dahlberg L, Linnman CN, Lee D, Burstein R, Becerra L & Borsook D (2018). Responsivity of Periaqueductal Gray Connectivity Is Related to Headache Frequency in Episodic Migraine. *Front Neurol*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2018.00061> [Accessed April 15, 2023].
- Southerland WA, Gillis J, Kuppalli S, Fonseca A, Mendelson A, Horine SV, Bansal N & Gulati A (2021). Dual Enkephalinase Inhibitors and Their Role in Chronic Pain Management. *Curr Pain Headache Rep* **25**, 29.
- Stacher G, Bauer P, Steinringer H, Schreiber E & Schmierer G (1979). Effects of the synthetic enkephalin analogue FK 33-824 on pain threshold and pain tolerance in man. *Pain* **7**, 159–172.
- Stankewitz A, Aderjan D, Eippert F & May A (2011). Trigeminal nociceptive transmission in migraineurs predicts migraine attacks. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **31**, 1937–1943.
- Steeds CE (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surg Oxf* **34**, 55–59.

- Steiner TJ, Jensen R, Katsarava Z, Linde M, MacGregor EA, Osipova V, Paemeleire K, Olesen J, Peters M & Martelletti P (2019). Aids to management of headache disorders in primary care (2nd edition) : on behalf of the European Headache Federation and Lifting The Burden: the Global Campaign against Headache. *J Headache Pain* **20**, 57.
- Steiner TJ & Stovner LJ (2023). Global epidemiology of migraine and its implications for public health and health policy. *Nat Rev Neurol* **19**, 109–117.
- Stewart WF, Wood C, Reed ML, Roy J, Lipton RB, & AMPP Advisory Group (2008). Cumulative lifetime migraine incidence in women and men. *Cephalalgia Int J Headache* **28**, 1170–1178.
- Stone LS & Wilcox GL (2004). Alpha-2-adrenergic and opioid receptor additivity in rat locus coeruleus neurons. *Neurosci Lett* **361**, 265–268.
- Storer RJ, Akerman S & Goadsby PJ (2004). Calcitonin gene-related peptide (CGRP) modulates nociceptive trigeminovascular transmission in the cat. *Br J Pharmacol* **142**, 1171–1181.
- Stovner L, Hagen K, Jensen R, Katsarava Z, Lipton R, Scher A, Steiner T & Zwart J-A (2007). The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide. *Cephalalgia Int J Headache* **27**, 193–210.
- Stovner LJ et al. (2018). Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* **17**, 954–976.
- Strassman AM, Raymond SA & Burstein R (1996). Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature* **384**, 560–564.
- Strecker T, Dux M & Messlinger K (2002). Nitric oxide releases calcitonin-gene-related peptide from rat dura mater encephali promoting increases in meningeal blood flow. *J Vasc Res* **39**, 489–496.
- Streicher JM & Bilsky EJ (2018). Peripherally Acting μ -Opioid Receptor Antagonists for the Treatment of Opioid-Related Side Effects: Mechanism of Action and Clinical Implications. *J Pharm Pract* **31**, 658–669.
- Stucky CL & Lewin GR (1999). Isolectin B(4)-positive and -negative nociceptors are functionally distinct. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **19**, 6497–6505.
- Sugiura Y, Lee CL & Perl ER (1986). Central projections of identified, unmyelinated (C) afferent fibers innervating mammalian skin. *Science* **234**, 358–361.
- Sumal KK, Pickel VM, Miller RJ & Reis DJ (1982). Enkephalin-containing neurons in substantia gelatinosa of spinal trigeminal complex: Ultrastructure and synaptic interaction with primary sensory afferents. *Brain Res* **248**, 223–236.

- Sun H, Dodick DW, Silberstein S, Goadsby PJ, Reuter U, Ashina M, Saper J, Cady R, Chon Y, Dietrich J & Lenz R (2016). Safety and efficacy of AMG 334 for prevention of episodic migraine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol* **15**, 382–390.
- Sun Y, Blanco-Centurion C, Zou B, Bendell E, Shiromani PJ & Liu M (2019). Amygdala GABA Neurons Project to vIPAG And mPFC. *IBRO Rep* **6**, 132–136.
- Sun Y-G, Gu X-L & Yu L-C (2007). The neural pathway of galanin in the hypothalamic arcuate nucleus of rats: activation of beta-endorphinergic neurons projecting to periaqueductal gray matter. *J Neurosci Res* **85**, 2400–2406.
- Suwattanasophon C, Phansuwan-Pujito P & Srikiatkachorn A (2003). 5-HT(1B/1D) serotonin receptor agonist attenuates nitroglycerin-evoked nitric oxide synthase expression in trigeminal pathway. *Cephalalgia Int J Headache* **23**, 825–832.
- Syed YY (2016). Sumatriptan/Naproxen Sodium: A Review in Migraine. *Drugs* **76**, 111–121.

T

- Tajti J, Szok D, Párdutz Á, Tuka B, Csáti A, Kuris A, Toldi J & Vécsei L (2012). Where does a migraine attack originate? In the brainstem. *J Neural Transm* **119**, 557–568.
- Tajti J, Uddman R & Edvinsson L (2001). Neuropeptide localization in the “migraine generator” region of the human brainstem. *Cephalalgia Int J Headache* **21**, 96–101.
- Tajti J, Uddman R, Möller S, Sundler F & Edvinsson L (1999). Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal ganglion. *J Auton Nerv Syst* **76**, 176–183.
- Takizawa T, Ayata C & Chen S-P (2020a). Therapeutic implications of cortical spreading depression models in migraine. In *Progress in Brain Research*, pp. 29–67. Elsevier. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612320300510> [Accessed November 1, 2022].
- Takizawa T, Qin T, Lopes de Morais A, Sugimoto K, Chung JY, Morsett L, Mulder I, Fischer P, Suzuki T, Anzabi M, Böhm M, Qu W, Yanagisawa T, Hickman S, Khoury JE, Whalen MJ, Harriott AM, Chung DY & Ayata C (2020b). Non-invasively triggered spreading depolarizations induce a rapid pro-inflammatory response in cerebral cortex. *J Cereb Blood Flow Metab* **40**, 1117–1131.
- Talbot JD, Duncan GH & Bushnell CM (1989). Effects of diffuse noxious inhibitory controls (DNICs) on the sensory-discriminative dimension of pain perception. *Pain* **36**, 231–238.
- Talbot JD, Duncan GH, Bushnell CM & Boyer M (1987). Diffuse noxious inhibitory controls (DNICs): psychophysical evidence in man for intersegmental suppression of noxious heat perception by cold pressor pain. *Pain* **30**, 221–232.

- Tanure MTA, Gomez RS, Hurtado RCL, Teixeira AL & Domingues RB (2010). Increased serum levels of brain-derived neurotropic factor during migraine attacks: a pilot study. *J Headache Pain* **11**, 427–430.
- Tassorelli C & Joseph SA (1995). Systemic nitroglycerin induces Fos immunoreactivity in brainstem and forebrain structures of the rat. *Brain Res* **682**, 167–181.
- Terenius L (1973). Characteristics of the “receptor” for narcotic analgesics in synaptic plasma membrane fraction from rat brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* **33**, 377–384.
- Terrier L-M, Amelot A, François P, Destrieux C, Zemmoura I & Velut S (2018). Therapeutic Failure in Trigeminal Neuralgia: from a Clarification of Trigeminal Nerve Somatotopy to a Targeted Partial Sensory Rhizotomy. *World Neurosurg* **117**, e138–e145.
- Terrier L-M, Hadjikhani N & Destrieux C (2022). The trigeminal pathways. *J Neurol* **269**, 3443–3460.
- Thiel VE & Audus KL (2004). Nitric Oxide and Blood–Brain Barrier Integrity. <https://home.liebertpub.com/ars>; DOI: 10.1089/152308601300185223. Available at: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/152308601300185223> [Accessed April 17, 2023].
- Thompson MW & Hersh LB (2004). The Puromycin-Sensitive Aminopeptidase. In *Aminopeptidases in Biology and Disease*, ed. Hooper NM & Lendeckel U, Proteases in Biology and Disease, pp. 1–15. Springer US, Boston, MA. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8869-0_1 [Accessed May 15, 2023].
- Tietjen GE, Brandes JL, Digre KB, Baggaley S, Martin V, Reeber A, Geweke LO, Hafeez F, Aurora SK, Herial NA, Utley C & Khuder SA (2007). High prevalence of somatic symptoms and depression in women with disabling chronic headache. *Neurology* **68**, 134–140.
- Tiseo C, Vacca A, Felbush A, Filimonova T, Gai A, Glazyrina T, Hubalek IA, Marchenko Y, Overeem LH, Piroso S, Tkachev A, Martelletti P, Sacco S, & European Headache Federation School of Advanced Studies (EHF-SAS) (2020). Migraine and sleep disorders: a systematic review. *J Headache Pain* **21**, 126.
- Todd AJ, Hughes DI, Polgár E, Nagy GG, Mackie M, Ottersen OP & Maxwell DJ (2003). The expression of vesicular glutamate transporters VGLUT1 and VGLUT2 in neurochemically defined axonal populations in the rat spinal cord with emphasis on the dorsal horn. *Eur J Neurosci* **17**, 13–27.
- Todd C, Lagman-Bartolome AM & Lay C (2018). Women and Migraine: the Role of Hormones. *Curr Neurol Neurosci Rep* **18**, 42.
- Toll L, Bruchas MR, Calo’ G, Cox BM & Zaveri NT (2016). Nociceptin/Orphanin FQ Receptor Structure, Signaling, Ligands, Functions, and Interactions with Opioid Systems ed. Christie MJ. *Pharmacol Rev* **68**, 419–457.

- Tomić MA, Pecikoza UB, Micov AM, Popović BV & Stepanović-Petrović RM (2015). The Effects of Levetiracetam, Sumatriptan, and Caffeine in a Rat Model of Trigeminal Pain: Interactions in 2-Component Combinations. *Anesth Analg* **120**, 1385–1393.
- Torvik A (1957). The spinal projection from the nucleus of the solitary tract; an experimental study in the cat. *J Anat* **91**, 314–322.
- Tozzi A, de Iure A, Di Filippo M, Costa C, Caproni S, Pisani A, Bonsi P, Picconi B, Cupini LM, Materazzi S, Geppetti P, Sarchielli P & Calabresi P (2012). Critical role of calcitonin gene-related peptide receptors in cortical spreading depression. *Proc Natl Acad Sci* **109**, 18985–18990.
- Treede R-D, Meyer RA & Campbell JN (1998). Myelinated Mechanically Insensitive Afferents From Monkey Hairy Skin: Heat-Response Properties. *J Neurophysiol* **80**, 1082–1093.
- Trescot AM, Datta S, Lee M & Hansen H (2008). Opioid pharmacology. *Pain Physician* **11**, S133–153.
- Tsou K & Jang CS (1964). STUDIES ON THE SITE OF ANALGESIC ACTION OF MORPHINE BY INTRACEREBRAL MICRO-INJECTION. *Sci Sin* **13**, 1099–1109.
- Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabó N, Tóth E, Kincses ZT, Vécsei L & Tajti J (2013). Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia* **33**, 1085–1095.
- Tzeng H-R, Lee MT, Fan P-C, Knutson DE, Lai T-H, Sieghart W, Cook J & Chiou L-C (2021). α 6GABAA Receptor Positive Modulators Alleviate Migraine-like Grimaces in Mice via Compensating GABAergic Deficits in Trigeminal Ganglia. *Neurother J Am Soc Exp Neurother* **18**, 569–585.

U

- Uddman R, Edvinsson L, Ekman R, Kingman T & McCulloch J (1985). Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: trigeminal origin and co-existence with substance P. *Neurosci Lett* **62**, 131–136.
- Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, Hamada M & Takeuchi T (1976). Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by actinomycetes. *J Antibiot (Tokyo)* **29**, 97–99.
- Urbach A, Bruehl C & Witte OW (2006). Microarray-based long-term detection of genes differentially expressed after cortical spreading depression. *Eur J Neurosci* **24**, 841–856.

V

- Valverde O, Fournié-Zaluski MC, Roques BP & Maldonado R (1996). Similar involvement of several brain areas in the antinociception of endogenous and exogenous opioids. *Eur J Pharmacol* **312**, 15–25.
- Vanderah TW (2010). Delta and kappa opioid receptors as suitable drug targets for pain. *Clin J Pain* **26 Suppl 10**, S10-15.
- Vaughan CW, Bagley EE, Drew GM, Schuller A, Pintar JE, Hack SP & Christie MJ (2003). Cellular actions of opioids on periaqueductal grey neurons from C57B16/J mice and mutant mice lacking MOR-1. *Br J Pharmacol* **139**, 362–367.
- Vaughan CW & Christie MJ (1997). Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey in vitro. *J Physiol* **498**, 463–472.
- Veinante P, Jacquin MF & Deschênes M (2000). Thalamic projections from the whisker-sensitive regions of the spinal trigeminal complex in the rat. *J Comp Neurol* **420**, 233–243.
- Veloso F, Kumar K & Toth C (1998). Headache Secondary to Deep Brain Implantation. *Headache J Head Face Pain* **38**, 507–515.
- Vetvik KG & MacGregor EA (2017). Sex differences in the epidemiology, clinical features, and pathophysiology of migraine. *Lancet Neurol* **16**, 76–87.
- Viana M, Genazzani AA, Terrazzino S, Nappi G & Goadsby PJ (2013). Triptan nonresponders: Do they exist and who are they? *Cephalalgia* **33**, 891–896.
- Vicente-Sanchez A & Pradhan AA (2018). Ligand-Directed Signaling at the Delta Opioid Receptor. *Handb Exp Pharmacol* **247**, 73–85.
- Vicente-Sanchez A, Segura L & Pradhan AA (2016). The delta opioid receptor tool box. *Neuroscience* **338**, 145–159.
- Vila-Pueyo M, Strother LC, Kefel M, Goadsby PJ & Holland PR (2019). Divergent influences of the locus coeruleus on migraine pathophysiology. *Pain* **160**, 385–394.
- Volkow ND & McLellan AT (2016). Opioid Abuse in Chronic Pain — Misconceptions and Mitigation Strategies. *N Engl J Med* **374**, 1253–1263.

W

- Waksman G, Hamel E, Fournié-Zaluski MC & Roques BP (1986). Autoradiographic comparison of the distribution of the neutral endopeptidase “enkephalinase” and of mu and delta opioid receptors in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**, 1523–1527.

- Wang H & Wessendorf MW (1999). Mu- and delta-opioid receptor mRNAs are expressed in spinally projecting serotonergic and nonserotonergic neurons of the rostral ventromedial medulla. *J Comp Neurol* **404**, 183–196.
- Wang H & Wessendorf MW (2002). μ - And δ -opioid receptor mRNAs are expressed in periaqueductal gray neurons projecting to the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* **109**, 619–634.
- Wang X, Ebong SJ, Call DR, Newcomb DE, Bolgos GR & Remick DG (2002). Calcitonin gene-related peptide partially reverses decreased production of chemokines KC and MIP-2 following murine sepsis. *Inflammation* **26**, 167–174.
- Wattiez A-S, Wang M & Russo AF (2019). CGRP in Animal Models of Migraine. In *Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Mechanisms: Focus on Migraine*, ed. Brain SD & Geppetti P, Handbook of Experimental Pharmacology, pp. 85–107. Springer International Publishing, Cham. Available at: https://doi.org/10.1007/164_2018_187 [Accessed April 17, 2023].
- Wex T, Bühling F, Arndt M, Frank K, Ansorge S & Lendeckel U (1997). The activation-dependent induction of APN-(CD13) in T-cells is controlled at different levels of gene expression. *Febs Lett* **412**, 53–56.
- Willer JC, Bouhassira D & Le Bars D (1999). [Neurophysiological bases of the counterirritation phenomenon: diffuse control inhibitors induced by nociceptive stimulation]. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol* **29**, 379–400.
- Willer JC, Roby A & Ernst M (1986). The enkephalinase inhibitor, GB 52, does not affect nociceptive flexion reflexes nor pain sensation in humans. *Neuropharmacology* **25**, 819–822.
- Williams AE & Rhudy JL (2009). Supraspinal Modulation of Trigeminal Nociception and Pain. *Headache J Head Face Pain* **49**, 704–720.
- Williams FG & Beitz AJ (1990). Ultrastructural morphometric analysis of GABA-immunoreactive terminals in the ventrocaudal periaqueductal grey: analysis of the relationship of GABA terminals and the GABAA receptor to periaqueductal grey-raphe magnus projection neurons. *J Neurocytol* **19**, 686–696.
- Williams FG, Mullet MA & Beitz AJ (1995). Basal release of Met-enkephalin and neurotensin in the ventrolateral periaqueductal gray matter of the rat: a microdialysis study of antinociceptive circuits. *Brain Res* **690**, 207–216.
- Williams MN, Zahm DS & Jacquin MF (1994). Differential foci and synaptic organization of the principal and spinal trigeminal projections to the thalamus in the rat. *Eur J Neurosci* **6**, 429–453.

- Williams RG & Dockray GJ (1983). Distribution of enkephalin-related peptides in rat brain: immunohistochemical studies using antisera to met-enkephalin and met-enkephalin Arg6Phe7. *Neuroscience* **9**, 563–586.
- Williamson DJ, Hargreaves RJ, Hill RG & Shephard SL (1997). Intravital microscope studies on the effects of neurokinin agonists and calcitonin gene-related peptide on dural vessel diameter in the anaesthetized rat. *Cephalalgia Int J Headache* **17**, 518–524.
- Willis WD (1985). Central nervous system mechanisms for pain modulation. *Appl Neurophysiol* **48**, 153–165.
- Winters BL, Gregoriou GC, Kissiwaa SA, Wells OA, Medagoda DI, Hermes SM, Burford NT, Alt A, Aicher SA & Bagley EE (2017). Endogenous opioids regulate moment-to-moment neuronal communication and excitability. *Nat Commun* **8**, 14611.
- Wöber C, Wöber-Bingöl Ç, Uluduz D, Aslan TS, Uygunoglu U, Tüfekçi A, Alp SI, Duman T, Sürgün F, Emir GK, Demir CF, Balgetir F, Özdemir YB, Auer T, Siva A & Steiner TJ (2018). Undifferentiated headache: broadening the approach to headache in children and adolescents, with supporting evidence from a nationwide school-based cross-sectional survey in Turkey. *J Headache Pain* **19**, 18.
- Woods RP, Iacoboni M & Mazziotta JC (1994). Brief report: bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med* **331**, 1689–1692.
- Wykes P (1968). The treatment of angina pectoris with coexistent migraine. *The Practitioner* **200**, 702–704.

X

- Xie JY, Felice MD, Kopruszinski CM, Eyde N, LaVigne J, Remeniuk B, Hernandez P, Yue X, Goshima N, Ossipov M, King T, Streicher JM, Navratilova E, Dodick D, Rosen H, Roberts E & Porreca F (2017). Kappa opioid receptor antagonists: A possible new class of therapeutics for migraine prevention. *Cephalalgia Int J Headache* **37**, 780–794.

Y

- Yaksh TL & Elde RP (1981). Factors governing release of methionine enkephalin-like immunoreactivity from mesencephalon and spinal cord of the cat in vivo. *J Neurophysiol* **46**, 1056–1075.
- Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Bajwa ZH, Ransil BI, Cutrer FM, Sottile A & Burstein R (2003). 2003 Wolff Award: Possible Parasympathetic Contributions to Peripheral and Central Sensitization During Migraine. *Headache J Head Face Pain* **43**, 704–714.
- Yeung JC, Yaksh TL & Rudy TA (1977). Concurrent mapping of brain sites for sensitivity to the direct application of morphine and focal electrical stimulation in the production of antinociception in the rat. *Pain* **4**, 23–40.

Yücel M, Kotan D, Gurol Çiftçi G, Çiftçi IH & Cikriklar HI (2016). Serum levels of endocan, claudin-5 and cytokines in migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **20**, 930–936.

Z

Zagami AS, Edvinsson L & Goadsby PJ (2014). Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and migraine. *Ann Clin Transl Neurol* **1**, 1036–1040.

Zagami AS, Goadsby PJ & Edvinsson L (1990). Stimulation of the superior sagittal sinus in the cat causes release of vasoactive peptides. *Neuropeptides* **16**, 69–75.

Zhang X, Kainz V, Zhao J, Strassman AM & Levy D (2013). Vascular extracellular signal-regulated kinase mediates migraine-related sensitization of meningeal nociceptors. *Ann Neurol* **73**, 741–750.

Zhang X, Levy D, Kainz V, Nosedá R, Jakubowski M & Burstein R (2011). Activation of central trigeminovascular neurons by cortical spreading depression. *Ann Neurol* **69**, 855–865.

Zhang X, Levy D, Nosedá R, Kainz V, Jakubowski M & Burstein R (2010). Activation of Meningeal Nociceptors by Cortical Spreading Depression: Implications for Migraine with Aura. *J Neurosci* **30**, 8807–8814.

Zhang X, Zhang Y, Asgar J, Niu K, Lee J, Lee K, Schneider M & Ro J (2014). Sex differences in mu opioid receptor expression in trigeminal ganglia under a myositis condition in rats. *Eur J Pain Lond Engl* **18**, 151–161.

Zhang Y, Zhao S, Rodriguez E, Takatoh J, Han B-X, Zhou X & Wang F (2015). Identifying local and descending inputs for primary sensory neurons. *J Clin Invest* **125**, 3782–3794.

Zhao J & Levy D (2016). Cortical Spreading Depression Promotes Persistent Mechanical Sensitization of Intracranial Meningeal Afferents: Implications for the Intracranial Mechanosensitivity of Migraine. *eNeuro* **3**, ENEURO.0287-16.2016.

Zhao Y-L, Chen S-R, Chen H & Pan H-L (2012). Chronic Opioid Potentiates Presynaptic but Impairs Postsynaptic N-Methyl-d-aspartic Acid Receptor Activity in Spinal Cords: IMPLICATIONS FOR OPIOID HYPERALGESIA AND TOLERANCE*. *J Biol Chem* **287**, 25073–25085.