



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Spreading depolarizations : the missing link between migraine and stroke

Ayata, C.

Citation

Ayata, C. (2016, November 24). *Spreading depolarizations : the missing link between migraine and stroke*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/44385>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/44385>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/44385> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Ayata, C.

Title: Spreading depolarizations : the missing link between migraine and stroke

Issue Date: 2016-11-24

SAMENVATTING

Het onderzoek in dit proefschrift had als doel om de centrale hypothese te testen of de gevoeligheid voor 'spreading depolarization' (SD) op gelijksoortige wijze de gevoeligheid beïnvloedt op migraine met aura en hypoxie/ischemie. Uitgangspunt hierbij is dat factoren die de gevoeligheid voor SD vergroten mogelijk ook de kans op het ontwikkelen van migraine en een ischemische beroerte vergroten. Om die reden werd onderzocht in hoe verre genetische, hormonale en farmacologische modulators de gevoeligheid voor ischemische schade beïnvloeden. Dit geeft inzicht in onderliggende mechanismen van de gevoeligheid van zowel SD als ischemische schade. Centraal in het onderzoek staat het gebruik van twee transgene migraine muismodellen met migraine-relevante FHM1 genmutaties in voltage-afhankelijke $\text{Ca}_v2.1 \text{ Ca}^{2+}$ kanalen.

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van de pathofysiologie van migraine met aura, acute beroerte en diens beloop, en de klinische associatie tussen migraine en beroerte. De concepten 'spreading depression', 'spreading depolarization', 'peri-infarct depolarizations' en 'injury depolarizations' worden geïntroduceerd om data die gepresenteerd worden in de **Hoofdstukken 2-4** in de juiste context te kunnen plaatsen.

In **Hoofdstuk 2A** wordt aangetoond dat twee FHM1 missense mutaties in het *Cacna1a* gen (R192Q en S218L) de gevoeligheid voor CSD vergroten, en dat de S218L mutatie, die geassocieerd is met een ernstiger klinisch fenotype dan de R192Q mutatie, de gevoeligheid voor CSD in meer vergroot dan de R192Q mutatie. Er werd ook een allel-dosis effect gevonden, waarbij heterozygote mutante dieren een intermediair fenotype hebben, dat ligt tussen dat van homozygote mutante en wild-type controle dieren. Neurologische uitingen (zoals hemiparese en het draaien van rondjes om de as) als gevolg van CSD, die geïnduceerd is in de hersenschors van R192Q en S218L knock-in muizen, blijken een grote gelijkenis te vertonen met de klinische verschijnselen die FHM patiënten met de respectievelijke mutaties laten zien. Daarnaast hebben we de modulatorische rol van vrouwelijke geslachtshormonen vast kunnen stellen door te laten zien, dat i) vrouwtjes FHM mutante dieren een grotere gevoeligheid voor CSD hebben dan mannetjes, ii) ovariectomie die gevoeligheid vermindert, en iii) toediening van oestrogeen het geslachtsverschil in het CSD fenotype herstelt. Deze data passen goed bij de hogere gevoeligheid van vrouwen van reproductieve leeftijd om migraine te krijgen en geeft aan dat er een interactie bestaat tussen oestrogeen en genetische factoren die gevoeligheid voor het hebben van migraine bepalen.

Een alternatieve verklaring voor de verhoogde gevoeligheid van vrouwen om migraine te krijgen zou een mogelijk beschermend effect van androgenen kunnen zijn. Om die reden hebben we in **Hoofdstuk 2B** de modulatorische rol van mannelijke geslachtshormonen bestudeerd. Met goed gecontroleerde elektrofysiologische

methoden werd aangetoond dat, *in vivo*, castratie (orchiectomie) de CSD gevoeligheid verhoogt en dat chronische toediening, maar niet een enkele dosis, van testosteron die gevoeligheid herstelt via een androgen-receptor afhankelijk mechanisme in FHM1 mutante dieren. Deze data suggereren dat mannelijke en vrouwelijke geslachtshormonen tegengestelde effecten hebben op de gevoeligheid voor CSD. Net als in vrouwelijke muizen, werd geen effect van mannelijke hormonen op de gevoeligheid van SD in wild-type dieren gevonden, wat opnieuw duidt op een interactie van de hormonale status en genetische factoren die de migraine gevoeligheid bepalen.

In **Hoofdstuk 2C** gaat de aandacht naar het vaststellen van ernstige en langdurige neurologische gebreken (zoals coma en hemiparese) die FHM1 mutante dieren ontwikkelen na een corticale SD (als beschreven in **Hoofdstuk 2A**). Gezien het feit dat potentialen opgewekt in de corticale somatosensore hersenschors op ongeveer dezelfde wijze herstellen in wild-type en FHM1 mutante dieren, lijkt een vertraagd functioneel herstel van de hersenschors niet de boosdoener van de ernstige langdurige neurologische gebreken. Om die reden bestudeerden we in **Hoofdstuk 2C** de alternatieve hypothese namelijk dat een ontregeling in hersengebieden die zich bevinden onder de hersenschors ("subcortical") verantwoordelijk zijn voor de ernstige langdurige neurologische gebreken in FHM. We maakten daarvoor gebruik van multifocale intracerebrale elektrofysiologische metingen in FHM mutante dieren en toonden aan dat de gevoeligheid voor SD significant is verhoogd in striatum, thalamus en hippocampus en dat SD golven, die opgewekt werden in de hersenschors, deze hersengebieden konden bereiken via grijze stofverbindingen met dezelfde genetische en geslachts-gerelateerde patronen van modulatie als beschreven in de **Hoofdstukken 2A en 2B**. Het is zelfs zo dat een 'subcortical' SD de hersenschors weer kan bereiken met herintredende terugkaatsende cortico-subcorticale SD golven in extra gevoelige FHM1 mutante dieren tot gevolg, die een verklaring kunnen zijn voor de neurologische gebreken die grote gelijking vertonen met die in FHM patiënten.

In **Hoofdstuk 3A** testten we de centrale hypothese dat genetische en hormonale determinanten van de gevoeligheid voor CSD de hersenen gevoeliger maken voor ischemie, door *in vivo* elektrofysiologie, MRI, optische beeldvorming van de cerebrale doorbloeding te combineren met standaard modellen voor de bestudering van focale cerebrale ischemie. Wij toonden aan dat FHM1 mutaties nadelige gevolgen hebben voor het klinische beeld en het hersenweefsel na een focale cerebrale ischemie. Er werden geslachtsverschillen gevonden voor de gevolgen van ischemie (vrouwtjes muizen doen het slechter dan mannetjes muizen), wat goed past bij de gevonden effecten van geslachtshormonen op de gevoeligheid van SD (als beschreven in **Hoofdstukken 2A en 2B**), maar met tegenovergesteld effect als waargenomen in wild-type dieren. We hebben ook een allel-dosis effect gevonden, waarbij homozygote FHM1 mutante dieren

het slechter deden dan heterozygote dieren. 'Anoxic depolarisation' en 'peri-infarct depolarization' werden als mechanisme geïdentificeerd voor de versnelde groei van de infarctgrootte in FHM1 mutante muizen, net als de verhoogde gevoeligheid voor SD die de migraine aura verschijnselen kan verklaren. Kortom, de data ondersteunen de hypothese dat een verhoogde gevoeligheid voor SD leidt tot een verslechtering van de gevolgen van ischemie, die hiermee een directe mechanistische link geeft tussen migraine met aura en ischemische beroerte.

Het is bekend dat profylactische migraine drugs als werkingsmechanisme het onderdrukken van de gevoeligheid voor SD kunnen hebben. Migraine profylaxe geeft de mogelijkheid om de gevoeligheid voor SD te moduleren in de exact tegenovergestelde richting als gebeurt met migraine mutaties. In **Hoofdstuk 3B** laten we, paradoxaal, zien dat de onderdrukking van de gevoeligheid van SD met een chronische (>4 weken durende) behandeling met de migraine profylactische drugs topiramaat en lamotrigine de hersenen resistent maakt tegen ischemische schade. We lieten zien dat het effect aanwezig is zowel in wild-type muizen als FHM mutante dieren. In dat hoofdstuk bevestigen we ook de effectiviteit van profylactische migraine drugs op SD gevoeligheid, die tot dan toe alleen in ratten was aangetoond. Bovendien werd gevonden dat een behandeling met een enkele dosis van deze drugs vlak voor de test ineffectief is, waarmee nogmaals wordt aangetoond dat een chronische behandeling met de drugs noodzakelijk is. Tenslotte geven we bewijs dat kleinere ischemische infarcten leiden tot meer gewenste functionele neurologische uitkomstmaten, waarmee de klinische implicaties van onze bevindingen goed is geïllustreerd.

In **Hoofdstuk 4** wordt bestaande kennis van gedeelde mechanismen van migraine en beroerte bediscussieerd.

Tenslotte, worden in **Hoofdstuk 5** alle experimentele bevindingen en bevindingen uit de literatuur besproken in relatie tot klinische observaties over de associatie tussen migraine en beroerte, waarbij we ons richten op potentiële mechanismen voor die associatie, en andere die we hebben bestudeerd in dit proefschrift. We hopen dat dit proefschrift de weg zal vrijmaken voor nieuwe gedachtevorming en discussie omtrent additioneel onderzoek naar de associatie tussen migraine en cerebrovasculaire ziekten, de ontdekking van nieuwe ziektemechanismen, of de bevestiging van reeds voorgestelde mechanismen, en zal leiden tot een groter begrip van het klinisch belang bij praktiserend artsen.

