

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Verhaltensbiologische Untersuchungen in einem
experimentellen Kopfschmerzmodell

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Fabia Triebe

aus: Berlin

Gutachter/in: 1. PD. Dr. med. U. Reuter
 2. PD. Dr. med. G. Arnold
 3. PD. Dr. med. F. Masuhr

Datum der Promotion: 30.11.2012

Gliederung

Kapitel	Titel	Seite
1.	Einleitung	1-10
1.1	Migräne	1-5
1.2	Experimentelle Migränemodelle	5-7
1.3	Substanzgetriggerte Induktion einer aseptischen Entzündung bei Ratten	7-9
1.3.1	Interleukin-1 β	7-8
1.3.2	Capsaicin	8
1.3.3	Was bewirken Interleukin-1 β und Capsaicin bei Ratten?	8-9
1.4	Aufgabenstellung	9-10
2.	Material und Methoden	11-23
2.1	Tiermaterial und Versuchsablauf	11-12
2.2	Chirurgischer Eingriff	13-15
2.3	Versuchsreihen	15-17
2.4	Verhaltenstests	18-22
2.4.1	Open field	18-21
2.4.1.1	Versuchsaufbau	18-21
2.4.2	Fütterungsversuche	21-22
2.4.2.1	Herstellung von Kirschagar	23
2.4.2.2	Motorische Aktivität	23
2.5	Versuchsauswertung und Statistik	23
3.	Ergebnisse	24-51
3.1	Open field	25-39
3.1.1	Putzen (grooming)	25-27
3.1.2	Elevationsbewegung (rearing)	27-28
3.1.3	Kopfschüttelbewegungen (headshakes)	28-30
3.1.4	Strecke im Mittelfeld (distance inner area)	30-31
3.1.5	Gesamtstrecke (total distance)	32-33

3.1.5.1	VideoMot2-Streckenvergleich Capsaicin- und Kontrollreihe	33-34
3.1.6	Latenz (latency)	34-36
3.1.7	Geschwindigkeit (velocity)	36-37
3.1.8	Zeit in den Ecken (time in corners)	37-38
3.1.9	Zusammenfassung der Ergebnisse des Open field	38-39
3.2	Fütterungsversuch über zwölf Stunden	39-44
3.2.1	Futteraufnahme (food intake)	39-42
3.2.2	Wasseraufnahme (water consumption)	44-44
3.2.3	Motorische Aktivität im Käfig (locomotor activity)	43-49
3.2.3.1	Leerlaufmessung	44-46
3.2.3.2	Motorische Aktivität während des zweiten Versuches	46-49
3.2.3.3	Zusammenfassung der Ergebnisse des Fütterungsversuches über zwölf Stunden	49-50
3.3	Kirschagar-Fütterungsversuch	50-58
3.3.1	Agaraufnahme	50-52
3.3.2	Futteraufnahme	52-54
3.3.3	Motorische Aktivität	54-57
3.3.4	Zusammenfassung der Ergebnisse des Kirschagar – Fütterungsversuches	58
4.	Diskussion	59-76
4.1	Stimulation der Dura mater	59
4.1.1	Interleukin-1 β	59-60
4.1.2	Capsaicin	61
4.2	Verhaltensexperimente	62-68
4.2.1	Open field	62-64
4.2.2	Fütterungsversuch über zwölf Stunden	65-67
4.2.3	Kirschagar – Fütterungsversuch	68-69
4.3	Pharmakologische Intervention	69-71
4.3.1	Sumatriptan	69-70
4.3.2	Indometacin	70-71
4.4	Vergleich von Scheinoperation und Kontrollen	71-72
4.5	Die Rolle der Vehikellösung	72
4.6	Vergleich mit dem Verhaltensmodell – Voice records	72-76
4.7	Schlussfolgerungen	76
5.	Zusammenfassung	77-79

6.	Literatur	80-87
7.	Abkürzungen	88
8.	Abbildungsverzeichnis	89
9.	Tabellenverzeichnis	90
10.	Publikationsliste	91
11.	Selbstständigkeitserklärung	92
12.	Lebenslauf	93
13.	Danksagung	94

1. Einleitung

1.1 Migräne

Migräne ist eine episodisch auftretende, neurovaskuläre Erkrankung des Gehirns. Kernelemente sind die Blutgefäße von Parenchym (Kortex), die Dura mater und das trigeminale Nervensystem. Periodisch treten Kopfschmerzattacken, typischerweise mit Begleitbeschwerden wie Übelkeit und Erbrechen auf. Migräneattacken sind mit Überempfindlichkeiten auf Licht, Lärm und Gerüche kombiniert [Diener, 2001]. Die Migräne kann zu schwerwiegenden sozialen, ökonomischen und persönlichen Einschränkungen führen und ist von der World Health Organization (WHO) unter den Top 20 Erkrankungen mit Behinderungen eingestuft worden [Diener, 2001]. Der Anteil der Erkrankten, die regelmäßig mindestens einmal pro Jahr eine Migräneattacke erleiden, beträgt bei Frauen 15-20% und bei Männern 6-8%. Die Erstmanifestation liegt zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr, wobei sich die höchste Prävalenz in der Zeit zwischen dem 25. und 55. Lebensjahr zeigt [Diener, 2001] (s. Abb. 1). Der geschlechtsspezifische Unterschied wird durch hormonelle und genetische Faktoren begründet [Diener, 2001]. Die Auswirkungen der Migräne stellen ein Problem mit enormem Ausmaß für Individuum und Gesellschaft dar.

Nach einer Studie von Goldberg et al., 2005 liegen die jährlichen Gesamtkosten der Migräne in den Vereinigten Staaten bei 17 Billionen Dollar. Die direkten Kosten beziehen sich auf die medikamentöse Behandlung, Notdienstbesuche, Krankenhausaufenthalte, allgemeine medizinische Unterstützung und Laboruntersuchungen. Die indirekten Kosten übersteigen die direkten Kosten um ein Vielfaches und entstehen durch die verminderte Produktivität der Betroffenen am Arbeitsplatz [Goldberg, 2005]. Hierbei muss darauf hingewiesen werden, dass die Prävalenz der Migräne in den sozio-ökonomisch produktiven Jahren im Alter von 25 bis 55 am höchsten ist. Daher kann die Migräne durch den Ausfall von Arbeitskräften zu hohen, finanziellen Defiziten des Staates beitragen. (s. Abb. 1) [Mennini et al., 2008; Hazard et al., 2008].

Abbildung 1 zeigt die Prävalenz der Migräne bei Männern und Frauen in Bezug zum Lebensalter.

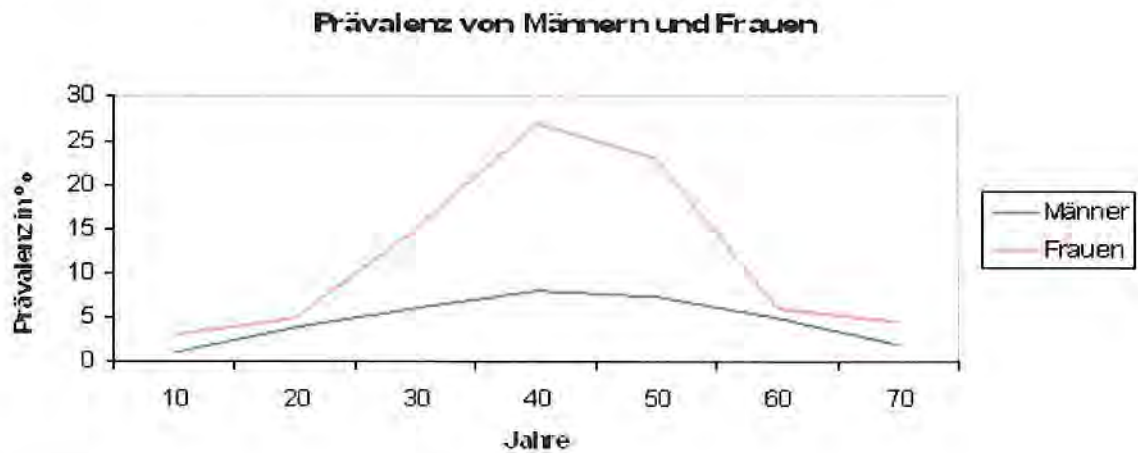


Abbildung 1:

Verteilung der Prävalenz der Migräne bei Männern und Frauen. Der Häufigkeitsgipfel bei Männern und Frauen in den sozio-ökonomisch produktiven Jahren verdeutlicht die durch Migräne entstehenden finanziellen Verluste.

Man unterscheidet prinzipiell zwischen einer Migräne ohne Aura und einer Migräne mit Aura. Davon abzugrenzen sind Sonderformen wie die retinale Migräne, Migräne vom Basilaristyp, sowie Beschwerdebilder als Vorläufer der Migräne im Kindes- und Jugendalter [Schaible und Ebersberger, 2002]. Migränekopfschmerzen über 15 Tage im Monat und über mindestens ein Vierteljahr bestehend, definieren die chronische Migräne.

Der Verlauf eines Migräneanfalls kann in verschiedene Phasen eingeteilt werden. Er beginnt häufiger mit der Prodromalphase, in der psychische Symptome wie depressive Verstimmung, Überaktivität sowie neurologische Symptome wie Lichtempfindlichkeit, eventuelle Sprachstörungen und Müdigkeit auftreten [Griffin et al., 2002]. Darauf folgt in 15 - 20% der Fälle die Auraphase, charakterisiert durch Parästhesien, Paresen und am häufigsten wandernde Skotome. In der Kopfschmerzphase erlebt der Betroffene oft halbseitig pulsierende oder pochende Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, begleitet von Photophobie und Phonophobie. In einigen Fällen wird von einer weiteren Nachschwankungsphase mit Polyurie und Müdigkeit berichtet [Diener, 2001].

Weitere Symptome der Migräne sind Schlafstörungen, Temperaturveränderungen mit Fieber, Stressanfälligkeit, Stimmungsschwankungen, gesteigerter Harndrang, Gähnen und Heißhunger [Breslau and Davis, 1993]. Die International Headache Society (IHS) hat eine Klassifizierung der einzelnen Migräneformen vorgenommen, die auf verschiedenen Kriterien basiert [International Headache Society, 2004].

Mittlerweile konnte überzeugend gezeigt werden, dass ein der Aura zugrundeliegendes pathophysiologisches Korrelat (CSD) das trigeminale Schmerzsystem aktivieren kann. Somit ist ein Weg der Aktivierung dieses Systems bekannt [Bolay et al., 2002]. Andere Aktivierungsmechanismen existieren sicher, müssen jedoch noch charakterisiert werden.

Bei der komplexen biologischen Funktionsstörung des Gehirns im Fall der Migräne geht man von einer intermittierenden Störung der trigeminovaskulären Innervation der Meningen aus. Dabei werden vasoaktive Neuropeptide freigesetzt, die auch zu Veränderungen der Transmission von Schmerzsignalen im Hirnstamm und Veränderungen der kortikalen Erregbarkeit führen [Diener, 2001].

Zur Ätiologie der Migräne gibt es zwei führende Erklärungsansätze. Die *Theorie der Neurogenen Entzündung* [Moskowitz, 1993] beschreibt anhand experimenteller Untersuchungen, dass der Migränekopfschmerz auf einer „sterilen“ Entzündung der meningealen Blutgefäße beruht, die die Schmerzempfindlichkeit vergrößert [Ebersberger, 2002; De Vries et al., 1999]. Dabei werden vasoaktive Neuropeptide aus Nervenendigungen von Nervenzellen des trigeminalen Systems freigesetzt [Moskowitz und Macfarlane, 1993]. Wichtige Neuropeptide für die Migräneattacke mit gefäßerweiternder Wirkung sind Calcitonin-gene-related peptide (CGRP), Substanz P (SP), vasointestinales Peptid (VIP) und Neurokinin A [Dalkara et al., 2006; Sanchez del Rio et al., 2000]. Kongruent zur Gefäßerweiterung folgt die Plasmaextravasation. Dabei werden Entzündungsmediatoren wie Histamin, Serotonin und Prostaglandine freigesetzt, die die neurogen bedingte Entzündung perpetuieren.

Die *Hirnstammaktivierung* beschreibt eine weitere Theorie der Schmerzentstehung durch die spontane Inhibierung der inhibitorischen deszendierenden Neurone, die das trigeminale Schmerzsystem kontrollieren. Das periaquäduktale Grau im Hirnstamm wird im Tierexperiment als Kernelement vermutet, da es als zentrale Funktion eingehende Schmerzreize hemmt oder deren Weiterverarbeitung drosselt. Bei Ausfall während einer Migräneattacke konnte eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit durch verminderte Schmerzhemmung gemessen werden [Levy et al., 2003]. Ursprünglich nicht schmerzhafte eingehende Reize, wie z.B. die herzsschlagbedingte Pulsation der Arteriengefäßwand werden bei mehr als 60% der Patienten im Rahmen einer Migräneattacke als schmerzhaft empfunden [Diener, 2001]. Dieser erhöhten Schmerzempfindlichkeit liegt eine Sensibilisierung trigeminaler Neurone zugrunde.

Therapie der Migräne

Die medikamentöse Behandlung der Migräne lässt sich in Symptom lindernde und prophylaktische Medikamente einteilen [Goldberg, 2005]. Zu den Symptom lindernden

Medikamenten zählen Triptane, Ergotamine und Nichtsteroidale Antirheumatika. Eine Migräneprophylaxe wird durch Betablocker, eine Subgruppe der Ca^{2+} -Kanalblocker und antiepileptische Medikamente erreicht [Mennini et al., 2008]. Die wirksamsten Substanzen der Akutbehandlung der Migräne sind die Triptane. Bei ihnen handelt es sich um selektive Serotonin-Rezeptor-Agonisten der Gruppe 5-HT_{1B} und 5-HT_{1D} [Buzzi und Moskowitz, 1991]. Dabei ist Sumatriptan das erste entwickelte Mittel aus dieser Gruppe. Generell weisen Triptane drei Wirkungsmechanismen auf: Sie blockieren die Ausschüttung vasoaktiver Neuropeptide, die während einer Migräneattacke freigesetzt werden (z.B. die Freisetzung von CGRP) und wirken hemmend an Neuronen des Nucleus caudalis des Nervus trigeminus, die normalerweise Schmerzsignale aus der Dura vermitteln [Durham et al., 2004]. Zusätzlich bewirken Triptane möglicherweise eine Konstriktion dilatierter Arterien von Dura und Gehirn [Buzzi und Moskowitz 1990, Hoskin et al., 1996]. In wieweit die zuletzt beschriebene Wirkung zur Behandlung der Migräne notwendig ist, wird momentan sehr kontrovers diskutiert und erscheint aufgrund neuester Daten nicht zwingend notwendig. Zu den häufigsten Nebenwirkungen der Triptane zählen Myalgien, Engegefühl des Brustkorbs, Schwindel, Benommenheit und allgemeines Schwächegefühl zusammen mit erhöhter Müdigkeit [Mett und Tfelt-Hansen, 2008; Sullivan et al., 1992; Dahlöf, 1995]. Daher werden die Triptane oft mit einem Antiemetikum (Metoclopramid, Domperidon) kombiniert. Ihre Einnahme fördert, über die Erhöhung der unwillkürlichen Transportbewegungen des Magens, die Aufnahme des Medikaments über den Dünndarm in das Blut [Diener, 2001] und reduziert die Migränesymptome Übelkeit und Erbrechen.

Zur Behandlung des Migränekopfschmerzes können auch Schmerzmittel eingesetzt werden. Die klassischen Vertreter sind Acetylsalicylsäure, Paracetamol und Ibuprofen [Diener, 2001]. Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) haben in der Migränetherapie aufgrund ihrer guten Wirksamkeit einen hohen Stellenwert erreicht.

Das zur Behandlung der Migräne eingesetzte Indometacin ist ein Inhibitor der Cyclooxygenase-1 und -2 (COX-1, COX-2) und wirkt schmerzlindernd, entzündungshemmend und fiebersenkend [Diamond, 1984]. Es hemmt die Bildung von Prostaglandinen, welche spezielle Entzündungsmediatoren darstellen [Diamond, 1989].

Weiterhin verhindern Indometacin wie auch Sumatriptan im Experiment die neurogene Plasmaextravasation in der Dura mater von Ratten, wodurch die Entzündungskaskade unterbrochen wird [Buzzi et al., 1989]. Die fiebersenkende Wirkung kommt durch eine Beeinflussung des Hypothalamus, dem Temperaturregelzentrum des Gehirns, zu Stande. Zudem hat Indometacin einen hemmenden Einfluss auf die Blutgerinnung, baut entzündliche Schwellungen ab und lindert durch Entzündungsvorgänge hervorgerufene Schmerzen [Diamond, 1989]. Seine Anwendungsgebiete sind u. a. Entzündungen von Gelenken,

Muskeln, Sehnen, Sehnenscheiden und Schleimbeuteln, rheumatoide Arthritis, Migräne und paroxysmale Hemikranie. Nebenwirkungen des Indometacins sind Wahrnehmungs- und Stimmungsbeeinträchtigungen wie Depressionen, Euphorie, Verwirrungszustände, Halluzinationen und Alpträume, Magen-Darm-Beschwerden bis hin zu Geschwüren und Blutbildveränderungen. Bei oraler Einnahme wird der maximale Wirkstoffspiegel nach ein bis zwei Stunden erreicht. Wie alle anderen sauren NSAR zeichnet sich auch Indometacin durch eine hohe Anreicherung im entzündlichen Gewebe aus [Hoskin et al., 1996]. Die Verabreichung der Medikamente im Falle einer Migräneerkrankung muss individuell abgestimmt werden, weil Unterschiede in der Verträglichkeit bestehen. Aufgrund der starken Nebenwirkungen wurden Ergotamine zur Behandlung der Migräne in Deutschland weitgehend vom Markt genommen [Arulmani et al., 2006; Mett und Tfelt-Hansen, 2008]. Zu den nicht medikamentösen Maßnahmen gehören das Aufsuchen von dunklen, ruhigen Räumlichkeiten, Schlaf und häufig auch die Kälteanwendung. Gemieden werden sollten Stress, körperliche Aktivität, Lärm, flackernde Bildschirme und intensives Licht [Schaible und Ebersberger, 2002].

1.2 Experimentelle Migränemodelle

Es gibt zahlreiche tierexperimentelle Modelle zur Erforschung der Migräne, die größtenteils auf funktionellen Untersuchungen basieren. Dabei nimmt die Dura mater eine besondere Rolle in der Forschung peripherer Mechanismen von meningealer Nozizeption und Kopfschmerz ein. Sie zählt zu den wenigen schmerzempfindlichen Geweben innerhalb des Schädels und wird von sensorischen Nervenfasern des Nervus trigeminus innerviert [Dux et al., 2003]. Die trigeminale Innervation zwischen Mensch, Ratte und Maus ist sich bemerkenswert ähnlich, weshalb Ratten und Mäuse in der Migränerforschung gut eingesetzt werden können [Bolay et al., 2002]. In Nagetieren wurde das Ganglion trigeminale sowohl chemisch (z.B. mit Capsaicin) als auch elektrisch stimuliert [Moskowitz, 1993]. Hierbei kommt es zur neurogenen Entzündung und gesteigerten Neuropeptidfreisetzung von gleichzeitigen primären sensorischen Afferenzen der Dura [Dalkara et al., 2006]. Im Plasma der Vena jugularis wurden erhöhte Neuropeptidspiegel (CGRP/ Substanz P) gemessen. Diese leiten die endotheliale Aktivierung, Vasodilatation, Mastzelldegranulation und Plasmaproteinextravasation ein [Limmroth et al., 2001; Dimitriadou et al., 1991; Vass et al., 2004]. Im Jahr 2007 wurde festgestellt, dass innerhalb des Ganglions die Neuronen in Verbänden mit Satelliten-Glia-Zellen liegen und zwischen den beiden Zellarten eine intraganglionäre Kommunikation besteht. Diese beeinflusst die Entstehung der neurogenen Entzündung [Thalakoti et al., 2007].

Die Stimulation des Sinus Sagittalis Superior (SSS) in Menschen führte zu Kopfschmerzen und ist Voraussetzung für experimentelle Studien am aktivierten trigeminovaskulären System

[Benjamin et al., 2004]. So wurde die Verteilung von Neuronen, die das c-Fos-Protein im Hypothalamus exprimieren nach SSS-Stimulation gemessen. C-Fos ist ein wichtiger Marker zum Nachweis einer neuronalen Aktivierung u. a. auch bei entzündlichen Prozessen [Arulmani et al., 2006].

Nach der Theorie der „Cortical-spreading-Depression“ (CSD) als Aura-Äquivalent breitet sich eine im Tierexperiment von einem beliebigen Punkt des Kortex ausgelöste neuronale Exzitationswelle konzentrisch, aber auf eine Kortexhälfte beschränkt, aus [Lauritzen, 1994]. Die Aktivierung der kortikalen Areale unterdrückt das EEG (‘Depression’ = Desynchronisation). Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Exzitationswelle von 2-5 mm/min ist identisch mit der Ausbreitung von Skotomen, visuellen Fortifikationen und der Ausbreitung der reduzierten Durchblutung im Kortex (aber vor allem in der Arteria meningea media). Es wird angenommen, dass durch die kortikale Aktivierung die in der darüber liegenden Dura liegenden nozizeptiven Fasern des betroffenen Kortexareals aktiviert oder sensibilisiert werden. Dabei werden große Mengen von Kalium- und Wasserstoffionen freigesetzt, sowie zahlreiche neuroaktive Faktoren in den extrazellulären und perivaskulären Raum ausgeschüttet. Daraus entsteht die Aktivierung trigeminaler Nozizeptoren der Meningen, die selbst wieder die Freisetzung neuer inflammatorischer Substanzen stimuliert und den Entzündungsprozess vorantreibt [Ebersberger, 2002]. Die kontinuierliche Aktivierung der Schmerzfasern führt zu Hypersensibilität und Migränekopfschmerzen. In der CSD wird eine Schlüsselrolle bei der Initiation der Migräne gesehen [Bolay und Moskowitz, 2005; Ebersberger et al., 2001].

Verhaltensbiologische Modelle

Das sogenannte Voice-records-Modell [Martino und Perkins, 2008] ist nach meinen Kenntnissen bisher das einzige, das Untersuchungen zum Verhalten von Ratten bei Migräne beschreibt. Es handelt sich um ein pharmakologisches Modell, in dem eine Ultraschall-Vokalisierung (USV) nach zentral induzierter Entzündung bei Ratten erstellt wurde, die eine Sensibilisierung für taktile Stimuli hervorruft. Diese Erkenntnisse stützen sich auf die Untersuchungen von Brudzynski und Chiu [1995].

Entzündungsinduktor während einer Migräneattacke ist das Endotoxin-Lipopolysaccharid (LPS). Aufbauend auf der mittels inflammatorischer Mediatoren erzeugten mechanischen Hypersensibilität, werden über einen auf den Kopf fokussierten starken Luftstrom (der taktile Reiz) die Berührungsrezeptoren erregt und verstärkt USV-Emissionen gemessen. Darauf wurde die Verringerung der USV durch verschiedene Medikamente untersucht. Einige von ihnen reduzierten die USV nur bei den migräneinduzierten Ratten, andere reduzierten die USV sowohl bei den gesunden als auch bei den kranken Ratten.

Das Voice-records-Modell stellt hiermit bislang das einzige Tier-Migräne-Modell auf Verhaltensbasis dar. Mit Hilfe dieses pharmakologischen Modells könnte die Wirkung neuer Migräne-Medikamente untersucht werden.

1.3 Substanzgetriggerte Induktion einer aseptischen Entzündung bei Ratten

Mit Hilfe bestimmter, von uns eingesetzter Substanzen, lässt sich bei Ratten eine neurogene Entzündung herbeiführen. Diese Entzündung entsteht durch eine Vielzahl von Signalkaskaden und löst bei den Tieren veränderte Verhaltensmuster aus.

1.3.1 Interleukin-1 β (IL-1 β)

Interleukin-1 β ist ein Polypeptid aus der Gruppe der Zytokine [Bianchi et al., 1998] und wird von zahlreichen Zellen wie Makrophagen, Fibroblasten, Synoviozyten, Mastzellen, Gliazellen und Neuronen produziert [Watkins et al., 1994]. Auslöser für die Produktion und Ausschüttung von IL-1 β sind Infektionen, Vergiftungen, Stress, Traumata und Endotoxine [Coceani et al., 1988; Giulian und Lachmann, 1985; Higgins und Olschowka, 1991]. IL-1 β führt Funktionen sowohl im peripheren Nervensystem (PNS) als auch im zentralen Nervensystem (ZNS) aus und ist in neuronal vermittelten Antworten auf Krankheit und Verletzung involviert [Rothwell und Luheshi, 1994]. Seine Expression wird durch Veränderungen in der Gewebemöostase beeinflusst [Dinarello, 1988]. Fast in allen intrazellulären Signaltransduktionskaskaden finden sich die Zytokine wieder. Mittlerweile ist bekannt, dass IL-1 β an der Entstehung neurogener Entzündungen beteiligt ist. Es reguliert die Reaktionen inflammatorischer und gewebeverbindender Zellen [Yamasaki et al., 1995; Rothwell, 1991]. Weitere Aufgaben sind u. a. die Modulation neuronaler Funktionen, durch Interaktion mit Neuropeptiden und Neurotransmittern [Palazzolo und Quadri, 1990] und die Mediation von Entzündungen, Fieber und Infektionen [Yamasaki et al., 1995; Blatteis, 1988]. IL-1 β hat auch immunmodulatorische Funktion. Neben den Wechselwirkungen u. a. mit den Endothelzellen, führt es zur Freisetzung des corticotropin-releasing-hormone (CRH) und zur Ausschüttung von ACTH und Glukokortikoiden [Oka et al., 1994; Anforth et al., 1988]. Außerdem führt es unter Stresseinwirkung zur gesteigerten Freisetzung von Substanz P und CGRP [Rothwell und Hopkins, 1995], die wiederum die Entstehung der neurogenen Entzündung bei der Migräne vorantreiben [Theoharides et al., 1995].

Die Wirkung von IL-1 β ist vorwiegend im ZNS und wird über hochaffine Rezeptoren vermittelt [Yamasaki et al., 1995; Anforth et al., 1988; Farrar et al., 1987; Katsuura et al., 1988]. Dabei besitzt IL-1 β selektive Angriffspunkte im Gehirn, worüber unterschiedliche Funktionen im Körper wie zum Beispiel anorektische, hyperthermische und hyperalgesische Effekte ausgelöst werden können [Sellami et al., 1995; Oka et al., 1994; Oka et al., 1993].

Die IL-1 β abhängigen Effekte werden über Prostaglandin E2 (PGE2) vermittelt [Oka et al., 1994; Oka et al., 1993; Harden et al., 2008; Mäki et al., 2007; Rothwell und Hopkins, 1995].

1.3.2 Capsaicin

Capsaicin ist ein Naturprodukt des Capsiumpeffers und der schärfste Inhaltsstoff der Chillischote [Caterina et al., 1997]. Es löst auf der Haut einen stark brennenden Schmerz aus. Aufgrund dieser Eigenschaften findet sich Capsaicin in vielen scharfen Speisen. Durch Bindung an den transient receptor potential vanilloid type (TRPV1-Rezeptor) bewirkt es eine Erregung neuronaler, den Schmerz leitenden C-Fasern. Die C-Fasern sind kleine unmyelinisierte sensorische Nervenfasern, die nozizeptive Reize sowie chemische und physikalische Stimuli (Hitze, Druck) an das ZNS weiterleiten [Szállazi und Blumberg, 1999]. In der Peripherie setzen sie zahlreiche proinflammatorische Neuropeptide wie z.B. Substanz P oder CGRP frei. Diese verursachen Vasodilatation und Extravasation [Katsuura et al., 1988] und spielen eine wichtige Rolle in der Initiierung der neurogenen Entzündungskaskade [Szállazi und Blumberg, 1999]. Substanz P stimuliert endotheliale Zellen und T-Lymphozyten. CGRP besitzt eine Schlüsselrolle für die durale Zirkulation und die meningeale Nozizeption [Edvinsson und Uddman, 1981]. Zudem ist CGRP ein starker Vasodilatator. Nach seiner Freisetzung aktiviert CGRP die mit trigeminalen Neuronen im Verband liegenden Gliazellen [Ulrich-Lai et al., 2001] und veranlasst sie zur Freisetzung inflammatorischer Zytokine [Dux et al., 2003]. Eine chemische Stimulation der trigeminalen Nerven mit Capsaicin führt zu einer erhöhten Expression inflammatorischer Proteine und gesteigerter Freisetzung inflammatorischer Zytokine sowohl in den Neuronenzellen als auch in den Satelliten-Gliazellen [Gupta et al., 2007; Neeb et al., 2011]. Diese Neuron-Gliazell-Interaktionen spielen eine wichtige Rolle in der Entstehung einer Migräneattacke [Thalakoti et al., 2007].

1.3.3 Was bewirken Interleukin-1 β und Capsaicin bei Ratten?

Periphere und zentrale Injektion von IL-1 β oder Capsaicin in das Gehirn führen zu gravierenden symptomatischen Veränderungen im Körper [Bluthé et al., 1992]. Dazu zählen veränderte neuroendokrine, kardiovaskuläre und gastrointestinale Funktionen, gesteigerte Stoffwechselaktivität und Produktion der "Akute Phase Proteine", die Aktivierung des Immunsystems, sowie Modifikationen im Bereich des Verhaltens. Diese umfassen eine Verminderung der Nahrungsaufnahme (Anorexie) [Johnson und Johnson, 2002; Levine und Morley, 1981], verminderte soziale Exploration, eingeschränkte lokomotorische Aktivität und reduzierte sexuelle Aktivität [Sellami et al., 1995]. Dieses Verhalten wird mit dem Begriff **Sickness behavior** beschrieben und ist bereits in zahlreichen Studien evaluiert worden [Yamasaki et al., 1995]. Der Begriff Sickness behavior beschreibt ein Profil von

Verhaltensveränderungen, dass bei Tieren und Menschen unter Einfluss von Pathogenen bei akuter (infektiöser) Erkrankung beobachtet wird [Harden et al., 2008; Johnson und Johnson, 2002; Dantzer, 2001].

Weil Pathogene und Zytokine eine starke Ähnlichkeit in ihrer Wirkung auf das Verhalten zeigen, besteht die Annahme, dass Zytokine Mediatoren zwischen dem Immunsystem und dem ZNS darstellen. Dass sich die genannten Verhaltensveränderungen in der Krankheitssituation tatsächlich nachweisen lassen, wurde an zahlreichen tierexperimentellen Verhaltensversuchen bewiesen. In einem Verhaltenstest der Gruppe von Swiergel und Dunn zum Beispiel wurden Mäuse auf die Veränderung im Futter- und Trinkverhalten nach Gabe von IL-1 β untersucht. Dabei erhielten sie signifikante Hinweise sowohl in der verminderten Futter- als auch Wasseraufnahme [Swiergel und Dunn, 2002].

Andere Verhaltensstudien von Anforth et al. untersuchten die soziale Exploration von Ratten unter IL-1 β -Einfluss. Die deutlich verminderte soziale Exploration als Ergebnis spiegelte die Aussage der Sickness behavior wieder [Anforth et al., 1998].

In einer Verhaltensstudie von Harden et al. wurden Ratten auf ihre motorische Aktivität nach IL-1 β -Gabe untersucht. Die motorische Aktivität der IL-1 β -Ratten war im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant reduziert [Harden et al., 2008].

1.4 Aufgabenstellung

IL-1 β und Capsaicin führen bei intrazerebraler, systemischer oder topischer Injektion zu neurochemischen Veränderungen und Änderungen des Verhaltens in tierexperimentellen Studien. Beide, IL-1 β und Capsaicin, sind zuverlässig evaluierte und eingesetzte proinflammatorische Substanzen in experimentellen Migränemodellen bzw. Entzündungsmodellen. Unter der Annahme, dass die Applikation von Capsaicin und Interleukin-1 β bei Ratten Krankheitssymptome hervorruft, die auf die Klinik des Menschen übertragbar sind, sollte ein Tiermodell zur Migräne auf Verhaltensbasis erstellt werden.

Eine der wenigen zugänglichen und mit Kopfschmerz assoziierten intrakraniellen Strukturen ist die Dura mater. Ziel dieser Arbeit ist es, am Beispiel der Ratte zu evaluieren, ob eine Stimulation der Dura mater mit proinflammatorischen Substanzen (IL-1 β und Capsaicin) zu Änderungen des Verhaltens analog zur Sickness behavior führt.

Die Latenz bis zum Eintritt der systematischen Wirkung auf Nozizeptoren ist für diese beiden Substanzen verschieden (wenige Minuten – 6/8 Stunden), so dass wir in dieser Arbeit eine sofortige und eine verzögerte Reaktion bezüglich des Verhaltens untersuchen.

Neben den explorativen Parametern im Open field Paradigma wurden die Nahrungsaufnahme und die Lokomotion im Käfig untersucht.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, festzustellen ob es nach proinflammatorischer lokaler, duraler Stimulation in der Ratte Verhaltensänderungen oder Verhaltensmuster gibt, die mit der Genese meningealer Schmerzen vereinbar sind, bzw. auf diese zurückzuführen sind.

Die Validität des Modells soll durch den Einsatz von Substanzen, wie dem 5-HT_{1B/D} Agonisten Sumatriptan und dem COX-Inhibitor Indometacin, die ihre Anwendung in der Migränetherapie finden, unterstützt werden. Beide Substanzen konnten in früheren biochemischen Untersuchungen die Wirkung von IL-1 β und Capsaicin weitgehend blockieren [Buzzi und Moskowitz, 1991; Mett und Tfelt-Hansen, 2008].

Ein auf diesen Untersuchungen basierendes Tier-Kopfschmerz-Modell wäre neuartig und könnte zukünftig zur Evaluation neuer medikamentöser Migränetherapien eingesetzt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Tiermaterial und Versuchsablauf

Für die Versuche wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten der Firma Charles River (Sulzfeld, Deutschland) mit einem Liefergewicht von 200-220 Gramm je Ratte verwendet. Die Durchführung der in dieser Arbeit dargestellten Tierversuche wurde nach Absatz 1 des Tierschutzgesetzes der Bundesrepublik Deutschland unter der Tierversuchsnummer G168/05 der Senatsverwaltung für Gesundheit in Berlin genehmigt.

Die Versuche und die Unterbringung der Ratten erfolgten im selben Raum. Ein Lichtprogramm regelte in Zwölfstundenintervallen von 5:00 Uhr bis 17:00 Uhr einen Tag- und Nachtrhythmus. Die Umgebungstemperatur betrug $21^{\circ}\pm 3^{\circ}$ C. Die relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 50-60%. Die Lichtintensität lag bei 150 lux und während des ersten Versuches (Open field) bei 10 lux.

Insgesamt wurden 100 Ratten untersucht. Die Tiere wurden nach Ankunft im Labor in Gruppen von jeweils 3-5 Ratten für eine Woche im Tierstall belassen (Makrolon Käfig Typ M4 – EBECO, Castrop-Rauxel, Deutschland) und anschließend für eine weitere Woche in Einzelkäfige (Typ M3 – EBECO, Castrop-Rauxel, Deutschland) gesetzt. Wasser und Pelletfutter (Sniff Spezialitäten GmbH, Soest, Deutschland) standen den Tieren ad libitum zur Verfügung.

48 Stunden nach Verlegung der Ratten in Einzelkäfige (Woche 2) erfolgte eine Leerlaufmessung der motorischen Aktivität der Tiere über 24 Stunden mittels InfraMot (s. Kap. 2.4.2.2). In der dritten Woche wurden den Tieren entweder in einem operativen Eingriff die Kammern implantiert, sie wurden scheinoperiert oder zumindest narkotisiert (s. Kap. 2.3). Nach einer weiteren Ruhezeit von zwei Tagen postoperativ fand der erste Verhaltensversuch, der Open field - Test (s. Kap. 2.4.1) statt. Zwei Tage später folgte der Fütterungsversuch über zwölf Stunden und daraufhin erneut eine 48-stündige Erholungszeit. Nach diesen zwei Tagen folgte der dritte Test, der Kirschagar-Fütterungsversuch über zwei Stunden (s. Kap. 2.4.2).

Abbildung 2 zeigt die zeitliche Abfolge der Untersuchungen, von dem Eingang der Tiere bis zum Versuchsende.

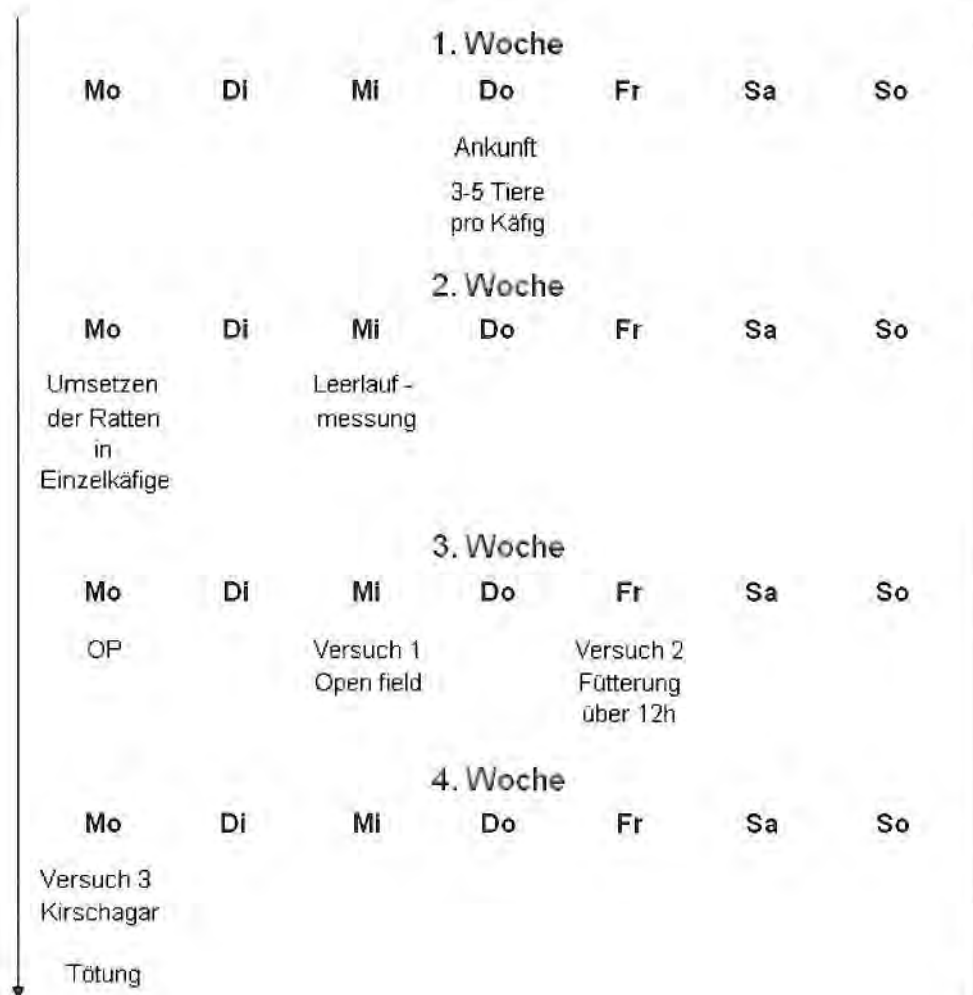


Abbildung 2 stellt eine Übersicht über die zeitliche Abfolge der Studie dar. In der ersten Woche wurden die Jungtiere geliefert und in Gemeinschaftskäfigen gehalten. In der zweiten Woche erfolgte die Umsetzung der Tiere in Einzelkäfige sowie die Leerlaufmessung. Erst in der dritten Woche begannen die ersten Verhaltensversuche. Diese endeten am Montag der vierten Woche.

2.2 Chirurgischer Eingriff

Zur Einleitung wurden die Ratten kurzzeitig mit Isofluran (ABBOTT, Wiesbaden, Deutschland) narkotisiert. Anschließend wurden 5%-iges Chloralhydrat (Merck, Darmstadt, Deutschland) in einer Dosierung von 200 mg/kg Körpergewicht und 5%-iges Thiopental-Natrium (Altana Pharma, Konstanz, Deutschland) in einer Dosierung von 20mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Die Gabe beider Narkotika erfolgte zeitgleich, um die Wirkdauer von Chloralhydrat zu verlängern und eine ausreichend tiefe Analgesie ohne Atemdepression zu gewähren.

Etwa 15 Minuten nach Gabe der Medikation entwickelte sich ein ausreichend tiefes Narkosestadium. Darauf wurden die Ratten in einen stereotaktischen Rahmen eingespannt. Durch eine Wärmematte kombiniert mit einem rektalen Thermometer (Carnegie Medicin AB, Stockholm, Schweden) wurde die Körpertemperatur der Ratte bei 37-37,5°C konstant gehalten. So konnten ein Auskühlen des Körpers und damit verbunden Komplikationen während der Operation vermieden werden. Zur Trepanation wurde das Fell über dem fixierten Kopf in cranio-caudaler Richtung in einer Länge von etwa zwei Zentimetern aufgeschnitten und nach Entfernung der darunter liegenden Faszien der Schädel frei präpariert. Der Musculus temporalis wurde auf der rechten Temporalleiste zum Teil abpräpariert, um mehr Haftfläche für das später aufzutragende Knochenwachs zu garantieren. Um besser an den Schädel zu gelangen, wurde das Fell mit Klemmen gespreizt (s. Abb. 3).

Abbildung 3 stellt die Öffnung des Rattenfells in cranio-caudaler Richtung dar.



Abbildung 3:

Öffnung des Rattenfells oberhalb des Schädels in cranio-caudaler Richtung. Das Tier ist analgesiert und im stereotaktischen Rahmen eingespannt. Das Fell wird mit Klemmen gespreizt, um eine bessere Sicht auf den Schädel zu ermöglichen.

Mit Zellstofftupfern wurden Blutverunreinigungen entfernt und die Sicht auf den Schädel verbessert. Mittels eines Bohrers (Minimot 40 - Proxxon GmbH, Niersbach, Deutschland) wurde im parietalen Segment, circa 6,5 mm caudal und 4,5 mm lateral des Bregmas, ein

etwa 4 x 2 mm großes Rechteck direkt über der Arteria meningea media in den Schädelknochen gebohrt. Die genaue Lokalisation ist von großer Bedeutung, weil die Innervationsdichte der trigeminalen Nerven um die Arteria und Vena meningea media und ihre Äste am höchsten ist. Die Bohrung musste langsam und vorsichtig unter dem Mikroskop erfolgen, um weder die Dura noch die in ihr liegenden Gefäßäste zu verletzen. Durch eine ständige Kühlung mit NaCl wurde die Wärmeentwicklung durch den Bohrer minimiert. Das Knochenfragment (s. Abb. 4) wurde zunächst vorsichtig entfernt um die nun frei liegende Dura mater unter dem Mikroskop zu begutachten.

Abbildung 4 zeigt den eröffneten Schädel mit Blick auf die Dura mater.



Abbildung 4:

Sicht auf den Schädel. Im parietalen Segment, circa 6,5 mm caudal und 4,5 mm lateral des Bregmas, wurde ein etwa 4 x 2 mm großes Rechteck direkt über der Arteria meningea media in den Schädelknochen gebohrt. Blick auf die unbeschädigte Dura mater nach Entfernung des Knochensegments.

Ein Austrocknen der Dura wurde durch vorsichtiges Beträufeln von sterilem NaCl verhindert. Mit einem, für circa eine Minute erhitzten, elektrischen LötKolben, wurden nun die Wundränder verödet und die letzten Mikroblutungen aus der Kalotte gestillt, um eine trockene Oberfläche für das aufzutragende Knochenwachs zu gewinnen. Knochenwachs (Ethicon, Norderstedt, Deutschland) wurde zu einem Ring mit einem Durchmesser von 7-8 mm geformt und nach Entfernen des Knochenstücks um die Kraniotomie aufgelegt und durch Drücken fixiert. Für die Kammer wurde von einem 1,5 ml- Eppendorf Plastikgefäß (Tube) (Safe-Lock Reaktionsgefäß - Eppendorf, Hamburg, Deutschland) der Boden, für eine distale Öffnung und Gewichtsreduktion um circa 1,5 cm abgesetzt. Die Tube-Öffnung wurde in den Knochenwachtring gedrückt. Der erneut erhitzte LötKolben half, das Wachs zu schmelzen und eine lückenlose Verbindung zwischen Plastikgefäß und Schädelknochen zu schaffen. Die bis jetzt provisorisch befestigte Kammer wurde mit sterilem NaCl gefüllt. Bei Austreten von Flüssigkeit aus der Kammer, musste die Befestigung erneuert und der Test wiederholt werden. War die Befestigung dicht, so wurde in einem Gefäß Paladurpulver (Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) mit Paladurflüssigkeit (Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) vermischt und das entstandene zähflüssige Paladur um das Eppendorfgefäß herum zu dessen Fixierung verteilt. Mit dem Aushärten des Paladurs war

die Kammer endgültig im Wachs und somit am Schädel befestigt und die angrenzenden Wundränder verschlossen (s. Abb. 5).

Abbildung 5 zeigt die Kammerkonstruktion, die mit Knochenwachs auf dem Schädel fixiert wurde.



*Abbildung 5:
Fixierung des gekürzten Eppendorf-
Tubes mittels Paladur auf der
Schädelplatte. In der dichten Kammer
befindet sich frisches NaCl, das die
Dura mater vor dem Austrocknen
schützt.*

Zuletzt wurden die Wundränder mit 1%-igem Lidocain (AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) von außen beträufelt, um mögliche Schmerzen postoperativ zu minimieren. Die Kammer wurde gefüllt mit sterilem NaCl verschlossen und die Ratte vom stereotaktischen Rahmen befreit. Bis zum Erwachen wurde die Ratte in einem neuen Käfig auf einer Wärmematte gelagert. Es folgte eine Ruhephase von 48 Stunden ohne weitere Manipulation im Tierstall.

2.3 Versuchsreihen

Die Ratten wurden zufällig in verschiedene Gruppen eingeteilt. Jede Ratte erhielt vor Versuchsbeginn eine Inhalationsnarkose mit Isofluran, um die Kammern schmerzfrei öffnen zu können, bzw. bei nicht operierten Ratten eine bessere Vergleichbarkeit im Verhaltensexperiment zu erzielen (siehe Darstellung der einzelnen Gruppen in Abbildung 9).

Serie 1: Die operierten Ratten [n = 10] der Serie 1 erhielten sechs Stunden vor Versuchsbeginn unter Narkose ausschließlich Interleukin-1 β (Rat Interleukin-1 β D-Systems, Wiesbaden, Deutschland) epidural in einer Dosierung von 100 μ l.

Der Zeitabstand von sechs Stunden zwischen Substanzgabe und Tierexperiment musste eingehalten werden, um eine lokale Inflammation sicher zu gewährleisten. IL-1 β wurde in einer Verdünnung von 10 μ g/ml in 0,1% BSA (Bovines Serum Albumin) gelöst und zu je 100 μ l pro Tube bei - 80°C bis zur Verwendung tief gefroren.

Serie 2: Die operierten Ratten [n = 10] der Serie 2 erhielten 100 µl IL-1β epidural und 0,3 ml Sumatriptan (Glaxo Wellcome GmbH & Co.KG, Bad Oldesloe, Deutschland) in einer Dosierung von 30 µg/kg Körpergewicht intraperitoneal. Die IL-1β-Gabe erfolgte einmalig sechs Stunden vor Versuchsbeginn. Innerhalb dieser sechs Stunden wurde Sumatriptan zwei Mal (6h und 3h vor der Verhaltensexploration) injiziert, um eine vorzeitige Wirkungsabnahme zu verhindern. Die Hypothese war, durch die Gabe von Sumatriptan erwartete Krankheitssymptome zu vermeiden.

Serie 3: Die operierten Ratten [n = 10] der Serie 3 erhielten 100 µl IL-1β epidural und 0,3 ml Indometacin (Aliud Pharma, Laichingen, Deutschland) in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal. Die IL-1β-Gabe erfolgte einmalig sechs Stunden vor Versuchsbeginn. Innerhalb dieser sechs Stunden wurde Indometacin zwei Mal (6h und 3h vor der Verhaltensexploration) injiziert, um eine vorzeitige Wirkungsabnahme zu verhindern.

Serie 4: Die operierten Ratten [n = 5] der Serie 4 erhielten am Versuchstag sechs und drei Stunden vor Versuchsbeginn je 0,3 ml Sumatriptan in einer Dosierung von 30 µg/kg Körpergewicht intraperitoneal. Gleichzeitig wurde das in den Kammern befindliche NaCl gegen frisches, steriles NaCl ausgetauscht.

Serie 5: Die operierten Ratten [n = 5] der Serie 5 erhielten am Versuchstag sechs und drei Stunden vor Versuchsbeginn je 0,3 ml Indometacin in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal. Gleichzeitig wurde das in den Kammern befindliche NaCl gegen frisches, steriles NaCl ausgetauscht.

Serie 6: Die Ratten [n = 10] der Serie 6 wurden nicht operiert, sondern einmalig narkotisiert und dienten als Kontrollgruppe.

Serie 7: Die operierten Ratten [n = 10] der Serie 7 erhielten ausschließlich 100 µl Capsaicin (SIGMA, Steinheim, Deutschland) in einer Dosierung von 100 nMol epidural, welches vorher mittels Vehikelsubstanz (NaCl, Ethanol und Tween 80 im Verhältnis von 1:1:8) zu einer 10 µM Lösung verdünnt wurde.

Bei der Durchführung des Versuchs orientierten wir uns an Daten von Dux et al. (2003), die bei Capsaicin eine Wirkungsdauer von neun Minuten beschreiben. Daher wurde Capsaicin nicht wie IL-1β sechs Stunden, sondern kurz vor Versuchsbeginn appliziert. Weil die Inhalationsnarkose und das für die Tiere möglicherweise unangenehme Öffnen der Kammern nach dem Erwachen der Ratten noch einige Minuten in Form von Stress

nachwirken könnte, haben wir die Versuche nicht direkt neun Minuten sondern 15 Minuten im Anschluss an die Inhalationsnarkose geknüpft.

Serie 8: Die operierten Ratten [n = 5] der Serie 8 erhielten 100 µl Capsaicin-Vehikelsubstanz epidural. Dabei sollte getestet werden, ob die Lösung allein bereits einen Effekt auf die Dura mater ausübt.

Serie 9: Die operierten Ratten [n = 5] der Serie 9 erhielten am Versuchstag ausschließlich frisches steriles NaCl epidural im Austausch gegen das alte NaCl. Sie bekamen keine weiteren Substanzen injiziert oder appliziert. Die Serie 9 dient dazu einen möglichen Einfluss der Operation auf die Versuche auszuschließen, indem ihr Verhalten mit dem der Kontrollgruppe vergleichbar ist. Demzufolge werden Tiere dieser Serie als scheinoperierte Tiere [Sham OP] bezeichnet.

Serie 10: Die operierten Ratten [n = 5] der Serie 10 erhielten 100 µl Capsaicin epidural in einer Dosierung von 100 nMol und gleichzeitig 0,3 ml Sumatriptan, dosiert je 30 µg/kg Körpergewicht intraperitoneal. Hiermit sollte untersucht werden, ob ein effektives Migränemedikament die Veränderungen durch trigeminale Aktivierung mittels Capsaicin verbessern kann.

Die Begriffe Serie, Gruppe und Reihe werden in der Arbeit synonym verwendet und definieren sich jeweils aus den vorangegangenen Angaben.

Unterschiede in der Anzahl der Tiere in den einzelnen Versuchsabschnitten erklären sich u. a. durch verstorbene Ratten aus der kombinierten IL-1 β - und Indometacin-Applikation, bei denen die Dosis in initialen Versuchen zu hoch gewählt wurde. Wenige Ratten kratzten sich innerhalb der Versuchswoche die Kammer ab und mussten getötet werden, obwohl sie teilweise bereits einige Versuche erfolgreich durchlaufen hatten.

Um die Anzahl der Tiere möglichst klein zu halten, wurden in den Vergleichsreihen Indometacin, Sumatriptan, Scheinoperation, Vehikel, Capsaicin in Kombination mit Sumatriptan und Kontrolle ohne Operation jeweils nur fünf Tiere untersucht.

2.4 Verhaltenstests

Vor Beginn der Dunkelphase (17:00 Uhr) wurde der Versuchsraum mit rotem Licht ausgestattet, um dem Versuchsleiter nach Einbruch der Dunkelphase ein ausreichendes Sehen zu ermöglichen und gleichzeitig optimale und standardisierte Dämmerungsbedingungen für die Ratten zu gewährleisten. Dadurch war ihre Aktivität auf höchstem Niveau. Nach dem Versuch, wurden unter erneuter Inhalationsnarkose mit Isofluran die Kammern ausgespült und frisches steriles NaCl eingefüllt. Kontrollen, die keine Kammern besaßen und daher keinen Substanzwechsel benötigten, wurden ohne erneute Narkose zurück in den Käfig gesetzt. Die Kammern waren permanent mit NaCl gefüllt, um das Austrocknen der Dura mater zu vermeiden. Unterbringung und Verhaltensversuche fanden im selben Tierstall statt.

2.4.1 Open field

Zur Evaluation der motorischen Aktivität und bestimmter Verhaltensmuster der Tiere wurde das Open field als standardisiertes Verhaltensexperiment (siehe z.B. Küçük et al., 2008; Oprica et al. wurde 2005) genutzt. Die Studien von Küçük et al., 2008 und Oprica et al., 2005 mit ihren Ergebnissen unterstützen das Open field als etablierte Methode, um Explorations- und Krankheitsverhalten bei Tieren zu untersuchen.

2.4.1.1 Versuchsaufbau

In einer schallgeschützten, fensterlosen Untersuchungskammer befand sich der Versuchsaufbau des Open field. Der experimentelle Aufbau des Open field bestand aus einer schwarzen quadratischen Kunststofffläche mit den Maßen 100 x 100 cm. Diese war umrandet von 30 cm hohen weiß gestrichenen Begrenzungswänden. Der Boden war mit einer schwarzen PVC-Matte ausgelegt (s. Abb. 6). In den Wänden befanden sich jeweils fünf Infrarot-Lichtschränken in einem Abstand von 17 cm und 3,5 cm oberhalb des Bodens. Diese dienten zur Messung der Bewegung. Eine Blockierschaltung verhinderte hierbei, dass es zu einer mehrfachen Unterbrechung der Lichtschränken durch Dreh- oder Putzbewegungen kam.

Die Temperatur innerhalb der Verhaltensbox war äquivalent zum Tierstall und betrug während der Versuchszeit $21^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$. Der gesamte Versuch des Open field wurde über eine in der Untersuchungskammer befindliche Videokamera (SanyoB/W CCD, Tokio, Japan) überwacht, die an einen außerhalb der Kammer angebrachten Monitor (Panasonic TX-28A2C, Dortmund, Deutschland) angeschlossen war. Die Kamera war in einer Höhe von 2,00 Metern über dem Boden angebracht und wurde ebenfalls durch eine Rotlichtquelle mit einer Lichtintensität von 10 lux ausgeleuchtet. Mit Hilfe eines Videorekorders (Panasonic NV-

HS860 IG, Dortmund, Deutschland) konnten die Aufzeichnungen der Kamera auf Videokassette gespeichert werden. Während sich die Ratte für genau zehn Minuten im Open field bewegte, konnte der Versuchsleiter über den Monitor die Verhaltensvariablen festhalten. Die Ergebnisse des Open field wurden später zur Objektivierung durch ein Computer gestütztes System (VideoMot 2, Version 5.39, TSE-Systems, Bad Homburg, Deutschland) weiter ausgewertet.

Abbildung 6 zeigt den Versuchsaufbau des Open field.



Abbildung 6:

Open field Apparatur. Eine schwarze quadratische Kunststofffläche mit den Maßen 100 x 100 cm wurde umrandet von 30 cm hohen Begrenzungswänden. Darin befanden sich je fünf Infrarot-Lichtschranken in einem Abstand von 17 cm und 3,5 cm oberhalb des Bodens.

2.4.1.2 Das Open field zur Untersuchung des Verhaltens

Der Open field Test ist ein Verhaltenstest, der auf sehr einfache Art ermöglicht, die motorische Aktivität und das Explorationsverhalten von Nagetieren zu messen. Dabei wird künstlich, mittels einer 25 Watt starken Rotlichtquelle ein Dämmerungszustand erzeugt. Das Versuchstier wird in die Kammer gesetzt und das Verhalten über einen bestimmten Zeitraum gemessen. Die Kammer stellt für das Tier eine neue Umgebung dar, die es zu erkunden gilt. Hieraus ergibt sich die Exploration, beginnend mit der Grundfläche und mit den Seitenwänden folgend.

In dem VideoMot2 - Programm wird die Fläche des Open field in 16 gleichgroße Quadrate geteilt, wobei die Eckfelder (s. Abb. 7) durch Quadrat 1, 4, 13 und 16 wiedergegeben sind. Die vier in der Mitte angeordneten Quadrate werden zu einer Mittelfläche (Zone 17 oder inner area) zusammengefasst. Sobald die Ratte während des Versuches in das Open field hineingesetzt wird und sich außerhalb des Mittelfeldes befindet, beginnt die Messung. Später wird die Zeit in den Eckquadraten addiert und als Gesamtaufenthaltszeit in den Ecken wiedergegeben. Die blaue ungleichmäßige Linie innerhalb des Open field stellt die von der

Ratte gelaufene Strecke dar und ist, abhängig von den Versuchsgruppen, unterschiedlich lang.

Abbildung 7 stellt beispielhaft die Aufzeichnungen durch VideoMot2 während eines Open field Versuches dar.

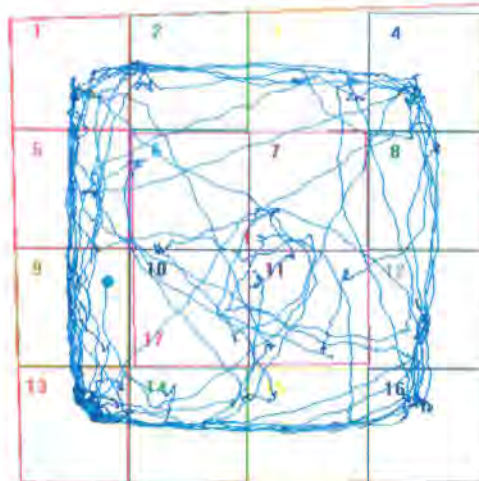


Abbildung 7:

Beispielhafte Aufnahme des Verhaltens einer scheinoperierten Ratte im Open field mittels VideoMot2. Das Open field ist in 16 gleichgroße Quadrate geteilt. Die Felder 1, 4, 13 und 16 stellen die Eckfelder dar. Felder 6, 7, 10 und 11 werden zu einem Mittelfeld (inner area) zusammengefasst. Die blaue Linie innerhalb des Open field stellt die zurückgelegte Strecke während des Versuchszeitraumes von 10 Minuten dar. Diese Strecke ist im Durchschnitt um ein Vielfaches größer, als die von Capsaicin- oder IL-1 β stimulierten Tieren.

Im Open field wurden folgende Verhaltensvariablen mit Hilfe von VideoMot2 gemessen:

Englisch		Deutsch
- locomotor activity	=	motorische Aktivität
- latency	=	Latenz bis zum Wiedereintreten ins Zentrum
- velocity	=	Geschwindigkeit
- time in corners	=	Aufenthaltsdauer in den Ecken
- distance inner area	=	zurückgelegte Strecke im Zentrum
- total distance	=	Gesamtstrecke

Mittels manueller Datenerfassung untersuchten wir folgende Variablen:

Englisch		Deutsch
- grooming	=	Putzen
- rearing	=	Elevationsbewegungen mit beiden Vorderpfoten über dem Boden
- headshakes	=	Kopfschüttelbewegungen

Die Putzbewegungen waren unterschiedlich lang und intensiv, so dass für die manuelle Auswertung ein Punktesystem eingeführt wurde. Einen Punkt bekam die Ratte für eine kurze Putzbewegung oder ein intensiveres Putzen bis zu einer Dauer von zehn Sekunden. Nach >10 Sekunden Putzen wurde der zweite Punkt vergeben.

Zwischen den einzelnen Versuchsdurchläufen wurde das Open field mittels 50%-igem Propanol (Meliseptol, B. Braun Melsungen AG, Würzburg, Deutschland) gereinigt und anschließend getrocknet. Dadurch wurde eine Manipulation durch bereits vorhandene Duftmarken vom Vorgängertier verhindert.

2.4.2 Fütterungsversuche

Nach Ermittlung der motorischen Aktivität und des Explorationsverhaltens im Open field dienen die weiteren Verhaltensexperimente der Untersuchung des Fress- und Trinkverhaltens.

Im **Fütterungsversuch über zwölf Stunden** wurden folgende Parameter gemessen:

Englisch		Deutsch
- food intake	=	Aufnahme von normalem Futter
- water consumption	=	Aufnahme von Wasser
- locomotor activity	=	motorische Aktivität im Käfig

Im Vergleich dazu wurden im **Kirschagar-Fütterungsversuch über zwei Stunden** folgende Parameter gemessen:

Englisch**Deutsch**

- | | | |
|---------------|---|--|
| - food intake | = | Aufnahme von normalem Futter |
| - agar intake | = | Aufnahme von bevorzugtem Kirschagar
(s. Kap. 2.4.2.1) |

Wasser wurde im Kirschagar-Fütterungsversuch unbegrenzt zur Verfügung gestellt, aber nicht gemessen.

Das Gewicht von Wasser, normalem Futter (Sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) und Kirschagar wurde vor Versuchsbeginn manuell mit Hilfe einer Waage (Sartorius LC2200-00V1, Göttingen, Deutschland) bestimmt und der Verbrauch während der Versuche, nach einer, zwei und zwölf Stunden tabellarisch festgehalten. Jede Ratte erhielt zu Beginn ca. 560 ml Wasser, 100 g Futter und im Kirschagar-Fütterungsversuch zusätzlich 8 g Agar (s. Beispiel Tab. 1).

Eine halbe Stunde nach Eintritt der Dunkelphase, 17.30 Uhr wurden die Käfige von Futter- und Wasserbeständen geleert und gegen das abgewogene Futter und Wasser ausgetauscht.

Tabelle 1

Gruppe	Aufnahme von	1h	2h	12h	Gesamtverbrauch
Capsaicin	Wasser	3g	2g	16g	21g
	Futter	1g	1g	8g	10g
Capsaicin +	Wasser	4g	3g	20g	27g
Indometacin	Futter	2g	2g	17g	21g

Tabelle 1:

Beispielhafte tabellarische Darstellung zur Ermittlung der Wasser – und Futteraufnahme über 1, 2 und 12 Stunden in den einzelnen Tiergruppen.

In beiden Versuchen vermuteten wir, dass sich die zehn Tierreihen abhängig von der applizierten Substanz in ihrem Fressverhalten unterscheiden würden. Außerdem erwarteten wir Veränderungen im Fressverhalten nach Gabe süßen Futters im Vergleich zum alltäglichen Futter.

Zum Ende des Versuches wurden die Kammern der Tiere während einer Isofluran-Inhalationsnarkose von den applizierten Substanzen gereinigt und mit frischem NaCl gefüllt.

2.4.2.1 Herstellung Kirschagar

Der Kirschagar wurde fünf Tage vor dem Versuch aus 2,7 g Agar Agar (Roth, Karlsruhe, Deutschland) zusammen mit 100 ml Kirschsirup (Rainbow - SIG GmbH, Düsseldorf, Deutschland) hergestellt. Der Agar wurde unter Aufkochen im Kirschsirup gelöst, verband sich mit ihm zu einer gelierenden Masse und wurde in Petrischalen á 50 ml gegossen. Das Agar-Kirschsirup-Gemisch wurde bis zum Versuch im Kühlschrank gelagert. Am Versuchstag wurde der Kirschagar zu gleichgroßen Teilen getrennt, gewogen und den Tieren während des Versuchs angeboten.

2.4.2.2 Motorische Aktivität

Die lokomotorische Aktivität wurde mittels InfraMot (TSE-Systems, Bad Homburg, Deutschland) während der Leerlaufmessung vor der Operation und der beiden Fütterungsversuche bestimmt. Dieser Verhaltensparameter liefert zahlreiche Vergleichs – und Darstellungsmöglichkeiten, wobei nach Erstellen eines Graphen in SigmaPlot die Fläche unterhalb des Graphen (Area under the curve, AUC) über SigmaStat berechnet werden und graphisch dargestellt werden konnte.

Nach Beendigung des Versuchs mit Kirschagar wurden alle Tiere, die an den Untersuchungen teilgenommen haben, mit einer Überdosis Chloralhydrat getötet.

2.5 Versuchsauswertung und Statistik

Es wurde generell von einer Normalverteilung der Werte ausgegangen. Bei Normalverteilung der Population wurde die Auswertung über One Way ANOVA durchgeführt und die arithmetischen Mittelwerte (Mean) der Gruppen und die Standardfehler des Mittelwertes (SEM) dargestellt.





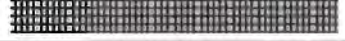



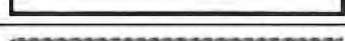

Bei nicht vorliegender Normalverteilung wurde die Auswertung über ANOVA on Ranks vollzogen, wobei die dazugehörigen Box-Plot-Diagramme den Medianwert mit den 25./ 75. Perzentilen darstellten. Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die Box-Plot-Diagramme in normale Balkendiagramme umgewandelt. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit Hilfe der Kruskal-Wallis-Varianzanalyse und dem Dunn's-Test statistisch ausgewertet. Ein Unterschied zwischen den Versuchsreihen war signifikant, bei einem p-Wert $\leq 0,05$. Alle statistischen Berechnungen erfolgten mittels SigmaStat Statistical Analysis System Version 1.01.

3. Ergebnisse

Vor jedem Versuch wurde das Gewicht der Ratten ermittelt und mit dem Ausgangsgewicht zum Zeitpunkt der Implantation der Kammer verglichen. Im Durchschnitt verloren die Ratten nach dem chirurgischen Eingriff 30 Gramm [Ausgangsgewicht 300 g \pm 50 g: Versuchsgewicht 270 g \pm 50 g] innerhalb der ersten Woche und nahmen dann kontinuierlich wieder zu. Innerhalb des Versuchszeitraumes von zwei Wochen erreichten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 380 g.

In den folgenden Diagrammen wird jede Versuchsreihe zur besseren Unterscheidung in einem bestimmten Muster dargestellt, die man aus der Tabelle 2 entnehmen kann.

Tabelle 2: Dargestellt ist die Musterkodierung der Versuchsreihen.

NR.	MUSTER	VERSUCHSGRUPPE
1		Kontrolle
2		IL-1 β
3		Indometacin i.p. + IL-1 β
4		Sumatriptan i.p. + IL-1 β
5		Indometacin i.p.
6		Sumatriptan i.p.
7		Scheinoperierte Tiere
8		Vehikel
9		Capsaicin
10		Sumatriptan i.p. + Capsaicin

3.1 Open field

Die Ergebnisse aller Tierreihen werden stets parallel zu den untersuchten Verhaltensvariablen dargestellt. Die Diagramme zu den Verhaltensparametern zeigen im oberen Teil (a) immer den Einfluss von IL-1 β und im unteren Teil (b) den Einfluss von Capsaicin vergleichsweise zu den übrigen Serien. Ratten, denen Sumatriptan verabreicht wurde, sind in beiden Diagrammen zum besseren Vergleich dargestellt.

Markierungen im Diagramm:

Signifikante Unterschiede werden in den Diagrammen markiert mit:

- * *im Vergleich zu den Kontrollen,*
- \circ *im Vergleich zur Scheinoperation (Sham OP),*
- # *im Vergleich zu Interleukin-1 β (IL-1 β)*
- + *im Vergleich zu Capsaicin (Cap)*

Im Open field wurden die folgenden Parameter untersucht:

A) manuelle Aufzeichnung: Putzen, Elevations- und Kopfschüttelbewegung

B) digitale Aufzeichnung: Zurückgelegte Strecke im Open field, Strecke im Zentrum, durchschnittliche Geschwindigkeit, Latenz bis zum Wiedereintritt ins Zentrum und Zeit in den Ecken.

3.1.1 Putzen (grooming)

Hinsichtlich des Putzverhaltens zeigten die Versuchsgruppen Unterschiede ($p = 0,003$). Nach Stimulation mit IL-1 β stieg das Putzverhalten im Vergleich zur Kontrolle signifikant an (Median IL-1 β 9,7 vs. Kontrolle 2,5; $p < 0,05$). Die Anzahl der Putzbewegungen in der IL-1 β -Reihe im Vergleich zu den Kontrollen war durchschnittlich doppelt so hoch.

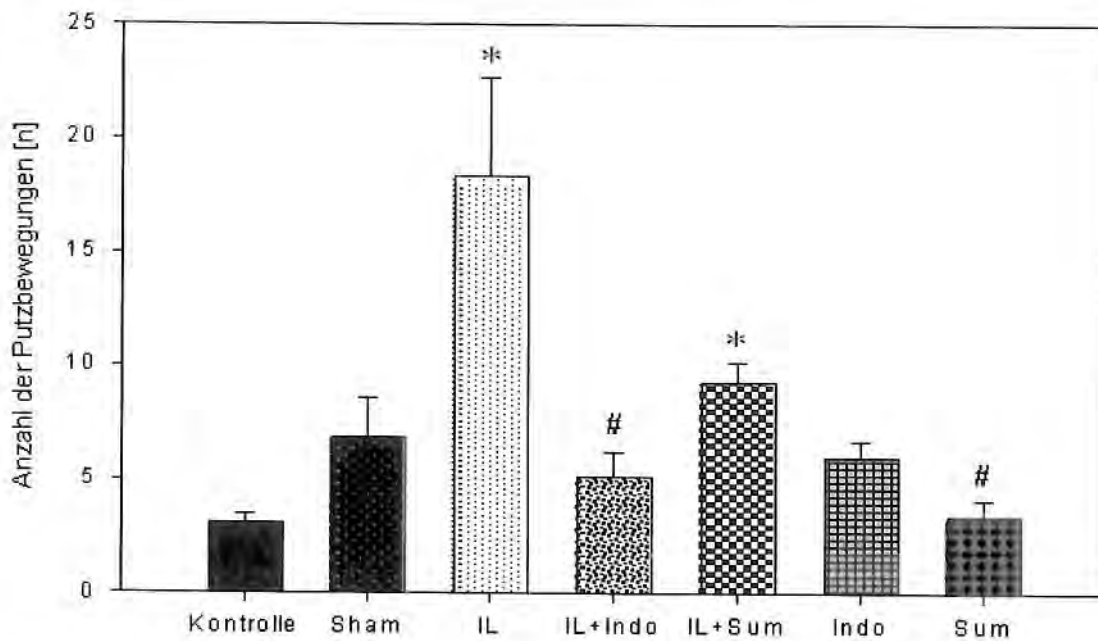
Ratten mit der alleinigen Gabe von Indometacin und Sumatriptan zeigten keinen signifikanten Unterschied zu Kontrollen (Median Indometacin 6,0 vs. Sumatriptan 3,0, vs. Kontrolle 2,5; $p > 0,05$). Die Gabe von Indometacin vor IL-1 β führte zur Reduktion der Anzahl der Putzbewegungen, die stärker und signifikant ausgeprägt war, als durch die Applikation von Sumatriptan (IL-1 β 9,7 vs. IL-1 β + Sumatriptan 9,0; $p = 0,09$ / IL-1 β 9,7 vs. IL-1 β + Indometacin 4,5; $p = 0,013$).

Für die Untersuchungen mit Capsaicin konnte kein statistisch auffälliger Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsreihen beobachtet werden ($p = 0,346$). Capsaicin führte im Median zu 5,5 Putzbewegungen, in der Sham-Serie waren 6,5 Bewegungen zu beobachten

und die Gabe von Vehikelsubstanz zeigte 6,0 Aktionen im Behandlungszeitraum. Der Vergleich von Capsaicin und der Reihe Capsaicin kombiniert mit Sumatriptan ergab keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,339$).

Abbildung 8

a)



b)

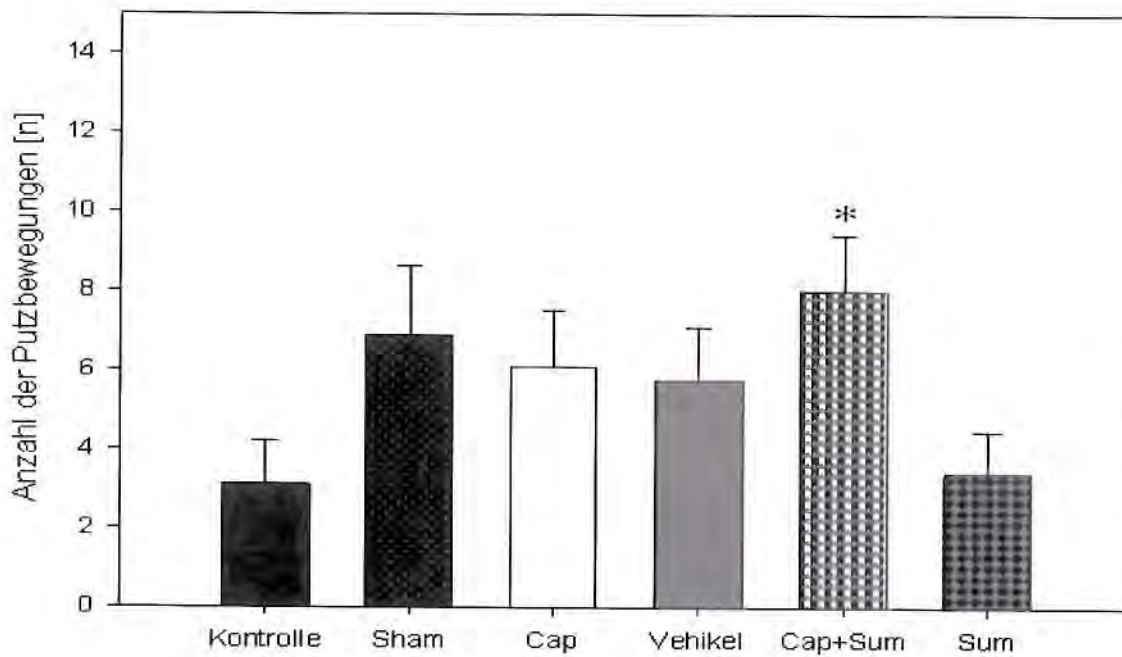


Abbildung 8a) b):

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Putzen (grooming) für die Versuchsreihen IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

In der Abbildung 10a zeigt die IL-1 β -Serie signifikant erhöhte Putzbewegungen im Vergleich zur Kontrolle. Dabei kann Indometacin die Wirkung von IL-1 β signifikant blockieren.

Bei Abbildung 10b zeigten Capsaicin + Sumatriptan signifikant mehr Putzbewegungen im Vergleich zu den Kontrollen. Capsaicin - behandelte Tiere zeigten tendenziell erhöhte Putzbewegungen. Zwischen Capsaicin und den weitere Vergleichsreihen gibt es keine signifikanten Unterschiede.

3.1.2 Elevationsbewegung (Rearing)

IL-1 β führte zu einer signifikanten Reduktion der Elevationsbewegungen der Ratten im Vergleich zur Kontrolle (IL-1 β 20,8 \pm 2,05 vs. Kontrolle 30,2 \pm 2,87; $p = 0,01$). Das Bestreben sich aufzurichten und das Explorationsverhalten bei IL-1 β stimulierten Ratten sind daher deutlich vermindert.

Es ergab sich kein Unterschied zwischen Tieren der Kontrollreihe und den Reihen Sumatriptan und Indometacin (Kontrolle 30,02 \pm 2,87 vs. Sumatriptan 19,0 \pm 2,66; $p = 0,06$ vs. Indometacin 33,6 \pm 4,0; $p = 0,56$). Die Ratten der Sumatriptanreihe erschienen generell langsamer und in ihren Bewegungen träger. Die Abweichungen dieser Gruppe im Vergleich zu den Kontrollen sind jedoch nicht signifikant. Die Gabe von Indometacin und Sumatriptan vor Stimulation mit IL-1 β führte zum Wiederanstieg der durch IL-1 β reduzierten Aufrichtungsbewegungen. Tiere mit der Gabe von Indometacin zu IL-1 β hatten 27,5 \pm 5,28 Elevationen und 27,0 \pm 2,57 nach vorheriger Gabe von Sumatriptan (IL-1 β vs. Indometacin + IL-1 β $p = 0,187$ und IL-1 β vs. Sumatriptan + IL-1 β $p = 0,148$). Beide Substanzen waren in der Lage den Stimulationseffekt von IL-1 β partiell zu blockieren, jedoch ohne statistisch signifikant zu sein.

Für die Untersuchungen mit Capsaicin konnten ähnliche Ergebnisse wie für IL-1 β für den Parameter Elevationsbewegungen erzielt werden. Die alleinige Capsaicin-Gabe verursachte eine signifikante Reduktion der Elevationsbewegungen (Capsaicin 9,2 vs. Sham OP 27,5; $p < 0,05$). Dabei konnte Sumatriptan in Kombination mit Capsaicin die Elevationsbewegungen gegenüber der alleinigen Gabe von Capsaicin signifikant steigern (Capsaicin 9,2 \pm 1,53 vs. Capsaicin + Sumatriptan 17,0 \pm 2,5; $p = 0,013$) und somit den Effekte von Capsaicin antagonisieren.

Abbildung 9

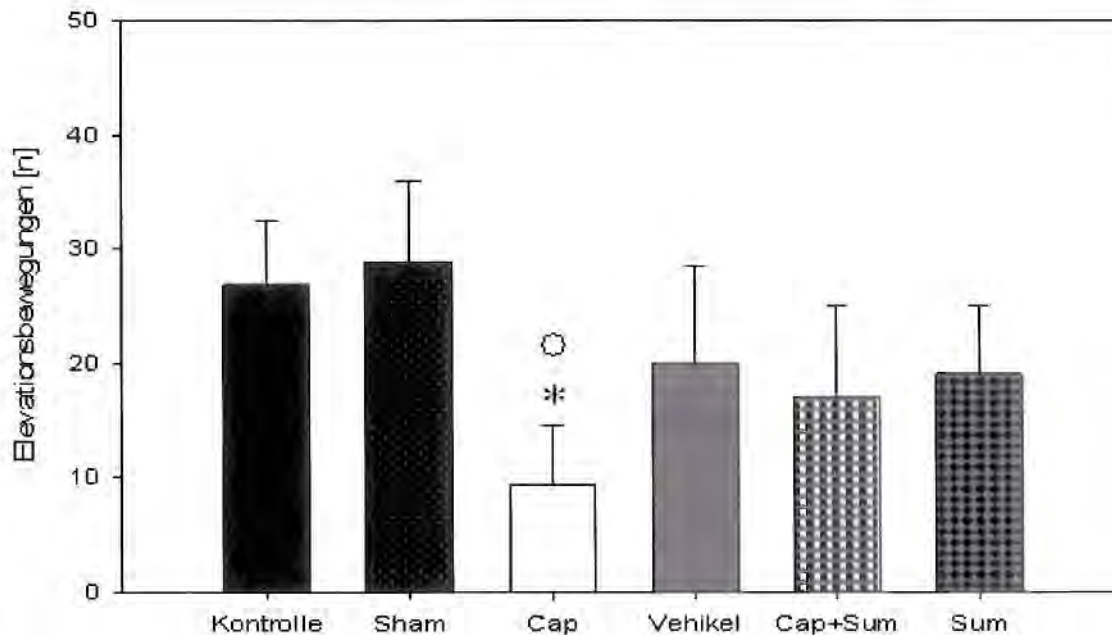


Abbildung 9:

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Elevationsbewegungen (rearing) für die Serie Capsaicin. Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Capsaicin zeigt sowohl gegen die Kontrolle als auch gegen die Scheinoperation signifikant gesteigerte Elevationsbewegungen.

3.1.3 Kopfschüttelbewegungen (headshakes)

Das Kopfschütteln stellt einen weiteren interessanten und neuen Aspekt in unserem Experiment dar. Während der Versuche fiel auf, dass einige Ratten vor allem unter IL-1 β und Capsaicineinfluss gehäuft den Kopf schüttelten, wobei sich die Schüttelbewegung über den Rumpf bis in den Körper fortsetzte. Dies ging meist mit einer schwankenden Laufbewegung einher. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von Beaman und Tam [2008] beschrieben und veranlassten uns, den Parameter Kopfschütteln in die Versuche zu integrieren.

Hinsichtlich des Kopfschüttelns zeigten die Ratten in den verschiedenen Paradigmen Unterschiede auf. Tiere mit IL-1 β steigerten im Vergleich zu den Kontrollen signifikant ihre Schüttelbewegungen (Median IL-1 β 11,5 vs. Kontrolle 0,0; $p < 0,001$). Auch die Gruppen in Kombination mit IL-1 β sowie Indometacin in alleiniger Gabe erhöhten das Kopfschütteln signifikant gegenüber den Kontrollen (Median IL-1 β + Sumatriptan 6,5; IL-1 β + Indometacin 9,0; Indometacin 6,0 vs. Kontrolle; $p < 0,05$).

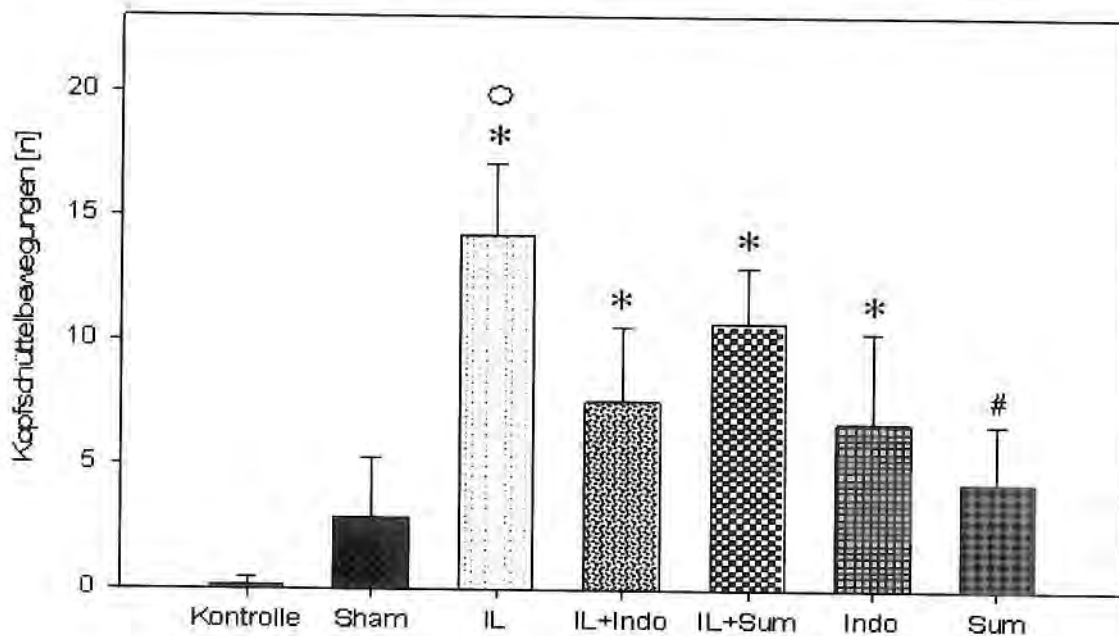
Die Veränderungen durch die Gabe von IL-1 β konnte durch Indometacin signifikant blockiert werden (IL-1 β 14,2 \pm 2,25 vs. IL-1 β + Indometacin 7,6 \pm 1,11; $p = 0,03$). Es zeigt sich eine

Reduktion der deutlich erhöhten Anzahl an Bewegungen. Kontrastierend dazu war Sumatriptan ohne signifikanten Effekt auf die IL-1 β induzierten vermehrten Kopfschüttelbewegungen (IL-1 β 14,2 \pm 2,25 vs. IL-1 β + Sumatriptan 10,6 \pm 3,96; p = 0,42). Sumatriptan in alleiniger Gabe hatte ebenfalls keinen Einfluss auf das Kopfschütteln (Median Sumatriptan 3,5; p > 0,05).

Für die Untersuchungen mit Capsaicin konnten gleichsam unterschiedliche Befunde ermittelt werden. Die Capsaicin - behandelten Tiere steigerten im Vergleich zu den scheinoperierten Ratten signifikant ihr Kopfschütteln (Capsaicin 8,3 \pm 1,6 vs. Scheinoperierte 2,8 \pm 0,8; p = 0,004). Die Sumatriptan - Gabe konnte den Effekt von IL-1 β nicht auffällig verändern und war ebenso verschieden zur Gruppe der scheinoperierten Ratten (Sumatriptan + IL-1 β 8,8 \pm 1,2 vs. Scheinoperierte 2,8 \pm 0,8; p = 0,004). Im Vergleich von Capsaicin und der Kombination von Capsaicin plus Sumatriptan wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt (Capsaicin 8,3 \pm 1,6 vs. Capsaicin + Sumatriptan 8,8 \pm 1,2; p = 0,824). Zusammengefasst führte Capsaicin zu auffälligen Veränderungen des Kopfschüttelns, die jedoch nicht im therapeutischen Sinn beeinflusst werden konnten.

Abbildung 10

a)



b)

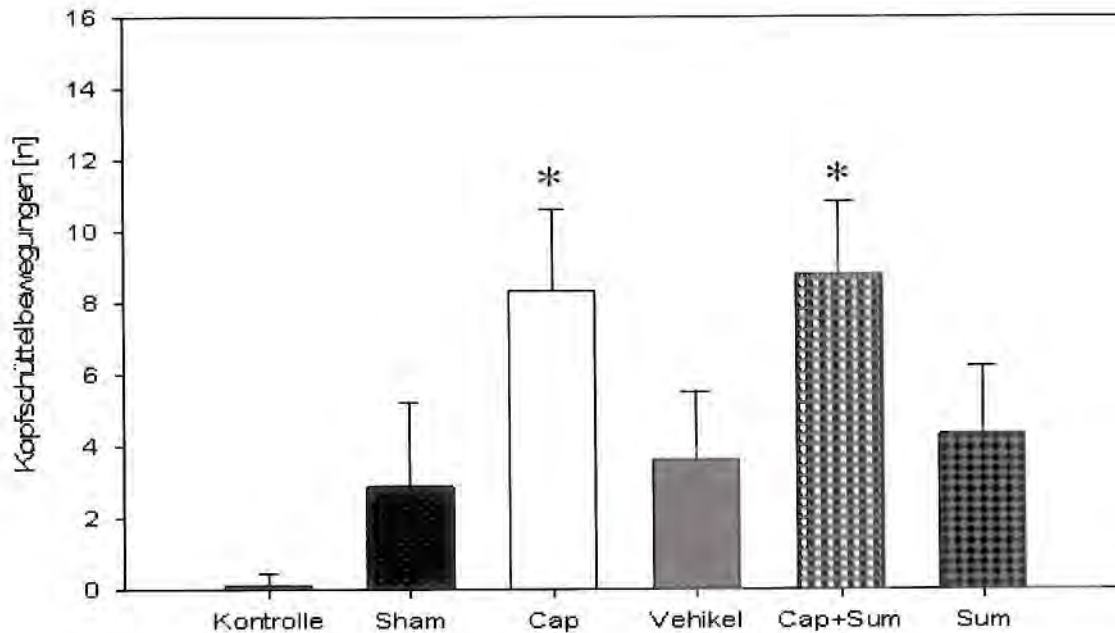


Abbildung 12a) b)

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Kopfschüttelbewegungen (headshakes) für die Behandlungsparadigmen IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

IL-1 β zeigt die meisten Kopfschüttelbewegungen und grenzt sich signifikant von den Kontrollen und scheinoperierten Tieren ab. Die Schüttelbewegungen nach Gabe von Sumatriptan + IL-1 β sind signifikant vermindert im Vergleich zur alleinigen IL-1 β -Gabe.

Capsaicin ist im Verhaltensparameter Kopfschüttelbewegungen signifikant von den Kontrollen abzugrenzen, welches auch nicht durch die Gabe von Sumatriptan beeinflusst werden konnte.

3.1.4 Strecke im Mittelfeld (distance inner area)

Das Zentrum des Open field (Zone 17) stellt einen besonderen Raum für Ratten dar. Sie bietet keine schützende und deckende Seitenbegrenzung und kostet daher eine gewisse Überwindung, von der Ratte ebenfalls exploriert zu werden. Es waren sowohl Explorationsbegehren als auch Furchtlosigkeit notwendig, um sich in das mittlere ungeschützte Feld zu begeben.

Hinsichtlich der zurückgelegten Strecke im Zentrum wurden keine signifikanten Unterschiede der Interleukin-1 β Gruppe und den Kontrollen festgestellt (IL-1 β 255,5 cm \pm 97,3 cm vs. Kontrolle 435,9 cm \pm 91,4 cm; p = 0,138). Auch die Gabe von Sumatriptan oder Indometacin zu IL-1 β veränderte die Länge der zurückgelegten Strecke nicht signifikant (Indometacin +

IL-1 β 351,3 cm \pm 86,1 cm; Sumatriptan + IL-1 β 463,7 cm \pm 115,9 cm vs. Kontrolle 435,9 cm \pm 91,4 cm; $p = 0,138$). Keine der untersuchten Gruppen zeigte eine Reduktion der Strecke im Zentrum im Vergleich zu den Kontrollen. Auch der Vergleich der blockierenden Substanzen vor Gabe von IL-1 β konnten keine signifikanten Abweichungen zu IL-1 β allein erreicht werden (IL-1 β vs. IL-1 β + Indometacin: $p = 0,46$ und IL-1 β vs. IL-1 β + Sumatriptan: $p = 0,192$).

Für die Untersuchungen mit Capsaicin konnten Unterschiede in der zurückgelegten Strecke im Zentrum gefunden werden. Bei Capsaicin-Gabe hielten sich die Ratten vermehrt am Rand des Open field auf und viele Versuchstiere begaben sich kein einziges Mal in die Mitte. Tiere der Capsaicinreihe erreichten einen signifikant kleineren Medianwert von 1,3 cm im Gegensatz zu den scheinoperierten Ratten und naiven Kontrollen (Median Sham OP 203,4 cm vs. Capsaicin 1,3 cm; $p = 0,004$). Sumatriptan konnte die Wirkung von Capsaicin signifikant blockieren. (Capsaicin 22,8 cm \pm 13,6 cm vs. Capsaicin + Sumatriptan 121,48 cm \pm 44,3 cm ; $p = 0,018$).

Weitere statistisch signifikante Unterschiede konnten nicht gefunden werden (Median Vehikel 147,680 cm vs. Sumatriptan 64,100 cm vs. Capsaicin + Sumatriptan 135,440 cm, $p > 0,05$).

Abbildung 11

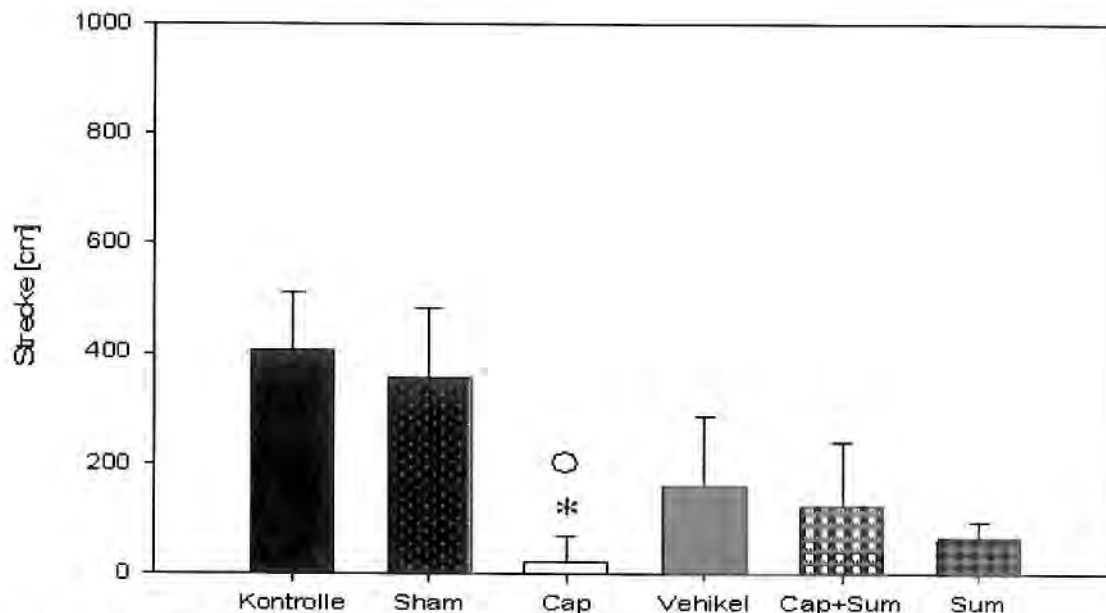


Abbildung 11:

Dargestellt ist die Verhaltensvariable zurückgelegte Strecke im Zentrum (distance inner area) für die Serie Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Die Capsaicin Gruppe zeigt sowohl gegen die Kontrolle als auch gegen die Scheinoperation signifikant verminderte Streckenlängen.

3.1.5 Gesamtstrecke (total distance)

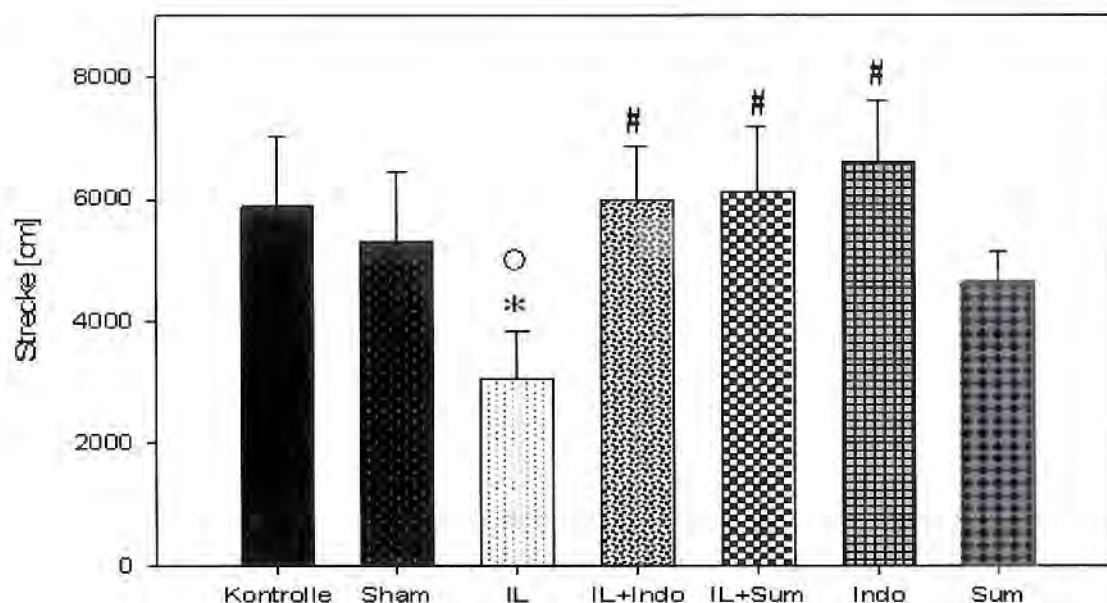
Die Gesamtstrecke stellt einen Parameter für die körperliche Aktivität und das Explorationsbegehren der Tiere dar. Innerhalb der Versuche stellten sich große Unterschiede zwischen den maximalen Laufstrecken von gesunden und Capsaicin – bzw. IL-1 β stimulierten Tieren dar.

Nach Gabe von IL-1 β reduzierte sich die durchschnittliche Gesamtstrecke signifikant im Vergleich zu den Kontrollen (IL-1 β 3057,4 cm \pm 432,0 cm vs. Kontrolle 4725,5 cm \pm 619,2 cm; $p = 0,015$). Ratten mit der alleinigen Gabe von Indometacin und Sumatriptan zeigten keinen signifikanten Unterschied zu Kontrollen (Indometacin 6600,3cm \pm 458,3cm; Sumatriptan 4636,6 cm \pm 230,7 cm vs. Kontrolle 4725,5 cm \pm 619,2 cm; $p > 0,05$). Die Gabe von Sumatriptan oder Indometacin in Kombination mit IL-1 β konnte die durch Interleukin-1 β reduzierte Wegstrecke auf ein den Kontrollen vergleichbares Niveau heben. Beide Substanzen waren somit in der Lage, den Stimulationseffekt von IL-1 β signifikant zu inhibieren (IL-1 β vs. Indometacin + IL-1 β : $p = 0,001$, Sumatriptan + IL-1 β : $p < 0,001$).

Capsaicin verursachte ebenfalls eine signifikante Reduktion der zurückgelegten Strecke (Capsaicin 4014,5 cm \pm 385,9 cm vs. Scheinoperierte 5308,2 cm \pm 468,3 cm; $p = 0,04$). Die Gabe von Sumatriptan nach Capsaicin konnte den Stimulationseffekt von Capsaicin nicht aufheben (Capsaicin + Sumatriptan 4513,0 cm \pm 179,42 cm vs. Capsaicin 4014,5 cm \pm 385,9 cm ; $p = 0,231$).

Abbildung 12

a)



b)

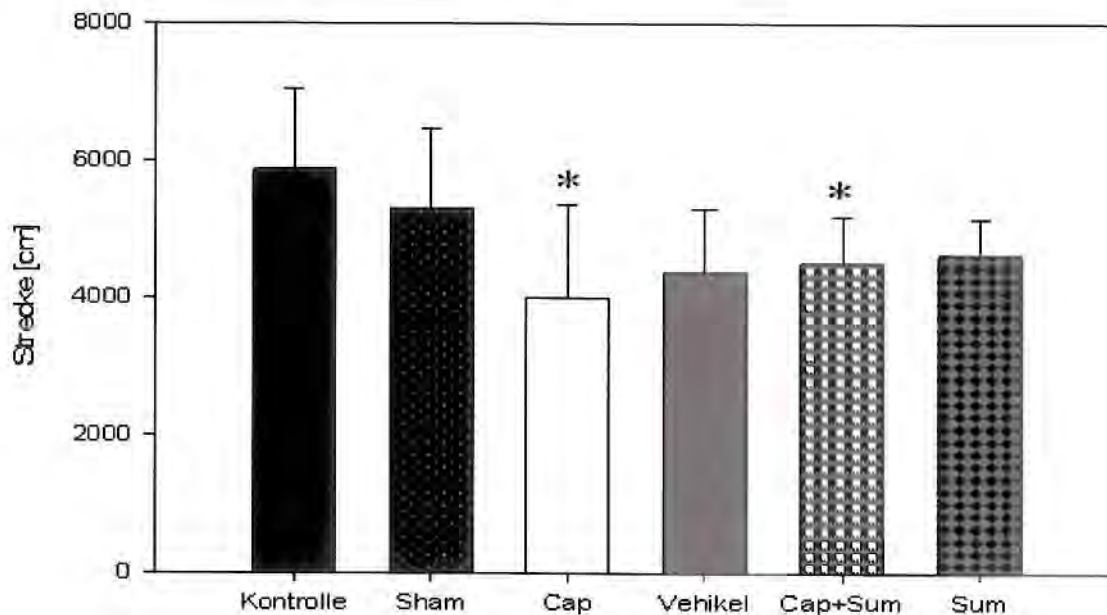


Abbildung 12:

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Gesamtstrecke (total distance) für die Versuchsserien Interleukin-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Mit IL-1 β stimulierte Ratten haben eine signifikant kürzere Gesamtstrecke zurückgelegt im Vergleich zu Kontrolle und Scheinoperation. Die Gaben von Indometacin und Sumatriptan plus IL-1 β konnten die Reduktion der Wegstrecke aufheben. Die Einzelgabe von Indometacin hatte keinen negativen Einfluss auf die zurückgelegte Strecke im Vergleich zu Kontrollen/Scheinoperierten.

Die Gabe von Capsaicin reduzierte die Wegstrecke signifikant zur Kontrolle. Sumatriptan konnten diesen Effekt nicht aufheben.

3.1.5.1 VideoMot2 – Streckenvergleich Capsaicin- und Kontrollreihe

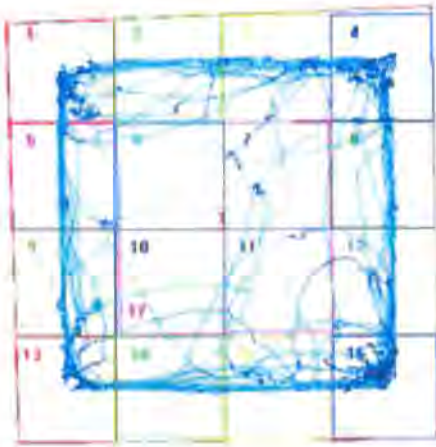
Mit Hilfe des VideoMot2-Systems konnten wir einige der im Open field untersuchten Verhaltensvariablen digital messen und somit Untersucher unabhängig objektivieren.

Der Versuchsaufbau des Open field wurde vom Computer in 16 gleich große Quadrate unterteilt. Davon bilden die Quadrate 1, 4, 13 und 16 die Eckfelder. Das Mittelfeld schließt die Quadrate 6, 7, 10 und 11 ein. Die zurückgelegte Gesamtstrecke stellt sich im Computer als blaue, geschlängelte Linie dar. Zu zahlreichen Überkreuzungen der Streckenlinie kam es in den Eckfeldern, da sich hier die Ratten bevorzugt aufhielten.

Es ist zu erwähnen, dass eine größere zurückgelegte Strecke gleichzeitig eine durchschnittlich höhere Bewegungsgeschwindigkeit während des Versuchszeitraumes bedeutet. Unabhängig von der erreichten Gesamtstrecke sind Latenz, verbrachte Zeit in den Ecken und zurückgelegte Strecke im Mittelfeld.

Abbildung 13

a)



b)

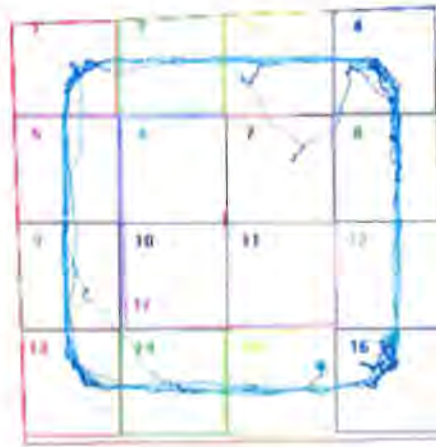


Abbildung 13 a) b):

Die Abbildung liefert einen beispielhaften Vergleich des Verhaltens zweier Ratten aus unterschiedlichen Versuchsreihen über 10 Minuten. Das unbehandelte Tier (Kontrolle, a) legte weite Strecken zurück und betrat häufig das Mittelfeld. Die blaue Streckenlinie überkreuzt sich sehr oft.

Das „geschwächte“ Tier (Capsaicin-Stimulation, b) legte kurze Strecken zurück und betrat selten das Mittelfeld. Es gibt nur wenige Streckenlinienüberkreuzungen. Im Verhältnis zur Gesamtstrecke haben beide Ratten etwa gleichviel Zeit in den Ecken verbracht.

Streckenvergleich Kontrolle (a) gegen Capsaicin-Applikation (b) in Abbildung 15

1. Exemplarische Darstellung des Laufverhaltens eines Kontrolltieres im Open field über 10 Minuten. Die zurückgelegte Strecke beträgt: 7225,69 cm.
2. Exemplarische Darstellung des Laufverhaltens eines Tieres nach lokaler Gabe von Capsaicin im Open field über 10 Minuten. Die zurückgelegte Strecke beträgt 2355,95 cm und läuft damit nur ein Drittel der Durchschnittsstrecke des Kontrolltieres.

3.1.7 Latenz (latency)

Die Latenz beschreibt die Zeit vom ersten Kontakt der Ratte mit dem Open field bis zum freiwilligen Eintritt in das Mittelfeld. Nachdem die Ratte zu Beginn in die Mitte des Open field gesetzt wird, läuft sie zuerst zum Rand und erkundet vom Rand aus das neue Gebiet. Daraufhin wird auch das weniger Schutz bietende Zentrum exploriert.

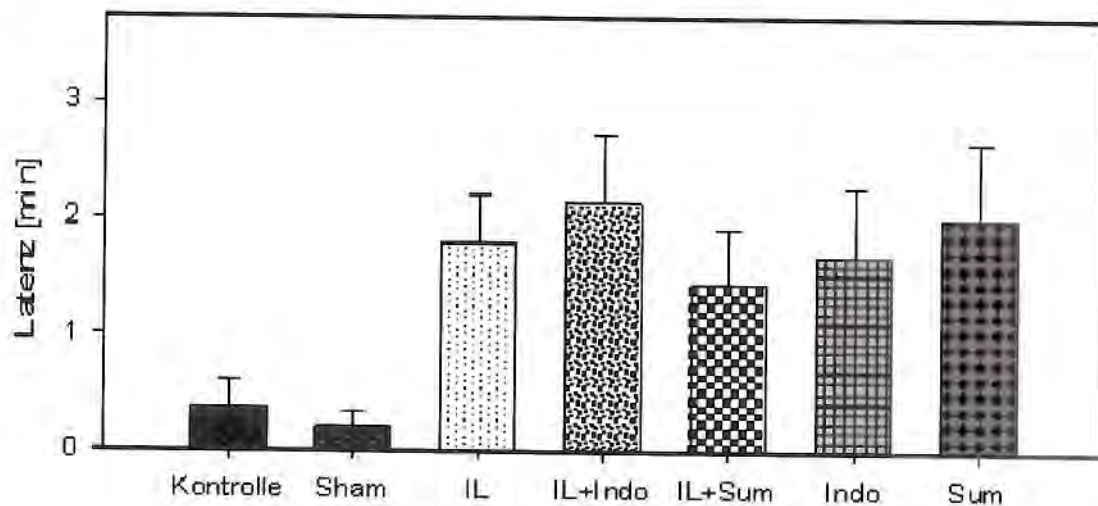
Bezüglich der Latenz zeigten die Ratten der IL-1 β Versuchsreihen vergleichbare Ergebnisse. Die Stimulation mit IL-1 β bewirkte keine signifikante Veränderung zu den Kontrollen (Median IL-1 β 1,4 min vs. Kontrolle 0,5 min; $p > 0,05$). Auch die Vergleichsreihen innerhalb der IL-1 β -

Studie wie Indometacin mit einem Medianwert von 1,6 min, Sumatriptan 1,1 min und die Kombinationsgruppen (Indometacin + IL-1 β 1,1 min; Sumatriptan + IL-1 β 1,6 min vs. Kontrolle 0,5 min; $p = 0,71$) zeigen keine Unterschiede zu den Kontrollen.

Nach topischer Applikation von Capsaicin konnte dagegen ein signifikanter Unterschied zu den scheinoperierten Tieren ermittelt werden (Median Capsaicin 6,3 min vs. Scheinoperierte 0,2 min; $p = 0,032$). Capsaicin-stimulierte Tiere benötigten somit eine um ein Vielfaches längere Zeit, um wieder in das Mittelfeld einzutreten. Die zusätzliche Gabe von Sumatriptan konnte die Wirkung von Capsaicin fast komplett unterdrücken und die Latenz den Scheinoperierten eindrucksvoll annähern (Median Sumatriptan + Capsaicin 0,3 min vs. Scheinoperierte 0,2 min; $p > 0,05$). Außer den Ratten der Capsaicinreihe erreicht keine weitere Gruppe signifikante Unterschiede zu den scheinoperierten Tieren. Der Vergleich der Gruppe Capsaicin mit der Gruppe Capsaicin plus Sumatriptan zeigt keinen signifikanten Unterschied für den Parameter Latenz (Capsaicin 5,87 min \pm 1,29 min vs. Capsaicin + Sumatriptan 2,64 min \pm 1,48 min; $p = 0,129$).

Abbildung 14

a)



b)

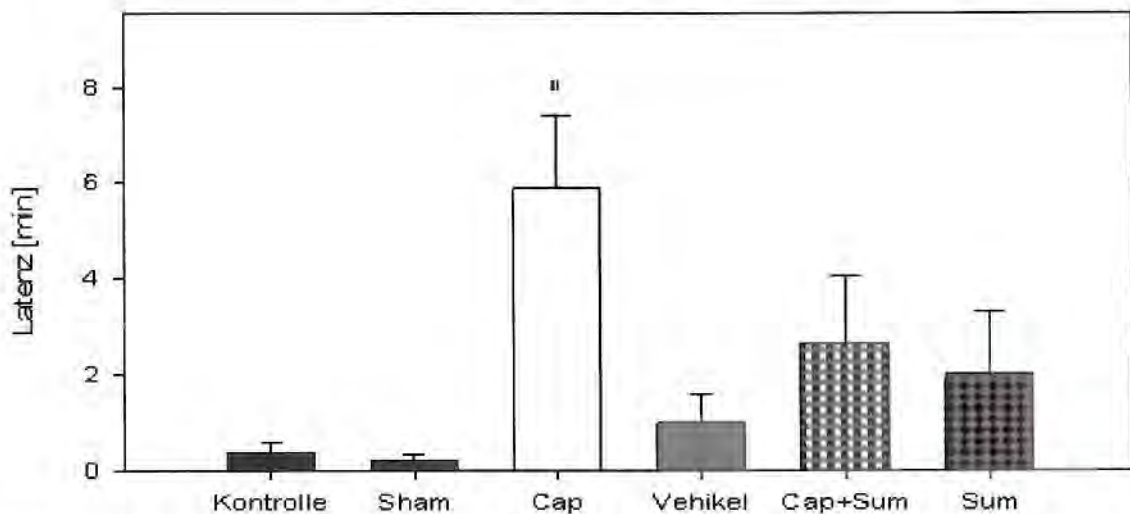


Abbildung 14 a) b):

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Latenz (latency) für die Serien IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Interleukin-1 β zeigt eine tendenziell erhöhte Latenzzeit bis zum Wiedereintritt in das Mittelfeld, erreicht aber keine signifikanten Unterschiede zu Kontrollen und Scheinoperierten. Capsaicin-Gabe führte zur längsten Latenzzeit und war signifikant von den Scheinoperierten zu unterscheiden. Die Gruppen Vehikel und Sumatriptan sind nicht signifikant von der Capsaicinreihe abzugrenzen.

3.1.7 Geschwindigkeit (velocity)

Die Geschwindigkeit der Ratten stellt einen weiteren Parameter für die Messung der körperlichen Aktivität und des Explorationsbegehrens dar.

IL-1 β führte zu einer nicht signifikanten Reduktion der Geschwindigkeit der Ratten im Vergleich zu den Kontrollen (IL-1 β 8,82 cm/s \pm 0,49 cm/s vs. Kontrolle 11,03 cm/s \pm 0,5 cm/s; $p > 0,05$). Die Reihen IL-1 β in Kombination mit Indometacin oder Sumatriptan waren in der Lage, den Effekt von IL-1 β signifikant bzw. tendenziell zu inhibieren (IL-1 β vs. Indometacin + IL-1 β : $p = 0,004$ und IL-1 β vs. Sumatriptan + IL-1 β : $p = 0,091$). Die alleinige Gabe von Indometacin erwies sich als vergleichbar mit den Kontrollen (Indometacin 10,9 cm/s \pm 0,768 cm/s vs. Kontrolle 11,17 cm/s \pm 0,5 cm/s; $p > 0,05$). Die alleinige Gabe von Sumatriptan reduzierte die Geschwindigkeit der Ratten signifikant (Sumatriptan 7,77 cm/s \pm 0,38 cm/s vs. Kontrolle 11,17 cm/s \pm 0,5 cm/s; $p < 0,001$).

Capsaicin führte zu einer signifikanten Reduktion der Geschwindigkeit gegenüber den scheinoperierten Tieren (Capsaicin 6,76 cm/s \pm 0,65 cm/s vs. Scheinoperierte 8,96 cm/s \pm 0,79 cm/s; $p = 0,037$). Die anderen Reihen waren mit den folgenden Mittelwerten für Vehikel 7,3 cm/s \pm 1,05 cm/s, Capsaicin + Sumatriptan 7,5 cm/s \pm 0,44 cm/s und Sumatriptan 7,77

cm/s \pm 0,38 cm/s mit der Scheinoperation vergleichbar und wiesen keine signifikanten Unterschiede auf. Der Unterschied zwischen den Reihen Capsaicin und Capsaicin plus Sumatriptan ist ebenfalls nicht signifikant (Capsaicin 6,76 cm/s \pm 0,65 cm/s vs. Capsaicin + Sumatriptan 7,5 cm/s \pm 0,44 cm/s; $p = 0.375$).

Abbildung 15

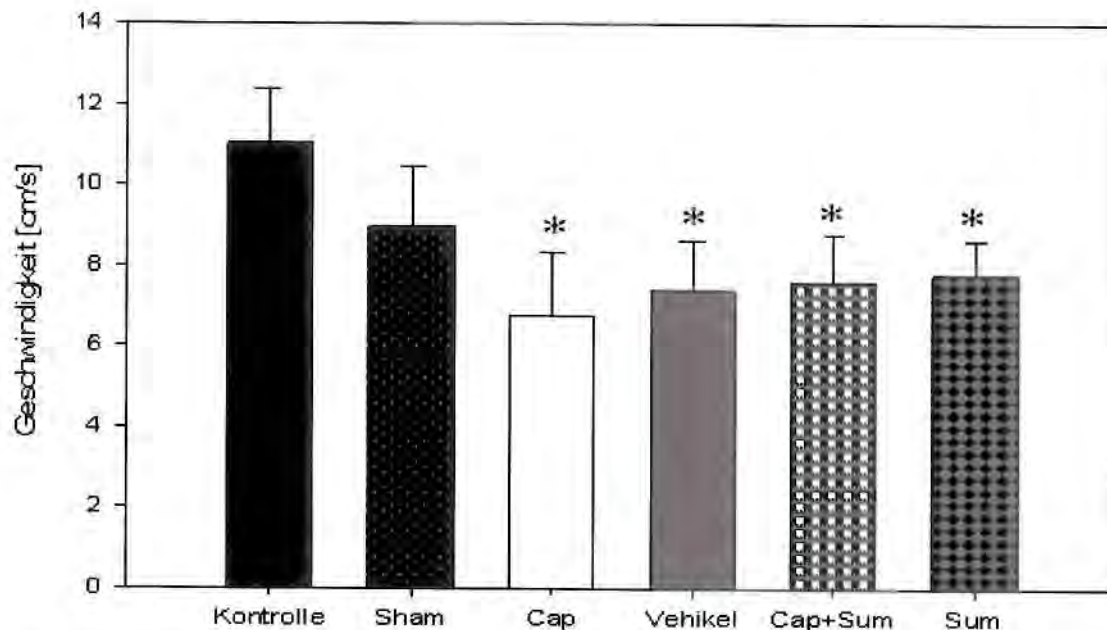


Abbildung 15:

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Geschwindigkeit (velocity) für die Serie Capsaicin. Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Die Capsaicin-Gruppe und alle anderen Gruppen waren signifikant langsamer in diesem Paradigma als die Kontrollen.

3.1.8 Zeit in den Ecken (time in corners)

Die Aufenthaltszeit der Ratten in den Ecken des Open field wurde über die Quadrate 1, 4, 13 und 16 errechnet. Die Ecken stellen den meist geschützten und daher auch meist aufgesuchten Raum des Open field dar. Hierbei soll noch einmal überprüft werden, ob zwischen den einzelnen Versuchsreihen Unterschiede in der Angst vorliegen, die möglicherweise das Explorationsverhalten beeinflussen.

Für die Untersuchungen mit IL-1 β konnte kein statistisch auffälliger Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsreihen beobachtet werden ($p = 0,237$). IL-1 β führte im Median zu 5,3 Minuten verbrachter Zeit in den Ecken, während die Kontrollen im Median 5,0 Minuten in den

Ecken verweilten. Die längste Zeit in den Ecken verbrachte die Reihe mit alleiniger Gabe von Sumatriptan (Median Sumatriptan 7,12 min vs. Kontrolle 5,0 min; $p > 0,05$).

Für die Untersuchungen mit Capsaicin konnte gezeigt werden, dass Capsaicin-stimulierte Tiere signifikant mehr Zeit in den Ecken verbrachten als die Kontrollreihe (Median Capsaicin 6,83 min vs. Kontrolle 5,0 min; $p = 0,006$). Keine weitere Tiergruppe zeigt signifikante Abweichungen zu den Kontrollen (Vehikel 5,99 min \pm 0,44 min; Sumatriptan 6,26 min \pm 0,91 min vs. Scheinoperierte 5,19 min \pm 0,22 min; $p = 0,416$).

Abbildung 16

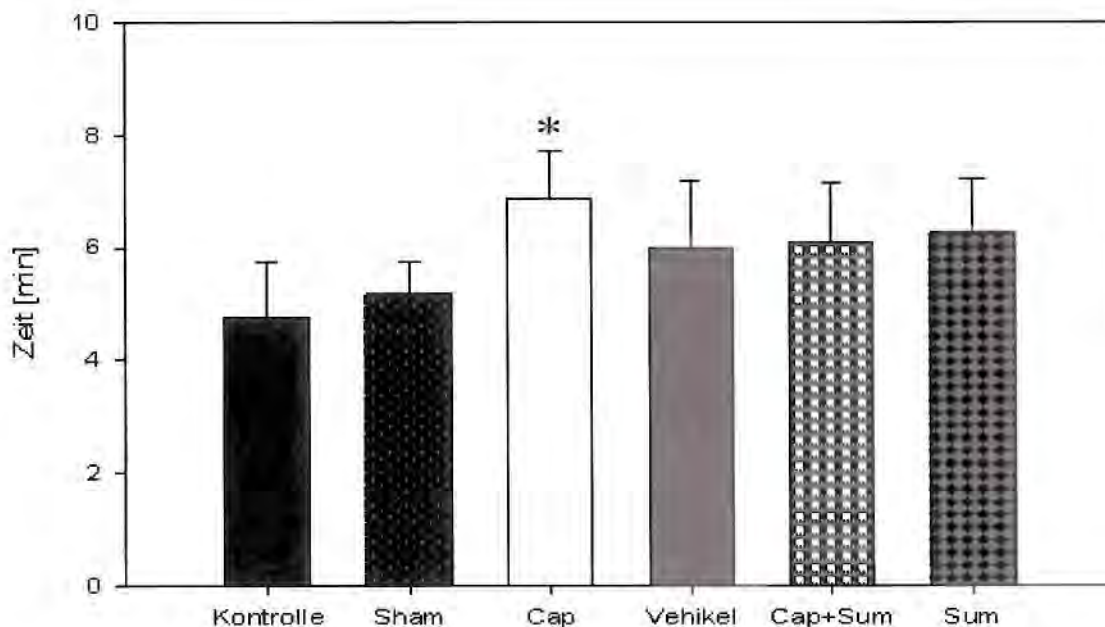


Abbildung 16:

Dargestellt ist die Verhaltensvariable Zeit in den Ecken (time in corners) für die Serie Capsaicin. Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Capsaicin ist die einzige Versuchsgruppe, die signifikant mehr Zeit in den Ecken verbrachte als die Kontrolle.

3.1.9 Zusammenfassung der Ergebnisse des Open field

Aufgrund der Vielzahl von Versuchen und statistischen Vergleiche habe ich zur Zusammenfassung und der besseren Übersicht eine Tabelle mit den Signifikanzen (Tabelle 3) für die verschiedenen untersuchten Paradigmen angefügt. Diese fasst die statistisch signifikanten Unterschiede aller Versuchsgruppen zur Kontrollgruppe (markiert durch *), zur

Gruppe der scheinoperierten Ratten (markiert durch ◊), zu IL-1β stimulierten Tieren (markiert durch #) und zu Capsaicin-stimulierten Ratten (markiert durch +) zusammen.

Tabelle 3

	IL-1β	Cap	Sum	Indo	Sum +IL-1β	Sum +Cap	Indo +IL-1β	Indo +Cap	Veh
Putzen	*		#		*	*			
Elevation		* ◊							
Kopfschütteln	* ◊	*	#	*	*	*	*		#
Strecke im Mittelfeld		* ◊							+
Gesamtstrecke	* ◊	*		# +	# +	* +	# +		
Latenz		◊							
Geschwindigkeit		*	*	+	+	*	# +		*
Zeit in den Ecken		*							

signifikant zur Kontrolle *

signifikant zur Scheinoperation ◊

signifikant zu IL-1β #

signifikant zu Capsaicin +

3.2 Fütterungsversuch über zwölf Stunden

3.2.1 Futteraufnahme (Food intake)

IL-1β führte zu allen Messzeitpunkten (nach einer, zwei und zwölf Stunden) zu einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme der Ratten im Vergleich zu Kontrollen (Median1h IL-1β 0,05 g vs. Kontrolle 3,0 g; Median2h IL-1β 1,9 g vs. Kontrolle 7,0 g; Median12h IL-1β 15,2 g vs. Kontrolle 26,0 g; $p < 0,001$). Die zusätzliche Gabe von Indometacin konnte die reduzierte Nahrungsaufnahme durch IL-1β in allen drei Messungen signifikant verbessern (IL-1β vs. IL-1β + Indometacin $p = 0,009$). Diese Ergebnisse sind mit den Daten aus der Kontrollreihe vergleichbar (Median1h Indometacin + IL-1β 2,5 g vs. Kontrolle 3,0 g; Median2h Indometacin + IL-1β 4,67 g vs. Kontrolle 5,9 g; Median12h Indometacin + IL-1β 20,0 g vs. Kontrolle 25,9 g; $p > 0,05$).

Sumatriptan war dahingegen nicht in der Lage, die Verminderung der Nahrungsaufnahme durch IL-1β aufzuheben (IL-1β vs. IL-1β + Sumatriptan: $p = 0,091$). Ratten, die Sumatriptan

plus IL-1 β erhielten, zeigten gegenüber Kontrollen eine signifikante Reduktion der Futteraufnahme (Median1h Sumatriptan + IL-1 β 2,0 g vs. Kontrolle 3,0 g; Median2h Sumatriptan + IL-1 β 2,71 g vs. Kontrolle 5,9 g; Median12h Sumatriptan + IL-1 β 15,8 g vs. Kontrolle 25,9 g; $p < 0,001$).

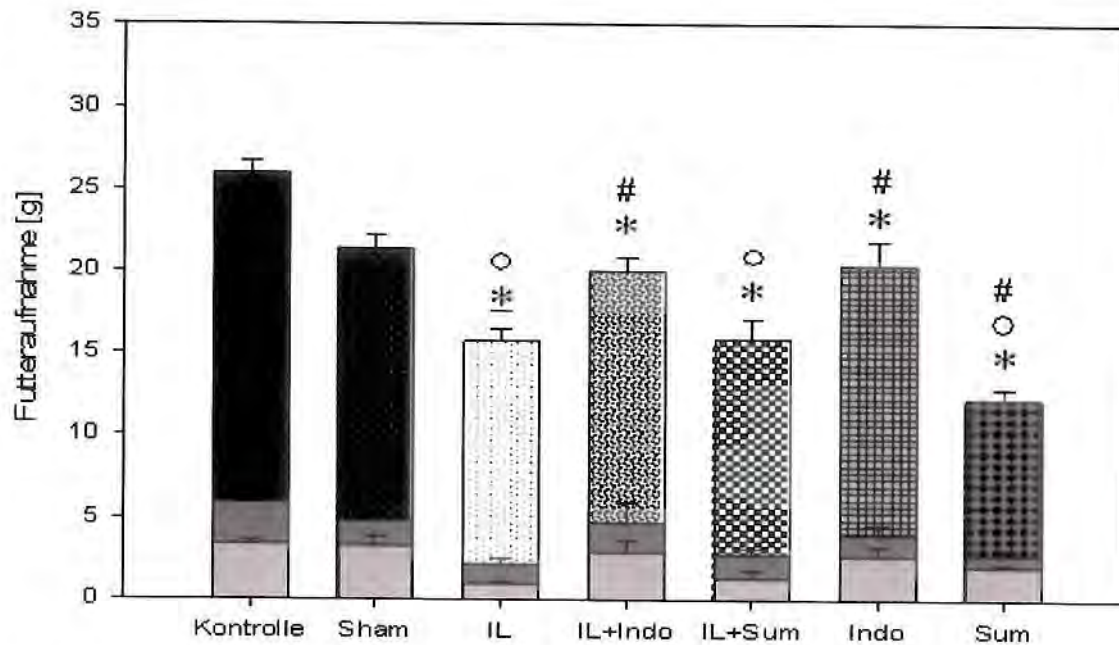
Ähnliche Resultate zeigten sich auch beim Vergleich der Stimulus blockierenden Substanzen. Mit Medianwerten von 2,0 g; 4,0 g; und 20,4 g nach einer, zwei und zwölf Stunden war die Nahrungsaufnahme in der Indometacin-Gruppe bei alleiniger Gabe mit den Kontrollen vergleichbar ($p > 0,05$). Hingegen führte Sumatriptan bei alleiniger Gabe mit Medianwerten von 2,0 g; 3,0 g und 12,2 g innerhalb derselben Intervalle zu einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme ($p < 0,001$).

Bei Capsaicin-Applikation kam es nach zwölf Stunden zu einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme im Vergleich zu den scheinoperierten Ratten (Capsaicin $17,2 \text{ g} \pm 1,22 \text{ g}$ vs. Sham OP $21,4 \text{ g} \pm 0,8 \text{ g}$; $p = 0,004$). Der negative Einfluss von Capsaicin auf die Futteraufnahme konnte mit Hilfe von Sumatriptan signifikant vermindert werden (Capsaicin vs. Capsaicin + Sumatriptan: $p = 0,017$). Die Kombinationsgruppen waren nicht unterschiedlich zu den scheinoperierten Ratten (Capsaicin + Sumatriptan $21,3 \text{ g} \pm 0,94 \text{ g}$ vs. Sham OP $21,4 \text{ g} \pm 0,8 \text{ g}$; $p > 0,05$). Vehikel-Gabe hatte auch keinen Einfluss auf die Futteraufnahme (Vehikel $21,0 \text{ g} \pm 1,0 \text{ g}$ vs. Scheinoperierte $21,4 \text{ g} \pm 0,8 \text{ g}$; $p > 0,05$). Die alleinige Sumatriptan-Injektion bewirkte jedoch wie schon in der Interleukin-1 β -Serie eine signifikante Reduktion der Futteraufnahme (Sumatriptan $12,2 \text{ g} \pm 0,64 \text{ g}$ vs. Sham OP $21,4 \text{ g} \pm 0,8 \text{ g}$; $p < 0,001$).

Da innerhalb des Versuches zu verschiedenen Zeiträumen (nach 1h, 2h und 12h) die konsumierten Futter- und Wassermengen gemessen wurden, sind in den Graphen die einzelnen Balken der Versuchsgruppen dreigeteilt. Hierbei stellt die Farbe hellgrau die erste Stunde dar, dunkelgrau die zweite und die Farbkodierung entsprechend der Gruppenzuordnung stellt die letzten 12 Stunden dar.

Abbildung 17

a)



b)

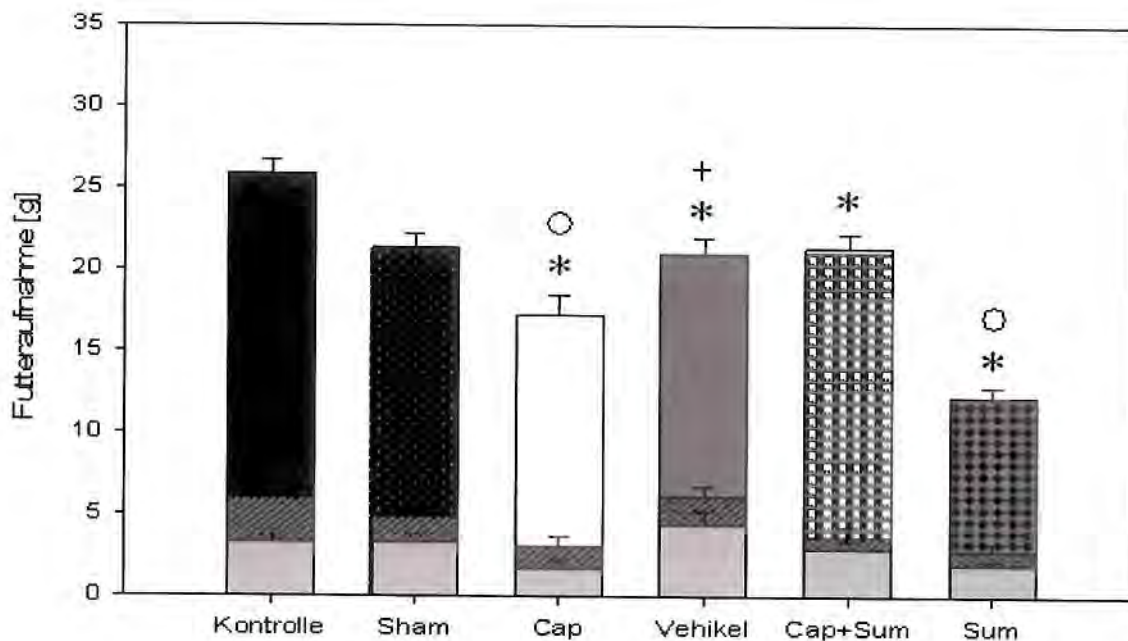


Abbildung 17 a) b):

Dargestellt ist die Futteraufnahme über 12h für die Untersuchungen zu IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Interleukin-1 β zeigt im Vergleich zu Kontrolle und Scheinoperation eine signifikant reduzierte Futteraufnahme. Ebenfalls vermindertes Fressverhalten wurde in den Kombinationsreihen beobachtet, die sowohl zu Kontrollen und Scheinoperierten als auch zu IL-1 β signifikante Unterschiede erreichten.

Die Capsaicin-Gabe (b) führte zu einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme im Vergleich zu Kontrollen und Scheinoperierten. Die Vergleichsgruppen Vehikel, Capsaicin kombiniert mit Sumatriptan und Sumatriptan zeigen signifikante Unterschiede zur Kontrolle. Dabei ist die Vehikel-Gabe über den gesamten Versuchszeitraum signifikant abgrenzbar zu Capsaicin.

3.2.2 Wasseraufnahme (water consumption)

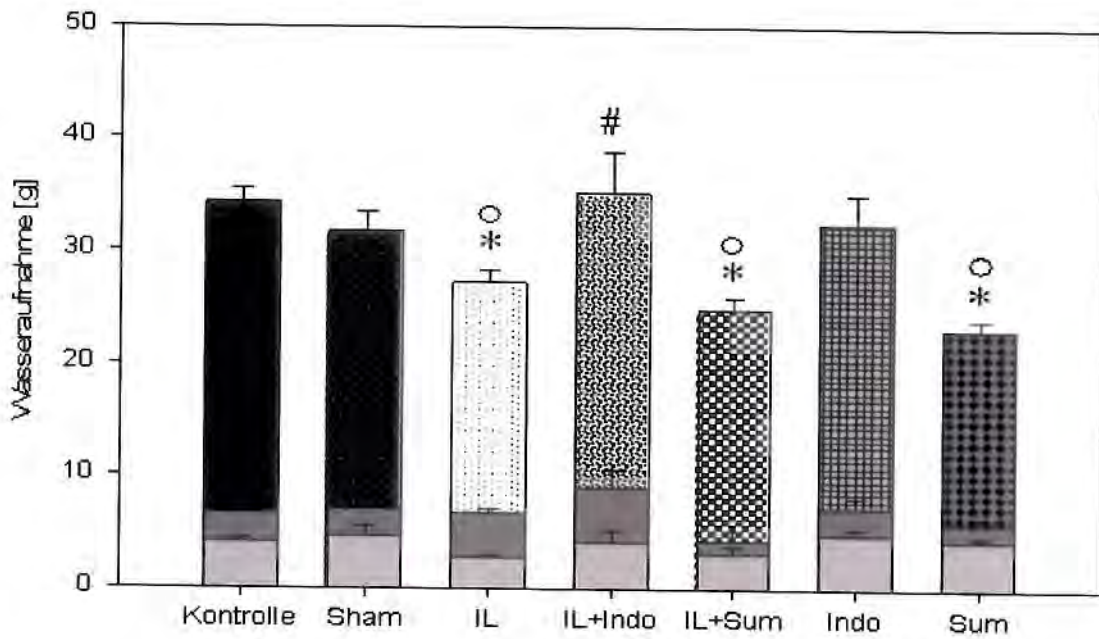
Die Untersuchung der Wasseraufnahme über zwölf Stunden ergab Befunde ähnlich derjenigen bei Futteraufnahme.

IL-1 β führte nach einer und zwölf Stunden zu einer signifikanten Reduktion der Wasseraufnahme im Vergleich zu den Kontrollen (1h IL-1 β 2,6 g \pm 0,32 g vs. Kontrolle 4,1 g \pm 0,38 g; p = 0,01; 12h IL-1 β 27,1 g \pm 1,06 g vs. Kontrolle 34,3 g \pm 1,26 g; p < 0,001). Indometacin führte zur Aufhebung des IL-1 β -Effektes (IL-1 β vs. IL-1 β + Indometacin: p = 0,007) und wies Werte vergleichbar zu den Kontrollen auf (Indometacin + IL-1 β 35,17 g \pm 1,06 g vs. Kontrolle 34,3 g \pm 1,26 g; p > 0,05). Dahingegen hatte Sumatriptan keine modulierende Wirkung (IL-1 β vs. Sumatriptan + IL-1 β : p = 0,245). Die Gabe von Sumatriptan allein zeigte eine verminderte Wasseraufnahme der Ratten (Sumatriptan 23,0 g \pm 0,94 g vs. Kontrolle 34,3 g \pm 1,26 g; p < 0,001).

Weniger eindeutige Ergebnisse wurden in den Untersuchungen zur Wasseraufnahme in den Untersuchungen mit Capsaicin erreicht. Zwischen den Gruppen Capsaicin, Sumatriptan + Capsaicin und Vehikel gibt es über den gesamten Zeitraum keine signifikanten Unterschiede zu den scheinoperierten Tieren (Capsaicin 30,3 g \pm 2,05 g, Sumatriptan + Capsaicin 30,4 g \pm 1,69 g, Vehikel 31,75 g \pm 1,61 g vs. Sham OP 31,75 g \pm 1,76 g; p > 0,05). Die Tiere aller Versuchsreihen nahmen etwa gleich viel Wasser im definierten Zeitintervall zu sich. Die Ausnahme bilden die Tiere mit Sumatriptan-Gabe, welches wie bereits in der Interleukin-1 β -Studie zu einer signifikanten Reduktion der Wasseraufnahme führt (Sumatriptan 23,0 g \pm 0,94 g vs. Sham OP 31,75 g \pm 1,76 g; p < 0,001).

Abbildung 18

a)



b)

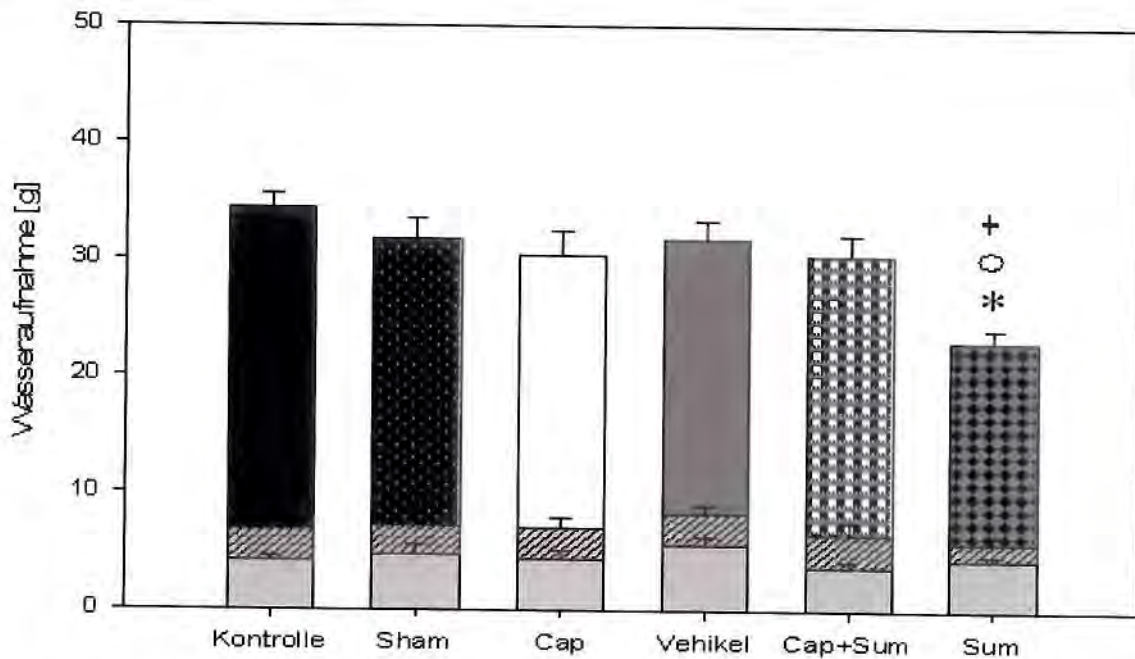


Abbildung 18a) b):

Dargestellt ist die Wasseraufnahme über 12h für die Serien IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Die Wasseraufnahme von Ratten mit Interleukin-1 β ist signifikant vermindert im Vergleich zu Kontrolle und Scheinoperation. Die Gabe von Sumatriptan konnte die Wirkung von IL-1 β

nicht aufheben. Indometacin + IL-1 β zeigt ein signifikant gesteigertes Trinkverhalten im Vergleich zur IL-1 β -Reihe.

Capsaicin reduzierte die Wasseraufnahme im Vergleich zu Kontrollen und Scheinoperation nicht signifikant. Die alleinige Gabe von Sumatriptan reduzierte das Trinkverhalten verglichen zu Kontrolle, Scheinoperation und Capsaicin-Gabe.

3.2.3 Motorische Aktivität im Käfig (locomotor activity)

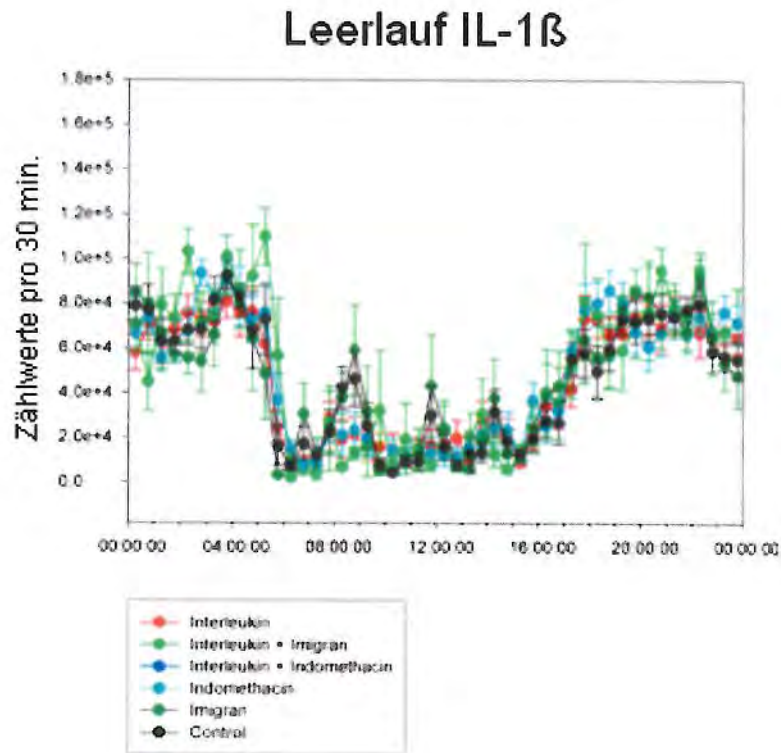
3.2.3.1 Leerlaufmessung

Die Graphen aller Versuchsreihen sind weitgehend überlappend. Während der Leerlaufmessung gibt es keine signifikanten Unterschiede in den beiden Stimulationsparadigmen IL-1 β (Median IL-1 β 1705078,00 cpm/ 30min , Indometacin 200437,500 cpm/ 30min, Sumatriptan 1292290,00 cpm/ 30min, IL-1 β + Indometacin 1727416,00 cpm/ 30min, IL-1 β + Sumatriptan 1722518,25 cpm/ 30min vs. Kontrolle 1667868,75 cpm/ 30min; $p > 0,05$) und Capsaicin (Capsaicin 1470053,32 cpm/ 30min \pm 129662,16 cpm/ 30min, Vehikel 1703471,750 cpm/ 30min \pm 107275,937 cpm/ 30min, Sumatriptan 1178346,500 cpm/ 30min \pm 284680,35 cpm/ 30min, Capsaicin + Sumatriptan 1591985,750 cpm/ 30min \pm 101477,727 cpm/ 30min vs. Sham OP 1582453,200 cpm/ 30min \pm 147320,811 cpm/ 30min; $p > 0,05$).

Aufgrund des simulierten Tag-Nacht-Rhythmus ergab sich im Zeitraum von 5.00 Uhr morgens ein Abfall der Aktivitätswerte. Diese Werte blieben auf niedrigem Niveau, bis es um 17.00 Uhr wieder einen Anstieg gab.

Abbildung 19

a)



b)

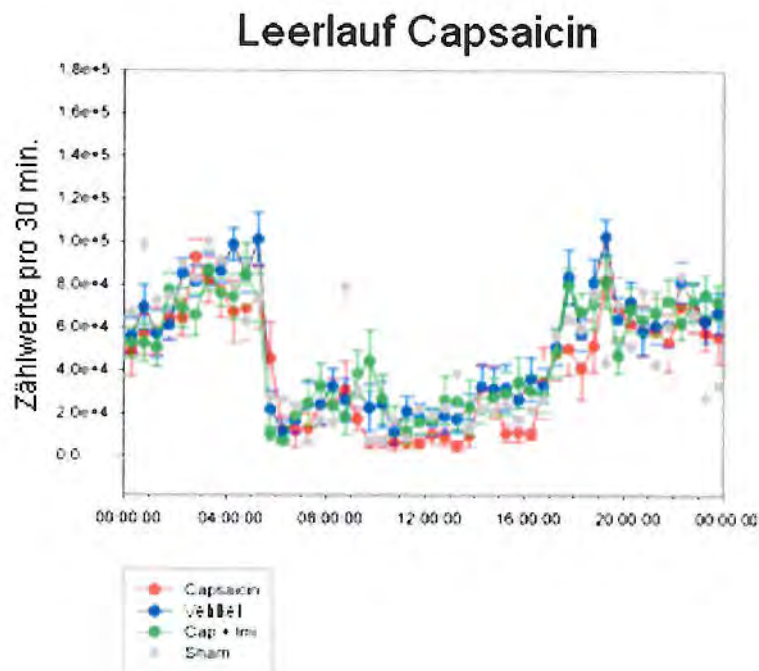


Abbildung 19 a) b):

Darstellung der Leerlaufmessung der motorischen Aktivität für IL-1 β (a) und Capsaicin (b) im Tag-Nacht-Rhythmus über 24h. Die Graphen der einzelnen Gruppen überschneiden und decken sich über den gesamten Zeitraum. Es gibt keine signifikanten Unterschiede in der motorischen Aktivität. Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

3.2.3.2 Motorische Aktivität während des zweiten Versuches

- über die Dauer von zwei und zwölf Stunden:

Wir konnten einen Trend, jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen beobachten.

In den Untersuchungen mit IL-1 β zeigten sich über die gesamten Messungen tendenziell verminderte Aktivitätswerte (nach 2h: IL-1 β 303895,89 cpm/ 30min \pm 49176,63 cpm/ 30min vs. Kontrolle 347876,79 cpm/ 30min \pm 14540,301 cpm/ 30min; $p = 0,055$ und nach 12h: IL-1 β 1612640,55 cpm/ 30min \pm 226191,53 cpm/ 30min vs. Kontrolle 1817656,92 cpm/ 30min \pm 72529,95 cpm/ 30min; $p = 0,159$). Die Unterschiede sind jedoch nicht statistisch signifikant.

Ratten nach Gabe von Indometacin + IL-1 β erreichte Aktivitätswerte, die den Kontrolltieren sehr nahe liegen (nach 2h: Indometacin + IL-1 β 328954,35 cpm/ 30min \pm 48153,298 cpm/ 30min vs. Kontrolle 347876,79 cpm/ 30min \pm 14540,301 cpm/ 30min; $p > 0,05$ und nach 12h: Indometacin + IL-1 β 1982563,55 cpm/ 30min \pm 256387,23 cpm/ 30min vs. Kontrolle 1817656,92 cpm/ 30min \pm 72529,95 cpm/ 30min; $p > 0,05$).

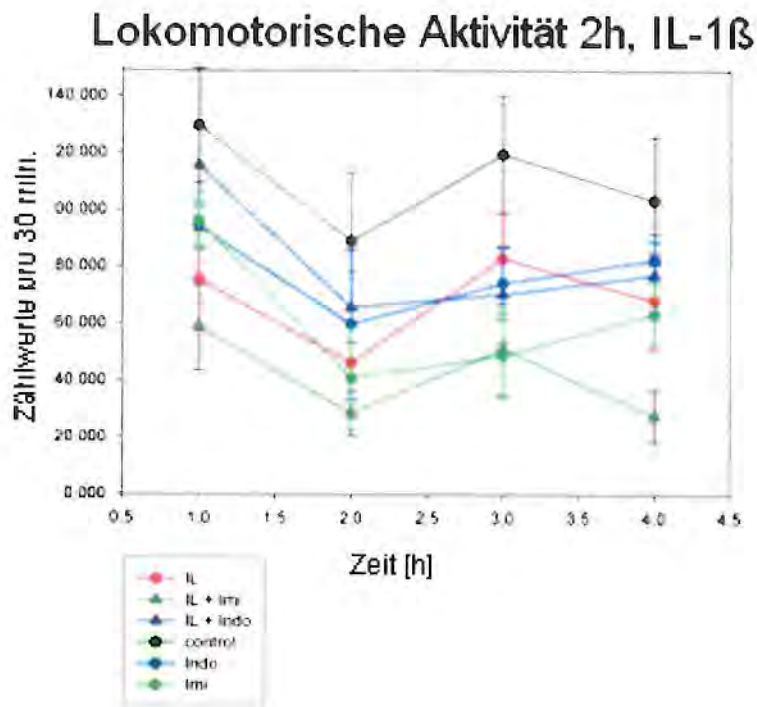
Sumatriptan in Kombination mit IL-1 β konnte die geringe Bewegungs-Inhibition von IL-1 β nicht aufheben und zeigte sogar noch etwas niedrigere Aktivitätswerte (nach 2h: Sumatriptan + IL-1 β 163392,80 cpm/ 30min \pm 30784,63 cpm/ 30min vs. Kontrolle 347876,79 cpm/ 30min \pm 14540,301 cpm/ 30min; $p = 0,055$ und nach 12h: Sumatriptan + IL-1 β 1239499,00 cpm/ 30min \pm 153328,08 cpm/ 30min vs. Kontrolle 1817656,92 cpm/ 30min \pm 72529,95 cpm/ 30min; $p = 0,072$). Die alleinige Gabe von Indometacin zeigte ebenfalls keine Unterschiede zu den Kontrollen ($p > 0,05$), während Sumatriptan eine leicht verminderte, jedoch nicht signifikante Aktivität der Ratten bewirkte (nach 12h: Sumatriptan 1502215,30 cpm/ 30min \pm 91540,49 cpm/ 30min vs. Kontrolle 1817656,92 cpm/ 30min \pm 72529,95 cpm/ 30min; $p > 0,05$).

Tiere in den Capsaicin-Untersuchungen waren in ihrer motorischen Aktivität sowohl nach zwei als auch nach zwölf Stunden tendenziell reduziert (nach 2h: Capsaicin 339892,96 cpm/ 30min \pm 19622,33 cpm/ 30min vs. Sham OP 361085,00 cpm/ 30min \pm 29647,878 cpm/ 30min; $p = 0,194$ und nach 12h: Capsaicin 1702848,36 cpm/ 30min \pm 109188,870 cpm/ 30min vs. Sham OP 2157613,00 cpm/ 30min \pm 191753,98 cpm/ 30min; $p = 0,119$). Die Vehikellösung war in der Lage, ähnlich hohe Aktivitätswerte wie die scheinoperierten Ratten zu erreichen (nach 12h: Vehikel 2011213,56 cpm/ 30min \pm 144657,85 cpm/ 30min vs. Sham

OP 2157613,00 cpm/ 30min \pm 191753,98 cpm/ 30min; $p > 0,05$). Dagegen zeigte die Applikation von Sumatriptan erneut reduzierte Werte (nach 12h: Sumatriptan 1502215,30 cpm/ 30min \pm 91540,49 cpm/ 30min; Sumatriptan + Capsaicin 1845209,80 cpm/ 30min \pm 218336,21 cpm/ 30min vs. Sham OP 2157613,00 cpm/ 30min \pm 191753,98 cpm/ 30min; $p > 0,05$).

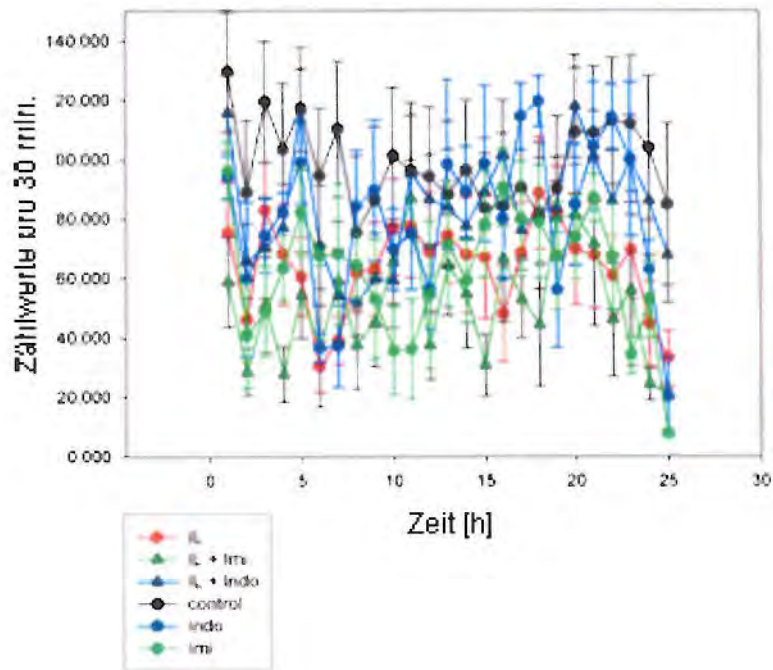
Abbildung 20

a)



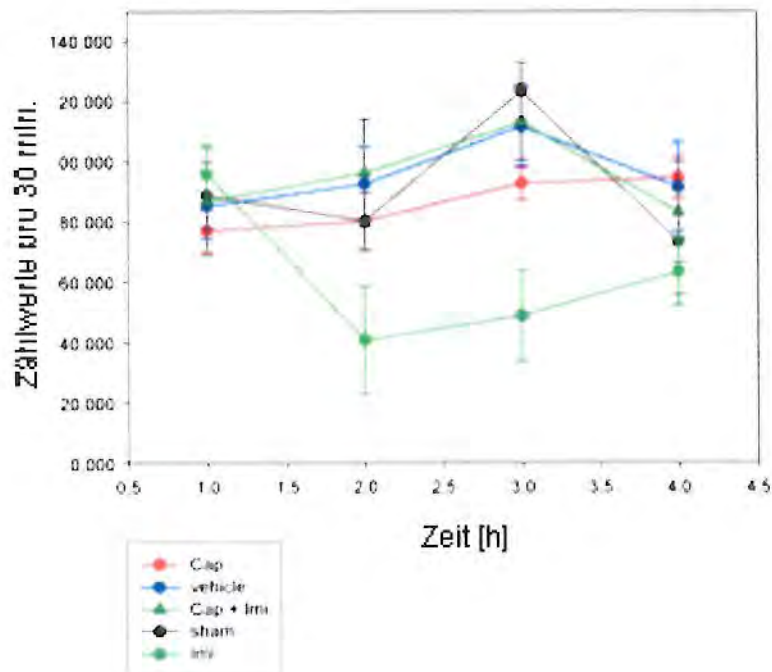
b)

Lokomotorische Aktivität 12h, IL-1 β



c)

Lokomotorische Aktivität 2h, Capsaicin



d)

Lokomotorische Aktivität 12h, Capsaicin

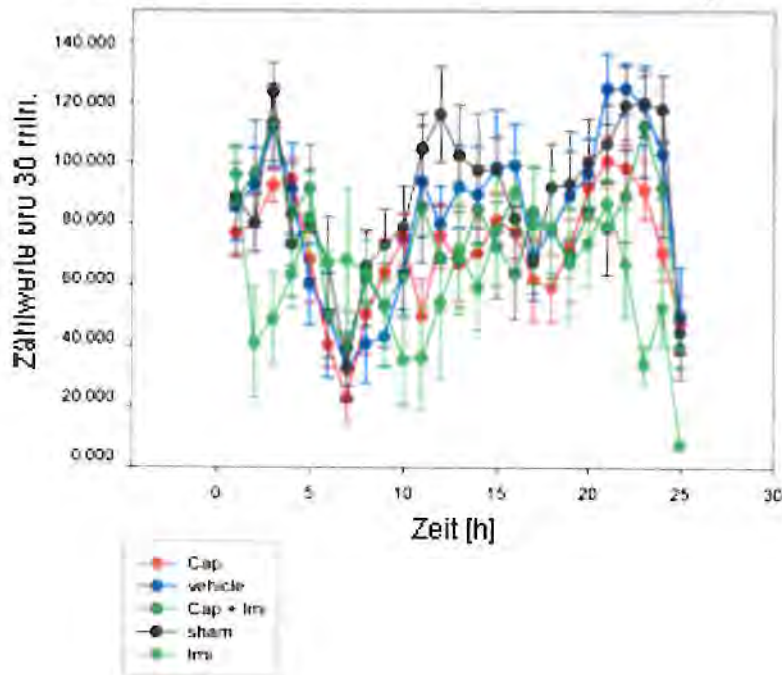


Abbildung 20 a) b) c) d):

Dargestellt ist die motorische Aktivität für die Untersuchungen mit IL-1 β in 20 a) und b) und Capsaicin in 20c) und d) während des Fütterungsversuches über zwölf Stunden. IL-1 β führt über den gesamten Versuchszeitraum zu tendenziell verminderten Aktivitätswerten, ohne über den gesamten Zeitraum zu einer anderen Gruppe signifikant zu sein ($p = 0,159$).

Es ergaben sich signifikant verminderte Aktivitäten der Reihen IL-1 β ($p = 0,034$) und IL-1 β kombiniert mit Sumatriptan nach 1h ($p = 0,018$) und keine signifikanten Unterschiede in der Aktivität nach 2h ($p = 0,055$).

In der Studie mit Capsaicin werden innerhalb des gesamten Versuchszeitraumes keine signifikanten Aktivitätsunterschiede erreicht ($p_{1h} = 0,711$; $p_{2h} = 0,194$).

3.2.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse des Fütterungsversuches über 12 Stunden

Tabelle 4 zeigt zusammengefasst die statistisch signifikanten Unterschiede aller Versuchsgruppen zur Kontrolle (markiert durch *), zur Scheinoperation (markiert durch \circ), zu IL-1 β (markiert durch #) und zu Capsaicin (markiert durch +).

Tabelle 4

	IL-1 β	Cap	Sum	Indo	Sum + IL-1 β	Sum + Cap	Indo + IL-1 β	Veh
1h	◦							
2h								
12h	*		* ◦		* ◦ +		#	

signifikant zur Kontrolle *

signifikant zur Scheinoperation ◦

signifikant zu IL-1 β #

signifikant zu Capsaicin +

3.3 Kirschagar – Fütterungsversuch

Ziel des Fütterungsversuches war es herauszufinden, welchen Einfluss die Substanzen IL-1 β und Capsaicin auf die Einnahme von süßem Futter, einem von Ratten bevorzugten Nahrungsmittel haben.

3.3.1 Agaraufnahme

Hinsichtlich der Agaraufnahme wurden in der IL-1 β Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen erreicht.

Sowohl nach einer als auch nach zwei Stunden zeigte die Gruppe IL-1 β keine im Vergleich zu den Kontrollen reduzierte Agaraufnahme (nach 1h: Median IL-1 β 2,0 g vs. Kontrolle 4,0 g und nach 2h: Median IL-1 β 3,5 g vs. Kontrolle 5,0 g; $p > 0,05$). Ratten mit IL-1 β fraßen daher vergleichbar viel Agar wie die Kontrollen. Bei zusätzlicher Gabe von Indometacin oder Sumatriptan plus IL-1 β wurden ebenfalls gleiche Mengen an Agar wie in der Kontrollreihe gefressen (nach 1 bzw. 2h: Median Indometacin + IL-1 β 2,0 g bzw. 4,0 g; Sumatriptan + IL-1 β 1,0 g bzw. 2,0 g; $p > 0,05$).

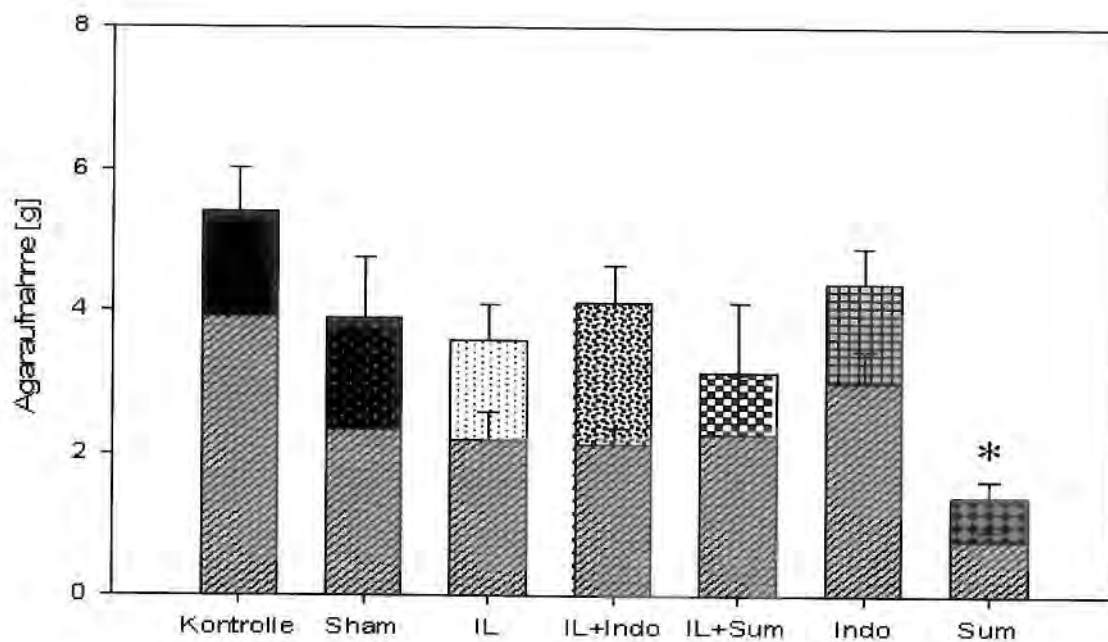
Auch der statistische Vergleich von Capsaicin-stimulierten Ratten mit den kombinierten Reihen erbrachte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich in der Agaraufnahme (IL-1 β vs. IL-1 β + Indometacin: $p = 0,647$; IL-1 β vs. IL-1 β + Sumatriptan: $p = 0,467$). Die alleinige Gabe von Indometacin und Sumatriptan führte zu vergleichbaren Medianwerten (nach 1 bzw. 2h: Median 3,0 g bzw. 4,0 g vs. Kontrolle 4,0 g bzw. 5,0 g; $p > 0,05$). Die alleinige Gabe von Sumatriptan führte zu einer signifikant verminderten Agaraufnahme (Median nach 1 bzw. 2h: Sumatriptan 1,0 g bzw. 1,0 g vs. Kontrolle 4,0 g bzw. 5,0 g; $p < 0,001$).

Die Capsaicin-Applikation auf die Dura mater reduzierte die Agaraufnahme im Vergleich zu den Scheinoperierten nicht (Median nach 1 bzw. 2h: Capsaicin 1,0 g bzw. 1,5 g vs. Scheinoperierte 2,0 g bzw. 4,0 g; $p > 0,05$). Bei Vehikel-Applikation fraßen die Ratten die gleiche Menge Agar wie scheinoperierte Ratten (Median nach 1 bzw. 2h: Vehikel 2,0 g bzw. 5,0 g vs. Scheinoperierte 2,0 g bzw. 4,0 g; $p > 0,05$). Keine der untersuchten Versuchsreihen zeigte signifikante Abweichungen zu den scheinoperierten Tieren.

Da innerhalb des Versuches zu verschiedenen Zeiträumen (nach 1h und 2h) die konsumierten Futter- und Agarmengen gemessen wurden, sind in den Graphen die einzelnen Balken der Versuchsgruppen zweigeteilt. Hierbei stellt die Farbe hellgrau-streifig die erste Stunde dar und die Farbkodierung entsprechend der Gruppenzuordnung stellt die Messung der zweiten Stunde dar.

Abbildung 21

a)



b)

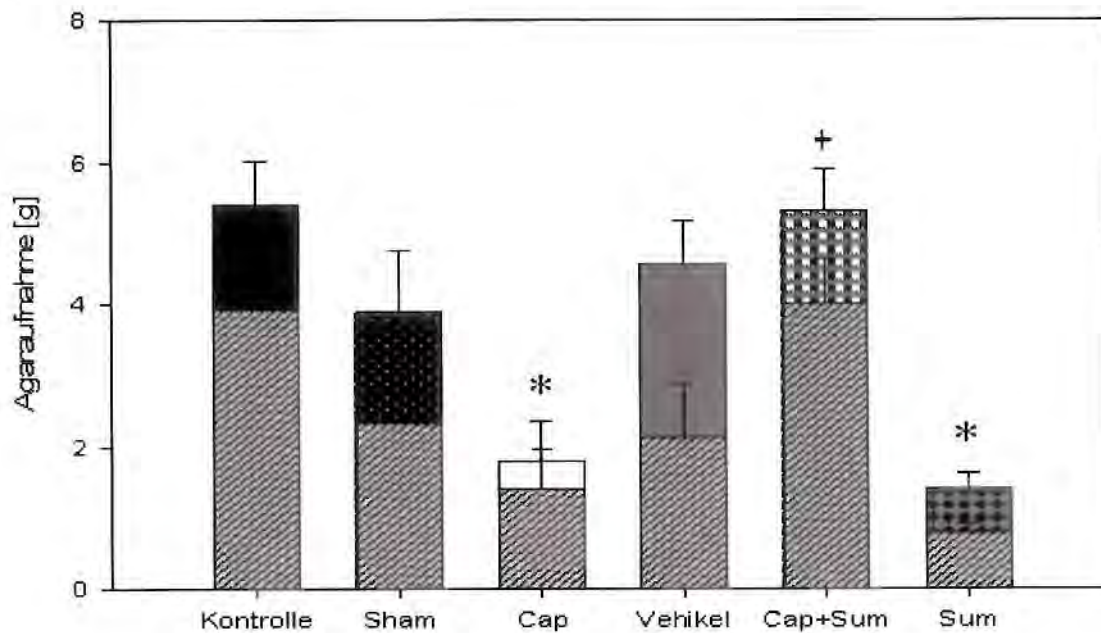


Abbildung 21 a) b):

Dargestellt ist die Agaraufnahme über 2h für die Studien mit IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Die Agaraufnahme bei IL-1 β -Gabe (a) ist vergleichbar mit den Kontrollen und Scheinoperierten. Sumatriptan-Gabe führte zu einer signifikant reduzierten Agaraufnahme im Vergleich mit der Kontrolle.

Capsaicin (b) führte zu einer signifikanten Verminderung der Agaraufnahme. .

3.3.2 Futteraufnahme

Während des Agarversuches wurde ebenfalls ermittelt, wie viel reguläres Futter die Tiere über zwölf Stunden aufnahmen.

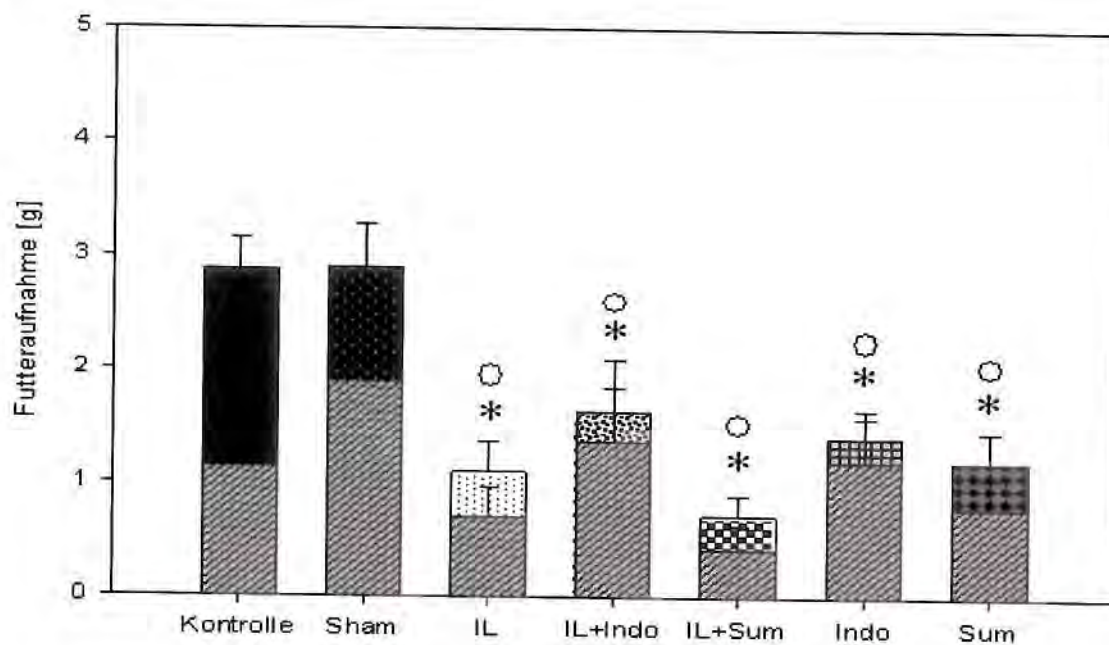
Ratten der IL-1 β -Gruppe fraßen nach zwei Stunden im Median signifikant weniger normales Futter als Kontrollen (Median nach 1h: IL-1 β 0,5 g vs. Kontrolle 1,0 g; $p > 0,05$ und Median nach 2h: IL-1 β 1,0 g vs. Kontrolle 3,0 g; $p < 0,001$). Indometacin konnte die Wirkung von IL-1 β aufheben und führte wieder zu höherer Nahrungsaufnahme (Median nach 1h: Indometacin + IL-1 β 1,0 g vs. Kontrolle 1,0 g; $p > 0,05$ und Median nach 2h: Indometacin + IL-1 β 1,0 g vs. Kontrolle 3,0 g; $p > 0,05$). Sumatriptan hingegen konnte den Effekt des IL-1 β nicht aufheben. Es ergaben sich signifikante Unterschiede zu den Kontrollen (Median nach 1h: Sumatriptan + IL-1 β 0,0 g vs. Kontrolle 1,0 g; $p > 0,05$ und Median nach 2h: Sumatriptan + IL-1 β 1,0 g vs. Kontrolle 3,0 g; $p < 0,001$). Bei alleiniger Gabe von Indometacin konnten keine Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt werden ($p > 0,05$). Bei alleiniger Sumatriptan-Gabe kam es nach zwei Stunden erneut zu einer signifikant reduzierten

Futteraufnahme im Vergleich zu Kontrollen (Median nach 2h: Sumatriptan 1,0 g vs. Kontrolle 3,0 g; $p < 0,001$).

Capsaicin führte sowohl nach einer als auch nach zwei Stunden zu keinen Unterschieden in der Futteraufnahme zu scheinoperierten Ratten (Median nach 1h: Capsaicin 1,5 g vs. Scheinoperierte 2,0 g; $p > 0,05$ und Median nach 2h: Capsaicin 2,0 g vs. Scheinoperierte 3,0 g; $p > 0,5$). Allein Sumatriptan führte nach zwei Stunden zur signifikant verminderten Futteraufnahme im Vergleich zu den Scheinoperierten (Median nach 2h: 1,0 g vs. Scheinoperierte 3,0 g; $p = 0,005$).

Abbildung 22

a)



b)

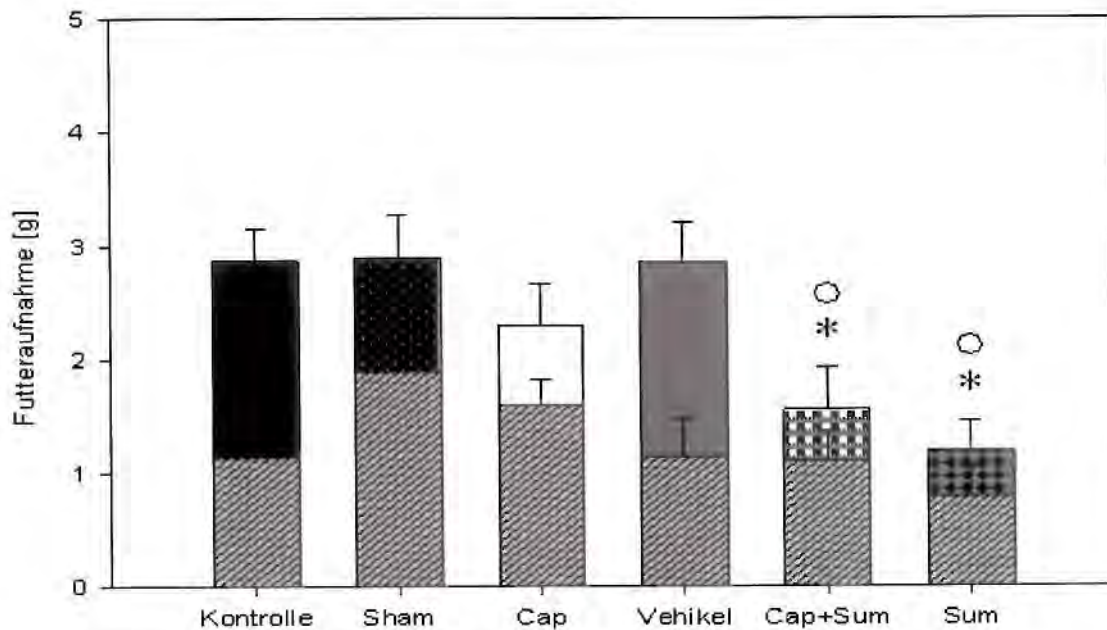


Abbildung 22 a) b):

Dargestellt ist die Futtermittelaufnahme über 2h in den Untersuchungen mit IL-1 β (a) und Capsaicin (b). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet.

Während des Agar-Fütterungsversuches ist die Aufnahme herkömmlichen Futters bei Gabe von IL-1 β und den weiteren Gruppen im Vergleich zu Kontrollen und Scheinoperation signifikant reduziert.

Capsaicin (b) erreicht keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle und Scheinoperation. Sumatriptan zeigt erneut bei Kombinations- und alleiniger Gabe signifikante Unterschiede zu Kontrollen und Scheinoperierten.

3.3.3 Motorische Aktivität

Hinsichtlich der motorischen Aktivität während des Agarfütterungsversuches gab es zwischen den Versuchsreihen wenig signifikante Unterschiede. Die Aktivität von IL-1 β war im gesamten Versuchszeitraum mit den Kontrollen vergleichbar (IL-1 β 5726,43 cpm/ 30min \pm 1089,175 cpm/ 30min vs. Kontrolle 5814,84 cpm/ 30min \pm 426,06 cpm/ 30min; $p > 0,05$). Die Substanzen Sumatriptan und Indometacin in Kombination mit IL-1 β zeigten ebenfalls vergleichbar hohe Aktivitätswerte mit den Kontrollen (Sumatriptan + IL-1 β 4885,59 cpm/ 30min \pm 1012,22 cpm/ 30min; Indometacin + IL-1 β 4003,13 cpm/ 30min \pm 918,20 cpm/ 30min vs. Kontrolle 5814,84 cpm/ 30min \pm 426,06 cpm/ 30min; $p > 0,05$).

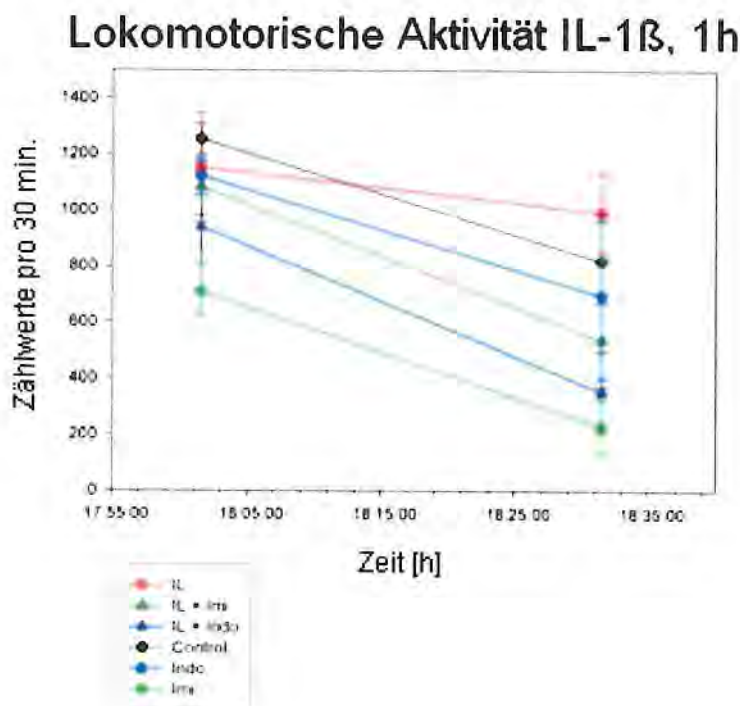
Die Aktivitätsmessung der Kombination IL-1 β + Indometacin zeigte signifikant höhere Werte im Gegensatz zur alleinigen Gabe von IL-1 β (IL-1 β vs. IL-1 β + Indometacin: $p = 0,016$). Bei

alleiniger Gabe bewirkten Sumatriptan und Indometacin keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen ($p > 0,05$).

Capsaicin reduzierte während der Agargabe nicht die motorische Aktivität der Ratten im Vergleich zu den Scheinoperierten (Capsaicin $5382,81 \text{ cpm/ 30min} \pm 579,37 \text{ cpm/ 30min}$ vs. Scheinoperierte $5375,02 \text{ cpm/ 30min} \pm 900,39 \text{ cpm/ 30min}$; $p > 0,05$). Die Tiere mit Vehikel erreichten sogar leicht höhere Aktivitätswerte als scheinoperierte Tiere (Vehikel $6752,13 \text{ cpm/ 30min} \pm 479,44 \text{ cpm/ 30min}$ vs. Scheinoperierte $5375,02 \text{ cpm/ 30min} \pm 900,39 \text{ cpm/ 30min}$; $p > 0,05$). Sumatriptan in Kombination mit Capsaicin zeigte keine Reduktion in der motorischen Aktivität (Capsaicin + Sumatriptan $7092,94 \text{ cpm/ 30min} \pm 297,35 \text{ cpm/ 30min}$ vs. Scheinoperierte $5375,02 \text{ cpm/ 30min} \pm 900,39 \text{ cpm/ 30min}$; $p > 0,05$). Die alleinige Gabe von Sumatriptan führte erneut zu signifikant reduzierten Werten in der Aktivitätsmessung (Sumatriptan $3015,44 \text{ cpm/ 30min}$; $p = 0,028$).

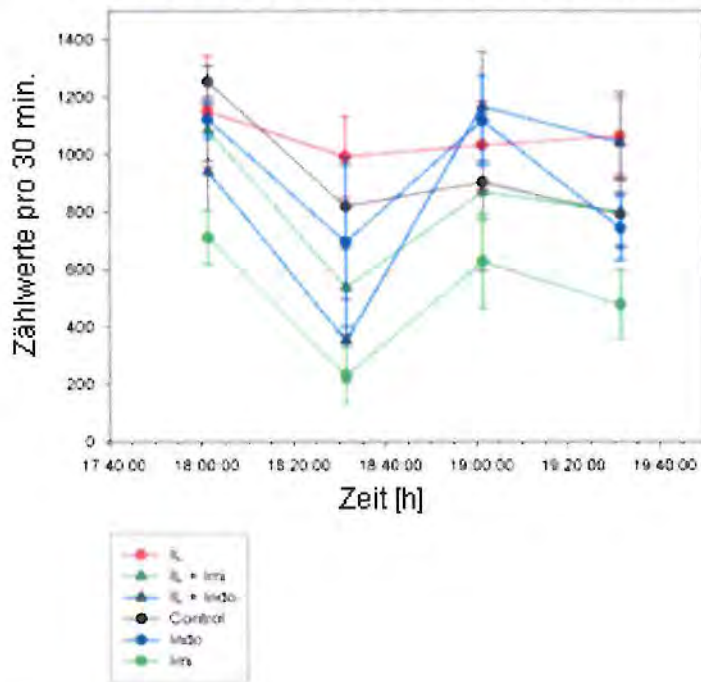
Abbildung 23

a)



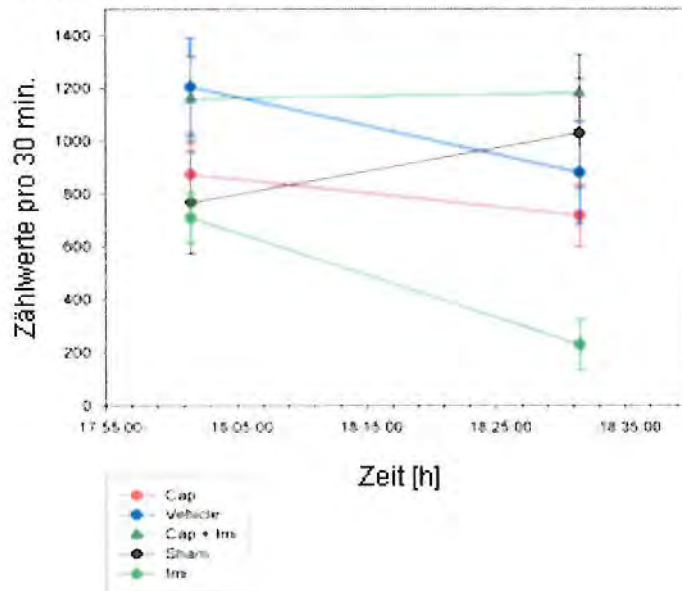
b)

Lokomotorische Aktivität IL-1 β , 2h



c)

Lokomotorische Aktivität Capsaicin, 1h



d)

Lokomotorische Aktivität Capsaicin, 2h

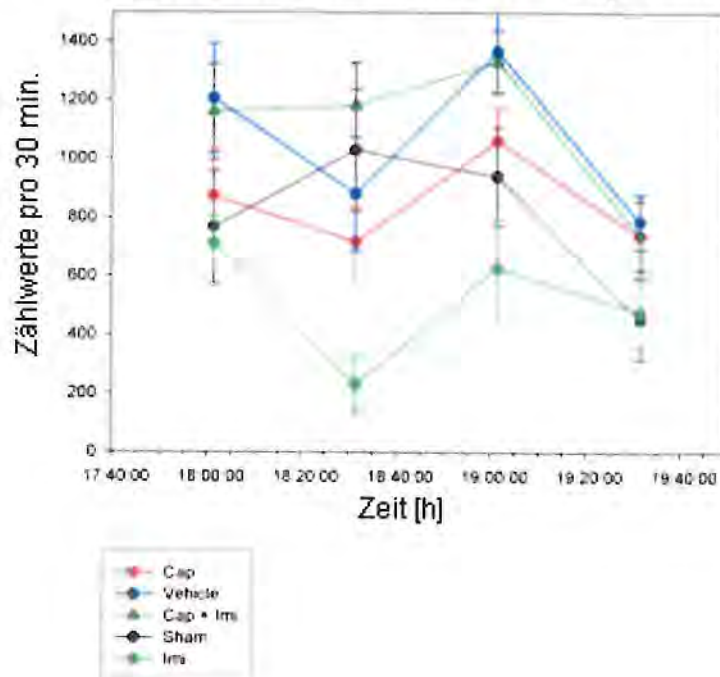


Abbildung 23 a) b) c) d) :

Dargestellt ist die motorische Aktivität während des Kirschagar-Fütterungsversuches über 2h für die Untersuchungen mit IL-1 β in 23 a) und b) und Capsaicin in 23 c) und d). Die Mittelwerte + SEM werden abgebildet. Die IL-1 β -Gruppe zeigt in ihrer Aktivität keine signifikanten Unterschiede zu Kontrolle oder Scheinoperation ($p > 0,064$). Die Abweichung der Aktivität bei Sumatriptan - Gabe ist signifikant zur Vehikelreihe ($p_{2h} = 0,028$).

3.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse des Kirschagar-Fütterungsversuches

Tabelle 5 zeigt die statistisch signifikanten Unterschiede aller Reihen zur Kontrolle (markiert durch *), zur Scheinoperation (markiert durch °), zu IL-1 β (markiert durch #) und zu Capsaicin (markiert durch +).

Tabelle 5

	IL-1 β	Cap	Sum	Indo	Sum + IL-1 β	Sum + Cap	Indo + IL-1 β	Veh
1h								
2h	* °		* °	* °	* °	* ° +	* °	#

signifikant zur Kontrolle *

signifikant zur Scheinoperation °

signifikant zu IL-1 β #

signifikant zu Capsaicin +

4. Diskussion

Meine Versuche zeigten, dass mittels einer topischen Applikation von Interleukin-1 β und Capsaicin auf die Dura mater eine meningeale Reizung bei Ratten erzielt wurde, die zu einer Verhaltensänderung im Sinne der Sickness behavior führte. Die Verhaltensänderung ließ sich in den durchgeführten Verhaltensexperimenten bestätigen und kann als Ausdruck von Schmerzen basierend auf einer meningealen Entzündungsreaktion verstanden werden. Kontrolliert wurden die Versuche durch die Gabe von Indometacin und Sumatriptan, welche den Kopfschmerz induzierenden Stimulus von IL-1 β oder Capsaicin in vielen experimentellen Paradigmen blockieren konnten und zudem auf die Migräneattacke beim Menschen therapeutisch wirken. Ebenso wurde der alleinige Effekt von Indometacin und Sumatriptan auf die Ziel-Paradigmen untersucht. Kontrollen und scheinoperierte Ratten lieferten den Vergleich zum unbehandelten, bzw. nur leicht manipulierten Tier.

4.1 Stimulation der Dura mater

Interleukin-1 β und Capsaicin sind proinflammatorische Substanzen, die in experimentellen Modellen der Migräne eingesetzt werden. Über unterschiedliche Eigenschaften und Wirkmechanismen führen IL-1 β und Capsaicin bei epiduraler Verabreichung zu einer Reizung der Dura mater und Verhaltensänderungen bei Ratten.

4.1.1 Interleukin-1 β

Zur Interleukin (IL)-1-Familie gehören drei Mitglieder: Interleukin-1 α (IL-1 α), Interleukin-1 β (IL-1 β) und der natürlich vorkommende IL-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1ra) [Dinarello, 2005]. Sie zählen zu den proinflammatorischen Zytokinen und spielen eine entscheidende Rolle in der Generierung der systemischen und lokalen Antwort bei Infektionen, Verletzungen und Immunerkrankungen [Quagliariello et al., 1991]. IL-1 β zählt zu den potenten endogenen Pyrogenen. Schon wenige Nanogramm genügen, um zum Beispiel Fieber, einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten, der Thrombozyten, der Akute-Phase-Proteine und des zirkulierenden Interleukin-6 zu bewirken [Dinarello, 2005]. Dabei gilt IL-1 β als Stimulator jener Neurone, die im Hypothalamus Corticotropin-Releasing-Hormone ausschütten und führt darüber hinaus zu einer Stimulation von ACTH und der Kortisonausschüttung in den Nebennieren bei Entzündungsreaktionen [Rivest et al., 2000].

In der Kopfschmerzforschung ist IL-1 β bereits lange etabliert. Es wirkt an Geweben und Zellen in der Form, dass es zu wesentlichen Veränderungen kommt, die für das heutige Verständnis von Kopfschmerz pathognomonisch sind. So löst IL-1 β zuverlässig eine inflammatorische Reaktion in den meisten Geweben aus, aktiviert das trigeminale System und sensibilisiert neuronale Systeme, was die bidirektionalen Interaktionen zwischen

Nerven- und Immunsystem belegen. Durch eine Steigerung der CGRP-Gen-Transkription und – Translation wird die Ausschüttung dieses an der neurogenen Inflammation beteiligten Mediators erhöht [Hou et al., 2003].

In der Blutbahn zirkulierendes IL-1 β aktiviert den IL1RI, der auch in Gehirnendothelzellen vorkommt. Über den nuclear-factor-kappa-B (NF- κ B) - Signalweg kommt es zur Transkription von Cyclooxygenase-2 (COX-2). IL-1 β führt darüber hinaus zu einer vermehrten Bildung des im Gehirnparenchym löslichen Stoffes Prostaglandin-E₂ (PGE₂) [Rivest et al., 2000; Tassorelli et al., 2007], dem eine sehr wichtige Rolle bei der Entstehung von Sensibilisierungsvorgängen zugeschrieben wird. Versuche belegten, dass PGE₂, welches bei Migränepatienten vermehrt vorkommt, entscheidend an der Auslösung von Schmerzen beteiligt ist [Millian et al., 1999]. Goldblum et al. berichten bereits 1988, dass IL-1 an der Endotheloberfläche in Blutgefäßen Veränderungen bewirkt, die über eine erhöhte Gefäßpermeabilität letztlich zu einer Ödembildung im umliegenden Gewebe führen [Goldblum et al., 1988]. Diese ist essentieller Bestandteil in experimentellen Kopfschmerzmodellen.

IL-1 β hemmt die natürliche Nahrungsaufnahme während akuter und chronischer Erkrankung [Rothwell und Hopkins, 1995; Swiergiel und Dunn, 2002, Pecchi et al., 2006]. Diese lässt sich auf die Akute-Phase-Antwort innerhalb lokaler und systemischer Reaktionen zurückführen [Chance und Fischer, 1991]. Durch die geringere Verfügbarkeit an Nährstoffen wird auch den die Erkrankung ausmachenden Pathogenen die Lebensgrundlage entzogen [Larson et al., 2002]. Die induzierte neurogene Entzündung sensibilisiert trigeminale Schmerzfasern und suggeriert ein Krankheitsgefühl beim Tier. Aus dem Unwohlbefinden heraus resultieren Einschränkungen im Explorationsbegehren und in der motorischen Aktivität. Die Interleukin-1 β -Stimulation löst bei der Ratte das typische Bild der Sickness behavior aus. Dieses beruht auf der Beobachtung von Verhaltensveränderungen, die bei Tieren und Menschen unter Einfluss von Pathogenen bei akuter (infektiöser) Erkrankung entdeckt wurde. Das Modell der Sickness behavior setzt sich zusammen aus:

- verminderter Nahrungsaufnahme,
- verminderter Wasseraufnahme,
- vermindertem sozialen Interesse,
- vermindertem Explorationsbegehren,
- verminderter lokomotorischer Aktivität,
- verminderter Sexualität und
- erhöhter Müdigkeit und vermehrter Schläfrigkeit [49].

4.1.2 Capsaicin

Die Bindung von Capsaicin an den Vanilloid (TRPV1)–Rezeptor an peripheren sensorischen Nervenfasern führt zur Freisetzung nerveneigener Neuropeptide. Dies löst eine bis jetzt nur unvollständig verstandene Kaskade von intrazellulären Ereignissen aus, die sich in drei Phänomene einteilen lässt: 1. Exzitation, 2. Hyperalgesie/ Allodynie und 3. Neurotoxizität [Buck und Burks, 2001]. In geringer Dosierung, wie sie in dieser Arbeit gewählt wurde, aktiviert Capsaicin eine Subpopulation von primären schmerzleitenden sensorischen C-Typ-Neuronen im trigeminalen Ganglion [Holzer et al., 1998], die den transienten Vanilloidrezeptor exprimieren. Bei diesem Rezeptor handelt es sich um einen nicht-selektiven Kationenkanal, der durch verschiedene Stimuli wie Capsaicin, extrazellulären sauren pH-Wert und schädliche Hitze > 42°C aktiviert werden kann [Tominaga et al., 1998]. Wie bei IL-1 β (durch Steigerung der Gen-Transkription und -Translokation) werden bei Capsaicin rezeptorvermittelt Substanz P und CGRP freigesetzt. Diese führen zur Vasodilatation und Extravasation [Jancsó, 1992] und fördern die Entstehung der neurogenen Inflammation. Capsaicin führt weiterhin über die Aktivierung trigeminaler Neurone zu einem intrazellulären Calciumanstieg, der daraufhin eine gesteigerte Expression des Calcium bindenden Proteins S100B auslöst. Über S100B wird die Aktivität von Schlüsselproteinen für Entzündungsvorgänge moduliert. Diese Schlüsselproteine sind z.B. Signalkinasen, Transkriptionsfaktoren (NF- κ B) und Komponenten des Zytoskeletts [Thalakoti et al., 2007]. Die parallele Freisetzung von S100B und CGRP führt zusätzlich zu einer Kreuz-Exzitation weiterer trigeminaler Neurone, wodurch die neurogene Inflammation potenziert wird [Thalakoti et al., 2007].

Aus mehreren Untersuchungen geht hervor, dass die Wirkung von Capsaicin stark dosis- und zeitabhängig ist. Nach Dux et al., 2003, induzierte Capsaicin eine signifikante Steigerung des Blutflusses im Versorgungsgebiet der Arteria meningea media bei 50 und 100 nMol. Der durch Capsaicin induzierte gesteigerte durale Blutfluss beträgt um die 10-15% und hält nach der Studie von Dux et al., 2003, etwa neun Minuten an. Danach sinkt der Blutfluss wieder auf sein Ausgangslevel herab. Wir haben uns an diesen Erfahrungen orientiert und unsere Versuche über eine Dauer von 15 Minuten im Anschluss an die Capsaicin-Gabe durchgeführt.

Aus den genannten Wegen zur Entstehung der neurogenen Entzündung resultiert bei den Ratten ein Krankheitsgefühl, dass sie in ihrem Explorationsbegehren, der lokomotorischen Aktivität und ihrem Verhalten bei der Nahrungsaufnahme stark einschränkt. Capsaicin-behandelte Ratten zeigen in ihrem Verhalten das typische Modell der Sickness behavior.

4.2 Verhaltensexperimente

Für den Nachweis von migräneähnlichem Verhalten bei Capsaicin oder IL-1 β stimulierten Ratten wählte ich drei in zahlreichen Studien evaluierte Verhaltenstests. Dazu zählen das Open field, der Fütterungsversuch über zwölf Stunden und der Kirschagar-Fütterungsversuch über zwei Stunden.

4.2.1 Open field

Das Open field, als standardisierter Verhaltensversuch, dient der Untersuchung der lokomotorischen Aktivität. Diese setzt sich zusammen aus mehreren einzelnen Parametern, wie zum Beispiel Putzen, Aufrichten und der verbrachten Zeit in den Ecken. Die Vorteile des Open field sind die einfache und schnelle Erfassung von Verhaltensdaten. Es können in kurzer Zeit eine große Anzahl von Tieren untersucht werden und der Test ist sensibel für die Manipulation am Tier. Die maschinelle Auswertung am Computersystem VideoMot2 kann nicht vom Versuchsdurchführenden manipuliert werden und liefert daher objektive Werte. Küçük et al. haben im Jahr 2008 das Open field bereits zur Untersuchung der Effekte des Alters, des Gedächtnisses und der physiologischen Parameter nach Exposition einer Angst auslösenden Situation bei Ratten genutzt. Ihre Studie zeigt, dass sowohl mit zunehmendem Alter und Stress die lokomotorische Aktivität und das Explorationsbegehren (von der Studie gemessener Parameter: Aufrichten) signifikant nachlassen.

Bei Oprica et al. wurde 2005 das Verhalten von transgenen männlichen Mäusen im Open field auf Exploration, Angst und lokomotorische Aktivität getestet. Ihre Studie beschreibt die Rolle der IL-1-Rezeptor-Signalgebung im Gehirn über die Effekte chronischer Überexpression der sezernierten Form des IL-1ra mit Hilfe von Verhaltensparametern. Diese und weitere Studien unterstützen das Open field als exzellente und geprüfte Methode, um Verhalten bei Tieren zu untersuchen.

Allerdings lässt sich die Datenerfassung im Open field nur bedingt automatisieren, d.h. die manuelle Auswertung lässt mögliche subjektive Bewertungen zu. Auch die Untersuchung des komplexen Verhaltens (die Summe von Motivation, Exploration, Stress, Furcht und räumlichen Lernens) kann individuelle Interpretationen aufweisen. Daher war es sehr wichtig, vor den Versuchen genaue Absprachen zur korrekten Bewertung zu treffen.

Signifikante Ergebnisse gegenüber den Kontrollen in der IL-1 β -Studie lieferten die Verhaltensvariablen: Putzen, Aufrichten, Kopfschütteln und Gesamtstrecke. Dazu lassen sich in der IL-1 β -Studie Tendenzen bei den Parametern zurückgelegte Strecke im Mittelfeld und der verbrachten Zeit in den Ecken verzeichnen.

Die signifikanten Ergebnisse gegenüber den Kontrollen in der Capsaicin-Studie betrafen die Verhaltensvariablen Aufrichten, Kopfschütteln, zurückgelegte Strecke im Mittelfeld, Gesamtstrecke, Latenz, Geschwindigkeit und verbrachte Zeit in den Ecken.

Hieraus wird erkennbar wie ähnlich sich die Tiere unter IL-1 β - und Capsaicineinfluss verhielten. In einer Vielzahl von Verhaltensvariablen unterscheiden sich beide Versuchsgruppen signifikant von den Kontrollen und den Gruppen nach pharmakologischer Inhibition. Gleichzeitig haben die beiden Kopfschmerzinitiatoren meist in denselben Parametern signifikante Werte erreicht. Dadurch zeigt sich, dass die Tiere unter dem Einfluss von Capsaicin oder IL-1 β Verhaltensweisen aufzeigten, die durch eine meningeale Reizung getriggert wurden. Es wurden auf der Basis des Verhaltens dem Menschen und der menschlichen Migräne sehr ähnliche Symptome wiedergespiegelt. Sowohl IL-1 β als auch Capsaicin haben im Vergleich zu den gesunden Kontrollen das Verhalten der Ratten bezogen auf Exploration, Vitalität und Aktivität stark negativ beeinflusst. Daher zeigen Ratten mit meningealer Stimulation durch Capsaicin oder IL-1 β das typische Bild der Sickness behavior.

Es scheint eine Hypersensibilität für innere und äußere Reize (environmental stress) erzeugt zu werden, die u.a. im Putzverhalten der IL-1 β behandelten Ratten gezeigt werden kann. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit nehmen sie ihre Umgebung und ihren Körper anders wahr und putzen sich häufiger. Diese Vermutung wird auch von Song et al. 2006 gestützt, die eine erhöhte Stressantwort in Zusammenhang mit gesteigertem Putzverhalten darstellen. Beim Aufrichten handelt es sich um ein Explorationsverhalten, das ein gewisses Maß an Neugierde und Furchtlosigkeit fordert, da in der Natur das aufgerichtete Nagetier besser gesehen wird und leichtere Beute für Feinde darstellt. Die Abbildungen für das Aufrichten in unserer IL-1 β - und Capsaicin-Studie demonstrieren deutlich das gesteigerte Explorationsbegehren der gesunden Kontrollen im Gegensatz zu den IL-1 β - und Capsaicin-stimulierten Tieren. Es galt der Zusammenhang: Je aktiver das Tier war, desto mehr richtete es sich auf.

Während des Open field Versuches fiel das gehäufte Kopfschütteln einiger Ratten, speziell der Ratten unter IL-1 β -Einfluss auf. Daher zog ich die Variable Kopfschütteln zur Auswertung hinzu. Der Vergleich der Kontrollreihe zu IL-1 β und Capsaicin-stimulierten Ratten war sehr eindrucksvoll. Während die gesunden Ratten meist kein einziges Mal den Kopf schüttelten, haben Tiere unter IL-1 β -Einfluss bis zu 20 Mal ihren Kopf geschüttelt. Das vermehrte Kopfschütteln entsteht anscheinend aus einer Hypersensibilität für äußere Reize, ähnlich zum Putzverhalten.

Bei der zurückgelegten Strecke innerhalb der inneren Zone fiel auf, dass die Kontrollen weniger gehemmt waren, das Mittelfeld zu betreten und in ihr zu laufen, als die Tiere der anderen Versuchsreihen. Die Tiere der Stimulationsserie haben in der inneren Zone die

geringste Strecke zurückgelegt. Bei IL-1 β -Stimulation gab es zahlreiche Tiere, die nicht einmal alle Randstrecken explorierten. Andere IL-1 β -stimulierte Tiere liefen unbekümmert in der Zone 17 umher (Mittelwert IL-1 β = 255,542 cm). Bei ihnen besteht zwar eine Tendenz zu geringeren Strecken, aber sie unterscheiden sich nicht signifikant von der Kontrollreihe. Das Explorationsverhalten innerhalb der IL-1 β -Reihe ist eingeschränkt, aber nicht erloschen. In der Capsaicinreihe waren die Unterschiede zur Strecke in der inneren Zone signifikant.

Die Ergebnisse der Gesamtstrecke bestätigten unsere Erwartungen. Es kam zu einer signifikant verminderten Strecke der IL-1 β -stimulierten Tiere im Gegensatz zu den Kontrollen. Während gesunde Ratten im Durchschnitt 6000 cm liefen, erreichten die IL-1 β -stimulierten Tiere nur etwa die Hälfte der Strecke. Die mit Capsaicin-stimulierten Tiere legten ebenfalls signifikant weniger Strecke zurück als die Kontrollreihe. Die Vergleichsreihen aus der Capsaicin-Studie zeigen im Vergleich zu den Kontrollen zwar auch verminderte Streckenwerte, diese sind aber aufgrund der hohen Standardabweichung nicht signifikant. In der [Abbildung 13](#) werden die Unterschiede in der zurückgelegten Strecke zwischen einem Capsaicin-stimulierten Tier und einer Ratte der Kontrollreihe demonstriert. Die Kontrolle legt wesentlich mehr Strecke zurück und bewegt sich freier. Sie läuft ungehemmt in der inneren Zone umher und exploriert das gesamte Open field. Die mit Capsaicin-stimulierte Ratte zeigt unter Einfluss meningealer Reizung ein stark reduziertes Explorationsverhalten, welches sich vor allem auf die Eckfelder und den schützenden Rand erstreckt.

Im Zusammenhang mit der geringeren Gesamtstrecke, war auch die Laufgeschwindigkeit der IL-1 β - und Capsaicin-stimulierten Ratten signifikant vermindert. Je schneller die Tiere waren, desto mehr Strecke legten sie zurück.

Bei der Beobachtung der Ratten im Open field schien das erste Wiedereintreten in die Mitte eine besondere Hürde für die Ratten darzustellen. Je höher das körperliche Unwohlsein des Tieres war, desto weniger verließ es die schützenden Ecken und lief in das Mittelfeld. Daher bietet auch die Latenz einen wichtigen Parameter für die Bewertung des Zustandes des Tieres. Bei den Tieren aus der IL-1 β -Studie waren alle Latenzwerte auf einem Niveau, d.h. die Hemmschwelle der IL-1 β -stimulierten Tiere war nicht größer als die der anderen Tiere. Dass sie trotzdem nicht so oft und so lange Strecken im Mittelfeld zurücklegten, kann darauf hinweisen, dass die IL-1 β -stimulierten Tiere auf die Wiederherstellung der Gesundheit ihres Organismus und auf das Einsparen von Energieressourcen fokussiert waren. Der Unterschied der Capsaicin-stimulierten Tiere zur Kontrollreihe war signifikant. Es gab zahlreiche Tiere in der Capsaicinreihe, welche die innere Zone nicht ein einziges Mal betraten.

4.2.2 Fütterungsversuch über zwölf Stunden

Der Fütterungsversuch wurde bereits in anderen Studien genutzt und ist eine geeignete Methode, um Verhalten an Tieren auf standardisierten Grundlagen zu untersuchen.

Swiergiel und Dunn zum Beispiel haben 2002 im Fütterungsversuch die Hypophagie bei männlichen Mäusen nach intraperitonealer Applikation von IL-1 β untersucht. Dabei wurde süße Milch in unterschiedlichen Zeitabständen angeboten, um den genauen Kurs der Verhaltensantwort auf IL-1 β herauszufinden. Die Tiere rotierten zwischen den einzelnen Gruppen, so dass jedes Tier nur einmal in Kontakt mit IL-1 β kam und die aktuelle Untersuchung nicht von einer vorherigen Gabe dieses IL-1 β beeinflusst wurde. Letztere Aktion war in unseren Versuchen nicht notwendig, da IL-1 β epidural verabreicht und nach den Versuchen mit Hilfe von isotonem Natriumchlorid ausgespült wurde. In der Studie wurde nachgewiesen, dass das Trinken von Milch 15 bis 25 Minuten nach IL-1 β -Applikation signifikant vermindert war.

Während unserer Fütterung über zwölf Stunden haben wir die Futter- und Wasseraufnahme, sowie die lokomotorische Aktivität der Versuchstiere ermittelt.

Vorteile dieses Verhaltensversuches liegen in der leichten Handhabbarkeit und guten Überschaubarkeit. Die erhaltenen Daten sind gut vergleichbar und sehr aussagekräftig. Außerdem ist die Manipulation am Tier während der 12 Versuchsstunden sehr gering, da kein direkter Kontakt zum Tier, sondern nur zum Käfig zustande kommt. Futter und Umgebung sind bekannt, so dass der Stress für die Ratten minimiert wird. Ein Nachteil kann erneut die manuelle und daher subjektiv abweichende Auswertung sein, allerdings wurde gleichzeitig mit Hilfe des InfraMot-Computersystems die Aktivität der Ratten gemessen. Diese technische Datenerfassung liefert den parallelen Vergleich zur subjektiven Interpretation und würde Manipulationen erkennen lassen.

Die IL-1 β - stimulierten Tiere weisen signifikante Verminderungen in der Futteraufnahme nach einer, zwei und zwölf Stunden gegenüber den Kontrollen auf. Dieses Ergebnis weist auf den Einfluss des IL-1 β auf die Nahrungsaufnahme über den gesamten Versuchszeitraum hin. Die reduzierte Futteraufnahme entspricht einer typischen Verhaltensänderung im Sinne der Sickness behavior. Zusammen mit Interleukin-1 β wurde auch die Futteraufnahme der Tiere mit Sumatriptan- Gabe signifikant vermindert. Die Wasseraufnahme von Interleukin-1 β - und Sumatriptan- stimulierten Tieren war ebenfalls parallel zu der verminderten Futteraufnahme signifikant reduziert. Innerhalb des gesamten Versuchszeitraumes gab es kleine Abweichungen, so dass nach einer Stunde nur bei IL-1 β und nach zwei Stunden bei keiner Versuchsreihe signifikante Werte erreicht wurden. Dies liegt wahrscheinlich daran, dass die Kontrollen bereits nach der ersten Stunde so viel Wasser tranken, das sie dafür in der zweiten Stunde weniger Durst verspürten. Dadurch näherten sich die Mittelwerte wieder einander an. Die Tendenzen waren aber die gleichen wie bei der Futteraufnahme. Nach

zwölf Stunden ergaben sich erneut signifikante Unterschiede in der Wasseraufnahme bei den Reihen IL-1 β , IL-1 β in Kombination mit Sumatriptan und Sumatriptan in alleiniger Gabe.

Die Capsaicin-stimulierten Tiere zeigen erst nach zwölf Stunden ein signifikant verringertes Futterverhalten gegenüber den Kontrollen. Viel geringer ist wiederum die Futteraufnahme der Sumatriptan-behandelten Tiere. Eigentlich hatten wir nach der Studie von Dux et al., 2003 erwartet, dass die Ratten mit Capsaicin-Gabe vor allem nach einer Stunde ein stark vermindertes Futterverhalten aufweisen würden, da in der Studie beschrieben wurde, dass die Wirkung von Capsaicin nur neun Minuten anhält. Innerhalb dieses kurzen Zeitraumes konnte Capsaicin in unserer Arbeit in Bezug auf die Nahrungsaufnahme keinen Einfluss nachweisen. Erst nach zwölf Stunden haben sich signifikante Unterschiede zwischen den Capsaicin-behandelten und den gesunden Kontrollen ergeben. Daher gehen wir bei Capsaicin zum einen von einer direkten Wirkung über neun Minuten sowie zum anderen, auf unseren Beobachtungen basierend, auch von länger anhaltenden Veränderungen aus.

Sowohl Capsaicin als auch IL-1 β haben im Fütterungsversuch ihre reduzierende Wirkung auf die Futter- und Wasseraufnahme mit signifikanten Werten gezeigt. Damit stimmen unsere Ergebnisse mit denen von [Buzzi et al., 1990; Buzzi et al., 1991; Limmroth et al., 2001; Larson et al., 2002; Chande und Fischer, 1991] und [Harden et al., 2008] überein.

Die verminderte Futter- und Wasseraufnahme nach Capsaicin- und IL-1 β -Stimulation bestätigen das Modell der Sickness behavior.

Bereits vor der Operation wurde die lokomotorische Aktivität der Ratten zum ersten Mal in Leerlaufdiagrammen dargestellt. Vergleichsweise folgten die Diagramme der lokomotorischen Aktivität über zwei und zwölf Stunden jeweils für die Tiere aus der Interleukin-1 β - und der Capsaicin-Studie.

In den Leerlaufdiagrammen für beide Studien (s. Abb. 19) kann gezeigt werden, dass alle Tiere vor der Operation dieselben Aktivitäten bei Tag und bei Nacht aufweisen. Der simulierte Tag wird in der Stufe der Graphen erkenntlich, in der die Aktivität abfällt und während der Hellphase (von 5.00 Uhr bis 17.00 Uhr) auf einem konstanten Level verringert bleibt. Die Aktivität steigt nahezu sprunghaft mit Beginn der Dunkelphase wieder an (von 17.00 Uhr bis 5.00 Uhr).

Dagegen entfernten sich die Graphen der einzelnen Versuchsreihen während der Fütterungsversuche unterschiedlich stark voneinander. In der IL-1 β -Studie (s. Abb. 20) überlagern sich nach circa zwei Stunden für den Rest der Versuchszeit die Graphen von Kontrollen und Indometacin-behandelten Tieren. Diese Serien stellen den Normalwert der erreichbaren lokomotorischen Aktivität dar. Von ihm grenzen sich die IL-1 β stimulierten und Sumatriptan-behandelten Tiere ab. Die Reihen IL-1 β und IL-1 β in Kombination mit

Sumatriptan zeigen bereits nach einer Stunde signifikante Verminderungen ihrer Aktivität gegenüber den Kontrollen. Auch die Reihe Sumatriptan weist eine verringerte Aktivität auf, deren Werte allerdings nicht signifikant sind. Zwei und zwölf Stunden nach Versuchsbeginn sind die Ergebnisse von IL-1 β nicht mehr signifikant, obwohl der Graph von IL-1 β deutlich unter dem Graphen der Kontrolle liegt. Auch wenn die Ergebnisse der lokomotorischen Aktivität nach zwei und zwölf Stunden bei Interleukin-1 β nicht signifikant sind, zeigt die Darstellung Entwicklungstendenzen. Die Kontrollen erreichen den höchsten Wert in cpm/ 30 min, und sind damit wesentlich aktiver als die anderen Versuchsreihen. Die Graphen von Sumatriptan (Sumatriptan und IL-1 β kombiniert mit Sumatriptan) liegen noch unter dem Graphen von IL-1 β - stimulierten Tieren. Ihre lokomotorische Aktivität ist noch stärker eingeschränkt. Indometacin- behandelte Ratten und Kontrollen besitzen vergleichbare Werte in lokomotorischer Aktivität, was auch an dem Vergleich der Mittelwerte gesehen werden kann.

Die Ergebnisse aus der Capsaicin-Studie (s. Abb. 20) zeigen sehr ähnliche Tendenzen. Sowohl nach einer, zwei und zwölf Stunden werden bei keiner Versuchsreihe signifikante Abweichungen von den Kontrollen erreicht. Trotzdem zeigen sich ähnliche Tendenzen wie in der IL-1 β -Studie: Während die Kontrollreihe zusammen mit den Reihen Vehikel und Capsaicin in Kombination mit Sumatriptan die höchsten Aktivitätswerte erreichen, grenzen sich davon die Graphen von Capsaicin und Sumatriptan stark ab. Die Capsaicin-stimulierten Tiere erreichen niedrigere Werte als die Serien Vehikel und Capsaicin kombiniert mit Sumatriptan und liegen teilweise unter dem Graphen der Kontrollreihe, wobei die Ergebnisse nicht signifikant sind. Die Sumatriptan- behandelten Tiere zeigen von allen die geringste lokomotorische Aktivität.

In beiden Studien ergeben sich gleiche Tendenzen bei den einzelnen Versuchsreihen. Während die gesunden Kontrollen die höchste Aktivität zeigen, sinkt diese unter Einfluss von IL-1 β und Capsaicin. Die Aktivität sinkt noch stärker bei der Gabe von Sumatriptan.

Zwar sind die Ergebnisse von Capsaicin und IL-1 β nicht signifikant, aber anhand der Mittelwerte können doch Unterschiede zu gesunden Tieren festgestellt werden. Im Vergleich zu den Kontrollen und in Hinsicht auf die Ergebnisse aus den Leerlaufdiagrammen ist die lokomotorische Aktivität von Capsaicin- und IL-1 β - stimulierten Tieren stark eingeschränkt. Neben der verminderten Futteraufnahme spricht auch die reduzierte lokomotorische Aktivität für das Bild der Sickness behavior.

4.2.3 Kirschagar-Fütterungsversuch

Der Kirschagarfütterungsversuch stellt die Aufnahme normalen, täglich angebotenen Futters im Vergleich zur Aufnahme süßen, bevorzugten und nicht täglich angebotenen Futters dar.

Die Vor- und Nachteile dieses Verhaltensversuches sind mit denen des normalen Fütterungsversuches identisch. Auch der Kirschagar war bereits bekannt, da er schon einmal während der Leerlaufmessung angeboten wurde.

Kirschagar stellt aufgrund seines süßen Geschmacks ein 'highly palatable bait' also bevorzugtes Nahrungsmittel für die Ratten dar, weshalb wir vermuteten, dass die Tiere das süße Futter dem normalen Futter vorziehen würden und vielleicht sogar die meningeal gereizten Tiere ihr Unwohlbefinden überwinden und den Kirschagar vergleichbar stark fressen würden.

Die Tiere der IL-1 β -Studie fraßen alle etwa gleichviel Agar (mit Ausnahme von Sumatriptan). Daher wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsreihen festgestellt. Während die IL-1 β - stimulierten Tiere die gleiche Menge Agar fraßen wie die Kontrollen, zeigten sie nach zwei Stunden eine signifikant reduzierte Aufnahme des normalen Futters. Unsere Vermutung wurde in Hinsicht auf die Interleukin-1 β -Serie bestätigt. Trotz meningealer Reizung verspürten die IL-1 β - stimulierten Tiere Lust auf süßes Futter und überwandern ihre eingeschränkte Aktivität. Das gesteigerte Fressverhalten von Agar im Gegensatz zum erneut reduzierten Fressverhalten von normalem Futter könnte eine Art Überlebensstrategie der Tiere widerspiegeln, die im Kirschagar eine leicht gewinnbare Energiequelle zur Wiederherstellung ihrer geschwächten Körperfunktionen erkennen. Daher bevorzugen sie in Krankheitssituationen energiereiche Kohlenhydrate im Gegensatz zu normalem Futter. Diese Theorie wird auch unterstützt von Larson et al., 2002, die in ihrer Studie zeigten, dass das Krankheitsverhalten von Variablen wie Motivation und Reizen aus der Umgebung abhängig ist. Auch A. Aubert untersuchte 1999 Ratten nach IL-1 β -Einfluss auf die Aufnahme süßen Futters, mit dem Ergebnis, dass die kranken Ratten kohlenhydratreiches Futter vermehrt aufnahmen. Nach dieser Studie können daher kranke Tiere die Sickness behavior auf bestimmte Dauer unterbrechen [Aubert, 1999].

Die Ergebnisse zur Aufnahme normalen Futters während der Agargabe entsprechen den Ergebnissen der ersten beiden Stunden der Fütterung aus Versuch Nummer 2. Da sich außer der Gabe von Agar nichts an Versuchsaufbau und - ablauf änderte, zeigt das Ergebnis, dass allein das Vorhandensein des Kirschagars zu einer Änderung des Verhaltens führte.

Auch in der Capsaicin-Studie fressen alle Tiere aus den verschiedenen Versuchsreihen etwa gleichviel Agar. Zwischen den Gruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede. Wie bereits die IL-1 β - stimulierten Tiere, fressen auch die Capsaicin-stimulierten Tiere sehr viel Agar,

zeigen allerdings auch keine signifikanten Unterschiede bei der Aufnahme normalen Futters innerhalb von zwei Stunden im Vergleich zur Kontrolle.

Wie anhand der Ergebnisse der Agaraufnahme bei den meningeal gereizten Tieren unter Capsaicin- und IL-1 β - Stimulation zu erwarten war, folgte der gesteigerten Agaraufnahme auch eine gesteigerte Aktivität. Diese wurden in den Diagrammen der lokomotorischen Aktivität dargestellt (s. Abb. 23). Während der Fütterung mit normalem Futter lag die Aktivität in beiden Versuchsreihen bei durchschnittlich 800 cpm/ 30 min. Dagegen erreichten beide Reihen im Agarversuch durchschnittlich höhere Aktivitäten von etwa 1200 cpm/ 30 min Minuten. Dieses Ergebnis zeigt, dass sich die Aktivitäten abhängig vom dargebotenen Reiz unterscheiden. Gibt man normales Futter, sinkt die Aktivität. Werden jedoch Kohlenhydrate angeboten, wird der Überlebenstrieb der Ratten geweckt und ihre Aktivität gesteigert. Daher bestätigt sich unsere Annahme, dass bei Gabe von energiereichem Futter die Aktivität der meningeal gereizten Tiere auf ein normales Maß erhöht wird, um die Regeneration des Körpers zu fördern.

In allen drei Verhaltensexperimenten zeigten die Capsaicin- und Interleukin-1 β - stimulierten Ratten Veränderungen im Verhalten, die das typische Bild der Sickness behavior darstellen.

4.3 Pharmakologische Intervention

4.3.1 Sumatriptan

Sumatriptan zählt zu den bekanntesten und meist verschriebenen Triptanen. Es ist ein selektiver Serotonin-Rezeptor-Agonist der Gruppe 5-HT-1 $_B$ und 5-HT-1 $_D$, der einen selektiv konstriktorischen Effekt auf die Hirngefäße ausübt [Bingham et al., 2001]. Darüber hinaus senkt das Sumatriptan die CGRP-Level in der Vena jugularis externa und inhibiert die neurogene Inflammation [Goadsby, 2005; Lloyd, 1994].

Bereits in der ersten Versuchswoche fiel auf, dass Tiere, die nur Sumatriptan erhielten, gegenüber den Tieren der anderen Versuchsreihen starke Abweichungen zeigten. Obwohl wir die Ausgangsdosis von 300 μ g/kg auf 100 μ g/kg und später sogar auf 30 μ g/kg verringerten, konnten wir die durch das Sumatriptan hervorgerufenen Nebenwirkungen nicht aufheben. Letztlich waren die Ratten auch noch bei der niedrigsten Dosis in ihrer Aktivität gering eingeschränkt.

Nach Sullivan et al. [1992] und Dahlöf et al. [1995] bewirkt Sumatriptan neben kardialen Beeinträchtigungen eine apathische Sedierung, Schwindelgefühl, Brustenge, Unwohlsein und Asthenie im Menschen. Neben dem oft schon beschriebenen sedierenden Effekt wird also auch ein stark vermindertes Hungergefühl beschrieben (Teil der Migräne beim

Menschen) [Boeles et al., 1997; Garattini et al., 1989]. Boeles et al. fanden heraus, dass die ausgelöste Hypophagie bei Ratten durch Sumatriptan wahrscheinlich auf eine Aktivierung der 5-HT_{1B}-Rezeptoren zurückzuführen ist. Es konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass andere Nebenwirkungen wie Nausea und Schwindelgefühl sekundär die Futteraufnahme reduzieren.

Aus unseren Beobachtungen geht hervor, dass durch Sumatriptan bei Ratten insbesondere die Nebenwirkungen Sedierung und reduziertes Hungergefühl auftreten. Trotz Reduktion der Dosis konnte daher nicht verhindert werden, dass die mit dem Triptan behandelten Ratten in allen Versuchen Tendenzen zu verminderter Aktivität, Futter- und Wasseraufnahme und ein reduziertes Explorationsverhalten zeigten.

Da wir darstellen wollten, wie die durch IL-1 β oder Capsaicin hervorgerufene Sickness behavior durch eine entsprechend geeignete Substanz aufgehoben werden kann, stellten die Nebenwirkungen von Sumatriptan ein Hindernis für unsere Untersuchungen dar.

4.3.2 Indometacin

In der Migränetherapie stellt Indometacin eine alternative Behandlungsmethode der Migräne zu den Triptanen dar. Das Medikament gehört zur Gruppe der Nicht-Steroidalen-Anti-Rheumatika (NSAR). Die Nebenwirkungen wie Sedierung und Müdigkeit sind weniger häufig als bei Triptanen [Mett and Tfelt-Hansen, 2008]. Als Inhibitor der Cyclooxygenase 1 und 2 hemmt es die Bildung der Prostaglandine, die bei Schmerz- und Entzündungsreaktionen des Körpers eine wichtige Rolle spielen [Diamond und Freitag, 1989; Diamond, 1984]. Vor allem Prostaglandin E₂ sensibilisiert die afferenten Nozizeptoren und führt so zur inflammatorischen Hyperalgesie. In auf das Individuum abgestimmter Dosierung treten Nebenwirkungen wie Depressionen, Verwirrungszustände oder Magen-Darm-Beschwerden äußerst selten auf.

Wie wir aus meinen Ergebnissen sehen, konnte Indometacin im Gegensatz zu Sumatriptan die Wirkung von IL-1 β inhibieren und meist sogar das Verhalten der IL-1 β - oder Capsaicin-stimulierten Tiere dem von gesunden Kontrollen vollständig anpassen. Die Wirksamkeit von Indometacin lässt sich vor allem bei den gemessenen Parametern Aufrichten, Gesamtstrecke und im Fütterungsversuch über 12 Stunden bestätigen.

Indometacin wurde in einer Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht angewandt, welche die Ratten sehr gut vertrugen. Höhere Dosen wurden von den Tieren nicht toleriert.

Die Wirkung von Indometacin zur Blockierung der Stimulus induzierten Veränderungen durch Capsaicin und IL-1 β konnte in unseren Verhaltensexperimenten nachgewiesen werden. Indometacin eignet sich zur Überprüfung des in unserer Arbeit erstellten Migräne-Tier-Modells.

Sumatriptan ist aufgrund seiner starken sedierenden Nebenwirkung für das Modell auf Verhaltensbasis nicht geeignet.

4.4 Vergleich von Scheinoperation und Kontrollen

Die drei von uns durchgeführten Verhaltenstests stellen ein Modell zur Migränerforschung dar. Auch die von uns gewählte Operation eignet sich nachweislich zu anschließenden Verhaltensexperimenten. Sie wurde bereits in ähnlicher Weise von Kurosawa et al., 1995 zur Untersuchung des meningealen Blutflusses mit Hilfe des Doppler-Flussmessers im Gebiet der Arteria meningea media genutzt. Hierbei kam es zu einer elektrischen Stimulation der Dura mater durch parallel zur Suture angebrachte Elektroden.

Durch den Vergleich der Ergebnisse der Kontrollreihe ohne Operation und den scheinoperierten Tieren lässt sich belegen, dass die Operation keinen Einfluss auf das Verhalten der Tiere ausübt.

Im Open field zeigen Kontrollen und scheinoperierte Ratten weitgehend übereinstimmende Ergebnisse. Nur bei den Variablen Putzen und Kopfschütteln wurden signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und Scheinoperierten festgestellt.

Diese Unterschiede können auf Differenzen in der zeitlichen Stressexposition zurückgeführt werden. Es ist nicht zu vergessen, dass die Kontrollreihe *eine Stunde* vor Versuchsbeginn ihre Inhalationsnarkose erhielt. Im Vergleich dazu wurden die scheinoperierten Tiere *15 Minuten* vorher unter diese Inhalationsnarkose gesetzt. Bei der Futteraufnahme ergab sich, dass die Scheinoperierten sowohl nach einer als auch nach zwei Stunden keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen zeigten. Erst nach zwölf Stunden ergeben sich signifikante Unterschiede. Während der Wasseraufnahme zeigten sich im gesamten Versuchszeitraum keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollen und Scheinoperierten. Unterschiede aufgrund zeitlicher Differenzen der Narkosegabe bei Kontrollen und Scheinoperierten sind allerdings eher innerhalb der ersten oder zweiten Stunde zu erwarten, nicht aber erst nach zwölf Stunden. Deshalb sollte das signifikant erreichte Ergebnis der Futteraufnahme bei Scheinoperierten nach zwölf Stunden eher kritisch betrachtet werden. Bei dem Kirschgagar - Fütterungsversuch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollen und Scheinoperierten in Bezug auf die Agar - und Futteraufnahme nach ein und zwei Stunden.

Die Ergebnisse zeigen, dass die durchgeführte Operation und das Tragen der Kammern zu keinem Einfluss auf unser Experiment beigetragen haben. Die scheinoperierten Tiere sind mit den Kontrollen gleichzusetzen.

Allgemein fällt auf, dass die Vergleichsreihen der Capsaicin-Studie (Scheinoperierte, Capsaicin in Kombination mit Sumatriptan, Sumatriptan und Vehikel) oft leicht abweichende Werte von der Kontrollgruppe zeigen. Diese Abweichungen kommen wahrscheinlich durch die zeitlichen Unterschiede zwischen der Öffnung der Kammern und dem anschließenden Verhaltensexperiment zustande. Hierbei wurden die Kammern bei Tieren der IL-1 β -Studie eine Stunde und bei Tieren der Capsaicin-Studie 15 Minuten vor Versuchsbeginn zum letzten Mal geöffnet. Nachwirkungen der Narkose und der Kammeröffnung (zum Beispiel leichte Irritationen) sind auch nach 15 Minuten noch möglich. Die Intervention kurz vor dem Versuch stellt einen Stressfaktor dar, der sich leicht, aber auch wiederholend in unseren Ergebnissen widerspiegelt.

4.5 Die Rolle der Vehikellösung

Da Capsaicin eigentlich in Pulverform vorliegt, musste es mit Hilfe der Vehikellösung verflüssigt werden. Erst in flüssiger Form kann Capsaicin im Kontakt mit der Dura mater seine Wirkung ausüben. Um zu demonstrieren, dass die Vehikellösung allein (ohne Capsaicin) keinen Einfluss auf das Verhalten der Ratten ausübt, wurden zusätzlich Ratten mit reiner Vehikellösung im Verhaltensexperiment analysiert.

Im Versuch wurden unsere Erwartungen bestätigt, da die Vehikel- stimulierten Tiere vergleichbare Aktivitätswerte mit den Kontrollen erreichten. Da Ratten mit Vehikellösung sowohl in ihrer lokomotorischen Aktivität als auch in ihrem Fress- und Trinkverhalten keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen zeigten, konnte eine Beeinflussung körperlicher Funktionen durch die Vehikellösung ausgeschlossen werden.

4.6 Vergleich mit dem Verhaltensmodell – Voice records

Martino und Perkins haben sich 2008 ähnlich zu unserem Projekt mit dem Verhalten von Ratten während einer induzierten Migräneattacke auseinandergesetzt. Wie bei unserem Experiment wurde eine zentrale Entzündung induziert und die trigeminalen Nervenfasern sensibilisiert.

Die Induktion der zentralen Entzündung bei Martino und Perkins erfolgte über eine zentrale, intrazerebroventrikuläre Injektion von Endotoxin - Lipopolysacchariden (LPS). Diese wurden bereits in zahlreichen Studien für die Induktion systemischer und zentralnervöser

Entzündungen genutzt und sind daher ausgiebig evaluiert worden. Die von Martino und Perkins studierten Verhaltensvariablen waren: Die Ultraschall-Vokalisierung (USV) auf taktile Stimuli ohne medikamentöse Behandlung, die USV auf taktile Stimuli mit medikamentöser Behandlung und die Kälte-Allodynie infolge thermischer Reize. Der angewandte Verhaltenstest stützte sich auf die thermische und mechanische Hypersensibilität, die bei Ratten während einer Migräneattacke bestehen. Die bei einer neurogenen Entzündung freigesetzten inflammatorischen Mediatoren sensibilisieren die primären afferenten Neurone der Meningen. Diese Hypersensibilität wurde genutzt, um mit Hilfe von starken Luftströmen eine taktile Reizung am Vorderkopf der Ratten hervorzurufen. Die USV ist eine primitive Form der Kommunikation mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von 22 kHz in Ratten. Sie wird in der Forschung mit dem emotionalen und motivationalen Zustand des Tieres sowie mit Stress-, Angst- und schmerzhaften Situationen verbunden [Martino and Perkins, 2008]. Die Tiere antworteten auf den taktilen Reiz mit einer messbaren Ultraschallvokalisierung. Ratten mit Migräne antworteten bereits auf Luftströme mit viel geringerer Intensität als gesunde Ratten. Aus den gemessenen USV-Emissionen konnte bei den Ratten zwischen Gesundheit oder Migräne unterschieden werden. Ebenso wurde die thermische Hypersensibilität überprüft. Bei Migräne reagierten Ratten wesentlich eher auf Kältereize als gesunde Ratten. Ihre Kältesensibilität war in der periorbitalen Region, aber nicht am Rücken, erhöht.

Die mittels LPS migräneinduzierten Ratten wurden dann mit verschiedenen Medikamenten wie Diazepam, Triptanen (Zolmitriptan, *Sumatriptan*), Dihydroergotaminen, CGRP-Antagonisten aCGRP und BIBN4096BS und dem Neurokinin-1 Antagonisten L-733-060 behandelt. Einige der Medikamente konnten die erhöhte USV in kranken Tieren aufheben, andere sogar die normale USV in gesunden Tieren reduzieren.

Daraus etablierte sich ein pharmakologisches Tiermodell, an dem Studien zur Therapie der Migräne durchgeführt werden können. Das Modell soll die Evaluation neuer Medikamente in ihrer Wirksamkeit gegen Migräne ermöglichen.

Ziele des Modells waren die Messung LPS-induzierter zerebraler inflammatorischer Hyperalgesie mittels USV, die Modulation der USV über verschiedene pharmakologische Substanzen und deren Evaluation, sowie die Erstellung der LPS-induzierten USV als eine neue Untersuchungsmethode für die Bewertung der klinischen Wirksamkeit von Migränetherapien. Können daher neue Medikamente die USV-Emission der migräneinduzierten Ratten reduzieren, wären sie theoretisch gegen Migräne einsetzbar. Ihre Wirksamkeit würde dann mit bereits vorhandenen wirksamen Medikamenten wie zum Beispiel Sumatriptan verglichen und evaluiert werden.

Die Steigerung der USV – Emission bei migräneinduzierten Ratten gilt als Ergebnis der Studie von Martino und Perkins. Es bekräftigt die Vermutung der Sensibilisierung

trigeminaler nozizeptiver Nervenbahnen für die sonst unschädliche taktile Stimulation der Vibrissien infolge duraler Entzündung. Dieses Modell liefert daher vor allem einen wichtigen Hinweis auf die Pathogenese der Migräne. Die beschriebene Hypersensibilität scheint ein trigeminal vermitteltes Phänomen zu sein, weil die Kältehypersensibilität mittels durchgeführter Kältereize nur am Kopf, aber nicht am Rücken nachgewiesen wurde.

Tiermodelle ermöglichen uns vaskuläre Reaktionen, die neurogene Entzündung und vieles Weitere zur Krankheit der Migräne zu studieren. Bislang ist es nur biochemisch gelungen die Migräne beim Tier nachzuweisen. Demzufolge wurden zum Beispiel bei Ratten erhöhte Serum-Cortisonlevel, gesteigerte Dopaminkonzentrationen im präfrontalen Kortex und im Hippocampus, und vermehrte 5-Hydroxytryptaminmetabolite im Hypothalamus nachgewiesen [Oprica et al., 2005]. Andere Tierstudien berichten über gesteigerte CGRP-Level in der Vena jugularis externa während Migräneattacken [Buzzi et al., 1990; Goadsby, 2005]. Die Darstellung einer, dem Menschen auch in ihren Symptomen ähnelnden Migräne beim Tier anhand des Verhaltens konnte noch nicht gezeigt werden. Die Pathophysiologie der Migräne bleibt daher in vielen Details ungeklärt. Die von Tierstudien gewonnenen Erkenntnisse konnten noch nicht direkt auf die menschliche Migräne bezogen werden.

Wichtig für die verbesserte Migränerforschung ist die, in Anknüpfung an die Studien von Martino und Perkins, Erstellung eines Tiermodells auf Verhaltensbasis, das dieselben Symptome in eindeutiger Vergleichbarkeit mit der Migräne des Menschen widerspiegelt. Damit könnte eine direkte Übertragung der Erkenntnisse von Tier auf Mensch realisiert werden. Bislang ist das 'Voice-records-Modell' die mir bekannte, einzige Tierstudie auf Verhaltensbasis, die über den Nachweis mechanischer und thermischer Hypersensibilität das Bestehen von Migräne in Ratten diagnostiziert.

Der Nachweis von Migräne in Ratten anhand von zwei sich sehr ähnelnden Verhaltensvariablen genügt allerdings unseren Ansprüchen der Migränerforschung im Sinne eines übertragbaren Migräne-Tier-Modells nicht. Wir suchen ein therapeutisch voraussagendes Tiermodell für Migräne, welches Vorteile in der Einschätzung neuer und besserer Therapien, aber auch im Verständnis der Pathophysiologie und Pathogenese der Krankheit liefert.

Um eine Migräneattacke im Tier nachzuweisen, sind zuerst sichere Induktoren notwendig, die diese herbeiführen. Während Martino und Perkins sich für die LPS und seine intrazerebroventrikuläre Injektion entschieden, wählten wir Interleukin-1 β und Capsaicin aus, die wir über eine auf dem Schädel angebrachte verschlussdichte Kammer direkt auf die Dura mater applizierten. Beide Substanzen bewirken über die meningeale Reizung eine Vielzahl von veränderten Verhaltensvariablen, die nicht nur in einer Hypersensibilität für thermische und mechanische Reize resultieren, sondern sich im Modell der Sickness behavior sowohl

beim Menschen als auch beim Tier wiederfinden. Anhand dieses Modells wollten wir das veränderte Verhalten an meningeal sensibilisierten Ratten nachweisen. Wir untersuchten in zahlreichen Versuchsreihen die Parameter: Putzen, Aufrichten, Kopfschütteln, zurückgelegte Strecke im Mittelfeld, Gesamtstrecke, Latenz, Geschwindigkeit und verbrachte Zeit in den Ecken. Dadurch konnten wir vor allem das Explorationsbegehren, die körperliche Verfassung und die lokomotorische Aktivität analysieren. Dazu untersuchten wir die Variablen: Futter-, Wasser-, Agaraufnahme und lokomotorische Aktivität mittels InfraMot2. Die untersuchten Parameter bei Capsaicin und IL-1 β -stimulierten Ratten vermitteln das Prinzip der Sickness behavior.

Im Gegensatz zu der von Martino und Perkins untersuchten thermischen und mechanischen Hypersensibilität stützte sich unser Experiment auf ein breites Spektrum verschiedener Verhaltensparameter. Außer den Parametern 'sexuelle Aktivität' und 'soziales Interesse' haben wir alle Hinweise für bestehende Sickness behavior untersucht und bestätigt.

Genau wie in unseren Versuchen verwendeten Martino und Perkins männliche Sprague Dawley Ratten. Ihre Versuche führten sie jedoch tagsüber unter simulierter Helligkeit durch. Wie bereits in den Abbildungen der Leerlaufdiagramme gezeigt werden konnte, weisen die Ratten eine erhöhte Nachtaktivität auf. Deshalb sind sämtliche Aktivitätsversuche (dazu zählt auch die Messung der USV, da Vokalisierungen ebenfalls Aktivitäten darstellen) an Ratten wie in unserem Projekt eher in der Dunkelphase durchzuführen. Die normalen Aktivitätswerte könnten sich nachts von den pathologischen Ergebnissen viel stärker differenzieren, als am Tag. Insbesondere bei der menschlichen Migräne ist die eingeschränkte Aktivität ein Krankheitsmerkmal.

Ähnlich wie in unseren Versuchen wurden im Voice-records-Modell verschiedene Versuchsreihen zum Vergleich gegenüber den kranken Tieren herangezogen. Neben den gesunden Kontrollen, gab es auch Tiere mit reiner Vehikellösung (Die Zusammensetzung der Vehikellösung stimmt nicht mit unserer überein, da hier die Lösungssubstanz für LPS genutzt wurde). LPS ist ein nachgewiesener hochaktiver Entzündungsmediator, ein Membranglykolipid des *E. coli*, das bereits gut auf seine proinflammatorische Aktivität hin charakterisiert wurde. Deshalb ist davon auszugehen, dass bei Martino und Perkins tatsächlich eine Entzündung induziert wurde.

Die LPS wurde unter kurzer Isoflurannarkose direkt in den lateralen Ventrikel injiziert. Aufgrund der weniger körperlich beeinträchtigenden Operation konnte der Versuch bei Martino und Perkins bereits 3,5 Stunden post operationem durchgeführt werden. Es ist fraglich, ob dieser kurze Abstand zwischen Operation und Versuch von Vorteil oder von

Nachteil ist, da unklar ist, ob die Ratten trotz des kleinen Eingriffes noch von der Operation her litten oder sich gesund fühlten. Unsere Ratten konnten sich nach der Operation 48 Stunden lang erholen.

4.7 Schlussfolgerungen

Der Vergleich der Studie von Martino und Perkins mit unserer zeigt, dass das klinische Spektrum der Migräne breit gefächert ist. Migränebedingte Einschränkungen finden sich in der körperlichen Aktivität, in der Hypersensibilität für Licht, Klang, für thermische und mechanische Reize, sowie im sozialen Alltag, dem Sexualverhalten, der Nahrungsaufnahme und im Schlafverhalten wieder.

Um das Krankheitsbild der Migräne weiter zu entschlüsseln, stellt unser Migräne-Tier-Modell eine neue Möglichkeit für die Forschung dar. An zahlreichen Verhaltensparametern, die dem Modell der Sickness behavior bei Migräne entsprechen, konnte die Existenz der Migräne infolge Capsaicin- sowie Interleukin-1 β - Stimulation nachgewiesen werden. Anhand unseres Modells können die Pathophysiologie und Pathogenese der Migräne, sowie neue Therapien besser untersucht, verstanden und evaluiert werden.

5. Zusammenfassung

Migräne ist auf eine gestörte Aktivität im trigeminalen Nervensystem und daraus resultierend auf eine Funktionsstörung der Blutgefäße von Gehirn und Dura zurückzuführen. Die Krankheit ist gekennzeichnet durch periodische, einseitig auftretende Kopfschmerzattacken, Übelkeit und Erbrechen. Die Altersprävalenz der Migräne vom 25. bis 55. Lebensjahr führt zu schweren Einschränkungen sowohl in sozialen und ökonomischen, als auch in persönlichen Lebensbereichen [Hazard et al., 2008], weshalb die Aufklärung ihrer Ätiologie und eine nachfolgende adäquate Therapie dringend erforderlich sind.

Ziel der Arbeit war es, mit Hilfe von IL-1 β und Capsaicin eine meningeale Reizung und Aktivierung von trigeminalen Nerven bei Ratten zu verursachen, um ein migräneähnliches Verhalten zu provozieren. Diese Verhaltensänderung sollte durch standardisierte Verhaltensexperimente nachgewiesen werden. Verglichen wurden unsere Versuche mit Kontrolltieren und scheinoperierten Ratten. Zudem wurden zur Blockade der stimulationsinduzierten Antwort Substanzen eingesetzt, die eine Migräne behandeln können (Indometacin und Sumatriptan).

Für die Verabreichung der Medikamente wurde im parietalen Segment des Rattenschädels ein definiertes Stück Schädelplatte oberhalb der von der Arteria meningea media versorgten Dura mater entfernt. Darüber wurde eine verschlussdichte Kammer präpariert, in die während der Verhaltensversuche Capsaicin oder IL-1 β appliziert wurden. Eine Veränderung des Verhaltens entweder durch die Vehikellösung oder die Operation konnte in einer zusätzlich durchgeführten Kontrolle ausgeschlossen werden.

Capsaicin und IL-1 β sind bekannte Entzündungsmediatoren, die eine meningeale Reizung bei Ratten auslösen. IL-1 β wirkt als Zytokin modulierend auf neuronale Funktionen und ist Mediator von Entzündungen, Infektionen und Fieber. Capsaicin bindet an den TRPV-1 Rezeptor und erregt neuronale C-Fasern, die den Schmerz an das zentrale Nervensystem weiterleiten.

Als experimentelle Verhaltenstests wurden folgende standardisierten Experimente gewählt: Das Open field, der Fütterungsversuch über zwölf Stunden und der Kirschagar-Fütterungsversuch über zwei Stunden. Im Open field erkundet die Ratte ein definiertes und ihr neues Feld, wobei sich viele der dabei gemessenen Parameter auf die lokomotorische Aktivität bzw. ihr Explorationsbegehren beziehen. Die beiden Fütterungsversuche mit und ohne Agar maßen die Aufnahme von Futter und Wasser über einen vorgegebenen Zeitraum.

Dabei unterscheidet sich der Agar-Fütterungsversuch von dem anderen Fütterungsversuch durch die Gabe von Spezialfutter, einer besonders beliebten zuckrigen Substanz, die sogar von IL-1 β - und Capsaicin-stimulierten Tieren in gleicher Höhe gefressen wurde. Die Ergebnisse aller drei Testverfahren beschreiben eine deutlich eingeschränkte Aktivität und ein vermindertes Explorationsverhalten bei meningeal gereizten Ratten nach Capsaicin- oder IL-1 β -Applikation. Dagegen sind sowohl die Ratten der Kontrollreihe, als auch die scheinoperierten Tiere und die mit Indometacin in Kombination mit IL-1 β oder Capsaicin-stimulierten Ratten, wesentlich aktiver. Im Gegensatz dazu konnte Sumatriptan aufgrund seiner sedierenden Nebenwirkung keine signifikante Blockade der meningealen Stimulation erzielen.

Zusammenfassend zeigten unsere Experimente überzeugende Hinweise einer meningealen Reizung bei Capsaicin- und IL-1 β - stimulierten Ratten. Die Verhaltensweisen entsprechen dem Prinzip der Sickness behavior, einer Beobachtung von Verhaltensveränderungen, die bei Tieren und Menschen unter Einfluss von Pathogenen bei akuter (infektiöser) Erkrankung entdeckt wurde.

In einer Krankheitssituation kann es nachweislich zu Verhaltensveränderungen kommen. Dies konnte zum Beispiel bei kranken Mäusen nach Gabe von IL-1 β in tierexperimentellen Verhaltensversuchen von Swiergiel et al. im Jahr 2002 nachgewiesen werden.

Meine Hypothese, dass Ratten die meningeale Reizung empfinden und hierbei vergleichbare Krankheitssymptome wie beim Menschen aufweisen, wurde bestätigt. Neben den bestehenden biochemischen Veränderungen bei Migräne kann nun durch dieses Migräne-Tier-Modell auch die Veränderung im Verhalten während der meningealen Reizung beim Tier dargestellt werden.

Martino und Perkins' Voice-records-Modell ist bisher das einzige, das auf Untersuchungen zum Verhalten, speziell der thermischen und mechanischen Hypersensibilität von Ratten bei Migräne basiert. Es handelt sich um ein pharmakologisches Modell, in dem eine Ultraschall-Vokalisierung (USV) nach zentral induzierter Entzündung bei Ratten erstellt wurde, die eine Sensibilisierung für taktile Stimuli hervorruft. Die von uns angewandten Verhaltenstests umfassen zahlreiche Verhaltensparameter, die aus meiner Sicht einen Vorteil darstellen.

Viele Studien zeigen, dass die Migräne eine Krankheit mit verschiedenartigen physischen und psychischen Symptomen ist. Migränebedingte Einschränkungen finden sich in der körperlichen Aktivität, in der Hypersensibilität für Licht, Klang, für thermische und mechanische Reize, sowie im sozialen Alltag, dem Sexualverhalten, der Nahrungsaufnahme und im Schlafverhalten wieder.

Meine Untersuchungen lassen einen verbesserten Rückschluss auf das Vorhandensein einer meningealen Reizung bei Ratten zu: Ich untersuchte sowohl das lokomotorische

Verhalten durch Variablen wie zum Beispiel Laufgeschwindigkeit, die Messung der zurückgelegten Strecke, als auch sensorische Qualitäten mit Hilfe der Interpretation des Kopfschüttelns und Putzens. Weiterhin wurden rein physiologische Parameter wie die Nahrungs – und Wasseraufnahme ermittelt. Alle beobachteten Reizantworten entsprechen dabei dem Bild der Sickness Behavior. Aufgrund der Ähnlichkeiten des Verhaltens der Ratten in diesen Versuchen mit dem Verhalten des Menschen während einer Migräneattacke erscheint mir dieses Modell geeignet zum besseren Verständnis der Migräne.

6. Literatur

Anforth HR, Bluthé RM, Bristol A et al.: Biological activity and brain actions of recombinant rat interleukin-1alpha and interleukin-1beta. *Eur. Cytokine Netw.* 1998; 9: 279-288.

Arulmani U, Gupta S, Van Den Brink AM et al.: Experimental migraine models and their relevance in migraine therapy. *Cephalalgia* 2006; 26: 642-59.

Aubert A: Sickness behaviour in animals: A motivational perspective. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23. 1999; 1029-1036.

Beaman BL, Tam S: An unusual murine behavior following infection with log-phase *Nocardia asteroides* type 6 strain GUH-2 (*Nocardia cyriacigeorgica* GUH-2). *Microbes Infect.* 2008; 10: 840-3.

Benjamin L, Levy MJ, Lasalandra MP et al.: Hypothalamic activation after stimulation of the superior sagittal sinus in the cat: a Fos study. *Neurobiol Dis.* 2004; 16: 500-5.

Bianchi M, Dib B, Panerai AE: Interleukin-1 and nociception in the rat. *J Neurosci Res* 53: 1998; 645-650.

Bingham S, Davey PT, Sammons M et al.: Inhibition of inflammation-induced thermal hypersensitivity by sumatriptan through activation of 5-HT(1B/1D) receptors. *Exp Neurol.* 2001; 167: 65-73.

Blatteis, CM: Neural mechanisms in the pyrogenic and acute-phase responses to interleukin-1, *Int. J. Neurosci.* 1988; 38: 223-232.

Bluthé RM, Crestani F, Kelley KW et al.: Mechanisms of the behavioural effects of interleukin 1. Role of prostaglandins and CRF, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 650; 1992: 268-275.

Boeles S, Williams C, Campling GM et al.: Sumatriptan decreases food intake and increases plasma growth hormone in healthy women. *Psychopharmacology* 1997; 129:179-82.

Bolay H, Moskowitz MA: The emerging importance of cortical spreading depression in migraine headache. *Rev Neurol.* 2005; 161: 655-7.

Bolay H, Reuter U, Dunn AK et al.: Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med.* 2002; 8: 136-42.

- Breslau N, Davis GC: Migraine, physical health and psychiatric disorder: a prospective epidemiologic study in young adults. *J Psychiatr Res* 1993; 27: 211-221.
- Brudzynski SM, Chiu EM: Behavioural responses of laboratory rats to playback of 22 kHz ultrasonic calls. *Physiol Behav.* 1995; 57: 1039-44.
- Buck SH, Burks TF: The neuropharmacology of capsaicin,: Review of some observations. 2002; 26: 1193-8.
- Buzzi MG, Moskowitz MA: The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol* 1990; 99: 202-206.
- Buzzi MG, Moskowitz MA: Evidence for 5-HT_{1B/1D} receptors mediating the antimigraine effect of sumatriptan and dihydroergotamine. *Cephalalgia* 1991; 11: 165-8.
- Buzzi MG, Sakas DE, Moskowitz MA: Indometacin and acetylsalicylic acid block neurogenic plasma protein extravasation in rat dura mater. *Eur J Pharmacol* 1989; 165: 251-258.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M et al.: The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997; 389: 816-824.
- Chance WT, Fischer JE: Aphagic and adipsic effects of interleukin-1, *Brain Res.* 1991; 568: 261-264.
- Coceani F, Lees J, Dinarello CA: Occurrence of interleukin-1 in cerebrospinal fluid of the conscious cat. *Brain Res.* 1988; 446: 245-50.
- Cuomo V, Cagiano R, De Salvia MA et al.: Ultrasonic vocalization as an indicator of emotional state during active avoidance learning in rats. *Life Sci.* 1992; 50: 1049-55.
- Dalkara T, Zervas NT, Moskowitz MA: From spreading depression to the trigeminovascular system. *Neurol Sci.* 2006; 27: 86-90.
- D'Amico D, Usai S, Grazi L et al.: Quality of life and disability in primary chronic daily headaches. *Neurol Sci.* 2003; 24: 97-100.
- Dahlöf CG: How does sumatriptan perform in clinical practice? *Cephalalgia* 1995; 15: 21-8.

Dantzer R: Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications, *Ann. N.Y. Acad. Sci* 2001; 933: 222-234.

Diamond S, Freitag FG: Do non-steroidal anti-inflammatory agents have a role in the treatment of migraine headaches? *Drugs* 1989; 37: 755-60.

Diamond S: Menstrual migraine and non-steroidal anti-inflammatory agents. *Headache* 1984; 24: 52.

Diener HC: Migräne- ein Buch mit sieben Siegeln? 100 Fragen und 100 Antworten. Stuttgart; New York: Thieme, 2001; 2: 15-17.

Dimitriadou V, Buzzi MG, Moskowitz MA: Trigeminal sensory fiber stimulation induces morphological changes reflecting secretion in rat dura mater mast cells. *Neuroscience* 1991; 44: 97-112.

Dinarello CA: Interleukin-1beta. *Crit Care Med.* 2005; 33: 460-2.

Durham P, Cady R, Cady R: Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion from trigeminal nerve cells by botulinum toxin type A: Implications for migraine therapy. *Headache* 2004; 44: 35-42.

Dux M, Sántha P, Jancsó G: Capsaicin-sensitive neurogenic sensory vasodilatation in the dura mater of the rat. *J Physiol* 2003; 552: 859-867.

Ebersberger A: Pathophysiology of migraine: models to explain the generation of migraine headache. *Anaesthesist.* 2002; 51: 661-7.

Ebersberger A, Schaible HG, Averbek B: Is there a correlation between spreading depression, neurogenic inflammation, and nociception that might cause migraine headache? *Ann Neurol.* 2001; 49: 7-13.

Edvinsson L, Uddman R: Adrenergic, cholinergic and peptidergic nerve fibres in dura mater - involvement in headache? *Cephalalgia.* 1981; 1: 175-9.

Farrar WL, Kilian PL, Ruff MR et al.: Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain, *J. Immunol.* 1987; 139: 459-463.

Garattini S, Mennini T, Samanin R: Reduction of food intake by manipulation of central serotonin. Current experimental results. *Br J Psychiatry Suppl.* 1989; 41-51.

Giulian D, Lachman LB. Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury. *Science*. 1985; 228: 497-9.

Goadsby PJ: Migraine pathophysiology. *Headache* 2005; 45: 14-24.

Goldberg LD: The cost of migraine and its treatment. *Am J Manag Care*. 2005; 11: 62-7.

Goldblum SE, Gillespie MN, Cohen DA et al.: Interleukin 1 bioactivity in the lungs of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1988 Jan; 187: 26-32.

Gupta S, Villalón CM, Mehrotra S et al.: Female sex hormones and rat dural vasodilatation to CGRP, periarterial electrical stimulation and capsaicin. *Headache*. 2007; 47: 225-35.

Harden LM, du Plessis I, Poole S et al.: Interleukin (IL)-6 and IL-1 β act synergistically within the brain to induce sickness behavior and fever in rats. *Brain Behav Immun*. 2008; 838-49.

Hazard E, Munakata J, Bigal ME et al.: The Burden of Migraine in the United States: Current and Emerging Perspectives on Disease Management and Economic Analysis. *Value Health*. 2008; 12: 55-64.

Higgins GA, Olschowka JA: Induction of interleukin-1 beta mRNA in adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 1991; 9: 143-8.

Holzer P: Neurogenic vasodilatation and plasma leakage in the skin. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 5-11.

Hoskin KL, Kaube H, Goadsby PJ: Sumatriptan can inhibit trigeminal afferents by an exclusively neural mechanism. *Brain* 1996; 119: 1419-28.

Hou Wenjing L, Wang X: Mechanism of interleukin-1-induced calcitonin gene-related peptide production from dorsal root ganglion neurons of neonatal rats 2003; 188-197.

International Headache Society: International Classification of Headache Disorders. *Cephalalgia* 2004; 24: 1-160.

Jancsó G: Pathobiological reactions of C-fiber primary sensory neurones to the peripheral nerve injury. *Exp. Physiol* 1992; 77: 405-431.

Johnson RW: The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002; 87: 443-450.

Katsuura G, Gottschall PE, Arimura A: Identification of a high-affinity receptor for interleukin-1 beta in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 156: 61-67.

Katsuura G, Gottshall PE, Dahl RR et al.: Interleukin-1 beta increases prostaglandin E2 in rat astrocyte cultures: modulatory effect of neuropeptides, *Endocrinology*, 1989; 124: 3125-3127.

Küçük A, Gölğeli A, Saraymen R et al.: Effects of age and anxiety on learning and memory. *Behavioral Brain Research* 2008; 195: 147-152.

Kurosawa M, Messlinger K, Pawlak M et al.: Increase of meningeal blood flow after electrical stimulation of rat dura mater encephali: mediation by calcitonin gene-related peptide. *British Journal of Pharmacology* 1995; 114: 1397-1402.

Larson SJ, Romanoff RL, Dunn AJ et al.: Effects of interleukin-1 beta on foodmaintained behaviour in the mouse. *Brain Behav Immun* 2002; 16: 398-410.

Lauritzen M: Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain.* 1994; 117: 199-210.

Levine AS, Morley JE: The effect of prostaglandins (PGE2 and PGF2 alpha) on food intake in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1981; 15, 735-738.

Levy MJ, Knight YE, O'Shaughnessy CT et al.: Effect of IL-1beta microinjection into the posterior hypothalamic area on trigeminal nociception in the rat. *J Neural Transm.* 2003; 110: 1349-58.

Limmroth V, Katsarava Z, Liedert B et al.: An in vivo rat model to study calcitonin gene related peptide release following activation of the trigeminal vascular system. *Pain* 2001; 92: 101-6.

Lloyd K: The clinical profile of sumatriptan safety and tolerability. *Eur Neurol* 1994; 34: 40-3.

Martino G, Perkins MN: Tactile-induced ultrasonic vocalization in the rat: a novel assay to assess anti-migraine therapies in vivo. *Cephalalgia.* 2008; 28: 723-33.

- Mäki K, Vahtera J, Virtanen M et al.: Work stress and new-onset migraine in a female employee population. *Cephalalgia*. 2008; 28: 18-25.
- Mennini FS, Gitto L, Martelletti P: Improving care through health economics analyses: cost of illness and headache. *J Headache Pain*. 2008; 9: 199-206.
- Mett A, Tfelt-Hansen P: Acute migraine therapy: recent evidence from randomized comparative trials. *Curr Opin Neurol*. 2008; 21: 331-7.
- Millian MJ: The introduction of pain: an integrative review. 1999; 1-164.
- Moskowitz MA, Macfarlane R: Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. (Review). *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1993; 5: 159-77.
- Neeb L, Hellen P, Boehnke C et al.: IL-1 β stimulates COX-2 dependent PGE2 synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells. *PLoS One*. 2011; 4: 17360.
- Oka T, Aou S, Hori TI: Intracerebroventricular injection of interleukin-1 beta enhances nociceptive neuronal responses of the trigeminal nucleus caudalis in rats. *Brain Res* 1994; 656: 236-244.
- Oka T, Aou S, Hori T: Intracerebroventricular injection of prostaglandin E2 induces thermal hyperalgesia in rats: possible involvement of EP3 receptors, *Neurosci. Res*. 1993; 100.
- Oka T, Aou S, Hori T: Intracerebroventricular injection of interleukin-1 β induces hyperalgesia in rats. *Brain Res* 1993; 624: 61-68.
- Oprica M, Zhu S, Gojny M et al.: Transgenic overexpression of interleukin-1-receptor antagonist in the CNS influences behaviour, serum corticosterone and brain monoamines. *Brain, Behavior, and Immunity* 2005; 19: 223-234.
- Palazzolo DL, Quadri SK: Interleukin-1 stimulates catecholamine release from the hypothalamus. *Life Sci*. 1990; 47: 2105-9.
- Pecchi E, Dalla porta M, Thirion S et al.: Involvement of central microsomal prostaglandin E synthase-1 in IL-1beta-induced anorexia, *Physiol. Genomics* 2006; 25: 485-492.

Quagliarello VJ, Wispelwey B, Long W et al.: Recombinant Human Interleukin-1 Induces Meningitis and Blood-Brain Barrier Injury in the Rat Characterization and Comparison with Tumor Necrosis Factor. 1991; 1360 – 1366.

Rivest S, Lacroix S, Vallières L et al.: How the blood talks to the Brain Parenchyma and the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. 2000; 22-38.

Rothwell NJ: Functions and mechanisms of interleukin-1 in the brain. Trends Pharmacol Sci 1991; 12: 430-436.

Rothwell N, Hopkins S: Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. Trends Neurosci 1995;18:130-136.

Rothwell NJ, Luheshi G: Pharmacology of Interleukin-1 actions in the brain. Adv Pharmacol 1994; 25: 1-20.

Sanchez del Rio M, Reuter U, Moskowitz M: Central and peripheral mechanisms of migraine. Funct Neurol 2000; 15: 157-162.

Schaible HG, Ebersberger A: What takes place in the head? Migraine, cluster and tension headache. Pharm Unserer Zeit. 2002; 31: 452-7.

Sellami S, de Beaurepaire R: Hypothalamic and thalamic sites of action of interleukin-1 beta on food intake, body temperature and pain sensitivity in the rat. Brain Res 1995; 694: 69-77.

Song C, Horrobin DF, Leonard BE: The comparison of changes in behaviour, neurochemistry, endocrine, and immune functions after different routes, doses and durations of administrations of IL-1 β in rats. Pharmacopsychiatry 2006; 39: 88-99.

Sullivan JT: Psychoactivity and abuse potential of sumatriptan, Clin Pharmacol Ther. 1992; 52: 635-42.

Swiergiel AH, Dunn AJ: Distinct roles for cyclooxygenases 1 and 2 in interleukin-1-induced behavioral changes, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002; 302: 1031-1036.

Szállasi A, Blumberg PM: Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. Pharmacol Rev 1999; 51: 159-212.

- Tassorelli C, Greco R, Armentero MT et al.: A role for brain cyclooxygenase-2 and prostaglandin-E2 in migraine: effects of nitroglycerin. *Int Rev Neurobiol.* 2007; 82: 373-82.
- Thalakoti S, Patil VV, Damodaram S et al.: Neuronglia signaling in trigeminal ganglion: implications for migraine pathology. *Headache* 2007; 47: 1008-23.
- Theoharides TC, Donelan J, Kandere-Grzybowska K et al.: The role of mast cells in migraine pathophysiology. *Brain Res Brain Res Rev.* 2005; 49: 65-76.
- Theoharides TC, Spanos C, Pang X et al.: Stress-induced intracranial mast cell degranulation: a corticotropin-releasing hormone-mediated effect. *Endocrinology.* 1995; 136: 5745-50.
- Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB et al.: The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 1998; 21, 531-543.
- Ulrich-Lai YM, Flores CM, Harding-Rose CA et al.: Capsaicin-evoked release of immunoreactive calcitonin gene-related peptide from rat trigeminal ganglion: Evidence for intraganglionic neurotransmission. *Pain* 2001; 91: 219-226.
- Vass Z, Dai CF, Steyger PS et al.: Co-localization of the vanilloid capsaicin receptor and substance P in sensory nerve fibers innervating cochlear and vertebro-basilar arteries: *Neuroscience.* 2004; 124: 919-27
- De Vries P, Villalon CM, Saxena PR : Pharmacological aspects of experimental headache models in relation to acute antimigraine therapy. *Eur J Pharmacol* 1999; 375: 61-74.
- Watkins LR, Wiertelak EP, Goehler LE et al.: Characterization of cytokine-induced hyperalgesia. *Brain Res* 1994; 654: 15-26.
- Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H et al.: Interleukin-1 as a pathogenetic mediator of ischemic brain damage in rats. *Stroke* 1995; 26: 676-80.
-

7. Abkürzungen

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AUC	Area Under The Curve
BSA	Bovines Serum Albumin
Cap	Capsaicin
CGRP	Calcitonin-gene-related peptide
COX-1/ COX-2	Cyclooxygenase 1 und 2
CPM	Counts per minute
CPS	Capsaicin
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CSD	Cortical Spreading Depression
EEG	Elektroenzephalogramm
IHS	International Headache Society
IL-1 β	Interleukin-1 β
Indo	Indometacin
LPS	Endotoxin-Lipopolysaccharid
NaCl	Natriumchlorid
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PGE2	Prostaglandin E2
PNS	Peripheres Nervensystem
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
Sham OP	Scheinoperation
SP	Substanz P
SSS	Sinus Sagittalis Superior
Sum	Sumatriptan
TRPV1-Rezeptor	Transient Receptor Potential Vanilloid Type
USV	Ultraschall-Vokalisierung
Veh	Vehikellösung
VIP	Vasointestinales Peptid
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. Nr.	Titel	Seiten- zahl
1	Prävalenz der Migräne	2
2	Zeitliche Abfolge der Untersuchungen	12
3	Chirurgischer Eingriff – Öffnung des Rattenfells	13
4	Chirurgischer Eingriff – Blick auf die Dura mater	14
5	Chirurgischer Eingriff - Kammerkonstruktion	15
6	Versuchsaufbau des Open field	19
7	Beispielhafte Aufzeichnungen durch VideoMot2	20
8	Open field – Putzen bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	26
9	Open field – Elevationsbewegung bei Capsaicin	28
10	Open field – Kopfschüttelbewegungen bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	29-30
11	Open field – Zurückgelegte Strecke im Zentrum bei Capsaicin	31
12	Open field – Gesamtstrecke bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	32-33
13	Open field – Beispielhafter Vergleich des Explorationsverhaltens mittels VideoMot2	34
14	Open field – Latenz bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	36
15	Open field – Geschwindigkeit bei Capsaicin	37
16	Open field – Zeit in den Ecken	38
17	Fütterungsversuch: Futteraufnahme – bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	41
18	Fütterungsversuch: Wasseraufnahme – bei IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	43
19	Leerlaufmessung	45
20	Fütterungsversuch: Lokomotorische Aktivität – bei IL-1 β (a/b) und Capsaicin (c/d)	47-49
21	Agar-Fütterungsversuch: Agaraufnahme für IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	52
22	Agar-Fütterungsversuch: Futteraufnahme für IL-1 β (a) und Capsaicin (b)	53-54
23	Agar-Fütterungsversuch: Lokomotorische Aktivität für IL-1 β (a/b) und Capsaicin (c/d)	55-57

9. Tabellenverzeichnis

Tab. Nr.	Titel	Seiten- zahl
1	Beispielhafte Futter- und Wasseraufnahme über 12h	22
2	Musterkodierung der Versuchsreihen	24
3	Zusammenfassung der Ergebnisse des Open field	39
4	Zusammenfassung der Ergebnisse von Fütterungsversuch Nr. 1	50
5	Zusammenfassung der Ergebnisse vom Agar-Fütterungsversuch	58

10. Publikationsliste

Hoffmann J, Neeb L, Israel H, Dannenberg F, Triebe F, Dirnagl U, Reuter U.:
Intracisternal injection of inflammatory soup activates the trigeminal nerve system.
Cephalalgia. 2009; 29: 1212-7.

11. Selbstständigkeitserklärung

Erklärung

„Ich, Fabia Triebe, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Verhaltensbiologische Untersuchungen in einem experimentellen Kopfschmerzmodell selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

13. Danksagung

Herrn Dr. Uwe Reuter danke ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas, sowie für die Motivation und Unterstützung bis zur Vollendung von praktischem und theoretischem Teil der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. André Rex danke ich für die zurückhaltende aber trotzdem immer zielgerichtete Betreuung meiner Verhaltensexperimente. Ich habe seine wertvollen Anregungen und Ratschläge immer geschätzt.

Dr. Jan Hoffmann danke ich dafür, dass er mir mit Geduld und angenehmer Freundlichkeit den operativen Eingriff beibrachte.

Ein besonderer Dank gilt auch dem gesamten Team der Neurologie im Charité Campus Mitte, welches mir bei den mir neuen Labortätigkeiten mit Rat und Tat beiseite stand und gleichzeitig eine angenehme Atmosphäre zum Praktizieren und Üben schuf.

Meinen Eltern danke ich herzlich für ihre fortwährende Unterstützung und ihr Interesse an meiner Arbeit.